

NATHÁLIA BANDEIRA CARVALHO DOS SANTOS

**O EFEITO DA QUALIDADE DA ÁGUA DO RIO CAPIBARIBE
NA ESTRUTURA ANATÔMICA, TEOR DE PIGMENTOS
FOTOSSINTÉTICOS E PERFIL DE *n*-ALCANOS CUTICULARES
DE *Salvinia auriculata* AUBL. (SALVINIACEAE)**

**Recife
2018**

NATHÁLIA BANDEIRA CARVALHO DOS SANTOS

**O EFEITO DA QUALIDADE DA ÁGUA DO RIO CAPIBARIBE
NA ESTRUTURA ANATÔMICA, TEOR DE PIGMENTOS
FOTOSSINTÉTICOS E PERFIL DE *n*-ALCANOS CUTICULARES
DE *Salvinia auriculata* AUBL. (SALVINIACEAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de mestre em Biologia Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Fernando Morais de Oliveira

**Recife
2018**

Catálogo na fonte

Elaine Barroso

CRB 1728

Santos, Nathália Bandeira Carvalho dos

O efeito da qualidade da água do Rio Capibaribe na estrutura anatômica, teor de pigmentos fotossintéticos e perfil de *n*-alcanos cuticulares de *Salvinia auriculata* Aubl. (Salviniaceae)/ Nathália Bandeira Carvalho dos Santos- 2018.

80 folhas: il., fig., tab.

Orientador: Antonio Fernando Moraes de Oliveira

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal. Recife, 2018.

Inclui referências e anexos

1. Água- poluição 2. Indicadores biológicos 3. Samambaia I. Oliveira, Antonio Fernando Moraes de (orient.) II. Título

363.7394

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2018-160

NATHÁLIA BANDEIRA CARVALHO DOS SANTOS

**O EFEITO DA QUALIDADE DA ÁGUA DO RIO CAPIBARIBE NA
ESTRUTURA ANATÔMICA, TEOR DE PIGMENTOS
FOTOSSINTÉTICOS E PERFIL DE *n*-ALCANOS CUTICULARES
DE *Salvinia auriculata* AUBL. (SALVINIACEAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de mestre em Biologia Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Fernando
Morais de Oliveira

Aprovada em 08/02/2018

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Antônio Fernando Morais de Oliveira

(Departamento de Botânica/UFPE)

Profª. Dra. Emília Cristina Pereira de Arruda

(Departamento de Botânica/UFPE)

Prof. Dr. Ronaldo Faustino da Silva – IFPE

(Departamento de Infraestrutura e Construção Civil/IFPE)

A todos que estiveram ao meu lado durante a caminhada do mestrado e aos que contribuem para termos um mundo melhor.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me fornecer saúde, determinação e por me ajudar em todos os momentos da minha vida! Gratidão, divino Mestre!

Ao meu Orientador, Dr. Antônio Fernando Morais de Oliveira, pelo acolhimento, incentivo, paciência, conselhos e amizade.

A todos que compõem o Laboratório de Ecologia Aplicada e Fitoquímica do Departamento de Botânica da UFPE: Rafael, Maíra, Raquel, Carol, João, Ricardo e, principalmente, aos PIBIC's Rayza (atual mestrand), Vanessa e Maestra pelo apoio e por não medirem esforços para me ajudar nas análises laboratoriais.

À Profa. Dra. Emília Arruda, do Departamento de Botânica da UFPE, pelo apoio nas análises anatômicas e por ser sempre tão solícita. Ao Dr. Aduino Barbosa Neto pelo apoio nas análises laboratoriais, pela amizade e pelos conselhos. À Prof. Dra. Gladys Pinna, do Departamento de Botânica da USP, pela atenção, análises laboratoriais realizadas e apoio. Ao Prof. Dr. Ronaldo Silva do Departamento de Infraestrutura e Construção Civil do IFPE, pelas orientações, conselhos e apoio.

Aos secretários do Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, em especial à secretária Soraya Liberalquino Melo por sempre ser tão solícita e pelo amparo durante o mestrado.

À Agência Estadual em Meio Ambiente (CPRH), pela assistência para as coletas das amostras de água do rio Capibaribe e pelas análises físico-químicas e biológicas, em especial: José Lucena, Sonale Campos, Newton Dantas e ao Roberto Tavares.

À empresa Lógica Ambiental Ltda. pela parceria, apoio e pelas análises de água, em especial as Sras. Andréa Caribé, Luciana Caribé, Lígia Martinelli e Rosicleide.

Aos funcionários que compõem o Anexo do Centro de Biociências, em especial Sr. Marcos (in memoriam) pela ajuda para a realização no bioensaio, pelas conversas e pelo incentivo.

Aos meus amigos da Companhia Pernambucana de Saneamento (COMPESA), a todos que compõem a Coordenação Técnica de Engenharia Sul, em especial a Eng. Cláudia Ribeiro, por sempre ser tão solícita, amiga, incentivadora dos meus estudos e,

juntamente com Eng. Alex Ramos, terem me ajudado na liberação da minha licença para a realização do mestrado. Não posso me esquecer dos meus colegas de trabalho que “seguraram a barra” por mim durante o período da licença. Em especial, Renata Vanderlei, Edjane Bezerra e Iranildo Cruz por ficarem com as minhas atribuições no período em que estive ausente e por terem executado da melhor forma possível.

Agradeço as minhas amigas de infância, colégio, faculdade e da pós-graduação por terem me ajudado, mas, em especial, citarei três: Priscilla Arouxa, por ter ido ao campo para coletar água, mesmo estando com medo de encontrar com o jacaré. À Laís Luana, pela ajuda (principalmente nas sextas-feiras) nas realizações das análises laboratoriais e pela amizade. À Osicleide Cavalcanti pelo incentivo, apoio e pela amizade! Gratidão!

À minha querida família, a minha querida e amada mãe, Carmen Bandeira, por sempre me incentivar aos estudos, por desde criança ter me ensinado a respeitar o mundo e a todos os seres que habitam neste ecossistema. Gratidão, minha mãe! A minha linda irmã, Rosali Bandeira Machado, pelos conselhos, pelo amor e por sempre estar perto de mim, mesmo estando longe fisicamente. Ao meu cunhado, Martinho Machado Júnior, pelas opiniões, incentivo e apoio na elaboração da minha dissertação. Ao meu noivo, Breno Gomes, pela paciência, conselhos, amor, carinho e todo apoio. Gratidão!

Agradeço à Luciana Carvalho, Wanessa Vieira e Milena Nunes pela amizade e por terem contribuído para a minha formação acadêmica durante o período de realização do mestrado.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal e à CAPES pela bolsa de estudos, principalmente no momento atual de crise econômica em que o Brasil está vivenciando.

“Você nunca sabe que resultados virão da sua ação. Mas se você não fizer nada, não existirão resultados”.

(Mahatma Gandhi)

RESUMO

Os ecossistemas aquáticos em centros urbanos ou áreas superpovoadas geralmente possuem elevadas concentrações de elementos químicos como nitrogênio, fósforo e metais pesados. Para avaliar a qualidade da água nestes ambientes, a utilização de plantas bioindicadoras tem sido aplicada com sucesso. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito das variáveis físico-químicas e biológicas da água do rio Capibaribe (estado de Pernambuco, Brasil) na estrutura morfo-anatômica, teor de pigmentos fotossintetizantes e no perfil de *n*-alcanos de *Salvinia auriculata* e investigar seu potencial como bioindicadora da qualidade de água. Indivíduos de *S. auriculata*, coletadas no rio Gurjaú, foram aclimatizadas em solução de Hoagland e posteriormente submetidas a três amostras de água do rio Capibaribe, com diferentes níveis de poluição. De acordo com o *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* e a legislação CONAMA 357/2005, das 21 variáveis físico-químicas e biológicas analisadas, as amostras do rio Capibaribe apresentaram um total de 9 não conformidades com a legislação brasileira em vigor para água destinada ao abastecimento humano após tratamento convencional. Após 15 dias de bioensaio, foi verificado que *S. auriculata* apresentou variações nas espessuras do mesófilo e da cutícula, redução da abundância relativa no perfil de *n*-alcanos, danos morfológicos nos tricomas tectores pluricelulares e acúmulo de compostos fenólicos no interior de suas células. Não foram verificadas diferenças significativas nos teores de pigmentos fotossintéticos e no comprimento foliar de *S. auriculata*. Análises multivariadas mostraram que o trecho de rio Capibaribe com maior grau de poluição foi o responsável pela maior alteração nas estruturas de *S. auriculata*.

Palavras-chave: Bioindicadores. Samambaia aquática. Poluição aquática.

ABSTRACT

Aquatic ecosystems in urban centers or overpopulated places often show high concentrations of chemical elements such as nitrogen, phosphorus and heavy metals. In order to evaluate water quality in those environments, the use of plants as bioindicators has been successfully applied. The purpose of this study was to evaluate the effect of physical-chemical and biological variables of the water of the Capibaribe river (Pernambuco state, Brazil) on the morphological and anatomical structure, photosynthesizers pigment content and the *n*-alkane profile of *Salvinia auriculata* as well as evaluate its potential as bioindicator for water quality. Samples of *Salvinia auriculata* were collected from Gurjaú river, acclimatized in Hoagland solution and exposed to samples of the Capibaribe river water, with three different levels of pollution. For that water, according to *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* and Brazilian legislation (CONAMA 357/2005), of the 21 physical-chemical and biological variables analyzed, the samples of the Capibaribe river presented a total of 9 non-conformities with the Brazilian legislation in force for water destined to the human supply after conventional treatment. After 15 days of bioassay, it was verified that *S. auriculata* presented variations in the thickness of the mesophyll and cuticle, reduction of the relative abundance of *n*-alkanes, morphological damage in multicellular tector trichomes and accumulation of phenolic compounds in cells. Multivariate analyzes showed that the studied areas of Capibaribe river which had the highest degree of pollution caused the greatest structural alterations observed in *S. auriculata*.

