



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

LUANA LUME YOSHIDA

EFEITOS ADVERSOS DE LIXIVIADOS DE BITUCAS E FILTROS DE CIGARROS NO
CRESCIMENTO DE UMA MACRÓFITA FLUTUANTE

São Carlos – SP

2024

LUANA LUME YOSHIDA

EFEITOS ADVERSOS DE LIXIVIADOS DE BITUCAS E FILTROS DE CIGARROS NO
CRESCIMENTO DE UMA MACRÓFITA FLUTUANTE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ecologia e Recursos Naturais, da Universidade Federal de São Carlos, como requisito para obtenção do título de mestra em Ecologia e Recursos Naturais.

Área de concentração: Ecologia e Recursos Naturais.

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

São Carlos – SP

2024

DEDICATÓRIA

Para os meus pais, Elaine Regina Matubaro Yoshida e Nelson Teruo Yoshida, e minha irmã, Karina Kaori Yoshida, que me apoiam em todas as etapas da vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, à corrente espírita e aos meus anjos da guarda, pela proteção durante minha jornada, e por me abençoarem com saúde.

Agradeço imensamente meus pais, Elaine e Nelson, por todo o amor e sabedoria com os quais me criaram, e por batalharem tanto para me oferecer a melhor educação. A minha irmã, Karina, por sempre me motivar em todos os caminhos que trilhei. Devo todas as minhas conquistas graças ao apoio e suporte de vocês.

Agradeço em especial a professora Marcela (Departamento de Hidrobiologia), pela paciência, orientação e conselhos compartilhados desde o início da minha graduação até o fim do mestrado. Obrigada por me ensinar tanto, e por me incentivar na jornada acadêmica, sendo um modelo de profissional.

Agradeço ao professor Irineu, pela orientação, aprendizagens e conhecimentos que me proporcionou durante todos esses anos. Aos companheiros de laboratório, por todos os ensinamentos e experiências compartilhadas.

Agradeço a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) (Processo: 669902/2022-00) pelo apoio financeiro e institucional, e por confiar em meu trabalho.

Agradeço a Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) e ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais (PPGERN) pela educação de qualidade.

RESUMO

Anualmente, trilhões de bitucas de cigarros são descartados inadequadamente em áreas públicas, e, através da água do escoamento superficial, podem ser inseridas nos ecossistemas aquáticos e interagir com a biota. Nesse contexto, o objetivo desta pesquisa foi avaliar a interferência dos lixiviados de bitucas e filtros de cigarros fumados e não fumados no crescimento da macrófita *Salvinia auriculata*. Foram realizados nove tratamentos: (i) controle (TC); e lixiviados de (i) bitucas de cigarros fumados (BF); (ii) bitucas de cigarros não fumados (BNF); (iii) filtros de cigarros fumados (FF); e (iv) filtros de cigarros não fumados (FNF), todos em quatro concentrações: 1,0; 1,75; 2,5, e 5,0 bitucas/filtros por litro. Foram utilizados cinquenta rametes (com duas folhas iniciais cada) da macrófita para cada concentração. O crescimento foi monitorado durante nove semanas, através de análises com o software Image J, dos registros fotográficos semanais das áreas foliares das macrófitas. O coeficiente de crescimento (μ) foi obtido ajustando as áreas foliares ao modelo logístico. O TC apresentou a maior área de crescimento acumulado ($12,66 \text{ cm}^2 \text{ d}^{-1}$) e maior valor de coeficiente de crescimento ($0,28 \text{ d}^{-1}$). Nos lixiviados, os valores mínimos para a área de crescimento foram de $9,60 \text{ cm}^2 \text{ d}^{-1}$ (BF; $p = 0,001$), $9,13 \text{ cm}^2 \text{ d}^{-1}$ (FNF; $p = 1,53 \times 10^{-5}$), $4,03 \text{ cm}^2 \text{ d}^{-1}$ (FF; $p = 1,29 \times 10^{-5}$) e $3,59 \text{ cm}^2 \text{ d}^{-1}$ (BNF; $p = 1,51 \times 10^{-6}$); e para a velocidade de crescimento foram de $0,04 \text{ d}^{-1}$ (BF, FF e FNF) e $0,08 \text{ d}^{-1}$ (BNF). Assim, o tempo de duplicação da *S. auriculata* aumentou em contato com as bitucas e filtros de cigarro. A interferência no crescimento pode ter derivado da redução de pigmentos fotossintéticos das macrófitas, que, no TC, apresentaram um teor de clorofila-a de $0,098 \text{ mg MS}$, de clorofila-b de $0,047 \text{ mg MS}$ e de carotenoides de $15,77 \text{ mg MS}$. Embora nem todas as concentrações dos lixiviados tenham reduzido significativamente os pigmentos, a clorofila-a foi reduzida em até $0,046 \text{ mg MS}$ (BF; $p = 0,002$), $0,045 \text{ mg MS}$ (BNF; $p = 4,47 \times 10^{-4}$) e $0,028 \text{ mg MS}$ (FF; $p = 0,001$). A clorofila-b foi diminuída em até $0,019 \text{ mg MS}$ (BF; $p = 0,026$), $0,016 \text{ mg MS}$ (BNF; $p = 0,006$), e $0,013 \text{ mg MS}$ (FF; $p = 0,011$); e os carotenoides foram reduzidos em até $5,54 \text{ mg MS}$ (BNF; $p = 0,009$), e $3,87 \text{ mg MS}$ (FF; $p = 0,001$). Além da redução dos pigmentos, o meio mais ácido e com maior condutividade elétrica gerada pelos lixiviados podem ter contribuído para a diminuição do crescimento das macrófitas. Entre os quatro tipos de lixiviados, o derivado de FF apresentou maior potencial de toxicidade em relação aos lixiviados derivados de bitucas. A presença de bitucas e filtros de cigarros em corpos de água reduz o crescimento de *S. auriculata*, tanto na área foliar quanto em sua velocidade, interferindo em sua função ecológica como produtor primário da cadeia alimentar aquática.

Palavras-chave: Ecotoxicidade. Coeficiente de crescimento. Área foliar. *Salvinia auriculata*. Modelagem Matemática. Bitucas de cigarro.

ABSTRACT

Annually, trillions of cigarette butts are inappropriately discarded in public areas, and through runoff water, they can be inserted into aquatic ecosystems and interact with biota. In this context, the objective of this research was to evaluate the interference of leachates from smoked and unsmoked cigarette butts and filters on the growth of the macrophyte *Salvinia auriculata*. Nine treatments were performed: (i) control (CT); and leachates from (i) smoked cigarette butts (SB); (ii) unsmoked cigarette butts (USB); (iii) smoked cigarette filters (SF); and (iv) unsmoked cigarette filters (USF), all in four concentrations: 1.0; 1.75; 2.5, and 5.0 butts/filters per liter. Fifty ramets (with two initial leaves each) of the macrophyte were used for each concentration. Through analysis with the Image J software, growth was monitored for nine weeks of weekly photographic records of the macrophytes leaf areas. The growth coefficient (μ) was obtained by adjusting the leaf areas to the logistic model. The CT presented the largest accumulated growth area ($12.66 \text{ cm}^2 \text{ d}^{-1}$) and the highest growth coefficient value (0.28 d^{-1}). In leachate, the minimum values for the growth area were $9.60 \text{ cm}^2 \text{ d}^{-1}$ (SB; $p = 0.001$), $9.13 \text{ cm}^2 \text{ d}^{-1}$ (USF; $p = 1.53 \times 10^{-5}$), $4.03 \text{ cm}^2 \text{ d}^{-1}$ (SF; $p = 1.29 \times 10^{-5}$) and $3.59 \text{ cm}^2 \text{ d}^{-1}$ (USB; $p = 1.51 \times 10^{-6}$); and for growth velocity they were 0.04 d^{-1} (SB, SF and USF) and 0.08 d^{-1} (USB). Thus, the doubling time of *S. auriculata* increased in contact with cigarette butts and filters. The interference with growth may have derived from the reduction of photosynthetic pigments in the macrophytes, which, in the CT, had a chlorophyll-a content of 0.098 mg DM , chlorophyll-b of 0.047 mg DM and carotenoids of 15.77 mg DM . Although not all leachate concentrations significantly reduced pigments, chlorophyll-a was reduced by up to 0.046 mg DM (SB; $p = 0.002$), 0.045 mg DM (USB; $p = 4.47 \times 10^{-4}$) and 0.028 mg DM (SF; $p = 0.001$). Chlorophyll-b was decreased by up to 0.019 mg DM (SB; $p = 0.026$), 0.016 mg DM (USB; $p = 0.006$), and 0.013 mg DM (SF; $p = 0.011$), and carotenoids were reduced by up to 5.54 mg DM (USB; $p = 0.009$), and 3.87 mg DM (SF; $p = 0.001$). In addition to reducing pigments, the more acidic leachate with greater electrical conductivity may have contributed to the reduction in macrophyte growth. Among the four types of leachate, the SF derivative showed greater toxicity potential compared to the leachate derived from cigarette butts. The presence of cigarette butts and filters in aquatic ecosystems reduces the growth of *S. auriculata*, both in the leaf area and in its speed, interfering with its ecological function as a primary producer in the aquatic food chain.

Keywords: Ecotoxicity. Growth coefficient. Leaf area. *Salvinia auriculata*. Mathematical modeling. Cigarette butts.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Rametes da <i>Salvinia auriculata</i> em solução de 0,5% de hipoclorito de sódio, durante 5 minutos, para desinfecção prévia antes da aclimação de 15 dias.	21
Figura 2 – Locais de coleta das bitucas de cigarros: (a) Avenida Getúlio Vargas; (b) ruas próximas de uma praça pública; (c) prédio institucional da UFSCar; (d) instituição hospitalar Santa Casa e (e) Avenida Comendador Alfredo Maffei.	22
Figura 3 – Contabilização e análise de comprimento com o software Image J das bitucas de cigarros coletadas no município de São Carlos.	22
Figura 4 - Processo de fumo do cigarro em dispositivo manual, sem a presença do fumante: (a) materiais para o consumo do cigarro, sendo uma seringa descartável, um tubo plástico, cigarro e placas de Pétri para armazenamento das cinzas após combustão do cigarro; (b) simulação da aspiração do fumante e (c) simulação da expiração do fumante.	23
Figura 5 – Etapas anteriores à produção dos lixiviados: (a) corte dos cigarros não fumados em bitucas de 3 centímetros de comprimento para a produção do lixiviado de bitucas de cigarros não fumados e (b) separação dos filtros do resto de tabaco das bitucas de cigarros fumados para a produção do lixiviado de filtros de cigarros fumados.	24
Figura 6 – Produção do lixiviado de bitucas de cigarros fumados: (a) bitucas fumadas imersas em água coletada da Represa do Monjolinho e (b) filtração do lixiviado após 48 horas.	24
Figura 7 – Bioensaios de crescimento da <i>Salvinia auriculata</i> dentro da câmara de germinação.	26
Figura 8 – Análise do crescimento da <i>Salvinia auriculata</i> através dos registros fotográficos: (a) registro fotográfico semanal dos cinco rametes da macrófita na plataforma com papel milimetrado de fundo, anteriormente à análise no software Image J e (b) análise da área das macrófitas realizada pelo Image J.	27
Figura 9 – Total de bitucas coletadas em cinco áreas do município de São Carlos: (a) na Avenida Getúlio Vargas; (b) nas ruas próximas de uma praça pública; (c) no prédio institucional da UFSCar; (d) na instituição hospitalar Santa Casa e (e) na Avenida Comendador Alfredo Maffei.	29
Figura 10 – Áreas foliares do crescimento acumulado da <i>Salvinia auriculata</i> nos bioensaios com concentrações de 1,0, 1,75, 2,5 e 5,0 B/L dos lixiviados de bitucas de cigarros fumados (representado com quadrados pretos e curva vermelha), e de bitucas de cigarros não fumados (identificado com os triângulos azuis e curva verde), assim como do tratamento controle (quadrados pretos e curva vermelha apenas no último gráfico).	32
Figura 11 – Valores do coeficiente de crescimento μ (d^{-1}) do tratamento controle, e dos tratamentos com lixiviados de bitucas de cigarros fumados (BF) e não fumados (BNF), e filtros de cigarros fumados (FF) e não fumados (FNF) nas concentrações de 1,0, 1,75, 2,5 e 5,0 B/L ou F/L.	34

Figura 12 – Valores do tempo de duplicação do tratamento controle, e dos tratamentos com lixiviado de bitucas de cigarros fumados (representados em cor rosa) e de bitucas de cigarros não fumados (representados em cor verde), nas concentrações de 1,0, 1,75, 2,5 e 5,0 B/L.....	35
Figura 13 – Áreas foliares de crescimento acumulado da <i>Salvinia auriculata</i> nos bioensaios com concentrações de 1,0, 1,75, 2,5 e 5,0 F/L dos lixiviados de filtros de cigarros fumados (representado com quadrados pretos e curva vermelha), e não fumados (identificado com os triângulos azuis e curva verde), assim como do tratamento controle (quadrados pretos e curva vermelha apenas no último gráfico).....	36
Figura 14 – Valores do tempo de duplicação (d) do tratamento controle, e dos tratamentos com lixiviado de filtros de cigarros fumados (representados em cor rosa) e de filtros de cigarros não fumados (representados em cor verde), nas concentrações de 1,0, 1,75, 2,5 e 5,0 F/L.....	37
Figura 15 – Valores dos teores de clorofila-a (mg MS), clorofila-b (mg MS) e carotenoides (mg MS) do tratamento controle (cor verde claro) e das concentrações de 1,0, 1,75, 2,5 e 5,0 B/L dos lixiviados de bitucas de cigarros fumados (sem ranhuras) e de bitucas de cigarros não fumados (com ranhuras).	40
Figura 16 – Valores dos teores de clorofila-a (mg MS), clorofila-b (mg MS) e carotenoides (mg MS) do tratamento controle (cor verde claro) e das concentrações de 1,0, 1,75, 2,5 e 5,0 F/L dos lixiviados de filtros de cigarros fumados (sem ranhuras) e de filtros de cigarros não fumados (com ranhuras).....	42
Figura 17 – Valores do pH dos bioensaios nas concentrações de 1,0, 1,75, 2,5 e 5,0 B/L dos lixiviados de bitucas de cigarros fumados (representado com quadrados pretos) e não fumados (representado com círculos vermelhos), e no tratamento controle.....	44
Figura 18 – Valores do pH dos bioensaios nas concentrações de 1,0, 1,75, 2,5 e 5,0 F/L dos lixiviados de filtros de cigarros fumados (representado com quadrados pretos) e não fumados (representado com círculos vermelhos), e no tratamento controle.....	45
Figura 19 – Valores da condutividade elétrica (mS cm^{-1}) dos bioensaios nas concentrações de 1,0, 1,75, 2,5 e 5,0 B/L dos lixiviados de bitucas de cigarros fumados (representado com quadrados pretos) e não fumados (representado com círculos vermelhos), e no tratamento controle.....	47
Figura 20 – Valores da condutividade elétrica (mS cm^{-1}) dos bioensaios nas concentrações de 1,0, 1,75, 2,5 e 5,0 F/L dos lixiviados de filtros de cigarros fumados (representado com quadrados pretos) e não fumados (representado com círculos vermelhos), e no tratamento controle.....	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Descrição das concentrações de bitucas/filtros dos tratamentos do estudo.....	25
Tabela 2 – Média de bitucas por m ² por coleta e comprimento das bitucas coletadas nos seis locais do Município de São Carlos.....	30
Tabela 3 – Valores de p do Teste de Comparação Múltipla de Dunn para as análises de área média foliar acumulada entre os tratamentos dos lixiviados de bitucas de cigarros fumados (BF) e bitucas de cigarros não fumados (BNF), nas concentrações de 1,0, 1,75, 2,5 e 5,0 B/L. (ns) representa valores não significativos de p....	33
Tabela 4 – Valores de p do Teste de Comparação Múltipla de Dunn para as análises de área média foliar acumulada entre os tratamentos dos lixiviados de filtro de cigarro fumado (FF) e filtro de cigarro não fumado (FNF), nas concentrações de 1,0, 1,75, 2,5 e 5,0 F/L. (ns) representa valores não significativos de p.....	38
Tabela 5 – Valores de p do Teste de Comparação Múltipla de Dunn para as análises de área média foliar acumulada entre os tratamentos dos lixiviados de bituca de cigarro fumado (BF), bituca de cigarro não fumado (BNF), filtro de cigarro fumado (FF) e filtro de cigarro não fumado (FNF), nas concentrações de 1,0, 1,75, 2,5 e 5,0 B/L e F/L. (ns) representa valores não significativos de p.....	39

LISTA DE ABREVIATURAS

BF. Bitucas de cigarros fumados

BNF. Bitucas de cigarros não fumados

Cd. Cádmió

CE. Condutividade elétrica

CID. Carbono inorgânico dissolvido

Cm. Centímetros

FF. Filtros de cigarros fumados

FNF. Filtros de cigarros não fumados

PAH'S – Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos

RFA. Radiação fotossinteticamente ativa

ROS. Espécies reativas de oxigênio

TC. Tratamento controle

UV. Luz ultravioleta

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	HIPÓTESES	14
3	OBJETIVO	15
4	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	15
4.1	Macrófitas aquáticas	15
4.1.1	<i>Salvinia auriculata</i>	16
4.1.2	Fatores que influenciam o crescimento das macrófitas	17
4.2	Bitucas de cigarro	18
4.2.1	Composição das bitucas de cigarro e seus efeitos em macrófitas aquáticas	19
4.2.2	Ecotoxicidade das bitucas (remanescente de tabaco e filtro)	20
5	MATERIAIS E MÉTODOS	20
5.1	Coleta e pré-cultura da <i>Salvinia auriculata</i>	20
5.2	Coleta de bitucas: caracterização da quantidade e tamanhos	21
5.3	Produção dos lixiviados	23
5.4	Procedimento experimental dos bioensaios de crescimento	25
5.5	Análise dos pigmentos fotossintéticos (clorofila-a, clorofila-b e carotenoides)	27
5.6	Determinação do pH e condutividade elétrica dos bioensaios	28
5.7	Análise estatística	28
6	RESULTADOS	29
6.1	Coleta de bitucas	29
6.2	Crescimento da <i>Salvinia auriculata</i>	30
6.2.1	Lixiviado de bitucas de cigarros fumados e não fumados	30
6.2.2	Lixiviado de filtros de cigarros fumados e não fumados	35
6.2.3	Lixiviado de bitucas x Lixiviados de filtros	38
6.3	Teores dos pigmentos fotossintéticos	39
6.3.1	Lixiviado de bitucas de cigarros fumados e não fumados	39

6.3.2	Lixiviado de filtros de cigarros fumados e não fumados	41
6.3.3	Lixiviado de bitucas x lixiviado de filtros	42
6.4	Determinação do pH	43
6.5	Condutividade elétrica	46
7	DISCUSSÃO	49
7.1	Coleta de bitucas.....	49
7.2	Crescimento da <i>Salvinia auriculata</i>	49
7.3	Pigmentos fotossintéticos	53
7.4	pH e condutividade elétrica	53
8	CONCLUSÕES	54
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56
	APÊNDICE A - Valores de p do Teste de Comparação Múltipla de Dunn para as análises de clorofila-a entre os tratamentos dos lixiviados de bitucas de cigarros fumados (BF), bitucas de cigarros não fumados (BNF), filtros de cigarros fumados (FF), e filtros de cigarros não fumados (FNF).	68
	APÊNDICE B - Valores de p do Teste de Comparação Múltipla de Dunn para as análises de clorofila-b entre os tratamentos dos lixiviados de bitucas de cigarros fumados (BF), bitucas de cigarros não fumados (BNF), filtros de cigarros fumados (FF), e filtros de cigarros não fumados (FNF).	69
	APÊNDICE C - Valores de p do Teste de Comparação Múltipla de Dunn para as análises de carotenoides entre os tratamentos dos lixiviados de bitucas de cigarros fumados (BF), bitucas de cigarros não fumados (BNF), filtros de cigarros fumados (FF), e filtros de cigarros não fumados (FNF).	70
	APÊNDICE D - Valores de p do Teste de Comparação Múltipla de Dunn para as análises de pH entre os tratamentos dos lixiviados de bitucas de cigarros fumados (BF), bitucas de cigarros não fumados (BNF), filtros de cigarros fumados (FF), e filtros de cigarros não fumados (FNF).	71
	APÊNDICE E - Valores de p do Teste de Comparação Múltipla de Dunn para as análises de condutividade elétrica entre os tratamentos dos lixiviados de bitucas de cigarros fumados (BF), bitucas de cigarros não fumados (BNF), filtros de cigarros fumados (FF), e filtros de cigarros não fumados (FNF).....	72

1 INTRODUÇÃO

Cerca de 5,6 trilhões de cigarros são produzidos anualmente no mundo (REGISTER, 2000), com projeção de aumento para 9 trilhões até 2025 (ARAÚJO; COSTA, 2019a). Durante a pandemia da Sars-Cov-19, observou-se um aumento no consumo de cigarros (CANCELLO et al., 2020), o que torna esse cenário preocupante, não somente pelos danos à saúde humana, mas também aos riscos ambientais, pois, frequentemente, ocorre o descarte inadequado das bitucas de cigarros pelos fumantes em vias públicas após o consumo do cigarro (RATH et al., 2012).

Aproximadamente 4,5 trilhões de bitucas são depositados no ambiente, caracterizando-as como o tipo de resíduo usualmente mais encontrado nas limpezas costeiras globais, podendo totalizar até 38% de unidades de resíduos, entre garrafas plásticas e embalagens alimentícias (NOVOTNY; SLAUGHTER, 2014). Além disso, apresentam tendência de aumento anual desde 1990, verificado no dia da limpeza costeira (PARKER; RAYBURN, 2017). Como consequência do descarte inadequado em vias públicas, as bitucas de cigarros podem ter seu destino em bueiros, sendo depositadas nos compartimentos aquáticos (REGISTER, 2000).

Uma vez inseridas nos ecossistemas e, sendo carregadas pelo escoamento superficial, as bitucas podem liberar na água, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (MORIWAKI et al., 2009), metais (DOBARADARAN et al., 2017; MORIWAKI et al., 2009) e nicotina (GREEN et al., 2014), já que são formadas por quatro componentes (papel, tabaco não queimado, cinzas e filtro) com diferentes constituições químicas associadas (POPPENDIECK et al., 2016). O tabaco, por exemplo, pode estar associado a diversos pesticidas (DÁVILA et al., 2020); as cinzas podem conter diferentes metais pesados (DAHLAWI et al., 2021), e o filtro pode conter aditivos, como os plastificantes (TURNER; CUNDELL, 2024).

