



**MANEJO DE MACRÓFITAS PROVENIENTE DE INFESTAÇÃO EM AMBIENTES NATURAIS  
COMO SUPLEMENTO PARA PRODUÇÃO DA MICROALGA DE INTERESSE ECONÔMICO  
*Scenedesmus acuminatus***

**MACROPHYTE MANAGEMENT FROM INFESTATION IN NATURAL ENVIRONMENTS AS A  
SUPPLEMENT FOR THE PRODUCTION OF ECONOMIC INTEREST MICROALGAE  
*Scenedesmus acuminatus***

Frederico Pacheco Militão<sup>1</sup>; Raissa Hirle Krettle<sup>1</sup>; Fernanda Brêda-Alves<sup>1</sup>; Camilo Dias Júnior<sup>1</sup>; Erico Tadao Teramoto<sup>2</sup>; Levi Pompermayer Machado<sup>2</sup>; Valéria De Oliveira Fernandes<sup>1</sup>

Artigo recebido em: 28/02/2020 e aceito para publicação em: 08/03/2020.

DOI: <http://dx.doi.org/10.14295/holos.v20i2.12379>

**Resumo:** Este estudo avaliou a influência de seis meios de cultura alternativos (um a base de NPK, dois contendo extrato de *Pistia stratiotes* e *Eichhornia crassipes* enriquecido de NPK, e outros três com diferentes diluições de extrato puro de *E. crassipes*, (Eic 40, Eic 85, Eic 130) em comparação ao meio de cultura comercial ASM-1, no desenvolvimento da microalga *Scenedesmus acuminatus*. Foram avaliados taxa de crescimento (K), densidade, volume celular, biovolume e qualidade nutricional dos meios de cultura. Os meios de culturas testados apresentaram concentração de nutrientes suficiente para o crescimento da microalga. As taxas de crescimento de ASM-1 (0,439) foram similares ( $p > 0,05$ ) a NPK, Pis + NPK e Eic + NPK. Eic 85 e Eic 130 apresentaram os valores mais baixos (0,201; 0,150, respectivamente) e similares entre si. Os volumes dos tratamentos não diferiram de ASM-1 (135,427  $\mu\text{m}^3$ ), somente o Eic NPK e Eic 130 apresentaram valores menores (86,780 e 100,401  $\mu\text{m}^3$ , respectivamente). O maior biovolume e densidade celular foram encontrados em Eic NPK (1,273  $\text{mm}^3 \cdot \text{L}^{-1}$  e 1047 x 104  $\text{cél} \cdot \text{mL}^{-1}$ ). Os tratamentos apresentaram capacidade de nutrição muito similar ao ASM-1, podendo substituí-lo no cultivo de *S. acuminatus*, em especial Eic + NPK que apresentou maior densidade e biovolume. Os tratamentos com extrato puro, apesar de apresentarem resultados mais baixos, ainda assim possibilitaram o desenvolvimento da alga.

**Palavras-chave:** Cultivo. Microalga. Macrófitas. NPK. Meio de cultura.

**Abstract:** This study evaluated the influence of six alternative culture media (one of NPK, two containing *Pistia stratiotes* and *Eichhornia crassipes* extracts enriched with NPK, and three with different dilutions of pure extract of *E. crassipes* (Eic 40, Eic 85, Eic 130) compared to the commercial culture medium ASM-1 in the development of the microalga *Scenedesmus acuminatus*. Growth rate (K), density, cell volume, biovolume and nutritional quality of culture media were evaluated. The tested media had enough concentration of nutrients for the growth of microalgae. The growth rate of ASM-1 (0.439) were similar ( $p > 0.05$ ) to NPK, NPK + Pis and Eic + NPK. Eic 85 and Eic 130 had the lowest values (0.201; 0.150, respectively) and similar to each other. The volumes of the treatments did not differ to ASM-1 (135.427  $\mu\text{m}^3$ ), only Eic + NPK and Eic 130 had lower values (86.780 and 100.401  $\mu\text{m}^3$ , respectively). The highest biovolume and cell density were found in Eic + NPK (1.273  $\text{mm}^3 \cdot \text{L}^{-1}$  and 1047 x 104  $\text{cél} \cdot \text{mL}^{-1}$ ). It was concluded that the treatments had very similar nutritional ability to ASM-1 and may replace it in the cultivation of *S. acuminatus*. In particular Eic + NPK with the highest density and biovolume. The treatments with pure extract, despite having lower results, still allowed the development of algae.

**Keywords:** Culturing. Microalgae. Macrophytes. NPK. Culture medium.

<sup>1</sup> Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Vitória, ES. E-mail: ([fredericomilitao@gmail.com](mailto:fredericomilitao@gmail.com), [raissahk@hotmail.com](mailto:raissahk@hotmail.com), [f.bredaalves@hotmail.com](mailto:f.bredaalves@hotmail.com), [camilo.junior@terra.com.br](mailto:camilo.junior@terra.com.br), [valeriaufes@yahoo.com.br](mailto:valeriaufes@yahoo.com.br))

<sup>2</sup> Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho" (UNESP), Registro - SP. E-mail: ([erico.teramoto@unesp.br](mailto:erico.teramoto@unesp.br), [levi.p.machado@unesp.br](mailto:levi.p.machado@unesp.br))

# 1 INTRODUÇÃO

As microalgas vêm sendo isoladas do ambiente e cultivadas para diferentes finalidades, que vão desde estudos ecológicos ou ambientais e mais recentemente para aplicações biotecnológicas e comerciais (LOURENÇO, 2006). Essa ferramenta possibilita compreender o comportamento ecofisiológico das espécies em resposta a condições ambientais. Por meio do cultivo é possível avaliar plasticidade e a resposta das algas a diferentes variáveis ambientais, o ciclo de vida e auxiliar na sistemática biológica dos grupos. Além disso, a biomassa das algas pode ter aplicações de interesse econômico, como a obtenção de biomoléculas, uso como suplemento alimentar humano e animal, ou fonte de biocombustíveis (LOURENÇO, 2006).

