

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA

RAYSSA SILVA DO CARMO

**Respostas fisiológicas de macrófitas aquáticas as diferentes concentrações de
alumínio na região Amazônica**

Belém
2024

RAYSSA SILVA DO CARMO

Respostas fisiológicas de macrófitas aquáticas as diferentes concentrações de alumínio na região Amazônica

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia da Universidade Federal do Pará, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ecologia. Área de concentração: Ecologia.

Linha de Pesquisa: Ecologia Organismos e Populações

Orientadora: Prof^ª. Dra. Tháisa Sala Michelan

Coorientadora: Dra. Franciele de Fátima Bomfim

Belém
2024

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos**

pelo(a) autor(a)

S586r Silva do Carmo, Rayssa.

Respostas fisiológicas de macrófitas aquáticas as diferentes concentrações de alumínio na região Amazônica / Rayssa Silva do Carmo. — 2024.

lviii, 60 f. : il. color.

Orientador(a): Prof^a. Dra. Thaísa Sala Michelan

Coorientador(a): Prof. Dr. Francieli de Fátima Bomfim

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Pará,
Instituto de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Ecologia,
Belém, 2024.

1. Plantas aquáticas. 2. Ecotoxicologia. 3. Biomarcadores.
4. Fitorremediação. 5. Ecossistemas aquáticos. I. Título.

CDD 577.60981

RAYSSA SILVA DO CARMO

Respostas fisiológicas de macrófitas aquáticas as diferentes concentrações de alumínio na região Amazônica

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia da Universidade Federal do Pará, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ecologia pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

COMISSÃO JULGADORA

Thaís Sala Michelin - UFPA / Presidente

Antônio Fernando Monteiro Camargo – UFERSA / Avaliador Externo

Gabriela de Paula Arrifano de Oliveira – UFPA / Avaliador Interno

Lygia Segal Nogueira – UFPA / Avaliador Interno

Vanessa de Carvalho Harthman - UFMS / Avaliador Externo

Vinicius Neres Lima – UFPA / Avaliador Interno

DEDICATÓRIA(S)

Á minha criança interior que nunca deixou de sonhar e sempre criou oportunidades para chegar até aqui.

Dedico esta dissertação.

AGRADECIMENTOS

Acordar todos os dias acreditando que seria impossível concluir mais essa etapa acadêmica, por muito tempo foi uma realidade para mim, mas sem dúvida trabalhar com a ciência é o que me motiva a viver. E ter o apoio das pessoas que admiro fez com que tudo desse mais do que certo nessa caminhada, dito isto, meus agradecimentos:

À Deus e a todas as entidades que me trouxeram fé, força e muita esperança para concluir esse processo, sempre me acompanhando, protegendo e direcionando nos bons caminhos.

Gostaria de expressar minha gratidão ao Fundo Brasileiro para a Biodiversidade (Funbio - 0342023), pelo apoio financeiro e institucional concedido durante o desenvolvimento desta dissertação. Este trabalho só foi possível graças ao suporte fornecido pelo Funbio, que permitiu a realização das pesquisas de campo, a aquisição de materiais e a análise dos dados. E, pelo incentivo contínuo à conservação da biodiversidade e à pesquisa científica no Brasil. O compromisso do Funbio com a sustentabilidade e a preservação dos ecossistemas brasileiros é inspirador e crucial para o avanço do conhecimento e da proteção ambiental.

À todas as agências de fomento que auxiliaram financeiramente na produção desta dissertação, manutenção do laboratório, da pós graduação e na minha subsistência: CNPq, CAPES, Academia Brasileira de Ciências, UNESCO, L'Oréal Brasil e BRC.

A minha querida e admirável orientadora prof^a. Thaísa Sala Michelin, que já me direciona desde o primeiro instante como pesquisadora mirim (PIBIC). Que a minha admiração é gigantesca por você, isso todo mundo já sabe, mas gostaria aqui de expressar a minha gratidão por todas as vezes em que você acreditou que eu poderia ir mais longe e por todas as oportunidades já tidas até aqui, a senhora não tem dimensão do orgulho que tenho de ser sua aluna. Sempre que penso no meu futuro é de imediato olhar para pesquisadora incrível que você é, se um dia eu chegar a ser um mindinho seu na pesquisa a minha vida acadêmica terá falido a pena. Obrigada por tudo, e por nunca ter colocar meus erros na frente de todas as vezes que me esforcei para acertar, acredite, isso tem impacto positivo na minha vida pessoal.

A coorientação de suma importância da Pós-doutoranda Francieli de Fátima Bomfim, que sempre esteve dando apoio e direção no desenvolvimento neste trabalho, você foi excepcional para a execução dessa realização acadêmica.

A parceria com o Laboratório de Ecotoxicologia sob orientação da prof^a. Lilian Lund e suas alunas Carla Miranda e Alana Nauar que sempre deram apoio científico e diversas vezes psicológico (rsr) para o andamento e conclusão deste trabalho.

Aos professores Hervé Rogez e Ricardo Koroiva pela colaboração e ideia de utilizar as clorofilas como foco principal do nosso primeiro capítulo. E principalmente ao Bruno Teixeira pelas tardes trabalhadas e excelente didática na execução da extração dos pigmentos.

A minha família, principalmente, as minhas mães Rosilda Inês e Rosalia Nazaré que sempre me incentivaram a anda em bons caminhos e nunca desistir. Obrigada por se orgulharem tanto de mim.

Aos meus amigos de outras linhas de pesquisa Antônio Jardim e Alana Nauar, vocês foram incríveis nesta reta final, a cada ajuda desde a maceração a pipetagem. Devo tanto a vocês, contem comigo eternamente.

A minhas parceiras de vida, Luane e Karol, que sempre estiveram aqui, mesmo em silêncio, me apoiando. Obrigada por nunca desistirem da maratona acadêmica e por nunca deixarem de acreditar que nós vamos dominar o mundo. E olha só, está acontecendo! Agora, nosso ditado mudou, ficou mais completo e certo. Vejam: "A ciência está nos levando longe".

Aos amigos inseparáveis Luiz, Ana Luisa, Antônio, Alexandre que são mais meus irmãos do que amigos. Obrigada pela ajuda e por todas as vezes que me distraíram e me fizeram suportar todo o processo até aqui.

E por último e não menos importante, minha amada e exaltada Universidade Federal do Pará, agradeço do fundo do meu coração por todas as vivências e ensinamentos profissionais e pessoais que tive em teus espaços. Tu e os teus realmente transformam vidas. E como dever de casa, meu compromisso agora é ser teu instrumento e devolver a sociedade como retorno tudo que foi-me ensinado de forma simples e clara para que a comunidade, principalmente a periférica, possam compreender como o conhecimento popular e o científico andam juntos.

“[...] Às vezes a felicidade demora a chegar
Aí é que a gente não pode deixar de sonhar
Guerreiro não foge da luta e não pode correr
Ninguém vai poder atrasar quem nasceu pra vencer[...].”

Respostas fisiológicas de macrófitas aquáticas as diferentes concentrações de alumínio na região Amazônica

RESUMO

A liberação do alumínio (Al) das reservas minerais pode acontecer de maneira natural ou devido à intervenção humana. Uma vez liberado, esse metal entra no ambiente aquático, onde, dependendo da quantidade e disponibilidade, pode causar impactos prejudiciais nos organismos. Pesquisas que investigam as reações fisiológicas e bioquímicas das plantas aquáticas a diferentes concentrações de Al são cruciais para entender os seus efeitos na biodiversidade e nos ecossistemas aquáticos da Amazônia. As plantas aquáticas, têm boa capacidade de absorver e acumular diversos metais, mas há pouca compreensão sobre como elas reagem a esse metal de ocorrência frequente, especialmente na Amazônia. Diante disso, essa dissertação é composta por dois trabalhos, i) o primeiro tem como objetivo avaliar os efeitos da exposição ao alumínio em *Salvinia minima*, uma macrófita flutuante, analisando a absorção do metal nos tecidos da planta e como afeta a fluorescência dos pigmentos fotossintéticos; ii) o segundo avaliar o efeito de diferentes concentrações de (Al) s respostas antioxidantes da macrófita aquática *Montrichardia linifera*, verificando as alterações causadas pela exposição aguda das concentrações ambientalmente encontradas de Al na capacidade antioxidante total, das respostas na atividade da glutathione S-transferase e verificar os possíveis danos aos lipídeos em condições agudas de exposição ao Al. Para responder esses objetivos, realizamos dois experimentos, na casa de vegetação Aqua e no Laboratório de Pesquisa em Monitoramento Ambiental Marinho ambos na Universidade Federal do Pará. Após as análises dos resultados verificamos que i) *S. minima* acumulou Al em seus tecidos progressivamente com o aumento desse elemento na água, sem apresentar danos visíveis em suas folhas e sem alterar sua produção de clorofila (*a* e *b*) e carotenóides nas 96h de exposição analisadas e ii) *Montrichardia linifera* é capaz de modular seu sistema antioxidante quando exposta à diferentes concentrações de alumínio, além de ser uma provável ferramenta econômica na mitigação de danos ambientais por apresentar um alto potencial bioacumulador de metais. Esses resultados trazem informações novas para as respostas das macrófitas aquáticas a exposição de alumínio na Amazônia, indicando que as duas espécies podem ser usadas como fitoremediadoras e melhoram a compreensão dos mecanismos de toxicidade deste elemento e como isso pode afetar os ecossistemas aquáticos.

Palavras-chave: Estressores oxidativos, ecossistemas aquáticos, fitorremediação, plantas aquáticas, ecotoxicologia.

Physiological responses of aquatic macrophytes to different aluminum concentrations in the Amazon

ABSTRACT

The release of aluminum from mineral reserves can occur naturally or due to human intervention. Once released, this metal enters the aquatic environment, where, depending on the quantity and availability, it can cause harmful impacts on organisms. Research investigating the physiological and biochemical reactions of aquatic plants to different concentrations of aluminum is crucial for understanding its effects on the biodiversity and aquatic ecosystems of the Amazon. Aquatic plants have a good capacity to absorb and accumulate various metals, but there is little understanding of how they react to aluminum exposure, especially in the Amazon, where this metal is commonly found. Therefore, this dissertation consists of two studies: i) the first aims to evaluate the effects of aluminum exposure on *Salvinia minima*, a floating macrophyte, analyzing the metal's absorption in plant tissues and its effects on the fluorescence of photosynthetic pigments; ii) the second aims to evaluate the effect of different concentrations of aluminum (Al) on the antioxidant responses of the aquatic macrophyte *Montrichardia linifera*, examining the changes caused by acute exposure to environmentally relevant concentrations of Al in total antioxidant capacity, the activity of glutathione S-transferase, and verifying possible damage to *Montrichardia linifera* lipids under acute Al exposure conditions through responses in lipid peroxidation activity. To address these objectives, we conducted two experiments, one in the Aqua greenhouse and the other in the Marine Environmental Monitoring Research Laboratory, both at the Federal University of Pará. After analyzing the results, we found that i) *S. minima* progressively accumulated Al in its tissues with increasing concentrations of this element in the water, without presenting visible damage to its leaves and without altering its production of chlorophyll (a and b) and carotenoids in the 96 hours of exposure analyzed; and ii) *Montrichardia linifera* is capable of modulating its antioxidant system when exposed to different concentrations of aluminum, and is also a probable economical tool in environmental damage mitigation due to its high bioaccumulation potential of metals. These results provide new insights into the responses of aquatic macrophytes to aluminum exposure in the Amazon, indicating that both species can be used as phytoremediators and improve the understanding of the toxicity mechanisms of this element and how it can affect aquatic ecosystems.

Keywords: Biomarkers, aquatic ecosystems, phytoremediation, aquatic plants, ecotoxicology

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	11
2. Sessão I.....	14
2.1. RESUMO.....	15
2.2. INTRODUÇÃO.....	17
2.3. MATERIAL E MÉTODOS.....	19
2.4. RESULTADOS.....	24
2.5. DISCUSSÃO.....	27
2.6. CONCLUSÃO.....	30
2.7. REFERÊNCIAS.....	30
3. Sessão II.....	39
3.1. RESUMO.....	40
3.2. INTRODUÇÃO.....	42
3.3. MATERIAS E MÉTODOS.....	44
3.4. RESULTADOS.....	49
3.5. DISCUSSÃO.....	52
3.6. CONCLUSÃO.....	54
3.7. REFERÊNCIAS.....	54
4. CONCLUSÃO GERAL.....	59
5. REFERÊNCIAS.....	59
6. ATIVIDADES COMPLEMENTARES.....	60

1. INTRODUÇÃO GERAL

As macrófitas aquáticas, incluindo várias espécies de plantas submersas, flutuantes e emergentes, desempenham um papel fundamental no equilíbrio ecológico dos ecossistemas aquáticos (THOMAZ., 2021). Estas plantas possuem capacidade inerente de absorver, acumular e metabolizar poluentes presentes em corpos d'água, servindo assim como fitorremediadoras eficientes (ESTEVES, 2011). Por isso, é importante explorar e elucidar os mecanismos através dos quais as macrófitas aquáticas mitigam a poluição da água, e suas potenciais aplicações nos esforços de remediação ambiental bem como os possíveis efeitos/danos fisiológicos que esses metais causam nessas plantas.

Um dos principais mecanismos através dos quais as macrófitas aquáticas facilitam a fitorremediação é através dos seus extensos sistemas radiculares (MANORAMA THAMPATTI., et al. 2020). As raízes dessas plantas servem como locais primários para a absorção de contaminantes presentes na coluna d'água ou sedimentos. Através de processos como adsorção, absorção e troca iônica, as macrófitas aquáticas removem efetivamente os poluentes do ambiente circundante. Além disso, certas espécies de plantas possuem mecanismos especializados, como a secreção de exsudados ou a formação de comunidades microbianas associadas às raízes, que aumentam a degradação ou imobilização de contaminantes/metals (MAHJOUB, 2013.). Além das raízes, a biomassa aérea das macrófitas aquáticas também atuam nesse processo. Pela absorção foliar e do contato direto com a superfície da água, essas plantas podem absorver poluentes dissolvidos e interceptar material particulado, reduzindo assim as concentrações de poluentes no ambiente aquático.

Através dos seus atributos fisiológicos e ecológicos únicos, estas plantas oferecem soluções eficazes para mitigar a poluição da água e restaurar a saúde dos ecossistemas aquáticos. Contudo, será que esses metais afetam a fisiologia dessas plantas? O alumínio é o terceiro elemento mais prevalente e abundante na crosta terrestre (ZHENG, 2005), com reservas concentradas em áreas pré-cambrianas, que abrangem 40% do território Amazônico, explicando assim sua abundância e intensa exploração nessa região (DOS SANTOS, 2022). As atividades econômicas como a agricultura,

pecuária e extração mineral (BOWMAN et al., 2012; DE SOUZA et al., 2013), têm desencadeado uma série de transformações ambientais, uma delas é a biodisponibilidade do alumínio. Parte desse alumínio pode ser introduzida no ambiente e, quando liberada nas águas, dependendo de sua concentração e biodisponibilidade, pode desencadear efeitos tóxicos nos organismos (KEHRIG et al., 2011).

Podemos usar duas estratégias para avaliar os impactos da contaminação por metais nos organismos aquáticos como as macrófitas, o primeiro através da análise nos pigmentos fotossintetizantes como clorofila *a*, *b* e carotenóides, pois estes têm uma função fundamental na fotossíntese: ambas absorvem diferentes comprimento de onda necessárias para transformar energia luminosa em energia química (DAS et al., 2017). A segunda é por meio da análise de biomarcadores, os quais representam as modificações biológicas resultantes da exposição à xenobióticos (LAM & GRAY, 2003).

Dessa forma, a avaliação da resposta dos organismos frente ao estresse oxidativo é extremamente importante para entender o mecanismo de dano provocado e diversos marcadores têm sido utilizado classicamente para quantificar esse efeito. Por exemplo, as respostas antioxidantes, que englobam tanto mecanismos enzimáticos quanto não enzimáticos, podem ser integradas e avaliadas através do biomarcador conhecido como Capacidade Antioxidante Total. Este indicador de exposição quantifica o conjunto completo de defesas antioxidantes presentes na célula, oferecendo uma visão global e holística do sistema de proteção contra agentes estressores (AMADO et al., 2009), incluindo a glutathione S-transferase (GST), uma enzima de biotransformação que conjuga a glutathione reduzida com compostos orgânicos eletrofílicos gerados intracelularmente (TORRES et al., 2006).