Além desses compostos, outros já foram identificados na composição das bitucas de cigarro, como aromatizantes (HUANG et al., 2014), álcoois e fenóis (VENUGOPAL et al., 2021), e alcatrão, (SOLEIMANI et al., 2022). De maneira geral, as substâncias presentes nas bitucas de cigarro podem ser originadas pelo processo da pirólise ou, então, manter-se em seus aspectos iniciais como constituinte do tabaco não queimado (POPPENDIECK et al., 2016). Alguns compostos podem permanecer na bituca após o consumo do cigarro, porém, suas concentrações finais podem ser reduzidas pela combustão gerada no seu consumo (GALAZYN-SIDORCZUK et al., 2008).

Devido à alta diversidade de sua composição, os cigarros podem introduzir no meio ambiente mais de 4000 substâncias através de seu material particulado (SLAUGHTER et al., 2011). Diversos autores demonstraram a toxicidade do lixiviado de bitucas para diferentes organismos (BOOTH et al., 2015; WRIGHT et al., 2015). No caso das plantas terrestres, quando expostas aos cigarros consumidos, o comprimento dos ramos e a taxa de germinação são reduzidos (GREEN et al., 2019) e na presença do lixiviado podem ocorrer efeitos mutagênicos (MONTALVÃO et al., 2018). No entanto, ainda são pouco conhecidos os impactos do cigarro no conteúdo da clorofila, crescimento e germinação de plantas (GREEN et al., 2019). Há, portanto, poucos estudos científicos investigando, por exemplo, a interação dos resíduos do tabaco com os vegetais (ARAÚJO; COSTA, 2019b), como as macrófitas aquáticas.

As macrófitas aquáticas são plantas que desempenham inúmeras funções ecológicas. Elas diversificam estruturalmente o habitat, são fontes de alimento e substrato de colonização, e contribuem com a matéria orgânica, na forma de biomassa viva e detrito, nas cadeias alimentares e detritívoras (CUNHA-SANTINO et al., 2010). Além disso, demonstram respostas fisiológicas (através da morte ou do seu crescimento) em condições de distúrbios antrópicos, o que as tornam eficazes bioindicadores da qualidade da água (LACOUL; FREEDMAN, 2006), como, por exemplo, a *Salvinia auriculata*, em função de sua alta sensibilidade (OTOMO et al., 2021) e elevadas taxas de crescimento (SUÑE et al., 2007). Utilizada neste estudo como organismo-teste, esta macrófita aquática flutuante, com folhas elípticas de coloração verde a marrom, é uma espécie nativa da América do Sul, e encontrada no Brasil (OTOMO et al., 2021).

Desse modo, considerando o aporte de bitucas de cigarros nos compartimentos aquáticos e a presença de macrófitas nos possíveis locais de entrada desses contaminantes, é necessária a avaliação dos efeitos desse resíduo no crescimento da *Salvinia auriculata* para uma melhor compreensão das possíveis consequências no desenvolvimento dos produtores primários dos ecossistemas aquáticos.

2 HIPÓTESES

Admitindo-se que bitucas de cigarros podem ser escoadas para os ecossistemas aquáticos, e introduzir milhares de substâncias com potencial tóxico para os organismos, e que as macrófitas, como a *S. auriculata*, podem demonstrar respostas fisiológicas em condições de distúrbios antrópicos, este estudo pressupõe que:

- (i) A área foliar de crescimento acumulado e os teores dos pigmentos fotossintéticos da *S. auriculata* serão reduzidos na presença dos lixiviados de bitucas e filtros de cigarros.
- (ii) O crescimento da *S. auriculata* apresentará maior redução no lixiviado de bitucas de cigarros fumados em relação ao lixiviado de bitucas de cigarros não fumados.
- (iii) O crescimento da *S. auriculata* apresentará maior redução no lixiviado de filtros de cigarros fumados em relação ao lixiviado de filtros de cigarros não fumados.
- (iv) O crescimento da *S. auriculata* apresentará maior redução no lixiviado de bitucas de cigarros em relação ao lixiviado de filtros de cigarros, devido o remanescente de tabaco fumado e não fumado presente nas bitucas.

3 OBJETIVO

Determinar o crescimento (através da área e biomassa) e utilizar equações matemáticas para definir a cinética de crescimento da macrófita aquática *Salvinia auriculata* em meios de bitucas e filtros de cigarros fumados e não fumados.

4 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

4.1 Macrófitas aquáticas

Também referidas como hidrófitas, as macrófitas aquáticas são plantas macroscópicas que desenvolvem ao menos uma fase do ciclo da vida no ambiente aquático (WETZEL, 2001; REJMÁNKOVÁ, 2011). São taxonomicamente diversas, sendo representadas, de acordo com a distribuição e diversidade, em sete grupos de plantas (Chlorophyta, Cyanophyta, Xanthophyta, Rhodophyta, Bryophyta, Pteridophyta e Spermatophyta) que crescem ativamente na água, permanente ou periodicamente (CHAMBERS et al., 2008).

Tradicionalmente, as macrófitas são classificadas de acordo com as formas de crescimento e traços ecológicos (LESIV et al., 2020) em: (i) emergentes, estabelecidas em águas costeiras rasas e solos saturados com água e que podem desenvolver folhas e flores aéreas; (ii) enraizadas com folhas flutuantes; (iii) submersas e (iv) flutuantes (WETZEL, 2001; CUNHA-SANTINO; BIANCHINI JR, 2011). Como apresentam mecanismos de adaptações, podem habitar diversos

habitats heterogêneos, como ambientes salobros, marinhos, áreas sazonalmente inundadas, pântanos, e águas lóxicas e lânticas (WETZEL, 2001).

As macrófitas desempenham diversas funções ecológicas nos ecossistemas aquáticos. Como produtores primários, convertem a energia da luz em energia química, produzindo oxigênio para a decomposição da matéria orgânica e respiração dos organismos (O'BRIEN et al., 2013; LESIV et al., 2020). São recursos alimentares e fornecem habitats para berçários para uma diversidade de espécies (ORTH et al., 2006) e, podem influenciar no ecossistema aquático através da interação com aspectos do regime hidrológico, como a velocidade do fluxo da água (MILER et al., 2014).

Além disso, as macrófitas apresentam grande potencial como bioindicadores, indicando a possibilidade da presença de compostos potencialmente tóxicos através de mudanças fisiológicas e morfológicas (WOLF et al., 2012). Devido à eficácia na absorção de elementos, como metais, dos ecossistemas aquáticos, elas também podem ser utilizadas na fitorremediação (ESPINOZA-QUIÑONES et al., 2009), participando do processo de purificação da água e dos ciclos biogeoquímicos de diversos elementos. Além dos metais, as macrófitas, também, podem absorver os nutrientes (i.e., compostos de nitrogênio e fósforo) em um ambiente e reverter a eutrofização do sistema aquático (LESIV et al., 2020), desde que ocorra o manejo da biomassa das macrófitas (POMPÊO, 2008). Assim, as macrófitas são muito utilizadas em processos de fitorremediação de ecossistemas eutrofizados (VMAZAL, 2013).

4.1.1 *Salvinia auriculata*

A *Salvinia auriculata* é uma espécie de macrófita aquática flutuante (WETZEL, 2001). Sua morfologia apresenta um segmento de caule com três folhas, sendo duas verdes flutuantes com pelos repelentes à água, e uma submersa e levemente dissecada. A terceira folha é responsável pela absorção de água e íons, já que há ausência de raízes verdadeiras (SOTA, 1962; SCULTHORPE, 1967;). O órgão submerso apresenta um eixo principal que pode se dividir em ramos mais curtos, ou então, atingir um comprimento de 100 mm antes de se dividir (FORNO, 1983).

Apresenta crescimento clonal, com a formação de novos rametes, que é favorecido durante os períodos de cheias (COELHO et al, 2005). Durante o período de seca, a *S. auriculata*, que apresenta esporocarpos esféricos com extremidades arredondadas nas folhas (SOTA; PAZOS, 1962), produz esporos que entram em dormência no sedimento dos corpos aquáticos no inverno e, germinam na primavera, período com temperaturas mais altas (SOARES et al., 2008). Dessa

maneira, com as reproduções sexuais e assexuadas, esta espécie é capaz de sobreviver em locais com padrões sazonais de inundação (COELHO et al., 2005).

A *S. auriculata* é considerada boa indicadora, visto que apresenta alta sensibilidade e rápido crescimento (OTOMO et al., 2021). Wolf et al. (2012), por exemplo, registraram potencial da espécie como indicador ecológico da presença de cádmio em ambientes contaminados, pois apresentou sensibilidade ao metal, com deterioração celular, má formação dos cloroplastos e redução da biomassa seca. Além disso, devido à sua capacidade de absorção de metais, como o chumbo, e nutrientes, como o fósforo; também, pode ser empregada na remoção de metais em tratamento de efluentes industriais, ou seja, na fitorremediação de corpos aquáticos (ESPINOZA-QUIÑONES et al., 2009).

4.1.2 Fatores que influenciam o crescimento das macrófitas

Dentre os fatores limitantes à produção primária das macrófitas, pode-se destacar a temperatura, velocidade da corrente, variação do nível da água, disponibilidade de carbono inorgânico, nutrientes, e radiação fotossinteticamente ativa - RFA (CAMARGO et al., 2003). A temperatura, por influenciar a velocidade das reações químicas, também interfere na produção primária das macrófitas (KIRK, 1994). As características climáticas das regiões, portanto, modulam a dinâmica sazonal dessas plantas: estações bem definidas e as variações da radiação e da temperatura de regiões temperadas, por exemplo, resultam em grandes variações na biomassa das macrófitas durante o ano. A temperatura ótima para o crescimento varia de acordo com a espécie (BIUDES; CAMARGO, 2008).

A velocidade da corrente também pode limitar ou favorecer o crescimento das macrófitas. A formação de bancos flutuantes, por exemplo, pode ser interrompida pelas correntes de alta velocidade, que transportam as plantas para outros locais. Velocidades moderadas podem atrapalhar o crescimento do perifíton e fitoplâncton e disponibilizar mais nutrientes, favorecendo a manutenção das macrófitas (CAMARGO et al., 2003). Além da velocidade, o nível da água também pode interferir no crescimento, sendo que, usualmente, macrófitas submersas tendem a apresentar biomassa reduzida em níveis mais baixos de água, enquanto macrófitas flutuantes, não são tão influenciadas por este fator (THOMAZ et al., 2006).

Os teores de nitrogênio e fósforo são essenciais, visto que constituem, respectivamente, os elementos construtores de proteínas e compostos relacionados ao armazenamento de energia

(LARCHER, 2000). Assim, as maiores concentrações desses elementos favorecem a produtividade das macrófitas (THOMAZ et al., 2006). O carbono inorgânico dissolvido na água (CID), que apresenta disponibilidade dependente do pH, influencia a produtividade, além de ser essencial para a fotossíntese (ESTEVES, 1998). Sendo assim, há uma relação positiva entre o CID e a produção primária bruta (CAMARGO et al., 2006).

Em relação à RFA, esta é imprescindível para a produção primária das macrófitas, e seu uso varia de acordo com a espécie, pois algumas são adaptadas à sombra, e, portanto, não acessam RFA muito alta (CAMARGO et al., 2006). A *S. auriculata*, por exemplo, se desenvolve melhor em ambientes com sombra moderada, apresentando maior número de rametes, e comprimentos das folhas flutuantes e submersa, aumentando dessa forma o contato com a luz adquirida para manter suas funções fisiológicas (MEDEIROS et al., 2017). Além da RFA, outras variáveis também afetam o crescimento dessa espécie. Sua colonização é mais rápida em níveis de água mais altos (COELHO et al., 2005), sendo também, diretamente proporcional à temperatura, nitrato e fósforo total no corpo hídrico, e indiretamente afetada em relação ao oxigênio dissolvido na água (JÚNIOR et al., 2017).

4.2 Bitucas de cigarro

As bitucas de cigarro foram o tipo de resíduo mais coletado no Dia da Limpeza Mundial das áreas costeiras em 2022; sendo também, o item encontrado em maior quantidade na América Latina, América do Norte, Europa, África, Ásia Central e do Sul (OCEAN CONSERVANCY, 2022). Fatores como a direção e velocidade do vento, correntes de água, radiação solar, comportamento do fumante e eficiência dos serviços públicos de limpeza influenciam na presença das bitucas (ARAÚJO; COSTA, 2019a). Depois de introduzidas nos compartimentos aquáticos, flutuam devido à retenção de ar nos filtros, afundando após a saturação de água (ENGLER, 2012).

As bitucas são compostas por quatro componentes principais: papel, tabaco não queimado, cinzas e filtro (POPPENDIECK et al., 2016). O filtro é usualmente composto de acetato de celulose, manufaturado a partir da celulose através da acetilação, e pode conter diversos aditivos como retardantes de chamas, amaciantes e plastificantes (TURNER; CUNDELL, 2024), o que inibe a biodegradação desse material. A luz ultravioleta (UV) é capaz de quebrar o filtro em fibras menores (PULS et al., 2010) que podem persistir por décadas no meio ambiente (TURNER; CUNDELL, 2024).

Além da luz UV, a água também induz a liberação das microfibras do filtro. Belzagui et al. (2021) registraram que os filtros imersos na água liberam cerca de 100 partículas por dia. Assim, estimaram que, anualmente, são liberados cerca de 4×10^{18} microfibras, e um potencial de 0,3 milhões de toneladas são introduzidos nos ecossistemas aquáticos (BELZAGUI et al., 2021). As microfibras podem ser uma fonte de metais, que são retidos após a combustão do tabaco ou da própria composição do filtro (TURNER; CUNDELL, 2024). Por ser um microplástico, também resulta em outra preocupação, já que os microplásticos podem adsorver diversos contaminantes em suas superfícies (ZHAO et al., 2022).

4.2.1 Composição das bitucas de cigarro e seus efeitos em macrófitas aquáticas

As características do fumo, as propriedades da mistura do tabaco e o processo de transferência de massa dos produtos da combustão determinam a composição química do tabaco não queimado e das cinzas (POPPENDIECK et al., 2016). Dentre as classes de químicos identificadas em bitucas de cigarro, os metais já foram registrados em grande variedade (SOLEIMANI et al., 2022) e, dependendo da concentração, podem atuar como supressores do crescimento vegetal (WOLF, et al., 2012).

Também podem estar presentes nas bitucas de cigarro os compostos carbonílicos, e os fenóis (VENUGOPAL et al., 2021), que, em contato com macrófitas aquáticas, podem resultar na redução do crescimento foliar, quantidade de clorofila, multiplicação das folhas, além de induzir a desintegração das colônias, clorose e necrose da planta (PARK et al., 2012). O próprio tabaco pode incluir herbicidas e pesticidas (DÁVILA et al., 2020), o alachlor e o metolacoloro, por exemplo, são capazes de inibir o crescimento de plantas devido à inibição de divisão celular da mesma (DEAL; HESS, 2017). Dependendo da sua concentração e do organismo alvo, a nicotina, que é um dos alcaloides presentes nas bitucas (VENUGOPAL et al., 2021), também pode ser uma via de toxicidade, interferindo na germinação de sementes e no crescimento das plântulas (CHENG et al., 2021).

Outra classe de compostos nas bitucas de cigarro são os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAH's) e outros hidrocarbonetos aromáticos, sendo relatados com maior frequência o benzo[a]pireno (Bap) e o benzo[a]antraceno (0,09 µg/cigarro), e o naftaleno (0,78 µg/cigarro) (SOLEIMANI et al., 2022). O benzo[a]pireno reduz em 50% as expressões genéticas das principais enzimas envolvidas na biossíntese da clorofila-a, assim como também ativam genes relacionados à

degradação da mesma, reduzindo, portanto, o teor de clorofila-a na macrófita (HU et al., 2023).

4.2.2 Ecotoxicidade das bitucas (remanescente de tabaco e filtro)

A toxicidade das bitucas nos ecossistemas aquáticos é maior em relação aos terrestres, já que sem a presença de água, a liberação de substâncias tóxicas do cigarro torna-se mais lenta no ambiente terrestre (GREEN et al., 2022). Slaughter et al. (2011) registraram que o lixiviado de filtros de cigarros pós-uso apresentou concentração letal (LC_{50}) de 1,8 B/L para peixes como *Atherinops affinis* e de 4,3 B/L para *Pimephales promelas*. Os autores também relataram que no tratamento com filtro e remanescente de tabaco pós-uso, a LC_{50} foi de 1 B/L para ambas as espécies e no tratamento com filtro e remanescente de tabaco sem uso, a LC_{50} foi 5,1 B/L para o *A. affinis* e de 13,5 B/L para o *P. promelas*.

Já em outra pesquisa realizada com o crustáceo *Daphnia magna*, a concentração letal do remanescente do tabaco para 100% dos organismos (LC_{100}), após 48 horas, foi 0,5 B/L, e a LC_{100} dos filtros após o uso foi estabelecida entre 1 e 2 B/L (REGISTER, 2000). Para os embriões do anfíbio *Xenopus laevis*, por sua vez, a LC_{50} após 96 horas de exposição às bitucas com remanescente de tabaco foi calculada entre 0,68 e 1,65 B/L e a concentração mínima para inibir seu crescimento variou entre 0,25 e 0,5 B/L (PARKER; RAYBURN, 2017). Dessa maneira, a concentração mínima de bitucas/filtros de cigarros que interfere em algum processo para o desenvolvimento dos organismos irá variar de acordo com a espécie investigada.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Coleta e pré-cultura da *Salvinia auriculata*

Mil rametes (com duas folhas iniciais cada), de mesmo aspecto semelhante e sadio da *S. auriculata* foram coletados no Reservatório do Monjolinho (21°59'08,1" S; 47°52'44,1"W). Após a coleta, as macrófitas foram lavadas com água corrente e água destilada para remover detritos e outras partículas aderidas. Posteriormente, foram desinfectadas (i.e., remoção de algas e microrganismos aderidos) em solução de 0,5% de hipoclorito de sódio durante 5 min (Figura 1).

Figura 1 – Rametes da *Salvinia auriculata* em solução de 0,5% de hipoclorito de sódio, durante 5 minutos, para desinfecção prévia antes da aclimação de 15 dias.



Fonte: Arquivo pessoal (2023).

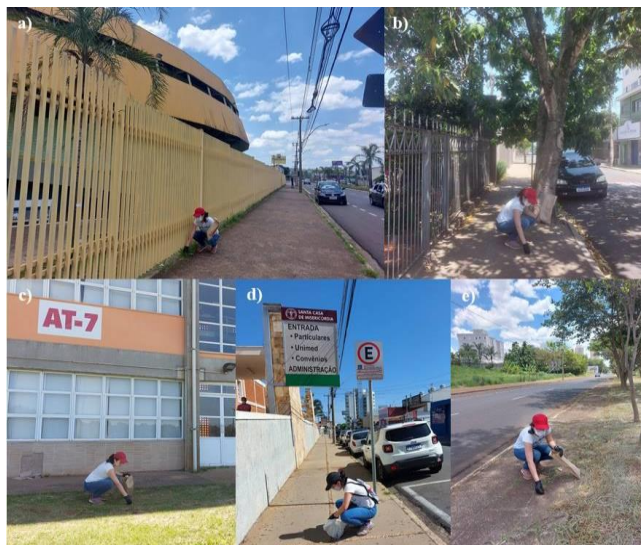
As macrófitas foram novamente lavadas, suavemente, com água deionizada e aclimatadas (25°C) por 15 dias, em fotoperíodo de 12 h claro/12 h escuro, com RFA de 47,25 $\mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$ (GIMENES et al., 2020). Após a aclimação, para a montagem dos bioensaios, cinco rametes foram colocados dentro de béqueres de 200 ml, que foram preenchidos com a água amostrada do reservatório (tratamento controle) ou com o lixiviado de bitucas/filtros de cigarro.

5.2 Coleta de bitucas: caracterização da quantidade e tamanhos

Para calibração das concentrações de bitucas/filtros por litro a serem utilizadas para compor os lixiviados e os tamanhos específicos das bitucas a serem utilizadas, foram realizadas cinco coletas desse resíduo na cidade de São Carlos (SP). As bitucas coletadas, entretanto, não foram usadas na produção do lixiviado, visto que eram de marcas diferentes e apresentavam estados de conservação variados (i.e., com resto de tabaco e filtro, apenas filtro, apenas papel de embrulho), sendo necessário padronizar essas características nos bioensaios de crescimento.

Foram selecionadas cinco áreas na cidade de São Carlos (Figura 2) com características diferentes em relação ao nível de urbanização, industrialização e ocupação (POM; BECCHERUCCI, 2012): (i) Avenida Getúlio Vargas (proximidade com lojas comerciais) (22°02'02,2"S; 47°52'32,1"O); (ii) ruas próximas de uma praça pública (22°00'54,0"S; 47°52'41,4"O); (iii) em frente a um prédio institucional da UFSCar (21°58'56,6"S 47°52'41,2"O); (iv) em frente à instituição hospitalar Santa Casa (22°00'36,7"S; 47°54'03,6"O) e (v) Avenida Comendador Alfredo Maffei, de grande acesso de veículos (22°01'31,9"S; 47°52'37,6"O).

Figura 2 – Locais de coleta das bitucas de cigarros: (a) Avenida Getúlio Vargas; (b) ruas próximas de uma praça pública; (c) prédio institucional da UFSCar; (d) instituição hospitalar Santa Casa e (e) Avenida Comendador Alfredo Maffei.



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

A coleta foi realizada durante seis meses (junho a dezembro de 2022), em um intervalo de trinta dias. Um transecto de 285 m de comprimento e 5 m de largura (calçada + 1 metro da sarjeta), totalizando 1.425 m², foi selecionado, aleatoriamente, em cada área. Cada transecto foi inspecionado duas vezes em todas as coletas. As bitucas de cigarro descartadas nessas áreas foram coletadas e posteriormente contabilizadas e medidas em comprimento com o software Image J (Figura 3).

Figura 3 – Contabilização e análise de comprimento com o software Image J das bitucas de cigarros coletadas no município de São Carlos.