Key-words: Bioindicators. Aquatic fern. Aquatic pollution.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1- Localização aeroespacial dos pontos de amostragem nos rios Gurjaú e Capibaribe (RC-1, RC-2 e RC-3), no estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil 56
- Figura 2- Análise dos componentes principais utilizando 21 parâmetros físico-químicos e biológicos da água dos rios Gurjaú e Capibaribe (RC-1, RC-2 e RC-3).57
- Figura 3- Dendrograma de similaridade com base em 21 parâmetros físico-químicos e biológicas da água dos rios Gurjaú e Capibaribe (RC-1, RC-2 e RC-3), determinado pelo coeficiente de distâncias Euclidianas e método UPGMA de Agrupamento..... 58
- Figura 4- Cortes transversais realizados cortes transversais realizados em folhas com colorações de azul de Astra em folhas completamente expandidas flutuantes de *Salvinia auriculata* com quinze dias de bioensaio, submetidas às amostras de água do grupo controle (solução de Hoagland) e às amostras de águas do rio Capibaribe respectivamente ao grupo controle (a), RC-1 (b), RC-2 (c) e RC-3 (d) 59
- Figura 5- Corte transversal da folha completamente expandida flutuante de *Salvinia auriculata* da amostra de água RC-3. (a): observa-se presença de pigmentos escuros no parênquima; (b): análise histoquímica com cloreto férrico para confirmar à presença de compostos fenólicos no interior das células (seta) de *S. auriculata*..... 60
- Figura 6- Eletromicrografia de varredura da superfície foliar de *Salvinia auriculata*, em solução de Hoagland evidenciando os tricomas tectores pluricelulares. As setas indicam os tricomas tectores pluricelulares: face adaxial (a) e face abaxial (b).....61
- Figura 7- Microscopia eletrônica de varredura da face adaxial de folhas flutuantes de *Salvinia auriculata*. As setas indicam as estruturas dos tricomas tectores pluricelulares submetidos: controle (Hoagland) (a), RC-1 (b), RC-2 (c) e RC-3 (d)62

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1- Resultados das variáveis físico-químicas e biológicas analisadas nas amostras de águas coletadas nos rios Gurjaú e Capibaribe (RC-1, RC-2e RC-3)63
- Tabela 2- Espessura média da cutícula, mesofilo e da nervura central de *Salvinia auriculata* submetidas às amostras de águas do grupo controle e do rio Capibaribe (RC-1, RC-2 e RC-3) após 15 dias de bioensaio.....64
- Tabela 3- Morfometria foliar de *Salvinia auriculata* submetidas às amostras de águas do grupo controle e do rio Capibaribe (RC-1, RC-2 e RC-3) com 15 dias de bioensaio65
- Tabela 4- Teor de clorofila *a* e *b*, clorofila total e carotenoides de *Salvinia auriculata* submetidas às amostras de águas do grupo controle e do rio Capibaribe (RC-1, RC-2 e RC-3) após 15 dias de bioensaio66
- Tabela 5- Abundância relativa dos homólogos de *n*-alcanos de *Salvinia auriculata* submetidos às amostras de águas do grupo controle e do rio Capibaribe (RC-1, RC-2, RC-3) após 15 dias de bioensaio67

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Carot.	Carotenoides
Chl	Clorofila
Cl ⁻	Ânion Cloreto
COMPESA	Companhia Pernambucana de Saneamento
CONAMA	Conselho Nacional de Meio Ambiente
CPRH	Agência Pernambucana de Meio Ambiente
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DQO	Demanda Química de Oxigênio
Fe ⁺²	Ferro
GC	Cromatografia gasosa
IET	Índice do Estado Trófico
km ²	Quilômetro quadrado
L	Litro
M	Massa fresca
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
NMP	Número mais provável
NTU	Unidade Nefelométrica de Turbidez
O ₂	Oxigênio
OD	Oxigênio Dissolvido
PCA	Análise de Componente Principal
pH	Potencial Hidrogeniônico
RC	Rio Capibaribe
RMR	Região Metropolitana do Recife
RVS	Refúgio de Vida Silvestre
SES	Sistema de Esgotamento Sanitário
V	Volume

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
1.1 ÁGUA.....	15
1.2 RIOS DE PERNAMBUCO	15
1.3 POLUIÇÃO DA ÁGUA.....	16
1.4 ESPÉCIE ESTUDADA.....	17
1.5 PARÂMETROS DA QUALIDADE DA ÁGUA.....	17
1.5.1 Parâmetros físico-químicos	17
1.5.1.1 Cloreto	17
1.5.1.2 Turbidez.....	17
1.5.1.3 pH	18
1.5.1.4 Cor	18
1.5.1.5 Condutividade.....	18
1.5.1.6 Demanda Química de Oxigênio (DQO).....	18
1.5.1.7 Nitrogênio (nitrogênio amoniacal, nitrito e nitrato)	19
1.5.1.8 Fósforo total.....	19
1.5.1.9 Manganês e Ferro total	19
1.5.1.10 Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO)	20
1.5.1.11 Oxigênio Dissolvido (OD)	20
1.5.1.12 Chumbo (Pb)	20
1.5.1.13 Óleos e graxas totais	20
1.5.1.14 Sólidos totais.....	21
1.5.1.15 Temperatura.....	21
1.5.1.16 Índice de Estado Trófico (IET).....	21
1.6 PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS	21
1.6.1 Coliformes termotolerantes	21
1.7 MACRÓFITAS AQUÁTICAS	22

1.8 PLANTAS COMO BIOINDICADORAS DE POLUENTES.....	23
1.9 MACRÓFITA AQUÁTICA <i>Salvinia auriculata</i> Aubl. (SALVINIACEAE).....	26
2 OBJETIVOS	28
2.1 OBJETIVO GERAL.....	28
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS... ..	28
3 SALVINIA AURICULATA AUBL. (SALVINIACEAE) COMO BIOINDICADORA DE ECOSSISTEMA AQUÁTICO POLUÍDO: EFEITO SOBRE MORFO-ANATOMIA E ULTRAESTRUTURA DAS FOLHAS, TEOR DE PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS E PERFIL DE N-ALCANOS CUTICULARES	29
4 CONCLUSÕES.....	44
REFERÊNCIAS	45
ANEXO A- NORMAS DA REVISTA AQUATIC BOTANY	68

1 INTRODUÇÃO

1.1 ÁGUA

A água é um dos recursos naturais de maior importância para o planeta, sendo o principal constituinte dos organismos vivos. Tal elemento é imprescindível para a qualidade de vida e o desenvolvimento econômico de uma população, além de ser componente da paisagem e do meio ambiente. A água doce, em especial, é um recurso natural finito, cuja qualidade vem sendo perdida devido ao mau uso, caracterizado pela contaminação e desperdício pela população (FERREIRA; FERREIRA, 2006).

Os rios do estado de Pernambuco são classificados de acordo com os seus usos múltiplos e com a concentração de sais na amostra de água, conforme o Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA) 357/2005. As águas superficiais, subterrâneas e potáveis no Brasil são estudadas a partir de legislações. O CONAMA 357/2005 dispõe de resoluções que estabelecem o enquadramento das águas brutas, tanto para as águas superficiais, quanto para as águas subterrâneas (LORDELO et al., 2016).

1.2 RIOS DE PERNAMBUCO

Em 13 de janeiro de 1987, foram definidas as Reservas Ecológicas da Região Metropolitana do Recife (FIDEM, 1987). Nesse contexto, está inserido o Refúgio de Vida Silvestre (RVS) Matas do Sistema Gurjaú, que apresenta 1.170 ha de áreas em bom estado de conservação sendo um importante remanescente de Floresta Atlântica Nordestina e faz parte do Centro de Endemismo Pernambuco. Esta área possui grande diversidade biológica constituída por diferentes grupos de plantas e animais, com a presença de espécies endêmicas e ameaçadas (TABARELLI; SANTOS, 2006). Na RVS, existe aproximadamente 17 fragmentos florestais com tamanhos variados e com diferentes condições de preservação (BORGES, 2002). Análises dos parâmetros físico-químicos, cor, nitrato, nitrogênio amoniacal e fosfato total da água do rio Gurjaú, localizado na RVS Matas do Sistema Gurjaú, apresentam conformidades com o CONAMA 357/2005.

Estudos comprovam que o rio Capibaribe está impactado principalmente por atividades antrópicas, ou seja, lançamento de efluentes industriais, resíduos domésticos e químicos, entre outros (BIONE, 2009; NORIEGA, 2010). A situação se agrava na porção do baixo Capibaribe, área estuarina que é constituída de manguezais e que compreende boa parte da Região Metropolitana de Recife (RMR) (CPRH, 2014; NÓBREGA, 2011).

O rio Capibaribe está inserido nas mesorregiões Metropolitana do Recife, na Mata Pernambucana e no agreste pernambucano a bacia hidrográfica do rio Capibaribe apresenta uma área de 7.454,88 km² (7,58% da área do estado). A mesorregião Metropolitana do Recife (RMR) possui uma área de 2.785,4 km², o equivalente a 2,8% do território pernambucano. Nesta mesma mesorregião, o Capibaribe contempla quatro microrregiões e quatorze municípios (ANDRADE, 2009). O rio Capibaribe é considerado um dos principais recursos fluviais do estado de Pernambuco, percorrendo da nascente até a sua foz um total de 280 km, sendo considerada uma das principais bacias hidrográficas de Pernambuco. Estudos comprovam que o excesso de nutrientes no rio Capibaribe, atribuídos principalmente aos esgotos domésticos, escoamento urbano e de regiões de cultivo de cana-de-açúcar, tem contribuído para esta eutrofização com posterior redução no teor de oxigênio dissolvido na água (NORIEGA, 2010).

1.3 POLUIÇÃO DA ÁGUA

O comprometimento da qualidade da água ocorre, principalmente, pelas atividades desenvolvidas pela sociedade, tanto na área rural como na área urbana, a qual gera resíduos que podem provocar mudanças no ambiente, como a poluição do solo e da água. De acordo com Santos et al. (2006), poluente é uma substância ou elemento químico, fora do seu local de origem, em concentrações capazes de promover efeitos adversos aos seres vivos, diferentemente de contaminação que ocasiona alterações nos parâmetros físico-químicos e biológicos que podem acarretar doenças ou infecções para o uso humano. Entre essas atividades, podemos citar o uso em larga escala de fertilizantes e o aumento das atividades industriais e de mineração que promovem a contaminação de solo, cursos d'água e lençol freático por metais (MALAVOLTA et., 1997).

A propagação por efluentes industriais é decorrente das matérias-primas e dos processos industriais utilizados, podendo ser complexa, devido à natureza, concentração e volume dos resíduos produzidos. Os poluentes resultantes do deflúvio superficial agrícola são constituídos de sedimentos, nutrientes, agroquímicos e dejetos animais (MERTEN; MINELLA, 2002). A eutrofização, enriquecimento do curso hídrico pelos macronutrientes nitrogênio e fósforo, é uma condição para o processamento de energia de alto metabolismo de corpos aquáticos (ODUM, 1988) e está ligada à variedade de atividades humanas que podem interferir na qualidade da água por meio de manejo inadequado de solo, descarga de resíduos líquidos e urbanização (BIGGS, 2000).

