

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
COORDENADORIA ESPECIAL DE OCEANOGRAFIA
CURSO DE OCEANOGRAFIA

Luana Soares Silva

Utilização da macroalga vermelha *Gracilaria domingensis* (Kutzing) Sonder ex Dickie no processo de biorremediação ambiental: alterações morfofisiológicas e potencial como biofiltro

Florianópolis

2022

Luana Soares Silva

Utilização da macroalga vermelha *Gracilaria domingensis* (Kutzing) Sonder ex Dickie no processo de biorremediação ambiental: alterações morfofisiológicas e potencial como biofiltro

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao curso de oceanografia do Centro de Ciências Físicas e Matemáticas da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em oceanografia.

Orientador(a): Prof.(a) Luciane Cristina Ouriques, Dr.(a)

Florianópolis

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Silva, Luana Soares

Utilização da macroalga vermelha *Gracilaria domingensis* (Kützinger) Sonder ex Dickie no processo de biorremediação ambiental : alterações morfofisiológicas e potencial como biofiltro / Luana Soares Silva ; orientadora, Luciane Cristina Ouriques, 2022.

50 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Graduação em Oceanografia, Florianópolis, 2022.

Inclui referências.

1. Oceanografia. 2. *Gracilaria domingensis*. 3. Agentes contaminantes inorgânicos. 4. Alterações morfofisiológicas. 5. Biorremediação. I. Ouriques, Luciane Cristina. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Oceanografia. III. Título.

Luana Soares Silva

Utilização da macroalga vermelha *Gracilaria domingensis* (Kutzing) Sonder ex Dickie no processo de biorremediação ambiental: alterações morfofisiológicas e potencial como biofiltro

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de Bacharel em Oceanografia e aprovado em sua forma final pelo Curso de Oceanografia.

Florianópolis, 01 de dezembro de 2022.

Prof. (a) Alessandra Larissa Fonseca, Dr. (a)
Coordenadora do Curso

Banca examinadora

Prof.(a) Luciane Cristina Ouriques, Dr.(a)
Orientador(a)

Prof.(a) Leonardo Rubi Rorig, Dr.(a)
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.(a) Zenilda Laurita Bouzon, Dr.(a)
Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis, 2022

AGRADECIMENTOS

Gostaria de iniciar agradecendo às pessoas mais importantes e essenciais para que eu chegasse até aqui, minha família. Obrigada a minha mãe Nayara por ser minha inspiração diária, por ter me dado força durante toda essa jornada, por sempre ser meu colo e minha proteção em momentos difíceis e desafiadores, por vibrar em cada conquista durante toda a graduação e me incentivar a continuar investindo no meu conhecimento. Por sempre fazer dos meus sonhos uma prioridade, eu não poderia ter sorte maior do que ter como mãe. Ao meu pai Paulo, por ter me ensinado o valor do estudo, pelo exemplo de que ser uma pessoa honesta e batalhadora, por toda a preocupação e carinho. Aos meus avós Paulo e Eloisa por serem refúgio e carinho, por me darem motivação e conforto por meio de abraços ou de comidinhas afetivas que me esperavam quando eu chegava da universidade. Aos meus padrinhos Douglas e Débora por sempre me incentivarem a estudar e investir no meu conhecimento, por se fazerem presentes mesmo de longe. Ao meu irmão Pedro Henrique pelo amor compartilhado, pelos abraços quando eu mais precisava, por me fazer sorrir com a sua pureza de criança. Agradeço também ao meu padrasto Carlos e minha madrastra Luana, minha avó Cristiane, meus primos e primas, tios e tias e toda à minha família, pelo apoio e incentivo.

Agradeço meu namorado Hiago pela paciência e respeito. Por sempre entender quando precisei abdicar dos nossos momentos para focar nos estudos. Obrigada por me incentivar a ser uma pessoa melhor e a seguir meus sonhos. Sou feliz em compartilhar minha vida com você.

Agradeço também as minhas amigas/irmãs de coração, Bruna, Maria, Luana e Duda, por toda a parceria durante essa caminhada. Por me ouvirem desabafar durante nossas noites das meninas e sempre terem uma palavra de conforto. Sou grata por ter vocês ao meu lado.

Agradeço aos meus amigos que conheci na graduação, em especial Thiago, Giulia e Francielle, por me ajudarem durante todo esse processo, pelo incentivo nos finais de semestres, por ouvir as reclamações quando eu estava esgotada, por me fazerem me sentir acolhida mesmo longe de casa. Vocês foram e são essenciais.

Agradeço também a minha orientadora Luciane por todo o apoio e orientação durante a graduação, por todos os ensinamentos, por acreditar em mim e no meu potencial. Por ser compreensiva e me incentivar durante os 4 anos em que estive no laboratório. Também agradeço aos demais membros do Laboratório de Biologia Celular Vegetal pela parceria durante os experimentos e pelo conhecimento compartilhado.

Agradeço aos avaliadores do meu TCC, Carmen, Leonardo e Zenilda por terem enriquecido o trabalho com seu conhecimento, por disponibilizarem seu tempo para corrigir e avaliar meu projeto.

Agradeço a todos os graduandos e professores da UFSC pelo conhecimento e experiências compartilhadas. Sou grata por ter a oportunidade de aprender com os melhores e por estar em uma universidade pública e de qualidade como a UFSC. Agradeço também aos meus colegas de embarque, em especial ao Lorenzo, Lisa, Mari e Milena, e a toda a tripulação do Ciência do Mar I por me lembrarem do porquê eu entrei neste curso e o porquê da minha paixão pela oceanografia.

RESUMO

A intensificação da descarga de resíduos nos ambientes marinhos por fontes antrópicas é responsável por grande parte da degradação destes ecossistemas, tornando-os áreas vulneráveis ao impacto da poluição. Um local suscetível aos impactos da entrada de efluentes é a Lagoa da Conceição. O aporte de nutrientes e matéria orgânica é um dos principais responsáveis pela eutrofização dos ambientes costeiros, contribuindo com o aumento da produtividade primária e causando desequilíbrio em toda a estrutura e dinâmica das comunidades e ecossistemas marinhos. Como medida de mitigação, pode-se utilizar as macroalgas como agentes biorremediadores, a fim de remover ou reduzir poluentes no ambiente. Assim, o presente estudo teve como objetivo analisar o potencial de biorremediação da macroalga vermelha *Gracilaria domingensis* em cultivos utilizando água de locais contaminados da Lagoa da Conceição e as possíveis alterações morfofisiológicas causadas na alga pelos nutrientes. Para isto, utilizou-se 1,5 g de massa fresca do talo de *G. domingensis* cultivadas durante 7 dias em águas de diferentes locais: ponto 1 (controle em água da barra da Lagoa da Conceição) e pontos 2 e 3 (águas de locais contaminados da Lagoa da Conceição). Após o cultivo foram feitas análises de taxa de crescimento, morfologia externa do talo, pigmentos fotossintetizantes, remoção de nutrientes e análises com testes histoquímicos por meio de microscopia de luz. A macroalga demonstrou eficiência de remoção de nitrato, amônio e fosfato. As taxas de crescimento não foram influenciadas de maneira significativa pela disponibilidade de nutrientes. Os pigmentos fotossintetizantes apresentaram diminuição em suas concentrações nos cultivos com disponibilidade de amônio, nitrito e fosfato e falta de nitrato. Além disso, observou-se diminuição na quantidade de grãos de amido e espessamento da parede celular nestes tratamentos. A absorção dos nutrientes causou alterações morfofisiológicas na macroalga em questão. Assim, pode-se sugerir que a macroalga vermelha *G. domingensis* pode ser considerada ótima biorremediadora, principalmente para nitrato e amônio, com maior eficiência de remoção em relação ao fosfato.

Palavras-chave: *Gracilaria domingensis*; agentes contaminantes inorgânicos; alterações morfofisiológicas; biofiltração.

ABSTRACT

The intensification of waste discharge in marine environments by anthropic sources is responsible for much of the degradation of these ecosystems, making them vulnerable areas to the impact of pollution. Lagoa da Conceição is a susceptible site to the impacts of effluent discharge. The input of nutrients and organic matter is one of the main causes of eutrophication of coastal environments, contributing to the increase in primary productivity and causing imbalance in the structure and dynamics of marine communities and ecosystems. As a mitigation measure, macroalgae can be used as bioremediation agents to remove or reduce pollutants in the environment. Thus, the present study aimed to analyze the potential for bioremediation of the red macroalgae *Gracilaria domingensis* in cultures using water from contaminated sites of the Lagoa da Conceição and the possible morphophysiological changes caused in the alga by nutrients. For this, 1.5 g of fresh mass of *G. domingensis* thallus was cultivated for 7 days in water from different sites: point 1 (control in water from Barra da Lagoa da Conceição) and points 2 and 3 (water from contaminated sites of the Lagoa da Conceição). After cultivation, analyses of growth rate, external morphology of the thallus, photosynthetic pigments, nutrient removal, and analyzes with histochemical tests by means of light microscopy. The macroalgae demonstrated removal efficiency of nitrate, ammonium and phosphate. Growth rates were not significantly influenced by nutrient availability. Photosynthetic pigments showed a decrease in their concentrations in cultures with availability of ammonium, nitrite and phosphate and lack of nitrate. In addition, a decrease in the amount of starch grains and cell wall thickening was observed in these treatments. The uptake of nutrients caused morphophysiological changes in the macroalgae in question. Thus, it can be suggested that the red macroalga *G. domingensis* can be considered an excellent bioremediator, especially for nitrate and ammonium, with higher removal efficiency compared to phosphate.

Keywords: *Gracilaria domingensis*; inorganic contaminants; morphophysiological changes; biofiltration.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1 – Localização da área de estudo, Lagoa da Conceição, Florianópolis, Santa Catarina..... | 14 |
| Figura 2 – Localização dos pontos de coleta da água na Lagoa da Conceição, Florianópolis, Santa Catarina. Ponto 1 representa controle, ponto 2 representa local contaminado referente à Ponta das Almas e ponto 3 representa local contaminado referente ao local de derramamento da CASAN..... | 15 |
| Figura 3 – Experimento contendo <i>Gracilaria domingensis</i> em condições de cultivo..... | 16 |
| Figura 4 – Esquema representativo das etapas de emblocagem das amostras, corte, teste citoquímico e análise no Microscópio de Luz (ML)..... | 19 |
| Figura 5 – Taxa de crescimento (%.dia ⁻¹) de talos de <i>Gracilaria domingensis</i> após 7 dias em diferentes condições de cultivo: controle, ponto 2 (Ponta das Almas) e ponto 3 (próximo ao derramamento da CASAN)..... | 20 |
| Figura 6 – Morfologia do talo de <i>Gracilaria domingensis</i> após 7 dias de cultivo nos tratamentos a) controle, b) ponto 2 (Ponta das Almas) e c) ponto 3 (próximo ao derramamento da CASAN)..... | 21 |
| Figura 7 – Concentração de ficoeritrina (µG/g) nos talos de <i>Gracilaria domingensis</i> após 7 dias em diferentes condições de cultivo: controle, ponto 2 (Ponta das Almas) e ponto 3 (próximo ao derramamento da CASAN)..... | 22 |
| Figura 8 – Concentração de ficocianina (µg/g) nos talos de <i>Gracilaria domingensis</i> após 7 dias em diferentes condições de cultivo: controle, ponto 2 (Ponta das Almas) e ponto 3 (próximo ao derramamento da CASAN)..... | 23 |
| Figura 9 – Concentração de aloficocianina (µg/g) nos talos de <i>Gracilaria domingensis</i> após 7 dias em diferentes condições de cultivo: controle, ponto 2 (Ponta das Almas) e ponto 3 (próximo ao derramamento da CASAN)..... | 24 |
| Figura 10 – Concentração de clorofila a (µg/g) nos talos de <i>Gracilaria domingensis</i> após 7 dias em diferentes condições de cultivo: controle, ponto 2 (Ponta das Almas) e ponto 3 (próximo ao derramamento da CASAN)..... | 25 |
| Figura 11 – Concentração de carotenoides (µg/g) nos talos de <i>Gracilaria domingensis</i> após 7 dias em diferentes condições de cultivo: controle, ponto 2 (Ponta das Almas) e ponto 3 (próximo ao derramamento da CASAN)..... | 26 |

| | |
|--|----|
| Figura 12 – Microscopia de Luz (ML) das secções transversais de <i>Gracilaria domingensis</i> coradas com AT-O e PAS após 7 dias em diferentes condições de cultivo: controle, ponto 2 (Ponta das Almas) e ponto 3 (próximo ao derramamento da CASAN)..... | 27 |
| Figura 13 – Potencial de remoção de nitrato (%) pela macroalga <i>Gracilaria domingensis</i> após 7 dias em diferentes condições de cultivo: controle, ponto 2 (Ponta das Almas) e ponto 3 (próximo ao derramamento da CASAN)..... | 28 |
| Figura 14 – Potencial de remoção de nitrogênio amoniacal total (%) pela macroalga <i>Gracilaria domingensis</i> após 7 dias em diferentes condições de cultivo: controle, ponto 2 (Ponta das Almas) e ponto 3 (próximo ao derramamento da CASAN)..... | 28 |
| Figura 15 – Potencial de remoção de nitrito (%) pela macroalga <i>Gracilaria domingensis</i> após 7 dias em diferentes condições de cultivo: controle, ponto 2 (Ponta das Almas) e ponto 3 (próximo ao derramamento da CASAN)..... | 29 |
| Figura 16 – Potencial de remoção de fosfato (%) pela macroalga <i>Gracilaria domingensis</i> após 7 dias em diferentes condições de cultivo: controle, ponto 2 (Ponta das Almas) e ponto 3 (próximo ao derramamento da CASAN)..... | 30 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|--------|---|
| AFC | Aloficocianina |
| AT-O | Azul de Toluidina |
| CC | Células Corticais |
| CM | Células Medulares |
| CSC | Células Subcorticais |
| FC | Ficocianina |
| FE | Ficoeritrina |
| LABCEV | Laboratório de Biologia Celular Vegetal |
| LAQUA | Laboratório de Qualidade de Água |
| ML | Microscopia de Luz |
| PAS | Ácido Periódico de Shiff |
| PC | Parede Celular |
| TC | Taxa de Crescimento |

SUMÁRIO

| | | |
|--------------|---|------------|
| 1 | INTRODUÇÃO | 13 |
| 2 | OBJETIVOS..... | 177 |
| 2.1 | OBJETIVO GERAL..... | 17 |
| 2.2 | OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... | 17 |
| 3 | METODOLOGIA..... | 18 |
| 3.1 | ÁREA DE ESTUDO | 18 |
| 3.2 | ANÁLISE DE NUTRIENTES..... | 18 |
| 3.3 | COLETA DA ALGA E CONDIÇÕES DE CULTIVO..... | 19 |
| 3.4 | TAXA DE CRESCIMENTO | 21 |
| 3.5 | EXTRAÇÃO DOS PIGMENTOS FOTOSSINTETIZANTES | 21 |
| 3.5.1 | Ficobiliproteínas | 21 |
| 3.5.2 | Clorofila <i>a</i> e carotenoides | 22 |
| 3.6 | MICROSCOPIA DE LUZ | 22 |
| 3.6.1 | Citoquímica..... | 23 |
| 3.7 | POTENCIAL DE REMOÇÃO DE NUTRIENTES..... | 23 |
| 3.8 | ANÁLISE E INTERPRETAÇÃO DOS DADOS | 24 |
| 4 | RESULTADOS..... | 25 |
| 4.1 | ANÁLISE DE NUTRIENTES..... | 25 |
| 4.2 | TAXA DE CRESCIMENTO | 25 |
| 4.3 | MORFOLOGIA EXTERNA DO TALO..... | 26 |
| 4.4 | PIGMENTOS FOTOSSINTETIZANTES..... | 27 |
| 4.4.1 | Ficobiliproteínas | 27 |
| 4.4.2 | Clorofila <i>a</i> | 30 |
| 4.4.3 | Carotenoides | 31 |
| 4.5 | MICROSCOPIA DE LUZ | 32 |
| 4.6 | REMOÇÃO DE NUTRIENTES | 33 |
| 5 | DISCUSSÃO..... | 37 |
| 6 | CONCLUSÃO | 42 |
| | REFERÊNCIAS | 43 |