Entre os biomarcadores não enzimáticos, destaca-se a glutathione reduzida (GSH), que desempenha papel fundamental em diversos processos biológicos, tais como síntese de proteínas, metabolismo e proteção celular contra o estresse oxidativo (ROVER JÚNIOR et al., 2001). Alguns estudos demonstraram em peixes que o alumínio pode ser capaz de induzir estresse oxidativo,

estimulando a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), resultando em peroxidação lipídica (LPO), danos ao DNA e aumento da suscetibilidade à apoptose, eventos que podem culminar em citotoxicidade (ABDALLA et al., 2019), bem como facilitar a oxidação de proteínas e interferir na atividade de enzimas antioxidantes, tais como Superóxido Dismutase (SOD), Catalase (CAT) e Glutathione Peroxidase (GPx) (SLANINOVA et al., 2014). Contudo, até o máximo de nosso saber, os efeitos oxidativos do alumínio nunca foi estudado em macrófitas aquáticas.

Desta forma, essa dissertação foi realizada para avaliar esses efeitos do alumínio em duas macrófitas aquáticas. No primeiro artigo “Efeitos do alumínio na produção de pigmentos fotossintéticos da macrófita aquática *Salvinia mínima*” nosso objetivo foi avaliar os efeitos da exposição ao alumínio em *Salvinia minima*, analisando a absorção do alumínio nos tecidos da planta e investigando o seu efeito na fluorescência dos seus pigmentos fotossintéticos. No segundo artigo “Análise das respostas bioquímicas de *Montrichardia linifera* às diferentes concentrações de alumínio” o objetivo é i) avaliar as respostas antioxidantes da macrófita aquática nativa *Montrichardia linifera*, verificando as alterações causadas pela exposição aguda das concentrações ambientalmente encontradas de Al na capacidade antioxidante total (ACAP), na atividade da glutathione S-transferase (GST) e verificar os possíveis danos aos lipídeos de *Montrichardia linifera* em condições agudas de exposição ao Al através das respostas na atividade da lipoperoxidação (LPO).

2. Sessão I

Efeitos do alumínio na produção de pigmentos fotossintéticos da macrófita aquática *Salvinia* *minima*

A primeira sessão desta dissertação foi elaborada e formatada conforme as normas da publicação científica Acta Amazonica, disponível em: https://acta.inpa.gov.br/guia_ingles.php

Efeitos do alumínio na produção de pigmentos fotossintéticos da macrófita aquática *Salvinia minima*

2.1.RESUMO

O alumínio, abundante na crosta terrestre, é mobilizado por processos naturais e atividades humanas. Sua liberação no ambiente aquático pode causar efeitos tóxicos nos organismos. Macrófitas aquáticas, como a *Salvinia minima*, são frequentemente utilizadas para melhorar a qualidade da água e evitar impactos negativos nos ecossistemas aquáticos, devido ao seu alto crescimento vegetativo e resistência. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da exposição ao alumínio em *Salvinia minima*, considerando a absorção do metal nos tecidos da planta, a fluorescência dos pigmentos fotossintéticos em diferentes tratamentos de baixo pH e suas correlações com possíveis impactos ecológicos em ambientes naturais. Nossa hipótese inicial sustentava que altas concentrações de alumínio na água resultariam em uma baixa produção de clorofila a, b e carotenoides devido a conhecida interferência do Al no metabolismo celular. O experimento envolveu cinco grupos amostrais, incluindo dois controles (neutro - pH 7,0; ácido - pH 5,0) e três tratamentos com concentrações crescentes de Al (0,5 mg/L, 1,0 mg/L e 10,0 mg/L - todos a pH 5,0), cada um com dez réplicas. A exposição teve duração de 96 horas, com a retirada e reposição de 50% da solução de Al a cada 24 horas. Ao término do experimento, as macrófitas foram armazenadas e processadas para análises. Os resultados indicaram que *S. minima* acumulou progressivamente alumínio em sua biomassa, com diferenças significativas entre os tratamentos de exposição ao alumínio. Já as análises dos pigmentos fotossintéticos não revelaram diferenças nas concentrações de clorofila a, b e carotenoides entre os tratamentos. Nossos resultados mostram que mesmo em exposição a concentração nominal de 10 mg/L de Al *S. minima* mostra uma boa resistência da produção dos pigmentos. *Salvinia* conseguiu acumular Al de forma crescente, sem sofrer prejuízos no metabolismo de pigmentos essenciais para a sua sobrevivência, isso talvez possa ser explicado pela sua presença na região Amazônica Oriental, que em particular, é conhecida por possuir solos ricos em minério de bauxita, a principal fonte de alumínio. Assim, *S. minima* demonstrou ser uma espécie adequada para se empregar em estratégias de biorremediação de ambientes contaminados com Al.

Palavras-chave: Ecossistemas aquáticos, fitorremediação, impactos ecológicos, pigmentos fotossintéticos, toxicidade do alumínio.

Effects of aluminum on the production of photosynthetic pigments in the aquatic macrophyte *Salvinia minima*

ABSTRACT

Aluminum, abundant in the earth's crust, is mobilized by natural processes and human activities. Its release into the aquatic environment can cause toxic effects on organisms. Aquatic macrophytes, such as *Salvinia minima*, are often used to improve water quality and prevent negative impacts on aquatic ecosystems, due to their high vegetative growth and resistance. The objective of this study was to evaluate the effects of aluminum exposure on *Salvinia minima*, considering the metal absorption in plant tissues, the fluorescence of photosynthetic pigments in different low pH treatments, and their correlations with possible ecological impacts in natural environments. Our initial hypothesis was that high aluminum concentrations in water would result in low production of chlorophyll a, b, and carotenoids due to the known interference of Al in cellular metabolism. The experiment involved five sample groups, including two controls (neutral - pH 7.0; acidic - pH 5.0) and three treatments with increasing Al concentrations (0.5 mg/L, 1.0 mg/L, and 10.0 mg/L - all at pH 5.0), each with ten replicates. The exposure lasted 96 hours, with 50% of the Al solution being removed and replenished every 24 hours. At the end of the experiment, the macrophytes were stored and processed for analysis. The results indicated that *S. minima* progressively accumulated aluminum in its biomass, with significant differences between the aluminum exposure treatments. However, the analysis of photosynthetic pigments did not reveal differences in chlorophyll a, b, and carotenoid concentrations between the treatments. Our results show that even when exposed to a nominal concentration of 10 mg/L of Al, *S. minima* shows good resistance in pigment production. *Salvinia* was able to accumulate Al progressively, without suffering damage to the metabolism of pigments essential for its survival, which may be explained by its presence in the Eastern Amazon region, known for its soils rich in bauxite ore, the main source of aluminum. Thus, *S. minima* demonstrated to be a suitable species to be used in strategies for bioremediation of environments contaminated with Al.

Keywords: Aquatic ecosystems, phytoremediation, ecological impacts, photosynthetic pigment, aluminum toxicity

2.2.INTRODUÇÃO

A região Amazônia Oriental, em particular, é conhecida por possuir solos ricos em minério de bauxita (ANGELICA et al., 2018), a principal fonte de alumínio, matéria-prima essencial para diversas aplicações (DONOGHUE et al., 2014). O Al é o terceiro elemento mais comum e abundante na crosta terrestre (STALEY et al., 2000; DONOGHUE et al., 2014; DA COSTA et al., 2014), o que explica a sua elevada exploração. O processo de extração deste, quando realizado de maneira desordenada, pode gerar distúrbios ambientais com crescente degradação ecológica (SILVA et al., 2021). Normalmente, essas atividades estão relacionadas ao desmatamento que reflete na perda de hábitat e consequente, de biodiversidade, o que acarreta severas implicações para o funcionamento dos ecossistemas (LEI et al., 2016), e na Amazônia as minas ocupam o segundo lugar em atividades em funcionamento no mundo (OLIVEIRA et al., 2016).

A mobilização do Al acontece por vias naturais como os processos geoquímicos advindos das rochas (HORCKMANS et al., 2005) e atividades antrópicas como agricultura, pecuária e extração mineral (BOWMAN et al., 2012; SOUZA et al., 2013). Quando liberado para o ambiente aquático, dependendo da sua concentração e biodisponibilidade, podem causar efeitos tóxicos nos organismos (KEHRIG et al., 2011; CLARK et al., 2015). A Amazônia possui formação geológica rica em metais, incluindo alumínio, as intensas atividades descritas acima que causam a mobilização dos metais de origem natural da região, fazem com que os ambientes aquáticos amazônicos sejam mais ricos em metais do que outros lugares no Brasil. Dessa forma, estudos que avaliam a degradação ambiental atribuída à região amazônica mostram que a contaminação por metais é considerada um dos principais impactos antropogênicos que afetam esses ecossistemas (SERUDO et al., 2007), exatamente por biodisponibilizarem esses metais no ambiente. Trabalhos preditivos mostram os efeitos de metais em vários níveis de organização, desde molecular, o que ajuda compreender e evitar efeitos em níveis de organização maiores, como populações e comunidades (BIZZO et al., 2014). No caso do Al, ele se torna biodisponível em baixo pH (condição comum nas águas amazônicas), o que aumenta seu

potencial de bioacumulação (ARTAXO et al., 2005; DO NASCIMENTO MONTE et al., 2021) e geração de efeitos tóxicos, resultando em danos sistêmicos que afetam diretamente a sobrevivência, crescimento e/ou reprodução das espécies aquáticas (RAJESHKUMAR et al., 2018; MAHINO et al., 2014), afetando assim, todo o ecossistema.

Dentro do meio aquático, as macrófitas apresentam alta capacidade de absorção de metais, como o alumínio, tanto do sedimento quanto da coluna d'água (FAWZY et al., 2012). Essas plantas possuem importante papel no funcionamento dos ecossistemas, atuando como indicadoras do estado do ambiente e como fitorremediadoras em áreas degradadas (VODYANITSKII, 2015; PANG et al., 2023). Além disso, a ocorrência desta macrófita está diretamente ligada a ocorrência de outras comunidades como perifíton, zooplâncton, peixes e macroinvertebrados (DEOSTI et al., 2021; DOS SANTOS et al., 2022; IQUEMATSU et al., 2023; MISTELI et al., 2023). Portanto, a alteração nesta comunidade pode criar um efeito na cadeia alimentar destes sistemas.

Dentre as espécies de macrófitas com potencial de remediar contaminantes dos ambientes aquáticos encontra-se a *Salvinia minima* Baker, uma espécie flutuante de água doce, encontrada nas regiões tropicais e temperadas. Devido a rápida proliferação, são classificadas como ervas daninhas em alguns lugares, propagando-se vegetativamente e exibindo ciclos de vida curtos em condições naturais (CARRILLO-NIQUETE et al., 2022). Essa espécie apresenta características favoráveis para fins de fitorremediação como alta taxa de crescimento em condições favoráveis e a capacidade de sobrevivência em ambientes adversos, o que também as tornam fáceis de cultivar em casa de vegetação (FUENTES et al., 2014). Embora existam muitas informações sobre o potencial acumulativo de metais utilizando esta espécie de macrófita flutuante, como Pb (Leal et al., 2014), Ni (FUENTES et al., 2014), Li, Cd (PHETSOMBAT et al., 2006), Cr (PRADO et al., 2010), Cu (BIZZO et al., 2014; DAS & GOSWAMI, 2017) e Zn (IHA & BIANCHINI-JUNIOR, 2015), ainda há uma lacuna sobre os efeitos do metal Al na fisiologia vegetal de *S. minima*, especificamente os mecanismos celulares envolvidos nas respostas geradas nos pigmentos fotossintéticos. Informação

como essa pode nos ajudar a entender e melhor usar essa espécie na recuperação ambiental, principalmente na Amazônia.

Uma maneira de avaliar os efeitos negativos deste metal nas plantas é através da análise nos pigmentos fotossintetizantes como clorofila *a*, *b* e carotenóides, pois estes têm uma função fundamental na fotossíntese: ambas absorvem diferentes comprimento de onda necessárias para transformar energia luminosa em energia química (DAS et al., 2017). Os organismos que realizam fotossíntese, possuem clorofila *a* presente nos centros de reações dos fotossistemas e nos complexos de antenas, por outro lado, a clorofila *b* faz parte dos complexos de antenas coletoras de luz (LHCs) (LOBKOVA et al., 2022). As alterações na proporção de clorofila *a/b* são indicativas da funcionalidade do conjunto de pigmentos e são comumente utilizadas como marcadores de estresse ou danos ao sistema fotossintético (FILIMON et al., 2015).

Conhecer as respostas fisiológicas de plantas aquáticas a altas concentrações de metais pode auxiliar em processos de recuperação dos ambientes aquáticos, visto que os metais têm efeito na fotossíntese, crescimento e rendimento da planta (RIA et al., 2016). Como os pigmentos são extremamente importantes para os processos metabólicos, uma diminuição ou aumento na proporção do conteúdo de clorofila *a* e *b* pode ser problemático para a planta.

Dessa maneira, nosso objetivo foi avaliar os efeitos da exposição ao alumínio em *Salvinia minima*, analisando a absorção do metal nos tecidos da planta, investigando a fluorescência dos pigmentos fotossintéticos em diferentes tratamentos de baixo pH, e estabelecendo correlações com possíveis impactos ecológicos em ambientes naturais. Nossa hipótese é de maiores concentrações de alumínio levam a uma diminuição na produção de pigmentos fotossintetizantes, como clorofila *a*, *b* e carotenoides de *S. minima*, baseado na premissa de que a espécie de *S. minima* será um bom modelo para ser utilizado como fitorremediador em ambientes alterados.

2.3.MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e cultivo de S. minima

Os indivíduos da macrófita aquática *S. minima* foram coletadas as margens de Rio Guamá, Belém, Pará, Brasil. Após a coleta os indivíduos foram levados para o Laboratório de Ecologia de Produtores Primários na Universidade Federal do Pará, onde foram cultivados na casa de Vegetação *Aqua* (Figura 1).

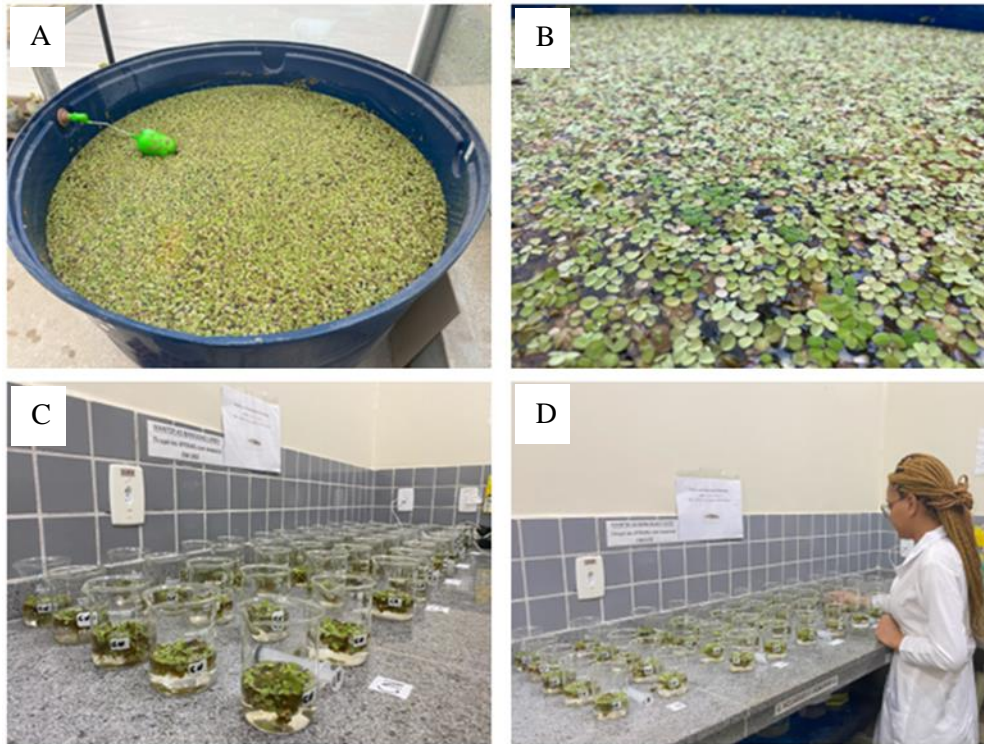


Figura 1. Imagens do desenvolvimento dos indivíduos de *Salvinia minima* na casa de vegetação *Aqua* (A e B) e a bancada de experimento no Laboratório de Ecotoxicologia na Universidade Federal do Pará (C e D).