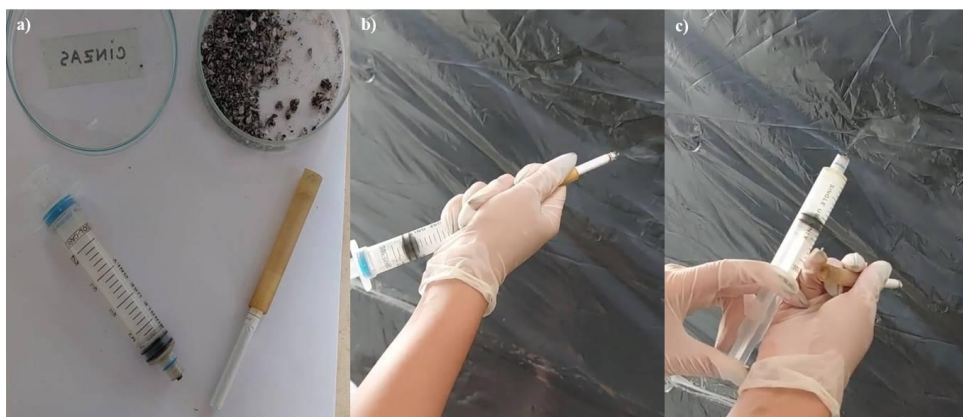


Fonte: Elaborado pela autora (2023).

5.3 Produção dos lixiviados

Os cigarros da marca Marlboro foram adquiridos comercialmente. Para a produção do lixiviado de bitucas de cigarros fumados, os cigarros foram consumidos por um dispositivo manual (XI et al., 2023). Os cigarros foram posicionados, já acesos, em uma extremidade de um cano, com uma seringa localizada na outra ponta, sendo consumidos até se tornarem bitucas de aproximadamente 3 centímetros (cm) de comprimento (Figura 4). O êmbolo promoveu a aspiração visando simular a respiração de um fumante.

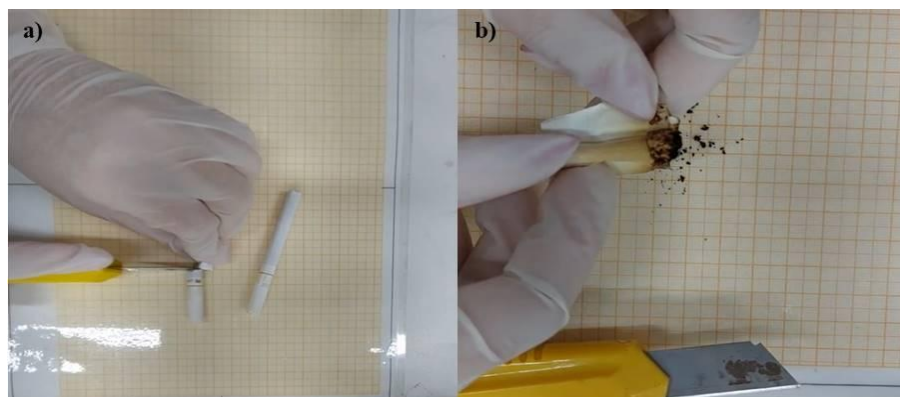
Figura 4 - Processo de fumo do cigarro em dispositivo manual, sem a presença do fumante: (a) materiais para o consumo do cigarro, sendo uma seringa descartável, um tubo plástico, cigarro e placas de Pétri para armazenamento das cinzas após combustão do cigarro; (b) simulação da aspiração do fumante e (c) simulação da expiração do fumante.



Fonte: Elaborada pela autora (2023).

Para a produção do lixiviado de bitucas de cigarros não fumados, os cigarros foram apenas cortados em 3 cm de comprimento. No lixiviado de bitucas, o remanescente de tabaco correspondeu a cerca de 1/3 da bituca. Para a produção do lixiviado de filtros de cigarros fumados e não fumados, esses procedimentos foram repetidos, porém apenas os filtros, sem o resto de tabaco, foram adicionados na produção dos lixiviados (Figura 5).

Figura 5 – Etapas anteriores à produção dos lixiviados: (a) corte dos cigarros não fumados em bitucas de 3 centímetros de comprimento para a produção do lixiviado de bitucas de cigarros não fumados e (b) separação dos filtros do resto de tabaco das bitucas de cigarros fumados para a produção do lixiviado de filtros de cigarros fumados.



Fonte: Elaborada pela autora (2023).

Posteriormente as bitucas e os filtros de cigarro foram imersos em água coletada no reservatório Monjolino, em temperatura ambiente (cerca de 25°C) por 48 horas (Figura 6). Os lixiviados foram então filtrados com papel filtro qualitativo (3 μ m) para retirar as partículas sólidas da solução. Essas concentrações foram utilizadas como meio de crescimento (tratamentos) para os rametes de *S. auriculata*.

Figura 6 – Produção do lixiviado de bitucas de cigarros fumados: (a) bitucas fumadas imersas em água coletada da Represa do Monjolino e (b) filtração do lixiviado após 48 horas.



Fonte: Elaborada pela autora (2023).

Foram adicionadas 2; 3,5; 5 e 10 unidades de bitucas/filtros de cigarro em 2 L de água de modo a resultar em quatro concentrações (adaptado de SLAUGHTER et al., 2011). Os nove tratamentos

estão descritos na Tabela 1. A média das massas de uma unidade de bituca fumada, bituca não fumada, filtro fumado e filtro não fumado foram respectivamente, 0,34 g, 0,33 g, 0,11 g e 0,11 g.

Tabela 1 – Descrição das concentrações de bitucas/filtros dos tratamentos do estudo.

Tratamentos	Concentração (bitucas/filtros por litro)			
Controle (TC)	0			
Lixiviado de bitucas de cigarros fumados (BF)	1,0	1,75	2,5	5,0
Lixiviado de bitucas de cigarros não fumados (BNF)				
Lixiviado de filtros de cigarros fumados (FF)				
Lixiviado de filtros de cigarros não fumados (FNF)				

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

5.4 Procedimento experimental dos bioensaios de crescimento

Foram realizadas dez réplicas para cada concentração, totalizando quarenta para cada tratamento. O crescimento da *S. auriculata* ocorreu em béqueres de 200 ml inseridos na incubadora, em posições randomizadas semanalmente, de maneira a homogeneizar a distribuição de radiação. A câmara de germinação (modelo CL; Coldlab) apresentou fotoperíodo de 12 h claro/12 h escuro e RFA: $47,25 \mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$ (GIMENES et al., 2020) a 25°C, que representa a temperatura média da água do reservatório do Monjolinho (SANTOS et al., 2011) (Figura 7). Nas águas do rio Monjolinho, foram registradas variações entre 5,06 e 6,77 para o potencial hidrogeniônico (pH) e de 0,01 e 0,19 mS/cm de condutividade elétrica (FERREIRA; CUNHA-SANTINO, 2014).

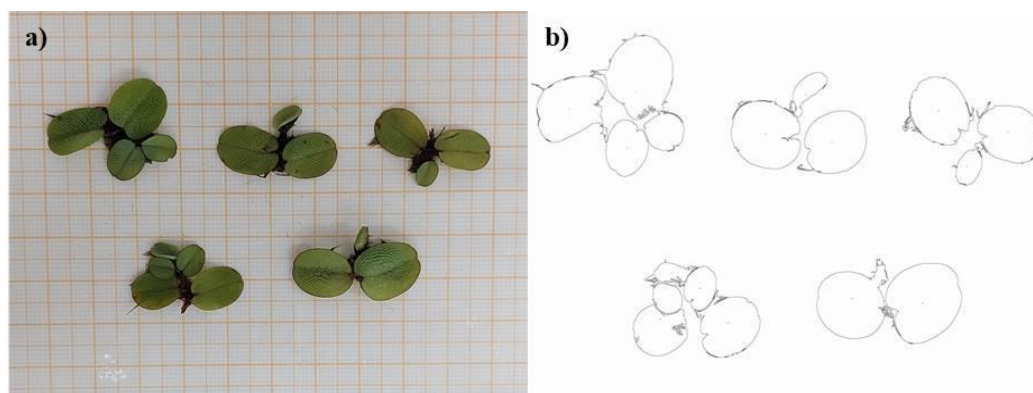
Figura 7 – Bioensaios de crescimento de *Salvinia auriculata* dentro da câmara de germinação.



Fonte: Arquivo pessoal (2023).

Para acompanhar o crescimento, durante nove semanas registraram-se as áreas (em cm^2), com intervalo de sete dias, por meio de fotos foliares dos rametes da *S. auriculata* acomodados em cima de papel milimetrado, para posterior cálculo da área total no software Image J (Figura 8). O software foi desenvolvido pela Wayne Rasband no Instituto Nacional da Saúde (EUA) (SCHNEIDER et al., 2012) e pode realizar medições de imagens (RUEDEN et al., 2017), sendo muito utilizado para avaliação de características morfológicas de folhas de plantas (CORRAL et al., 2017). Após o registro fotográfico das folhas das macrófitas em superfície com escala e aplicação de ajustes no software (MARTIN et al., 2020), a imagem foi convertida para 8 bits. Foi programado para que os tons de verde da folha permanecessem retidos antes da conversão para pixels vermelhos, que são mensuráveis pelo Image J, dessa maneira, foi possível determinar a área foliar (CORRAL et al., 2017).

Figura 8 – Análise do crescimento da *Salvinia auriculata* através dos registros fotográficos: (a) registro fotográfico semanal dos cinco rametes da macrófita na plataforma com papel milimetrado de fundo, anteriormente à análise no software Image J e (b) análise da área das macrófitas realizada pelo Image J.



Fonte: Elaborada pela autora (2023)

A cinética de crescimento da macrófita foi determinada a partir da área de crescimento foliar acumulado durante nove semanas, ajustadas ao modelo logístico (Equação I; BIANCHINI JR et al., 2010). Os parâmetros cinéticos foram obtidos por regressões não lineares de acordo com o algoritmo iterativo de Levenberg–Marquardt (PRESS et al., 1993).

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

em que: $N = \text{área (cm}^2\text{)}$, $\mu = \text{coeficiente de crescimento (dia)}$, $K = \text{área máxima de } S. \textit{auriculata}$ nos diferentes tratamentos com bituca e $t = \text{tempo (dia}^{-1}\text{)}$.

O tempo de duplicação (t_d) da área foi calculado pela Equação II.

$$t_d = \frac{\ln 2}{\mu} \quad \text{Equação II}$$

em que: $t_d = \text{tempo de duplicação (dia)}$.

5.5 Análise dos pigmentos fotossintéticos (clorofila-a, clorofila-b e carotenoides)

A análise dos pigmentos fotossintéticos de *S. auriculata* foi realizada com a biomassa fresca da macrófita, sendo realizada de forma destrutiva, portanto, essa análise não foi realizada nos bioensaios utilizados para caracterizar o crescimento. Também, apresentou uma duração menor (i.e., seis semanas), visto que, em alguns tratamentos ocorreu senescência das macrófitas. As condições de incubação dos bioensaios de crescimento e para análise de pigmentos fotossintéticos

foram idênticas (pré-cultura das macrófitas e mesmas condições de temperatura e RFA). Para cada tratamento foram realizadas três réplicas.

Semanalmente, com o uso de um disco de metal, foram retirados seis discos de biomassa fresca das folhas das macrófitas em cada tratamento, sendo que três discos foram mantidos a 50°C por vinte e quatro horas para a determinação da biomassa seca. Os outros três discos foram colocados em 10 ml de solução de álcool etílico 80% e homogeneizada com a utilização do Ultra turrax (marca Ika). Posteriormente, esta solução foi mantida em banho-maria a 78°C por cinco minutos e submetidas a banho de gelo por 5 minutos.

Após vinte e quatro horas, retirou-se uma alíquota da solução alcoólica de cada amostra, lendo a absorbância em espectrofotômetro a 470, 645, 662 e 710 nm (WETZEL; LIKENS, 1991; LICHTENTHALER; BUSCHMANN, 2001). Posteriormente, esta solução foi mantida em banho-maria a 78°C por cinco minutos e submetida a banho de gelo por 5 minutos.

5.6 Determinação do pH e condutividade elétrica dos bioensaios

Foram utilizados um potenciômetro (modelo 8010; Qualxtron) e um condutivímetro (modelo W12D; Bel) para monitoramento semanal do pH e da condutividade elétrica (CE) dos meios de crescimento nos bioensaios contendo os rametes da *S. auriculata*.

5.7 Análise estatística

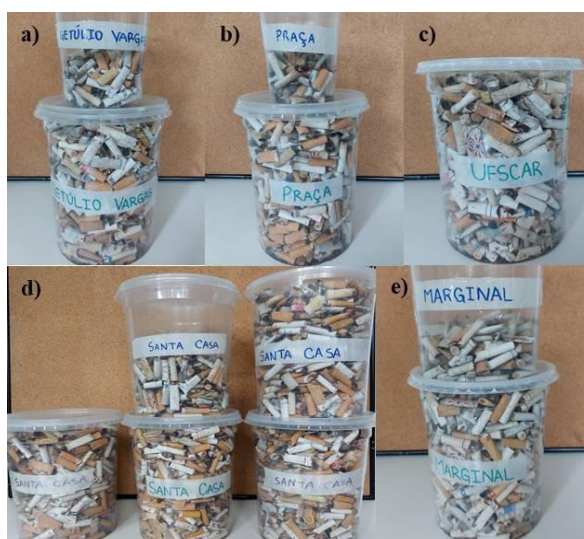
Visando testar a normalidade dos dados dos tratamentos, foi utilizado o teste D'Agostino Pearson. Uma vez que a normalidade não foi confirmada, foi aplicado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, e, posteriormente, o Teste de Comparação Múltipla de Dunn (SMALHEISER, 2017), sendo o valor de $p < 0,05$ considerado estatisticamente significativo. Os testes foram aplicados para análise: (i) dos valores dos comprimentos e quantidade de bitucas coletadas nas cinco áreas selecionadas do município de São Carlos; (ii) áreas foliares e teores de clorofila-a, clorofila-b e carotenoides das macrófitas, e (iii) pH e condutividade elétrica dos bioensaios de crescimento.

6 RESULTADOS

6.1 Coleta de bitucas

O total de bitucas coletadas, durante os seis meses, foi: (a) 1.098 na Avenida Getúlio Vargas; (b) 1.009 nas ruas próximas de uma praça pública; (c) 918 no prédio institucional da UFSCar; (d) 4.029 na instituição hospitalar Santa Casa (e) 990 na Avenida Comendador Alfredo Maffei (Figura 9).

Figura 9 – Total de bitucas coletadas em cinco áreas do município de São Carlos: (a) na Avenida Getúlio Vargas; (b) nas ruas próximas de uma praça pública; (c) no prédio institucional da UFSCar; (d) na instituição hospitalar Santa Casa e (e) na Avenida Comendador Alfredo Maffei.



Fonte: Elaborado pela autora (2023).

A área com a maior quantidade total coletada de bitucas foi a instituição hospitalar Santa Casa, cerca de quatro vezes mais bitucas do que a área com a menor quantidade recolhida (prédio institucional da UFSCar). A Tabela 2 abaixo apresenta a média de bitucas por m² por coleta em cada local, além do comprimento das bitucas coletadas.

Tabela 2 – Média de bitucas por m² por coleta e comprimento das bitucas coletadas nos seis locais do Município de São Carlos.

		Coleta 1	Coleta 2	Coleta 3	Coleta 4	Coleta 5	Coleta 6
Getúlio Vargas	Bitucas/m ²	0,19	0,15	0,11	0,12	0,15	0,06
	Comprimento	2,79 ±	2,93 ±	2,78 ±	2,98 ±	2,90 ±	2,82 ±
	(cm)	0,46	0,47	0,49	0,57	0,51	0,55
Praça	Bitucas/m ²	0,21	0,11	0,08	0,09	0,14	0,07
	Comprimento	2,92 ±	2,99 ±	2,96 ±	3,00 ±	2,92 ±	2,76 ±
	(cm)	0,47	0,56	0,49	0,48	0,47	0,40
UFSCar	Bitucas/m ²	0,15	0,18	0,17	0,07	0,04	0,03
	Comprimento	2,79 ±	2,85 ±	2,96 ±	2,91 ±	2,63 ±	2,65 ±
	(cm)	0,46	0,47	0,43	0,54	0,51	0,63
Santa Casa	Bitucas/m ²	0,56	0,62	0,49	0,38	0,40	0,37
	Comprimento	2,91 ±	2,99 ±	2,94 ±	2,91 ±	2,88 ±	2,84 ±
	(cm)	0,51	0,53	0,47	0,52	0,48	0,59
Marginal	Bitucas/m ²	0,32	0,09	0,12	0,04	0,10	0,03
	Comprimento	3,17 ±	3,05 ±	3,06 ±	2,96 ±	2,98 ±	2,95 ±
	(cm)	0,59	0,59	0,58	0,55	0,56	0,53

Fonte: Elaborada pela autora (2024).

6.2 Crescimento de *Salvinia auriculata*

6.2.1 Lixiviado de bitucas de cigarros fumados e não fumados

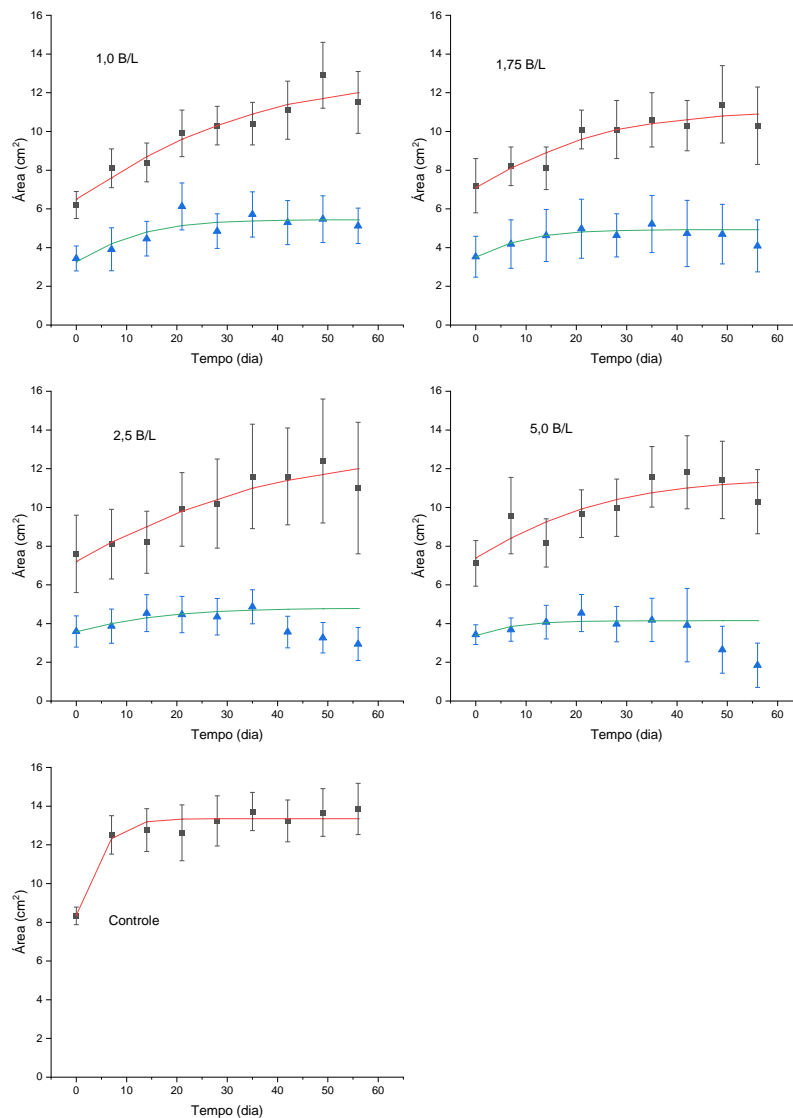
As áreas foliares acumuladas e os modelos de crescimento do tratamento controle (TC) e dos tratamentos com lixiviados de bitucas de cigarros fumados (BF) e não fumados (BNF) estão representados nos gráficos da Figura 10. O TC apresentou o maior valor médio da área foliar (12,66 cm² dia⁻¹), com um desenvolvimento mais rápido nos sete primeiros dias do experimento. Esse padrão não foi observado nas macrófitas que cresceram nos lixiviados das bitucas. Na presença das BF, nas concentrações de 1,0, 1,75, 2,5 e 5,0 B/L, as médias da área de crescimento acumulado foram significativamente distintas do TC, sendo 9,87 cm² dia⁻¹ (p = 0,004), 9,59 cm² dia⁻¹ (p = 0,001), 10,06 cm² dia⁻¹ (p = 0,005), e 9,96 cm² dia⁻¹ (p = 0,003), reduções de, respectivamente,

22,04%, 24,25%, 20,46% e 21,33% em relação à média do controle. Não houve diferença significativa entre os tratamentos com as bitucas de cigarro fumados.

Para os rametes da *S. auriculata* submetidas ao lixiviado de BNF, nas concentrações de 1,0, 1,75, 2,5 e 5,0 B/L, foram registradas médias da área foliar de 4,93 cm² dia⁻¹ (p = 0,016), 4,52 cm² dia⁻¹ (p = 0,003), 3,94 cm² dia⁻¹ (p = 1,29 x 10⁻⁵) e 3,59 cm² dia⁻¹ (p = 1,51 x 10⁻⁶). Desse modo, ocorreram diminuições de, respectivamente, 61,06%, 64,30%, 68,88%, e 71,64% em relação à média do TC. Assim como no lixiviado de BF, registrou-se uma maior variação dos dados. Nas concentrações de 2,5 e 5,0 B/L, o crescimento das macrófitas foi menor.

As diferenças entre os tratamentos com lixiviados estão representadas na Tabela 3. O lixiviado das BNF registrou, em relação ao lixiviado de BF, maiores reduções dos valores médios da área foliar da macrófita em cerca de 39,02% (p = 0,003), 40,05% (p = 0,002), 48,42% (p = 2,17 x 10⁻⁵) e 50,31% (p = 1,24 x 10⁻⁵), de acordo com o aumento da concentração de bitucas por litro.

Figura 10 – Áreas foliares do crescimento acumulado da *Salvinia auriculata* nos bioensaios com concentrações de 1,0, 1,75, 2,5 e 5,0 B/L dos lixiviados de bitucas de cigarros fumados (representado com quadrados pretos e curva vermelha), e de bitucas de cigarros não fumados (identificado com os triângulos azuis e curva verde), assim como do tratamento controle (quadrados pretos e curva vermelha apenas no último gráfico).



Fonte: Elaborada pela autora (2024).