1 INTRODUÇÃO

Os corpos de água possuem diversas utilizações, tanto para fins de abastecimento de água, irrigação e lazer, além de serem receptores de despejo de resíduos, que podem causar o aporte excessivo de nutrientes e matéria orgânica nas zonas costeiras (MACEDO & SIPAÚBA-TAVARES, 2010). A intensificação da descarga de resíduos nos ambientes marinhos por fontes antrópicas, através da liberação de efluentes domésticos e industriais, podem degradar estes ecossistemas, tornando-os áreas vulneráveis ao impacto da poluição (CHEN *et al.*, 2010). Temos como exemplo o desastre ocorrido na Lagoa da Conceição, em Florianópolis, Santa Catarina, em 25 de janeiro de 2021. O rompimento da barragem da Companhia Catarinense de Águas e Abastecimento (CASAN) promoveu uma grande entrada de nutrientes e matéria orgânica no local. Como possíveis consequências da entrada de efluentes nos corpos de água tem-se a escassez de fontes de abastecimento e a mortalidade de diversos organismos (DE QUEIROZ *et al.*, 2008). Além disso, o grande aporte de nutrientes e matéria orgânica é um dos principais responsáveis pela eutrofização dos ambientes marinhos, contribuindo com o aumento da produtividade primária e causando desequilíbrio em toda a estrutura e dinâmica das comunidades e ecossistemas marinhos, além de impossibilitar a utilização dos recursos de tais ambientes, como para abastecimento e recreação (ESTEVES, 2011; SIMÕES & TARENTA, 2021). Também pode ocasionar floração de algas e cianobactérias, que, caso sejam tóxicas, podem se tornar um problema de saúde pública (BOUZON *et al.*, 2005; CYRINO *et al.*, 2010).

Como medida de mitigação, pode-se utilizar a biorremediação, que consiste num processo no qual os organismos vivos, como as macroalgas, são utilizados para remover ou reduzir poluentes no ambiente. Dentre todos os organismos utilizados para biofiltração, as macroalgas apresentam vantagem por ter alta eficiência ao remover os nutrientes e não gerar resíduos (MARINHO-SORIANO, 2005; NUNES, 2006). Este processo tem sido amplamente recomendado para tratamento de ambientes contaminados por ser uma alternativa ecologicamente mais adequada e eficaz, principalmente em ambientes contaminados com moléculas orgânicas e inorgânicas de difícil degradação e metais tóxicos (GAYLARDE *et al.*, 2005). Assim, pode-se utilizar as macroalgas marinhas como filtros biológicos, a fim de remover nutrientes em excesso dos ambientes (ADHARINI *et al.*, 2021; ARUMUGAM *et al.*, 2018; ELIZONDO-GONZÁLEZ *et al.*, 2018; LARAMORE *et al.*, 2018; TRIANTI & ADHARINI, 2020). Alguns estudos foram feitos utilizando macroalgas vermelhas como agente biorremediador em ambientes aquáticos. Ge & Champagne (2017) estudaram a capacidade de remoção de *Chaetomorpha linum* em águas residuais, comprovando eficiência para retirada de

nitrato e fosfato. Wei *et al.* (2017) demonstrou o potencial de *Gracilaria lemaneiformis* ao remover nitrogênio e fósforo de águas residuais de aquicultura. Da mesma forma, Carneiro *et al.* (2021) observou a capacidade de biorremediação de *Gracilariopsis tenuifrons* em um sistema com cultivo de camarão, sendo eficiente para a remoção de amônio. A macroalga *Gracilaria verrucosa* removeu nitrato, amônio e fosfato em um cultivo com peixe (SARI *et al.*, 2020). Cohen *et al.* (2022) estudou a capacidade como filtro biológico de *Gracilaria caudata*, *Gracilaria domingensis* e *Gracilariopsis tenuifrons* em águas residuais de aquicultura, sendo eficiente para a remoção de amônio e fosfato.

Os nutrientes retirados do ambiente pelas macroalgas são bioacumulados na forma de compostos orgânicos em seus tecidos e utilizados para o crescimento e desenvolvimento destes organismos (RATHOD *et al.*, 2014; RIBEIRO *et al.*, 2017). Os nutrientes mais utilizados e limitantes para o crescimento das algas marinhas são o nitrogênio e o fósforo (HURD *et al.*, 2014; RIBEIRO, 2012). Sua disponibilidade ou ausência pode regular o desenvolvimento destes organismos. O nitrogênio é considerado o principal nutriente limitante para o desenvolvimento das macroalgas, impactando na produtividade primária dos ecossistemas marinhos. Além disso, sua disponibilidade, principalmente na forma de nitrato e amônio, influencia diretamente na formação de diversos componentes nas algas, como ácidos nucleicos, proteínas, enzimas, pigmentos fotossintetizantes e moléculas de energia (ATP e ADP) (BARSANTI & GUALTIERI, 2014; GRAHAM *et al.*, 2016). O nitrogênio ocorre em diversas formas no ambiente marinho, como nitrato, nitrito, amônio, dinitrogênio e nitrogênio orgânico dissolvido (BARSANTI & GUALTIERI, 2014). Todavia, a forma mais abundante nos oceanos é o gás dinitrogênio dissolvido (N₂), representando cerca de 95% do N disponível. Este é considerado inerte para as macroalgas, não sendo utilizado por estes organismos.

As algas utilizam principalmente os íons nitrato e amônio (KIM *et al.*, 2007). O nitrato é encontrado principalmente em zonas de ressurgência ou em plumas de efluentes na região costeira. Por ter alta solubilidade na água, facilita a contaminação dos corpos d'água, sendo o principal causador da eutrofização nos ecossistemas costeiros (HOWARTH & MARINO, 2006). Sua concentração estimada nas águas oceânicas tem valores entre 7-31 µM (OUYANG *et al.*, 2016). O nitrato é absorvido, porém, não pode ser assimilado de forma direta pelas algas, sendo necessária sua redução à amônio. Para que o nitrato seja reduzido a amônio, primeiro tem-se a conversão de nitrato para nitrito, por meio da enzima nitrato redutase (Equação 1.1). Posteriormente, o nitrito é convertido em amônio pela enzima nitrito redutase (Equação 1.2) e pode ser assimilado pela macroalga (CAI *et al.*, 2013; GONÇALVES *et al.*, 2017).





De maneira contrária, a assimilação do amônio se dá de maneira direta, explicando a preferência de algumas algas a este composto nitrogenado (MANDAL *et al.*, 2018). Assim, tem-se menor gasto metabólico para assimilação de amônio, visto que, não há gastos com a produção de enzimas para a redução de nitratos e nitritos em amônio (LACHMAN *et al.*, 2019; MANDAL *et al.*, 2018). Em contrapartida, a concentração estimada de amônio em águas oceânicas é bem inferior as quantidades de nitrato, cerca de 0,001-0,3 μM (OUYANG *et al.*, 2016). Além disso, as bactérias nitrificantes presentes na água do mar têm alta capacidade em converter amônio em nitrato, reduzindo ainda mais sua disponibilidade no meio. O amônio pode então ser considerado um nutriente limitante nas águas oceânicas (GRAHAM *et al.*, 2016).

Da mesma forma que o nitrogênio, o fósforo também é um nutriente limitante para o crescimento e desenvolvimento das macroalgas marinhas e está presente na água do mar principalmente como fosfato inorgânico dissolvido, na forma de HPO_4^{2-} e PO_4^{3-} (PAYTAN & MCLAUGHLIN, 2007; RIBEIRO, 2017). Sua entrada nos oceanos se dá principalmente pelos rios (SANTOS *et al.*, 2010). Este nutriente é responsável pela formação de diversas estruturas e pela transferência de energia por meio da formação de ATP, que é utilizada como combustível pelas macroalgas para realizar seus processos metabólicos (CONLEY *et al.*, 2009). Portanto, o fósforo também causa alterações morfofisiológicas nestes organismos, como em seu potencial fotossintético e taxa de crescimento (YAN *et al.*, 2020).

As diferentes concentrações destes nutrientes podem causar alterações morfofisiológicas nas macroalgas, como em sua taxa de crescimento (BERMEJO *et al.*, 2020; COHEN *et al.*, 2022; GE *et al.*, 2019; KAMBEY *et al.*, 2020; KANG *et al.*, 2021; SARI & ADHARINI, 2020; VALERO-RODRIGUEZ *et al.*, 2020), morfologia externa (ÁLVAREZ-GOMEZ *et al.*, 2017; DE FAVERI *et al.*, 2015; NAUER *et al.*, 2018), conteúdo de pigmentos fotossintetizantes (FARIA & PLASTINO, 2016; NARDELLI *et al.*, 2019; NAUER *et al.*, 2018; RIBEIRO *et al.*, 2017; XU *et al.*, 2020) e alterações ultra estruturais (ÁLVAREZ-GOMEZ *et al.*, 2017).

As algas pertencentes a divisão Rhodophyta, também conhecidas como algas vermelhas, compreendem mais de 5.000 espécies, sendo a maioria delas marinhas. Estas têm como característica paredes celulares contendo celulose e diversos polissacarídeos mucilaginosos, como o ágar e a carragena, que são amplamente utilizados na indústria. Possuem clorofila *a* e ficobiliproteínas, sendo a ficoeritrina sua principal reserva de nitrogênio. Têm como pigmentos acessórios os carotenoides e xantofilas, e o produto de reserva é o amido das

florídeas (BAÑON & GONZÁLEZ, 2018). Devido a riqueza de galactanas sulfatadas, as algas vermelhas possuem muitas aplicações, principalmente na indústria alimentar e de biotecnologia. Além disso, tem papel importante como produtores primários e são amplamente utilizadas para biorremediação em sistemas de aquicultura multitrófica integrada. Portanto, são organismos importantes para os ecossistemas marinhos, funcionando como biofiltros e retirando nutrientes em excesso dos ambientes (SARKAR *et al.*, 2021; SHIN *et al.*, 2020; TREMBLAY-GRATTON *et al.*, 2017).

A macroalga *Gracilaria domingensis* em destaque neste estudo faz parte da divisão Rhodophyta e pertence a Ordem Gracilariales e a Família Gracilariaceae. A espécie possui polimorfismo pigmentar, portanto, há variação em sua coloração podendo ser encontrados indivíduos com tonalidades vermelhas, verdes e marrons (FERREIRA, 2008; GUIMARÃES, 1995; OLIVEIRA *et al.*, 1983; PLASTINO *et al.*, 1999). Todavia, a coloração vermelha é encontrada com maior frequência e a verde com menor (GUIMARAES *et al.*, 2003). Ocorrem amplamente em mares tropicais e subtropicais, preferencialmente em águas mais quentes (OLIVEIRA & PLASTINO, 1994). A espécie está distribuída pela costa brasileira desde o estado do Maranhão até Santa Catarina, sendo mais comumente encontrada na região nordeste (NUNES, 2006; SCHMIDT *et al.*, 2010). Além disso, é uma das poucas espécies do gênero *Gracilaria* encontradas no sul do Brasil (OLIVEIRA *et al.*, 1997). É encontrada desde a zona intertidal superior até a zona subtidal, em áreas com ação de ondas, fixas a substratos consolidados (GOUVEIA *et al.*, 2013). A espécie possui tolerância às mudanças ambientais, como temperatura, salinidade e disponibilidade de nutrientes (OLIVEIRA & PLASTINO, 1994). A espécie tem alto potencial econômico por produzir ágar utilizado principalmente na indústria alimentícia, sendo amplamente exportada para o Japão (GUIMARÃES *et al.*, 1999; PLASTINO *et al.*, 1999). Além disso, as algas do gênero *Gracilaria* podem ser utilizadas como biofiltro em sistema de aquicultura integrada multitrófica (BRITO *et al.*, 2018; MAWI *et al.*, 2020; NARDELLI, 2019; WEI *et al.*, 2017).

Apesar da importância das macroalgas como agente biorremediador, não há estudos avaliando o potencial de biorremediação da espécie *G. domingensis* e as possíveis alterações morfofisiológicas causadas pela disponibilidade de nutrientes. Portanto, o presente estudo tem como foco conhecer o potencial biorremediador da macroalga vermelha *G. domingensis* e avaliar as possíveis alterações celulares (parede celular, pigmentos, grãos de amido) causadas por nutrientes como nitrato, amônio, nitrito e fosfato.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Analisar o potencial de biorremediação da macroalga vermelha *Gracilaria domingensis* em um ambiente contaminado e as possíveis alterações morfofisiológicas causadas pelos nutrientes.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Identificar quais os principais agentes contaminantes inorgânicos presentes nos pontos de coleta de água da Lagoa da Conceição e suas respectivas concentrações;
- b) Verificar a taxa de crescimento após a exposição aos agentes contaminantes;
- c) Caracterizar a morfologia externa após a exposição aos nutrientes;
- d) Avaliar as possíveis alterações nos polissacarídeos ácidos e neutros;
- e) Determinar a variação nas concentrações de pigmentos fotossintetizantes (clorofila *a*, ficobiliproteínas e carotenoides);
- f) Avaliar a água inicial e final dos experimentos a fim de quantificar os nutrientes contaminantes inorgânicos e avaliar a capacidade de remoção de tais nutrientes pela *G. domingensis*.

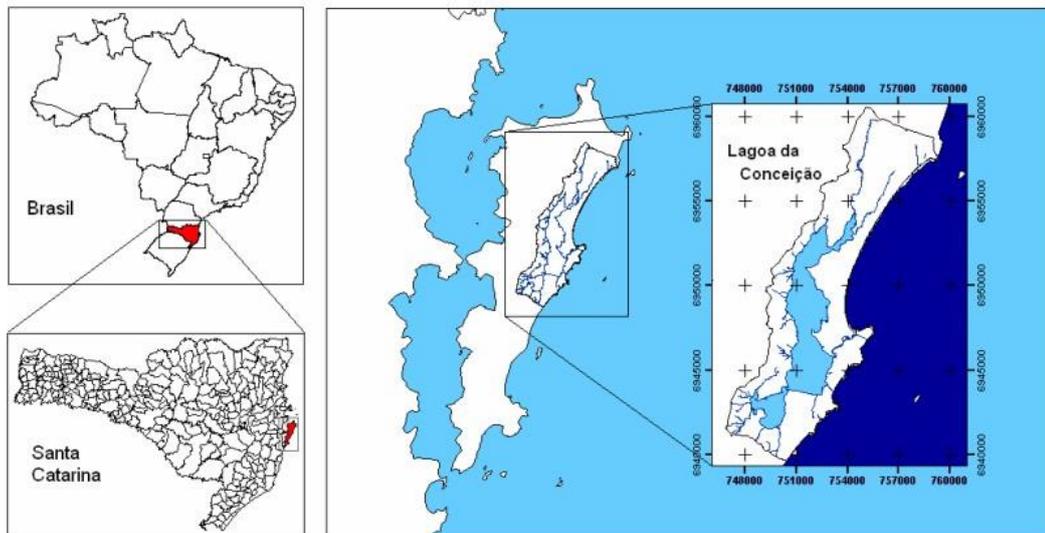
3 METODOLOGIA

3.1 ÁREA DE ESTUDO

A Lagoa da Conceição, localizada no município de Florianópolis – SC, situa-se entre os paralelos 27°30' S e 27°37' S e os meridianos 48°25' W e 48°29' W (GODOY, 2009). É considerada uma laguna costeira, ou seja, possui ligação com o oceano pelo Canal da Barra da Lagoa e tem como característica aproximadamente 21 km² de área e profundidade média de 1,7 m (ODRESKI, 2012; SILVA, 2013).