Os indivíduos de *S. minima* foram cultivados durante 60 dias dentro de uma caixa d'água com aeração na casa de vegetação (Figuras 1 A e B). Para garantir uniformidade em todos os experimentos, foram utilizadas apenas plantas jovens de crescimento rápido, com 4 a 6 folhas de tamanhos semelhantes. Apenas as plantas com coloração verde-esmeralda foram selecionadas para a exposição, enquanto as plantas acastanhadas foram descartadas, visto que essa coloração tem sido associada a plantas mais velhas ou enfraquecidas (ROOM et al., 1981; TIPPING et al., 2012).

Desenho experimental e exposição de Al

A concentração de Al dissolvido encontrado em rios amazônicos é em média 0,3 mg/L (CANTANHÊDE et al., 2022), superior ao que é estabelecido e regulamentado pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente das Comunidades Aquáticas de Água Doce: 0,1 mg/L de concentração Al (CONAMA, 2005). Devido a Amazônia apresentar solos ricos em Al (KOTSCHOUBEY et al., 2005) e atividades de mineração que disponibilizam ainda mais este metal no ambiente (LOTTERMOSE, 2007; WORLANYO et al., 2021), as concentrações acima do estabelecido (0,1 mg/L) são consideradas ambientalmente relevantes para a região (CANTANHÊDE et al., 2022). Desse modo, consideramos a concentração de 0,5 mg/L de Al, como uma concentração possível de ser encontrada naturalmente no ambiente, a fim de verificar possíveis efeitos deste metal no material vegetal inteiro (folhas submersas e da superfície) de *S. minima*. Outras duas concentrações de Al foram utilizadas: 1,0 mg/L e 10,0 mg/L para caracterizar mudanças no metabolismo desta espécie, especificamente na diminuição da produção dos pigmentos fotossintetizantes analisados através da biomassa.

O experimento foi conduzido sob condições de fotoperíodo natural em temperaturas variando de 23 a 28 °C, as plantas foram colocadas em cinco grupos experimentais, com dez replicações cada, em que cada réplica continha em média 5.013g (\pm 0.015 de desvio padrão) de biomassa. Os tratamentos foram: CN) Controle em pH neutro (7,0); CA) controle em pH ácido (5,0); G1) exposição a 0,5 mg/L de Al em pH ácido (pH 5,0); G2) exposição a 1,0 mg/L de Al em pH ácido (pH 5,0); e G3) exposição a 10,0 mg/L de Al em pH ácido (pH 5,0) (Figura 2). Tratamentos de exposição em pH neutro não foram utilizados, pois este foi criado apenas para avaliar se existe efeito do pH na *S. minima*, além do mais, o Al é insolúvel em pH 6 e 8 (GENSEMER et al., 1999) e não se encontra biodisponível nessas condições (EXLEY et al, 2015).

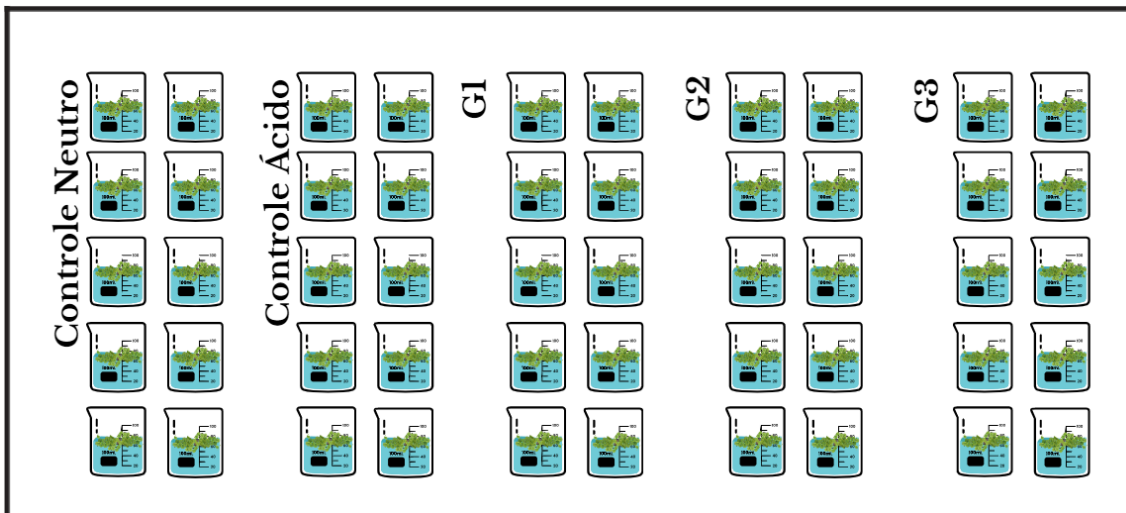


Figura 2 - Ilustração do desenho experimental com os tratamentos divididos em 10 réplicas cada entre controle neutro, controle ácido, e as concentrações nominais de Al 0.5 mg/L (G1), Al 1.0 mg/L (G2) e Al 10 mg/L (G3).

A solução de Al foi preparada com Sulfato de Alumínio ($Al_2(SO_4)_3$, MW=342,5 g/mol), água de osmose reserva reconstituída e a concentração de alumínio foi medida por espectrometria de absorção atômica, na qual foi calculada a quantidade necessária para as concentrações nominais que foram utilizadas em cada tratamento de exposição (Figura 2). Essas soluções foram feitas utilizando a mesma água dos grupos controles, mantida com pH 5,0, sendo que a quantidade de alumínio foi medida antes da exposição. Para cada tratamento foi feito um cálculo a partir da quantidade necessária de cada concentração nominal de 0,5 mg/L, 1,0 mg/L e 10 mg/L de alumínio em aquários de 15 litros. Todos os instrumentos empregados na manipulação das soluções de Alumínio durante o experimento passaram por um processo de acidificação em Ácido Nítrico 1% por um período mínimo de 12 horas, assegurando assim a biodisponibilidade biológica do Alumínio. Com duração de 96h, o experimento estava sob temperatura e fotoperíodo controlado (14h claro e 10h escuro).

As plantas foram expostas em béqueres de 250 mL. Em cada um deles foi adicionado 100 mL de solução nas concentrações estabelecidas. A cada 24h, 50 mL dessa solução era coletada e renovada (que representava 50% da solução total), assim como as concentrações de Al, isso se repetiu até

completar as 96h para quantificação da concentração de alumínio e monitoramento do pH. Dos 50 mL de cada amostra, foram retirados 15 ml para filtrar (30mm, membrana PVDF, 0.45 μ m) e colocados em tubos *falcons* acidificados para análise de alumínio dissolvido. O restante não foi filtrado, para a análise de Al total. No final do experimento, as macrófitas foram armazenadas em *falcons* de 50 mL e acondicionadas em ultrafreezer -80°C para posterior quantificação de Al nos indivíduos.

Análise de Al em S. minima

As análises de alumínio foram realizadas no Laboratório de Análises Químicas de Santa Maria, RS. A quantificação de Al total e a fração dissolvida foram analisados por meio de espectrometria de absorção atômica, a concentração do Al total foi calculada em μ g/L (ppb) para água e mg/kg (ppm) para planta. O limite de quantificação foi 0,00168 para Al total na água e 0,03 para Al total na planta. As metodologias foram revalidadas utilizando amostras certificadas pelo National Institute of Standards and Technology (NIST) e pelo European Reference Materials (ERM). A determinação da exatidão das metodologias utilizou materiais certificados pelo NIST e pelo ERM: Standard Reference Material 0,0005 para água e Reference Material BCR® – 0,009 para planta.

As concentrações totais dos elementos presentes na água foram expressas em μ gL⁻¹ (ppb). Soluções estoque, com 10 mg/L de Al, foram preparadas a partir de soluções padrão da SpecSol (Quimlab, São Paulo, Brasil) (1000 mg/L) e acidificadas com 50 μ L de ácido nítrico 65% (v/v) (Vetec). Para garantir a qualidade das medições, foi realizada uma ampla validação dos elementos analisados utilizando três materiais certificados diferentes, produzidos pelo NIST e BCR. O erro instrumental analítico foi determinado a partir de medidas repetidas das amostras certificadas pelo NIST e BCR (n = 5), resultando em 3,28%.

Determinação dos pigmentos fotossintéticos

Foram utilizados 0,1g de folhas submersas e imersas de 25 amostras de *S. minima*. Em seguida, as folhas foram maceradas em cadinho com auxílio de pistilo e foi adicionado 5 ml de acetona 80% e 0,05g de carbonato de cálcio. Os extratos obtidos foram filtrados em papel de filtro qualitativo, em balões volumétricos de 25ml e para o volume restante completamos com acetona 80% (LICHTENTHALER et al, 1987). A alíquota dos extratos foi analisada nos seguintes comprimentos de onda: 470 nm para carotenoides, 646 nm para clorofila a e 663 nm para clorofila b. Cada resultado dos pigmentos foram expressos em base de matéria fresca (mg g^{-1} FM).

Análise de dados

Primeiro realizamos um teste T entre os controles neutro e ácido (CN e CA) para verificar se havia efeito do pH nas quantidades de clorofila *a*, *b* e carotenoides de *S. minima*. Para avaliar a absorção de Al na biomassa de *S. minima* foi feita uma análise de variância (ANOVA) levando em consideração as concentrações de exposição. Nossa variável resposta foi a quantificação de Al (Planta mg/kg) e a variável preditora foram os tratamentos de exposição (CA, G1, G2 e G3). Finalmente, utilizamos a análise de Kruskal Wallis para verificar se as diferentes concentrações de Al (em pH ácido) alteraram as quantidades de clorofila *a*, *b* e carotenoides na planta. Utilizamos o software R 3.4.3 (R Core Team, 2017) para as análises de dados e elaboração dos gráficos.

2.4.RESULTADOS

A tabela 1 apresenta os resultados dos testes T feitos para verificar a influência do pH entre o controle neutro e o ácido dos pigmentos fotossintetizantes (clorofila *a*, clorofila *b* e carotenoides). Observamos que não houve diferença entre os controles dos pigmentos fotossintetizantes no período de 96h (Tabela 1).

Tabela 1 – Comparação de pH entre os controles neutro e ácido dos pigmentos fotossintetizantes de *S. minima*. Valores em negrito são significativos.

Biomarcadores	Tratamentos	t	df	p-value
Clorofila <i>a</i>	CN - CA	-1.1419	8	0.2865
Clorofila <i>b</i>	CN - CA	-0.68969	8	0.5099
Carotenoides	CN - CA	-1.9809	8	0.2504

Analisamos as concentrações de Al total e dissolvido no tempo inicial de 0h e a cada 24 horas de exposição (0h, 24h, 48h, 72h e 96h). Em seguida, calculamos a média da concentração de Al total e dissolvido em cada unidade experimental considerando os cinco tempos medidos (média das concentrações de exposição ao longo das 96h). Os resultados apresentados correspondem às médias de cada grupo experimental ao longo das 96h de exposição. Durante todo o experimento o pH foi monitorado e em cada troca de água estava próximo a 5 para garantir a biodisponibilidade (Tabela 2).

Tabela 2 - Concentrações de Al total e dissolvido ao longo de 96h de exposição.

Tratamento	Hora	Al TOTAL mg/L	Al DISSOLVIDO mg/L
Controle Neutro	0h	0.013002	0.03961
	24h	0.024298	0.072872
	48h	0.035003	0.040929
	72h	0.035777	0.047512
	96h	0.0277205	0.047698
Controle Ácido	0h	0.011953	0.023217
	24h	0.015505	0.034981
	48h	0.010776	0.047482
	72h	0.002296	0.056801
	96h	0.007530263	0.054552
Al 0,5 mg/L	0h	0.326985	0.588555
	24h	0.035993	0.194108
	48h	0.106738	0.227296
	72h	0.19068	0.24983
	96h	0.171672	0.269365
Al 1,0 mg/L	0h	0.767326	0.900966
	24h	0.133027	0.488115
	48h	0.175339	0.316381

	72h	0.304439	0.487029
	96h	0.421165	0.44389
Al 10,0	0h	7.475196	7.558074
	24h	4.181384	4.80031
	48h	2.038469	3.117073
	72h	2.661117	3.798977
	96h	2.520252	2.533819

A análise da biomassa de *S. minima* exposta a diferentes concentrações de alumínio mostrou que essa planta acumulou progressivamente esse elemento, com valores significativamente diferentes entre os tratamentos de exposição ao alumínio ($F = 222.6$; $p < 0.001$; Figura 3). O teste post-hoc de Tukey mostrou que todos os tratamentos diferiram entre si ($p < 0,05$), exceto entre os dois controles (neutro: CN e ácido: CA, $p > 0,05$) (Tabela 1).

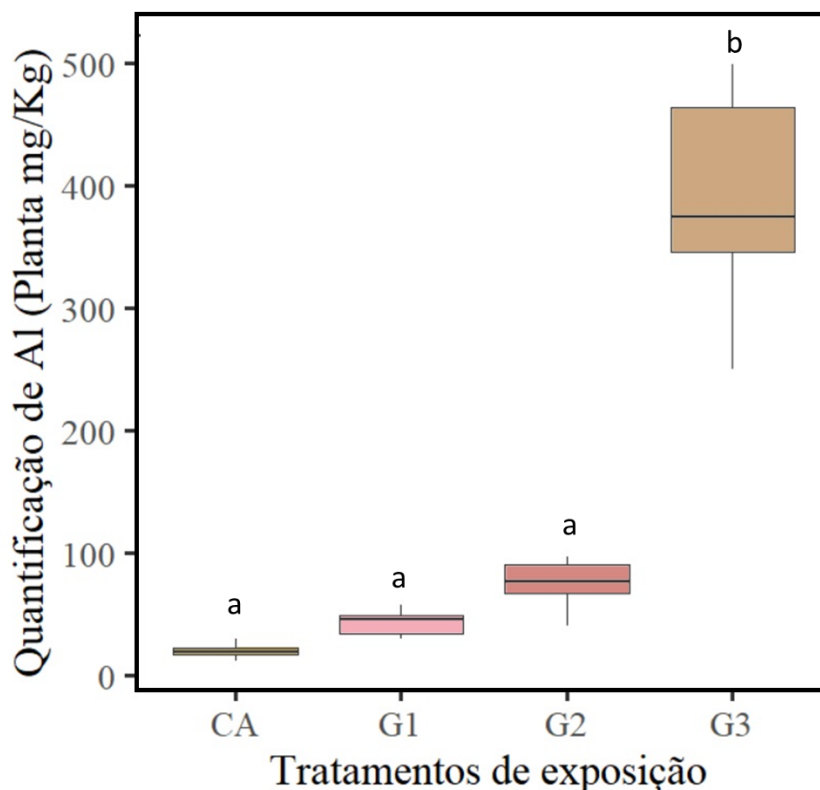


Figura 3 - Quantificação de Al na biomassa de *S. minima* em diferentes tratamentos de exposição. Letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre os tratamentos. CA: controle ácido, G1: Grupo de exposição a 0,5 mg/L Al, G2: exposição a 1,0 mg/L Al, G3: exposição a 10,0 mg/L Al. Letras diferentes representam a diferenças estatísticas entre os grupos experimentais ($p < 0,05$).

Em média *S. minima* apresentou 0.960 mg.g⁻¹ de clorofila a, 0.75 mg.g⁻¹ de clorofila b e 0.178 mg.g⁻¹ de carotenóides nos tratamentos amostrados. A concentração de clorofila *a* de *S. minima* não diferiu significativamente entre os tratamentos de exposição ao Al ($H_{(3,47)} = 2.52$, $p = 0.47$; Figura 4). Os resultados de clorofila *b* e carotenóides também não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos ($H_{(3,47)} = 1.38$, $p = 0.70$, Figura 4B; e $H_{(3,47)} = 1.97$, $p = 0.57$, Figura 4C).