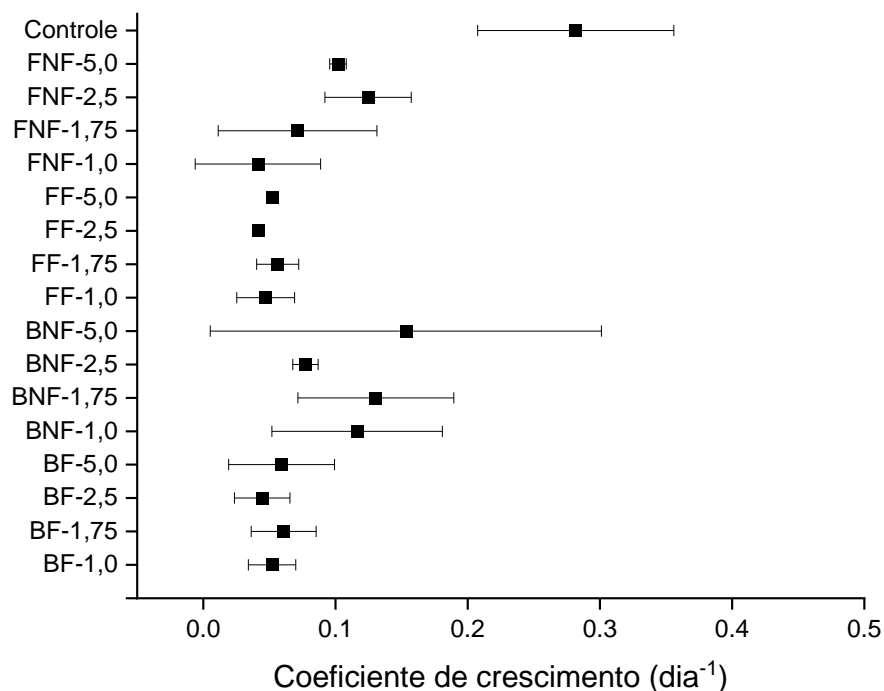
Tabela 3 – Valores de p do Teste de Comparação Múltipla de Dunn para as análises de área média foliar acumulada entre os tratamentos dos lixiviados de bitucas de cigarros fumados (BF) e bitucas de cigarros não fumados (BNF), nas concentrações de 1,0, 1,75, 2,5 e 5,0 B/L. (ns) representa valores não significativos de p.

		BF (B/L)				BNF (B/L)			
		1,0	1,75	2,5	5,0	1,0	1,75	2,5	5,0
BF (B/L)	1,0	-	ns	ns	ns	0,003	0,001	$3,16 \times 10^{-5}$	$8,86 \times 10^{-6}$
	1,75	-	-	ns	ns	0,007	0,002	$8,66 \times 10^{-5}$	$2,59 \times 10^{-5}$
	2,5	-	-	-	ns	0,003	0,001	$2,7 \times 10^{-5}$	$5,96 \times 10^{-6}$
	5,0	-	-	-	-	0,004	0,001	$4,34 \times 10^{-5}$	$1,24 \times 10^{-5}$
BNF (B/L)	1,0	-	-	-	-	-	ns	ns	0,016
	1,75	-	-	-	-	-	-	ns	ns
	2,5	-	-	-	-	-	-	-	ns
	5,0	-	-	-	-	-	-	-	-

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

De forma geral, os coeficientes de crescimento de *S. auriculata* foram reduzidos na presença das bitucas. As macrófitas do TC apresentaram valor de $0,28 \pm 0,07 \text{ d}^{-1}$ e as submetidas ao lixiviado de BF, de acordo com as concentrações de 1,0, 1,75, 2,5 e 5,0 B/L, registraram valores de $0,05 \pm 0,02 \text{ d}^{-1}$, $0,06 \pm 0,02 \text{ d}^{-1}$, $0,04 \pm 0,02 \text{ d}^{-1}$, e $0,06 \pm 0,04 \text{ d}^{-1}$ (Figura 11). Desse modo, o coeficiente foi reduzido em 81,51%, 78,41%, 84,17% e 78,69%, respectivamente. Para as plantas submetidas ao lixiviado de BNF, identificaram-se valores de $0,12 \pm 0,06 \text{ d}^{-1}$, $0,13 \pm 0,06 \text{ d}^{-1}$, $0,08 \pm 0,01 \text{ d}^{-1}$, e $0,15 \pm 0,38 \text{ d}^{-1}$, ou seja, diminuições de 58,68%, 53,66%, 72,55%, e 45,55%, em relação ao controle, nas concentrações de 1,0, 1,75, 2,5 e 5,0 B/L.

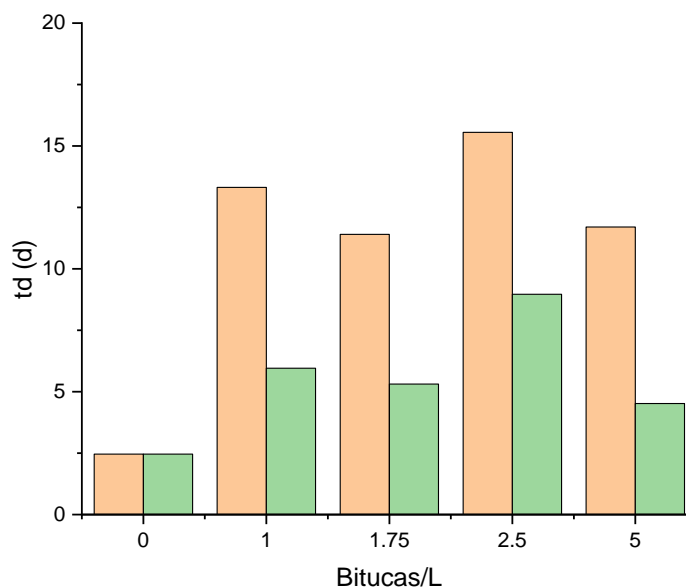
Figura 11 – Valores do coeficiente de crescimento μ (d^{-1}) do tratamento controle, e dos tratamentos com lixiviados de bitucas de cigarros fumados (BF) e não fumados (BNF), e filtros de cigarros fumados (FF) e não fumados (FNF) nas concentrações de 1,0, 1,75, 2,5 e 5,0 B/L ou F/L.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Analisando as quatro concentrações dos dois tipos de lixiviado, as de BNF registraram maiores reduções dos valores médios da área foliar das macrófitas em cerca de 39,02% ($p = 0,003$), 40,05% ($p = 0,002$), 48,42% ($p = 2,17 \times 10^{-5}$) e 50,31% ($p = 1,24 \times 10^{-5}$). Entretanto, a velocidade de crescimento da macrófita (i.e., coeficiente de crescimento) apresentou maiores reduções no lixiviado de BF, com uma diferença de 22,83%, 24,75%, 11,62% e 53,14% em relação aos coeficientes das macrófitas no lixiviado de BNF, de acordo com o aumento da concentração de bitucas. Conseqüentemente, o tempo de duplicação da *S. auriculata* no lixiviado de BF aumentou em até 6,3 vezes em relação ao TC, sendo necessário um período máximo de 15,6 dias para a *S. auriculata* duplicar sua biomassa (Figura 12). Para as macrófitas submetidas às BNF, o período máximo de duplicação apresentou um valor de 9 dias, um aumento de 3,6 vezes em relação ao TC.

Figura 12 – Valores do tempo de duplicação do tratamento controle, e dos tratamentos com lixiviado de bitucas de cigarros fumados (representados em cor rosa) e de bitucas de cigarros não fumados (representados em cor verde), nas concentrações de 1,0, 1,75, 2,5 e 5,0 B/L.



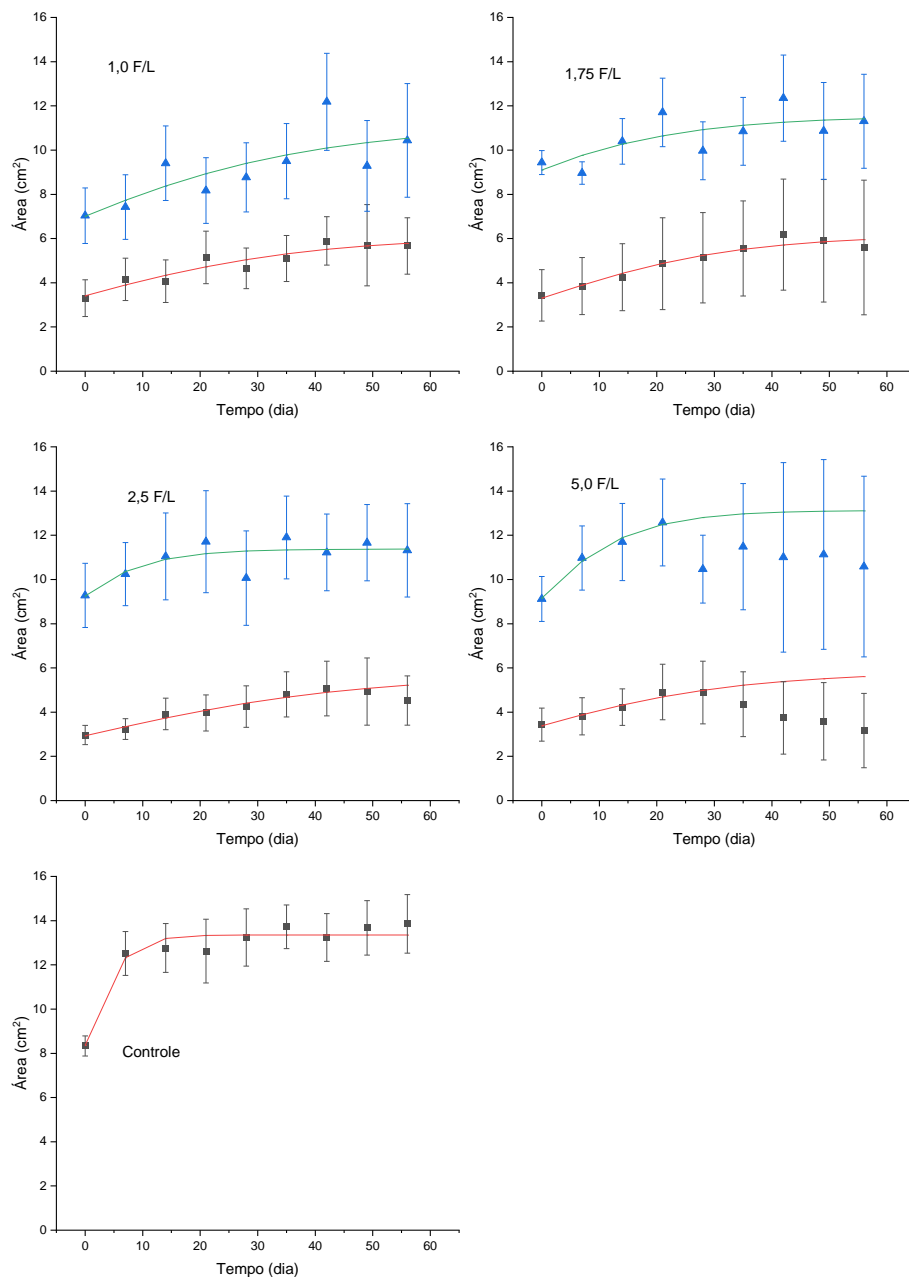
Fonte: Elaborado pela autora (2024).

6.2.2 Lixiviado de filtros de cigarros fumados e não fumados

As áreas foliares das macrófitas no lixiviado de filtros de cigarros fumados (FF), também foram reduzidas, em relação ao TC (Figura 13). Para as macrófitas nas concentrações de 1,0, 1,75, 2,5 e 5,0 F/L foram registradas médias de $4,74 \text{ cm}^2 \text{ dia}^{-1}$ ($p = 0,004$), $4,85 \text{ cm}^2 \text{ dia}^{-1}$ ($p = 0,001$), $4,20 \text{ cm}^2 \text{ dia}^{-1}$ ($p = 1,89 \times 10^{-4}$), e $4,03 \text{ cm}^2 \text{ dia}^{-1}$ ($p = 1,29 \times 10^{-5}$), reduções de 62,56%, 61,66%, 66,86%, e 68,16%. Não foram registradas diferenças significativas entre as concentrações do lixiviado de FF. Para as *S. auriculata* submetidas ao lixiviado de filtros de cigarros não fumados (FNF), as médias da área foliar foram $9,14 \text{ cm}^2 \text{ dia}^{-1}$ ($p = 1,53 \times 10^{-5}$), $10,65 \text{ cm}^2 \text{ dia}^{-1}$ ($p = 0,006$), $10,94 \text{ cm}^2 \text{ dia}^{-1}$ ($p = 0,027$), e $11,00 \text{ cm}^2 \text{ dia}^{-1}$ ($p = 0,027$) para as concentrações de 1,0, 1,75, 2,5 e 5,0 F/L, ou seja, diminuições de 27,85%, 15,88%, 13,60%, e 13,03% em relação à média do TC.

Em relação ao coeficiente de crescimento, o contato com o lixiviado de FF o reduziu para os valores de $0,05 \pm 0,02 \text{ d}^{-1}$, $0,06 \pm 0,02 \text{ d}^{-1}$, $0,04 \pm 0,003 \text{ d}^{-1}$, $0,05 \pm 0,004 \text{ d}^{-1}$ nas concentrações de 1,0, 1,75, 2,5 e 5,0 F/L (reduções de 83,25%, 80,03%, 85,11% e 81,51%, respectivamente, em comparação com o TC), como pode ser visualizado na Figura 11 citada anteriormente. A velocidade de crescimento das *S. auriculata* também diminuiu na presença do lixiviado de FNF, sendo $0,04 \pm 0,05 \text{ d}^{-1}$, $0,07 \pm 0,06 \text{ d}^{-1}$, $0,12 \pm 0,03 \text{ d}^{-1}$, e $0,10 \pm 0,01 \text{ d}^{-1}$ (reduções de 85,32%, 74,66%, 55,74% e 63,80%) de acordo com o aumento das concentrações.

Figura 13 – Áreas foliares de crescimento acumulado da *Salvinia auriculata* nos bioensaios com concentrações de 1,0, 1,75, 2,5 e 5,0 F/L dos lixiviados de filtros de cigarros fumados (representado com quadrados pretos e curva vermelha), e não fumados (identificado com os triângulos azuis e curva verde), assim como do tratamento controle (quadrados pretos e curva vermelha apenas no último gráfico).

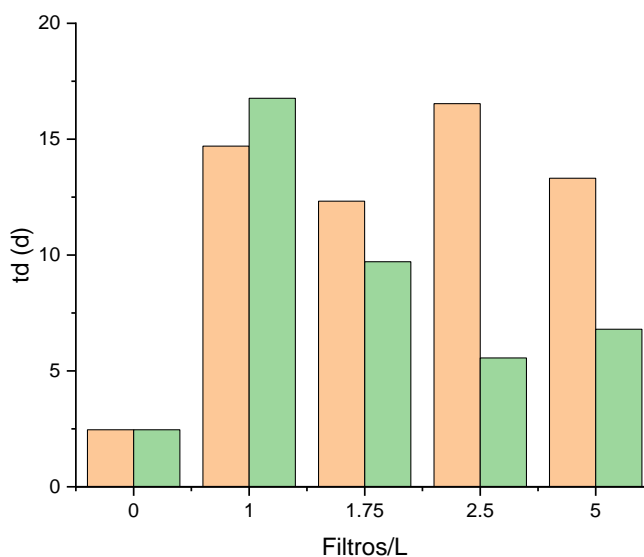


Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Como resultado da redução do coeficiente de crescimento, o tempo de duplicação das macrófitas aumentou em até 6,7 vezes no lixiviado de FF e 6,8 vezes no lixiviado de FNF (período

máximo de 16,5 dias e 16,8 dias para duplicação da biomassa, respectivamente), como mostra a Figura 14.

Figura 14 – Valores do tempo de duplicação (d) do tratamento controle, e dos tratamentos com lixiviado de filtros de cigarros fumados (representados em cor rosa) e de filtros de cigarros não fumados (representados em cor verde), nas concentrações de 1,0, 1,75, 2,5 e 5,0 F/L.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Analisando os dois tipos de lixiviados, o de FF registrou maiores reduções dos valores médios da área foliar acumulada: cerca de 34,71% ($p = 0,026$), 45,78% ($p = 4,81 \times 10^{-4}$), 53,26% ($p = 3,76 \times 10^{-5}$) e 55,08% ($p = 6,64 \times 10^{-6}$) (Tabela 4) a mais em relação ao lixiviado de FNF. Ademais, com exceção da concentração de 1,0 F/L, o lixiviado de FF, também, apresentou coeficientes de crescimento menores e tempo de duplicação mais prolongado em relação ao FNF.

Tabela 4 – Valores de p do Teste de Comparação Múltipla de Dunn para as análises de área média foliar acumulada entre os tratamentos dos lixiviados de filtro de cigarro fumado (FF) e filtro de cigarro não fumado (FNF), nas concentrações de 1,0, 1,75, 2,5 e 5,0 F/L. (ns) representa valores não significativos de p.

		FF (F/L)				FNF (F/L)			
		1,0	1,75	2,5	5,0	1,0	1,75	2,5	5,0
FF (F/L)	1,0	-	ns	ns	ns	0,028	0,001	$3,27 \times 10^{-4}$	$3,42 \times 10^{-6}$
	1,75	-	-	ns	ns	0,013	$4,81 \times 10^{-4}$	$1,23 \times 10^{-4}$	$1,29 \times 10^{-4}$
	2,5	-	-	-	ns	0,006	$1,61 \times 10^{-4}$	$3,76 \times 10^{-5}$	$3,94 \times 10^{-5}$
	5,0	-	-	-	-	0,002	$3,09 \times 10^{-5}$	$6,30 \times 10^{-6}$	$6,64 \times 10^{-6}$
FNF (F/L)	1,0	-	-	-	-	-	ns	0,034	0,034
	1,75	-	-	-	-	-	-	ns	ns
	2,5	-	-	-	-	-	-	-	ns
	5,0	-	-	-	-	-	-	-	-

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

6.2.3 Lixiviado de bitucas x Lixiviados de filtros

O lixiviado de FF interferiu em maior intensidade nas áreas foliares da *S. auriculata* em relação ao lixiviado de BF, com diferenças de 37,44% ($p = 0,002$), 38,34% ($p = 0,001$), 33,14% ($p = 1,35 \times 10^{-4}$) e 31,84% ($p = 5,03 \times 10^{-6}$) nos valores médios, entre as concentrações de 1,0, 1,75, 2,5 e 5,0 dos dois lixiviados (Tabela 5). Os coeficientes de crescimento, entretanto, apresentaram valores similares.

O lixiviado de BNF, por sua vez, apresentou maiores reduções nas áreas foliares acumuladas das macrófitas em relação ao lixiviado de FNF, sendo diferenças de 33,21% ($p = 1,58 \times 10^{-11}$), 48,42% ($p = 9,53 \times 10^{-12}$), 55,28% ($p = 9,53 \times 10^{-12}$), e 58,56% ($p = 9,53 \times 10^{-12}$) nas concentrações de 1,0, 1,75, 2,5 e 5,0 B/L ou F/L. O coeficiente de crescimento foi menor no lixiviado de FNF, com exceção da concentração de 2,5 F/L, que resultou em maiores tempos de duplicação em relação às demais concentrações.

Não foram registradas diferenças significativas entre os crescimentos acumulados das macrófitas nos lixiviados de BF e de FNF, e valores dos coeficientes foram similares. Entre os lixiviados de BNF e de FF, verificou-se que a média da área foliar acumulada da planta na concentração de 5,0 F/L foi 7,1% ($p = 0,015$) menor em relação à concentração de 1,0 B/L, e a de

5,0 B/L foi 9,08% ($p = 0,029$) menor em relação à concentração de 1,0 F/L. Além disso, o coeficiente de crescimento apresentou maior interferência no lixiviado de FF, aumentando em até 8,79 dias o tempo de duplicação da *S. auriculata*.

Tabela 5 – Valores de p do Teste de Comparação Múltipla de Dunn para as análises de área média foliar acumulada entre os tratamentos dos lixiviados de bituca de cigarro fumado (BF), bituca de cigarro não fumado (BNF), filtro de cigarro fumado (FF) e filtro de cigarro não fumado (FNF), nas concentrações de 1,0, 1,75, 2,5 e 5,0 B/L e F/L. (ns) representa valores não significativos de p.

		FF (F/L)				FNF (F/L)			
		1,0	1,75	2,5	5,0	1,0	1,75	2,5	5,0
BF (B/L)	1,0	0,002	0,001	$2,4 \times 10^{-4}$	$5,03 \times 10^{-5}$	ns	Ns	ns	ns
	1,75	0,003	0,001	$4,4 \times 10^{-4}$	$9,75 \times 10^{-5}$	ns	Ns	ns	ns
	2,5	0,001	0,001	$1,3 \times 10^{-4}$	$2,66 \times 10^{-5}$	ns	Ns	ns	ns
	5,0	0,002	0,001	$2,4 \times 10^{-4}$	$5,03 \times 10^{-5}$	ns	Ns	ns	ns
BNF (B/L)	1,0	ns	ns	ns	0,015	$1,58 \times 10^{-11}$	$9,53 \times 10^{-12}$	$9,53 \times 10^{-12}$	$9,53 \times 10^{-12}$
	1,75	ns	ns	ns	ns	$9,76 \times 10^{-12}$	$9,53 \times 10^{-12}$	$9,53 \times 10^{-12}$	$9,53 \times 10^{-12}$
	2,5	ns	ns	ns	ns	$9,56 \times 10^{-12}$	$9,53 \times 10^{-12}$	$9,53 \times 10^{-12}$	$9,53 \times 10^{-12}$
	5,0	0,029	ns	ns	ns	$9,54 \times 10^{-12}$	$9,53 \times 10^{-12}$	$9,53 \times 10^{-12}$	$9,53 \times 10^{-12}$

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

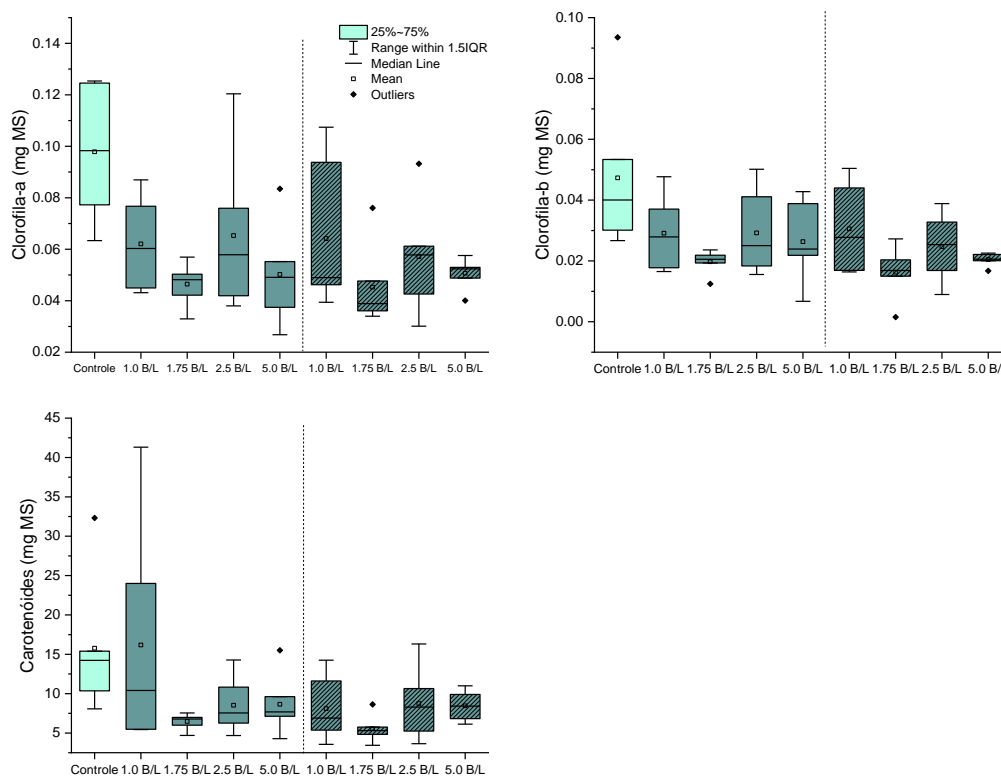
6.3 Teores dos pigmentos fotossintéticos

6.3.1 Lixiviado de bitucas de cigarros fumados e não fumados

Os teores de clorofila-a, clorofila-b e carotenoides estão representados por diagramas de caixa na Figura 15. As macrófitas do TC apresentaram um valor médio do teor de clorofila-a de 0,098 mg MS e, para as submetidas ao tratamento das BF, apenas na concentração de 1,75 B/L foi registrada diferença significativa ($p = 0,002$), com um valor médio de 0,046, uma redução de

52,71%. Não foram identificadas diferenças significativas entre as concentrações de BF (Apêndice A).