O gênero *Scenedesmus* é atualmente muito visado para o cultivo devido ao seu crescimento rápido, fácil adaptação às variações ambientais (TRAINOR, 1998) e grande valor nutritivo com alta produção de proteína e ácidos graxos (MILITÃO *et al.*, 2019). O seu cultivo é voltado principalmente para a aquicultura (DERNER *et al.*, 2006), para a alimentação humana como suplemento alimentar e como potencial matéria prima para produção de biodiesel (PRABAKARAN; RAVINDRAN, 2012).

Apesar do grande potencial, o cultivo de microalgas ainda apresenta custo elevado, sendo um dos principais, o custo dos reagentes químicos utilizados na preparação dos meios de cultura comerciais (SIPAÚBA-TAVARES e PEREIRA, 2008; FERRELL e SARISKY-REED, 2010; KRUSE e HANKAMER, 2010).

Vários estudos vêm sendo realizados no intuito de avaliar o crescimento dessas microalgas cultivadas em meios de cultura alternativos, que mesmo sendo baratos e facilmente obtidos, são ricos em nutrientes necessários para o crescimento e desenvolvimento desses organismos. Os meios alternativos são produzidos através de diferentes fontes orgânicas e inorgânicas, como efluentes municipais, industriais, de agricultura, biodigestores, extrato de solo, dentre outras (DALRYMPLE *et al.*, 2013; ALMEIDA, 2007; PIÑA *et al.*, 2007; FIORESI e SIPAÚBA-TAVARES, 2008). A biomassa de macrófitas aquáticas, por sua riqueza de micro e macronutrientes, também foram sugeridas como fertilizantes orgânicos de solo, de piscicultura e como meio de cultura para microalgas (SAMPAIO e OLIVEIRA, 2005; SIPAÚBA-TAVARES e BRAGA, 2007).

As macrófitas aquáticas flutuantes *Eichhornia crassipes* e *Pistia stratiotes* são amplamente distribuídas nos ambientes aquáticos dulcícolas, principalmente em ambientes tropicais, e são consideradas pragas devido ao seu crescimento acelerado e fácil adaptação

(CAMARGO *et al.*, 2003; MARTINS *et al.*, 2003). A proliferação excessiva dessas macrófitas em ambientes aquáticos naturais desencadeiam uma série de problemas ambientais e econômicos como a redução da biodiversidade local, proliferação de insetos transmissores de doenças, obstáculo para o transporte aquático, prejudicando a pesca e o abastecimento de água (NDIMELE *et al.*, 2011; LIMA *et al.*, 2018).

Em contrapartida, a alta taxa de crescimento, ampla distribuição e facilidade de colonizar novos ambientes, associados à grande capacidade de estocarem nutrientes, tornam as macrófitas atrativas do ponto de vista econômico (HENRY-SILVA e CAMARGO, 2006). Neste contexto, estudos vêm sendo realizados afim de avaliar a aplicação de macrófitas na absorção de metais pesados (BARTMEYER *et al.*, 2019) e no tratamento de águas residuárias (LEMES *et al.*, 2008), no entanto, não existe ainda tecnologia para descarte adequado ou utilização da biomassa final gerada (SILVA *et al.*, 2019).

A utilização de meio de cultivo contendo extrato de macrófitas aquáticas, como *Pistia stratiotes* e *Eichhornia crassipes*, que infestam ambientes aquáticos eutrofizados, complementados ou não com a utilização de fertilizante NPK (SIPAÚBA-TAVARES e ROCHA, 1993), pode servir de importante fonte alternativa em virtude de suas concentrações elevadas de nitrogênio, fósforo e potássio (SIPAÚBA-TAVARES e BRAGA, 2007) além de outros nutrientes como magnésio, enxofre, manganês, cobre, zinco, ferro e cálcio (HENRY-SILVA e CAMARGO, 2006), essenciais ao desenvolvimento das microalgas, além de contribuir para a reutilização de resíduos naturais, dando uma destinação sustentável a biomassa dessas plantas aquáticas.

Porém, assim como outros extratos orgânicos como efluentes e biodigestores, o extrato de macrófita bruto apresenta alta turbidez, devido à presença de pigmentos e substâncias orgânicas dissolvidas. Essa coloração pode trazer prejuízo ao crescimento das microalgas pela atenuação da passagem de luz, diminuindo assim a fotossíntese (TAHER, 2013).

Devido à importância econômica do cultivo de microalgas é necessário estudar maneiras ambientalmente viáveis e que proporcionem a redução do custo de cultivo. Tendo em vista que os meios de cultura representam um dos itens de maior gasto para o cultivo em larga escala, o uso de meios alternativos e de fácil aquisição, como extrato de macrófitas e NPK, pode auxiliar a viabilizar o processo produtivo dos cultivos. Desta forma no presente trabalho avaliamos a utilização de macrófitas coletadas em ambientes naturais, que apresentavam problemas de infestação, como fonte de nutrientes para o cultivo da microalga *Scenedesmus acuminatus*. Para tanto foram realizados 5 tratamentos com diferentes fontes

de nutrientes adicionados em água destilada utilizando tanto extratos de macrófitas somados aos macronutrientes NPK, diluições dos extratos de macrófitas puro e os contendo apenas os macronutrientes NPK puro e a solução de nutrientes ASM 1, utilizado comercialmente para cultivos de microalgas.

## **2 METODOLOGIA**

### **2.1 Cepa usada**

A cepa de *Scenedesmus acuminatus* (L027A) foi obtida no Laboratório de Taxonomia e Ecologia de Algas Continentais (LATEAC) pertencente ao Departamento de Ciências Biológicas da UFES.

### **2.2 Preparação dos extratos das macrófitas aquáticas**

As macrófitas aquáticas selecionadas foram *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms (aguapé) e *Pistia stratiotes* L. (alface d'água). Os exemplares foram coletados na lagoa Juara (Serra -ES), o ambiente é usado para múltiplas atividades e apresenta problemas ecológicos devido ao elevado crescimento de macrófitas. As biomassas foram lavadas e secas ao sol por 24h e após colocadas em estufas à 60°C por mais 24h. Para a preparação do extrato 82g de *E. crassipes* e 164g de *P. stratiotes* secas foram moídas e posteriormente fervidas em 1,8L e 2,2L de água destilada, respectivamente. Cada extrato ainda quente foi filtrado e autoclavado a 120°C, durante 20 minutos.