De acordo com a resolução CONAMA, é classificada como água salobra de classe 2 (SILVA *et al.*, 2017). É amplamente utilizada para recreação, pesca, navegação e outras atividades, tendo elevada importância econômica e ambiental na região (SILVA, 2013). Além disso, a laguna se encontra próxima a ocupações urbanas, sendo altamente suscetível a poluição por fontes antrópicas (KRUG & NOERNBERG, 2005).

Figura 1 – Localização da área de estudo, Lagoa da Conceição, Florianópolis, Santa Catarina.



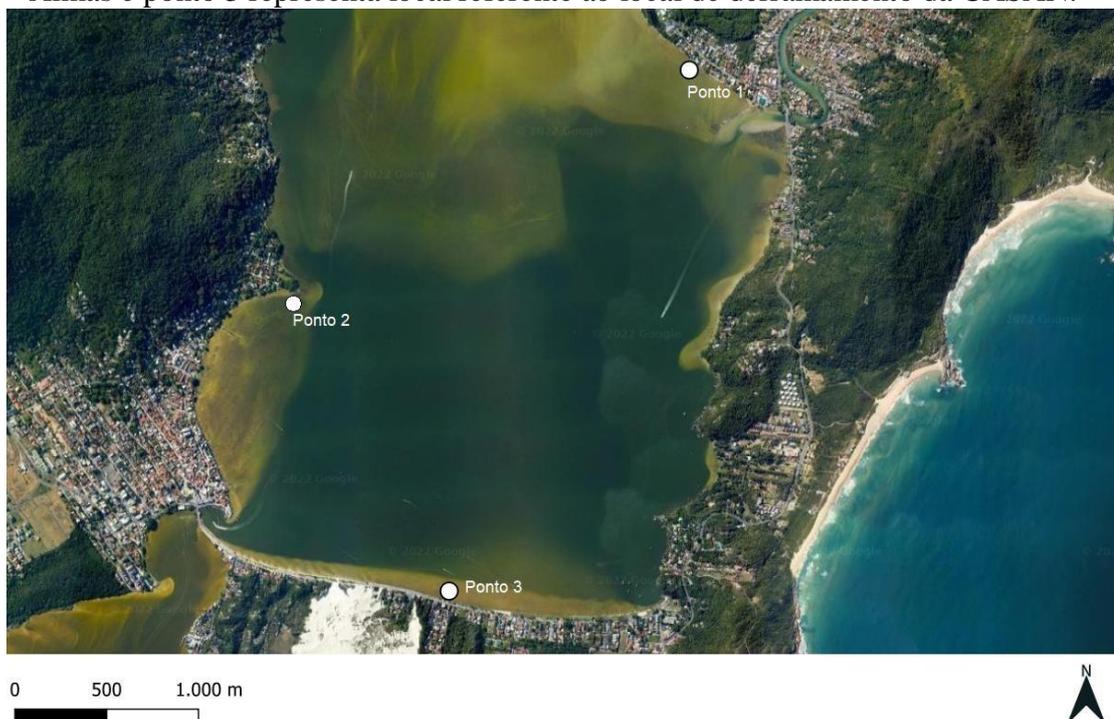
Fonte: Godoy (2009).

3.2 ANÁLISE DE NUTRIENTES

Foram coletadas cinco amostras de água da Lagoa da Conceição, em cinco pontos distintos. Posteriormente, foram encaminhadas para o Laboratório de Qualidade de Água (LAQUA) – Departamento de Aquicultura – CCA para a análise das mesmas. As análises foram feitas para determinar a presença e concentração de nitrato, nitrito, nitrogênio amoniacal total

e fosfato, de acordo com o protocolo Avaliação Ambiental de Estuários Brasileiros (LANA *et al.*, 2006). Além disso, utilizou-se o mesmo protocolo para determinar a contaminação de cada nutriente nos pontos de coleta. Após os resultados obtidos foram selecionados três pontos de coleta de água (Figura 2). O ponto 1 está localizado próximo à Barra da Lagoa e apresentou maiores concentrações de nitrato e menores concentrações de nitrogênio amoniacal total, nitrito e fosfato em relação aos demais pontos, sendo considerado controle. O ponto 2 corresponde à Ponta das Almas (27°35'44"S, 48°27'35"O) e o ponto 3 ao local próximo ao derramamento da CASAN (27°36'29"S, 48°27'7"O) e apresentaram maiores concentrações de nitrogênio amoniacal total, nitrito e fosfato em relação ao controle.

Figura 2 – Localização dos pontos de coleta da água na Lagoa da Conceição, Florianópolis, Santa Catarina. Ponto 1 representa controle, ponto 2 representa local referente à Ponta das Almas e ponto 3 representa local referente ao local de derramamento da CASAN.



Fonte: A autora (2022).

3.3 COLETA DA ALGA E CONDIÇÕES DE CULTIVO

A espécie *Gracilaria domingensis* foi coletada na praia de Ponta das Canas, em Florianópolis, Santa Catarina. Posteriormente as amostras foram transferidas para o Laboratório de Biologia Celular Vegetal (LABCEV), Departamento de Biologia Celular, Centro de Ciências biológicas, UFSC. No laboratório, as amostras foram lavadas com água do mar filtrada e

esterilizada (salinidade 35) fornecida pelo Laboratório de Macroalgas – Estação de Maricultura Prof. Elpídio Beltrame – Departamento de Aquicultura – CCA. Durante a lavagem das amostras os contaminantes foram removidos.

Logo após, foram selecionados 15 g de massa fresca da alga e aclimatados durante 14 dias nas seguintes condições de cultivo: irradiância de $75 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{s}^{-1}$, temperatura de $21 \text{ }^\circ\text{C}$ ($\pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$), fotoper\u00edodo de 12 h, salinidade de 30 (± 0.5), com aera\u00e7\u00e3o cont\u00ednua e 4 mL de Von Stoch por litro. A estabiliza\u00e7\u00e3o da salinidade se fez de forma gradativa com redu\u00e7\u00e3o de 2.5 a cada 7 dias, resultando em uma salinidade de 30 (± 0.5), semelhante \u00e0 salinidade da Lagoa da Concei\u00e7\u00e3o.

Ap\u00f3s o per\u00edodo de aclima\u00e7\u00e3o, o experimento foi realizado selecionando 3,0 g de massa fresca da alga (Figura 3). O material foi cultivado durante 7 dias em erlenmeyer de 1 L, nos seguintes tratamentos: controle (\u00e1gua do ponto 1) e em \u00e1guas contaminadas da Lagoa da Concei\u00e7\u00e3o (\u00e1gua dos pontos 2 e 3). Em todos os tratamentos foram feitas 4 r\u00e9plicas. Ap\u00f3s o per\u00edodo experimental foram realizadas an\u00e1lises de taxa de crescimento, morfologia do talo, quantifica\u00e7\u00e3o de pigmentos fotossintetizantes (clorofila *a*, carotenoides e ficobiliprote\u00ednas) e an\u00e1lises por meio de microscopia de luz. Al\u00e9m disso, no in\u00edcio e final de cada experimento foram feitas an\u00e1lises de \u00e1gua para aferir as concentra\u00e7\u00f5es de nitrato, nitrito, nitrog\u00eanio amoniacal total e fosfato e avaliar a remo\u00e7\u00e3o de tais nutrientes pela alga. As an\u00e1lises de \u00e1gua foram feitas de acordo com o protocolo Avalia\u00e7\u00e3o Ambiental de Estu\u00e1rios Brasileiros (LANA *et al.*, 2006).

Figura 3 – Experimento contendo *Gracilaria domingensis* em condições de cultivo.



Fonte: A autora (2022).

3.4 TAXA DE CRESCIMENTO

As taxas de crescimento (TC) foram apresentadas como porcentagem de crescimento diário (%.dia⁻¹), sendo calculadas segundo a fórmula de Yong e Anton (2013):

$$TC = [(M_f/M_i)^{1/t}] * 100 \quad (\text{Eq. 3})$$

onde TC é a taxa de crescimento (%.dia⁻¹); M_f é a massa final (em gramas); M_i é a massa inicial (em gramas) e t é o tempo (em dias).

3.5 EXTRAÇÃO DOS PIGMENTOS FOTOSSINTETIZANTES

3.5.1 Ficobiliproteínas

A extração das ficobiliproteínas [aloficocianina (AFC), ficocianina (FC) e ficoeretrina (FE)] foi realizada através da trituração de 0,300 g de massa fresca utilizando o equipamento Ultraturrax. O macerado foi suspenso em 1,5 ml de tampão fosfato 0.05 mM, pH 5,5 e temperatura de 4 °C. A solução foi centrifugada por 10 min (10000 rpm a 4° C) e o

sobrenadante foi retirado e mantido no escuro até a leitura em espectrofotômetro modelo Multileitora Infinite M200 TECAN nos comprimentos de onda de 498, 614 e 651 nm. A determinação das concentrações das ficobiliproteínas foi realizada utilizando as fórmulas descritas por Kursar *et al.* (1983):

$$PE = (155,8 \times A_{498}) - (40 \times A_{614}) - (10,5 \times A_{651}) \quad (\text{Eq. 4})$$

$$PC = (151,1 \times A_{614}) - (99,1 \times A_{651}) \quad (\text{Eq. 5})$$

$$APC = (181,3 \times A_{651}) - (22,3 \times A_{614}) \quad (\text{Eq. 6})$$

As análises foram realizadas com $n = 3$ e os resultados foram expressos em μg de pigmentos por g de massa seca.

3.5.2 Clorofila *a* e carotenoides

Foram selecionadas 0,3 g de amostra de cada tratamento. A clorofila *a* foi extraída em 1 ml de DMSO a 40°C, durante 45 minutos, usando um homogeneizador de tecidos de vidro (HISCOX & ISRAELSTAM, 1979) e quantificadas por espectrofotômetro modelo Multileitora Infinite M200 TECAN nos comprimentos de onda de 480, 649 e 665 nm. A determinação das concentrações de clorofila *a* e carotenoides foi realizada utilizando as fórmulas descritas por Wellburn (1994):

$$\text{Clorofila } a = (12,19 \times A_{665}) - (3,45 \times A_{649}) \quad (\text{Eq. 7})$$

$$\text{Carotenoides} = (1000 \times A_{480}) - (2,14 \times \text{Chl } a) / 220 \quad (\text{Eq. 8})$$

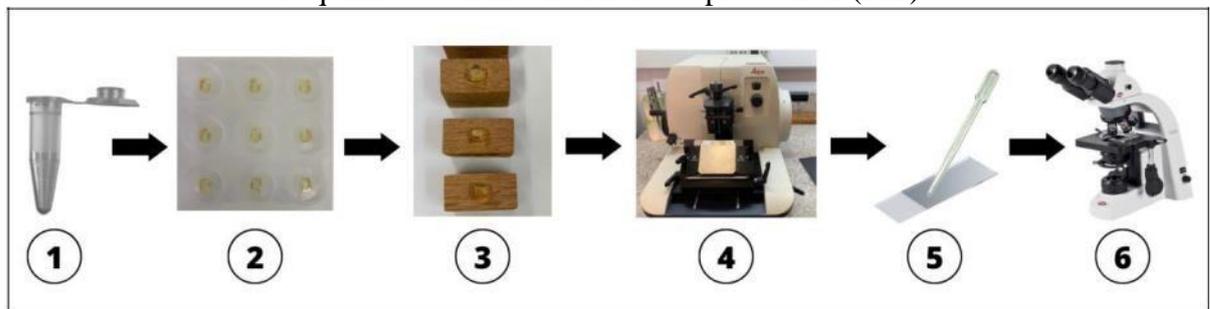
As análises foram realizadas com $n = 3$ e os resultados foram expressos em μg de pigmentos por g de massa seca.

3.6 MICROSCOPIA DE LUZ

Os materiais tratados foram processados para análises citoquímicas e morfológicas em microscopia de luz. As amostras foram fixadas em solução de paraformaldeído 2,5% e tampão fosfato 0.1 M (pH 7.2) a 4°C por 24 horas. Após a fixação, em temperatura ambiente, o material foi lavado duas vezes com tampão fosfato 0.1 M durante 20 minutos em cada troca. Em seguida o material foi desidratado em uma série de concentrações crescentes de etanol

(30%, 50%, 70%, 90% e 100%) sendo mantido durante 30 minutos em cada etapa. Foram feitas duas trocas com etanol 100%. A pré-infiltração das amostras foi realizada com uma mistura de 1:1 de etanol 100% e historresina glicolmetacrilato (GMA) durante 24 h. Posteriormente o material foi infiltrado em historresina pura. As amostras foram seccionadas em micrótomo manual de parafina modelo Leica RM 2135, com navalhas de tungstênio. As secções com espessura de 2 - 5 µm foram distendidas em placa de Petri com água à temperatura ambiente, coletadas com lâminas de vidro ou coletadas nas lâminas sobre gotas de água destilada e secos a 37 °C por 30 minutos.

Figura 4 – Esquema representativo das etapas de emblocagem das amostras, corte, teste citoquímico e análise no Microscópio de Luz (ML).



Fonte: A autora (2021).

3.6.1 Citoquímica

O material foi submetido aos seguintes testes citoquímicos:

- a) Azul de toluidina (AT-O). Este corante foi utilizado para identificar polissacarídeos ácidos através da reação de metacromasia. As lâminas contendo as secções foram tratadas com solução aquosa de AT-O 0,5%, acidificada com HCl 1N para pH 3,0, por 30 segundos a 2 minutos, lavadas em água destilada e secas ao ar (GORDON & MCCANDLESS, 1973; MCCULLY, 1970).
- b) Ácido Periódico de Schiff (PAS). O PAS é utilizado para identificar a presença de polissacarídeos neutros. As secções foram oxidadas com solução aquosa de ácido periódico a 1% durante 20 minutos, lavados em água corrente e corados com reativo de Schiff por 20 minutos. Foram, então, lavados em água corrente, secos ao ar (GAHAN, 1984).

3.7 POTENCIAL DE REMOÇÃO DE NUTRIENTES

A remoção de nutrientes da água foi apresentada como porcentagem de redução de nutriente, sendo calculada segundo a fórmula de Adharini *et al.* (2021):

$$\text{Eficiência de redução de nutriente na água (\%)} = (N_0/N_f)/(N_0)*100 \quad (\text{Eq. 4})$$

onde N_0 é a concentração de nutriente inicial da água e N_f é a concentração de nutriente final da água.

3.8 ANÁLISE E INTERPRETAÇÃO DOS DADOS

Os dados foram analisados por Análise de Variância Bifatorial (ANOVA) e o teste Tukey *a posteriori*. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando programa Statistic (versão 10.0), considerando significativo $p \leq 0,05$.

4 RESULTADOS

4.1 ANÁLISE DE NUTRIENTES

Por meio das análises de nutrientes pode-se perceber maiores concentrações iniciais de nitrato no ponto 1 em relação aos demais pontos. Já os pontos 2 e 3 demonstraram maiores concentrações iniciais de nitrogênio amoniacal total, nitrito e fosfato em relação ao controle.