Figura 15 – Valores dos teores de clorofila-a (mg MS), clorofila-b (mg MS) e carotenóides (mg MS) do tratamento controle (cor verde claro) e das concentrações de 1,0, 1,75, 2,5 e 5,0 B/L dos lixiviados de bitucas de cigarros fumados (sem ranhuras) e de bitucas de cigarros não fumados (com ranhuras).



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Em relação ao lixiviado de BNF, de acordo com o aumento das concentrações, os teores médios da clorofila-a foram de 0,064 mg MS ($p = 0,030$), 0,045 mg MS ($p = 4,47 \times 10^{-4}$), 0,057 mg MS ($p = 0,030$) e 0,051 mg MS ($p = 0,015$), as diminuições foram de 34,63%, 53,73%, 41,57% e 48,21% em relação ao TC. Não foram registradas diferenças significativas entre as concentrações da BF e BNF.

Em relação à clorofila-b, o valor médio para o TC foi de 0,047 mg MS. Para as macrófitas com o lixiviado de BF, na concentração de 1,75 B/L, o valor foi de 0,019 mg MS ($p = 0,026$), uma redução de 58,26%. Apesar de ter diminuído a concentração média desse pigmento, nas outras concentrações do lixiviado, a diferença não foi considerada significativa. Para as macrófitas que cresceram no lixiviado de BNF, nas concentrações de 1,75, e 5,0 B/L, os valores médios da

clorofila-b foram de 0,016 mg MS ($p = 0,006$) e 0,021 mg MS ($p = 0,022$), que representam diminuições de 65,68% e 56,57% em relação ao TC. Não foram registradas diferenças significativas entre as concentrações das BF e BNF (Apêndice B).

Em relação aos carotenoides, as *S. auriculata* do TC apresentaram um valor médio de 15,76 mg MS, e as submetidas ao lixiviado de BF, embora tenham sido reduzidas, não houve diferença significativa. Para as macrófitas submetidas ao lixiviado de BNF, na concentração de 1,75 B/L, o valor médio dos carotenoides foi de 5,54 mg MS ($p = 0,009$), uma diminuição de 64,83% em relação ao TC. Analisando os dois tipos de lixiviados, houve diferença significativa apenas em relação aos carotenoides; a concentração de 1,75 B/L de BNF foi 67,42% menor em relação à de 1,0 B/L de BF ($p = 0,048$) (Apêndice C).

6.3.2 Lixiviado de filtros de cigarros fumados e não fumados

As *S. auriculata* na presença do lixiviado de FF apresentaram reduções na clorofila-a, com valores médios de 0,032 mg MS ($p = 0,010$), 0,041 mg MS ($p = 0,008$), 0,029 mg MS ($p = 0,012$), e 0,028 mg MS ($p = 0,001$), nas concentrações de 1,0, 1,75, 2,5 e 5,0 F/L, ou seja, reduções de 67,21%, 58,63%, 69,87% e 71,91% em relação ao valor médio do TC (Figura 16). No lixiviado de FNF, não houve diferenças significativas (Apêndice A).

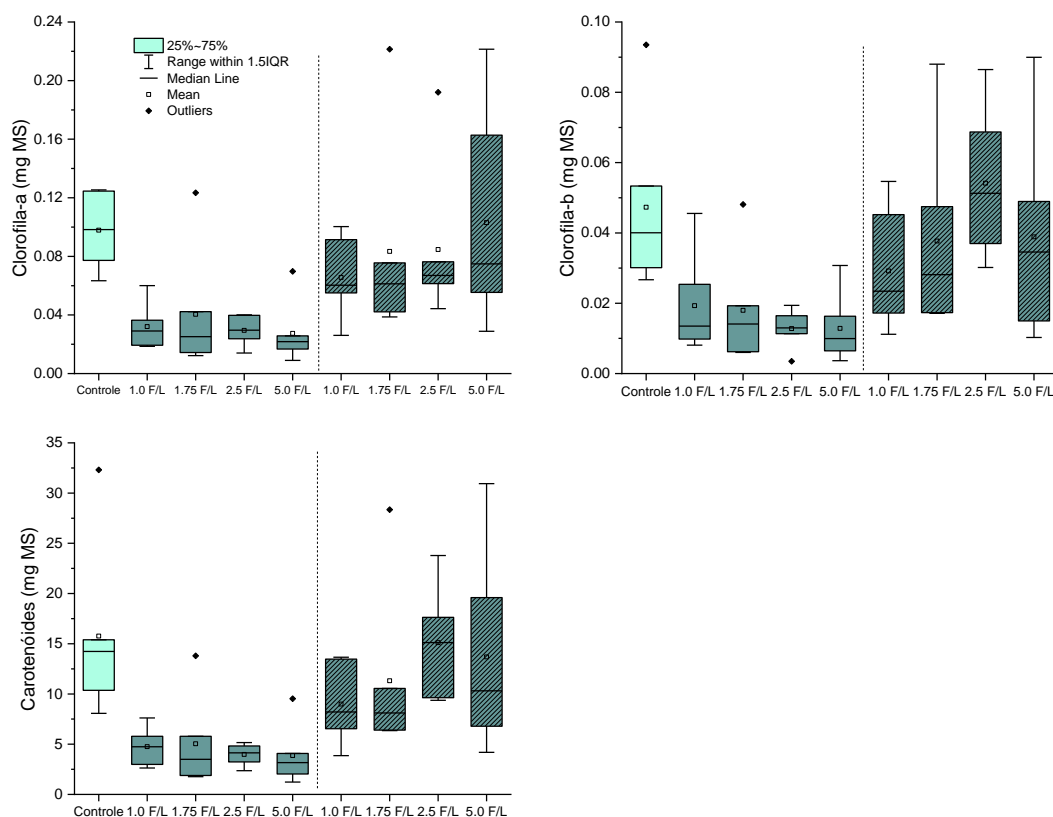
O padrão foi semelhante em relação à clorofila-b e aos carotenoides. Nas concentrações de 1,0, 1,75, 2,5 e 5,0 F/L do lixiviado de FF, os valores médios da clorofila-b das macrófitas foram de 0,019 mg MS ($p = 0,030$), 0,018 mg MS ($p = 0,013$), 0,012 mg MS ($p = 0,011$), e 0,0012 mg MS ($p = 0,003$), sendo reduções de 59,11%, 61,86%, 72,88% e 72,67%, respectivamente, em relação ao valor médio do TC (Apêndice B). Não houve diferenças significativas em relação ao lixiviado de FNF.

Em relação aos carotenoides, de acordo com o aumento da concentração do lixiviado de FF, houve reduções de 69,86% ($p = 0,020$), 68,05% ($p = 0,005$), 74,77% ($p = 0,007$), e 75,47% ($p = 0,001$) nos valores médios dos pigmentos (4,75 mg MS, 5,03 mg MS, 3,97 mg MS, e 3,86 mg MS) (Apêndice C). No lixiviado de FNF, a diferença significativa ($p = 0,045$) foi identificada na concentração de 2,5 F/L.

Analisando os dois tipos de lixiviados, os rametes de *S. auriculata*, crescendo no tratamento FF registraram maiores reduções nos valores médios dos pigmentos das macrófitas. Em relação à clorofila-a, por exemplo, o lixiviado de FF diminuiu em até 77,11% ($p = 0,005$) a mais do que o

FNF. Além disso, também reduziu a clorofila-b em até 87% ($p = 0,003$) a mais, e os carotenoides, em 70,59% ($p = 0,001$).

Figura 16 – Valores dos teores de clorofila-a (mg MS), clorofila-b (mg MS) e carotenoides (mg MS) do tratamento controle (cor verde claro) e das concentrações de 1,0, 1,75, 2,5 e 5,0 F/L dos lixiviados de filtros de cigarros fumados (sem ranhuras) e de filtros de cigarros não fumados (com ranhuras).



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

6.3.3 Lixiviado de bitucas x lixiviado de filtros

O lixiviado de FF apresentou uma maior interferência nos pigmentos fotossintéticos das *S. auriculata* em comparação com o de BF. Os valores médios da clorofila-a, por exemplo, foram submetidos a reduções de até 37% ($p = 0,013$) a mais; a clorofila-b, de até 35% ($p = 0,024$); e os carotenoides, de até 72,45% ($p = 0,020$) a mais em comparação com o lixiviado de BF. Comparando os lixiviados de BNF e FNF, por sua vez, observamos que o de bitucas interferiu em maior intensidade nos pigmentos das macrófitas, embora isso não tenha sido válido para todas as concentrações do lixiviado. Nas macrófitas que permaneceram no lixiviado de BNF, os valores

médios da clorofila-a, -b, e carotenoides foram diminuídos em até 59% ($p = 0,021$), 80% ($p = 0,020$) e 60,65% ($p = 3,9 \times 10^{-4}$) a mais.

Analisando os lixiviados de BF e FNF, embora nem todas as concentrações apresentassem uma interferência sempre maior, os pigmentos fotossintéticos apresentaram maiores reduções em suas concentrações, quando entraram em contato com o lixiviado de bitucas. Os valores médios da clorofila-a e os carotenoides foram diminuídos em até 58% ($p = 0,038$), e 91,84% ($p = 0,041$) a mais em relação aos pigmentos do lixiviado de FNF. Já entre os lixiviados de FF e BNF, foi visto que o lixiviado de FF resultou em uma maior interferência nos pigmentos fotossintéticos das macrófitas. Reduções de até 37% ($p = 0,040$), 38% ($p = 0,015$), e 29,05% ($p = 0,003$) foram registradas para os valores médios da clorofila-a, -b, e carotenoides.

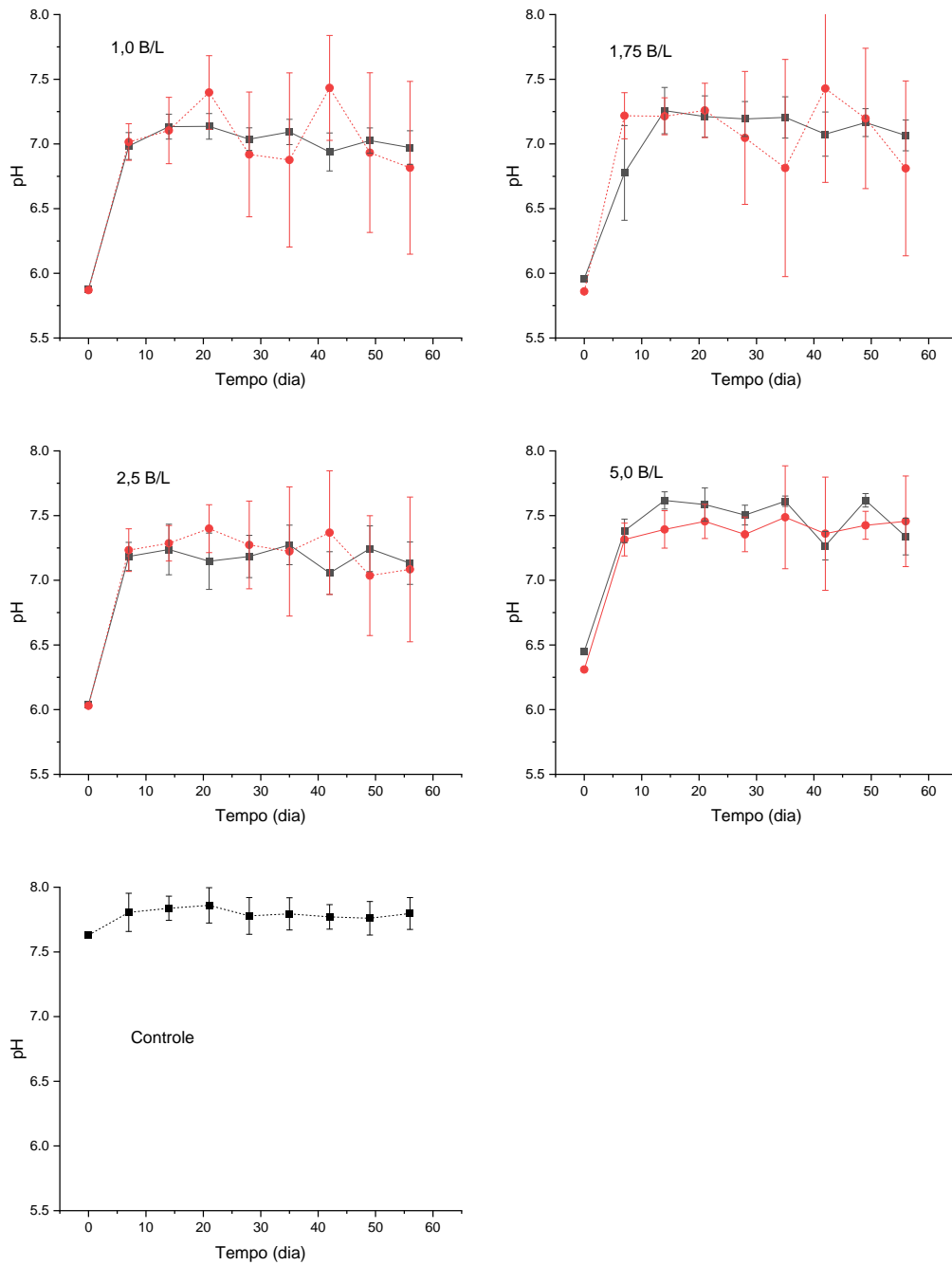
6.4 Determinação do pH

O TC apresentou um meio mais básico, com média de 7,78, sempre acima de 7,5 e abaixo de 8,0 durante as nove semanas de monitoramento (Figura 17). As concentrações do lixiviado de BF de 1,0, 1,75 e 2,5 B/L apresentaram diferenças significativas ao TC, embora com valores médios aproximados de 6,91 ($p = 4,57 \times 10^{-7}$), 6,99 ($p = 6,76 \times 10^{-5}$), 7,05 ($p = 2,99 \times 10^{-4}$), além de uma maior variação durante as semanas e maior desvio padrão. O meio mais ácido dos lixiviados foi apresentado no primeiro dia do experimento, e, após a primeira semana, se tornou mais básico.

No lixiviado de BNF, uma maior acidez foi observada nas quatro concentrações em relação ao TC: 6,93 ($p = 1,10 \times 10^{-5}$), 6,98 ($p = 1,52 \times 10^{-5}$), 7,10 ($p = 3,55 \times 10^{-4}$) e 7,29 ($p = 0,025$) para os tratamentos com 1,0, 1,75 e 2,5 e 5,0 B/L. Os dados nas concentrações de bitucas apresentaram maior variação em relação ao TC. Comparando os lixiviados de BF e BNF, embora registradas algumas diferenças significativas entre tratamentos de concentrações diferentes (Apêndice D), ambos apresentaram valores médios similares de pH.

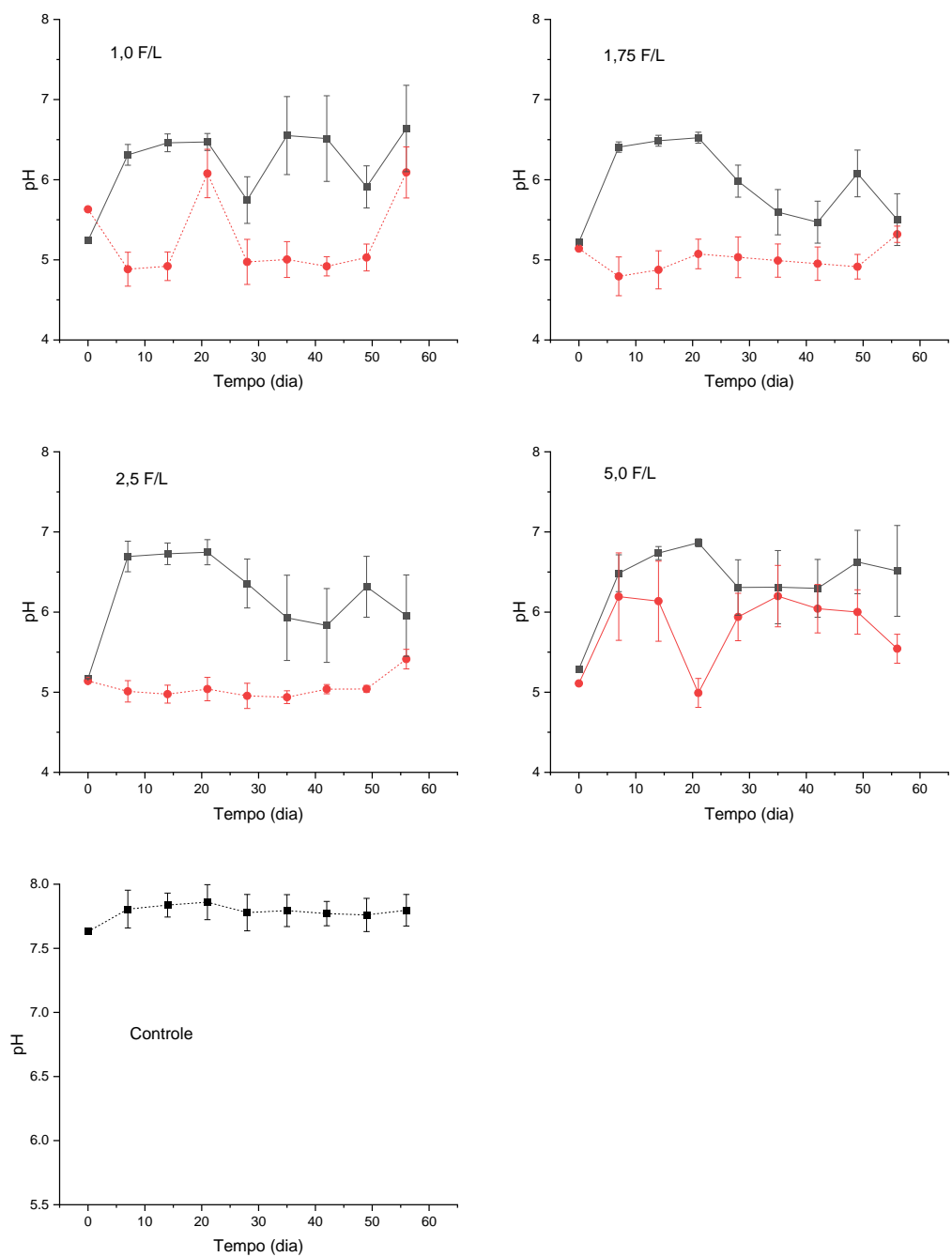
Nos bioensaios com lixiviado de FF, registraram-se valores médios de pH que também indicaram meio mais ácido em relação ao TC: 6,20 ($p = 3,55 \times 10^{-4}$), 5,92 ($p = 7,85 \times 10^{-6}$), 6,19 ($p = 4,07 \times 10^{-4}$), e 6,38 ($p = 3,06 \times 10^{-3}$), como pode ser visto na Figura 18. O menor valor de pH foi registrado no dia 0 e o meio se tornou mais básico na primeira semana.