Os poluentes e contaminantes que são despejados nos rios sem o tratamento necessário podem ocasionar prejuízos ao ecossistema aquático, tais como a redução da diversidade da fauna e flora dos rios.

1.4 ESPÉCIE ESTUDADA

Salvinia auriculata é uma samambaia aquática (PRADO, 2006) que em condições favoráveis, reproduz-se rapidamente, colonizando grandes áreas em um período curto de tempo (HENRY-SILVA; CAMARGO, 2006). *S. auriculata* pode ser utilizada para diversos fins: abrigo para animais aquáticos, para tratamento de efluentes e como bioindicadores de poluição em ecossistemas aquáticos entre outros (SUÑE et al., 2007; LACERDA et al., 2010; SOARES et al., 2008).

1.5 PARÂMETROS DA QUALIDADE DA ÁGUA

1.5.1 Parâmetros físico-químicos

1.5.1.1 Cloreto

O cloro na água, expresso em mg/L Cl^- /L, apresenta-se forma de íon cloreto (Cl^-) um dos principais ânions inorgânicos presentes em águas naturais e residuais. O cloro é um produto químico altamente tóxico e nocivo ao ser humano, sendo comumente utilizado para a eliminação de bactérias e vírus. A análise do teor de cloreto fornece uma informação importante sobre a qualidade da água, pois este é lançado nos cursos hídricos principalmente por lançamentos de esgotos domésticos (RENOVATO et al., 2013).

1.5.1.2 Turbidez

A turbidez, expressa em unidades de NTU (Unidade Nefelométrica de Turbidez), sendo originada de partículas que geram uma aparência turva na água e que interferem na passagem da luz. O valor da turbidez da água é inversamente proporcional à quantidade de luz que passa por ela e o conhecimento desse parâmetro auxilia no monitoramento do seu poder de corrosão. “A suspensão de partículas sólidas na coluna d’água lhe dá essa característica, que diminui a claridade e reduzem a transmissão da luz por ela” (CORNATIONI, 2010). De acordo com Donadio (2005), a turbidez é alterada devido à devastação das matas ciliares, do assoreamento e da erosão das margens.

1.5.1.3 pH (potencial Hidrogeniônico)

Variações no potencial Hidrogeniônico (pH) das águas podem ter origem natural ou antropogênica. Este parâmetro quantifica a concentração de íons hidrônio (H^+), indicando tal valor numa faixa que vai de 0 a 14, podendo a amostra ser considerada como ácida (quando $pH < 7$), neutra (quando $pH = 7$) ou básica (quando $pH > 7$) que influencia no grau de solubilidade de diversas substâncias, na distribuição das formas livres e ionizadas de diversos compostos e pode, inclusive, definir a toxicidade de vários elementos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

1.5.1.4 Cor

A variável cor, expressa em mg/L PtCo, apresenta-se no curso hídrico, em geral, a partir da presença de matéria orgânica e/ou inorgânica, mas também por substâncias metálicas como os íons o ferro e o manganês (CORNATIONI, 2010). A cor será determinada com uso de um aparelho colorimétrico, o qual faz comparações com a cor de soluções padrão cujos valores são conhecidos.

1.5.1.5 Condutividade

A condutividade, expressa em μS , refere-se à capacidade que a água tem de transmitir corrente elétrica devido aos cátions (cargas positivas) e aos ânions (cargas negativas) presentes nela, a partir da dissociação de outras substâncias. A medição desta variável em uma amostra pode fornecer importantes informações sobre fontes poluidoras e na verificação da produtividade primária (ESTEVES et al., 2011).

1.5.1.6 Demanda Química de Oxigênio (DQO)

A Demanda Química de Oxigênio (DQO), expressa em mg/L, sendo a quantidade de oxigênio consumido na oxidação química da matéria orgânica existente na água. É um parâmetro que define a quantidade de matéria orgânica capaz de ser oxidada por meios químicos que existam em uma amostra líquida sendo, geralmente, utilizado como indicador do grau de poluição (AQUINO et al., 2006).

1.5.1.7 Nitrogênio (nitrogênio amoniacal, nitrito e nitrato)

O nitrogênio está presente em águas residuárias sob quatro formas, que são o nitrogênio amoniacal, nitrogênio orgânico, nitrito e nitrato que são expressos em 20G/L. Em águas residuárias domésticas, o nitrogênio está presente principalmente como nitrogênio amoniacal (em torno de 60%) e nitrogênio orgânico (em torno de 40%). O nitrogênio presente em águas residuárias domésticas provém da atividade humana. O material fecal contribui com nitrogênio orgânico através das proteínas. Estas, por sua vez, sofrem a ação decompositora bacteriana com conseqüente liberação de nitrogênio amoniacal (NAVAL; CLEMENTE COUTO, 2007). A presença de altas concentrações de amônio em águas superficiais pode indicar contaminação por esgoto bruto, efluentes industriais, ou devido à utilização de fertilizantes nas irrigações (PARRON et al., 2011).

1.5.1.8 Fósforo total

O fósforo, geralmente expresso em $\mu\text{g/L}$, ocorre em águas naturais e em efluentes geralmente na forma de fosfatos de vários tipos (ortofosfatos, piro e metafosfatos e polifosfatos ou fosfatos orgânicos). Tais fosfatos podem ser solúveis ou se apresentar em partículas ou em corpos de organismos aquáticos. Fósforo é o principal componente dos detergentes comercialmente conhecidos. Os detergentes, por sua vez, sendo agentes tensoativos, são capazes de promover modificação na tensão superficial da água. Esse poluente orgânico, o fósforo, constitui nutrientes para as plantas aquáticas, especialmente as algas que promovem a floração das águas (ESTEVES et al., 2011).

1.5.1.9 Manganês e Ferro total

Os íons de ferro e manganês, sendo expressos em mg/L , em grandes concentrações podem ocasionar maior condutividade no ecossistema aquático, ocasionando alterações na produtividade primária. A oxidação de ferro e manganês, podem ocasionar diminuição no oxigênio dissolvido e assim afetando a biota aquática (ESTEVES et al, 2011). Quando encontrados em águas naturais de baixo pH e na ausência de oxigênio, estão sob as formas quimicamente reduzidas (Fe^{+2} e Mn^{+2} , respectivamente), as quais são solúveis e invisíveis. Quando tais íons são oxidados por aeração ou aplicação de cloro na água, os minerais são precipitados, conferindo à água

uma aparência de vermelho a preto, no caso de presença de ferro, ou de púrpura a preto, no caso de presença de manganês (MORUZZI; REALI, 2012).

1.5.1.10 Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO)

A Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), expressa em mg/L, sendo um dos parâmetros que retrata o teor de matéria orgânica nos esgotos ou no corpo d'água e através deste, mede-se o consumo de oxigênio no meio (VON SPERLING, 2005).

1.5.1.11 Oxigênio dissolvido (OD)

O oxigênio dissolvido (OD), expresso em mg/L, sendo de essencial importância para os organismos aeróbios. Durante a estabilização da matéria orgânica, as bactérias fazem uso do oxigênio nos seus processos respiratórios, podendo vir a causar uma redução da concentração do mesmo no meio. O oxigênio dissolvido é o principal parâmetro de caracterização dos efeitos da poluição das águas por despejos orgânicos (VON SPERLING, 2005).

1.5.1.12 Chumbo (Pb)

O chumbo, expresso em 21G/L^{-1} , representado na tabela periódica com o símbolo Pb, é relativamente abundante na crosta terrestre, tendo concentração média de 10 a 20 mgkg^{-1} . Já em águas superficiais, essa concentração é de aproximadamente $0,02\text{ mgL}^{-1}$. Embora os processos naturais também liberem Pb para o ecossistema, a poluição por atividade humana é predominante (WOLFF et al., 2012). Uma vez liberado, o chumbo possui um longo tempo de residência quando comparado à maioria dos poluentes. O Pb é venenoso e bioacumulativo, podendo entrar na teia alimentar da adsorção das plantas (PAOLIELLO; CHASIN, 2001).

1.5.1.13 Óleos e graxas totais

Óleos e graxas, expressos em mg/L, estão comumente presentes nos esgotos domésticos e industriais, podendo ter diversos compostos como ácidos graxos, gorduras animais, sabões, graxas, óleos vegetais, ceras, óleos minerais, entre outros. No ecossistema aquático essa variável pode influenciar na poluição do curso hídrico (BRAGA et al., 2002).

1.5.1.14 Sólidos totais

Os sólidos totais, expressos em mg/L^{-1} , interferem de maneira indireta sobre a vida aquática, impedindo a penetração da luz e, conseqüentemente, diminuindo a quantidade de oxigênio dissolvido no meio devido, pois as principais fontes de oxigênio dissolvido na água são através da atmosfera e pela fotossíntese (BRAGA et al., 2002).

1.5.1.15 Temperatura

A temperatura, expressa em $^{\circ}\text{C}$, da água exerce influência nas atividades biológicas e no crescimento, sendo ditada pela radiação solar, salvo nos casos de despejos industriais, de termelétricas e de usinas atômicas que operem nas margens do lago ou reservatório (ESTEVES et al., 2011).

1.5.1.16 Índice de Estado Trófico (IET)

O Índice do Estado Trófico (IET), expresso em $\mu\text{g/L}$, tem por finalidade classificar corpos d'água em diferentes graus de trofia, ou seja, avaliar a qualidade da água quanto ao enriquecimento por nutrientes, principalmente por fósforo total, e seu efeito relacionado ao crescimento de macrófitas aquáticas (ESTEVES et al., 2011; LAMPARELLI, 2004).

1.6 PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS

1.6.1 Coliformes termotolerantes

Os coliformes termotolerantes, expressos em NMP, são bactérias dos gêneros *Klebsiella*, *Enterobacter* e *Escherichia* que se desenvolvem a temperaturas elevadas ($44, 5 \pm 0,2 ^{\circ}\text{C}$). Espécies do gênero *Klebsiella* comumente são isolados de ambientes não poluídos por matéria fecal como solo, vegetais e ambientes aquáticos naturais. *Escherichia coli* tem presença garantida nas fezes humanas e de animais homeotérmicos com percentuais em torno de 96 a 99%. Os demais gêneros participam com percentuais que variam entre 3 a 8% em fezes animais não humanos a 3 a 4% em fezes humanas (SILVA et al., 2001).