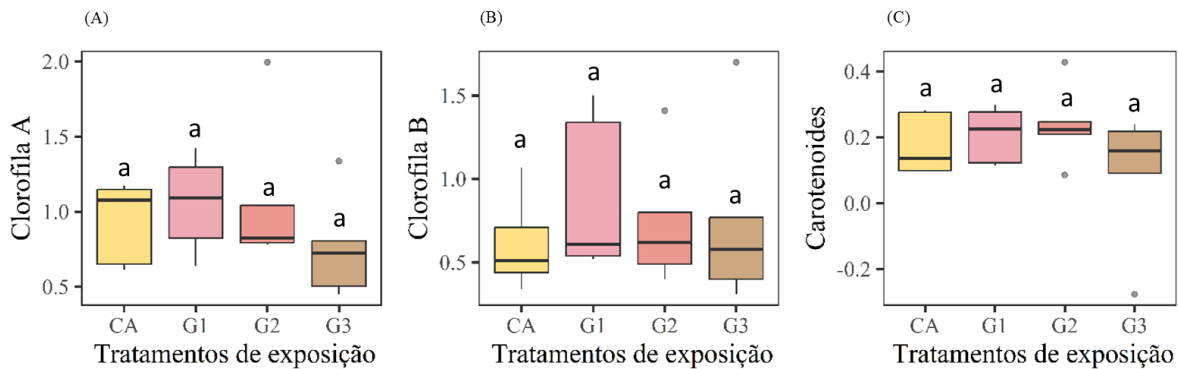


Figura 4 - Quantidade de (A) Clorofila *a* (mg g⁻¹ FM), (B) Clorofila *b* (mg g⁻¹ FM) e (C) Carotenóides (mg g⁻¹ FM) da macrófita aquática *S. minima* em diferentes concentrações de alumínio. CA: controle ácido, G1: Grupo de exposição a 0,5 mg/L Al, G2: exposição a 1,0 mg/L Al, G3: exposição a 10,0 mg/L Al. Letras iguais representam que não existe diferenças estatísticas entre os grupos experimentais ($p > 0,05$).

2.5.DISCUSSÃO

Nós observamos que *S. minima* acumulou Al em seus tecidos progressivamente com o aumento desse elemento na água, sem apresentar danos visíveis em suas folhas e sem alterar sua produção de clorofila (*a* e *b*) e carotenóides durante a realização desse experimento. Dessa forma, nossa hipótese de que a produção dos pigmentos fotossintetizantes diminuiria com as altas concentrações de alumínio não foi corroborada.

Algumas macrófitas acumulam Al em seus tecidos e conseguem tolerar altas concentrações deste metal (ZHANG et al, 2011). Elas possuem diferentes mecanismos que facilitam o acúmulo de metais, podendo absorvê-los em suas raízes fibrosas, rizomas ou folhas (ESPINOZA-QUIÑONES et

al, 2013). Esse acúmulo varia entre espécies e partes dos tecidos vegetais (KUMAR et al, 2012), mas para as espécies de macrófitas flutuantes ela é ainda mais eficaz (BARROS & HENARES, 2015), pois absorvem da coluna d'água nutrientes (e conseqüentemente os íons disponíveis) para seu desenvolvimento (FREITAS et al., 2017).

Além disso, espécies de macrófitas flutuantes se reproduzem especialmente de forma vegetativa, ou seja, novos indivíduos são gerados por fragmentos de indivíduos já formados, e em poucos dias podem dobrar o tamanho e número de indivíduos no local habitado (HENRY-SILVA et al, 2001). Esse rápido crescimento vegetativo e acúmulo de metais na biomassa em locais impactados, nos indicam que elas podem ser utilizadas na recuperação de áreas impactadas e conseqüentemente ajudarão na conservação do ambiente aquático (SUÑE et al, 2007). Como foi no nosso caso com *Salvinia minima*, aqui foi possível observar que em locais com vinte vezes mais alumínio na água do que o aceito pela legislação brasileira, ela conseguiu assimilar muito bem esses íons e acumular em sua biomassa mesmo em curto espaço de tempo, demonstrando que ela pode ser uma excelente escolha para fitorremediação em casos de desastres ambientais.

Apesar de tolerantes, sabe-se que o Al pode interferir no metabolismo normal de íons, desencadeando uma série de distúrbios que afetam processos fisiológicos e bioquímicos (WANG et al, 2010). O efeito do Al na planta pode ser através da inibição da produção de enzimas envolvidas na síntese de clorofila, como a ferredoxina NADP⁺ redutase e a aminolevulinato desidratase (LIN et al, 2023). E através da deficiência de íons como Ca²⁺ e Mg²⁺, e na competição de Al com o Mg²⁺ em processos celulares, o que afeta o transporte de elétrons fotossintéticos e, conseqüentemente, pode diminuir a síntese de clorofila a (LIN et al, 2023). Esses pigmentos têm sido utilizados como um indicador do impacto de estresses ambientais sobre as plantas, e a toxicidade do alumínio pode comprometê-los levando à redução dos pigmentos fotossintéticos em plantas aquáticas com diferentes hábitos de vida (LIN et al, 2023). Um declínio nos pigmentos devido a presença de Al, especialmente na clorofila, pode impactar negativamente a eficiência fotossintética e o crescimento das plantas (SU et al, 2019; SHARMA et al, 2021). Porém nossos resultados mostraram que *S. minima* conseguiu

manter suas taxas metabólicas estáveis sem alteração nos pigmentos que são responsáveis pelo processo de captação da energia luminosa para a fotossíntese e conseqüentemente para sua sobrevivência.

Além desse gênero de macrófitas flutuantes, outras espécies também podem ser consideradas como fitorremediadoras, como a *Lemna minor* L., *Pistia stratiotes* L., *Typha latifolia* L., *Ceratophyllum demersum* L., que mantêm as concentrações de íons metálicos muitas vezes maiores nos tecidos quando expostas a ambiente com níveis tóxicos de metais (DOLUI et al, 2024). Contudo, sua eficiência as respostas podem ser diferentes entre espécies e metal no qual as plantas entram em contato, por isso, conhecer a resposta de cada espécie é muito importante. Por exemplo *Salvinia natans*, tem a capacidade de acumular uma variedade de metais pesados em diferentes concentrações, esses metais incluem Cr, Fe, Ni, Cu, Pb, Cd, Co, Zn e Mn sem haver mudança na sua biologia, porém quando exposta a Cu, Pb, Zn, Cd e Ni, foi observado a diminuição significativa na produção de pigmentos fotossintéticos, como clorofila *a*, clorofila *b* e clorofila total em 48h de exposição (DHIR et al, 2008).

Por outro lado, estudo com duração de 10 dias a espécie *Salvinia auriculata* apresentou danos nos cloroplastos das folhas quando exposta as diferentes concentrações de Cd (WOLFF et al, 2012) indicando impactos negativos nos pigmentos fotossintéticos. Nesse sentido, a fitorremediação de diversas espécies de macrófitas flutuantes dependem tanto do tempo de exposição, quanto do metal exposto para começar a apresentar alterações morfológicas, fisiológicas e bioquímicas e por isso esse trabalho com *Salvinia minima*, mostrando sua resistência ao alumínio é tão importante, pois cada espécie apresenta uma forma de resposta e assim, é possível fazer o melhor uso dela nos trabalhos de restauração.

Desta forma, *S. minima* mostra-se como uma opção mais viável para programas de fitorremediação, pois com tempo de acumulação reduzido é possível trabalhar na filtragem de sistemas hídricos em menor escala de tempo (FREITAS et al, 2017). Embora seja uma espécie pouco estudada, é possível também inferir que esta espécie apresenta potencial para utilização como

bioacumuladora, uma vez que o tempo de acumulação é um fator importante no processo de fitorremediação, o que torna a *S. minima* uma ferramenta importante para estes estudos.

2.6.CONCLUSÃO

O alumínio é um dos metais encontrados naturalmente nos solos e corpos d'água na Amazônia, que devido as ações antrópicas estão ficando mais biodisponíveis no ambiente, por isso encontrar espécies que ajudem na remoção desse metal dos ambientes aquáticos é extremamente importante. Os resultados deste estudo revelam a capacitância progressiva da *S. minima* em acumular alumínio nos seus tecidos e a sua tolerância às altas concentrações deste metal na água na produção dos pigmentos fotossintetizantes. *S. minima* mesmo expostas a concentrações até vinte vezes superiores às encontradas no ambiente natural, permanece viva e com o metabolismo fotossintético inabalado. Dessa forma, podemos indicá-la como um organismo sentinela na contaminação por Al, além de ser uma espécie promissora em fitorremediação nesses ambientes.

Importante lembrar que a fitorremediação utilizando macrófitas também depende da espécie, do tempo e do metal (concentração) exposto para apresentar alterações em seus tecidos quando em ambientes alterados. Esse resultado aponta boas características de *S. minima* para ser usada em ações de restauração em ambientes com excesso de alumínio. Como próximos passos esse trabalho aponta a necessidade de trabalhos *in situ* para orientar estratégias de recuperação em ambientes aquáticos impactados.

2.7.REFERÊNCIAS

ABDALLA, R. P. et al. Exposure to aluminum, aluminum + manganese and acid pH triggers different antioxidant responses in gills and liver of *Astyanax altiparanae* (Teleostei: Characiformes: Characidae) males. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, v. 215, p. 33-40, 2019.

AMADO, Lílian Lund et al. A method to measure total antioxidant capacity against peroxy radicals in aquatic organisms: application to evaluate microcystins toxicity. *Science of the total Environment*, v. 407, n. 6, p. 2115-2123, 2009.

ANGÉLICA, Rômulo Simões; KAHN, Henrique; PAZ, Simone Patrícia Aranha da. A proposal for bauxite quality control using the combined Rietveld-Le Bail-Internal Standard PXRD method—Part 2: Application to a gibbsitic bauxite from the Paragominas region, northern Brazil. *Minerals Engineering*, v. 122, p. 148-155, 2018.

ARTAXO, Paulo et al. Química atmosférica na Amazônia: a floresta e as emissões de queimadas controlando a composição da atmosfera amazônica. *Acta amazônica*, v. 35, p. 185-196, 2005.

BARGHIANI, C.; GLOFFRE, D.; BARGALI, R. Mercury content in *Pinus* Sp of the Mt. Etna volcanic area, in *heavy metals in the environment*, v. 2, 1987.

BIZZO, Andresa Lana Thomé et al. Short-term physiological responses to copper stress in *Salvinia auriculata* Aubl. *Acta Limnologica Brasiliensia*, v. 26, p. 268-277, 2014.

BOWMAN, Maria S. et al. Persistence of cattle ranching in the Brazilian Amazon: A spatial analysis of the rationale for beef production. *Land use policy*, v. 29, n. 3, p. 558-568, 2012.

BRADFORD, Marion M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.

CANTANHÊDE, Sildiane Martins et al. Evaluation of cardiotoxicity in Amazonian fish *Bryconops caudomaculatus* by acute exposure to aluminium in an acidic environment. *Aquatic Toxicology*, v. 242, p. 106044, 2022.

CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente) Resolução nº 357 Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 2005.

CLARK, Malcolm W.; JOHNSTON, Max; REICHELDT-BRUSHETT, Amanda J. Comparison of several different neutralisations to a bauxite refinery residue: potential effectiveness environmental ameliorants. *Applied Geochemistry*, v. 56, p. 1-10, 2015.

CARRILLO-NIQUETE, Gerardo et al. O acúmulo de cobre na samambaia aquática *Salvinia minima* causa estresse fisiológico mais severo do que o zinco. *BioMetals*, v. 35, n. 5, pág. 1043-1057, 2022.

DA COSTA, Marcondes Lima et al. On the geology, mineralogy and geochemistry of the bauxite-bearing regolith in the lower Amazon basin: Evidence of genetic relationships. *Journal of Geochemical Exploration*, v. 146, p. 58-74, 2014.

DA SILVA CANTINHA, Rebeca, BORRELY, Sueli Ivone, OGUIURA, Nancy, PEREIRA, Carlos Alberto de Bragança, RIGOLON, Marcela M., NAKANO, Eliana. HSP70 expression in *Biomphalaria glabrata* snails exposed to cadmium, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Volume 140, Pages 18-23, 2017.

DAS, Suchismita; GOSWAMI, Sunayana. Copper phytoextraction by *Salvinia cucullata*: biochemical and morphological study. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 24, n. 2, p. 1363-1371, 2017.

DEOSTI, Sabrina et al. Zooplankton taxonomic and functional structure is determined by macrophytes and fish predation in a Neotropical River. *Hydrobiologia*, v. 848, n. 7, p. 1475-1490, 2021.

DE SOUZA, Rodrigo Antônio; MIZIARA, Fausto; JUNIOR, Paulo De Marco. Spatial variation of deforestation rates in the Brazilian Amazon: A complex theater for agrarian technology, agrarian structure, and governance by surveillance. *Land use policy*, v. 30, n. 1, p. 915-924, 2013.

DHIR, Bhupinder; SHARMILA, P.; SARADHI, P. Pardha. Photosynthetic performance of *Salvinia natans* exposed to chromium and zinc rich wastewater. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, v. 20, p. 61-70, 2008.

DO NASCIMENTO MONTE, Christiane et al. The physical-chemical characteristics of surface waters in the management of quality in clearwater rivers in the Brazilian Amazon. *Water Policy*, v. 23, n. 5, p. 1303-1313, 2021.

DOLUI, Debabrata et al. 2, 4-D mediated moderation of aluminum tolerance in *Salvinia molesta* D. Mitch. with regards to bioexclusion and related physiological and metabolic changes. *International Journal of Phytoremediation*, v. 26, n. 1, p. 27-44, 2024.

DONOGHUE, A. Michael; FRISCH, Neale; OLNEY, David. Bauxite mining and alumina refining: process description and occupational health risks. *Journal of occupational and environmental medicine*, v. 56, n. 5 Suppl, p. S12, 2014.

DOS SANTOS, Maria Aparecida et al. What are the main environmental predictors of differences in the community structure of periphytic desmids in a semi-arid floodplain lake?. *Aquatic Ecology*, v. 56, n. 4, p. 1037-1053, 2022.

DRISCOLL, C. T.; POSTEK, K. M. The chemistry of aluminum in surface waters. *The Environmental Chemistry of Aluminum* (Sposito, G., ed.), 363-418. 1996.

ESPINOZA-QUIÑONES, Fernando R. et al. Influence of lead-doped hydroponic medium on the adsorption/bioaccumulation processes of lead and phosphorus in roots and leaves of the aquatic macrophyte *Eichhornia crassipes*. *Journal of environmental management*, v. 130, p. 199-206, 2013.

EXLEY, Christopher; MOLD, Matthew J. The binding, transport, and fate of aluminium in biological cells. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, v. 30, p. 90-95, 2015.

FAWZY, Manal Ahmed et al. Heavy metal biomonitoring and phytoremediation potentialities of aquatic macrophytes in River Nile. *Environmental monitoring and Assessment*, v. 184, n. 3, p. 1753-1771, 2012.

FILIMON, R. V.; ROTARU, L.; FILIMON, R. M. Quantitative investigation of leaf photosynthetic pigments during annual biological cycle of *Vitis vinifera* L. table grape cultivars. *South African Journal of Enology and Viticulture*, v. 37, n. 1, p. 1-14, 2016.

FUENTES, Ignacio I. et al. Capacity of the aquatic fern (*Salvinia minima* Baker) to accumulate high concentrations of nickel in its tissues, and its effect on plant physiological processes. *Aquatic Toxicology*, v. 155, p. 142-150, 2014.

FREITAS, F. et al. Accumulation of copper by the aquatic macrophyte *Salvinia biloba* Raddi (Salviniaceae). *Brazilian Journal of Biology*, v. 78, p. 133-139, 2017.

GENSEMER, Robert W.; PLAYLE, Richard C. The bioavailability and toxicity of aluminum in aquatic environments. *Critical reviews in environmental science and technology*, v. 29, n. 4, p. 315-450, 1999.

GILTRAP, Michelle et al. Integration of biological effects, fish histopathology and contaminant measurements for the assessment of fish health: A pilot application in Irish marine waters. *Marine environmental research*, v. 129, p. 113-132, 2017.

GODAR, Javier; TIZADO, Emilio Jorge; POKORNY, Benno. Who is responsible for deforestation in the Amazon? A spatially explicit analysis along the Transamazon Highway in Brazil. *Forest Ecology and Management*, v. 267, p. 58-73, 2012.

HABIG, William H., MICHAEL J. Pabst, and WILLIAM B. Jakoby. Glutathione S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of biological Chemistry* 249.22: 7130-7139, 1974.

HABIG, William H.; JAKOBY, William B. Assays for differentiation of glutathione S-Transferases. In: *Methods in enzymology*. Academic press, p. 398-405, 1981.