### **2.3 Delineamento experimental**

Foram testados seis tratamentos, além do controle, todos realizados em triplicata. Os experimentos foram feitos em erlenmeyers de 500 mL, com volume final de 316 mL. Como controle usou-se o meio comercial ASM-1, turbidez 0 NTU; tratamento NPK (20:05:20), com 316 mL de água destilada e 0,11g de NPK, turbidez 0 NTU; Pis+NPK, com 16 mL de extrato de *P. stratiotes* adicionados a 300 mL de água destilada e 0,11g de NPK, turbidez 5,78 NTU; Eic+NPK, com 16 mL de extrato de *E. crassipes* adicionados a 300 mL de água destilada e 0,11g de NPK, turbidez 18,3 NTU; Eic40, com 40 mL de extrato de *E. crassipes*

adicionados a 276 mL de água destilada, turbidez 50,33; Eic85, com 85 mL de extrato de *E. crassipes* adicionados a 231 mL de água destilada, turbidez 126,9 NTU e o tratamento Eic130, com 130 mL de extrato de *E. crassipes* adicionados a 186 mL de água destilada com turbidez de 209,98 NTU. A turbidez de cada tratamento foi determinada no início do experimento.

O pH das unidades experimentais foi 7,0. O experimento foi realizado na sala de cultivo do LATEAC, com iluminação fornecida por duas lâmpadas do tipo *daylight* de 40 W, por bancada, temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de 24h. Inóculo inicial (dia 0) de  $30,7 \times 10^4$  células.mL<sup>-1</sup>.

## 2.4 Análise dos nutrientes

Amostras dos extratos de *P. stratiotes* e *E. crassipes*, e de meio com NPK puro foram enviados ao laboratório CQA (Centro de Qualidade Analítica LTDA) para a determinação, nas três amostras, da concentração ortofosfato, pelo método EPA 3050B / 1996, nitrogênio amoniacal pelo método SM4500, nitrito, nitrato pelo FQ-0279-02, e nos extratos de macrófitas foram quantificados nas três amostras e ferro, manganês, cobre, zinco, boro pelo método EPA 6010B/1996 e enxofre pelo EPA SW 846/1994.

## 2.5 Avaliação do crescimento de *Scenedesmus acuminatus*

Para a composição da curva de crescimento, foram retiradas alíquotas de 1mL a cada dois dias, durante vinte e quatro dias. A quantificação dos indivíduos (ind./mL) foi feita por meio de câmara de Neubauer. A taxa de crescimento (K) foi calculada utilizando a fase exponencial da curva de crescimento, representada pelo número de divisões celulares da população por dia, de acordo com Stein (1973).

## 2.6 Biovolume

Para análise do volume celular foram realizadas medições da altura e do diâmetro ( $\mu\text{m}$ ) de 20 células de *S. acuminatus*. A figura geométrica que melhor representou a forma da alga usada foi a de dois cones acoplados. O volume celular médio ( $\mu\text{m}^3$ ) foi calculado utilizando a fórmula 1.

$$V = \pi/12 * d^2 * h \quad (1)$$

Sendo, d = diâmetro, h = altura. O biovolume ( $\text{mm}^3 \cdot \text{L}^{-1}$ ) foi calculado multiplicando o volume celular médio ( $\mu\text{m}^3$ ) pelo nº de células contadas ( $\text{cél} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) no 20º dia, no qual os experimentos já haviam atingido a fase estacionária (fórmula 2).

$$\text{Biovolume} (\text{mm}^3 \cdot \text{L}^{-1}) = \text{n}^\circ \text{ de células} \cdot \text{mL}^{-1} * \text{volume celular} (\mu\text{m}^3) * 10^{-9} \quad (2)$$

## 2.7 Tratamento estatístico

Os dados foram submetidos a teste de normalidade (Kolmogorov-Smirnov), sendo os dados normais comparados por ANOVA seguido de teste de Tukey e os não normais pelo teste Kruskal-Wallis seguido de teste de student-Newman-Keuls, utilizando o programa BIOESTAT 5.0. Foram considerados dados com variação significativa para o nível de confiança de 95% ( $p < 0,05$ ). As análises descritivas também foram feitas utilizando o mesmo programa.

## 3 RESULTADOS

A composição química do meio ASM1, utilizado como controle, está descrita na tabela 1. Os nutrientes disponíveis no volume final dos tratamentos estão descritos na tabela 2, a seguir.

**Tabela 1** – Composição química do meio ASM-1.

Componente	mg/316mL
NaNO <sub>3</sub>	53,72
MgSO <sub>4</sub> • 7H <sub>2</sub> O	15,484
MgCl <sub>2</sub> • 6H <sub>2</sub> O	12,956
CaCl <sub>2</sub> • 2H <sub>2</sub> O	9,164
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	5,4984
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	4,46192
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0,78368
MnCl <sub>2</sub> • 4H <sub>2</sub> O	0,43924
FeCl <sub>3</sub> • 6H <sub>2</sub> O	0,34128
ZnCl <sub>2</sub>	0,10586
CoCl <sub>2</sub> • 6H <sub>2</sub> O	0,006
CuCl <sub>2</sub> • 2H <sub>2</sub> O	0,0004424
EDTA • Na <sub>2</sub>	2,35104

Fonte: Gorham *et al.* (1964)