1.7 MACRÓFITAS AQUÁTICAS

As macrófitas (macro = grande; fito = planta) são formas macroscópicas de seres fotossintetizantes (WETZEL, 1993), visíveis a olho nu, cujas partes fotossintetizantes ativas estão permanentemente, ou por diversos meses, todos os anos, total ou parcialmente submersas em água doce ou salobra, ou ainda flutuante na mesma (IRGANG; GASTAL JR, 1996).

As macrófitas podem ser classificadas de acordo com a sua forma biológica. A seguir, estão apresentadas as diferentes classes, conforme a classificação comumente aceita no Brasil (ESTEVES et al., 2011).

1) Macrófitas aquáticas submersas enraizadas ou fixas – plantas enraizadas que crescem totalmente submersas na água, normalmente emitem as estruturas reprodutivas acima do nível de água (ex: *Potamogeton pectinatus* L., Potamogetonaceae);

2) Macrófitas aquáticas submersas livres – permanecem flutuando submersas na água. Geralmente prendem-se a pecíolos e caules de outras macrófitas (ex: *Utricularia gibba* L., Lentibulariaceae);

3) Macrófitas aquáticas com folhas flutuantes ou flutuantes fixas – são enraizadas e com folhas flutuando na superfície da água (ex: *Nymphoides indica* (L.) Kuntze, Menyanthaceae);

4) Macrófitas aquáticas flutuantes livres – permanecem flutuando com as raízes abaixo do nível da superfície da água (ex: *Salvinia auriculata* Aubl., Salviniaceae);

5) Macrófitas aquáticas emergentes ou emersas – enraizadas, porém com folhas podendo alcançar grande altura acima do nível d'água (ex: *Typha domingensis* Pers., Typhaceae);

6) Anfíbias – encontradas na interface água-terra, tolerantes à seca (ex: *Polygonum* sp., Polygonaceae);

7) Epífitas – espécies que se estabelecem e se desenvolvem sobre indivíduos de espécies flutuantes livres ou fixas (ex: *Oxycaryum cubense* (Poepp. & Kunth) Palla, Cyperaceae).

Em rios e riachos, as macrófitas influenciam na sedimentação e retenção de nutrientes, nas características físicas e químicas da água e, em alguns casos, podem afetar a velocidade do fluxo da água (ESTEVES et al., 2011). Scremin-Dias et al., (1999) definem como macrófitas aquáticas as microalgas, macroalgas, briófitas, pteridófitas e angiospermas, originárias do ambiente terrestre com adaptações para a vida na água. Ou seja, macrófitas são aquelas que ocorrem tanto em ambientes mais secos da borda como nos ambientes aquáticos, ou seja, dentro da água.

De acordo com Gomes e Aoki (2015), as macrófitas aquáticas são vegetais de elevada importância para o ecossistema aquático, contribuindo para a síntese de matéria orgânica a partir de compostos inorgânicos nesses ambientes, participando da ciclagem e estocagem de nutrientes, no controle da poluição e da eutrofização artificial. Essas plantas promovem a diversificação de *habitats*, criando locais de abrigo e alimentação para fauna e sendo, portanto, de grande relevância para manutenção da diversidade biológica. O desenvolvimento e abundância das macrófitas são decorrentes da eutrofização natural em função da introdução de nutrientes oriundos dos ecossistemas terrestres adjacentes por escoamento superficial ou pela introdução direta de despejos domésticos e industriais nos corpos d'água (BIZZO, 2014).

As macrófitas são indispensáveis para o ecossistema aquático (LONE et al., 2014), pois elas caracterizam as zonas litorais de lagos rasos, estruturam e modificam os parâmetros físicos e químicos através da fotossíntese, decomposição e mineralização (THOMAZ; CUNHA, 2010). A presença dessas plantas pode melhorar a qualidade da água, sendo conhecidas como fitorremediadoras, devido à capacidade de absorver cargas excessivas de nutrientes ou de poluentes (FERDOUSHI et al., 2008).

1.8 PLANTAS COMO BIOINDICADORAS DE POLUENTES

Os indicadores biológicos ou bioindicadores são organismos, populações ou comunidades cuja presença, quantidade e distribuição podem indicar a magnitude de alguns impactos ambientais em um ecossistema aquático visto, que devido à sua sensibilidade, podem ser tolerantes ou intolerantes às alterações do meio. Destacam-se como organismos bioindicadores de qualidade da água algumas espécies de bactérias, protozoários, macroalgas, microalgas, macrófitas aquáticas, macroinvertebrados, microinvertebrados e peixes (CALLISTO et al., 2005).

A sensibilidade dos organismos a diferentes substâncias tóxicas é critério fundamental na escolha de bioindicadores de poluição (LEWIS, 2005). Algumas espécies são particularmente sensíveis à poluição (bioindicadoras de resposta), enquanto outras, as bioindicadoras de acumulação, podem acumular poluentes em concentrações elevadas, sem apresentar sintomas visíveis (SILVA et al., 2000). As plantas possuem sensibilidade específica aos poluentes, apresentando alterações metabólicas com repercussões nos ecossistemas. As alterações relatadas mais comuns são mudanças morfoanatômicas e fisiológicas tais como necroses, cloroses, redução no crescimento, alterações no ciclo de vida, sobrevivência e até redução da diversidade de espécies (GUTBERLET, 1988).

A caracterização anatômica constitui uma ferramenta que, associada a parâmetros morfofisiológicos, pode auxiliar a seleção de espécies para bioindicação e fitorremediação de ambientes poluídos, pois permite identificar mecanismos de tolerância por meio de alterações histológicas (VECCHIA et al., 2005). Estudos anatômicos e ultraestruturais são apropriados para avaliar o efeito dos poluentes em plantas em áreas contaminadas. Simon et al. (2000), recomendaram estes estudos como ferramenta nos processos de biorremediação e bioindicação. Diversos trabalhos retratam a importância da análise morfo-anatômica de folhas e raízes de plantas sob efeito de diversos poluentes (SANTANNA-SANTOS et al., 2006; SILVA, 2008) na avaliação do potencial de fitorremediação ou bioindicação das espécies.

Os resultados obtidos por Oliveira (2012) após exposição de *Salvinia auriculata* ao arsênio demonstraram alterações no parênquima, a presença de pigmentos escuros no interior das células e alterações nas estruturas dos tricomas, reforçando assim, a importância dos estudos morfo-anatômicos para o diagnóstico da injúria por poluentes e para o entendimento dos mecanismos de fitotoxicidade (SOIKKELI, 1981), conforme verificado em outros estudos com o flúor (SANTOS, 2008).

As análises morfométricas internas e externas das estruturas das plantas são importantes para observar quais os impactos negativos que os poluentes podem ter sobre as plantas. Oliveira (2012), apresentou a interferência negativa no crescimento das plantas *S. auriculata* quando submetidas ao arsênio através da redução do desenvolvimento clonal da planta no ambiente com maior concentração do semimetal.

Os estudos referentes ao acúmulo de poluentes em biomassa nas plantas são importantes para observar em quais ambientes as plantas conseguem reter elementos químicos que podem acarretar prejuízos ou não em suas estruturas. Oliveira, (2012), verificou que *Salvinia auriculata* apresentou redução em sua biomassa quanto exposta ao semimetal pesado arsênio, sendo assim uma resposta negativa da planta quando submetidas à exposição dos poluentes. Gomes et al. (2017), verificaram que *S. auriculata* submetida a diferentes concentrações de cloreto de sódio apresentaram redução em sua biomassa.

A cutícula, estruturalmente, é formada por uma matriz biopolimérica constituída por cutina, cutano ou, usualmente, ambos (HOLLOWAY, 1982) e um segundo componente lipídico predominantemente alifático de baixa polaridade, as ceras cuticulares. Estas podem estar localizadas na própria cutina (ceras intracuticulares) e acima desta (ceras epicuticulares) (BAKER et al., 1982). Diversos estudos têm demonstrado variações nas propriedades químicas e físicas das ceras cuticulares de acordo com os fatores endógenos e exógenos (FEDERLE; RHEINDT, 2005; MULLER; RIEDERER, 2005; KIM et al., 2007; KOSMA et al., 2009).

Do ponto de vista químico, as ceras representam uma complexa mistura de hidrocarbonetos de cadeias alifáticas longas (20 a 60 átomos de carbonos) compostas principalmente por *n*-alcanos, ácidos graxos livres, 26lcoóis primários e secundários, cetonas, aldeídos e ésteres, além de compostos cíclicos como triterpenos e flavonoides (MULLER; RIEDERER, 2005). São estes constituintes (composição qualitativa e quantitativa) e sua ultraestrutura que sinalizam o efeito deletério do ambiente nas plantas (GOMES et al., 2017).

Esch e Mengel (2002), por exemplo, perceberam modificações dos cristais de ceras, perceptíveis como erosões, em ambientes com poluição atmosférica por metais pesados em razão da diminuição da capacidade de retenção de água pela cera, provocando estresse hídrico nas plantas analisadas. Isto comprova que algumas substâncias em contato com a superfície foliar danificam a morfologia e o teor da cera, podendo ser prejudiciais à planta.

Gomes et al. (2017), observaram que a ultraestrutura de *S. auriculata* quando submetida a diferentes concentrações de cloreto de sódio apresentaram alterações nas estruturas dos tricomas e no limbo foliar adaxial.

1.9 MACRÓFITA AQUÁTICA *Salvinia auriculata* Aubl. (SALVINIACEAE)

As macrófitas em suas diferentes formas de vida parecem ser modelos ideais para estudos de bioindicação de poluição aquática. Neste contexto, insere-se *Salvinia auriculata* Aubl. (Salviniaceae), uma samambaia aquática, flutuante livre, amplamente distribuída em ecossistemas de água doce e que, sob condições favoráveis, é rapidamente disseminada por propagação vegetativa, colonizando extensas superfícies de água em um tempo reduzido (HENRY-SILVA; CAMARGO, 2006).

Salvinia auriculata possui rametes conectados por rizomas e cada ramete é formado por um nó, tendo duas folhas de flutuação, uma folha submersa, uma gema apical, e alguns botões laterais e com a terceira folha submersa, modificada e adaptada à absorção de água e íons, funcionando basicamente como uma raiz e com tricomas e papilas em suas folhas flutuantes (FORNO; HARLEY, 1979).