HENRY-SILVA, G. G. et al. Chemical composition of five species of aquatic macrophytes from lotic ecosystems of the southern coast of the state of São Paulo (Brazil). *Acta Limnologica Brasiliensia*, v. 13, n. 2, p. 11-17, 2001.

HORCKMANS, Liesbeth et al. Local background concentrations of trace elements in soils: a case study in the Grand Duchy of Luxembourg. *Catena*, v. 59, n. 3, p. 279-304, 2005.

IGBOKWE, Ikechukwu Onyebuchi; IGWENAGU, Ephraim; IGBOKWE, Nanacha Afifi. Aluminium toxicosis: a review of toxic actions and effects. *Interdisciplinary toxicology*, v. 12, n. 2, p. 45, 2019.

OAKES, Ken D. and GLEN J. Van Der Kraak. Utility of the TBARS assay in detecting oxidative stress in white sucker (*Catostomus commersoni*) populations exposed to pulp mill effluent. *Aquatic Toxicology* 63.4: 447-463, 2003.

IHA, Danilo Sinhei; BIANCHINI JR, Irineu. Phytoremediation of Cd, Ni, Pb and Zn by *Salvinia minima*. *International journal of phytoremediation*, v. 17, n. 10, p. 929-935, 2015.

KEHRIG, H.A. et al. Bioconcentração e biomagnificação de metilmercúrio na baía de Guanabara, Rio de Janeiro. *Química Nova*, v. 34, n. 3, p. 377–384, 2011.

KOTSCHOUBEY, Basile; TRUCKENBRODT, Werner; CALAF, J. M. C. Evolução geológica da porção meridional da Província Bauxitífera de Paragominas durante o Neógeno/Pleistoceno (Noroeste da Bacia do Grajaú, Nordeste do Pará e extremo Oeste do Maranhão). *Revista Brasileira de Geociências*, v. 35, n. 2, p. 263-272, 2005.

KUMAR, Narendra et al. Accumulation of metals in selected macrophytes grown in mixture of drain water and tannery effluent and their phytoremediation potential. *Journal of Environmental Biology*, v. 33, n. 5, p. 923, 2012.

LEI, Kai; PAN, Huiyun; LIN, Chunye. A landscape approach towards ecological restoration and sustainable development of mining areas. *Ecological Engineering*, v. 90, p. 320-325, 2016.

LIN, Qingwei et al. Aluminum phytotoxicity induced structural and ultrastructural changes in submerged plant *Vallisneria spiralis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 250, p. 114484, 2023.

LOTTERMOSER, Bernd. *Mine wastes*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2007.

OLIVEIRA, Saulo Batista; DA COSTA, Marcondes Lima; DOS PRAZERES FILHO, Hécio José. The lateritic bauxite deposit of Rondon do Pará: A new giant deposit in the Amazon region, Northern Brazil. *Economic Geology*, v. 111, n. 5, p. 1277-1290, 2016.

LOBKOVA, G. V.; TIKHOMIROVA, E. I.; SIMONOVA, Z. A. Assessment of the Effect of Heavy Metal Salts on the Photosynthetic Activity of Aquatic Plants. *Biology Bulletin*, v. 49, n. 10, p. 1801-1805, 2022.

MAINE, María A.; SUÑÉ, Noemí L.; LAGGER, Susana C. Chromium bioaccumulation: comparison of the capacity of two floating aquatic macrophytes. *Water Research*, v. 38, n. 6, p. 1494-1501, 2004.

MAHINO, Fatima et al. Heavy metal in aquatic ecosystem emphasizing its effect on tissue bioaccumulation and histopathology: a review. *Journal of Environmental Science and Technology*, v. 7, n. 1, p. 1-15, 2014.

PAN, Y. H. et al. Accumulation and translocation of heavy metals by macrophytes. *Acta Ecologica Sinica*, v. 30, n. 23, p. 6430-6441, 2010.

PANG, Yean Ling e cols. Revisão do Potencial de Fitorremediação de Plantas Aquáticas Flutuantes para Metais Pesados: Uma Abordagem Promissora. *Sustentabilidade*, v. 15, n. 2, pág. 1290, 2023.

PINTO-COELHO, Ricardo Motta. *Fundamentos em ecologia*. Artmed Editora, 2009.

PHETSOMBAT, Siriwan et al. Toxicity and bioaccumulation of cadmium and lead in *Salvinia cucullata*. *Journal of Environmental Biology*, v. 27, n. 4, p. 645-652, 2006.

PRADO, Carolina et al. Uptake of chromium by *Salvinia minima*: effect on plant growth, leaf respiration and carbohydrate metabolism. *Journal of Hazardous Materials*, v. 177, n. 1-3, p. 546-553, 2010.

RAI, Richa; AGRAWAL, Madhoolika; AGRAWAL, S. B. Impact of heavy metals on physiological processes of plants: with special reference to photosynthetic system. *Plant responses to xenobiotics*, p. 127-140, 2016.

RAJESHKUMAR, Sivakumar; LI, Xiaoyu. Bioaccumulation of heavy metals in fish species from the Meiliang Bay, Taihu Lake, China. *Toxicology reports*, v. 5, p. 288-295, 2018.

ROOM, P. M. et al. Successful biological control of the floating weed salvinia. *Nature*, v. 294, n. 5836, p. 78-80, 1981.

SANTOS, Breno Augusto dos. Recursos minerais da Amazônia. *Estudos avançados*, v. 16, p. 123-152, 2002.

SERUDO, Ricardo Lima et al. Reduction capability of soil humic substances from the Rio Negro basin, Brazil, towards Hg (II) studied by a multimethod approach and principal component analysis (PCA). *Geoderma*, v. 138, n. 3-4, p. 229-236, 2007.

SILVA, Juli Lage de Souza et al. Analysis of vegetation recovery in areas impacted by bauxite mining in the Amazon Forest. *Clean Technologies and Environmental Policy*, v. 23, n. 5, p. 1617-1640, 2021.

SLANINOVA, A.; MACHOVA, J.; SVOBODOVA, Z. Fish kill caused by aluminium and iron contamination in a natural pond used for fish rearing: a case report. *Veterinari Medicina*, v. 59, n. 11, 2014.

SHARMA, Pooja et al. Uptake and mobilization of heavy metals through phytoremediation process from native plants species growing on complex pollutants: Antioxidant enzymes and photosynthetic pigments response. *Environmental Technology & Innovation*, v. 23, p. 101629, 2021.

SORKHEH, K. et al. Exogenous proline alleviates the effects of H₂O₂-induced oxidative stress in wild almond species. *Russian journal of plant physiology*, v. 59, p. 788-798, 2012.

SU, Chunlei et al. Responses of duckweed (*Lemna minor* L.) to aluminum stress: Physiological and proteomics analyses. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 170, p. 127-140, 2019.

STALEY, James T.; HAUPIN, Warren. Aluminum and aluminum alloys. *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, 2000.

SUÑE, Noemi et al. Cadmium and chromium removal kinetics from solution by two aquatic macrophytes. *Environmental pollution*, v. 145, n. 2, p. 467-473, 2007.

TIPPING, Philip W. et al. Ecology of common salvinia, *Salvinia minima* Baker, in southern Florida. *Aquatic botany*, v. 102, p. 23-27, 2012.

VODYANITSKII, Yu N.; SHOBA, S. A. Biogeochemistry of carbon, iron, and heavy metals in wetlands (analytical review). *Moscow University soil science bulletin*, v. 70, n. 3, p. 89-97, 2015.

WOLFF, G. et al. 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, p. 71-77, 2012.

WORLANYO, Adator Stephanie; JIANGFENG, Li. Evaluating the environmental and economic impact of mining for post-mined land restoration and land-use: A review. *Journal of Environmental Management*, v. 279, p. 111623, 2021.

ZHENG, S. J.; YANG, J. L. Target sites of aluminum phytotoxicity. *Biologia Plantarum*, v. 49, n. 3, p. 321-331, 2005.

ZHONG, Guidi et al. Responses of *Hydrilla verticillata* (Lf) Royle and *Vallisneria natans* (Lour.) Hara to glyphosate exposure. *Chemosphere*, v. 193, p. 385-393, 2018.

3. Sessão II

Respostas bioquímicas de *Montrichardia linifera* as diferentes concentrações de alumínio

A segunda sessão desta dissertação foi elaborada e formatada conforme as normas da publicação científica Aquatic Toxicology, disponível em: <https://www.sciencedirect.com/journal/aquatic-toxicology>

Respostas Bioquímicas de *Montrichardia linifera* as diferentes concentrações de Alumínio

3.1.RESUMO

As crescentes atividades econômicas na Amazônia, como agricultura, pecuária e extração mineral, causam diversas alterações ambientais, como o aumento da mobilização do alumínio (Al) do solo para o ambiente aquático, afetando a biodiversidade. Estudos avaliando as respostas fisiológicas e bioquímicas das plantas aquáticas à diferentes concentrações por Al são essenciais para compreender os impactos nos ecossistemas aquáticos amazônicos, pois alterações fisiológicas e bioquímicas nessas plantas podem desencadear efeitos negativos em diversos organismos aquáticos, gerando uma reação em cadeia. As macrófitas aquáticas, como a *Montrichardia linifera*, têm potencial para remediar ambientes contaminados por diferentes metais, porém pouco se sabe sobre suas respostas ao Al, metal facilmente encontrado na região. O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito de diferentes concentrações de alumínio nas respostas fisiológicas da *Montrichardia linifera*, analisando suas respostas antioxidantes e possíveis danos aos lipídeos. Para isso realizamos um experimento com *M. linifera*, em cinco grupos experimentais (controle; pH5; pH5 a 0,5 mg/L Al; pH5 a 1,0 mg/L Al e pH5 a 10,0 mg/L Al) com dez replicações cada, totalizando 50 unidades amostrais. Após 14 dias de exposição, as plantas e as soluções foram retiradas, armazenadas e depois analisadas para mensuração da concentração do alumínio em cada tecido. Foram analisados os biomarcadores de exposição (Glutathione-S-Transferase (GST) e Capacidade Antioxidante Total (ACAP)) e de efeito (Lipoperoxidação (LPO)). Os resultados não demonstraram diferenças significativas na capacidade antioxidante total em folhas de *M. linifera* em nenhuma das concentrações de Al, enquanto a atividade de GST foi significativamente alta na maior concentração de Al (10mg/L) em relação ao grupo controle. Este dado refletiu em um baixo teor de malondialdeído, subproduto da lipoperoxidação, indicando que não ocorreu dano oxidativo nas folhas das plantas. De modo geral, podemos inferir que *M. linifera* é capaz de modular seu sistema antioxidante quando exposta à diferentes concentrações de alumínio, além de ser uma provável ferramenta econômica na mitigação de danos ambientais por apresentar um alto potencial bioacumulador de metais.

Palavras-chave: Fitorremediação, Amazônia, biomarcadores, efeitos toxicológicos

Analysis of the biochemical responses of *Montrichardia linifera* to different Aluminum concentrations

ABSTRACT

The increasing economic activities in the Amazon, such as agriculture, livestock, and mineral extraction, result in various environmental changes, including the increase mobilization of aluminum (Al) mobilization from the soil into the aquatic environment, thereby impacting biodiversity. Studies evaluating the physiological and biochemical responses of aquatic plants to different Al concentrations are essential to understand the impacts on Amazonian aquatic ecosystems because physiological and biochemical alterations in these plants can trigger negative effects on various aquatic organisms, generating a chain reaction. Aquatic macrophytes, such as *Montrichardia linifera*, have the potential to remediate environments contaminated with various metals, but little is known about their responses to Al, a metal commonly found in the region. The objective of this study was to evaluate the effect of different aluminum concentrations on the physiological responses of *Montrichardia linifera*, analyzing its antioxidant responses and potential damage to lipids. For this, we conducted an experiment with *M. linifera*, comprising five experimental groups (control; pH 5; pH 5 with 0.5 mg/L Al; pH 5 with 1.0 mg/L Al; and pH 5 with 10.0 mg/L Al) each with ten replicates each, totaling 50 sample units. After 14 days of exposure, the plants and solutions were removed, stored, and then analyzed for aluminum concentration in each tissue. Exposure biomarkers (Glutathione-S-Transferase (GST) and Total Antioxidant Capacity (ACAP)) and effect biomarkers (Lipid Peroxidation (LPO)) were analyzed, and then the data were subjected to statistical analysis (ANOVA). The results showed no significant differences in total antioxidant capacity in *M. linifera* leaves at any of the Al concentrations, while GST activity was significantly high at the highest Al concentration (10 mg/L) compared to the control group. This data reflected in a low malondialdehyde content, a byproduct of lipid peroxidation, indicating that no oxidative damage occurred in the leaves of the plants. Overall, we can infer that *M. linifera* is capable of modulating its antioxidant system when exposed to different aluminum concentrations, and is also a likely cost-effective tool in mitigating environmental damage due to its high bioaccumulative potential for metals.

Keywords: Phytoremediation, Amazon, biomarkers, toxicological effects

3.2.INTRODUÇÃO

As principais atividades econômicas na Amazônia, como agricultura, pecuária e extração mineral (BOWMAN et al, 2012; SOUZA et al, 2013), têm causado diversas alterações ambientais, como a contaminação do solo e da água (BOTELHO et al, 2019). A mineração ocupa o segundo lugar em número de minas em funcionamento na região amazônica (OLIVEIRA et al, 2016), com destaque para a extração de alumínio (Al) retirado da bauxita (DONOGHUE et al, 2014), que é o terceiro elemento mais comum e abundante na crosta terrestre (ZHENG et al, 2005). Devido sua grande disponibilidade em solos Amazônicos, a mineração de bauxita tem sido intensa, mobilizando ainda mais o alumínio do solo para o ambiente aquático (CLARK et al, 2015).

Reservas de alumínio estão situadas em áreas pré-cambrianas, que correspondem a 40% do território amazônico, explicando a abundância e a elevada exploração deste minério na região (SANTOS et al, 2002). Parte deste alumínio pode ser descartado no ambiente e, quando liberado no ambiente aquático, dependendo da sua concentração e biodisponibilidade, podem causar efeitos tóxicos nos organismos (KEHRIG et al, 2011).

A falta de planejamento ou conhecimento prévio dos efeitos do alumínio nos organismos contribuem para o aumento da perda da biodiversidade (GODAR et al, 2012). Apesar da absorção e assimilação do alumínio pelos organismos aquáticos depender também de outros fatores, como o pH ácido, isso não limita os possíveis efeitos nos organismos aquáticos desta região. Considerando que essa região já apresenta corpos d'água com pH naturalmente ácido (ARTAXO et al, 2005), estudos mostram que o alumínio é facilmente absorvido e torna-se tóxico em condições ácidas (DRISCOLL & POSTEK, 1996).

Estudos sobre os impactos ambientais infligidos à região amazônica por atividades antrópicas mostram que a contaminação ambiental por metais é considerada um dos piores problemas que afetam esses ecossistemas (SERUDO et al, 2007), por isso trabalhos que entendam como a biodiversidade responde a essas alterações são extremamente importantes.

Em ambientes aquáticos, as macrófitas apresentam alta capacidade de absorção de metais, como o alumínio, tanto do sedimento quanto da coluna d'água (FAWZY et al, 2012). Essas plantas possuem importante papel no funcionamento dos ecossistemas, podem ser utilizadas como indicadoras do estado do ambiente e como fitorremediadoras em ambientes degradados (VODYANITSKII et al, 2015). Além disso, a ocorrência de macrófitas aquáticas está diretamente ligada a ocorrência de outras comunidades como perifíton, zooplâncton, peixes e macroinvertebrados

(DEOSTI et al, 2021). Portanto, alterações fisiológicas causadas pela contaminação do alumínio nesta comunidade podem levar a efeitos negativos também em outros organismos aquáticos, criando um efeito em cadeia.

Dentre as espécies de macrófitas com potencial de remediar contaminantes dos ambientes aquáticos encontra-se a *Montrichardia linifera* (Arruda) Schott, da família Araceae, conhecida popularmente como aninga. Ela é uma espécie anfíbia vastamente distribuída nas várzeas amazônicas e em ecossistemas inundáveis como igapós, margens de rios e igarapés (AMARANTE et al, 2010). Esta espécie apresenta potencial de acumular altas concentrações de metais potencialmente tóxicos (como cádmio, manganês, etc.), o que torna essas plantas uma excelente alternativa para remediação de ambientes contaminados por metais (BOTELHO et al, 2019). Porém, mesmo presente em um ambiente naturalmente com maior concentração de alumínio, nada se sabe sobre seu efeito nas respostas biológicas dessa espécie.