Figura 17 – Valores do pH dos bioensaios nas concentrações de 1,0, 1,75, 2,5 e 5,0 B/L dos lixiviados de bitucas de cigarros fumados (representado com quadrados pretos) e não fumados (representado com círculos vermelhos), e no tratamento controle.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Figura 18 – Valores do pH dos bioensaios nas concentrações de 1,0, 1,75, 2,5 e 5,0 F/L dos lixiviados de filtros de cigarros fumados (representado com quadrados pretos) e não fumados (representado com círculos vermelhos), e no tratamento controle.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

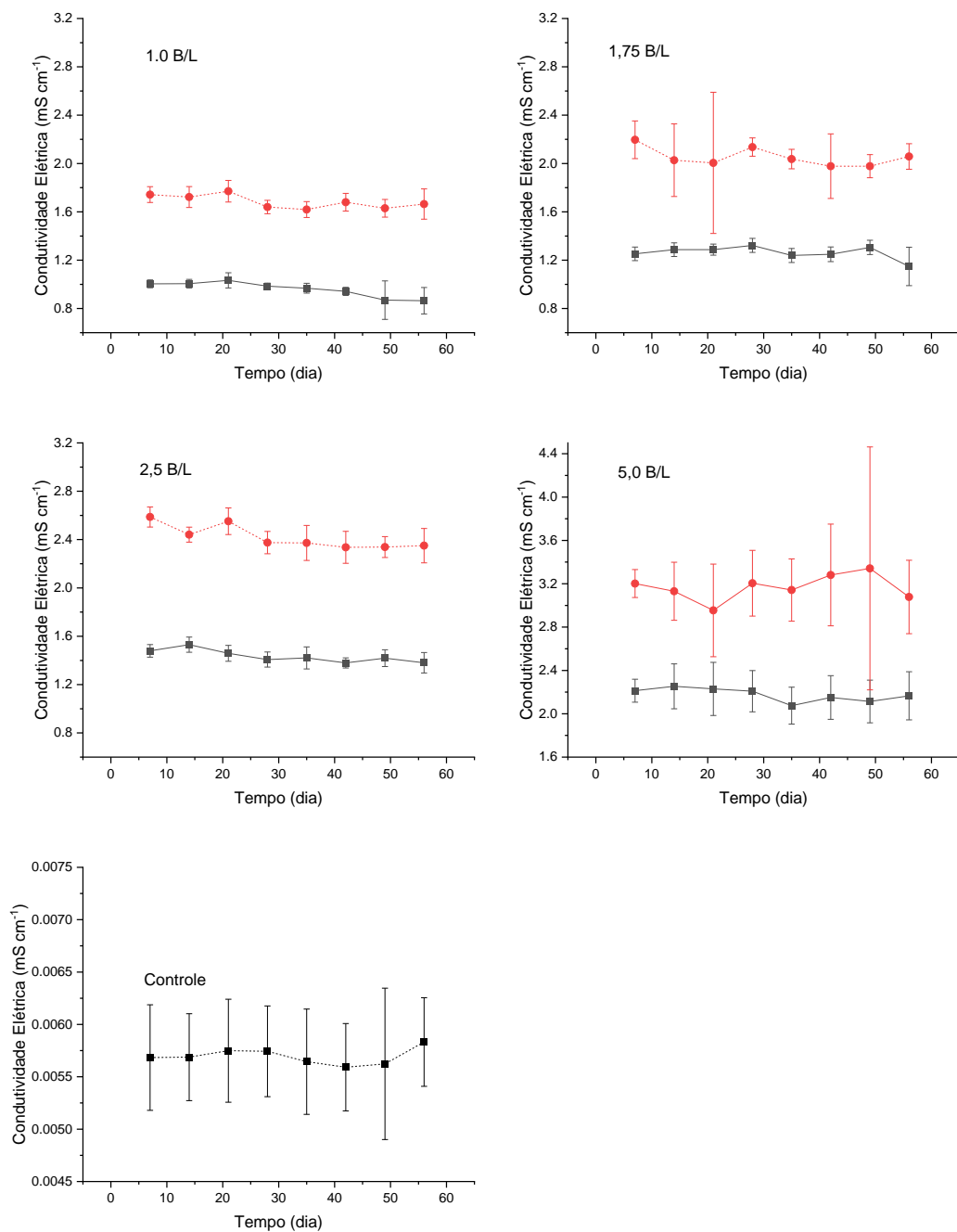
No lixiviado de FNF, também, foi apresentado um meio mais ácido comparado com o TC, sendo os valores médios do pH de: 5,20 ($p = 6,76 \times 10^{-5}$), 5,01 ($p = 5,36 \times 10^{-6}$), 5,06 ($p = 7,02 \times 10^{-5}$) e 5,79 ($p = 0,043$) para as concentrações de 1,0, 1,75, 2,5 e 5,0 F/L. Comparando os lixiviados de FF e FNF, foi verificado maior acidez nos bioensaios de FNF. Analisando os quatro tipos de lixiviados (BF, BNF, FF e FNF), os produzidos com filtros resultaram em meio mais ácido em comparação com aqueles produzidos com as bitucas, porém apresentaram um menor desvio padrão. Além disso, em nenhum caso o aumento da concentração dos lixiviados resultou, obrigatoriamente, na redução progressiva do pH.

6.5 Condutividade elétrica

O valor médio da condutividade elétrica do TC foi o menor de todos os tratamentos, sendo de $0,006 \text{ mS cm}^{-1}$, e não apresentou muita variação durante o experimento (Figura 19). Houve diferença significativa entre o TC e todas as concentrações do lixiviado de BF (1,0, 1,75, 2,5 e 5 B/L), que apresentaram médias mais elevadas de $0,96 \text{ mS cm}^{-1}$, $1,26 \text{ mS cm}^{-1}$, $1,44 \text{ mS cm}^{-1}$, e $2,18 \text{ mS cm}^{-1}$ ($p = 0$ para as quatro concentrações). As concentrações de 1,75, 2,50 e 5,0 B/L do lixiviado de BNF também apresentaram diferença significativa em relação ao TC, com valores médios de CE de $2,06 \text{ mS cm}^{-1}$ ($p = 5,99 \times 10^{-3}$), $2,42 \text{ mS cm}^{-1}$ ($p = 3,75 \times 10^{-5}$) e $3,17 \text{ mS cm}^{-1}$ ($p = 3,87 \times 10^{-8}$).

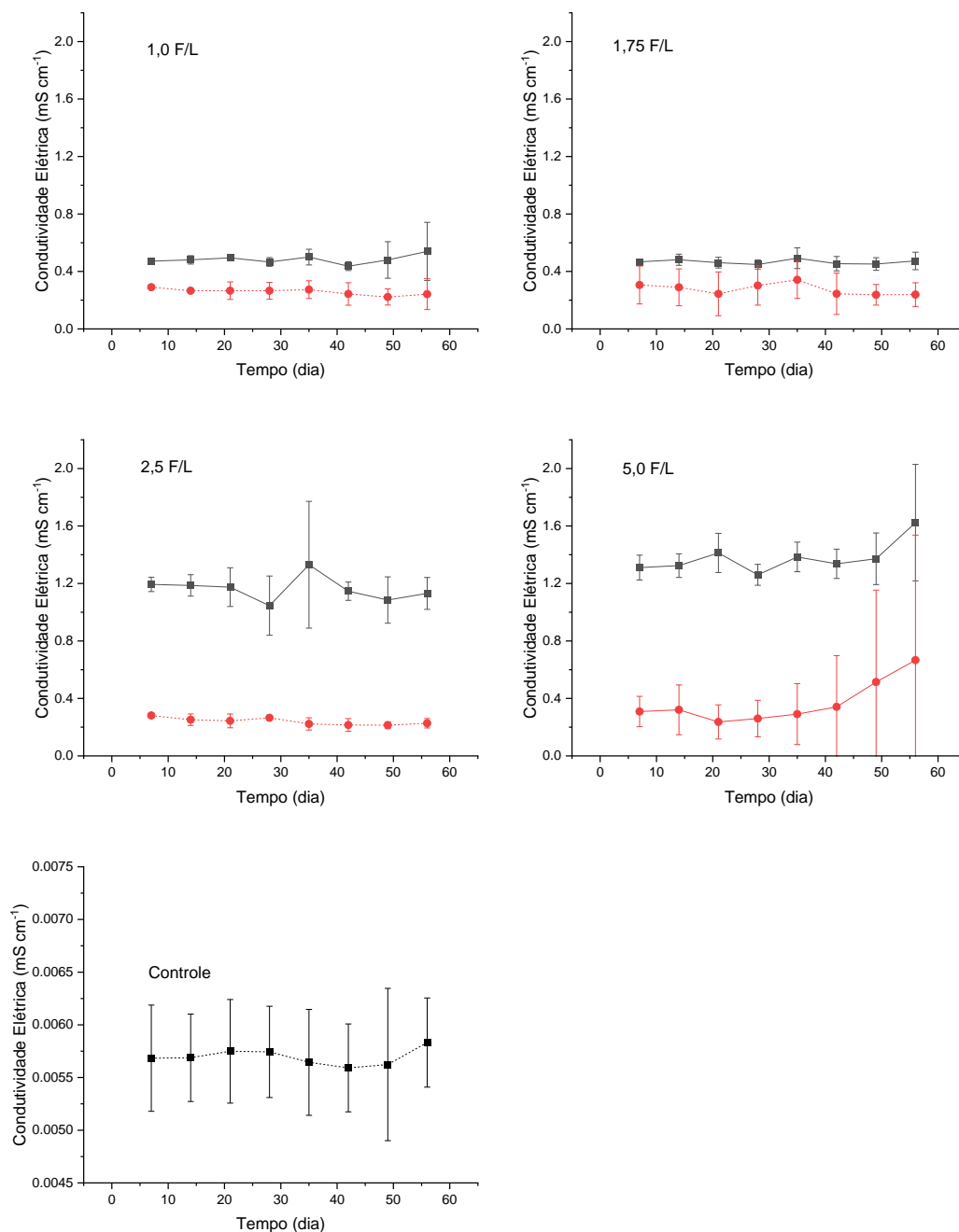
Nos bioensaios com lixiviado de FF também foram identificadas diferenças significativas ($p = 0$), com médias de $0,48 \text{ mS cm}^{-1}$, $0,47 \text{ mS cm}^{-1}$, $1,16 \text{ mS cm}^{-1}$, e $1,38 \text{ mS cm}^{-1}$ nas concentrações de 1,0, 1,75, 2,5 e 5,0 F/L (Figura 20). Nos bioensaios com lixiviado de FNF, de acordo com o aumento das concentrações, os valores médios da CE foram de $0,26 \text{ mS cm}^{-1}$ ($p = 1,75 \times 10^{-3}$), $0,28 \text{ mS cm}^{-1}$ ($p = 2,43 \times 10^{-3}$), $0,24 \text{ mS cm}^{-1}$ ($p = 2,69 \times 10^{-2}$), e $0,37 \text{ mS cm}^{-1}$ ($p = 1,56 \times 10^{-6}$).

Figura 19 – Valores da condutividade elétrica (mS cm^{-1}) dos bioensaios nas concentrações de 1,0, 1,75, 2,5 e 5,0 B/L dos lixiviados de bitucas de cigarros fumados (representado com quadrados pretos) e não fumados (representado com círculos vermelhos), e no tratamento controle.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Figura 20 – Valores da condutividade elétrica (mS cm^{-1}) dos bioensaios nas concentrações de 1,0, 1,75, 2,5 e 5,0 F/L dos lixiviados de filtros de cigarros fumados (representado com quadrados pretos) e não fumados (representado com círculos vermelhos), e no tratamento controle.



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

7 DISCUSSÃO

7.1 Coleta de bitucas

A maior quantidade de bitucas descartadas incorretamente no município de São Carlos foi registrada na instituição hospitalar, já que é comum a presença de fumantes nas proximidades de hospitais (CHU et al., 2018), sendo a maioria visitantes e funcionários (PODER et al., 2012). O consumo de cigarros pode estar relacionado a diversos estressores, como problemas familiares, financeiros, de trabalho, entre outros (SLOPEN, et al., 2013). A ansiedade e o estresse também podem aumentar o consumo de tabaco (YACH, 2020), o que condiz com as bitucas encontradas na Avenida Getúlio Vargas e na UFSCar, ambientes de comércio e fluxo estudantil, respectivamente. A pressão existente nos ambientes de trabalho resulta no estresse ocupacional (FERRAZ et al., 2014), dessa maneira, é comum o consumo de cigarros entre trabalhadores (KOUVONEN et al., 2004). A população universitária também apresenta grande consumo do tabaco, que pode se iniciar anterior ou posteriormente ao ingresso na universidade, e se intensificar durante o período universitário (WAGNER; ANDRADE, 2008). A presença de bitucas nas áreas da praça e da marginal também foi condizente com resultados prévios de locais com grande circulação e densidade da população (VALIENTE, et al., 2020).

7.2 Crescimento da *Salvinia auriculata*

Os lixiviados de bitucas e filtros de cigarros (tanto fumados quanto não fumados), em contato com indivíduos da *S. auriculata*, indiziram uma redução na área e velocidade de crescimento da macrófita, aumentando o tempo de duplicação. Com exceção do lixiviado de FNF, os outros três tipos de lixiviados apresentaram efeito negativo, em ao menos um tipo de pigmento fotossintético, além de aumentar a condutividade elétrica e acidez do meio de crescimento, o que pode ter influenciado na resposta de crescimento das *S. auriculata* em relação aos meios de crescimento testados. Entre os lixiviados de BF e BNF, e de FF e FNF, as maiores interferências no crescimento das macrófitas foram observadas nos lixiviados de FF, respectivamente.

Efeitos adversos das bitucas de cigarro em outras espécies de plantas também já foram registrados. A *Lolium perene* L. e a *Trifolium repens* L., por exemplo, quando expostas a esse resíduo, apresentaram reduções de 10% e 29% no sucesso de germinação e de 13% e 28% no comprimento do broto, respectivamente (GREEN et al., 2019). A germinação de sementes e o comprimento das raízes da *Vicia faba* também foram reduzidas em contato com o lixiviado de

bitucas de cigarros (MANSOURI et al., 2020). No entanto, Jakimiuk et al. (2022) comprovaram que a *Sinapis alba* L. e a *Hordeum vulgare* L. podem ter a germinação de sementes estimulada em contato com lixiviados de baixa concentração (3 B/L), demonstrando que é possível ocorrer o fenômeno de hormese. Esse fenômeno consiste em uma resposta de duas fases de acordo com a dosagem do composto, i.e., o indivíduo apresenta estimulação em doses baixas e inibição em doses altas da substância (CALABRESE; BALDWIN, 1997).

Esse efeito também foi observado para a macrófita *Lemna minor*, que aumentou sua biomassa, comprimento das raízes e número de folhas em meio ao lixiviado de 1,0 B/L (GREEN et al., 2023), já que alguns estressores, dependendo da dose, podem estimular o seu crescimento (LIANG et al., 2022). No caso da *S. auriculata*, todas as concentrações de bitucas por litro reduziram a sua área acumulada e o seu coeficiente de crescimento, sendo que na concentração de 2,5 e 5,0 B/L foi registrada a senescência das macrófitas. Analisando os dois lixiviados de bitucas de cigarros fumados e não fumados, houve maior redução no coeficiente de crescimento da *S. auriculata* no lixiviado de BF, enquanto a área foliar foi mais reduzida em contato com as BNF. Dessa maneira, ao contrário da hipótese ii do estudo (o lixiviado de BF iria reduzir mais o crescimento da macrófita em relação ao de BNF), cada lixiviado apresentou maior interferência em aspectos diferentes do crescimento da *S. auriculata*.

A interferência das bitucas de cigarro no crescimento da *S. auriculata* pode ser derivada da presença de substâncias potencialmente tóxicas em sua composição, como os metais (SOLEIMANI et al., 2022). O Cd, por exemplo, pode diminuir a quantidade de novos rametes e ocasionar na clorose foliar (WOLF et al., 2012). Também podem estar presentes nas bitucas os compostos carbonílicos, como o formaldeído (VENUGOPAL et al., 2021), que reduz a biomassa das macrófitas (SINGH et al., 2008) e fenóis (DEMIRCI; MORKAN, 2013; VENUGOPAL et al., 2021), que podem diminuir a quantidade de clorofila, multiplicação das folhas, além de induzir a clorose, e necrose da planta (PARK et al., 2012). O próprio tabaco pode incluir outras substâncias nas bitucas, já que consiste em uma das culturas em que mais se aplicam os herbicidas e pesticidas (DÁVILA et al., 2020). A redução do crescimento da *S. auriculata* também pode ter sido uma estratégia para absorver menos compostos potencialmente tóxicos, já que suas folhas submersas são responsáveis pela absorção de água e íons (WOLF et al., 2012).

Potencialmente, esses compostos podem permanecer nas bitucas de cigarro, uma parte sendo retida no filtro (SOLEIMANI et al., 2022), e afetar o desenvolvimento das plantas. Dessa maneira,

o filtro se torna outra via, além do resto de tabaco, que pode interferir em diversos processos de desenvolvimentos dos organismos aquáticos (LEE; LEE, 2015). No caso dos FNF, apesar de não reterem produtos derivados da combustão, sua toxicidade pode ser proveniente da lixiviação de plastificantes presentes na sua composição (GREEN et al., 2021), ou então das microfibras liberadas nos lixiviados (BELZAGUI et al., 2021). Gomes et al. (2023) comprovaram que os microplásticos reduzem o crescimento e clorofila-b da *S. auriculata*, provavelmente pela menor absorção de nutrientes devido à aderência das partículas nos filamentos das raízes, à diminuição do número e comprimento das raízes, à adsorção de elementos químicos necessários para a macrófita na superfície dos microplásticos e ao aumento de espécies reativas de oxigênio (ROS).

Em contato com o lixiviado de filtros de cigarros, a *Penaeus vannamei* aumentou a frequência de mudas, já que esse processo pode remover alguns químicos adsorvidos na carapaça (KIM et al., 2023). Assim como nas bitucas com resto de tabaco, o efeito também é dependente da espécie: concentrações abaixo do valor de 1,0 F/L foram letais para o microcrustáceo *Daphnia magna* (BEZALGUI et al., 2021), entretanto, não afetou o crescimento da macroalga *Ulva lactuca* (GREEN et al., 2021).

Para as *S. auriculata*, baixas concentrações de FF e FNF reduziram o crescimento das macrófitas e a partir de 5,0 F/L foi observado a senescência das plantas. Em geral, tanto o coeficiente de crescimento quanto a área acumulada foram menores no lixiviado de FF, confirmando parte da hipótese iii do estudo, ou seja, o crescimento da *S. auriculata* sofreu maior redução no lixiviado de FF em relação ao de FNF. A maior toxicidade do FF, também, foi registrada por outros autores (LAWAL; OLOGUNDUDU, 2013; OLIVA et al., 2021), já que a pirólise do cigarro pode originar novos compostos (POPPENDIECK et al., 2016) e o filtro pode reter uma parte dessas substâncias (LEE; LEE, 2015).

Analisando os lixiviados de bitucas e de filtros de cigarros, em geral, o lixiviado derivado de filtros de cigarros fumados apresentou maior interferência no crescimento da *S. auriculata*. Assim, ao contrário da hipótese iv, os filtros dos cigarros apresentam maior potencial de toxicidade para a *S. auriculata* em relação à bituca (com resto de tabaco). Embora alguns estudos considerem o resto de tabaco potencialmente mais tóxico para alguns organismos, em relação ao filtro (LEE; LEE, 2015; REGISTER, 2000; SLAUGHTER et al., 2011), as microfibras derivadas dos filtros dos cigarros podem aumentar a toxicidade do lixiviado em até 4 vezes (BELZAGUI et al., 2021). Os microplásticos podem potencializar a toxicidade de diversos compostos, como os metais, em

macrófitas aquáticas (DONG et al., 2020; KALCIKOVÁ et al., 2020).

Entretanto, também devemos considerar a possibilidade das microfibras, quando combinadas ao resto do tabaco, apresentar um efeito antagônico, o que poderia explicar o motivo dos lixiviados de BF e BNF, que continham resto de tabaco e filtros, não apresentarem maior toxicidade em relação ao lixiviado de FF (sem resto de tabaco, apenas os filtros). Dessa maneira, as microfibras combinadas com os compostos dos filtros e resíduos da combustão podem ter resultado em um efeito sinérgico, porém com o resto do tabaco, em efeitos antagônicos. Li et al. (2020), por exemplo, registraram que microplásticos de poliestireno e o plastificante ftalato de dibutila apresentaram interação sinérgica para o crescimento da microalga *Chlorella pyrenoidosa* quando a concentração das micropartículas foi menor a 10 mg L^{-1} e interação antagônica em concentrações altas do poliestireno, já que, no último caso, a biodisponibilidade do plastificante foi 20% menor. Além disso, individualmente, as micropartículas de plástico podem reduzir a fotossíntese através da obstrução do estômato (WANG et al., 2022) e inibição de funções das raízes (DONG et al., 2020), o que pode resultar em redução do crescimento da planta. Entretanto, tanto os efeitos sinérgicos e antagônicos entre as microfibras e compostos das bitucas, quanto o papel individual das micropartículas necessitam de futuras investigações.

Ademais, o aumento da concentração de bitucas e filtros por litro não reduziu, obrigatoriamente, mais em relação à menor concentração. Os efeitos do lixiviado de bitucas é dependente da espécie do organismo sendo estudado (BEZALGUI et al., 2021; GREEN et al., 2021) sendo que alguns organismos aquáticos podem sobreviver, durante um período, em concentrações mais altas que 20 B/L (OLIVA et al., 2021). No caso do presente estudo, a maior concentração (5,0 B/L) talvez ainda não seja suficientemente alta para observar uma redução linear no crescimento da *S. auriculata* em relação ao aumento da concentração de bitucas por litro.

A variação da composição das bitucas de cigarro também pode ter influenciado, já que varia de acordo com a produção do cigarro e de seu consumo (POPPENDIECK et al., 2016). As condições de queima, influenciada pela permeabilidade do papel de embrulho do cigarro (XIA et al., 2012) e pelo diâmetro do cigarro (COGGINS et al., 2013), determinaram a temperatura da combustão, que, por sua vez, resultam em subprodutos variados (POPPENDIECK et al., 2016). Com temperatura máxima de 800°C em condições laboratoriais (HERTZ et al., 2012), a combustão do cigarro pode apresentar valores abaixo de 300°C , facilitando a liberação de nicotina, 400°C , resultando na formação de fenóis, e acima de 600°C , originando os hidrocarbonetos (BAKER, 1987; HERTZ et

al., 2012).

Além da temperatura de combustão, o ambiente no qual as bitucas são expostas influenciam sua composição química final, independentemente do lote de produção do cigarro (POPPENDIECK et al., 2016). De acordo com as propriedades do consumo do cigarro (e.g., duração de intervalo entre as inalações, e a velocidade e duração das inalações) modificam-se alguns compostos liberados na fumaça (CZOGAŁA; WARDAS, 1993), e, portanto, também há possibilidade de transformação dos químicos nas bitucas. No presente estudo, o ambiente de exposição foi o mesmo para todos os tratamentos, porém, a temperatura de combustão, e a velocidade e duração das inalações não foram monitoradas durante o processo do fumo do cigarro. Assim, para os lixiviados produzidos com bitucas ou filtros de cigarros fumados, nem todos da mesma concentração, podem apresentar composição química idêntica, embora semelhantes. Isso também poderia explicar a redução não linear da área, velocidade de crescimento, clorofila-a e -b e carotenoides em relação ao aumento da concentração de bitucas por litro, já que há potencial de que a maior concentração apresente químicos de menor toxicidade em relação à menor concentração.

7.3 Pigmentos fotossintéticos

A não dependência em relação ao aumento de concentração dos lixiviados também foi registrada nos pigmentos fotossintéticos dos organismos em contato com as bitucas e filtros de cigarro (GREEN et al., 2019; GREEN et al., 2023). A *L. minor*, por exemplo, ao mesmo tempo em que apresentou aumento na clorofila-a, não obteve alteração no teor da clorofila-b; a *L. perene*, por sua vez, sofreu reduções apenas na clorofila-b (GREEN et al., 2023). Essa variação também foi verificada para a *S. auriculata*, já que os três tipos de lixiviados interferiram ao menos em um tipo de pigmento (clorofila-a, -b, e carotenoides), mas não obrigatoriamente em todos. Esse resultado também pode ser um indício de que os lixiviados interferem em outros mecanismos relacionados ao crescimento da macrófita, como o pH e a condutividade elétrica da solução.