**Tabela 2** - Composição nutricional dos tratamentos

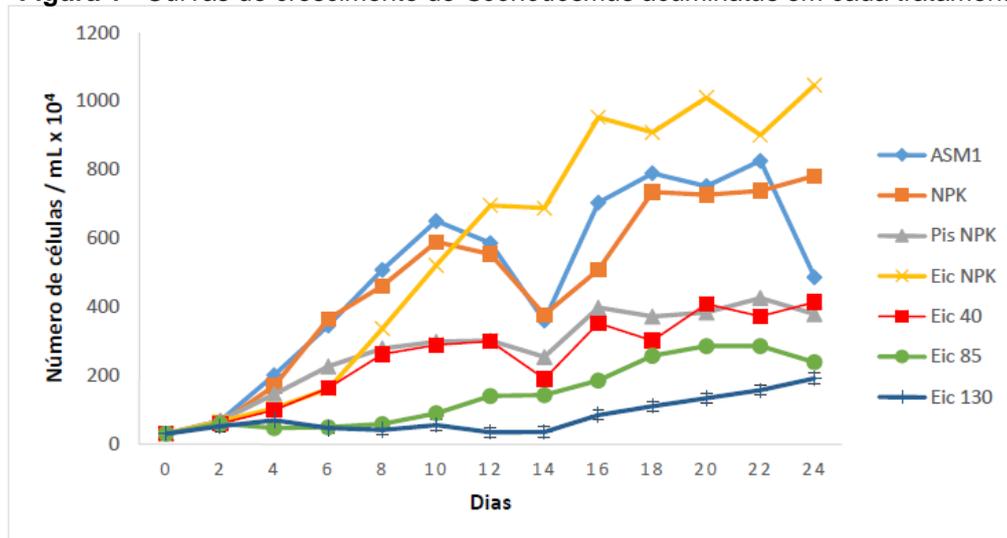
Componente	Pis+NPK (mg/316mL)	Eic+NPK (mg/316mL)	NPK (mg/316mL)	Eic 40 (mg/316mL)	Eic 85 (mg/316mL)	Eic130 (mg/316mL)
Ortofosfato	12,15	12,01	8,52	8,728	18,547	28,37
N-amoniacoal	109,18	108,88	96,38	31,24	66,38	101,53
N-nitrito	2,55	2,53	2,41	0,3	0,64	0,98
N-nitrato	0,315	0,315	0,30	0,04	0,08	0,12
Ferro	0,059	0,063	-	0,158	0,336	0,51
Manganês	0,234	0,39	-	0,98	2,08	3,19
Cobre	**<LQ	**<LQ	-	**<LQ	**<LQ	**<LQ
Zinco	**<LQ	**<LQ	-	**<LQ	**<LQ	**<LQ
Boro	**<LQ	**<LQ	-	**<LQ	**<LQ	**<LQ
Enxofre	8,2	1,92	-	4,8	10,2	15,6

\*\*<LQ: Menor que o limite de quantificação

As curvas de crescimento dos seis tratamentos e do controle estão demonstradas na figura 1. Somente Eic 85 e Eic 130 apresentaram fase de adaptação, no primeiro essa fase durou até o 4º dia e no segundo até o dia 16, iniciando sua fase log a partir daí até o fim do experimento. Todos os outros tratamentos e o controle apresentaram fase exponencial a partir do primeiro dia indo até o 8º dia no controle (ASM1) e NPK, até o dia 12 em Eic NPK, até o dia 8 para Pis NPK e Eic 40, e o Eic 85 teve a fase exponencial identificada do dia 4 ao 18.

O tratamento Eic NPK foi o que atingiu maiores densidades celulares,  $1047 \times 10^4$  cél.mL<sup>-1</sup> no 24º dia, seguido do ASM1 com  $826 \times 10^4$  cél.mL<sup>-1</sup> no 22º dia, NPK com  $782 \times 10^4$  cél.mL<sup>-1</sup> no 24º dia, Pis NPK,  $426 \times 10^4$  cél.mL<sup>-1</sup>, no 22º dia e Eic 40,  $414 \times 10^4$  cél.mL<sup>-1</sup>, no 24º dia, Eic 85,  $286 \times 10^4$  cél.mL<sup>-1</sup>, no 20º dia e Eic 130,  $192 \times 10^4$  cél.mL<sup>-1</sup> no 24º dia. A queda dos crescimentos apresentada no dia 14 foi caracterizada por uma variação metodológica comum aos tratamentos, portanto não deve ser considerada na avaliação. As médias das taxas de crescimento, biovolume e volume das células estão expostas na tabela 3.

**Figura 1**– Curvas de crescimento de *Scenedesmus acuminatus* em cada tratamento



**Tabela 3** – Valores médios de K (taxa de crescimento), biovolume e volume celular de *Scenedesmus acuminatus* nos tratamentos e controle

Tratamentos	K (dia)	Biovolume (mm <sup>3</sup> .L <sup>-1</sup> )	Volume (µm <sup>3</sup> )
ASM1	0,439± 0,023 a	1,052 ± 0,063 a	135,427 ± 13,8 ab
NPK	0,425± 0,026 a	0,964 ± 0,045 ab	152,257 ± 14,2 ab
Pis NPK	0,395± 0,036 ab	1,092 ± 0,413 a	336,996 ± 146,6 a
Eic NPK	0,408± 0,019 a	1,273 ± 0,665 a	86,780 ± 11,1 b
Eic 40	0,323± 0,004 b	0,928 ± 0,178 ab	220,586 ± 61,1 a
Eic 85	0,201± 0,040 c	0,515 ± 0,264 b	155,871 ± 74,8 ab
Eic 130	0,150 ± 0,042 c	0,268 ± 0,193 c	100,401 ± 25,3 b

\* Média ± DV (n=3). Letras diferentes representam variação significativa p < 0,05.

Os valores de K para ASM1, NPK, Eic NPK e Pis NPK não apresentaram diferença significativa entre si, sendo este último semelhante estatisticamente também ao Eic 40. Os menores valores de K obtidos foram observados em Eic 85 e Eic 130, não apresentando diferença significativa entre si. O volume de *S. acuminatus* em ASM 1, NPK, Eic 40, Eic 85 e Eic 130 não apresentaram diferença significativa entre si. Os maiores valores foram encontrados nos tratamentos Pis NPK, Eic 40 e Eic 85, sem diferença significativa entre eles. O biovolume de ASM1, NPK, Pis NPK, Eic NPK e Eic 40 apresentaram valores estatisticamente semelhantes, sendo Pis NPK, Eic NPK e Eic 40 semelhantes também ao Eic 85. Eic 130 apresentou o valor mais baixo e estatisticamente semelhante somente ao Eic 85.

#### 4 DISCUSSÃO

Os seis tratamentos apresentaram valores de nitrato menores do que o controle ASM1, porém, compensaram esse valor com nitrogênio amoniacal, não presente no meio comercial. O nitrogênio amoniacal tem vantagens em relação ao nitrato pelo fato de ser mais facilmente absorvido pelas algas uma vez que não precisa ser reduzido a nitrito e a amônio antes de ser incorporado (YIN *et al.*, 1998), gerando economia energética.