Nesse contexto, a utilização de biomarcadores em organismos aquáticos tem sido intensamente empregada como ferramenta favorável para estudos de contaminação em ambientes aquáticos, fornecendo informações sobre os danos causados por esses elementos nos ambientes (GILTRAP et al, 2017).

As respostas antioxidantes, abrangendo tanto mecanismos enzimáticos quanto não enzimáticos, podem ser avaliadas de maneira integrada por meio do biomarcador conhecido como capacidade antioxidante total contra radicais peróxil (ACAP). Esse indicador de exposição quantifica o conjunto completo de defesas antioxidantes presentes na célula, proporcionando uma perspectiva geral e holística do sistema de proteção contra agentes estressores (AMADO et al, 2009), assim como a glutathione S-transferase (GST), uma enzima de biotransformação que conjuga a glutathione reduzida com compostos orgânicos eletrofílicos gerados intracelularmente (TORRES et al, 2006).

Um dos biomarcadores não enzimáticos é a glutathione reduzida (GSH), que está envolvida em uma série de processos biológicos, como síntese de proteínas, metabolismo e proteção celular ao estresse oxidativo (ROVER JÚNIOR et al, 2001). Desse modo, o Al é capaz de induzir estresses oxidativos, estimulando a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), levando à peroxidação lipídica (LPO), danos ao DNA e aumento da suscetibilidade à apoptose, fatores que podem levar a eventos citotóxicos (ABDALLA et al, 2019). Ainda, o alumínio pode facilitar a oxidação de proteínas e interrupção na atividade de enzimas antioxidantes, como a Superóxido Dismutase (SOD), Catalase (CAT) e Glutathione Peroxidase (GPx) (SLANINOVA et al, 2014), que atuam como a principal defesa contra ERO produzidas em diversas partes das células vegetais (APEL & HIRT, 2004).

Desta forma, conhecer as respostas bioquímicas de plantas aquáticas expostas a altas concentrações de metais pode auxiliar em processos de recuperação dos ambientes aquáticos, já que

essas plantas podem ser usadas como fitorremediadoras (EID et al, 2020; MANORAMA et al, 2020). Além disso, poucos trabalhos abordam a toxicidade do alumínio em plantas aquáticas, as possíveis consequências para as outras comunidades aquáticas associadas a essas plantas e para o funcionamento do ecossistema especialmente na Amazônia. Nesse sentido, estudos avaliando as respostas fisiológicas e bioquímicas de macrófitas aquáticas à contaminação por alumínio são importantes, especialmente em ambientes amazônicos, já que melhoram a compreensão dos mecanismos de toxicidade deste elemento e como isso pode afetar os ecossistemas aquáticos.

Assim, o objetivo desse trabalho é avaliar o efeito de diferentes concentrações de alumínio (Al) nas respostas fisiológicas de uma macrófita aquática nativa (*Montrichardia linifera*) encontrados na região amazônica. Com esses resultados queremos i) analisar as respostas antioxidantes da macrófita aquática nativa *M. linifera*, verificando as alterações causadas pela exposição aguda das concentrações ambientalmente encontradas de Al na capacidade antioxidante total (ACAP) e das respostas na atividade da glutathione S-transferase (GST); ii) verificar os possíveis danos aos lipídeos de *M. linifera* em condições agudas de exposição ao Al através das respostas na atividade da lipoperoxidação (LPO); e correlacionar os possíveis efeitos negativos observados do Al nas respostas bioquímicas de *M. linifera* aos ecossistemas naturais.

3.3.MATERIAS E MÉTODOS

Coleta e cultivo das sementes

As amostras das infrutescências foram coletadas as margens de um riacho no município de Barcarena, Pará (Lat: 02°59'45" S; Long: 47°21'10" W). Na região amazônica, especificamente os estados do Pará e Maranhão, abriga o mais extenso e denso agrupamento de depósito de bauxita do Brasil, correspondendo a cerca de 60% de toda a reserva de minério metalúrgico aproveitável do país (KOTSCHUBEY & TRUCKENBRODT, 1981). Desse modo, grandes empresas concentram suas sedes nos municípios desses estados, dentre eles Barcarena, um importante polo de refinamento e distribuidor do minério do estado (DOS SANTOS et al, 2022).

Após a coleta, as infrutescências foram levadas para a Universidade Federal do Pará, e suas sementes foram colocadas para germinar em baldes com água. Após 20 dias, os primeiros brotos começaram a surgir e esses indivíduos foram transferidos para potes individuais e acomodados em bandejas. Nessa parte do desenvolvimento dos brotos (novos indivíduos) as sementes foram colocadas em potes de 500ml dentro de bandejas de 7,5 litros, medindo 43,5 cm x 29,6 cm na casa de Vegetação *Aqua* (Figura 1a). Para melhor aclimação dos brotos, as bandejas contendo os potes

com brotos foram colocados dentro de uma caixa d'água com grande volume de água e uma bomba hidráulica foi usada para a reciclagem da água, levando assim a diminuição da temperatura que simula o ambiente natural desta planta. Também utilizamos a tampa acima do recipiente apoiada nas colunas da estufa para que houvesse a incidência de luz, mas não em excesso, para evitar danos nas folhas, caules e raízes de *M. linifera*. As plantas foram mantidas nestas condições durante três meses (90 dias) até cada plântula atingir entre 25 e 30 cm de altura e possuir pelo menos duas folhas.

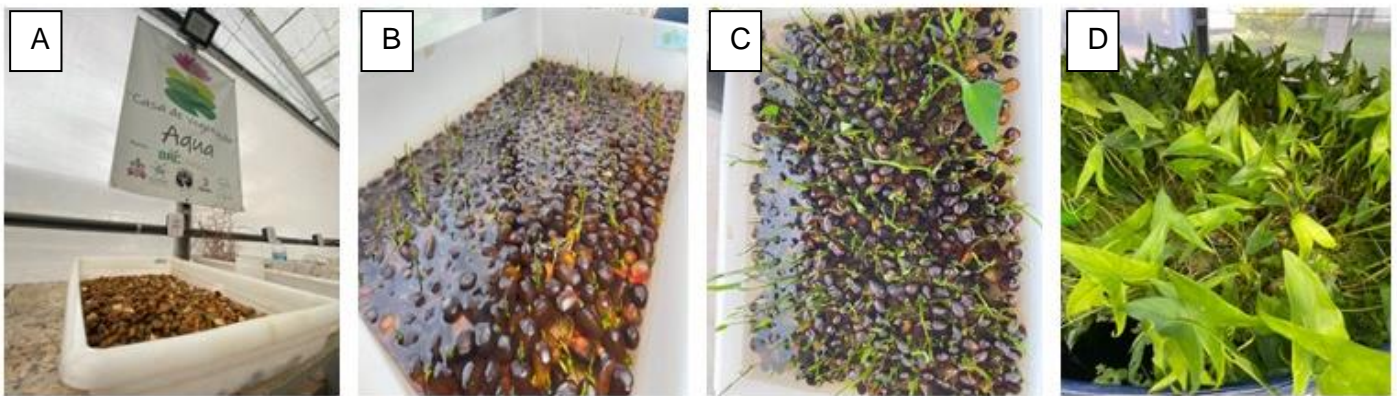


Figura 1. Imagens do desenvolvimento dos indivíduos de *Montrichardia linifera* no dia 20 de março (A), 11 de abril (B), 24 de abril (C) e 28 de junho (D) na casa de vegetação *Aqua* na Universidade Federal do Pará para ser utilizado no experimento.

Desenho experimental

Após a germinação dos brotos desenvolvidos demos início ao experimento (Figura 1D). Os indivíduos foram separados em 50 beckers de vidro de 600ml e levados para o Laboratório de Pesquisa em Monitoramento Ambiental Marinho – Laboratório de Ecotoxicologia (Figura 2). As plantas foram colocadas em cinco grupos experimentais, com dez replicações, três indivíduos em cada réplica: 1) grupo controle em pH neutro (7,0); 2) grupo controle em pH ácido (5,0). 3) grupo de exposição a 0,5 mg/L Al em pH ácido (pH 5,0); 4) grupo de exposição a 1,0 mg/L Al em pH ácido (pH 5,0); e 5) grupo de exposição a 10,0 mg/L Al em pH ácido (pH 5,0) (Figura 3). Grupos de exposição em pH neutro não foram utilizados, visto que o Al é insolúvel em pH 6 e 8 (GENSEMER et al, 1999) e não se encontra biodisponível nessas condições (EXLEY et al, 2015). A solução de Al foi preparada com sulfato de alumínio [Al₂(SO₄)₃], adquirido de um estabelecimento comercial (Pará, Brasil). Para as soluções nominais utilizou-se a mesma água dos grupos controles, mantida com pH 0,5, sendo que a quantidade de alumínio foi medida antes da exposição. Para cada tratamento foi feito um cálculo a partir da quantidade necessária de cada concentração nominal de 0,5 mg/L, 1,0 mg/L e 10 mg/L de alumínio em aquários de 15 litros. Todos os instrumentos empregados na manipulação das soluções de Alumínio durante o experimento passaram por um processo de acidificação em Ácido

Nítrico 1% por um período mínimo de 12 horas, assegurando assim a biodisponibilidade do Alumínio. A troca das soluções de exposição aconteceu há cada 4 dias. O experimento foi conduzido sob temperatura e fotoperíodo controlados (14h claro e 10h escuro).



Figura 2. Desenvolvimento do experimento com *M. linifera* no laboratório de Ecotoxicologia.

Essas concentrações usadas no experimento se devem a concentração padrão de Al dissolvido encontrado em áreas de mineração de bauxita na Amazônia brasileira é em média 0,3 mg/L (CANTANHÊDE et al, 2022), superior ao que é estabelecido e regulamentado pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente das Comunidades Aquáticas de Água Doce: 0,1 mg/L de concentração Al (CONAMA, 2005). Devido Amazônia apresentar solos ricos em alumínio (KOTSCHOUBEY et al, 2005) e as alterações ambientais disponibilizarem ainda mais este metal no ambiente, as concentrações acima do estabelecido (0,3 mg/L) tornaram-se ambientalmente aceitáveis (CANTANHÊDE et al, 2022). Desse modo, consideraremos a concentração de 0,5 mg/L Al que provavelmente também é encontrado nos ambientes aquáticos na Amazônia, como a concentração natural do metal, e a fim de verificar possíveis efeitos deste metal no material vegetal de *Montrichardia linifera*, utilizaremos outras duas concentrações de Al de 1,0 mg/L e 10,0 mg/L (Figura 3) para caracterizar mudanças fisiológicas nesta espécie, especificamente de estresse oxidativo analisados nas folhas.

Após a acomodação das unidades amostrais (becker) na bancada, as respectivas concentrações de alumínio foram colocadas em cada tratamento e o experimento iniciou (Figura 3). O experimento teve duração total de 14 dias, ele foi monitorado diariamente e a cada dois dias 50 ml da solução de cada becker foi retirado e substituído por 50ml das respectivas concentrações de alumínio, isso ocorreu para manutenção da concentração nos tratamentos. Esses 50ml retirados foram armazenados para mensurar a concentração de alumínio ao longo do experimento.

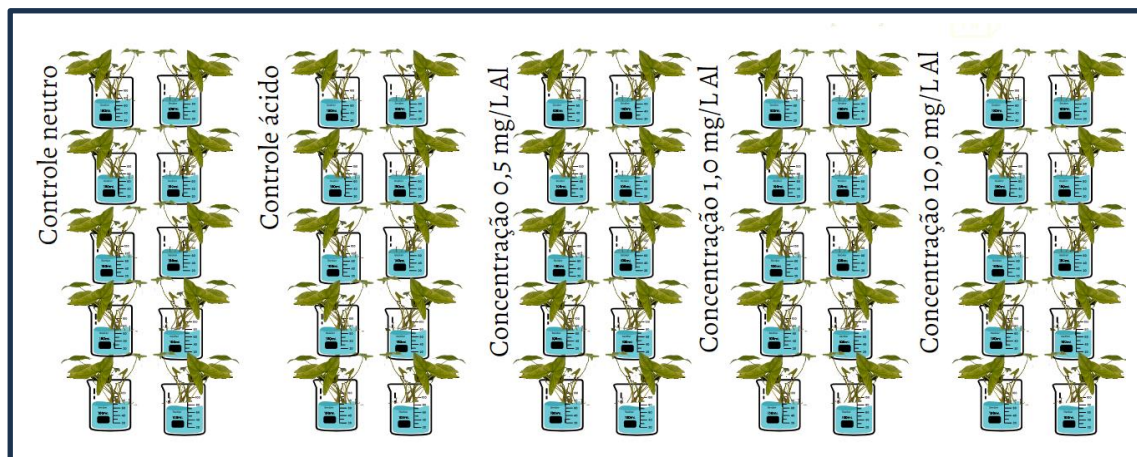


Figura 3. Ilustração do desenho experimental com os tratamentos divididos em 10 réplicas cada entre controle neutro, controle ácido, e as concentrações de Al 0.5 mg/L, Al 1.0 mg/L e Al 10 mg/L.

No final do experimento, os indivíduos foram retirados cuidadosamente dos tratamentos, as folhas foram acondicionadas separadas em saco plásticos e colocadas no UltraFreezer a -40 graus. As soluções de cada becker também foi colocada em tubos falcon e colocadas no Ultrafreezer.

Biomarcadores de estresse oxidativo

Soluções estoque, com 10 mg/L de Al, foram preparadas a partir de soluções padrão da SpecSol (Quimlab, São Paulo, Brasil) (1000 mg/L) e acidificadas com 50 μ L de ácido nítrico 65% (v/v) (Vetec). Para garantir a qualidade das medições, foi realizada uma ampla validação dos elementos analisados utilizando materiais certificados diferentes, produzidos pelo NIST e BCR. O erro instrumental analítico foi determinado a partir de medidas repetidas das amostras certificadas pelo NIST e BCR (n = 5). Os biomarcadores de exposição que foram analisados são a atividade da Glutathione-S-Transferase (GST), a Capacidade Antioxidante Total (ACAP) e o biomarcador de efeito Lipoperoxidação (LPO). Para isso, foram retiradas em média 0,567 kg de biomassa de folhas de cada amostra com 20% do peso de Polivinilpirrolidona (PVP). Em seguida, as amostras foram maceradas com auxílio de pistilo de cerâmica e nitrogênio líquido, e homogeneizadas com tampão fosfato de

potássio 200 mM (K_2HPO_4 / KH_2PO_4) contendo EDTA 10 mM, em pH de 7,00 com proporção de 1:2 e centrifugadas 1000 xg, a 4°C, por 10 min (Figura 4). Após a centrifugação, os sobrenadantes foram retirados e aliquotados para quantificação de proteínas e atividades enzimáticas estimado de acordo com Bradford (1976) utilizando albumina de soro bovino (BSA, Sigma Aldrich) como padrão.



Figura 4. Processamento do material no Laboratório de Pesquisa em Monitoramento Ambiental Marinho (LAPMAR). Cultivo das plantas na Casa de vegetação *Aqua* (A), coleta das folhas ao final do experimento no Laboratório de Ecotoxicologia (B), maceração das folhas (C), homogeneização das amostras (D), dosagem das amostras (E e F).

Análise de dados

Realizamos um teste T entre os controles (neutro e ácido) para verificar se havia efeito do pH nas folhas de *M. linifera* nos diferentes biomarcadores. Não havendo diferença significativa entre eles, continuamos as análises com a comparação entre os tratamentos usando somente o controle ácido.

Para avaliar os possíveis efeitos negativos do alumínio em *M. linifera* em tratamentos com diferentes níveis de exposição a este metal, foram realizadas três análises de variância (ANOVA), para verificar diferenças nos biomarcadores e concentrações de Al na biomassa entre os grupos experimentais realizamos um teste post-hoc *a posteriori* (Tukey). Na qual a variável preditora foram os

diferentes níveis de exposição ao alumínio (0,5; 1,0; 10,0) e as variáveis respostas foram os biomarcadores de estresse oxidativo: a capacidade antioxidante total (ACAP), atividade da Glutathione-S-transferase (GST), lipoperoxidação (LPO).