7.4 pH e Condutividade elétrica

Assim como neste estudo, outros ensaios registraram a redução do pH (LAWAL; OLOGUNDUDU, 2013; QUÈMÉNEUR et al., 2020). Desta maneira, apenas o TC apresentou um valor de pH do meio de crescimento mais próximo da neutralizada, que seria favorável para o desenvolvimento da *S. auriculata* (BINI et al., 1999). Em relação à condutividade, embora tenha

sido registrado nos lixiviados valores próximos ($0,44 \text{ mS cm}^{-1}$) identificados em ambientes naturais (POZO-GARCÍA et al., 2022), o aumento deste parâmetro em relação ao tratamento controle do estudo pode indicar a entrada de grandes concentrações de íons (PINAFFI et al., 2020) derivados das diversas substâncias potencialmente tóxicas que estão presentes nas bitucas e filtros de cigarros.

Outra possibilidade seria a ocorrência de ROS (ZEZULKA et al., 2013), visto que alguns componentes da bituca, como os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAH's), podem interferir na bioquímica da macrófita. O fluoranteno, por exemplo, em contato com a *L. minor*, resultou na produção do peróxido de hidrogênio e o ânion radical superóxido e, conseqüentemente, aumento da atividade das enzimas antioxidantes (MIGUEL et al., 2010). Outros mecanismos influenciadores também podem ser considerados. A adição de metais em soluções com sais dissolvidos, por exemplo, pode intensificar o estresse iônico na planta, já que alguns são capazes de bloquear o transporte de nutrientes e água (MIGUEL et al., 2010). O distúrbio iônico nas membranas celulares resulta em menor produção de energia, reduzindo o crescimento e a produção de biomassa (LARCHER, 2000).

8 CONCLUSÕES

Os rametes da *S. auriculata* que cresceram sem o lixiviado de bitucas ou filtros de cigarro apresentaram os maiores valores médios de área foliar acumulada, coeficiente de crescimento, pigmentos fotossintéticos, e menor tempo de duplicação. O meio de crescimento do tratamento controle, também apresentou condutividade elétrica e pH mais favoráveis ao desenvolvimento das macrófitas. Em geral, os lixiviados de bitucas e filtros de cigarros fumados e não fumados interferiram em todos esses aspectos analisados, o que torna esses resíduos potencialmente tóxicos para o desenvolvimento da *S. auriculata*, e comprova a hipótese i do estudo.

Entre os lixiviados de bitucas de cigarros fumados e não fumados, não foi possível determinar qual apresentou maior potencial de toxicidade, já que o derivado de bitucas fumadas reduziu mais o coeficiente de crescimento da macrófita, enquanto a área foliar sofreu maior redução no lixiviado de bitucas não fumadas. Assim, a hipótese ii do estudo foi negada. Entre os lixiviados de filtros de cigarros fumados e não fumados, ambos os aspectos do crescimento da *S. auriculata* foram reduzidos em maior intensidade em contato com os filtros de cigarros fumados, corroborando com a hipótese iii do estudo. Analisando os lixiviados de bitucas e de filtros, e, ao contrário da hipótese iv do estudo, o derivado de filtros de cigarros fumados apresentou maior potencial prejudicial em

relação às bitucas com o resto de tabaco, embora não anule as consequências prejudiciais que o tabaco também resulta em contato com a macrófita.

Desse modo, os resultados indicam que as bitucas e filtros de cigarro interferiram no ciclo de crescimento da *S. auriculata*, o que pode impactar outras espécies que dependem ou se relacionam com a macrófita. O uso da *Salvinia* no estudo ecotoxicológico com as bitucas de cigarro é uma ferramenta prática para compreensão da atuação desse contaminante nos organismos e ecossistemas aquáticos, e a metodologia pode ser reproduzida em futuros estudos com outras espécies de macrófitas e outras marcas de cigarros. Estudos como esse são essenciais para entender como um dos contaminantes mais descartados inadequadamente no meio ambiente atua nos processos ecológicos dos ecossistemas aquáticos, e incentivar iniciativas de descarte e reciclagem adequada para reduzir seu impacto, sobretudo no desenvolvimento dos produtores primários.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, M. C. B.; COSTA, M. F. A critical review of the issue of cigarette butt pollution in coastal environments. **Environmental Research**, v. 172, p. 137-149, fev. 2019a.

ARAÚJO, M. C. B.; COSTA, M. F. From plant to waste: the long and diverse impact chain caused by tobacco smoking. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v.16, n. 15, p. 2690-2699, ago. 2019b.

BAKER, R. R. A review of pyrolysis studies to unravel reaction steps in burning tobacco. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 11, p. 555-573, out. 1987.

BEZALGUI, F.; BUSCIO, V.; GUTIÉRREZ-BOUZÁN, C.; VILASECA, M. Cigarette butts as a microfiber source with a microplastic level of concern. **Science of the Total Environment**, v. 762, p. 1-8, mar. 2021.

BIANCHINI JR, I.; CUNHA-SANTINO, M. B.; MILAN, J. A. M.; RODRIGUES, C. J. Growth of *Hydrilla verticillata* (L.f.) Royle under controlled conditions. **Hydrobiologia**, v. 644, p. 301–312, mar. 2010.

BINI, L. M.; THOMAZ, S. M.; MURPHY, K. J.; CAMARGO, A. F. M. Aquatic macrophyte distribution in relation to water and sediments conditions in the Itaipu Reservoir, Brazil. **Hydrobiologia**, v. 415, p. 147-154, jan. 1999.

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

BOOTH, D. J.; GRIBBEN, P.; PARKINSON, K. Impact of CB leachate on tidepool snails. **Marine Pollution Bulletin**, v. 95, n. 1, p. 362-364, jun. 2015.

CALABRESE, E. J.; BALDWIN, L. A. The dose determines the stimulation (and poison): development of a chemical hormesis database. **International Journal of Toxicology**, v. 16, n. 6, p. 545-559, nov. 1997.

CANCELLO, R.; SORANNA, D.; ZAMBRA, G.; ZAMBON, A.; INVITTI, C. Determinants of the lifestyle changes during COVID-19 pandemic in the residents of Northern Italy. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, n. 17, p. 1-13, ago. 2020.

- CAMARGO, A. F. M.; PEZZATO, M. M.; HENRY-SILVA, G. G.; ASSUMPÇÃO, A. M. Primary production of *Utricularia foliosa* L., *Egeria densa* Planchon and *Cabomba furcata* Schult & Schult.f from rivers of the coastal plain of the State of São Paulo, Brazil. **Hydrobiologia**, v. 570, p. 35-39, out. 2006.
- CAMARGO, A. F. M.; PEZZATO, M. M.; HENRY-SILVA, G. G. Fatores limitantes à produção primária de macrófitas aquáticas. Pp 85-126. In: THOMAZ, S. M.; BINI, L. M. (Org.). **Ecologia e manejo de macrófitas aquáticas**. Maringá: EDUEM, 2003. p. 341.
- CHAMBERS, P. A., LACOU, P., MURPHY, K. J., THOMAZ, S. M. Global diversity of aquatic macrophytes in freshwater. **Hydrobiologia**, v. 595, p. 9-26, dez. 2008.
- CHENG, D.; BAI, Y. X.; JIA, M.; CHEN, Y.; WANG, D.; WU, T.; WANG, G.; YANG, H. W. Potential risks of nicotine on the germination, growth, and nutritional properties of broad bean. **Ecotoxicological Environmental Safety**, v. 209, p. 1-10, fev. 2021.
- CHU, T. P.; CHEN, M. L.; LIN, Y. C.; CHEN, M. Y. The impact of innovative smoking reduction education at hospital entrances: a prospective pre- and post-test study design. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 15, n. 9, p. 1-10, set. 2018.
- COELHO, F. F.; LOPES, F. S.; SPERBER, C. F. Persistence strategy of *Salvinia auriculata* Aublet in temporary ponds of Southern Pantanal, Brazil. **Aquatic Botany**, v. 81, p. 343-352, abr. 2005.
- COGGINS, C. R. E.; MCKINNEY, W. J.; OLDHAM, M. J. A comprehensive evaluation of the toxicology of experimental, non-filtered cigarettes manufactured with different circumferences. **Inhalation Toxicology**, v. 25, n. 2, p. 69-72, dez. 2013.
- CORRAL, M. G.; LEROUX, J.; STUBBS, K. A.; MYLNE, J. S. Herbicidal properties of antimalarial drugs. **Scientific Reports**, v. 7, n.1, p. 1-9, mar. 2017.
- CUNHA-SANTINO, M. B.; BIANCHINI JR, I. Colonização de macrófita aquáticas em ambientes lênticos. **Boletim ABLimno**, v. 39, p. 1-14, 2011.
- CUNHA-SANTINO, M. B.; PACOBAHYBA, L. D.; BIANCHINI JR, I. Decomposition of aquatic macrophytes from Cantá stream (Roraima, Brazil): kinetics approach. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 22, n. 2, p. 236-345, jun. 2010.
- CZOGAŁA, J.; WARDAS, W. Exposure of smokers to phenols in cigarette smoke depending on

the conditions of smoking. **Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny**, v. 44, p. 253–259, 1993.

DAHLAWI, S., ALMULLA, A., ULLAH, S., SALAMA, K., LABIB, O., ALJASSIM, M., AKHTAR, A., ASGHAR, W., FARAJ, T.K., KHALID, N. Assessment of different heavy metals in cigarette filler and ash from multiple brands retailed in Saudi Arabia. **Journal of King Saud University Science**, v. 33, n. 6, p. 1-10, set. 2021.

DÁVILA, E. L.; HOUBRAKEN, M.; DE ROP, J.; WUMBEL, A.; DU LAING, G.; ROMERO, O. R. Pesticides residues in tobacco smoke: risk assessment study. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 192, n. 9, p. 1–15, set. 2020.

DEAL, L. M.; HESS, F. An analysis of the growth inhibitory characteristics of alachlor and metolachlor. **Weed Science**, v. 28, n. 2, p. 168-175, mar. 2017.

DEMIRCI, A.; MORKAN, B. Analysis of phenol in cigarette filter tar using QuEChERS sample preparation and high-performance liquid Chromatography/UV detection system. **Chemistry –An Asian Journal**, v. 25, n. 12, p. 6531–6534, jun. 2013.

DIENG, H.; RAJASAYGAR, S.; AHMAD, A. H.; RAWI, C. S. M.; AHMAD, H.; SATHO, T.; MIAKE, F.; ZUHARAH, W. F.; FUKUMITSU, Y.; SAAD, A. R.; HAMID, S. A.; VARGAS, R. E. M. V.; MAJID, A. H. A.; FADZLY, N.; KASSIM, N. F. A.; HASHIM, N. A.; GHANI, I. A.; ABANG, F. B.; BAKAR, S. A.; Indirect effects of cigarette butt waste on the dengue vector *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Acta Tropica**, v. 130, p. 123-130, fev. 2014.

DOBARADARAN, S.; NABIPOUR, I.; SAEEDI, R.; OSTOVAR, A.; KHORSAND, M.; KHAJEAHMADI, N.; HAYATI, R.; KESHTKAR, M. Association of metals (Cd, Fe, As, Ni, Cu, Zn and Mn) with CB in northern part of the Persian Gulf. **Tobacco Control**, v. 26, n. 4, p. 461-463, jul. 2017.

DONG, Y.; GAO, M.; SONG, Z.; QIU, W. Microplastic particles increase arsenic toxicity to rice seedlings. **Environmental Pollution**, v. 259, p. 1-11, abr. 2020.

ENGLER, R. E. The complex interaction between marine debris and toxic chemicals in the ocean. **Environmental Science and Technology**, v. 46, n. 22, p. 12302–12315, nov. 2012.

ESPINOZA-QUIÑONES, F. R.; MÓDENES, A. N.; THOMÉ, L. P., PALÁCIO, S. M.; TRIGUEROS, D. E. G.; OLIVEIRA, A. P.; SZYMANSKI, N. Study of the bioaccumulation kinetic of lead by living aquatic macrophyte *Salvinia auriculata*. **Chemical Engineering Journal**, v. 150, p. 316-322, ago. 2009.

ESTEVEZ, F. A. Fundamentos de Limnologia. Rio de Janeiro: FINEP, 1998.

FERRAZ, F. C.; FRANCISCO, F. R.; OLIVEIRA, C. S. Estresse no ambiente de trabalho. **Archives of Health Investigation**, v. 3, n.5, p. 1-8, out. 2014.

FERREIRA, C. S.; CUNHA-SANTINO, M. B. Monitoramento da qualidade da água do rio Monjolinho: a limnologia como uma ferramenta para a gestão ambiental. **Revista de estudos ambientais**, v. 16, n. 1, p. 27-37, jan./jun. 2014.

FORNO, I. W. Native distribution of the *Salvinia auriculata* complex and keys to species identification. **Aquatic Botany**, v. 17, p. 71-83, set. 1983.

GALAZYN-SIDORCZUK, M.; BRZOSKA, M. M.; MONIUSZKO-JAKONIUK, J. Estimation of polish cigarettes contamination with cadmium and lead, and exposure to these metals via smoking. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 137, n. 1-3, p. 481-493, fev. 2008.

GIMENES, L. L. S.; FRESCHI, G. P. G.; BIANCHINI JR, I.; CUNHA-SANTINO, M. B. Growth of the aquatic macrophyte *Ricciocarpos natans* (L.) Corda in different temperatures and in distinct concentrations of aluminum and manganese. **Aquatic Toxicology**, v. 224, p. 1-8, jul. 2020.

GOMES, A. R.; FREITAS, I. N.; LUZ, T. M.; GUIMARÃES, A. T. B.; ARAÚJO, A. P. C.; KAMARAJ, C.; RAHMAN, M. M.; ISLAM, A. R. M. T.; ARIAS, A. H.; SILVA, F. B.; KARTHI, S.; CRUZ-SANTIAGO, O.; SILVA, F. G.; MALAFAIA, G. Multiple endpoints of polyethylene microplastics toxicity in vascular plants of freshwater ecosystems: a study involving *Salvinia auriculata* (Salviniaceae). **Journal of Hazardous Materials**, v. 450, p. 1-16, mai. 2023.

GREEN, A. L. R.; PUTSCHEW, A.; NEHLS, T. Littered CB as a source of nicotine in urban water. **Journal of Hidrology**, v. 519, p. 3466-3474, nov. 2014.

GREEN, D. S.; BOOTS, B.; CARVALHO, J.; STARKEY, T. Cigarette butts have adverse effects on initial growth of perennial ryegrass (gramineae: *Lolium perene* L.) and white clover (leguminosae: *Trifolium repens* L.). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 182, n. 1, p. 1-8, jul. 2019.

GREEN, D. S.; BOOTS, B.; OLHA-KOVACS, B.; PALMA-DIOGO, D. Disposable e-cigarettes and cigarette butts alter the physiology of an aquatic plant *Lemna minor* (Lemnaceae). **Science of The Total Environment**, v. 892, p. 1-9, set. 2023.

GREEN, D. S.; KREGTING, L.; BOOTS, B. Effects of cigarette butts on marine keystone species (*Ulva lactuca* L. and *Mytilus edulis* L.) and sediment microphytobenthos. **Marine Pollution Bulletin**, v. 165, p. 1-5, fev. 2021.

GREEN, D. S.; TONGUE, A. D. W.; BOOTS, B. The ecological impacts of discarded cigarette butts. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 37, n. 2, p. 183-192, fev. 2022.

HERTZ, R.; STREIBEL, T.; LIU, C.; MCADAM, K.; ZIMMERMANN, R. Microprobe sampling-photo ionization-time-of-flight mass spectrometry for in situ chemical analysis of pyrolysis and combustion gases: examination of the thermo-chemical processes within a burning cigarette. **Analytical Chimica Acta**, v. 714, p. 104-113, fev. 2012.

HU, J.; CHEN, J.; WANG, W.; ZHU, L. Mechanism of growth inhibition mediated by disorder of chlorophyll metabolism in rice (*Oryza sativa*) under the stress of three polycyclic aromatic hydrocarbons. **Chemosphere**, v. 329, p. 1-9, jul. 2023.

HUANG, H.; LIANG, H.; LIU, X.; YU, Y. Determination of VOCs in cigarette tipping paper by HS-GC/MS. **Acta Tabacaria Sinica**, v. 20, n.1, p. 15–20, fev. 2014.

JAKIMIUK, A.; BULAK, A.; BAROSO, P. M.; PODLASEK, A.; VAVERKOVÁ, M. D. Impact of cigarette butts on plant germination based on *Snapsis alba* L. and *Hordeum bulgare* L. seeds. **Journal of Ecological Engineering**, v. 23, p. 226-237, 2022.

JÚNIOR, E. G. M.; POTT, A.; SEVERIC, W.; ZICKELD, C. S. Response of aquatic macrophyte biomass to limnological changes under water level fluctuation in tropical reservoirs. **Brazilian Journal of Biology**, v. 79, n.1, p. 120-126, mar. 2019.

KALCIKOVÁ, G.; SKALAR, T.; MAROLT, G.; KOKALJ, A. J. Environmental concentration of aged microplastics with adsorbed silver significantly affects aquatic organisms. **Water Research**, v. 175, p. 1-9, mai. 2020.

KIM, L.; KIM, S. A.; NA, Y-J. Microfibers from cigarette butts can induce exoskeleton alteration in whiteleg shrimp (*Penaeus vannamei*). **Marine Pollution Bulletin**, v. 197, n. 4, dez. 2023.

- KIRK, J. T. O. **Light and photosynthesis in aquatic ecosystems**. Cambridge: Cambridge University Press, 1994.
- KOUVONEN, A.; KIVIMAKI, M.; VIRTANEN, M.; PENTTI, J.; VAHTERA, J. Work stress, smoking status, and smoking intensity: an observational study of 46190 employees. **Journal of Epidemiology and Community Health**, v. 59, n.1, p. 63-69, jan. 2004.
- LACOU, P.; FREEDMAN, B. Environmental influences on aquatic plants in freshwater ecosystems. **Environmental Reviews**, v. 14, n. 2, p. 89-136, jun. 2006.
- LARCHER, W. **Plant Ecophysiology (Ecofisiologia Vegetal)**. São Carlos: RIMA, 2000.
- LAWAL, M. S.; OLOGUNDUDU, S. O. Toxicity of cigarette filter leachates on *Hymenochirus curtipes* and *Clarias gariepinus* in Nigeria. **Journal of Environmental Extension**, v. 11, p. 7-14, jul. 2013.
- LEE, W.; LEE, C. C. Developmental toxicity of cigarette butts – An underdeveloped issue. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 113, p. 362-368, mar. 2015.
- LESIV, M. S.; POLISHCHUK, A. I.; ANTONYAK, H. L. Aquatic macrophytes: ecological features and functions. **Studia Biologica**, v. 14, n. 2, p. 79-94, jun. 2020.
- LI, Z.; YI, X.; ZHOU, H.; CHI, T.; LI, W.; YANG, K. Combined effect of polystyrene microplastics and dibutyl phthalate on the microalgae *Chlorella pyrenoidosa*. **Environmental Pollution**, v. 257, p. 1-10, fev. 2020.
- LIANG, J.; LI, Y.; XIE, P.; LIU, C.; YU, L.; MA, X. Dualistic effects of bisphenol A on growth, photosynthetic and oxidative stress of duckweed (*Lemna minor*). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, p. 87717-87729, jul. 2022.
- LICHTENTHALER, H. K.; BUSCHMANN, C. Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, v.1, n. 1, p. F4.3.1-F4.3.8, nov. 2001.
- MANSOURI, N.; ETEBARI, M.; EBRAHIMI, A.; EBRAHIMPOUR, K.; RAHIMI, B.; HASSANZADEH, A. Genotoxicity and phytotoxicity comparison of cigarette butt with cigarette ash. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, p. 40383-40391, jul. 2020.
- MARTIN, T. N.; FIPKE, G. M.; WINCK, J. E. M.; MÁRCHESE, J. A. Image J software as an

alternative method for estimating leaf area in oats. **Acta Agronómica**, v. 69, n. 3, p. 162-169, jul. 2020.

MEDEIROS, J. C. C.; SILVA, J. C. F.; TEODORO, G. S.; COELHO, F. F. Effects of shade on individual ramet growth on clonal growth of the aquatic fern *Salvinia auriculata* (Salviniaceae). **American Fern Journal**, v. 107, n. 1, p. 21-29, mai. 2017.

MIGUEL, P. S. B.; GOMES, F. T.; ROCHA, W. D.; MARTINS, S. C.; DE CARVALHO, E. C. A.; DE OLIVEIRA, A. V. Efeitos tóxicos do alumínio no crescimento das plantas: mecanismos de tolerância, sintomas, efeitos fisiológicos, bioquímicos e controles genéticos. **CES Revista**, v. 24, p. 12–30, 2010.

MILER, O.; ALBAYRAK, I.; NIKORA, V.; O'HARE, M. Biomechanical properties and morphological characteristics of lake and river plants: implications for adaptations to flow conditions. **Aquatic Sciences**, v. 76, p. 465-481, mar. 2014.

MONTALVÃO, M. F.; SAMPAIO, L. L. G.; GOMES, H. H. F.; MALAFAIA, G. An insight into the cytotoxicity, genotoxicity, and mutagenicity of smoked cigarette butt leachate by using *Allium cepa* as test system. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, n. 2, p. 2013-2021, nov. 2018.

MORIWAKI, H.; KITAJIMA, S.; KATAHIRA, K. Waste on the roadside, 'poi-sute'waste: its distribution and elution potential of pollutants into environment. **Waste Management**, v. 29, n. 3, p. 1192–1197, mar. 2009.

NOVOTNY, T. E.; SLAUGHTER, E. Tobacco product waste: an environmental approach to reduce tobacco consumption. **Current Environmental Health Reports**, v. 1, n. 3, p. 208-216, mai. 2014.

O'BRIEN, J. M.; LESSARD, J. L.; PLEW, D.; GRAHAM, E.; MCINTOSH, A. R. Aquatic macrophytes alter metabolism and nutrient cycling in lowland streams. **Ecosystems**, v. 17, p. 405-417, dez. 2013.

OCEAN CONSERVANCY. **Cleanup Reports**. Ocean Conservancy, Washington, D. C., 2022. Disponível em: https://oceanconservancy.org/wp-content/uploads/2021/09/Annual-Report_FINAL_Digital.pdf. Acesso em 02 abr. 2024.