Tabela 1 – Concentrações iniciais e finais de nitrato, nitrogênio amoniacal total, nitrito e fosfato nos tratamentos controle, ponto 2 (Ponta das Almas) e ponto 3 (próximo ao derramamento da CASAN).

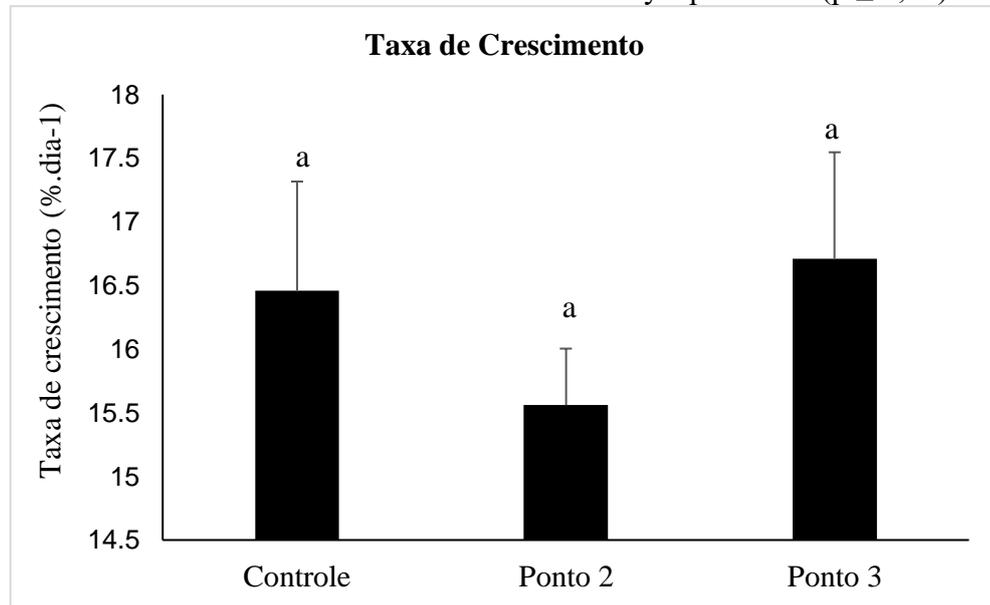
| | Ponto 1 (controle) | | Ponto 2 | | Ponto 3 | |
|---------------------------|--------------------|--------|----------|--------|----------|--------|
| | □inicial | □final | □inicial | □final | □inicial | □final |
| Nitrato (μM) | 3,71 | 0,65 | 1,29 | 0,48 | 1,29 | 1,77 |
| NAT (μM) | 3,43 | 0,75 | 3,88 | 4,78 | 13,25 | 3,97 |
| Nitrito (μM) | 0,05 | 0,05 | 0,05 | 0,07 | 0,09 | 0,07 |
| Fosfato (μM) | 0,45 | 0,40 | 0,53 | 0,48 | 0,64 | 0,56 |

Fonte: A autora (2022).

4.2 TAXA DE CRESCIMENTO

Por meio da análise de taxa de crescimento pode-se aferir que os tratamentos não apresentaram diferenças estatísticas entre si. Entretanto, a amostra do ponto 3 obteve um leve aumento na TC em relação aos demais tratamentos, cerca de $16,71 \text{ \%} \cdot \text{dia}^{-1}$.

Figura 5 – Taxa de crescimento (%.dia⁻¹) de talos de *Gracilaria domingensis* após 7 dias em diferentes condições de cultivo: controle, ponto 2 (Ponta das Almas) e ponto 3 (próximo ao derramamento da CASAN). Letras diferentes indicam diferenças significativas por meio da análise de variância bifatorial e teste de Turkey a posteriori ($p \leq 0,05$).

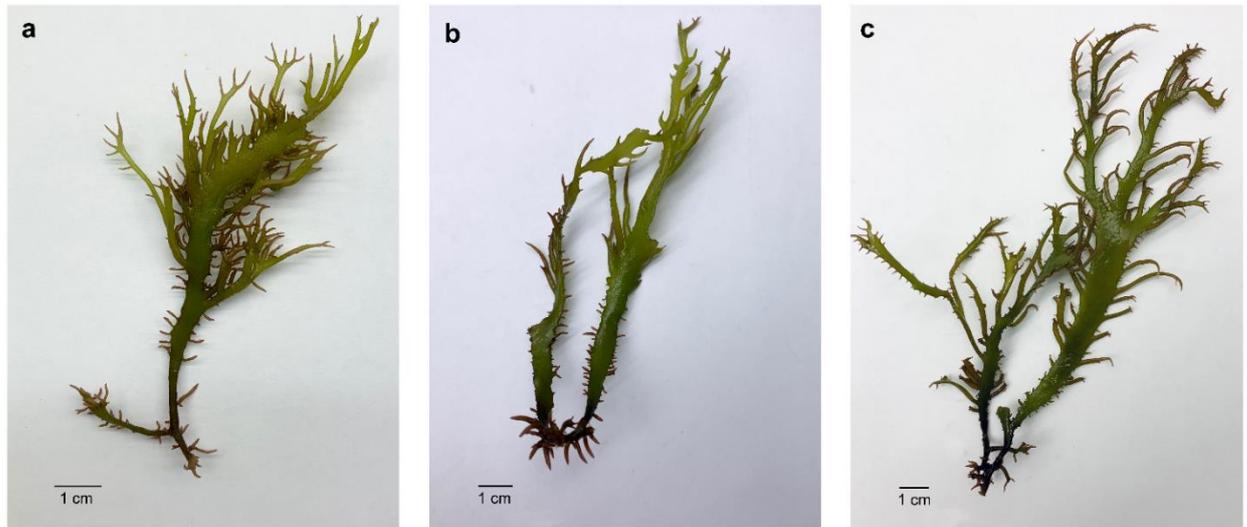


Fonte: A autora (2022).

4.3 MORFOLOGIA EXTERNA DO TALO

Após os tratamentos pode-se observar que a amostra controle apresentou pigmentação verde um pouco mais intensa no eixo principal e nos ramos secundários que as amostras tratadas com as águas dos pontos 2 e 3. Além disso houve um crescimento mais acentuado dos ramos secundários (Fig. 6a). A amostra do ponto 2 apresentou despigmentação do talo e perda dos ramos secundários quando comparada ao controle (Fig. 6b). A amostra do ponto 3 também demonstrou despigmentação dos talos em relação ao controle, bem como redução no crescimento dos ramos secundários (Fig. 6c).

Figura 6 – Morfologia do talo de *Gracilaria domingensis* após 7 dias de cultivo nos tratamentos **a)** controle, **b)** ponto 2 (Ponta das Almas) e **c)** ponto 3 (próximo ao derramamento da CASAN).



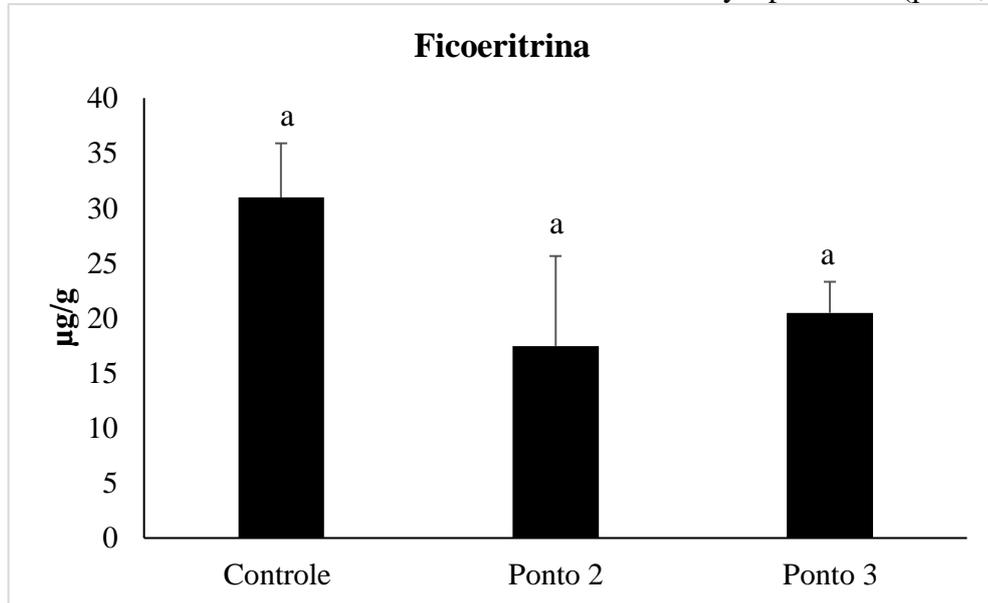
Fonte: A autora (2022).

4.4 PIGMENTOS FOTOSSINTETIZANTES

4.4.1 Ficobiliproteínas

Em relação a concentração de ficoeritrina, pode-se perceber uma diminuição nos tratamentos dos pontos 2 e 3 em relação ao controle, todavia, não houve diferença estatística quando comparados. Os maiores valores de concentração de ficoeritrina foram encontrados na amostra controle, com cerca de 30,96 $\mu\text{g/g}$. Os pontos 2 e 3 obtiveram concentrações de 17,46 e 20,47 $\mu\text{g/g}$, respectivamente.

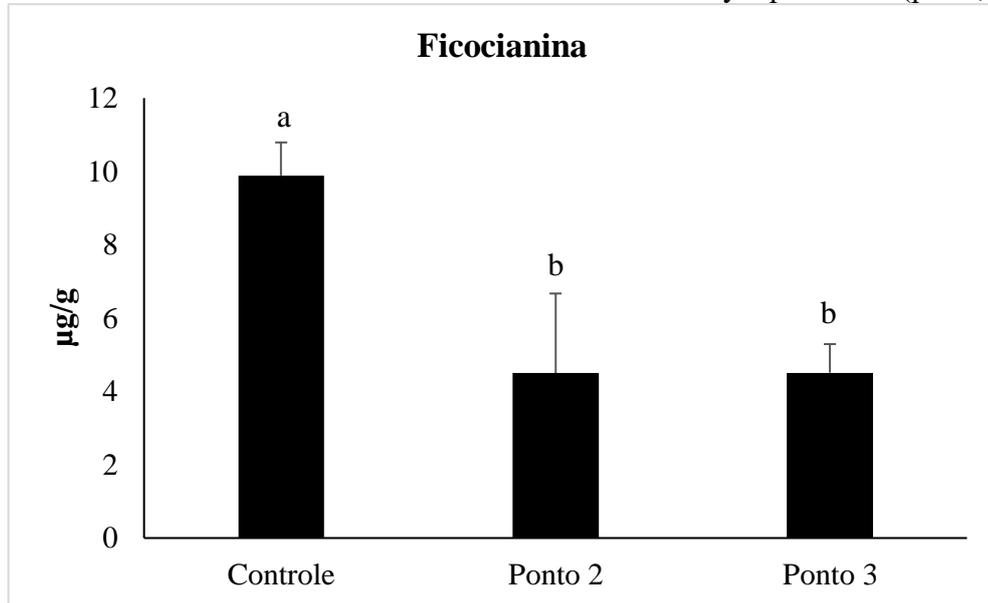
Figura 7 – Concentração de ficoeritrina ($\mu\text{g/g}$) nos talos de *Gracilaria domingensis* após 7 dias em diferentes condições de cultivo: controle, ponto 2 (Ponta das Almas) e ponto 3 (próximo ao derramamento da CASAN). Letras diferentes indicam diferenças significativas por meio da análise de variância bifatorial e teste de Turkey a posteriori ($p \leq 0,05$).



Fonte: A autora (2022).

Em relação a ficocianina, pode-se perceber diminuição em sua concentração nos tratamentos dos pontos 2 e 3 em relação ao controle. Além disso, o controle apresentou diferença estatística quando comparado aos pontos 2 e 3. Os maiores valores de ficocianina foram encontrados no controle, com cerca de $9,89 \mu\text{g/g}$. Os pontos 2 e 3 obtiveram concentrações de $4,5$ e $4,51 \mu\text{g/g}$, respectivamente.

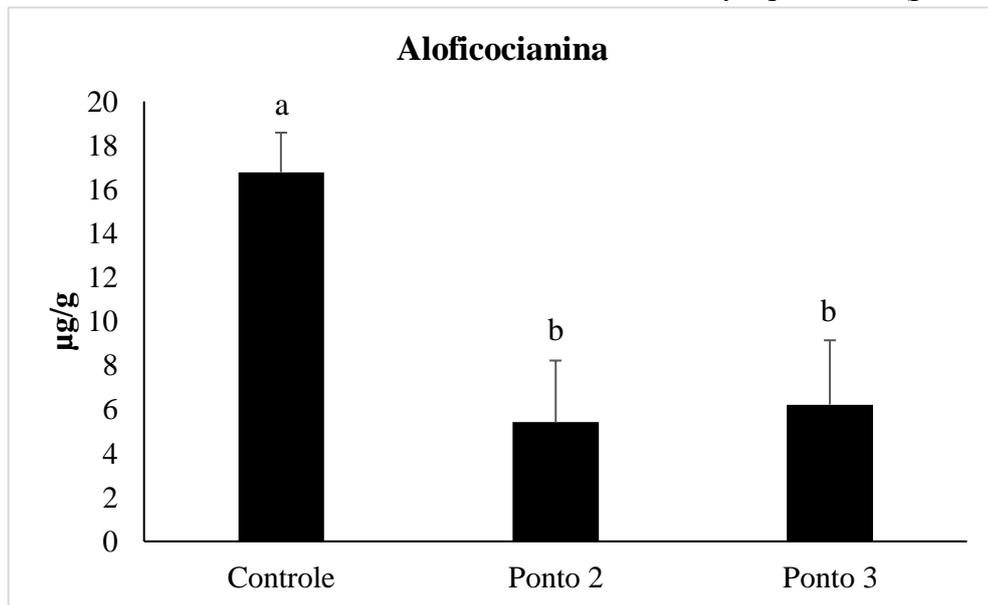
Figura 8 – Concentração de ficocianina ($\mu\text{g/g}$) nos talos de *Gracilaria domingensis* após 7 dias em diferentes condições de cultivo: controle, ponto 2 (Ponta das Almas) e ponto 3 (próximo ao derramamento da CASAN). Letras diferentes indicam diferenças significativas por meio da análise de variância bifatorial e teste de Turkey a posteriori ($p \leq 0,05$).



Fonte: A autora (2022).

Em relação a aloficocianina, pode-se perceber diminuição em sua concentração nos tratamentos dos pontos 2 e 3 em relação ao controle. Além disso, o controle apresentou diferença estatística quando comparado aos pontos 2 e 3. Os maiores valores de aloficocianina foram encontrados no controle, com cerca de $16,78 \mu\text{g/g}$. Os pontos 2 e 3 obtiveram concentrações de $5,41$ e $6,22 \mu\text{g/g}$, respectivamente.

Figura 9 – Concentração de aloficocianina ($\mu\text{g/g}$) nos talos de *Gracilaria domingensis* após 7 dias em diferentes condições de cultivo: controle, ponto 2 (Ponta das Almas) e ponto 3 (próximo ao derramamento da CASAN). Letras diferentes indicam diferenças significativas por meio da análise de variância bifatorial e teste de Turkey a posteriori ($p \leq 0,05$).