3.4.RESULTADOS

Ao comparar os tratamentos controles, neutro e ácido, não encontramos diferença significativa entre eles (Tabela 1). Realizamos a análise para verificar a influência do pH entre o controle neutro e o ácido dos biomarcadores ACAP, GST e LPO no período de 14 dias. Nesse sentido, verificamos que qualquer alteração na atividade dos biomarcadores não é influenciada pela acidez do meio de exposição entre os controles.

Tabela 1 – Comparação de pH entre os controles neutro e ácido dos biomarcadores de *M. linifera*.

Biomarcadores	Tratamentos	t	df	p-value
ACAP	CN - CA	2.1306	15	0.05008
GST	CN - CA	-0.599	15	0.5581
LPO	CN - CA	-0.7045	18	0.4901

A capacidade antioxidante total contra radicais peroxil (ACAP) nas folhas da macrófita aquática *M. linifera* não diferiu entre o controle ácido e os tratamentos com as concentrações de Al ($F = 0.985$; $df = 3$; $P = 0.416$) (Figura 5). Demonstrando que de modo geral, o Al não sinalizou qualquer alteração nas respostas oxidativas das folhas, independente da concentração em que foram expostas.

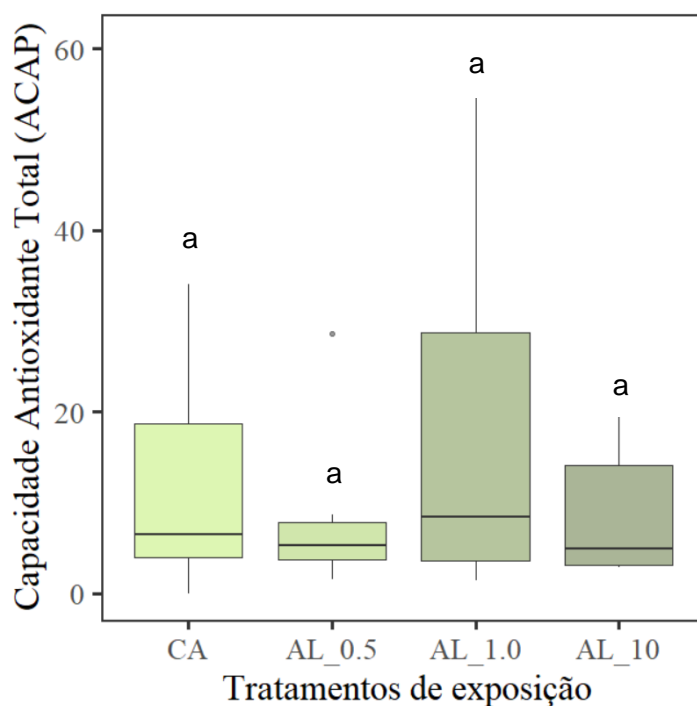


Figura 5. Biomarcador de estresse oxidativo (ACAP) em folhas de *M. linifera* nos controles e grupos expostos ao alumínio. CN: controle neutro; CA: controle ácido; AL 0.5: concentração 0.5 mg/L Al; AL 1.0: concentração 1.0 mg/L Al e AL 10: concentração 10 mg/L Al. Os valores são expressos em média. Letras iguais representam que não há diferenças estatísticas entre os grupos experimentais ($p > 0,05$).

A atividade da GST nas folhas apresentou diferença significativa entre os grupos ($F = 3.72$; $df = 3$; $p = 0.0233$). Foi observado que entre o controle ácido e a concentração de 10 mg/L de Al (Tukey; $p = 0.0157$) diferiram entre si. Não foram observadas diferenças significativas entre os demais grupos tratados com alumínio (Figura 6).

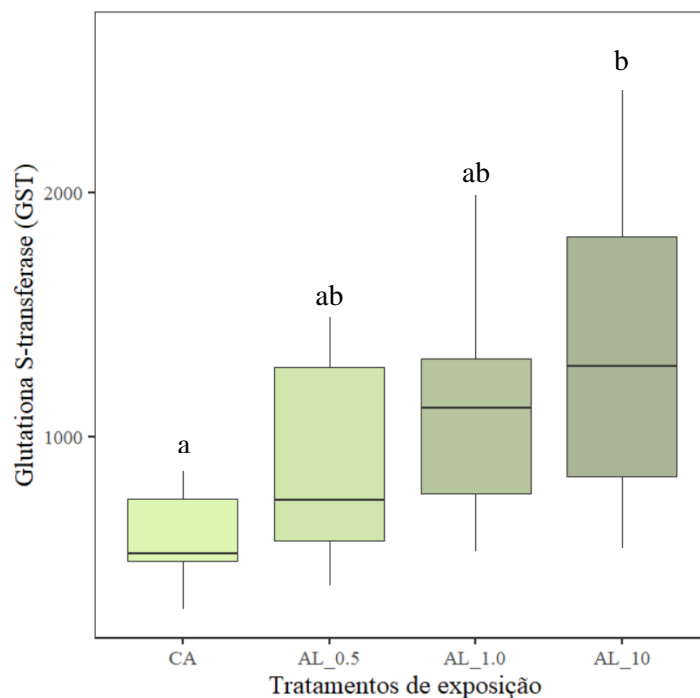


Figura 6. Biomarcador de estresse oxidativo (GST) em folhas de *M. linifera* nos controles e grupos expostos ao alumínio. CN: controle neutro; CA: controle ácido; AL 0.5: concentração 0.5 mg/L Al; AL 1.0: concentração 1.0 mg/L Al e AL 10: concentração 10 mg/L Al. Os valores são expressos com média. Letras diferentes representam a diferenças estatísticas entre os grupos experimentais ($p < 0,05$).

Os níveis de LPO não apresentaram diferenças significativa entre os tratamentos ($F = 2.116$; $df = 3$; $p = 0.115$) (Figura 7). Isso significa uma eficiência do sistema de defesa antioxidante na prevenção dos danos causados pelo Al em *M. linifera*, sendo corroborado pela atividade da GST (Figura 6)

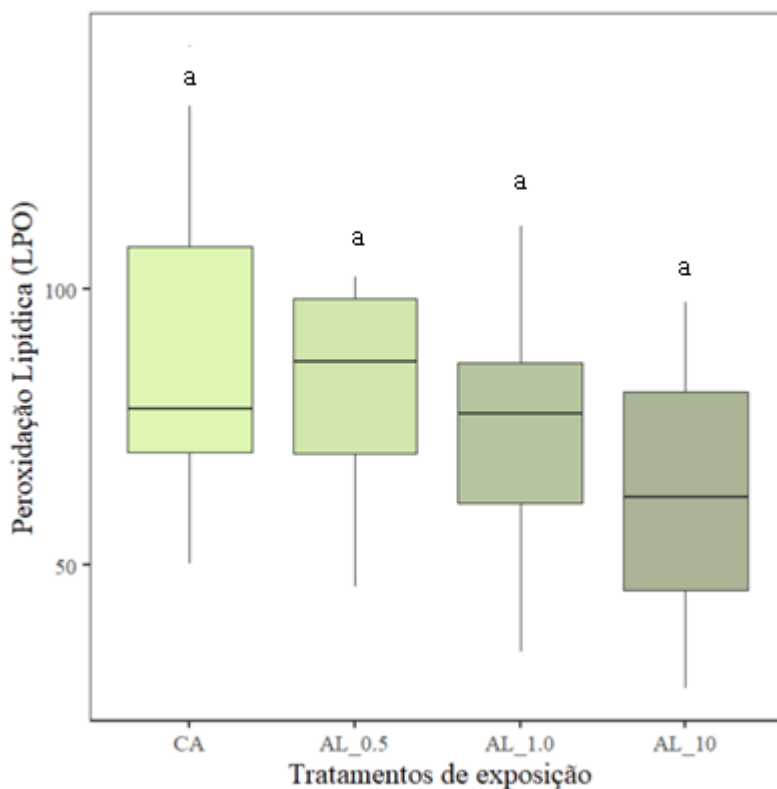


Figura 7. Biomarcador de estresse oxidativo (LPO) em folhas de *M. linifera* nos controles e grupos expostos ao alumínio. CN: controle neutro; CA: controle ácido; AL 0.5: concentração 0.5 mg/L Al; AL 1.0: concentração 1.0 mg/L Al e AL 10: concentração 10 mg/L Al. Os valores são expressos com média. Letras iguais representam que não existe diferenças estatísticas entre os grupos experimentais ($p > 0,05$).

3.5.DISCUSSÃO

Neste estudo, não verificamos alterações causadas pela exposição aguda das concentrações ambientalmente relevantes de Al na capacidade antioxidante total (ACAP), e na lipoperoxidação (LPO) em folhas da espécie de macrófita aquática *M. linifera*. Houve apenas uma diferença significativa para atividade da glutathione S-transferase (GST) entre o controle e o tratamento com maior concentração de alumínio (10mg/L). Isso é um resultado muito importante, uma vez que *Montricardia linifera* é uma macrófita aquática facilmente encontrada em áreas costeiras dos ambientes de várzea, amplamente distribuída na região amazônica (MACEDO et al, 2005) e pode ser uma potencial espécie fitorremediadora localmente. Em condições naturais, os corpos hídricos da Amazônia são caracterizados por apresentarem baixo potencial hidrogeniônico (pH) devido à alta concentração de matéria orgânica dissolvida (GENSEMER & PLAYLE, 1999). Tal característica possibilita que as plantas aquáticas, incluindo a *Montricardia*, possam atuar na remoção de metais do meio (MIKRYAKOVA et al. 2002), visto que estes elementos se encontram biodisponíveis nesses locais (RODRIGUEZ et al, 2019).

A capacidade antioxidante total (ACAP) envolve uma avaliação abrangente de antioxidantes tanto enzimáticos (superóxido dismutase, catalase, glutathione peroxidase, glutathione S-transferase, etc.) quanto não enzimáticos (glutathione, α -tocoferol e β -caroteno) (AMADO et al, 2009), e nesse estudo não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos nos danos na macrófita estudada. *Montrichardia linifera* mostrou que mesmo exposta a 10mg/L Al sua capacidade de antioxidante não foi afetada, mostrando alta resistência a esse metal.

A glutathione S-transferase (GST) é uma enzima fundamental na fase II do metabolismo de xenobióticos, desempenhando um papel crucial nos processos de desintoxicação ao catalisar a conjugação de diversos contaminantes com a glutathione reduzida (DAVIS & SWANSON, 2001). Em níveis bioquímicos, a produção de espécies reativas de oxigênio é aumentada com a exposição aos contaminantes, e sua remoção causa efeitos deletérios às células, como a peroxidação lipídica, inativação de enzimas, degradação de proteínas e oxidação de DNA (HERMES et al, 2004). Para neutralizar os efeitos dessas espécies reativas de oxigênio, os organismos possuem um sistema de defesa antioxidante complexo e eficiente, que utiliza mecanismos enzimáticos e não enzimáticos para eliminar essas substâncias (ABDEL-TAWWAB et al, 2023).

No presente estudo, os resultados da atividade da GST sugerem que, conforme a concentração de alumínio aumenta, ocorre também a indução das defesas antioxidantes do organismo, mas só nas maiores concentrações de alumínio (Al 10g/L). A bioacumulação deste metal pode desencadear uma série de consequências para os organismos, entre elas o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (EXLEY et al, 2015) que afastam os indivíduos de suas condições homeostáticas. Isso pode trazer prejuízos, como já foi observado por Wang *et al* (2021), onde a baixa atividade das enzimas de defesa antioxidante coincidiu com dano na espécie *Lemna minor* L, processo no qual os radicais livres atacam lipídios presentes nas células levando à formação de radicais peroxil e peróxidos de hidrogênio (YIN et al., 2011).

Em contrapartida, nossos resultados apresentaram baixa lipoperoxidação (Figura 7), sugerindo que o aumento observado na atividade da GST foi suficiente para prevenir esse dano oxidativo nas folhas de *M. linifera*. De modo semelhante aos nossos resultados, Nawaz et al. (2023) verificaram que as atividades antioxidantes enzimáticas também foram induzidas na presença de metais, sugerindo alta capacidade de remodelação do sistema fisiológico sob condições de estresse. Por fim, podemos inferir que o aumento de agentes pró-oxidantes, como o alumínio, induzem as defesas antioxidantes na prevenção de danos celulares, refletidos aqui em alta atividade da GST (Figura 6), junto à manutenção dos valores de baixa peroxidação lipídica quando comparado ao controle.

Estudos recentes realizados na região amazônica demonstraram que *M. linífera* é um organismo tolerante, hiperacumulador, fitoestabilizador e potencial fitorremediador em ambientes aquáticos contaminados por outros metais, como chumbo (Pb) (DE LIMA et al. 2022). De Santana Botelho et al. (2019) também já verificaram o potencial fitorremediador desta espécie para outros metais (cobre, zinco, cádmio e manganês), porém, para que o presente trabalho possa confirmar tais atributos dela para o alumínio são necessários os dados de bioacumulação nos diferentes tecidos da planta, como folhas, caule e raiz, os quais estão em fase de processamento. De modo geral, podemos sugerir que *M. linífera* é capaz de modular seu sistema antioxidante quando exposta às diferentes concentrações de alumínio, além de ser uma provável ferramenta econômica na mitigação de danos ambientais por apresentar um alto potencial bioacumulador e conseqüentemente fitorremediador.

3.6.CONCLUSÃO

Este estudo possibilitou gerar informações inéditas sobre o efeito do alumínio na modulação do sistema antioxidante da macrófita aquática *M. linífera* quando exposta a diferentes concentrações de alumínio, sendo capaz de se defender de danos oxidativos mesmo quando expostas a concentrações deste metal 20 vezes maior do que no permitido pela legislação vigente (CONAMA/2005). Dada a ampla distribuição desta espécie na Amazônia - região que apresenta altas concentrações de alumínio -, além da sua alta tolerância a condições extremas de exposição a metais, a mesma pode atuar como uma provável fitorremediadora e ferramenta econômica na redução de danos ambientais.

3.7.REFERÊNCIAS

ABDALLA, R. P. et al. Exposure to aluminum, aluminum+ manganese and acid pH triggers different antioxidant responses in gills and liver of *Astyanax altiparanae* (Teleostei: Characiformes: Characidae) males. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, v. 215, p. 33-40, 2019.

ABDEL-TAWWAB, Mohsen et al. A *Chlorella vulgaris* dietética alivia efetivamente o estresse oxidativo, a imunossupressão e aumenta a resistência à infecção por *Streptococcus agalactiae* em alevinos de tilápia do Nilo intoxicados com cádmio. *Imunologia de Peixes e Mariscos*, v. 108717, 2023.

AMARANTE, Cristine Bastos do et al. Chemical composition and nutritional value of leaves and fruits of aninga (*Montrichardia linifera*, Araceae) for large herbivores. *Acta Amazonica*, v. 40, p. 729-736, 2010.

AMADO, Lílian Lund et al. A method to measure total antioxidant capacity against peroxy radicals in aquatic organisms: application to evaluate microcystins toxicity. **Science of the total Environment**, v. 407, n. 6, p. 2115-2123, 2009.

ARTAXO, Paulo et al. Química atmosférica na Amazônia: a floresta e as emissões de queimadas controlando a composição da atmosfera amazônica. **Acta amazônica**, v. 35, p. 185-196, 2005.

APEL, Klaus; HIRT, Heribert. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.*, v. 55, p. 373-399, 2004. ARTAXO, Paulo et al. Química atmosférica na Amazônia: a floresta e as emissões de queimadas controlando a composição da atmosfera amazônica. *Acta amazônica*, v. 35, p. 185-196, 2005.

BOTELHO, A. S.; AMARANTE, C. B.; BATISTA, R. J. R.; CHAVES, S. H. R.; PRADO, A. F. Avaliação do Potencial Bioacumulador e Fitorremediador da Parte Aérea de *Montrichardia linifera* (Arruda) Schott. *Rev. Virtual Quim.*, v. 11, n. 4, p. 1180-1189. 2019.

BOWMAN, Maria S. et al. Persistence of cattle ranching in the Brazilian Amazon: A spatial analysis of the rationale for beef production. *Land use policy*, v. 29, n. 3, p. 558-568, 2012. BRADFORD, Marion M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.

CANTANHÊDE, Sildiane Martins et al. Evaluation of cardiotoxicity in Amazonian fish *Bryconops caudomaculatus* by acute exposure to aluminium in an acidic environment. *Aquatic Toxicology*, v. 242, p. 106044, 2022.

CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente) Resolução nº 357 Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 2005.