- OLIVA, M.; DE MARCHI, L.; CUCCARO, A.; PRETTI, C. Bioassay-based ecotoxicological investigation on marine and freshwater impact of cigarette butt littering. **Environmental Pollution**, v. 288, p. 1-7, nov. 2021.
- ORTH, R. J.; CARRUTHERS, T. J. B.; DENNISON, W. C.; DUARTE, C. M.; FOURQUREAN, J. W.; HECK JR, K. L.; HUGHES, A. R.; KENDRICK, G. A.; KENWORTHY, W. J.; OLYARNIK, S.; SHORT, F. T.; WAYCOTT, M.; WILLIAMS, S. L. A global crisis for seagrass ecosystems. **BioScience**, v. 56, n. 12, dez. 2006.
- OTOMO, J. I.; JESUS, T. A.; COELHO, L. H. G.; MONTEIRO, L. R.; HUNTER, C.; HELWIG, K.; ROBERTS, J.; PAHL, O. Effect of eight common brazilian drugs on *Lemna minor* and *Salvinia auriculata* growth. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, p. 43747-43762, abr. 2021.
- PARK, J. S.; BROWN, M. T.; HAN, T. Phenol toxicity to the aquatic macrophyte *Lemna paucicostata*. **Aquatic Toxicology**, v. 106-107, p. 182-188, jan. 2012.
- PARKER, T. T.; RAYBURN, J. A comparison of electronic and traditional cigarette butt leachate on the development of *Xenopus laevis* embryos. **Toxicology Reports**, v. 4, p. 77-82, jan. 2017.
- PEREIRA, S. A.; TRINDADE, C. R. T.; ALBERTONI, E. F.; PALMA-SILVA, C. Aquatic macrophytes as indicators of water quality in subtropical shallow lakes, Southern Brazil. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 24, n. 1, p. 52-63, mar. 2012.
- PINAFFI, C. D.; SCANDELAIB, A. P. J.; SANTOS, C. H. Seasonal performance of aquatic macrophytes in improving physicochemical parameters of swine wastewater. **Brazilian Journal of Biology**, v. 80, n. 4, p.897-906, abr. 2020.
- PODER, N.; CARROLL, T.; WALLACE, C.; HUA, M. Do smoke-free environment policies reduce smoking on hospital grounds? Evaluation of a smoke-free health service policy at two Sydney hospitals. **Australia Health Review**, v. 36, p. 158–162, mai. 2012.
- POM, J. P. S.; BECHERUCCI, M. E. Spatial and temporal variations of urban litter in Mar del Plata, the major coastal city of Argentina. **Waste Management**, v. 32, n. 2, p. 343-348, fev. 2012.
- POMPÊO, M. Monitoramento e manejo de macrófitas aquáticas. *Oecologia Brasiliensis*, v. 12, n. 3, p. 406-424, 2008.

POPPENDIECK, D., KHURSHID, S., EMMERICH, S. **Measuring airborne emissions from cigarette butts: literature review and experimental plan.** National Institute of Standards and technology, US Department of Commerce, Gaithersburg, USA, 2016.

POZO-GARCÍA, M. I.; POSADA-GARCÍA, J. A.; CASELLES-OSORIO, A. Spatial and temporal variation of the macrophyte assemblage in Santo Tomás, a wetland in the Caribbean Colombian. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 34, n. 22, p. 1-14, out. 2022.

PRESS, W. H. L., FLANNERY, B. P., TEUKOLSKY, S. A., VETTERLING, W. T. **Numerical recipes in C: The art of scientific computing.** New York: Cambridge University Press, 1993.

PULS, J.; WILSON, S. A.; HOLTER, D. Degradation of cellulose acetate-based materials: a Review. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 19, p. 152-165, nov. 2010.

QUÉMÉNEUR, M.; CHIFFLET, S.; AKROUT, F.; BELLAAJ-ZOUARI, A.; BELHASSEN, M. Impact of cigarette butts on microbial diversity and dissolved trace metals in coastal marine sediment. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 240, p. 1-8, ago. 2020.

RATH, J. M.; RUBENSTEIN, R. A.; CURRY, L. E.; SHANK, S. E.; CARTWRIGHT, J. C. Cigarette litter: smoker's attitudes and behaviors. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 9, n. 6, p. 2189-2203, jun. 2012.

REGISTER, K. Cigarette butts as littler-toxic as well as ugly? **Bulletin of the American Littoral Society**, v. 25, p. 24-29, ago. 2000.

REJMÁNKOVÁ, E. The role of macrophytes in wetland ecosystems. **Journal of Ecology and Field Biology**, v. 34, n. 4, p. 333-345, jun. 2011.

RUEDEN C. T.; SCHINDELIN J.; HINER M. C.; DEZONIA B. E.; WALTER A. E.; ARENA E. T.; ELICEIRI K. W. Im-ageJ2: ImageJ for the next generation of scientific image data. **BMC Bioinformatics**, v. 18, n. 529, p. 1-26, nov. 2017.

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**, v. 15, n. 3, p. 682-696, set. 2011.

SCHNEIDER C. A.; RASBAND W. S.; ELICEIRI K. W. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. **Nature Methods**, v. 9, p. 671–675, jun. 2012.

- SCULTHORPE, C. D. **The biology of aquatic vascular plants**. Londres: Edward Arnold, 1967.
- SINGH, B. B.; CHANDRA, R.; SHARMA, Y. K. Effect of pyridine and formaldehyde on a macrophyte (*Lemna minor* L.) and a sludge worm (*Tubifex tubifex* müller) in fresh water microcosms. **Applied Ecology and Environmental Research**, v. 6, n. 2, p. 21-35, jan. 2008.
- SLAUGHTER, E.; GERSBERG, R. M.; WATANABE, K.; RUDOLPH, J.; STRANSKY, C.; NOVOTNY, T. E. Toxicity of cigarette butts, and their chemical components, to marine and freshwater fish. **Tobacco Control**, v. 20, n. 1, p. i25-i29, nov. 2011.
- SLOPEN, N.; KONTOS, E. Z.; RYFF, C. D.; AYANIAN, J. Z.; ALERT, M. A.; WILLIAMS, D. R. Psychosocial stress and cigarette smoking persistence, cessation, and relapse over 9-10 years: A prospective study of middle-aged adults in the United States. **Cancer Causes & Control**, v. 24, p. 1849-1863, jul. 2013.
- SMALHEISER, N. **Data literacy: how to make your experiments robust and reproducible**. Academic Impress, 2017.
- SOARES, D. C. F., OLIVEIRA, E. F., SILVA, G. D. F., DUARTE, L. P., POTT, V. J., FILHO, S. A. V. *Salvinia auriculata*: aquatic bioindicator studied by instrumental neutron activation analysis (INAA). **Applied Radiation and Isotopes**, v. 66, n. 5, p. 561-564, mai. 2008.
- SOLEIMANI, F.; DOBARADARAN, S.; D-E-LA-TORRE, G. E.; SCHIMIDT, T. C.; SAEEDI, R. Content of toxic components of cigarette, cigarette smoke vs. cigarette butts: A comprehensive systematic review. **Science of Total Environment**, v. 813, p. 1-25, mar. 2022.
- SOTA, E. R.; PAZOS, L. A. C. Contribucion al conocimiento de las Salviniaceae neotropicales VI. *Salvinia martynii*. **Darwiniana**, v. 31, n. 1-4, p. 315-320, 1992.
- SUÑE, N.; SÁNCHEZ, G.; CAFFARATTI, S.; MAINE, M. A. Cadmium and chromium removal kinetics from solution by two aquatic macrophytes. **Environmental Pollution**, v. 145, n. 2, p. 467-473, jan. 2007.
- THOMAZ, S. M.; PAGIORO, T. A.; BINI, L. M.; MURPHY, K. J. Effects of reservoir drawdown on biomass of three species of aquatic macrophytes in a large sub-tropical reservoir (Itaipu, Brazil). **Hydrobiologia**, v. 570, p. 53-59, mar. 2006.

TURNER, A.; CUNDELL, A. L. Cigarette filter fibers as a source and sink of trace metals in coastal water. **Chemosphere**, v. 349, p. 1-7, fev. 2024.

VALIENTE, R.; ESCOBAR, F.; PEARCE, J.; BILAL, U.; FRANCO, M.; SUREDA, X. Estimating and mapping cigarette butt littering in urban environments: a GIS approach. **Environmental Research**, v. 183, p. 1-33, abr. 2020.

VENUGOPAL, P. D.; HANNA, S. K.; GAGLIANO, G. G.; CHANG, H. W. No butts on the beach: aquatic toxicity of cigarette butt leachate chemicals. **Tobacco Regulatory Science**, v. 7, n. 1, p.17–30, jan. 2021.

VMAZAL, J. Emergent plants used in free water surface constructed wetlands: A review. **Ecological Engineering**, v. 61, p. 582-592, 2013.

WAGNER, G. A.; ANDRADE, A. G. D. Uso de álcool, tabaco e outras drogas entre estudantes universitários brasileiros. **Revista de Psiquiatria Clínica**, v. 35, n.1, p. 48-54, 2008.

WANG, R.; YANG, L.; GUO, M.; LIN, X.; WANG, R.; GUO, S. Effects of microplastic properties and dissolved organic matter on phosphorus availability in soil and aqueous mediums. **Environmental Pollution**, v. 340, n. 2, p. 1-8, jan. 2024.

WANG, Y.; XIANG, L.; WANG, F.; WANG, Z.; BIAN, Y.; GU, C.; WEN, X.; KENGARA, F. O.; SCHAFFER, A.; JIANG, X.; XING, B. Positively charged microplastics induce strong lettuce stress responses from physiological, transcriptomic, and metabolic perspectives. **Environmental Science and Technology**, v. 56, p. 16907-16918, nov. 2022.

WETZEL, R. G.; LIKENS, G. E. **Limnological Analysis**. New York, Springer Verlag, 1991.

WETZEL, R. G. **Limnology: Lake and River Ecosystems**. San Diego, Academic Press, 2011.

WOLF, G. P.; PEREIRA, G. C.; CASTRO, E. M.; LOUZADA, J.; COELHO, F. F. The use of *Salvinia auriculata* as a bioindicator in aquatic ecosystems: biomass and structure dependent on the cadmium concentration. **Brazilian Journal of Biology**, v. 72, n. 1, p. 71-77, fev. 2012.

WRIGHT, S. L.; ROWE, D.; MALCOLM, J. R.; THOMAS, K. V.; GALLOWAY, T. S. Bioaccumulation and biological effects of cigarette litter in marine worms. **Scientific Reports**, v. 5, n. 14119, p. 1-10, set. 2015.

XI, Y.; DIAO, L.; WANG, Z.; JIN, Z.; WANG, Y.; LIU, W.; WEN, D.; LI, H.; SUN, C.; LU, J. Toxicity of leachate from smoked cigarette butts to terrestrial animals: a case study on the earthworm *Eisenia fetida*. **Science of Total Environment**, v. 898, p. 1-36, nov. 2023.

XIA, G.; MA L.; HUANG, H.; ZHANG X. Comparison of hazard indexes of some domestic and imported cigarettes. **Tobacco Science and Technology**, v. 6, p. 37-40, 2012.

YACH, D. Tobacco use patterns in five countries during the COVID-19 lockdown. **Nicotine & Tobacco Research**, v. 22, n. 9, p. 1671-1672, ago. 2020.

ZEZULKA, S.; KUMMEROVÁ, M.; BABULA, P.; NOVÁ, L. V. *Lemna minor* exposed to fluoranthene: growth, biochemical, physiological and histochemical changes. **Aquatic Toxicology**, v. 140-141, p. 37-47, set. 2013.

ZHAO, M.; HUANG, L.; ARULMANI, S. R. B.; YAN, J.; WU, J.; WU, T.; ZHANG, H.; XIAO, T. Adsorption of different pollutants by using microplastic with different influencing factors and mechanisms in wastewater: a review. **Nanomaterials**, v. 12, n. 2256, p. 1-22, jun. 2022.

APÊNDICE A - Valores de p do Teste de Comparação Múltipla de Dunn para as análises de clorofila-a entre os tratamentos dos lixiviados de bitucas de cigarros fumados (BF), bitucas de cigarros não fumados (BNF), filtros de cigarros fumados (FF), e filtros de cigarros não fumados (FNF).

		BF				BNF				FF				FNF			
		1,0	1,75	2,5	5,0	1,0	1,75	2,5	5,0	1,0	1,75	2,5	5,0	1,0	1,75	2,5	5,0
BF	1,0	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,017	0,017	0,008	0,003	ns	ns	ns	ns
	1,75	-	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,045	ns	ns	0,035	0,038
	2,5	-	-	-	ns	ns	ns	ns	ns	0,026	0,027	0,013	0,006	ns	ns	ns	ns
	5,0	-	-	-	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,030	ns	ns	ns	ns
BNF	1,0	-	-	-	-	-	ns	ns	ns	0,028	0,030	0,016	0,007	ns	ns	ns	ns
	1,75	-	-	-	-	-	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,016	0,021
	2,5	-	-	-	-	-	-	-	ns	0,033	0,035	0,019	0,008	ns	ns	ns	ns
	5,0	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0401	0,042	0,023	0,011	ns	ns	ns	ns
FF	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ns	ns	ns	0,047	0,036	0,013	0,015
	1,75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ns	ns	ns	0,049	0,018	0,022
	2,5	--	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ns	0,041	0,032	0,011	0,013
	5,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,017	0,013	0,004	0,005
FNF	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ns	ns	ns
	1,75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ns	ns
	2,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ns
	5,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

APÊNDICE B - Valores de p do Teste de Comparação Múltipla de Dunn para as análises de clorofila-b entre os tratamentos dos lixiviados de bitucas de cigarros fumados (BF), bitucas de cigarros não fumados (BNF), filtros de cigarros fumados (FF), e filtros de cigarros não fumados (FNF).

		BF				BNF				FF				FNF			
		1,0	1,75	2,5	5,0	1,0	1,75	2,5	5,0	1,0	1,75	2,5	5,0	1,0	1,75	2,5	5,0
BF	1,0	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,025	0,016	ns	ns	ns	ns
	1,75	-	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	2,5	-	-	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,024	0,015	ns	ns	ns	ns
	5,0	-	-	-	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,040	0,026	ns	ns	ns	ns
BNF	1,0	-	-	-	-	-	ns	ns	ns	ns	0,047	0,015	0,011	ns	ns	ns	ns
	1,75	-	-	-	-	-	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,003	ns
	2,5	-	-	-	-	-	-	-	ns	ns	ns	0,049	0,038	ns	ns	0,041	ns
	5,0	-	-	-	-	-	-	-	-	ns	ns	ns	0,043	ns	ns	ns	ns
FF	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ns	ns	ns	ns	ns	0,011	ns
	1,75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ns	ns	ns	ns	0,006	ns
	2,5	--	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ns	ns	0,039	0,003	ns
	5,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ns	0,017	$9,01 \times 10^{-7}$	0,025
FNF	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ns	ns	ns
	1,75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ns	ns
	2,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ns
	5,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

APÊNDICE C - Valores de p do Teste de Comparação Múltipla de Dunn para as análises de carotenoides entre os tratamentos dos lixiviados de bitucas de cigarros fumados (BF), bitucas de cigarros não fumados (BNF), filtros de cigarros fumados (FF), e filtros de cigarros não fumados (FNF).

		BF				BNF				FF				FNF			
		1,0	1,75	2,5	5,0	1,0	1,75	2,5	5,0	1,0	1,75	2,5	5,0	1,0	1,75	2,5	5,0
BF	1,0	-	ns	ns	ns	ns	0,048	ns	ns	0,020	0,009	0,004	0,002	ns	ns	ns	ns
	1,75	-	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,039	ns	ns	0,003	ns
	2,5	-	-	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,030	0,016	0,008	ns	ns	0,041	ns
	5,0	-	-	-	-	ns	ns	ns	ns	ns	0,032	0,017	0,009	ns	ns	ns	ns
BNF	1,0	-	-	-	-	-	ns	ns	ns	ns	ns	0,034	0,019	ns	ns	ns	ns
	1,75	-	-	-	-	-	-	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,020	ns
	2,5	-	-	-	-	-	-	-	ns	ns	0,041	0,021	0,011	ns	ns	ns	ns
	5,0	-	-	-	-	-	-	-	-	0,027	0,013	0,006	0,003	ns	ns	ns	ns
FF	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ns	ns	ns	ns	ns	0,003	0,032
	1,75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ns	ns	ns	0,037	0,002	0,018
	2,5	--	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ns	ns	0,026	0,001	0,012
	5,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,027	0,012	$3,61 \times 10^{-4}$	0,005
FNF	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ns	0,045	ns
	1,75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ns	ns
	2,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ns
	5,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

APÊNDICE D - Valores de p do Teste de Comparação Múltipla de Dunn para as análises de pH entre os tratamentos dos lixiviados de bitucas de cigarros fumados (BF), bitucas de cigarros não fumados (BNF), filtros de cigarros fumados (FF), e filtros de cigarros não fumados (FNF).

		BF				BNF				FF				FNF			
		1,0	1,75	2,5	5,0	1,0	1,75	2,5	5,0	1,0	1,75	2,5	5,0	1,0	1,75	2,5	5,0
BF	1,0	-	ns	ns	0,002	ns	ns	ns	0,001	0,031	0,005	0,030	ns	0,005	0,001	0,004	ns
	1,75	-	-	ns	0,037	ns	ns	ns	0,010	0,004	$4,90 \times 10^{-4}$	0,004	0,017	$4,6 \times 10^{-4}$	$8,67 \times 10^{-5}$	$3,64 \times 10^{-4}$	0,029
	2,5	-	-	-	0,085	ns	ns	ns	0,037	0,002	$1,80 \times 10^{-4}$	0,002	0,008	$1,76 \times 10^{-4}$	$3,01 \times 10^{-5}$	$1,38 \times 10^{-4}$	0,015
	5,0	-	-	-	-	$9,85 \times 10^{-4}$	0,006	ns	ns	$1,82 \times 10^{-5}$	$8,32 \times 10^{-7}$	$1,78 \times 10^{-5}$	$1,31 \times 10^{-4}$	$9,89 \times 10^{-7}$	$1,06 \times 10^{-7}$	$7,20 \times 10^{-7}$	$3,56 \times 10^{-4}$
BNF	1,0	-	-	-	-	-	ns	ns	0,031	0,011	0,001	0,012	0,039	0,001	$2,57 \times 10^{-4}$	0,001	ns
	1,75	-	-	-	-	-	-	ns	0,037	0,010	0,001	0,011	0,036	0,001	$2,16 \times 10^{-4}$	0,001	ns
	2,5	-	-	-	-	-	-	-	ns	0,002	$1,69 \times 10^{-4}$	0,002	0,008	$1,61 \times 10^{-4}$	$2,72 \times 10^{-5}$	$1,26 \times 10^{-4}$	0,015
	5,0	-	-	-	-	-	-	-	-	$7,01 \times 10^{-5}$	$3,57 \times 10^{-6}$	$7,18 \times 10^{-5}$	$4,51 \times 10^{-4}$	$2,95 \times 10^{-6}$	$3,46 \times 10^{-7}$	$2,18 \times 10^{-6}$	0,001
FF	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ns	ns	ns	0,001	$9,51 \times 10^{-5}$	$3,97 \times 10^{-4}$	ns
	1,75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ns	ns	0,018	0,002	0,007	ns
	2,5	--	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ns	0,002	$1,20 \times 10^{-4}$	$4,9 \times 10^{-4}$	ns
	5,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	$1,65 \times 10^{-4}$	$7,98 \times 10^{-6}$	$4,04 \times 10^{-5}$	0,049
FNF	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ns	ns	ns
	1,75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ns	0,012
	2,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ns
	5,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

APÊNDICE E - Valores de p do Teste de Comparação Múltipla de Dunn para as análises de condutividade elétrica entre os tratamentos dos lixiviados de bitucas de cigarros fumados (BF), bitucas de cigarros não fumados (BNF), filtros de cigarros fumados (FF), e filtros de cigarros não fumados (FNF).

		BF				BNF				FF				FNF			
		1,0	1,75	2,5	5,0	1,0	1,75	2,5	5,0	1,0	1,75	2,5	5,0	1,0	1,75	2,5	5,0
BF	1,0	-	ns	0,005	$1,65 \times 10^{-5}$	0,011	0,001	$6,23 \times 10^{-7}$	$4,23 \times 10^{-10}$	ns	ns	ns	0,029	0,013	0,026	0,003	ns
	1,75	-	-	ns	0,004	ns	0,016	$7,01 \times 10^{-5}$	$1,63 \times 10^{-7}$	0,005	0,001	ns	ns	0,001	0,002	$1,05 \times 10^{-4}$	0,014
	2,5	-	-	-	ns	ns	ns	0,002	$1,45 \times 10^{-5}$	$1,06 \times 10^{-5}$	$1,74 \times 10^{-6}$	0,016	ns	$2,36 \times 10^{-5}$	$7,07 \times 10^{-5}$	$2,19 \times 10^{-6}$	0,001
	5,0	-	-	-	-	0,040	ns	ns	ns	$2,38 \times 10^{-8}$	$2,53 \times 10^{-9}$	$3,33 \times 10^{-4}$	0,032	$2,15 \times 10^{-7}$	$8,14 \times 10^{-7}$	$1,25 \times 10^{-8}$	$1,88 \times 10^{-5}$
BNF	1,0	-	-	-	-	-	ns	0,018	$5,29 \times 10^{-5}$	0,005	0,001	ns	ns	0,009	0,018	0,002	ns
	1,75	-	-	-	-	-	-	ns	0,004	$3,19 \times 10^{-4}$	7×10^{-5}	0,012	ns	0,001	0,002	$1,10 \times 10^{-4}$	0,014
	2,5	-	-	-	-	-	-	-	ns	$6,79 \times 10^{-6}$	$1,07 \times 10^{-6}$	0,001	0,009	$3,88 \times 10^{-5}$	$1,13 \times 10^{-4}$	$3,80 \times 10^{-6}$	0,001
	5,0	-	-	-	-	-	-	-	-	$2,71 \times 10^{-8}$	$2,91 \times 10^{-9}$	$8,61 \times 10^{-6}$	$2,3 \times 10^{-4}$	$2,43 \times 10^{-7}$	$9,14 \times 10^{-7}$	$1,43 \times 10^{-8}$	$2,09 \times 10^{-5}$
FF	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ns	ns	0,007	0,006	0,007	0,001	ns
	1,75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,034	0,001	0,020	0,024	0,003	ns
	2,5	--	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ns	$8,52 \times 10^{-5}$	$1,13 \times 10^{-4}$	$3,79 \times 10^{-6}$	0,005
	5,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	$2,80 \times 10^{-6}$	$3,89 \times 10^{-6}$	$7,53 \times 10^{-8}$	$4,08 \times 10^{-4}$
FNF	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ns	ns	ns
	1,75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ns	ns
	2,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,023
	5,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-