Prado (2006), publicou que *Salvinia auriculata* possui caule delgado, 1 mm diâmetro, ramificado, com um estelo em forma de “U” em seção transversal, entrenós distantes 0,6-1 cm, frondes flutuantes com lâmina oblonga a suborbicular, base cordada e ápice arredondado, 1,4-2,1 × 0,8-2,0 cm, curto pecioluladas, peciólulo 1-2 m comprimento, adaxialmente com papilas cônicas seriadas, pubescentes, tricomas unidos no ápice, castanho-escuro a negro na região da união dos tricomas, abaxialmente esparsamente pubescente, tricomas simples, aciculares, castanho-claros, venação areolada, sem nervuras no interior das aréolas; frondes submersas muito divididas na forma de um feixe de filamentos, variando de curto-pecioluladas a sésseis, peciólulo 1-2 mm comprimento, reto ou levemente curvo.

Anatomicamente, *S. auriculata* possui a epiderme unisseriada em ambas as faces. Suas folhas flutuantes são epiestomáticas, apresentando tricomas tectores tanto na face adaxial quanto a abaxial. O mesofilo apresenta parênquima clorofiliano e aerênquima, sendo os feixes vasculares do tipo anficrivais. O periciclo é unisseriado e envolve cada um dos feixes vasculares, sendo constituído por uma única camada. As nervuras secundárias apresentam extensão da bainha da endoderme e as paredes das células apresentam espessamento (OLIVEIRA, 2012).

De acordo com Mickel e Smith (2004), *Salvinia* é um gênero pantropical com 11 espécies. Todas as espécies ocorrem em ambientes lóticos e lênticos. *S. auriculata* pode

ser utilizada como abrigo para larvas de peixes (LACERDA et al., 2010), para tratamento de efluentes da piscicultura (SOARES et al., 2008), e como bioindicadores de poluição em ecossistemas aquáticos (SUÑE et al., 2007). A biomassa de *S. auriculata* pode ser utilizada como biofertilizante ou alimento para gados (SUZUKI et al., 2011).

Em condições favoráveis, *S. auriculata* se reproduz rapidamente, colonizando áreas extensas em um período curto (HENRY-SILVA; CAMARGO, 2006). Sua alta taxa de crescimento em áreas com excesso de nitrogênio e fósforo favorece o uso de *S. auriculata* como bioindicadora de ambientes eutrofizados (LEWIS, 2005). Devido a sua alta taxa de crescimento vegetativo, elas se proliferam de forma rápida, causando prejuízos aos reservatórios para abastecimento humano, como gastos para remoção da biomassa entre outros (PEIXOTO et al., 2005).

Foi observado que a *S. auriculata* submetida às diferentes concentrações de arsênio apresentou acúmulo da substância na planta, alterações no cloroplasto, morfologia, desarranjo no aerênquima, pouco desenvolvimento dos tricomas, redução na espessura do mesofilo entre outras alterações anatômicas foliares (OLIVEIRA, 2012).

Diante do apresentado, faz-se importante avaliar como as variáveis da água do rio Capibaribe podem afetar nas estruturas macrófita aquática *Salvinia auriculata* Aubl.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a influência das variáveis físico-químicas e biológicas da água do rio Capibaribe na estrutura morfo-anatômica, teor de pigmentos fotossintéticos e perfil de *n*-alcanos cuticulares de *Salvinia auriculata* Aubl.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar a qualidade da água dos rios Gurjaú e Capibaribe conforme o *22º Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*;
- Verificar a qualidade da água dos rios Gurjaú e Capibaribe através da resolução CONAMA 357/2005;
- Determinar o Índice de Estado Trófico (IET) das amostras de águas dos rios Gurjaú e Capibaribe;
- Descrever a anatomia e a ultraestrutura foliar de *Salvinia auriculata* quando submetida à solução de Hoagland (grupo controle) e a diferentes amostras de água do rio Capibaribe;
- Determinar o teor de pigmentos fotossintetizantes o de *S. auriculata* quando submetida à solução de Hoagland (grupo controle) e a diferentes amostras de água do rio Capibaribe;
- Comparar o comprimento das folhas submersas, da folha totalmente expandida flutuante, rametes e das folhas novas de *S. auriculata* quando submetida à solução de Hoagland (grupo controle) e a diferentes amostras de água do rio Capibaribe;
- Comparar a abundância relativa do perfil de *n*-alcanos cera epicuticular de *S. auriculata* quando submetida à solução de Hoagland (grupo controle) e a diferentes amostras de água do rio Capibaribe.

**3 *SALVINIA AURICULATA* AUBL. (SALVINIACEAE) COMO
BIOINDICADORA DE ECOSISTEMA AQUÁTICO POLUÍDO: EFEITO
SOBRE MORFO-ANATOMIA E ULTRAESTRUTURA DAS FOLHAS,
TEOR DE PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS E PERFIL DE *N*-ALCANOS
CUTICULARES**

A ser submetido ao Aquatic Botany Journal (ISSN: 0304-3770)

Salvinia auriculata Aubl. (Salviniaceae) como bioindicadora de ecossistema aquático poluído: efeito sobre morfo-anatomia e ultraestrutura das folhas, teor de pigmentos fotossintéticos e perfil de *n*-alcanos cuticulares

RESUMO

Os ecossistemas aquáticos em centros urbanos ou áreas superpovoadas geralmente possuem elevadas concentrações de elementos químicos como nitrogênio, fósforo e metais pesados. Para avaliar a qualidade da água nestes ambientes, a utilização de plantas bioindicadoras tem sido aplicada com sucesso. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito das variáveis físico-químicas e biológicas da água do rio Capibaribe (estado de Pernambuco, Brasil) na estrutura morfo-anatômica, teor de pigmentos fotossintetizantes e no perfil de *n*-alcanos de *Salvinia auriculata* e investigar seu potencial como bioindicadora da qualidade de água. Indivíduos de *S. auriculata*, coletadas no rio Gurjaú, foram aclimatizadas em solução de Hoagland e posteriormente submetidas a três amostras de água do rio Capibaribe, com diferentes níveis de poluição. De acordo com o *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* e a legislação CONAMA 357/2005, das 21 variáveis físico-químicas e biológicas analisadas, as amostras do rio Capibaribe apresentaram um total de 9 não conformidades com a legislação brasileira em vigor para água destinada ao abastecimento humano após tratamento convencional. Após 15 dias de bioensaio, foi verificado que *S. auriculata* apresentou variações nas espessuras do mesofilo e da cutícula, redução da abundância relativa no perfil de *n*-alcanos, danos morfológicos nos tricomas tectores pluricelulares e acúmulo de compostos fenólicos no interior de suas células. Não foram verificadas diferenças significativas nos teores de pigmentos fotossintéticos e no comprimento foliar de *S. auriculata*. Análises multivariadas mostraram que o trecho de rio Capibaribe com maior grau de poluição foi o responsável pela maior alteração nas estruturas de *S. auriculata*.

Palavras-chave: Bioindicadores. Samambaia aquática. Poluição aquática.

Introdução

A caracterização físico-química da água tem como objetivo identificar e quantificar os elementos químicos e físicos e avaliar seus impactos nos processos naturais ou alterações que estes podem causar ao meio ambiente. Essa caracterização permite responder em que nível as variáveis contidas nos cursos hídricos podem ser nocivas aos ecossistemas (Parron et al., 2011). Dentre os fatores que causam degradações nos ecossistemas aquáticos, destacam-se o excesso de carga orgânica nos corpos hídricos, pois estes estão associados ao desequilíbrio do aporte de nutrientes, provocado pelas mais diversas atividades antropogênicas (Schindler et al., 2008). Este excesso de carga orgânica provoca o aumento da poluição dos cursos hídricos, reduzindo o oxigênio dissolvido e, conseqüentemente, acarretando na morte da biota aquática (Moraes, 2009).

Especificamente no Brasil, o Conselho Nacional de Meio Ambiente, por meio da Resolução CONAMA 357, de 17 de março de 2005 (Brasil, 2005), estabeleceu condições de qualidade para o enquadramento dos corpos hídricos em território nacional, de acordo com os seus usos preponderantes, e para o lançamento de efluentes. Essa resolução, como instrumento jurídico, fixou limites superiores ou inferiores para diversas variáveis em sistemas de água doce, salobra e salina (Lordelo et al., 2016).

As macrófitas compreendem grupos de representantes fotossintéticos aquáticos os quais incluem cianobactérias, microalgas, macroalgas, briófitas, pteridófitas e as angiospermas, sendo as duas últimas representadas por 33 ordens, 88 famílias, 412 gêneros e cerca de 2.614 espécies (Chambers et al., 2008). As macrófitas desempenham funções-chave nos ciclos bioquímicos, como a mobilização de fósforo e nitrogênio no curso hídrico (Marion e Paillisson, 2002). Em rios e riachos, influenciam na sedimentação e na retenção de nutrientes, nas características físicas e químicas da água e, em alguns casos, podem afetar a velocidade do fluxo da água (Esteves, 2011). As macrófitas em suas diferentes formas de vida podem ser utilizadas para estudos de bioindicação de poluição aquática. Estas plantas são notáveis produtores primários e diferentes tipos de herbívoros como aves, peixes e invertebrados se alimentam destas plantas (Lauridsen et al., 1993; Mittelbach et al., 2001). Além de servirem como alimento, as macrófitas são *habitats* para vertebrados e invertebrados (Esteves, 2011).

Salvinia auriculata Aubl. (Salviniaceae) é uma macrófita aquática com folhas flutuantes e submersas. Estas últimas funcionam fisiologicamente como raízes, as quais

absorvem água e íons (Prado, 2006). *S. auriculata* é amplamente distribuída em ecossistemas de água doce, que, em condições favoráveis, rapidamente se dissemina por propagação vegetativa, colonizando extensas superfícies de água em um tempo reduzido (Henry-Silva e Camargo, 2006). Por apresentar crescimento rápido, *Salvinia* spp. pode ocasionar diminuição do oxigênio dissolvido na água e impedir radiação luminosa subaquática, podendo ocasionar eutrofização dos cursos hídricos (Jampeetong e Brix, 2009). Neste sentido *S. auriculata* pode ser considerada uma planta com alta taxa de crescimento (Jullien et al., 2002; Jampeetong e Brix, 2009). Por outro lado, a taxa de crescimento de *S. auriculata* está relacionada à sua sensibilidade a diferentes agentes tóxicos e, assim, *S. auriculata* apresenta potencial para aplicação como bioindicadora de poluição em ecossistemas aquáticos (Suñe et al., 2007).