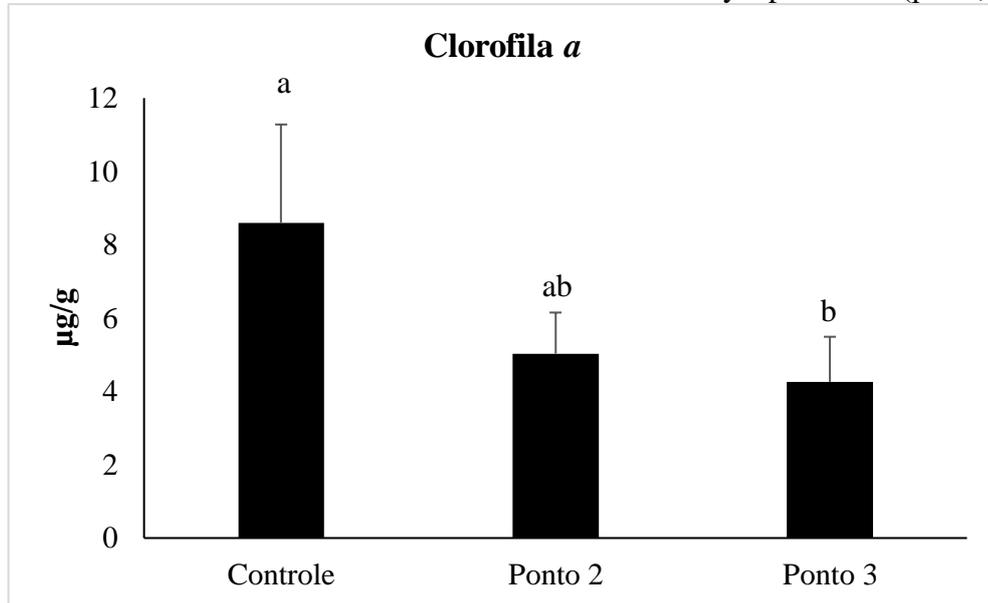


Fonte: A autora (2022).

4.4.2 Clorofila *a*

Em relação a clorofila *a*, percebe-se uma diminuição em sua concentração nos tratamentos dos pontos 2 e 3 em relação ao controle. Além disso, todos os tratamentos apresentam diferenças estatísticas entre si. Os maiores valores de clorofila *a* foram encontrados no controle, com cerca de 8,59 $\mu\text{g/g}$. Os pontos 2 e 3 obtiveram concentrações de 5,03 e 4,26 $\mu\text{g/g}$, respectivamente.

Figura 10 – Concentração de clorofila *a* ($\mu\text{g/g}$) nos talos de *Gracilaria domingensis* após 7 dias em diferentes condições de cultivo: controle, ponto 2 (Ponta das Almas) e ponto 3 (próximo ao derramamento da CASAN). Letras diferentes indicam diferenças significativas por meio da análise de variância bifatorial e teste de Turkey a posteriori ($p \leq 0,05$).

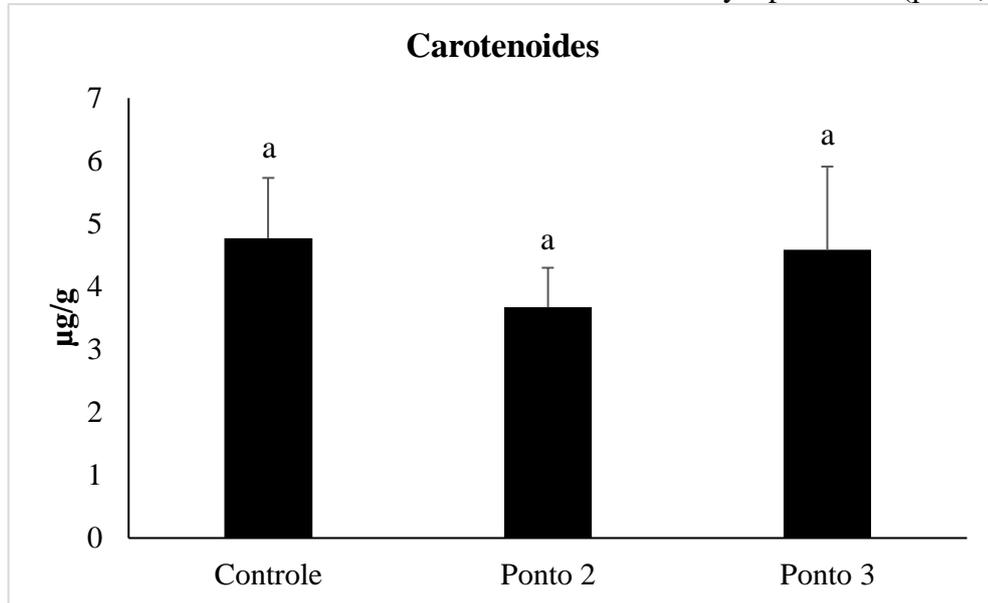


Fonte: A autora (2022).

4.4.3 Carotenoides

Em relação aos carotenoides, percebe-se uma diminuição em sua concentração nos pontos 2 e 3 em relação ao controle. Todavia, não houve diferença estatística entre si. Os maiores valores de carotenoides foram encontrados no controle, com cerca de $4,77 \mu\text{g/g}$. Os pontos 2 e 3 obtiveram concentrações de $3,67$ e $4,59 \mu\text{g/g}$, respectivamente.

Figura 11 – Concentração de carotenoides ($\mu\text{g/g}$) nos talos de *Gracilaria domingensis* após 7 dias em diferentes condições de cultivo: controle, ponto 2 (Ponta das Almas) e ponto 3 (próximo ao derramamento da CASAN). Letras diferentes indicam diferenças significativas por meio da análise de variância bifatorial e teste de Turkey a posteriori ($p \leq 0,05$).



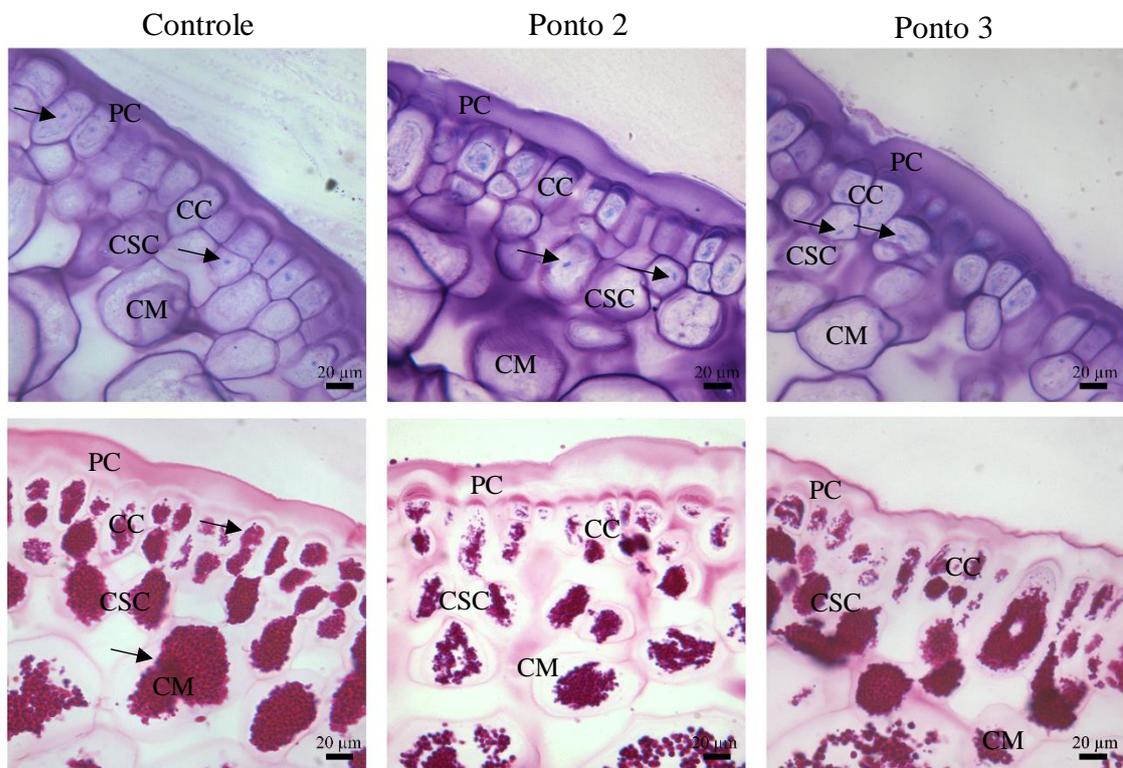
Fonte: A autora (2022).

4.5 MICROSCOPIA DE LUZ

As secções transversais de *Gracilaria domingensis* mostraram o talo pseudoparenquimatoso característico da espécie, constituído por duas camadas de células corticais (CC) pequenas e alongadas; células subcorticais (CSC) arredondadas de diferentes tamanhos e células medulares (CM) grandes (Fig. 12a – c). Quando submetidas aos testes histoquímicos as secções transversais do talo das amostras de todos os tratamentos coradas com AT-O mostraram reação metacromática na parede celular indicando presença de polissacarídeos ácidos. Em contrapartida, o citoplasma apresentou reação ortocromática (Fig. 12a – c). A parede celular das amostras tratadas com água dos pontos 2 e 3 apresentaram acentuado espessamento da parede celular quando comparadas ao controle. Observou-se também nas células de todos os tratamentos o núcleo evidente, fortemente corado com AT-O. O PAS foi utilizado para a identificação da presença de polissacarídeos neutros. As secções transversais dos talos obtiveram reação positiva na parede celular nas células de todos os tratamentos. Além disso, evidenciou-se esta mesma reação no citoplasma, com a presença de grãos de amido de florídeas (Figuras 12d – f). Podemos destacar ainda que as células da amostra controle apresentaram maior quantidade de grãos de amido (Figura 12d). Entretanto, as células

das amostras tratadas com água dos pontos 2 e 3 demonstraram diminuição na quantidade de grãos de amido quando comparadas ao controle (Fig. 12e – f).

FIGURA 12 – Microscopia de Luz (ML) das secções transversais de *Gracilaria domingensis* coradas com AT-O e PAS após 7 dias em diferentes condições de cultivo: controle, ponto 2 (Ponta das Almas) e ponto 3 (próximo ao derramamento da CASAN). (a-c) Amostras coradas com AT-O apresentaram metacromasia na parede celular (PC) e ortocromasia no citoplasma nas células corticais (CC), subcorticais (CSC) e medulares (CM). Note o núcleo evidente (setas). (d-f) Amostras coradas com PAS mostram reação positiva nos grãos de amido das células corticais (CC), subcorticais (CSC) e medulares (CM) e na parede celular (PC). Note que os grãos de amido diminuem nas amostras tratadas com água dos pontos 2 e 3 (e – f).

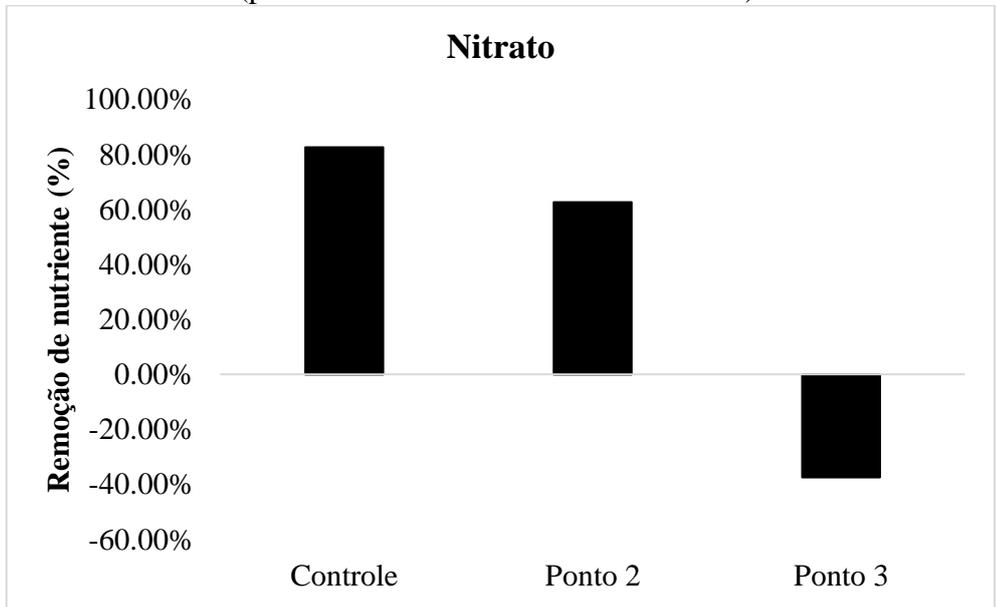


Fonte: A autora (2022).

4.6 REMOÇÃO DE NUTRIENTES

Por meio das análises de nutrientes pode-se perceber o alto potencial de absorção de nitrato por *Gracilaria domingensis* nos tratamentos controle e ponto 2. A maior remoção ocorreu no controle, cerca de 82,61%. Seguido pela amostra do ponto 2 com 62,50% de remoção de nitrato. A amostra do ponto 3 apresentou valores negativos para este nutriente, aproximadamente -37,50%.

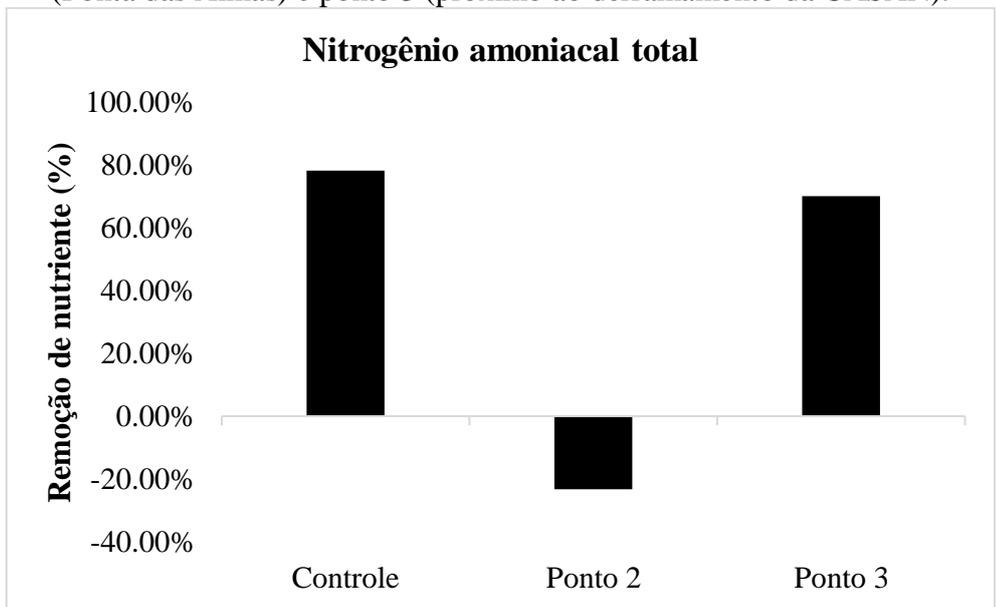
FIGURA 13 – Potencial de remoção de nitrato (%) pela macroalga *Gracilaria domingensis* após 7 dias em diferentes condições de cultivo: controle, ponto 2 (Ponta das Almas) e ponto 3 (próximo ao derramamento da CASAN).



Fonte: A autora (2022).

Para o nitrogênio amoniacal total tem-se as maiores porcentagens de absorção para as amostras controle e ponto 3. A maior retirada ocorreu no controle seguida pelo ponto 3, cerca de 78,10% e 70%, respectivamente. A amostra do ponto 2 não apresentou remoção do nutriente, com -23,18%.