O fósforo por sua vez, foi encontrado em quantidades aproximadamente iguais em quase todos os tratamentos em relação ao ASM1, exceto Eic 85 que apresentou quase o dobro e Eic 130, quase o triplo. Esse nutriente é requerido em pequenas quantidades pelas algas. Quando em grandes quantidades, podem causar inibição como documentado em Baumgartner *et al.* (2013). Essa inibição pode ter contribuído para menor densidade apresentada em Eic 85 e Eic 130.

Os micronutrientes detectados nos extratos foram manganês, ferro e enxofre. Os demais micronutrientes estavam abaixo da capacidade de quantificação dos testes químicos usados, porém não significa que eles não estavam presentes.

Lima *et al.* (2003) comparando massa seca de *Eichhornia* e *Pistia* não encontraram diferenças significativas entre os macro e micro nutrientes das duas espécies, assim como a quantificação nutricional dos extratos das duas macrófitas do presente trabalho não diferiu grandemente entre si.

A quantificação dos nutrientes do extrato de *Eichhornia* + NPK em Sipaúba-Tavares *et al.* (2009) apresentaram valores muito menores dos encontrados no presente trabalho (Tabela 4). Além disso, o valor de fosfato encontrado por aqueles autores foi superior aos valores de nitrogênio, o que é atípico, visto que compostos nitrogenados, normalmente, são mais abundantes do que fósforo em NPK 20:05:20 e em macrófitas (HENRY-SILVA e CAMARGO, 2006; HENRY-SILVA e CAMARGO, 2002; SIPAÚBA-TAVARES e BRAGA, 2007).

**Tabela 4** – Comparação dos nutrientes presentes nos extratos *Eichhornia* + NPK dos dois trabalhos

	Sipaúba-Tavares <i>et al.</i> (2009)	Presente estudo
Amônia (mg/316 mL)	0,028	108,88
Nitrito (mg/316 mL)	0,00021	2,53
Nitrato (mg/316 mL)	0,045	0,315
Ortofosfato (mg/316 mL)	0,098	12,01

**Fonte:** Sipaúba-Tavares *et al.* (2009) e dados do próprio autor

Essas variações podem ter ocorrido por alguma diferença metodológica na confecção do extrato, ou pelo fato do NPK ser de marca diferente e as *Eichhornias* terem sido coletadas de lugares distintos, tendo, portanto, variações nutricionais.

Assim como o presente trabalho, Henry-Silva e Camargo (2006) também registraram valores maiores de manganês e ferro na massa seca de *Pistia* e *Eichhornia*, em relação aos outros micronutrientes. Igualmente Sipaúba-Tavares e Braga (2007) também encontraram essa proporção em extrato de *Eichhornia*.

Como estas macrófitas aquáticas são filtradoras do meio em que vivem, absorvendo os nutrientes do meio e incorporando em sua biomassa, esses valores nutricionais provavelmente são passíveis de mudanças. Dessa forma, os nutrientes encontrados nos extratos, possivelmente, refletem os ambientes em que vivem. Em estudo realizado na lagoa Juara, Almeida e Fernandes (2013) registraram altas concentrações de ortofosfato, fósforo total, nitrogênio total e nitrogênio amoniacal, classificando esse ambiente como eutrófico. Duarte (2014) registrou concentração de Fe de 1,237 a 2,614 mg/L, superior ao valor máximo

estabelecido pelo CONAMA (0,3 mg/L) para lagoas e concentrações de manganês de 0,04 a 0,056 mg/L. Isso pode ter influenciado nas concentrações registradas no extrato das duas macrófitas.

O alto índice de enxofre encontrado nos extratos pode ser compreendido pela abundância desse elemento em matéria orgânica principalmente na composição de aminoácidos (LOURENÇO, 2006).

De modo geral, os compostos encontrados nos extratos de *Pistia* e *Eichhornia* apresentaram variedade e concentrações suficientes para o crescimento de *Scenedesmus acuminatus*.

Porém, o tratamento *Pistia* + NPK apresentou valores de crescimento menores do que NPK puro, sugerindo que a adição do extrato prejudicou um pouco o crescimento da alga. Esse fato pode ser explicado por algum possível composto alelopático produzido pela macrófita, o qual acabou sendo transferido para o extrato. Já foi documentado ação inibitória de metabólitos secundários produzidos por *Pistia stratiotes* sobre algas (GRECA *et al.*, 1999).

Os valores de K obtidos no presente trabalho para Eic + NPK e controle foram parecidos aos registrados por Sipaúba-Tavares *et al.* (2009), cultivando *Ankistrodesmus gracilis*, (0,36 e 0,4, respectivamente), entretanto o meio comercial usado por eles foi o CHU 12.

Assim como no presente estudo, onde a densidade de Eic + NPK alcançou densidade de  $1047 \times 10^4$  cél.mL<sup>-1</sup>, superior ao controle com  $826 \times 10^4$  cél.mL<sup>-1</sup>, a densidade máxima alcançada pelo extrato enriquecido de Sipaúba-Tavares *et al.* (2009) ( $525,02 \times 10^5$  células.mL<sup>-1</sup>) também foi maior do que o meio convencional ( $447,93 \times 10^5$  células.mL<sup>-1</sup>), demonstrando o potencial do extrato dessa macrófita acrescido de NPK em substituir os meios de cultura comerciais.

Sipaúba-Tavares *et al.* (2011) também usaram NPK e EIC + NPK, porém em três diferentes recipientes (recipiente de fibra de vidro, garrafão e sacola plástica) para cultivar *A. gracilis* e as taxas de crescimento foram menores em todos os tratamentos, em relação ao presente estudo. Os valores de k obtidos para Eic + NPK, na ordem recipiente de fibra de vidro, garrafão e sacola plástica, foram: 0,30; 0,14; 0,16. Os resultados foram justificados devido à coloração escura do extrato. Apesar da diluição ter sido a mesma usada no presente trabalho, o volume dos recipientes foi de 13L, e isso pode ter intensificado a coloração final trazendo mais prejuízo em comparação ao volume usado nesta pesquisa (316 mL).