O rio Capibaribe (07°41'20" e 08°19'30" S, 34°51'00" e 36°41'58" W), é considerado um dos principais recursos fluviais de Pernambuco. O rio possui 280 km de extensão, 7.454 km² de área total e atravessa 42 diferentes municípios (Ribeiro-Neto et al., 2014). Estudos comprovam que o excesso de nutrientes no rio Capibaribe, atribuído principalmente ao lançamento de esgotos domésticos, escoamento urbano e de regiões com o cultivo de cana-de-açúcar, tem contribuído para a poluição do mesmo. Outros indicadores biológicos, como coliformes termotolerantes, demanda bioquímica do oxigênio (DBO) e espécies bioindicadoras de poluição orgânica, também demonstram que a qualidade da água do rio Capibaribe está comprometida (Silva, 1994; Noriega, 2010; CPRH, 2014). Em recente estudo no rio Capibaribe, Xavier et al. (2016), identificaram 31 espécies de macrófitas, sendo *S. auriculata* Aubl. e *Azolla fliculoides* Lam. como as mais representativas da família Salviniaceae.

Os estudos sobre macrófitas no Brasil têm sido realizados, em sua maioria, em sistemas lênticos e artificiais, como lagoas, zonas húmidas, barragens e reservatórios. Em contraste, poucos estudos apresentam resultados em relação a sistemas lóticos, como rios e córregos (Thomas e Bini, 2003). Aliado a isso, os impactos da atividade humana e da urbanização em comunidades de macrófitas ainda são pouco conhecidos. Estudos apontam que o contato das plantas com diferentes concentrações pode modificar as suas estruturas internas e externas, desde a concentração química das ceras cuticular a alterações anatômicas (parênquima foliar, cutícula, mesofilo, tricomas entre outros) e que essas modificações podem bioindicar a qualidade da água (Kosma et al., 2009; Oliveira, 2012; Santos, 2008; Gomes et al., 2017).

Desta forma, o monitoramento da qualidade das águas e seu impacto nas espécies de plantas aquáticas são de suma importância. Neste sentido, o presente trabalho tem por objetivo avaliar o efeito das variáveis físico-químicas e biológicas da água do rio Capibaribe na estrutura morfo-anatômica, teor de pigmentos fotossintéticos e perfil de *n*-alcanos cuticulares de *Salvinia auriculata*.

Materiais e Métodos

Coletas das amostras de *Salvinia auriculata* Aubl.

Aproximadamente 200 indivíduos de *Salvinia auriculata* foram coletados em agosto de 2016 no rio Gurjaú (08°10'00" S e 35°02'30" W) localizado no município de Cabo de Santo Agostinho, Pernambuco, Brasil, local este que é uma Unidade de Conservação. O ponto de coleta foi escolhido uma vez que as análises físico-químicas prévias da água (fornecidas pela Companhia Pernambucana de Saneamento, COMPESA) apresentaram, nesta região, conformidades com o Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA 357/2005), órgão que dispõe sobre a classificação dos corpos de água, estabelece diretrizes ambientais para o seu enquadramento, além de condicionar e padronizar o lançamento de efluentes. Exsicata do exemplar foi depositada no Herbário UFP da Universidade Federal de Pernambuco sob o número 81.628.

Amostras de água do rio Capibaribe

Ao longo do rio Capibaribe, foram selecionados três pontos de coletas, esses locais foram escolhidos por apresentarem diferentes concentrações de poluentes nessas áreas. Em cada ponto, cinco litros de água foram amostrados. O primeiro ponto da coleta está localizado no município de Lagoa de Itaenga (07°53'19.24" S e 35°14'22.83"W); o segundo, no município de São Lourenço da Mata (07°59'44.29" S e 35°03'13.20" W) e o terceiro ponto de coleta de água está na cidade do Recife (08°03'45.79" S e 34°54'04.55" W). Os dois últimos locais de coleta estão situados na Região Metropolitana do Recife (Pernambuco, Brasil), e por isso, sujeitos a uma severa poluição urbana (Pinheiro et al., 2013), devido ao crescimento desordenado nessas áreas, o que costuma intensificar o lançamento de efluentes domésticos sem tratamento adequado no curso hídrico. Neste estudo, os três pontos são referidos como RC-1, RC-2 e RC-3 (Figura 1), respectivamente.

Análises físico-químicas e biológicas da água

As amostras de água dos rios Gurjáú e Capibaribe obtidas nos diferentes pontos de coletas foram submetidas a análises físico-químicas e biológicas, pH, cor, turbidez, condutividade, oxigênio dissolvido, demanda bioquímica por oxigênio, demanda química por oxigênio, nitrato, nitrito, nitrogênio amoniacal, fósforo total, cloretos, coliformes termotolerantes, óleos e graxas totais, cobre, manganês, chumbo, ferro total, sólidos totais, salinidade e temperatura, segundo a metodologia do 22º *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (2012). Para avaliar o grau de trofia das águas coletadas, determinou-se o Índice de Estado Trófico (IET) para ambientes lóticos pela metodologia de Lamparelli, (2004).

Bioensaio

Em laboratório, 200 indivíduos de *S. auriculata* foram lavados em hipoclorito de sódio 1% e posteriormente em água corrente. O bioensaio seguiu a metodologia utilizada por Wolff et al., (2012) e Gomes et al., (2017) com modificações. As plantas foram distribuídas equitativamente em quatro bandejas plásticas (40,0 x 27,0 x 9,0 cm) contendo, cada uma, cinco litros de solução nutritiva de Hoagland (Hoagland e Arnon, 1950). As plantas permaneceram na solução de Hoagland durante seis dias para aclimação (Gomes et al., 2017). Para homogeneização e oxigenação da água, foram utilizadas duas bombas de aeração (Bomba compressora Boyu para aquários U-2800). Durante este período, foram monitoradas as temperaturas da solução (26 ± 2 °C), temperatura do ar ($29,4 \pm 2$ °C) e pH da solução (6,5).

Após o período de aclimação, foram coletadas as amostras de água em três pontos do rio Capibaribe, denominados: RC-1, RC-2 e RC-3. Quatro bandejas foram inteiramente esvaziadas e três delas tiveram seus volumes preenchidos com cinco litros das amostras de águas coletadas, enquanto a quarta bandeja recebeu cinco litros de solução de Hoagland (grupo controle). O bioensaio foi monitorado durante 15 dias com medição de diária de temperatura da água ($25,3 \pm 3$ °C), temperatura do ar ($27,7 \pm 3$ °C), umidade ($65 \pm 4\%$), luminosidade ($1.079 \mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-2}$) e pH (6,7 para o grupo controle e pH 7 para as amostras de água do rio Capibaribe). Após 15 dias de experimento, foram coletadas indivíduos de *S. auriculata* para o estudo da anatomia, pigmentos fotossintéticos, perfil de *n*-alcanos e morfometria. Para a análise da ultraestrutura, os indivíduos foram colocados em sacos de papel e mantidos em estufa de circulação de ar à temperatura de 60 °C por 20 dias.

Pigmentos fotossintéticos

As concentrações de clorofila a e b, clorofila total e de carotenoides totais foram determinadas pela metodologia de Wang et al., 2014. Brevemente, 0,2 g de folhas frescas foram submetidas à extração com 25 mL de acetona 80% (v/v) durante 24 horas, sob refrigeração (8 °C). Resumidamente, as plantas foram maceradas na solução de 80%, em seguida centrifugada a 1.500 x g por 5 min e o sobrenadante recuperado para determinação da absorbância 663, 645 e 470 nm. A quantificação dos pigmentos fotossintetizantes foi realizada após o 15º dia do bioensaio em espectrofotômetro (Biochrom WPA Biowave II, Cambridge, UK) e os resultados foram calculados conforme as Equações (01) a (04), sendo expressos em $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$

$$Chl_a = \frac{[(12,21 \cdot A_{663}) - (2,81 \cdot A_{645})] \cdot V}{1000 \cdot M} \quad (01)$$

$$Chl_b = \frac{[(20,13 \cdot A_{645}) - (5,03 \cdot A_{663})] \cdot V}{1000 \cdot M} \quad (02)$$

$$Chl_{total} = \frac{[(20,2 \cdot A_{663}) - (2,69 \cdot A_{645})] \cdot V}{1000 \cdot M} \quad (03)$$

$$Carot = \frac{[(1000 \cdot A_{470}) - (3,27 \cdot Chl_a - 104 \cdot Chl_b)] \cdot V}{198 \cdot 1000 \cdot M} \quad (04)$$

Onde: Chl e Carot correspondem à clorofila e aos carotenoides, respectivamente. A663, A645 e A470 são os valores das absorbâncias. V é o volume utilizado para a extração (mL) e M é a massa fresca (mg).

Análises morfo-anatômicas, histoquímicas e ultraestruturais

As folhas flutuantes de *S. auriculata* foram fixadas em FAA50 (formaldeído, ácido acético e etanol 50%) e desidratadas em série etanol-butanol 50-100%-butanol puro (Johansen, 1940). Após desidratadas e emblocadas em parafina, as folhas foram

seccionadas transversal e longitudinalmente (12 μm) em micrótomo rotativo (Lupetec MRP09, São Carlos, Brasil) e, posteriormente, montadas sobre lâminas e lamínulas em Bálsamo do Canadá (Purvis et al., 1964), azul de Astra (1%) e Safranina (1%) foram utilizadas como corantes Bukatsch (modificado, 1972). Testes histoquímicos foram realizados para verificação de compostos fenólicos. Para este propósito foi utilizado o reagente cloreto férrico (Johansen, 1940).

Os fragmentos foliares foram fixados em Karnovsky (Karnovsky, 1965), desidratados em série etanólica e submetidos a ponto crítico com uso de CO_2 CPD030, Balzers, Liechtenstein) e analisados pelo microscópio eletrônico de varredura Zeiss Sigma VP. Foram realizados também análises morfométricas do comprimento da folha submersa, folha completamente expandida flutuante, ramete e folha completamente expandida nova flutuante ($n=3$) expressos em cm de acordo com a metodologia de Wolff, 2012.