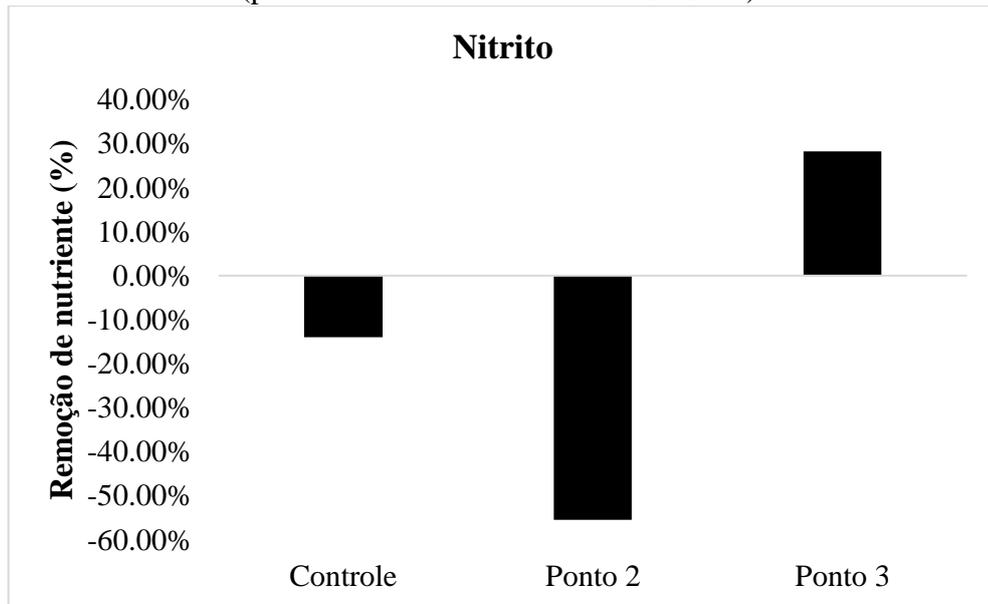
FIGURA 14 – Potencial de remoção de nitrogênio amoniacal total (%) pela macroalga *Gracilaria domingensis* após 7 dias em diferentes condições de cultivo: controle, ponto 2 (Ponta das Almas) e ponto 3 (próximo ao derramamento da CASAN).



Fonte: A autora (2022).

O potencial de absorção de nitrito por *Gracilaria domingensis* foi positivo somente na amostra do ponto 3, com cerca de 28,17%. As amostras controle e ponto 2 apresentaram porcentagens negativas de retirada do nutriente, -14,02% e -55,56%, respectivamente.

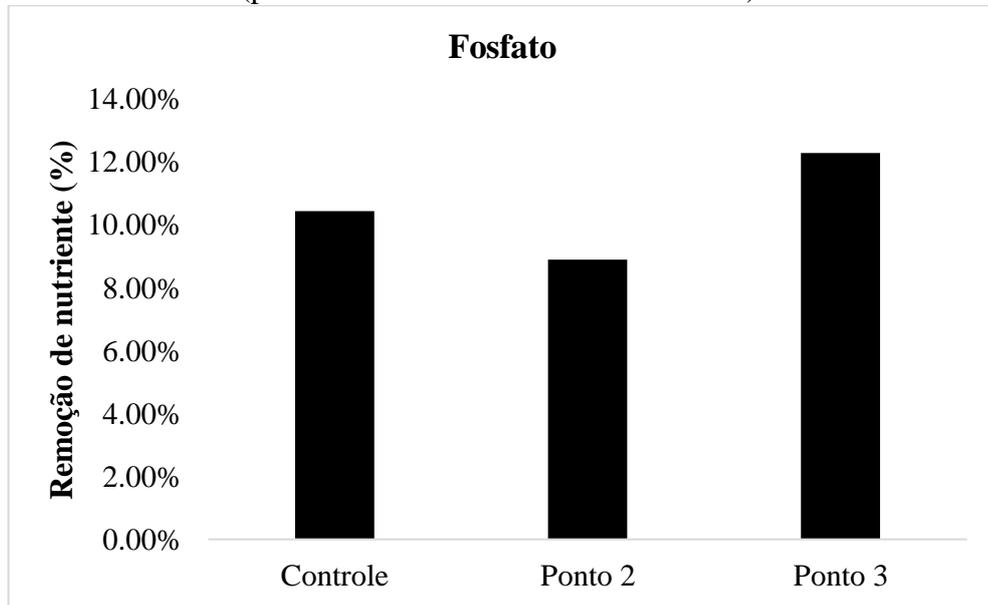
FIGURA 15 – Potencial de remoção de nitrito (%) pela macroalga *Gracilaria domingensis* após 7 dias em diferentes condições de cultivo: controle, ponto 2 (Ponta das Almas) e ponto 3 (próximo ao derramamento da CASAN).



Fonte: A autora (2022).

Para o fosfato observou-se potenciais de absorção positivos para todos os tratamentos, com a maior porcentagem pela amostra do ponto 3, cerca de 12,29%. As amostras controle e ponto 2 apresentaram valores de 10,45% e 8,90%, respectivamente.

FIGURA 16 – Potencial de remoção de fosfato (%) pela macroalga *Gracilaria domingensis* após 7 dias em diferentes condições de cultivo: controle, ponto 2 (Ponta das Almas) e ponto 3 (próximo ao derramamento da CASAN).



Fonte: A autora (2022).

5 DISCUSSÃO

A Lagoa da Conceição é um ambiente lagunar, ou seja, possui ligação com o oceano. É classificada como classe 2, podendo ser utilizada para pesca amadora e recreação de contato secundário, como navegação e prática de canoagem e caiaque (BRASIL, 2005; SILVA *et al.*, 2017). Está localizada próxima a um centro com crescente ocupação populacional com consequente entrada de efluentes em seu corpo d'água (CAMPANARIO, 2007; PORTO-FILHO, 2019). De acordo com Barbosa (2003) a principal fonte de contaminação local são os efluentes domésticos, que contém fezes, urina e detergentes. Estes componentes tem altas concentrações de nutrientes nitrogenados e fosfatados, que são utilizados pelos organismos vegetais como fonte de alimento. A elevada concentração destes nutrientes pode causar eutrofização dos corpos d'água (HENRY-SILVA & CAMARGO, 2008). Ademais, outras fontes de poluição ocorrem na Lagoa da Conceição como gorduras, embarcações (tintas anticrustrantes e combustíveis), agrotóxicos, sedimentos (assoreamento), etc. (BARBOSA, 2003).

A Lagoa pode ser dividida em três porções: norte, central e sul (KNOPPERS *et al.*, 1984). Os três pontos de coleta deste estudo foram estabelecidos na porção central da Lagoa, sendo o setor com maior entrada e concentração de nutrientes (SILVA *et al.*, 2017). Um dos principais locais suscetíveis às influências antrópicas é a Avenida das Rendeiras (ponto 3), com uma comunidade estabelecida que recebe inúmeros turistas em determinada época do ano. Além disso, recentemente o problema foi amplificado devido ao rompimento da lagoa de decantação da CASAN, fazendo com que uma elevada carga de efluentes chegassem a Lagoa sem o devido tratamento. Por meio das análises de água pode-se perceber maiores concentrações de amônio (13,25 μM), nitrito (0,09 μM) e fosfato (0,64 μM) e menores concentrações de nitrato (1,29 μM) no ponto 3. Resultados semelhantes foram descritos por Pereira *et al.* (2015) que verificou maiores concentrações de nitrito (0,05 μM) e amônio (10,60 μM) nas águas superficiais da porção central da Lagoa. As menores quantidades de nitrato encontradas estão relacionadas a entrada de esgoto doméstico no local, que é considerado redutor. Ou seja, reduz o nitrato a nitrogênio molecular, diminuindo sua disponibilidade no meio (MOTA *et al.*, 2009; PEREIRA *et al.*, 2015).

Por meio da análise da água aferiu-se que o local próximo a Barra da Lagoa (ponto 1), estabelecido como controle, apresentou menores concentrações de amônio (3,43 μM), nitrito (0,05 μM) e fosfato (0,45 μM) em relação aos pontos 2 e 3. Todavia, demonstrou maiores quantidades de nitrato (3,71 μM). Da mesma forma, foram encontrados maiores valores de

nitrito para o Canal da Barra, entre 0,14 e 0,27 μM (Pereira *et al.*, 2015). O canal da Barra funciona como um filtro dinâmico bidirecional, regulando a troca de elementos e água entre a lagoa e o oceano. Assim, tem-se diluição dos nutrientes pela água do mar (SILVA, 2021). Além disso, as velocidades de transporte no canal são elevadas, diminuindo à medida que adentra no corpo lagunar (GODOY, 2009). A concentração de nutrientes na lagoa também está relacionada a velocidade de escoamento, sendo estes parâmetros indiretamente proporcionais. Por estar próximo ao canal, a Barra da Lagoa possui velocidades de fluxo significativas, apresentando então menores concentrações de nutrientes quando comparadas às encontradas no interior da lagoa (SILVA, 2017).

O desenvolvimento das macroalgas pertencentes ao gênero *Gracilaria* é influenciado por diversos fatores físico-químicos, como irradiância, temperatura, salinidade e disponibilidade de nutrientes e metais (CASTRO & YOKOYA, 2018; GOUVEIA *et al.*, 2013; RAMLOV *et al.*, 2012). A disponibilidade de nutrientes, como nitrogênio e fósforo, pode ser um fator determinante para estes organismos, visto que sua falta ou excesso pode alterar alguns processos metabólicos das algas (PEREIRA *et al.*, 2020; RIBEIRO *et al.*, 2017). Por meio das taxas de crescimento encontradas no presente estudo, pode-se aferir que este parâmetro de *Gracilaria domingensis* não foi fortemente influenciado pelas concentrações de nutrientes, visto que não houveram diferenças estatísticas entre os tratamentos. Estudo semelhante com *G. domingensis* apresentou taxa de crescimento constante com o aumento da concentração de nutrientes (RAMLOV *et al.*, 2011; RAMLOV *et al.*, 2012). Cohen (2022) também encontrou resultados equivalentes com *G. domingensis* que não apresentou diferença em sua taxa de crescimento em diferentes concentrações de nitrito, nitrogênio amoniacal total, nitrito e fosfato. De maneira geral, as macroalgas do gênero *Gracilaria* são influenciadas de maneira positiva pela disponibilidade de nutrientes (BERMEJO *et al.*, 2020; SPANO *et al.*, 2021; WEI *et al.*, 2017). Todavia, a diferença na morfologia e fisiologia de cada espécie influencia na absorção de nutrientes do meio. A absorção é diretamente proporcional a razão superfície/volume das algas (MARAÑÓN *et al.*, 2013). Por apresentar talo achatado e largo com superfície/volume inferior a outras espécies de *Gracilaria*, apresentam menor absorção de nutrientes mesmo em meios com disponibilidade (COHEN *et al.*, 2022; YAN *et al.*, 2020). A diminuição na concentração de nutrientes nitrogenados também causa diminuição nas taxas de crescimento, visto que reduz os processos fotossintetizantes nas macroalgas (MARTINS, 2007).

A macroalga *G. domingensis* tem como característica talo com porções achatadas e ramificações curtas e cilíndricas que saem do talo de forma paralela (COSTA, 2013). Nas amostras analisadas tem-se uma maior quantidade de ramos secundários no tratamento controle,

com diminuição gradual nos tratamentos contendo maiores concentrações de amônio, nitrito e fosfato e menor concentração de nitrato. Resultados semelhantes foram encontrados com a macroalga vermelha *Gracilariopsis longissima* que apresentou despigmentação dos talos e diminuição das ramificações em meios com escassez de nutrientes, principalmente nitrato (ALVARÉZ-GOMEZ *et al.*, 2017). Nas macroalgas marinhas, a disponibilidade de nitrato promove a formação e crescimento de talos (PONG-MASAK & SARIRA, 2018).

As macroalgas vermelhas, como *Gracilaria domingensis*, possuem como principal pigmento fotossintetizante a clorofila *a*. Além disso, tem-se as ficobiliproteínas e os carotenoides como pigmentos acessórios auxiliando na absorção da energia luminosa nos comprimentos de onda que a clorofila *a* não é eficiente (LOBBAN & HARRISSON, 1994). As ficobiliproteínas (ficoeritrina, ficocianina e aloficocianina) atribuem coloração às macroalgas e são consideradas as principais reservas de nitrogênio destes organismos, sendo correlacionados positivamente a disponibilidade de nitrogênio no meio (DAVISON *et al.*, 2007). Além disso, as ficobiliproteínas e os carotenoides tem papel fundamental nos mecanismos de foto proteção das algas (KAŇA *et al.*, 2014; QUINLAN *et al.*, 2012). Os pigmentos fotossintetizantes de *G. domingensis* demonstram influência relacionada a disponibilidade de nitrato. O controle obteve as maiores concentrações de ficobiliproteínas, com diminuição destes pigmentos nos tratamentos (ponto 2 e 3), que continham menores concentração de nitrato. Uma das principais formas de assimilação de nitrogênio ocorreu na forma de ficoeritrina. Em relação a clorofila *a* observou-se um decréscimo gradual em menores quantidades de nitrato. Os carotenoides não apresentam diferenças estatísticas entre si. Resultados semelhantes foram encontrados em outras macroalgas. De acordo com Alvaréz-Gomez (2017), *Gracilariopsis longissima* obteve menores concentrações de pigmentos, com diminuição expressiva de clorofila *a*, ficocianina e ficoeritrina, em condições de baixa disponibilidade de nutrientes. *Gracilariopsis tenuifrons* apresentou menores concentrações de pigmentos fotossintetizantes com a diminuição da disponibilidade de nutrientes nitrogenados, sem influência de fosfato (NARDELLI *et al.*, 2019). *Pyropia haitanensis* demonstrou aumento da concentração de ficobiliproteínas e clorofila *a* em maior disponibilidade de nitrato. Além disso, a ficoeritrina apresentou os maiores valores entre os pigmentos (XU *et al.*, 2020). A ficoeritrina se encontra na camada mais externa da membrana dos tilacóides, sendo então o primeiro pigmento a sofrer com as alterações do meio (PARMAR *et al.*, 2013). Em meios com disponibilidade de nitrogênio, as macroalgas absorvem e acumulam estes nutrientes na forma de pigmentos fotossintetizantes para sua posterior utilização em caso de escassez (ANDRIA *et al.*, 2009). Já em meios com escassez de nutrientes a degradação destes pigmentos ocorre para posterior utilização como reserva de nitrogênio a

fim de priorizar outros processos, como seu crescimento. Assim, a degradação dos pigmentos pode ser considerada um mecanismo de aclimação em meios com ausência de nutrientes (BARUFI *et al.*, 2012; ROLEDA *et al.*, 2004).