CLARK, Malcolm W.; JOHNSTON, Max; REICHEL-T-BRUSHETT, Amanda J. Comparison of several different neutralisations to a bauxite refinery residue: potential effectiveness environmental ameliorants. *Applied Geochemistry*, v. 56, p. 1-10, 2015.

DAVIS, David G.; SWANSON, Harley R. Activity of stress-related enzymes in the perennial weed leafy spurge (*Euphorbia esula* L.). *Environmental and experimental botany*, v. 46, n. 2, p. 95-108, 2001.

DE LIMA, Wilson Figueiredo; GUTJAHR, Ana Lúcia Nunes; De Souza Braga, Carlos elias. Potencial de bioacumulação e translocação da espécie *Montrichardia linifera* (arruda) schott, (araceae) em água contaminada por chumbo. *Diálogos & Ciência*, v. 2, n. 1, p. 48-59, 2022.

DE SANTANA BOTELHO, Anderson et al. Avaliação do Potencial Bioacumulador e Fitorremediador da parte aérea de *Montrichardia linifera* (Arruda) Schott. *Revista Virtual de Química*, v. 11, n. 4, 2019.

DEOSTI, Sabrina et al. Zooplankton taxonomic and functional structure is determined by macrophytes and fish predation in a Neotropical river. *Hydrobiologia*, v. 848, n. 7, p. 1475-1490, 2021.

DONOGHUE, A. Michael; FRISCH, Neale; OLNEY, David. Bauxite mining and alumina refining: process description and occupational health risks. *Journal of occupational and environmental medicine*, v. 56, n. 5 Suppl, p. S12, 2014.

DRISCOLL, C. T.; POSTEK, K. M. The chemistry of aluminum in surface waters. *The Environmental Chemistry of Aluminum* (Sposito, G., ed.), 363-418. 1996.

DOS SANTOS, Carla Carolina Miranda et al. Multiple Anthropic Influences in Para River (Amazonia, Brazil): A Space-Temporal Ecotoxicological Monitoring in Abiotic and Biotic Compartments. Available at SSRN 4108651.

EID, Ebrahim M. et al. Phytoremediation of heavy metals by four aquatic macrophytes and their potential use as contamination indicators: A comparative assessment. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 27, p. 12138-12151, 2020.

EXLEY, Christopher; MOLD, Matthew J. The binding, transport and fate of aluminium in biological cells. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, v. 30, p. 90-95, 2015.

FAWZY, Manal Ahmed et al. Heavy metal biomonitoring and phytoremediation potentialities of aquatic macrophytes in River Nile. *Environmental monitoring and Assessment*, v. 184, n. 3, p. 1753-1771, 2012.

GENSEMER, Robert W.; PLAYLE, Richard C. The bioavailability and toxicity of aluminum in aquatic environments. *Critical reviews in environmental science and technology*, v. 29, n. 4, p. 315-450, 1999.

GILTRAP, Michelle et al. Integration of biological effects, fish histopathology and contaminant measurements for the assessment of fish health: A pilot application in Irish marine waters. *Marine environmental research*, v. 129, p. 113-132, 2017.

GODAR, Javier; TIZADO, Emilio Jorge; POKORNY, Benno. Who is responsible for deforestation in the Amazon? A spatially explicit analysis along the Transamazon Highway in Brazil. *Forest Ecology and Management*, v. 267, p. 58-73, 2012.

HERMES-LIMA, Marcelo. Oxygen in biology and biochemistry: role of free radicals. *Functional metabolism: regulation and adaptation*, v. 1, p. 319-66, 2004.

KEHRIG, H.A. et al. Bioconcentração e biomagnificação de metilmercúrio na baía de Guanabara, Rio de Janeiro. *Química Nova*, v. 34, n. 3, p. 377–384, 2011.

KOTSCHOUBEY, Basile; TRUCKENBRODT, Werner; CALAF, J. M. C. Evolução geológica da porção meridional da Província Bauxitífera de Paragominas durante o Neógeno/Pleistoceno (Noroeste da Bacia do Grajaú, Nordeste do Pará e extremo Oeste do Maranhão). *Revista Brasileira de Geociências*, v. 35, n. 2, p. 263-272, 2005.

KOTSCHOUBEY, BASILE; TRUCKENBRODT, WERNER. Evolução poligenética das bauxitas do distrito de Paragominas-Açailândia (Estados do Pará e Maranhão). *Revista Brasileira de Geociências*, v. 11, n. 3, p. 193-202, 1981.

LAM, Paul KS; GRAY, John S. The use of biomarkers in environmental monitoring programmes. *Marine Pollution Bulletin*, v. 46, n. 2, p. 182-186, 2003.

MANORAMA THAMPATTI, K. C. et al. Phytoremediation of metals by aquatic macrophytes. *Phytoremediation: In-situ Applications*, p. 153-204, 2020.

MACEDO, Eunice Gonçalves; SANTOS FILHO, Benedito Gomes dos; POTIGUARA, Raimunda Conceição de Vilhena. Anatomia e arquitetura foliar de *Montrichardia linifera* (Arruda) Schott (Araceae) espécie da várzea amazônica. 2005.

MIKRYAKOVA, T. F. Accumulation of Heavy Metals in Macrophytes at Different Levels of Water Pollution. *Vodn. Resur.*, v. 29, n. 2, p. 253-255, 2002.

NAWAZ, Ismat et al. Salt and heavy metal tolerance and expression levels of candidate tolerance genes among four extremophile *Cochlearia* species with contrasting habitat preferences. *Science of the Total Environment*, v. 584, p. 731-741, 2017.

OLIVEIRA, Saulo Batista; DA COSTA, Marcondes Lima; DOS PRAZERES FILHO, Hécio José. The lateritic bauxite deposit of Rondon do Pará: A new giant deposit in the Amazon region, Northern Brazil. *Economic Geology*, v. 111, n. 5, p. 1277-1290, 2016.

RODRIGUEZ, Patricio H. et al. Determination of bioavailable aluminum in natural waters in the presence of suspended solids. *Environmental toxicology and chemistry*, v. 38, n. 8, p. 1668-1681, 2019.

ROVER JÚNIOR, Laércio et al. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutação associado a métodos eletroanalíticos de avaliação do estresse oxidativo. *Química Nova*, v. 24, pág. 112-119, 2001.

SANTOS, Breno Augusto dos. Recursos minerais da Amazônia. *Estudos avançados*, v. 16, p. 123-152, 2002.

- SERUDO, Ricardo Lima et al. Reduction capability of soil humic substances from the Rio Negro basin, Brazil, towards Hg (II) studied by a multimethod approach and principal component analysis (PCA). *Geoderma*, v. 138, n. 3-4, p. 229-236, 2007.
- SLANINOVA, A.; MACHOVA, J.; SVOBODOVA, Z. Fish kill caused by aluminium and iron contamination in a natural pond used for fish rearing: a case report. *Veterinarni Medicina*, v. 59, n. 11, 2014.
- TORRES, Maria Célia Lopes; SOARES, Nilda de Fátima Ferreira; PEREIRA, José Antônio Marques. Extração, purificação e avaliação da atividade da glutathione S-Transferase de fígado bovino. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 30, p. 302-307, 2006.
- VODYANITSKII, Yu N.; SHOBA, S. A. Biogeochemistry of carbon, iron, and heavy metals in wetlands (analytical review). *Moscow University soil science bulletin*, v. 70, n. 3, p. 89-97, 2015.
- WANG, Cuiting et al. Toxic effects of 2, 4, 4'-trichlorobiphenyl (PCB-28) on growth, photosynthesis characteristics and antioxidant defense system of *Lemna minor* L. *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 166, p. 505-511, 2021.
- YIN, Huiyong; XU, Libin; PORTER, Ned A. Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis. *Chemical reviews*, v. 111, n. 10, p. 5944-5972, 2011.
- ZHENG, S. J.; YANG, J. L. Target sites of aluminum phytotoxicity. *Biologia Plantarum*, v. 49, n. 3, p. 321-331, 2005

4. CONCLUSÃO GERAL

A capacidade de acumulação de alumínio nas plantas aquáticas *Salvinia minima* e *Montrichardia linifera*, assim como a resistência dessas espécies a danos oxidativos causados por esse metal, destacam-nas como importantes candidatas para a fitorremediação de ambientes aquáticos contaminados. *Salvinia minima* demonstrou ser capaz de sobreviver e manter seu metabolismo fotossintético e altamente eficiente na acumulação de alumínio em seus tecidos mesmo em concentrações de alumínio muito superiores às encontradas na natureza. Esses resultados ressaltam o potencial de *S. minima* como uma espécie de macrófita flutuante resistente e eficaz na remoção e acumulação de metais pesados, como o alumínio, em ambientes aquáticos com uma alta concentração deste metal. Por outro lado, *Montrichardia linifera* demonstrou um sistema antioxidante robusto, especialmente evidenciado pela alta atividade da enzima Glutathione S-transferase (GST) em resposta à maior concentração de alumínio, 20 vezes maiores do que o permitido pela legislação ambiental. Esse resultado sugere que a planta é capaz de modular seu sistema antioxidante para prevenir danos oxidativos, mesmo quando exposta a concentrações elevadas de alumínio. Ambas as espécies estudadas apresentam características promissoras para a fitorremediação de ambientes aquáticos contaminados por alumínio. *Montrichardia linifera* demonstra ser uma planta capaz de se defender de danos oxidativos causados por esse metal, enquanto *Salvinia minima* destaca-se pela sua capacidade de acumulação e resistência a altas concentrações de alumínio sem alterar suas a produção dos pigmentos fotossintéticos. Esses resultados indicam que ambas as espécies têm potencial para serem utilizadas como ferramentas eficazes na mitigação de danos ambientais causados pela crescente biodisponibilidade de alumínio decorrente das atividades humanas na região amazônica.

5. REFERÊNCIAS

- ABDALLA, R. P. et al. Exposure to aluminum, aluminum+ manganese and acid pH triggers different antioxidant responses in gills and liver of *Astyanax altiparanae* (Teleostei: Characiformes: Characidae) males. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, v. 215, p. 33-40, 2019.
- AMADO, Lílian Lund et al. A method to measure total antioxidant capacity against peroxy radicals in aquatic organisms: application to evaluate microcystins toxicity. *Science of the total Environment*, v. 407, n. 6, p. 2115-2123, 2009.
- BOWMAN, Maria S. et al. Persistence of cattle ranching in the Brazilian Amazon: A spatial analysis of the rationale for beef production. *Land use policy*, v. 29, n. 3, p. 558-568, 2012.

DAS, Suchismita; GOSWAMI, Sunayana. Copper phytoextraction by *Salvinia cucullata*: biochemical and morphological study. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 24, n. 2, p. 1363-1371, 2017.

DE SOUZA, Rodrigo Antônio; MIZIARA, Fausto; JUNIOR, Paulo De Marco. Spatial variation of deforestation rates in the Brazilian Amazon: A complex theater for agrarian technology, agrarian structure, and governance by surveillance. *Land use policy*, v. 30, n. 1, p. 915-924, 2013.

DOS SANTOS, Maria Aparecida et al. What are the main environmental predictors of differences in the community structure of periphytic desmids in a semi-arid floodplain lake?. *Aquatic Ecology*, v. 56, n. 4, p. 1037-1053, 2022.

LAM, Paul KS; GRAY, John S. The use of biomarkers in environmental monitoring programmes. **Marine Pollution Bulletin**, v. 46, n. 2, p. 182-186, 2003.

MANORAMA THAMPATTI, K. C. et al. Phytoremediation of metals by aquatic macrophytes. *Phytoremediation: In-situ Applications*, p. 153-204, 2020.

MAHJOUB, Borhane. *Plants for soil remediation*. 2013.

ROVER JÚNIOR, Laércio et al. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutatona associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 112-119, 2001.

SLANINOVA, A.; MACHOVA, J.; SVOBODOVA, Z. Fish kill caused by aluminium and iron contamination in a natural pond used for fish rearing: a case report. **Veterinarni Medicina**, v. 59, n. 11, 2014.

KEHRIG, H.A. et al. Bioconcentração e biomagnificação de metilmercúrio na baía de Guanabara, Rio de Janeiro. *Química Nova*, v. 34, n. 3, p. 377–384, 2011.

TORRES, Maria Célia Lopes; SOARES, Nilda de Fátima Ferreira; PEREIRA, José Antônio Marques. Extração, purificação e avaliação da atividade da glutatona S-Transferase de fígado bovino. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, p. 302-307, 2006.

THOMAZ, Sidinei Magela. Ecosystem services provided by freshwater macrophytes. *Hydrobiologia*, v. 850, n. 12, p. 2757-2777, 2021.

ZHENG, S. J.; YANG, J. L. Target sites of aluminum phytotoxicity. *Biologia Plantarum*, v. 49, n. 3, p. 321-331, 2005.

6. ATIVIDADES COMPLEMENTARES

Artigos publicados:

- Carmo, Rayssa Silva; Fares, Ana Luísa Biondi Lima; Pereira, Gizelia Ferreira Matos; Michelin, Thaisa Sala. Does the structure of riparian vegetation affect the diversity of macrophytes in eastern amazonian streams?. *Biologia*, v. 78, p. 79-89, 2023.

Artigos submetidos para publicação:

- **Carmo R. S.**; Franco N. L.; Fares A. L. B. L.; Nonato F. A. S.; Bomfim F. F.; Michelin T.S. Desempenho de *Pistia stratiotes* sobre interferência de uma espécie de macrófita nativa e uma invasora. Scientia Plena (em revisão).

- Melo D.G.L.; Bomfim F.F.; **Carmo R.S.** Costa A.A.S.; Teodoro G.S.; Michelin T.S. Effects of shading and eutrophication on the development of an invasive macrophyte. Ciência e Natura (em revisão).

- Cabral, Guilherme Sampaio; Sousa, Raimundo Luiz Morais; Costa, Antônio Augusto Souza; Louback-Franco, Nayara; Lima, Ana Luísa Fares Biondi; **Carmo, Rayssa Silva**; Jesus, Alexandro Monteiro; Lins, Alba Lucia Ferreira de Almeida; Pott, Vali Joana; Michelin, Thaisa Sala. “First record of *Landoltia punctata* (G.Mey) Les & D.J.Crawford (Araceae, Lemnoidae) from Legal Amazonia”. Acta Amazonica (em revisão).

- Costa, Antônio Augusto Souza; Raimundo Luiz Morais; Costa; Louback-Franco, Nayara; Lima, Ana Luísa Fares Biondi; **Carmo, Rayssa Silva**; Nonato, Flavia; Michelin, Thaisa Sala. “Aquatic macrophytes in Amazon: review, knowledge, gaps and perspectives”. Discover Environment (em revisão).

Capítulo de Livro aceito, em produção:

Capítulo: Macrófitas. 2024. In: Monitorando a Biota Aquática no contexto do Licenciamento Ambiental.

Aprovação de projeto:

Tive um projeto aprovado pelo Fundo Brasileiro para a Biodiversidade intitulado “Respostas bioquímicas de *Montrichardia linifera* a concentrações de alumínio: inferência sobre riachos Amazônicos em áreas de mineração”.

Participação em projetos de pesquisa:

Particpei de três projetos de pesquisa desenvolvidos pelo laboratório de Ecologia de Produtores Primários (ECOPRO-UFPA): i) Efeitos de uma invasora nos padrões macroecológicos de comunidades nativas: uma comparação entre sua área de origem (Brasil) e uma área invadida (China); ii) Effects of soil use on diversity and ecophysiology on the riparian vegetation, aquatic macrophytes and plankton in streams and lagoons in mining areas of Paragominas SA, Pará, Brazil e iii) Aquatic biota monitoring and assessment upstream and downstream of bauxite pipeline Norsk Hydro Paragominas - Barcarena (Pará, Brazil) an instream and riverscape approach.

Participação em eventos:

Participação no Congresso Brasileiro de Botânica na Universidade Federal do Pará - 2023. Evento científico onde participei e apresentei o trabalho “Desempenho de *Pistia stratiotes* L. sobre interferência de compostos químicos de uma espécie nativa e uma invasora”.

Campos

Por fim, durante o mestrado fui para cinco campos para coletar macrófitas aquáticas em diversos projetos: Acre, Marajó, Paragominas, Barcarena e Tomé Açu. Eles me ajudaram a melhorar meu conhecimento em campo, na metodologia de coleta e na identificação das macrófitas aquáticas.