Perfil de *n*-alcanos cuticulares

O perfil de *n*-alcanos de *S. auriculata* foi analisado por cromatografia gasosa (GC-FID) e seguindo a metodologia de Oliveira et al., 2003. Duas folhas flutuantes, de três diferentes indivíduos, foram secas sobre papel e submetida duas vezes à extração por 30 segundos em diclorometano. Após evaporação dos extratos, foram adicionados 10 μL de *n*-tetracosano (C24) como padrão interno. A reação foi derivada com 50 μL N,N-bis-trimethylsilyl-trifluoroacetamide (BSTFA) e 50 μL de piridina (30 min a 70°C). Os picos correspondentes aos *n*-alcanos foram monitorados em cromatógrafo gasoso (Shimadzu 2010 plus), equipado com detector de ionização de chama e uma coluna capilar de sílica fundida Zebron ZB-5HT (5% de difenil e 95% de dimetilpolisiloxano, 30 m x 0,25 mm x 0,25 μm). A temperatura do forno foi programada inicialmente em 150 °C por 3 min, aumentando numa razão de 10 °C/min até 280 °C, permanecendo nesta temperatura por 34 min. As temperaturas do injetor e detector foram de 250 e 300 °C, respectivamente. Hélio foi utilizado como gás de arraste com fluxo 1 mL/min. Foram injetados 1 μL de amostra numa razão *split* de 1:39. Os *n*-alcanos foram identificados por comparação com os tempos de retenção de amostras autênticas de solução padrão de *n*-alcanos C21-C40 (Fluka, S.A, Costa Rica). Os resultados de *n*-alcanos foram expressos em abundância relativa (%).

Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas considerando-se os quatro grupos amostrais, sendo o grupo controle (solução de Hoagland) e as três amostras submetidas às águas do rio Capibaribe. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey ($p < 0,05$) com o Minitab 16 (Minitab Ltd, State College, PA, USA). As análises de componente principal (PCA) e fenética (distancia Euclidiana e UPGMA) foram realizadas pelo SPSS Ver. 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL) e NTSYS software, Ver. 2.11X, respectivamente.

Resultados e discussão

Parâmetros físico-químicos e biológicos das amostras de águas analisadas

Dois pontos de coletas das águas do rio Capibaribe tiveram interferências da salinidade do solo e da água do mar, que as tornam águas salobras devido à concentração de sais dissolvidos (RC-1 e RC-3), com isso as mesmas foram enquadradas como classe 1 das águas salobras e as amostras de água RC-2 e Gurjaú como classe 2 das águas doces de acordo com os usos múltiplos da água estabelecidos pelo CONAMA 357/2005.

A Tabela 1 apresenta os resultados dos parâmetros físico-químicos e biológicos analisados: pH, cor, turbidez, condutividade, oxigênio dissolvido, demanda bioquímica por oxigênio, demanda química por oxigênio, nitrato, nitrito, nitrogênio amoniacal, fósforo total, cloretos, coliformes termotolerantes, óleos e graxas totais, cobre, manganês, chumbo, ferro total, sólidos totais, salinidade e temperatura. Os resultados das análises mostraram que vários dos parâmetros avaliados (oxigênio dissolvido, DBO, nitrato, nitrito, nitrogênio amoniacal, fósforo total, coliformes termotolerantes, cloretos, cobre, ferro total, chumbo, manganês e salinidade) estão em desacordo com os requisitos do CONAMA 357/2005. A análise da água do rio Gurjaú comparada com as amostras do rio Capibaribe é a que mais atende aos critérios da resolução, sendo por isso considerada a com menor grau de poluição entre as estudadas e por isso escolhida para as coletas da samambaia aquática para o estudo (Tabela 1). O rio Gurjaú, por estar inserido no Refúgio de Vida Silvestre (RVS) Matas do Sistema Gurjaú, protegido pela Agência Estadual de Meio Ambiente (CPRH), apresentou valores de qualidade dentro dos padrões estabelecidos. Esta conformidade também foi verificada por Bandeira et al.

(2017) ao analisarem amostras de água do rio Gurjaú, próximo à barragem de Gurjaú utilizada pela COMPESA para abastecimento humano após o tratamento convencional. Segundo estes autores, os valores de pH, cor, nitrato, nitrogênio amoniacal, fósforo total e turbidez apresentaram conformidades com o CONAMA 357/2005.

Por outro lado, a amostra de água coletada no ponto RC-3 foi a que menos atendeu ao CONAMA 357/2005. Nesta amostra, das 21 variáveis analisadas, 8 apresentaram não conformidades. As amostras dos pontos RC-1 e RC-2 apresentaram, respectivamente, 7 e 5 não conformidades. De acordo com os dados apresentados na Tabela 1, as áreas de coleta RC-3 e RC-1 necessitam de projetos e obras de esgotamento sanitário para melhorar a qualidade do rio Capibaribe.

A contaminação do rio Capibaribe também tem sido constatada por outros autores. Pinheiro et al. (2013), por exemplo, identificaram, em cinco pontos do rio, que os valores da demanda bioquímica por oxigênio e oxigênio dissolvido não apresentaram conformidades com o CONAMA 357/2005, evidenciando a importância de medidas públicas para melhorar a qualidade do curso hídrico. Bione et al., (2009), verificaram, em oito pontos do rio Capibaribe que os valores de fósforo total, oxigênio dissolvido, demanda bioquímica por oxigênio, amônia e coliformes termotolerantes não estavam dentro dos padrões estabelecidos pelo CONAMA 357/2005 e ressaltaram a importância do tratamento do esgoto doméstico em torno do curso hídrico.

Os resultados obtidos para os 21 parâmetros físico-químicos e biológicos (Tabela 1) foram submetidos à análise de componentes principais (PCA). Na Figura 2, os componentes principais (PC) exemplificam o peso fatorial das variáveis da qualidade de água nos dois eixos analisados PC1 e PC2 que corresponderam a 77,8 % da variação total. As variáveis: nitrogênio amoniacal (0,998), fósforo total (0,998) condutividade (0,997), salinidade (0,966), óleos e graxas (0,959), DQO (0,956) e turbidez (0,907) são os maiores autovetores de PC1. Para o segundo componente os autovalores mais correlacionados foram cloretos (0,990), sólidos totais (0,986), chumbo (-0,976) e cor (0,960). Uma terceira componente (PC3) tem como principais autovetores temperatura (0,969) e ferro (-0,907).

Jianqin, Jingjing e Xiaojie (2010) utilizaram quatorze tipos de indicadores de qualidade de água tais como sólidos suspensos, DQO, DBO, coliforme fecal, fósforo total, nitrogênio total, dentre outros, na avaliação de um modelo de qualidade de água baseado em análise de componentes principais. Os mesmos autores tiveram como

resultado os três primeiros componentes principais respondendo por aproximadamente 65,8% da variação dos dados. Estes dados demonstram a funcionalidade da ferramenta de PCA no contexto da hidrologia ambiental especificamente na análise de qualidade de água.

Além da PCA, uma análise de agrupamento utilizando distância Euclidiana e o método de agrupamento não ponderado usando médias aritméticas (UPGMA) é mostrada na Figura 3. A qualidade do ajuste entre o dendrograma e a matriz de dados gerou uma correlação cofenética de $r = 0,87$, o que indica boa concordância entre ambos ($r \geq 0,8$). O fenograma obtido na análise fenética mostrou dois grupos distintos, um com maior similaridade (rio Gurjaú e RC2) e outro com uma similaridade menor (RC-1 e RC-3). As variáveis: chumbo, temperatura, salinidade, coliformes termotolerantes, salinidade e DBO foram as que tiveram maior peso para as similaridades entre as amostras de águas do rio Gurjaú e o ponto RC-2 do rio Capibaribe. As amostras de água do rio Gurjaú e do ponto RC-2 foram as que mais apresentaram parâmetros em conformidade com o CONAMA 357/2005 e tiveram maior similaridade. As amostras de água dos pontos RC-1 e RC-3 apresentaram menor similaridade comparadas com as amostras RC-2 e rio Gurjaú, e foram aquelas que apresentaram mais parâmetros não conformes com o CONAMA 357/2005. Assim, o fenograma conseguiu separar os grupos que apresentaram maior e menor grau de poluição.

O Índice de Estado Trófico (IET) fornece uma visão sobre como macronutrientes, principalmente o fósforo total, e disponibilidade de luz, dentre outros fatores que estimulam o desenvolvimento da biomassa e contribuem para o aumento da condição de enriquecimento dos sistemas aquáticos (Duka e Cullaj, 2009). O IET também classifica os corpos d'água em diferentes graus de trofia. A literatura traz diferentes equações para o cálculo do IET. Neste estudo, foi adotada a metodologia de Lamparelli, (2004) e Fia et al. (2015). Os resultados das amostras de águas para o IET foram 62,90 para o rio Gurjaú, 74,69, 74,95 e 91,18 para os pontos RC-1, RC-2 e RC-3, respectivamente para o rio Capibaribe. As amostras dos rios Gurjaú apresentou o resultado eutrófico, este resultado pode ter sido ocasionado pelo local de coleta possuir grande quantidade de macrófitas próximo as margens (eutrofização natural). Os pontos de coleta do rio Capibaribe (RC-1, RC-2 e RC-3) apresentaram o IET considerado supereutróficos, ou seja, as quantidades de fósforo total presentes nas amostras

interferem na produtividade do rio, ocasionando implicações na qualidade de água (Lamparelli 2004; Fia et al., 2015).

Zanardi et al., (2016) verificaram, em área estuarina do rio Capibaribe, valores máximos de fósforo total ($40,32 \mu\text{g.L}^{-1}$) acima do permitido pelo CONAMA 357/2005. Este valor de fósforo equivale a um IET de 70,95 (Lamparelli, 2004), significando que o local se encontra hipereutrófico, ou seja, que a quantidade de fósforo total no curso hídrico afeta diretamente no ecossistema aquático. Com isso, as amostras de águas do rio Capibaribe estão sendo impactadas principalmente pelo despejo de efluentes sem tratamento adequado no rio, implicando para a qualidade de água e para biota que depende diretamente desse curso hídrico para sua sobrevivência.