Os resultados de K para NPK, desse trabalho, na mesma ordem acima (SIPAÚBA-TAVARES *et al.*, 2011) foram: 0,38; 0,24; 0,46. Somente o cultivo em sacola plástica

apresentou valor de K próximo ao encontrado no tratamento com NPK no presente estudo, os outros recipientes apresentaram taxas de crescimento menores. Somente o meio controle usado (CHU) apresentou resultados de K e densidade celular próximos ao controle (ASM1): 0.40; 0.42; 0.44 e  $70.85 \times 10^5$ ;  $62.92 \times 10^5$ ;  $73.06 \times 10^5$  (recipiente de fibra de vidro, garrafão e sacola plástica, respectivamente).

Baumgartner *et al.* (2013), cultivando *S. acuminatus* em meio com NPK (20:05:20) e dois meios de cultura comerciais MC e DM, apresentou resultados inferiores para K no meio com NPK em relação aos meios comerciais, justificando esse resultado pelo alto valor de fósforo presente nesse meio. De fato, a concentração desse componente no meio foi de 515 mg / 316 mL (ou  $1,63 \text{ g.L}^{-1}$ ), muito maior se comparado aos 8,52 mg / 316 mL encontrados no presente estudo, que obteve resultados satisfatórios do NPK em relação meio de cultura comercial. Com isso, pode-se inferir que altas doses de nutrientes, principalmente fósforo, podem ser prejudiciais ao desenvolvimento dessa espécie.

Em vários estudos as macrófitas aquáticas já demonstraram possuir nutrientes suficiente em sua composição para serem usadas na fertilização de culturas. Tepe *et al.* (2006) usaram massa seca de três espécies de macrofitas e lodo como única fonte de nitrogênio para cultivo de *Scenedesmus acuminatus*. A macrófita *Nymphaea*, por possuir maior porcentagem de nitrogênio em sua composição (1,96%) em relação a *Typha* e *Myriophyllum* (1,21% e 1,53%), apresentou cultivo com maior densidade dessa alga ( $158 \times 10^4$  indivíduos.mL<sup>-1</sup>), seguido de *Myriophyllum* ( $129,3 \times 10^4$  indivíduos.mL<sup>-1</sup>) e *Typha* ( $112 \times 10^4$  indivíduos.mL<sup>-1</sup>). Essas três densidades encontradas por Tepe *et al.* (2006) foram superiores às encontradas no presente trabalho para os tratamentos e o controle, porém juntamente com as macrófitas estes autores acrescentaram outros nutrientes que não foram acrescentados aqui. Variações na densidade celular de microalgas entre os trabalhos podem ocorrer devido a diferenças de metodologias e cepas utilizadas.

Ao analisar o resultado obtido nos três tratamentos com diferentes diluições do extrato puro de *Eichhornia* (Eic 40, 85 e 130), foi possível confirmar sua capacidade de nutrição para a alga, possibilitando seu crescimento; entretanto, a turbidez do extrato pareceu influenciar o cultivo de *S. acuminatus*. Apesar dos três tratamentos terem apresentado concentração crescente de nutrientes pela presença de maior volume de extrato (40, 85 e 130 mL), os valores de K e densidade celular máxima foram inversamente proporcionais à turbidez do meio.

Isso ocorre porque à medida que a turbidez aumenta ocorre maior dispersão e absorção da luz pelas partículas dissolvidas ou não no meio, o que impede que a penetração

de luz ocorra favoravelmente em linha reta (SILVA e OLIVEIRA, 2006), diminuindo a disponibilidade desse recurso para as algas e prejudicando a fotossíntese. Taher (2013) também verificou tal problema na coloração do biodigestor suíno usado em seu trabalho, a turbidez do seu extrato concentrado prejudicou o crescimento de *Scenedesmus sp.*

No entanto, o extrato de *Eichhornia* puro apresentou crescimento satisfatório (principalmente Eic 40 e Eic 85). Sendo, portanto, uma opção econômica para a produção em larga escala, desde que seja ajustada sua diluição para proporcionar turbidez adequada.

Com relação aos volumes das células encontrados nos tratamentos, apesar de não apresentarem diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) que possam ser atribuídas a algum aspecto ambiental, é possível perceber uma tendência, entre as três diluições, de redução do volume celular. Isso pode ser explicado pelo fato de a turbidez crescente diminuir a penetração de luz na cultura, diminuindo a fotossíntese e a produção de compostos estruturais e fisiológicos responsáveis pelo crescimento celular. Claustre e Gostan (1987) documentaram em *Hymenomonas elongata* a relação entre os menores tamanho de células com a menor intensidade luminosa. O baixo volume de Eich + NPK registrado, pode ser explicado pela turbidez de 18,3 NTU desse tratamento em conjunto ao auto-sombreamento provocado pela elevada densidade encontrada.

Variações de tamanho e peso em algas como *Scenedesmus* são normais e demonstram uma plasticidade comum a algumas espécies (ROCHA *et al.*, 2003; SIPAÚBA-TAVARES *et al.*, 2011).

O valor do biovolume traduz a densidade do dia 20 e o volume das células. Dessa forma, quase todos os tratamentos apresentaram valores próximos, somente o Eic 130 apresentou valor muito menor e diferente dos demais, sendo semelhante ao Eic 85. Esses dois tratamentos apresentaram menor biovolume principalmente por apresentarem densidade celular muito pequena no dia 20 em comparação aos outros tratamentos. Eic NPK mesmo apresentando menor volume, obteve maior biovolume pelo fato da densidade algal no 20º dia ter sido superior aos demais tratamentos, incluindo o controle.

## 5 CONCLUSÕES

Os dados obtidos permitem concluir que os tratamentos NPK, Pis + NPK e Eic + NPK apresentaram taxas de crescimento, densidade celular e biovolume compatíveis ao meio de cultura comercial (ASM1), em especial Eic + NPK que apresentou maior densidade celular e biovolume, representando assim alternativas aos meios de cultura convencionais e para

utilização da biomassa dessa macrófita, proporcionando mais uma solução para os problemas ambientais associados a proliferação excessiva.

Dos tratamentos com extrato puro, Eic 40 apresentou resultados satisfatórios, podendo ser usado para o cultivo de *S. acuminatus*, desde que, observada a diluição ideal para evitar elevada turbidez do meio e consequente inibição do crescimento da alga.

Mais estudos devem ser realizados a fim de verificar a potencialidade do extrato puro de *Pistia* e investigar com mais detalhamento sua possível produção de compostos alelopáticos e as possíveis implicações ambientais dessa relação.