A microscopia de luz foi utilizada a fim de analisar e observar as estruturas presentes nas células corticais, subcorticais e medulares da macroalga. O corante PAS foi utilizado para verificar a presença de polissacarídeos neutros, que neste caso, obtiveram relação positiva com os grãos de amido e parede celular. Esta reação com a parede indica a presença de componentes celulósicos em sua composição (DE FAVERI *et al.*, 2015). Por meio das análises utilizando PAS pode-se perceber uma diminuição nos grãos de amido de florídeas, principalmente nas células corticais, dos tratados com maior disponibilidade de amônio, nitrito e fosfato (ponto 2 e 3). No tratamento do ponto 2 nota-se ainda uma diminuição dos grãos nas células subcorticais e medulares. O corante AT-O tem como foco os polissacarídeos ácidos, marcando principalmente a parede celular por ser rica em componentes como ágar. Por meio das análises utilizando AT-O pode-se perceber um aumento na espessura da parede celular dos tratamentos com maiores disponibilidades de amônio, nitrito e fosfato (ponto 2 e 3). Resultados semelhantes foram encontrados em *Gracilariopsis longissima* que demonstrou menores quantidades de grãos de amido e espessamento na parede celular no tratamento com alta disponibilidade de nutrientes (ALVARÉZ-GOMEZ *et al.*, 2017). A variação na concentração de nitrato não alterou a espessura da parede celular. Da mesma forma, Pereira *et al.* (2020) aferiu que *Pyropia acanthophora* var. *brasiliensis* não teve espessamento da parede com o aumento na concentração de nitrato. A síntese de grãos de amido ocorre por meio da UDP-Glicose. Esta mesma molécula também é responsável por produzir componentes da parede celular, como polímeros de celulose (DE FAVERI *et al.*, 2015; SEIFERT, 2004). Por estar em estresse em elevadas concentrações de nutrientes, a macroalga prioriza a síntese destes componentes da parede, afim de espessá-la, diminuindo a síntese de grãos de amido. O espessamento da parede celular é considerado um mecanismo de defesa física das algas, impedindo a entrada ou absorção dos nutrientes e outras substâncias em excesso no meio (ZEROUAL *et al.*, 2020). Assim, a macroalga evita a toxicidade celular e aumenta sua tolerância a condição de estresse.

Algumas espécies de macroalgas podem ser consideradas organismos bioindicadores de ambientes poluídos (MICHALAK, 2020). Além disso, podem ser utilizadas como agentes biorremediadores promovendo a remoção de nutrientes de corpos de água eutrofizados. Diversos estudos foram feitos utilizando macroalgas como biofiltro, principalmente no contexto da aquicultura multitrófica integrada (ADHARINI *et al.*, 2021; LARAMORE *et al.*, 2018; SARKAR *et al.*, 2021; SHIN *et al.*, 2020; TREMBLAY-GRATTON *et al.*, 2018). No presente

estudo a macroalga *Gracilaria domingensis* apresentou altas porcentagens de remoção de nitrato e nitrogênio amoniacal, principalmente na amostra controle. A amostra tratada com água do ponto 2 demonstrou maior remoção de nitrato em comparação ao nitrogênio amoniacal total. Já a amostra tratada com água do ponto 3 demonstrou maior remoção de nitrogênio amoniacal total em relação ao nitrato. A amostra do ponto 2 demonstrou porcentagem negativa de remoção de nitrito, ou seja, ocorreu um expressivo aumento na concentração deste nutriente no meio. Todas as amostras apresentaram remoção de fosfato positiva, todavia, com baixas porcentagens. Pode-se perceber maiores remoções de nitrato em meios com baixa disponibilidade de amônio, e vice-versa. Além disso, a remoção de fosfato não foi influenciada de maneira direta pela disponibilidade dos nutrientes nitrogenados. Resultados semelhantes foram encontrados utilizando macroalgas do gênero *Gracilaria*. *Gracilaria edulis* e *Gracilaria changii* demonstraram remoção de amônio de 72,5% e 71% e nitrato de 58,8% e 56%, respectivamente (MAWI *et al.*, 2019). *Gracilaria verrucosa* removeu 90% de amônio no 10º dia, 22,2% de nitrato no 20º dia e 20,1% de fosfato no 30º dia (TRIANTI & ADHARINI, 2020). Cohen *et al.* (2022) utilizou *Gracilaria caudata* e *Gracilariopsis tenuifrons* em meios com água eutrófica de um sistema de aquicultura. As macroalgas apresentaram remoção média de amônio e fosfato de 92,1% 3,4% respectivamente. A maior redução de nitrato ocorreu no período de diminuição do amônio disponível. As macroalgas podem utilizar diferentes fontes nitrogenadas, todavia, de maneira geral, as algas vermelhas possuem preferência pelo amônio (RIBEIRO *et al.*, 2017). Esta preferência está relacionada a disponibilidade e facilidade na absorção do amônio, que é incorporado por transporte passivo (GONÇALVES *et al.*, 2017; GUTTMANN *et al.*, 2018). Ainda assim, a redução significativa de nitrato demonstra o potencial da macroalga em remover este nutriente juntamente com o amônio. Quando disponíveis, as duas fontes de nitrogênio não inibem a absorção uma da outra (MAWI *et al.*, 2019). O nitrogênio retirado do meio é posteriormente utilizado para o crescimento da planta (CARNEIRO *et al.*, 2021; FOUROOGHIFARD *et al.*, 2017; MADKOUR *et al.*, 2020). As macroalgas também têm capacidade de absorver fosfato, que está relacionado principalmente aos processos de fotossíntese e respiração (LEE *et al.*, 2005; PONG-MASAK & SARIRA, 2018). O aumento expressivo de nitrito observado no tratamento com água do ponto 2 pode ser explicado pelas reações de interconversão dos compostos nitrogenados. Por meio do processo de nitrificação tem-se a oxidação do íon amônio, que em condições aeróbicas, é convertido em nitrito e nitrato, promovendo o aumento na concentração destes íons no meio (RODRIGUES, 2016).

6 CONCLUSÃO

A macroalga vermelha *Gracilaria domingensis* demonstrou ser eficiente na remoção de nitrato, amônio e fosfato. Todavia, a absorção destes nutrientes causou alterações morfofisiológicas na alga. Em meios com limitação de amônio e fosfato e disponibilidade de nitrato pode-se perceber um aumento nas taxas de crescimento, nas ramificações do talo e na concentração de pigmentos fotossintetizantes e uma grande quantidade de grãos de amido nas células da alga. Em meios com limitação de nitrato e disponibilidade de amônio e fosfato percebe-se um aumento nas taxas de crescimento. Porém, houve diminuição nas ramificações do talo e na concentração de pigmentos fotossintetizantes e redução na quantidade de grãos de amido. Também ocorreu espessamento da parede celular. A remoção de nutrientes obteve maiores porcentagens para o nitrato e o amônio. Estes são utilizados para o crescimento e desenvolvimento da alga, estimulando a produção de ficocolóides, como o ágar. Tal composto possui elevada relevância econômica, agregando valor à macroalga em questão e justificando seu uso como agente biorremediador em relação a espécies de macroalgas verdes. Assim, sugere-se que *G. domingensis* pode ser considerada biorremediadora para nitrato, amônio e fosfato, removendo os nutrientes a fim de evitar e/ou reduzir a eutrofização nos ambientes costeiros.

REFERÊNCIAS

- ADHARINI, R. I.; *et al.* The effectiveness of seaweeds as biofilter for reducing wastewater nutrient and preventing water pollution from hybrid grouper culture. **Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan**, v. 13, n. 2, p. 133-143, 2021.
- ÁLVAREZ-GÓMEZ, F.; *et al.* Combined effects of UVR and nutrients on cell ultrastructure, photosynthesis and biochemistry in *Gracilariopsis longissima* (Gracilariales, Rhodophyta). **Algal research**, v. 26, p. 190-202, 2017.
- ANDRIA, J. R.; VERGARA, J. J.; PEREZ-LLORENS, J. L. Biochemical responses and photosynthetic performance of *Gracilaria sp.* (Rhodophyta) from Cádiz, Spain, cultured under different inorganic carbon and nitrogen levels. **European Journal of Phycology**, v. 34, p. 497–504, 2009.
- ARUMUGAM, N.; *et al.* Treatment of wastewater using seaweed: a review. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 15, n. 12, p. 2851, 2018.
- BAÑÓN, R.; GONZÁLEZ, J. T. **Inventario de la biodiversidad marina de Galicia: Proyecto LEMGAL**. Xunta de Galicia, Consellería do Mar, 2018.
- BARBOSA, T. C. P. **ECOLAGOA – Um breve documento sobre a ecologia da bacia hidrográfica da Lagoa da Conceição**. Edição do Autor, Florianópolis, Brasil, 2003.
- BARSANTI, L.; GUALTIERI, P. **Algae: anatomy, biochemistry, and biotechnology**. CRC press, 2005.
- BARUFI, J. B.; *et al.* Nitrate reduces the negative effect of UV radiation on photosynthesis and pigmentation in *Gracilaria tenuistipitata* (Rhodophyta): the photoprotection role of mycosporine-like amino acids. **Phycologia**, v. 51, n. 6, p. 636-648, 2012.
- BERMEJO, R.; *et al.* Growth rates of *Gracilariopsis longissima*, *Gracilaria bursa-pastoris* and *Chondracanthus teedei* (Rhodophyta) cultured in ropes: implication for N biomitigation in Cadiz Bay (Southern Spain). **Journal of Applied Phycology**, v. 32, n. 3, p. 1879-1891, 2020.
- BOUZON, J. L.; *et al.* **Composição e estrutura espacial da comunidade macrofitobêntica de fundos consolidados das Baías da Ilha de Santa Catarina (SC): subsídios para a avaliação do impacto da urbanização**. Dissertação de mestrado da Universidade Federal de Santa Catarina, 2005.
- BRASIL. **Conselho Nacional do Meio Ambiente Resolução CONAMA nº. 357/2005**, 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. 2005.

- BRITO, L. O.; *et al.* Effects of two commercial feeds with high and low crude protein content on the performance of white shrimp *Litopenaeus vannamei* raised in an integrated biofloc system with the seaweed *Gracilaria birdiae*. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 16, n. 1, p. e0603-e0603, 2018.
- CAI, T.; PARK, S. Y.; LI, Y. Nutrient recovery from wastewater streams by microalgae: status and prospects. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 19, p. 360-369, 2013.
- CAMPANÁRIO, P. Florianópolis: dinâmica demográfica e projeção da população por sexo, grupos etários, distritos e bairros (1950-2050). **Instituto de Planejamento Urbano de Florianópolis**, Florianópolis, 2007.
- CARNEIRO, M. A. A.; *et al.* Performance of the agarophyte *Gracilariopsis tenuifrons* in a multi-trophic aquaculture system with *Litopenaeus vannamei* using water recirculation. **Journal of Applied Phycology**, v. 33, n. 1, p. 481-490, 2021.
- CASTRO, J. Z.; YOKOYA, N. S. Growth and biochemical responses of tropical and subtropical strains of *Gracilaria domingensis* (Gracilariales, Rhodophyta) to temperature and irradiance variations. **Journal of Applied Phycology**, v. 31, n. 1, p. 607-613, 2019.
- CHEN, G.; DALTON, C.; TAYLOR, D. Cladocera as indicators of trophic state in Irish lakes. **Journal of Paleolimnology**, v. 44, p. 465-481, 2010.
- COHEN, F. P. A.; *et al.* Gracilarioid algae (Rhodophyta) cultured in eutrophic synthetic seawater: potential for growth and preliminary bioremediation assessment. **Journal of Applied Phycology**, p. 1-9, 2022.
- CONLEY, D. J.; *et al.* Controlling eutrophication: nitrogen and phosphorus. **Science**, v. 323, n. 5917, p. 1014-1015, 2009.
- COSTA, E. S. **Algas Gracilarióides (Gracilariaceae, Rhodophyta) na costa brasileira: Uma abordagem morfológica e molecular**. 2013. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.
- CYRINO, J. E. P.; *et al.* A piscicultura e o ambiente: o uso de alimentos ambientalmente corretos em piscicultura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 68-87, 2010.
- DAVISON, I. R.; *et al.* Response of *Laminaria saccharina* (Phaeophyta) growth and photosynthesis to simultaneous ultravioleta radiation and nitrogen limitation. **Journal of Phycology**, v. 43, n. 4, p. 636-646, 2007.
- DE FAVERI, C.; *et al.* Effects of eutrophic seawater and temperature on the physiology and morphology of *Hypnea musciformis* JV Lamouroux (Gigartinales, Rhodophyta). **Ecotoxicology**, v. 24, n. 5, p. 1040-1052, 2015.
- DE QUEIROZ, J. F.; SILVA, M. S. G. M.; TRIVINHO-STRIXINO, S. **Organismos bentônicos: biomonitoramento de qualidade de águas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2008.

ELIZONDO-GONZÁLEZ, R.; *et al.* Use of seaweed *Ulva lactuca* for water bioremediation and as feed additive for white shrimp *Litopenaeus vannamei*. **PeerJ**, v. 6, p. e4459, 2018.

ESTEVEZ, F. A. **Fundamentos de limnologia**. Interciência, 1998.

FARIA, A. V. F.; PLASTINO, E. M. Physiological assessment of the mariculture potential of a *Gracilaria caudata* (Gracilariales, Rhodophyta) variant. **Journal of Applied Phycology**, v. 28, n. 4, p. 2445-2452, 2016.

FERREIRA, L. B. **Diversidade intraespecífica em *Gracilaria domingensis* (Gracilariales, Rhodophyta): estudos fisiológicos na interpretação do polimorfismo de cor**. 2008. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

GAHAN, P. B. **Plant Histochemistry and Cytochemistry: An Introduction**. Academic Press, London, 1984.

GAYLARDE, C. C.; BELLINASSO, M. L.; MANFIO, G. P. Biorremediação. **Biociência & Desenvolvimento**, v. 34, p. 36-43, 2005.

GE, S.; CHAMPAGNE, P. Cultivation of the marine macroalgae *Chaetomorpha linum* in municipal wastewater for nutrient recovery and biomass production. **Environmental Science & Technology**, v. 51, n. 6, p. 3558-3566, 2017.

GE, H.; *et al.* Integration of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and green seaweed (*Ulva prolifera*) in minimum-water exchange aquaculture system. **Journal of Applied Phycology**, v. 31, n. 2, p. 1425-1432, 2019.

GODOY, F. B. **Modelagem hidrológico-hidrodinâmica da Lagoa da Conceição - SC**. 2009. Tese de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

GONÇALVES, A. L.; PIRES, J. C. M.; SIMÕES, M. A review on the use of microalgal consortia for wastewater treatment. **Algal Research**, v. 24, p. 403-415, 2017.

GORDON, E. M.; MCCANDLESS, E. L. Ultrastructure and histochemistry of *Chondrus crispus* Stackhouse. In: Harvey, M.J., McLachlan, J. (Eds.), *Chondrus crispus*. **Nova Scotian Inst. Sci., Halifax**, p. 111-133, 1973.

GOUVEIA, C.; *et al.* The effects of lead and copper on the cellular architecture and metabolism of the red alga *Gracilaria domingensis*. **Microscopy and Microanalysis**, v. 19, n. 3, p. 513-524, 2013.

GRAHAM, L. E.; *et al.* **Algae**. 3. ed. LJLM Press, 2016.

GUIMARÃES, M.; PLASTINO, E. M. **Morfos pigmentares de *Gracilaria domingensis* (gracilariales, rhodophyta): frequência populacional, análise pigmentar e aspectos ultra-estruturais**. 1995. Tese de Mestrado, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 1995.

GUIMARÃES, M.; PLASTINO, E. M.; DESTOMBE, C. Green mutante frequency in natural populations of *Gracilaria domingensis* (Gracilariales, Rhodophyta) from Brazil. **European Journal of Phycology**, v. 38, n. 2, p. 165-169, 2003.

GUTTMAN, L.; *et al.* Combinations of *Ulva* and periphyton as biofilters for both ammonia and nitrate in mariculture fishpond effluents. **Algal Research**, v. 34, p. 235-243, 2018.
HENRY-SILVA, G. G.; CAMARGO, A. F. M. Impacto das atividades de aquicultura e sistemas de tratamento de efluentes com macrófitas aquáticas – relato de caso. **Boletim do Instituto da Pesca**, São Paulo, v. 34, n. 1, p. 163 - 173, 2008.

HISCOX, J. D.; ISRAELSTAM, G. F. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. **Canadian Journal of Botany**, v. 57, n. 12, p. 1332-1334, 1979.