## 6 AGRADECIMENTOS

À CAPES pelo auxílio financeiro através da concessão da bolsa de mestrado.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, C.C.S. **Avaliação do crescimento, padrões metabólicos e capacidade fotossintética de *Microcystis panniformis* Komárek et al. (Cyanobacteria) e *Ankistrodesmus gracilis* (Reich) Korsikov (Chlorophyta) em fontes de nitrogênio inorgânicas e orgânicas.** Ouro Preto, Brasil, p. 62, 2007. Dissertação - Programa de Pós-Graduação em Recursos Hídricos. UFOP.

ALMEIDA, S.Z.; FERNANDES, V.O. Effects of intensive fish-farming and domestic wastewater on the periphytic algal community in a tropical coastal lagoon (Juara, Brazil). **Acta Scientiarum. Biological Sciences.** v. 35, p. 335-342, 2013. <https://doi.org/10.4025/actasciobiolsci.v35i3.17094>

BARTMEYER, B.C.; OLIVEIRA, L.H.S.; COELHO, L.H.G. Comparação da retenção de cádmio e chumbo nos tecidos vegetais das macrófitas aquáticas Aquapé (*Eichhornia* sp) e Taboa (*Typha* sp) por bioabsorção e fitorremediação. **HOLOS environment.** v. 19, p. 145-159, 2019. <http://dx.doi.org/10.14295/holos.v19i1.12295>

BAUMGARTNER, T.R.S.; BURAK, J.A.M.; KOGIKOSKI, M.E. SEBASTIEN, N.Y.; ARROYO, P.A. Avaliação da produtividade da microalga *Scenedesmus acuminatus* (Lagerheim) Chodat em diferentes meios de cultivo. **Revista Brasileira de Biociência,** v. 11, p. 250-255, 2013.

CAMARGO, A.F.M.; PEZZATO, M.M.; HENRY-SILVA, G.G. Fatores limitantes à produção primária. In THOMAZ SM, BINI LM. ed. **Ecologia e manejo de macrófitas aquáticas.** Maringá: Eduem, p. 59-83, 2003.

CLAUSTRE, H.E.; GOSTAN, J. Adaptation of biochemical composition and cell size to irradiance in two microalgae: possible ecological implications. **Marine Ecology Progress Series,** v.40, p. 167-174, 1987. <https://doi.org/10.3354/meps040167>

DALRYMPLE, O.K.; HALFHIDE, T.; UDOM, I.; GILLES, B.; WOLAN, J.; ZHANG, Q.; ERGAS, S. Wastewater use in algae production for generation of renewable resources: a review and preliminar results. **Aquatic Biosystems,** v. 9, p. 2, 2013. <https://doi.org/10.1186/2046-9063-9-2>

DERNER, R.B.; OHSE, S.; VILLELA, M.; CARVALHO, S.M.; FETT, R. Microalgas, produtos e aplicações. **Ciência Rural**, v. 36, n. 6, p. 1959-1967, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782006000600050>

DUARTE, I.D. **Qualidade da água da lagoa Juara (Serra/ES): Avaliações físicas, químicas e respostas fisiológicas e citogenéticas em plantas**. Vitória, Brasil. 102p., 2014. (Dissertação - Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal. UFES).

FERRELL, J.; SARISKY-REED, V. **National algal biofuels technology roadmap**. A technology roadmap resulting from the national algal biofuels workshop Washington U.S. Department of Energy, Office of Energy Efficiency and Renewable Energy, Biomass Program. 140p., 2010. Disponível: [http://www1.eere.energy.gov/biomass/pdfs/algal\\_biofuels\\_roadmap.pdf](http://www1.eere.energy.gov/biomass/pdfs/algal_biofuels_roadmap.pdf). Acesso em: 18 fev. 2020.

FIORESI, T.B.; SIPAÚBA-TAVARES, L.H. Cultivo de *Ankistrodesmus gracilis* (Chlorophyta) em laboratório à base de esterco suíno. **Revista Biotemas**, v. 21, n. 1, p. 7-16, 2008. <https://doi.org/10.5007/2175-7925.2008v21n1p7>

GORHAM, P.R.; MCLACHLAN, J.; HAMMER, U.T.; KIM, W.K. Isolation and culture of toxic strains of *Anabaena flos-aquae* (Lyngb.). Bréb. **Verh. Internat. Verein. Limnol.**, v. 15, p. 796-804, 1964. <https://doi.org/10.1080/03680770.1962.11895606>

GRECA, M.D.; FIORENTINO, A.; MONACO, P.; PREVITERA, L.; PINTO, G.; POLLIO, A. Release of potential allelochemical from aquatic plants. In MACIAS, F.A.; GALINDO, J.C.G.; MOLINILLO, J.M.G.; CUTLER, H.G. (Eds.) **Recent advances in allelopathy**. Cadiz, Serv. Pub. Univ. Cadiz, p. 255-262, 1999.

HENRY-SILVA, C.G.; CAMARGO, A.F.M. Valor nutritivo de macrófitas aquáticas flutuantes (*Eichhornia crassipes*, *Pistia stratiotes* e *Salvinia molesta*) utilizadas no tratamento de efluentes de aquicultura. **Acta Scientiarum**, v. 24, n. 2, p. 519-526, 2002.

HENRY-SILVA, C.G.; CAMARGO, A.F.M. Composição química de macrófitas aquáticas flutuantes utilizadas no tratamento de efluentes de aquicultura. **Planta Daninha**, v. 24, n. 1, p. 21-28, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582006000100003>

KRUSE, O.; HANKAMER, B. Microalgal hydrogen production. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 21, n. 3, p. 238-243, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2010.03.012>

LEMES, J.L.V.B.; SCHIRMER, W.N.; CALDEIRA, M.V.W.; KAICK, T.V.; BÁRBARA, R.R. Tratamento de esgoto por meio de zona de raízes em comunidade rural. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 6, n. 2, p. 169-179, 2008.

LIMA, B.A.A.; LIBORIO, M.P.; HADAD, R.M. Análise espaço-temporal do crescimento de macrófitas e sua aplicação no monitoramento da qualidade da água. **Ra'ega o espaço geográfico em análise**, v. 45, n. 01, p. 45-57, 2018. <http://dx.doi.org/10.5380/raega.v45i1.50300>

LIMA, M.R.; TAFFAREL, A.D.; REISSMANN, C.B.; CRUZ, A.C.L.; DEPINÉ, H. Avaliação do crescimento e retenção de nutrientes provenientes da eutrofização, em três macrófitas aquáticas. In: **Congresso brasileiro de ciência do solo**, Ribeirão Preto, 2003. Anais. Ribeirão Preto: UNESP, SBCS, 2003a. CD-Rom.

LOURENÇO, S.O. Cultivo de microalgas marinhas – Princípios e aplicações. **Rima**, São Carlos, São Paulo, 588p., 2006.

- MARTINS, D.; COSTA, N.V.; TERRA, M.A.; MARCHI, S.R.; VELINI, E.D. Caracterização química das plantas aquáticas coletadas no reservatório de Salto Grande (Americana – SP). **Planta Daninha**, v. 21, p. 21-25, 2003. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582003000400004>
- MILITÃO, F.P.; FERNANDES, V.O.; BASTOS, K.V.; COLEPICOLO, P.; MARTINS, A.P.; MACHADO, L.P. Nutritional value changes in response to temperature, microalgae mono and mixed cultures. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 31, p.1-12, 2019. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s2179-975x7118>
- NDIMELE, P.E.; KUMOLU-JOHNSON, C.A.; ANETAKHAI, M.A. The invasive aquatic macrophyte, Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solm-Laubach: Pontedericeae: Problems and prospects. **Research Journal of Environmental Sciences**, v. 5, n. 6, p. 509-520, 2011. <https://doi.org/10.3923/rjes.2011.509.520>
- PIÑA, P.; MEDINA, M.A.; NIEVES, M.; LEAL, S.; LÓPEZ-ELIAS, J.A.; GUERRERO, M.A. Cultivo de quatro espécies de microalgas com diferentes fertilizantes utilizados em aquicultura. **Ver. Invest. Mar.**, v. 28, n. 3, p. 225-236, 2007.
- PRABAKARAN, P.; RAVINDRAN, D. *Scenedesmus* as a potential source of biodiesel among selected microalgae. **Current Science**, v. 102, n. 4, p. 606-620, 2012.
- ROCHA, M.S.J.; GARCIA, J.E.C.; HENRIQUES, M.H.F. Growth aspects of the marine microalga *Nannochloropsis gaditana*. **Biomolecular Engineering**, v. 20, n. 4-6, p. 237-242, 2003. [https://doi.org/10.1016/S1389-0344\(03\)00061-3](https://doi.org/10.1016/S1389-0344(03)00061-3)
- SAMPAIO, E.V.S.B.; OLIVEIRA, N.M.B. Aproveitamento da macrófita aquática *Egeria densa* como adubo orgânico. **Planta Daninha**, v. 23, n. 2, p. 169-174, 2005. <https://doi.org/10.1590/S0100-83582005000200001>
- SILVA, S.A.; OLIVEIRA, R.O. Manual de análises físico-químicas de águas de abastecimento e residuárias. **ABES**, Campina Grande: Paraíba. 266p., 2006.
- SILVA, A.L.M.; SILVA, T.T.S.; GONÇALVES, E.A.P.; SANTOS, S.M. Uso sustentável de macrófitas no tratamento de efluentes: uma revisão sistemática. **Journal of Environmental Analysis and Progress**, v. 04, n. 04, p. 228-238, 2019. <https://doi.org/10.24221/jeap.4.4.2019.2590.228-238>
- SIPAÚBA-TAVARES, L.H.; ROCHA, O. Cultivo em larga escala de organismos planctônicos para alimentação de larvas e alevinos de peixes: I – Algas Clorofíceas. **Biotemas**, v. 6, n.1, 93-106, 1993.
- SIPAÚBA-TAVARES, L.H.; BRAGA, F.M.S. The feeding activity of *Colossoma macropomum* larvae (tambaqui) in fishponds with water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) fertilizer. **Brazilian Journal of Biology**, v. 67, n. 3, p. 459-466, 2007. <https://doi.org/10.1590/S1519-69842007000300010>
- SIPAÚBA-TAVARES, L.H.; IBARRA, L.C.C.; FIORESI, T.B. Cultivo de *Ankistrodesmus gracilis* (Reisch) Korsikov (Chlorophyta) em laboratório utilizando meio CHU<sub>12</sub> e de macrófita com NPK. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 35, n. 1, p. 111–118, 2009.
- SIPAÚBA-TAVARES, L.H.; MILLAN, R.N.; BERCHIELLI, F.A.; BRAGA, F.M.S. Use of alternative media and different types of recipients in a laboratory culture of *Ankistrodesmus gracilis* (Reinsch) Korshikov (Chlorophyceae). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 33, n. 3, p. 247-253, 2011. <https://doi.org/10.4025/actascibiolsci.v33i3.8046>
- SIPAÚBA-TAVARES, L.H.; PEREIRA, A.M.L. Large scale laboratory cultures of *Ankistrodesmus gracilis* (Reisch) Korsikov (Chlorophyta) and *Diaphanosoma biergei* Korinek, 1981 (Cladocera).

**Brazilian Journal of Biology**, v. 68, n. 4, p. 875-883, 2008. <https://doi.org/10.1590/S1519-69842008000400025>

STEIN, J.R. Handbook of Phycological Methods: Culture Methods and Growth measurements. **Cambridge University Press**, Cambridge, 472p., 1973.

TAHER, D.M. **Biodiesel de microalgas cultivadas em dejetos suíno biodigerido**. Curitiba, PR. 102p., 2013 (Dissertação - Engenharia e Ciência dos Materiais, Setor de Tecnologia, da UFPR).

TEPE, Y.; NAZ, M.; TÜRKMEN, M. Utilization of different nitrogen sources by cultures of *Scenedesmus acuminatus*. **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 6, p. 123-127, 2006.

TRAINOR, F.R. Biological aspects of *Scenedesmus* (Chlorophyceae)-phenotypic plasticity. **Nova Hedwigia**, Beiheft. 117p., 1998.

YIN, K.; HARRISON, P.J.; DORTCH, Q. Lack of ammonium inhibition of nitrate uptake for a diatom grown under low light conditions. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 228, p. 151–165, 1998. [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(98\)00025-2](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(98)00025-2)