HOWARTH, R. W.; MARINO, R. Nitrogen as the limiting nutrient for eutrophication in coastal marine ecosystems: evolving views over three decades. **Limnology and oceanography**, v. 51, n. 1, part. 2, p. 364-376, 2006.

HURD, C. L.; *et al.* **Seaweed ecology and physiology**. Cambridge University Press, 2014.

KAMBEY, C. S. B.; SONDAK, C. F. A.; CHUNG, I. Potential growth and nutrient removal of *Kappaphycus alvarezii* in a fish floating-net cage system in Sekotong Bay, Lombok, Indonésia. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 51, n. 4, p. 944-959, 2020.

KAÑA, R.; *et al.* Phycobilisome mobility and its role in the regulation of light harvesting in red algae. **Plant Physiology**, v. 165, n. 4, p. 1618-1631, 2014.

KANG, Y. H.; *et al.* A comparison of the bioremediation potential of five seaweed species in an integrated fish-seaweed aquaculture system: implication for a multi-species seaweed culture. **Reviews in Aquaculture**, v. 13, n. 1, p. 353-364, 2021.

KIM, J. K.; *et al.* Effects of temperature and ammonium on growth, pigment production and nitrogen uptake by four species of *Porphyra* (Bangiales, Rhodophyta) native to the New England coast. **Journal of Applied Phycology**, v. 19, n. 5, p. 431-440, 2007.

KNOPPERS, B. A.; *et al.* The spatial distribution of particulate organic matter and some physical and chemical water properties in Conceição Lagoon; Santa Catarina, Brazil. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, v. 27, n. 1, p. 59-77, 1984.

KRUG, L. A.; NOERNBERG, M. A. Extração de batimetria por sensoriamento remoto de áreas rasas dos sistemas estuarinos do Estado do Paraná-Brasil. **Anais do XII Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto. Goiânia, GO. CD-ROM**, 2005.

KURSAR, T. A.; VAN DER MEER, J.; ALBERTE, R. S. Light-harvesting system of the red alga *Gracilaria tikvahiae*: I. Biochemical analyses of pigment mutations. **Plant Physiology**, v. 73, n. 2, p. 353-360, 1983.

LACHMANN, S. C.; *et al.* Nitrate or ammonium: Influences of nitrogen source on the physiology of a green alga. **Ecology and evolution**, v. 9, n. 3, p. 1070-1082, 2019.

LANA, P. C.; *et al.* **Avaliação Ambiental de Estuários Brasileiros: Diretrizes Metodológicas**. Museu Nacional, Rio de Janeiro, 2006, 156 p.

LARAMORE, S.; *et al.* Utilization of IMTA-produced *Ulva lactuca* to supplement or partially replace pelleted diets in shrimp (*Litopenaeus vannamei*) reared in a clear water production system. **Journal of Applied Phycology**, v. 30, n. 6, p. 3603-3610, 2018.

LEE, T.; HUANG, Y.; CHEN, M. Copper induction of phosphorus deficiency in *Ulva fasciata* (Ulvales, Chlorophyta). **Phycologia**, v. 44, n. 6, p. 620-628, 2005.

LOBBAN, C. S.; HARRISON, P. J. **Seaweed ecology and physiology**. Cambridge University Press, 1994.

MADKOUR, A.; RASHEDY, S.; TOULIABAH, H. Bioremediation of Ammonium and Phosphates and their Effect on the Macroalgae *Dictyota dichotoma* (Hudson) Lamouroux Native to the Red Sea Coast, Egypt. **Egyptian Journal of Botany**, v. 60, n. 3, p. 671-680, 2020.

MACEDO, C. F.; SIPAÚBA-TAVARES, L. H. Eutrofização e qualidade da água na piscicultura: consequências e recomendações. **Boletim do instituto de Pesca**, v. 36, n. 2, p. 149-163, 2010.

MANDAL, S.; *et al.* Functional divergence in nitrogen uptake rates explains diversity–productivity relationship in microalgal communities. **Ecosphere**, v. 9, n. 5, p. e02228, 2018.

MARAÑÓN, E.; *et al.* Unimodal size scaling of phytoplankton growth and the size dependence of nutrient uptake and use. **Ecology letters**, v. 16, n. 3, p. 371-379, 2013.

MARINHO-SORIANO, E. Filtros vivos para limpar a água. **Ciência Hoje**, v. 37, p. 216, 2005.

MARTINS, A. P. **Efeitos da disponibilidade do nitrato no metabolismo do nitrogênio em variantes pigmentares de *Hypnea musciformis* (Wulfen in Jacqu.) JV Lamour. (Gigartinales, Rhodophyta)**. 2007. Tese de Mestrado, Instituto de Botânica, São Paulo, 2007.

MAWI, S.; *et al.* Bioremediation potential of macroalgae *Gracilaria edulis* and *Gracilaria changii* co-cultured with shrimp wastewater in an outdoor water recirculation system. **Environmental Technology & Innovation**, v. 17, p. 100571, 2020.

MCCULLY, M. E. The histologia localization of the structural polysaccharides of seaweeds. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 175, p. 702-711, 1970.

MICHALAK, I. The application of seaweeds in environmental biotechnology. In: **Advances in botanical research**. Academic Press, p. 85-111, 2020.

MOTA, F. S. B.; *et al.* Nutrientes de esgoto sanitário: utilização e remoção. **Rio de Janeiro: ABES**, v. 430, 2009.

NARDELLI, A. E. **Cultivo integrado da macroalga vermelha *Gracilariopsis tenuifrons* e do mexilhão *Perna perna* na Enseada do Mar Virado, Ubatuba-SP.** 2019. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

NAUER, F.; *et al.* Life history, growth, and pigment content of two morphological variants of *Hypnea pseudomusciformis* (Gigartinales, Rhodophyta). **Journal of Applied Phycology**, v. 31, n. 2, p. 1271-1284, 2019.

NUNES, S. O. **Efeito dos nutrientes (nitrogênio e fósforo) sobre o desenvolvimento da *Gracilaria birdiae*: crescimento e possível uso como biofiltro.** 2006. Tese de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Lagoa Nova, 2006.

ODRESKI, L. F. R. **Influência hidrológica nos processos hidrodinâmicos da Lagoa da Conceição – Florianópolis - SC.** 2012. Tese de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.

OLIVEIRA, E. C.; BIRD, C. J.; MCLACHLAN, J. The genus *Gracilaria* (Rhodophyta, Gigartinales) in the western Atlantic. *Gracilaria domingensis*, *G. cervicornis*, and *G. ferox*. **Canadian Journal of Botany**, v. 61, n. 12, p. 2999-3008, 1983.

OLIVEIRA, E. C. Macroalgas marinhas de valor comercial: técnicas de cultivo. **Panorama da AQUICULTURA**, v. 7, n. 42, p. 42-45, 1997.

OLIVEIRA, E. C.; PLASTINO, E. M. Gracilariaceae. **Biology of Economic Algae**, p. 185-226. Akatsuka, 1994.

OUYANG, Y.; *et al.* Ammonia-oxidizing bacteria are more responsive than archaea to nitrogen source in an agricultural soil. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 96, p. 4-15, 2016.

PARMAR, A.; *et al.* Influence of light on phycobiliprotein production in three marine cyanobacterial cultures. **Acta physiologiae plantarum**, v. 35, n. 6, p. 1817-1826, 2013.

PAYTAN, A.; MCLAUGHLIN, K. The oceanic phosphorus cycle. **Chemical reviews**, v. 107, n. 2, p. 563-576, 2007.

PEREIRA, D. T.; *et al.* Effects of ultraviolet radiation on the morphophysiology of the macroalga *Pyropia acanthophora* var. *brasiliensis* (Rhodophyta, Bangiales) cultivated at high concentrations of nitrate. **Acta physiologiae plantarum**, v. 42, n. 4, p. 1-14, 2020.

PEREIRA, B.; GANDRA, M.; FONSECA, A. L. D. Nutrientes e gases dissolvidos na coluna da água e teor da matéria orgânica no sedimento ao longo da Lagoa da Conceição e sua relação com o processo de eutrofização. **Rev. Discente Express. Geogr**, v. 1, p. 1-16, 2015.

PLASTINO, E. M.; *et al.* Codominant inheritance of polymorphic color variants of *Gracilaria domingensis* (Gracilariales, Rhodophyta). **Genetics and Molecular Biology**, v. 22, p. 105-108, 1999.

PONG-MASAK, P. R.; SARIRA, N. H. Penentuan jarak tanam optimal antar rumpun bibit pada metode vertikultur rumput laut (Determination of optimal planting distance between seed clump on seaweed verticulture method. **J. Perikan. Univ. Gadjah Mada**, v. 21, p. 23-30, 2018.

PORTO FILHO, É. **Laguna da Conceição: um'' sistema singular complexo'' na Ilha de Santa Catarina, SC, Brasil**. 2019. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2019.

QUINLAN, R. F.; *et al.* Synergistic interactions between carotene ring hydroxylases drive lutein formation in plant carotenoid biosynthesis. **Plant Physiology**, v. 160, p. 204–214, 2012.

RAMLOV, F.; *et al.* Effects of temperature, salinity, irradiance, and nutrients on the development of carposporelings and tetrasporophytes in *Gracilaria domingensis* (Kütz.) Sonder ex Dickie (Rhodophyta, Gracilariales). **Botanica Marina**, v. 55, n. 3, p. 253-259, 2012.

RAMLOV, F.; *et al.* Growth and accumulation of carotenoids and nitrogen compounds in *Gracilaria domingensis* (Kütz.) Sonder ex Dickie (Gracilariales, Rhodophyta) cultured under different irradiance and nutrient levels. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, p. 255-261, 2011.

RATHOD, M.; MODY, K.; BASHA, S. Efficient removal of phosphate from Aqueous solutions by red seaweed, *Kappaphycus alvarezii*. **Journal of Cleaner Production**, v. 84, p. 484 - 493, 2014.

RIBEIRO, A. L. N. L. **Respostas fisiológicas e bioquímicas de espécies de *Hypnea* JV Lamour. (Rhodophyta) frente às variações de nitrogênio e fósforo**. 2012. Tese de Doutorado, Instituto de Botânica, São Paulo, 2012.

RIBEIRO, A. L. N. L.; *et al.* Physiological responses and biofilter potential of *Hypnea aspera* (Rhodophyta, Gigartinales) cultivated in different availabilities of nitrate, ammonium, and phosphate. **Journal of applied phycology**, v. 29, n. 2, p. 683-694, 2017.

RODRIGUES, V. A. J. **Influência do sedimento no processo de remoção de nitrogênio por nitrificação/desnitrificação em lagoas de polimento**. 2016. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2016.

ROLEDA, M. Y.; *et al.* Morphology, growth, photosynthesis and pigmentes in *Laminaria ochroleuca* (Laminariales, Phaeophyta) under ultraviolet radiation. **Phycology**, v. 43, p. 603–613, 2004.

SANTOS, M. L. S.; *et al.* Avaliação das Formas de Fósforo nos Sedimentos Superficiais da Plataforma Continental do Rio Amazonas. **Journal of Integrated Coastal Zone Management**, v. 10, n. 4, p. 589-596, 2010.

SARI, D. R.; ADHARINI, R. I. The utilization of *Gracilaria verrucosa* as fish processing wastewater biofilter. In: **E3S Web of Conferences**. EDP Sciences, 2020.

- SARKAR, S.; *et al.* Integrated brackishwater farming of red seaweed *Agarophyton tenuistipitatum* and Pacific white leg shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) in biofloc system: a production and bioremediation way out. **Aquaculture International**, v. 29, n. 5, p. 2145, 2021.
- SCHMIDT, É. C.; *et al.* Effects of UVB radiation on the agarophyte *Gracilaria domingensis* (Rhodophyta, Gracilariales): changes in cell organization, growth and photosynthetic performance. **Micron**, v. 41, n. 8, p. 919-930, 2010.
- SEIFERT, G. J. Nucleotide sugar interconversions and cell wall biosynthesis: how to bring the inside to the outside. **Current opinion in plant biology**, v. 7, n. 3, p. 277-284, 2004.
- SHIN, S. K.; *et al.* Effects of stocking density on the productivity and nutrient removal of *Agarophyton vermiculophyllum* in *Paralichthys olivaceus* biofloc effluent. **Journal of Applied Phycology**, v. 32, n. 4, p. 2605-2614, 2020.
- SILVA, J. C. **Análise numérica da influência dos aportes fluviais e antrópicos sobre a hidrodinâmica residual e a qualidade da água da Lagoa da Conceição – Florianópolis - SC.** 2013. Tese de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.
- SILVA, V. E. C.; *et al.* Influência antrópica e da hidrodinâmica na qualidade da água e na distribuição de nutrientes e clorofila na Lagoa da Conceição - SC. **Simpósio Brasileiro de Recursos Hídricos (SBRH)**, v. 22, 2017.
- SILVA, V. E. C. **Análise hidrodinâmica e biogeoquímica de uma laguna costeira subtropical em bacia hidrográfica urbanizada: Lagoa Da Conceição, Florianópolis, Santa Catarina.** Tese de doutorado, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2021.
- SIMÕES, M. S.; TARENTA, M. L. Biorremediação ex situ de água proveniente da Lagoa da Ervedeira. **Revista Captar: Ciência e Ambiente para Todos**, v. 10, p. 12, 2021.
- SPANÒ, N.; *et al.* Growth performance and bioremediation potential of *Gracilaria gracilis* (Steentoft, LM Irvine & Farnham, 1995). **International Journal of Environmental Studies**, v. 79, n. 4, p. 748-760, 2022.
- TREMBLAY-GRATTON, A.; *et al.* Bioremediation efficiency of *Palmaria palmata* and *Ulva lactuca* for use in a fully recirculated cold-seawater naturalistic exhibit: effect of high NO₃ and PO₄ concentrations and temperature on growth and nutrient uptake. **Journal of Applied Phycology**, v. 30, n. 2, p. 1295-1304, 2018.
- TRIANI, C. M.; ADHARINI, R. I. The utilization of *Gracilaria verrucosa* as shrimp ponds wastewater biofilter. In: **E3S Web of Conferences**. EDP Sciences, 2020.
- VALERO-RODRIGUEZ, J. M.; *et al.* Evaluating the performance of freshwater macroalgae in the bioremediation of nutrient-enriched water in temperate environments. **Journal of Applied Phycology**, v. 32, n. 1, p. 641-652, 2020.

WEI, Z.; *et al.* Bioremediation using *Gracilaria lemaneiformis* to manage the nitrogen and phosphorous balance in an integrated multi-trophic aquaculture system in Yantian Bay, China. **Marine Pollution Bulletin**, v. 121, n. 1-2, p. 313-319, 2017.

WELLBURN, A. R. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **Journal of plant physiology**, v. 144, n. 3, p. 307-313, 1994.

XU, N.; *et al.* Nutrient enrichment improves growth and food quality of two strains of the economic seaweed *Pyropia haitanensis*. **Frontiers in Marine Science**, v. 7, p. 544582, 2020.

YAN, P.; *et al.* The role of morphological changes in algae adaptation to nutrient stress at the single-cell level. **Science of The Total Environment**, v. 754, p. 142076, 2021.

YONG, Y. S.; YONG, W. T. L.; ANTON, A. Analysis of formulae for determination of seaweed growth rate. **Journal of Applied Phycology**, v. 25, n. 6, p.1831-1834, 2013.

ZEROUAL, S.; *et al.* Cell wall thickening in two *Ulva* species in response to heavy metal marine pollution. **Regional Studies in Marine Science**, v. 35, p. 101125, 2020.