Anatomia e ultraestrutura foliar

As análises anatômicas foliares revelaram que as folhas de *S. auriculata* submetidas às águas RC-1, RC-2 e RC-3 sofreram alterações no mesofilo, desarranjos no parênquima e alteração na morfologia das papilas e dos tricomas (Figura 4). Pigmentos escuros no interior das células foram visualizados em todos os tratamentos, notadamente em RC-3, o trecho mais poluído (Figura 5a). Resultados positivos com cloreto férrico indicam que tais compostos são de natureza fenólica (Figura 5b). A ocorrência de compostos fenólicos em *S. auriculata* submetida às diferentes concentrações de cloreto de sódio (0, 50, 100 e 150 mM) foram verificadas por Gomes et al., (2017). A presença de compostos fenólicos no interior das células do parênquima paliádico das folhas de *S. auriculata* submetidas aos tratamentos salinos possivelmente está relacionada com a função dos compostos fenólicos de atuarem na proteção das plantas contra estresses ambientais (Hutzler et al., 1998). Em nosso estudo, é possível que *S. auriculata* apresente uma maior condição de estresse sob a amostra de água RC-3, sendo esta a mais salina e poluída. Foi observado também nestas condições a diminuição da biomassa, bem como o maior número de indivíduos apresentando folhas flutuantes necrosadas.

Na Tabela 2, encontram-se os resultados para a espessura da cutícula, do mesofilo e da nervura central. *S. auriculata* submetidas às três amostras de água do rio Capibaribe não diferiram estatisticamente em relação ao controle no que diz respeito à espessura da nervura central. Entretanto, indivíduos expostos à amostra de água RC-1 tiveram significativamente ($p < 0,05$) maior espessura do mesofilo, apresentando diferença quando comparada ao grupo controle e as amostras de águas RC-2 e RC-3.

(Tabela 2). Os indivíduos de *S. auriculata* sob RC-1 e RC-3, por exemplo, diferem entre si com relação à espessura da cutícula, sendo esta menor no último tratamento. Lizieri et al., (2012) verificaram desordem no aerênquima foliar em *Salvinia minima* Baker quando em contato com o metal pesado manganês. Segundo a literatura, os poluentes acarretam na redução da espessura do mesofilo, desarranjo no aerênquima, acúmulo de substâncias intracelular (Souza et al., 2009). A redução da espessura do mesofilo especificamente interfere na condução do oxigênio para a manutenção do metabolismo aeróbico da planta (Esteves, 2011).

As Figuras 6 e 7 mostram as folhas de *S. auriculata* observadas por microscopia eletrônica de varredura quando crescidas em solução de Hoagland. Nota-se a presença de tricomas tectores pluricelulares nas faces adaxial (Figura 6a) e abaxial (Figura 6b), padrão este, já descrito na literatura (Wolff et al., 2012). Na Figura 7, verificou-se que quando os indivíduos de *S. auriculata* foram submetidos às amostras de água do rio Capibaribe, apresentaram modificações nas estruturas morfológicas dos tricomas, principalmente sob a amostra RC-3 (Figura 7d). Segundo Wolff et al. (2012), quando submetidas ao chumbo e cádmio, os tricomas de *S. auriculata* sofrem deformações como apresentadas na Figura 7.

A Tabela 3 apresenta a análise dos comprimentos da folha submersa, folha completamente expandida flutuante, ramete e folha nova completamente expandida flutuante. Para estes parâmetros, não houve diferença significativa na morfometria das estruturas de *S. auriculata* quando submetidas às diferentes amostras de água do rio Capibaribe quando comparadas ao grupo controle. Da mesma forma, os teores de pigmentos fotossintetizantes de *S. auriculata* não sofreram diferenças significativas quando submetidos às diferentes amostras de água (Tabela 4). Gomes et al. (2017) verificaram que *S. auriculata*, em ambientes oligohalinos, apresentou integridade no aparato fotossintético. O teor de pigmentos fotossintéticos praticamente se mantém constante com o aumento das concentrações de manganês em *S. minima* Baker (Lizier et al., 2012). Estes resultados podem ser mais um indicativo para o sucesso na distribuição de *S. auriculata* no rio Capibaribe uma vez que o aparelho fotossintético da planta se mantém em funcionamento.

Perfil de *n*-alcanos cuticulares

A abundância relativa dos *n*-alcanos cuticulares de *Salvinia auriculata* após 15 dias de bioensaio é mostrada na Tabela 5. Verificou-se que o perfil de *n*-alcanos de *S.*

auriculata é caracterizado por cadeias carbônicas que abrange de 21 a 31 átomos de carbono, independente das amostras de água submetidas. O efeito da qualidade da água no perfil de *n*-alcanos é mais marcante nos homólogos C27 (heptacosano), C29 (nonacosano) e C31 (hentriacontano). O C31 foi o *n*-alcano majoritário no grupo controle sob o tratamento RC-1, enquanto que os grupos C29 e C27 predominaram em RC2 e RC-3, respectivamente. O teor de *n*-alcanos totais variou de 63,6% (RC-3) a 93,4% (RC-1).

As ceras cuticulares das plantas aquáticas possuem o perfil de *n*-alcanos equivalente ao apresentado pelas plantas terrestres, que geralmente possuem homólogos compreendidos com cadeias carbônicas que abrangem de 15 a 35 átomos de carbono e se prevalece de cadeias com números ímpares de átomos de carbono (Eglinton e Hamilton, 1967; Osborne et al., 1989, Amaral et al., 1990; Joaquim et al., 2010; Bush e McInerney, 2013). Os *n*-alcanos mais abundantes nas plantas superiores são os homólogos C29 e C31 (Jeffree, 1986), evidenciando-se a evolução das plantas aquáticas a partir das terrestres.

Indivíduos de *S. auriculata* submetidos à amostra de água RC-1 apresentaram maior abundância relativa de *n*-alcanos quando comparado aos demais grupos, incluindo o controle (Tabela 5). Isso implica que as concentrações das variáveis ambientais na amostra de água (cor, cloretos e sólidos totais) não tiveram algum impacto na biossíntese de cera. Os valores percentuais de *n*-alcanos do grupo controle e o tratamento RC-2 foram similares. Ou seja, as variáveis chumbo e temperatura afetaram proporcionalmente a abundância dos *n*-alcanos. A amostra RC-3, a mais poluída, apresentou o menor valor para abundância relativa dos *n*-alcanos, significando que as variáveis pH, turbidez, condutividade, DQO, DBO, OD, nitrogênio amoniacal, nitrito, nitrato, fósforo total, cobre, ferro, manganês, óleos e graxas totais, coliformes termotolerantes e salinidade afetaram negativamente o teor total e perfil químico analisado. Salatino et al., (1989) constataram que os *n*-alcanos são considerados bioindicadores de poluição, devido à influência dos fatores ambientais na composição química da cera cuticular. Estudos relatam que a presença de poluentes pode remover os constituintes da cutícula (Silva, 2003; Singh e Agrawal, 1996). Foi verificado que o perfil de *n*-alcanos de *S. auriculata* submetida à amostra de água RC-3 conseguiu bioindicar que a amostra de água que apresentou maior poluição e salinidade.

Conclusões

As análises das variáveis físico-químicas e biológicas dos rios Capibaribe e Gurjaú indicaram quais áreas, entre as estudadas, estão sendo mais afetadas por ações antrópicas. Das vinte e uma variáveis analisadas, nos três pontos analisados do rio Capibaribe apresentaram um total de nove em não conformidade com o CONAMA 357/2005. Nos três pontos de estudos foram observados através da análise de componente principal que as variáveis: condutividade, DQO, DBO, nitrogênio amoniacal, fósforo total, cobre, manganês e salinidade foram as mais determinantes para as alterações morfológicas, anatômicas e na composição química dos *n*-alcanos cuticulares de *S. auriculata*. O resultado do IET também evidenciou que a área RC-3, possui regiões em que o esgoto, principalmente doméstico, é lançado no rio nenhum tratamento, e em conjunto com as outras variáveis afetam sim *S. auriculata*. Nossos resultados demonstram que a macrófita *S. auriculata* é uma bioindicadora para as águas do rio Capibaribe e que poderá ser utilizada para programas de monitoramento da qualidade das águas que percorrem o estado de Pernambuco.

4 CONCLUSÕES

- *S. auriculata* pode ser utilizada como bioindicadora da qualidade de água do rio Capibaribe, uma vez que, as concentrações dos poluentes presentes na água afetaram diretamente nas suas estruturas morfológicas e químicas podendo ser útil para estudos de biomonitoramento da qualidade ambiental.

- A amostra de água coletada em RC-3, apresentou as maiores concentrações de poluentes e de salinidade, e foram as que mais afetaram as estruturas morfológicas e químicas de *S. auriculata*, podendo ser utilizada como bioindicadora de resposta nesses ambientes.

-As análises estatísticas evidenciaram que as variáveis: condutividade, DQO, DBO, nitrogênio amoniacal, fósforo total, cobre, manganês e salinidade foram as mais determinantes para as alterações morfológicas, anatômicas e na composição química dos n-alcenos cuticulares de *S. auriculata*.

- A diminuição da concentração da composição química dos carbonos na cera epicuticular, as alterações da morfologia dos tricomas, as alterações morfologia das estruturas anatômicas e o surgimento de compostos fenólicos nas folhas de *S. auriculata* podem ser utilizados como análises para bioindicação de poluentes em ecossistemas aquáticos.

- São necessários mais estudos, principalmente com plantas aquáticas, que possam elucidar os danos ocorridos da poluição no ecossistema aquático em suas estruturas e os seus mecanismos para bioindicação.

- Faz-se necessário uma maior fiscalização dos despejos lançados sem o tratamento prévio no rio Capibaribe para que esses efluentes não impactem em demasiado a biota aquática.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, M. C. **Geografia de Pernambuco: Ambiente e sociedade**. João Pessoa: Grafset. 2009.
- AQUINO, S. F.; SILVA, S. Q.; CHERNICHARO, C. A. L. Considerações práticas sobre o teste de demanda química de oxigênio (DQO) aplicado à análise de efluentes anaeróbios. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 11, p. 295-304, 2006.
- BAKER, E. A., et al. Chemistry and morphology of plant epicuticular waxes. **The plant cuticle**, London: Academic Press. p. 140-161, 1982.
- AGÊNCIA ESTADUAL DO MEIO AMBIENTE (CPRH), 2014. **Monitoramento das Bacias - Capibaribe**. Disponível em: <http://www.cprh.pe.gov.br>. (Acesso em: março/2017).
- AMARAL, M.C.E.; SILVA, A.J.R.; SALATINO, A. Alkanes of surface waxes from eight species of aquatic angiosperms. **Aquatic Botany**, v. 36, p. 281-286, 1990.
- BANDEIRA, N.; FAUSTINO R.; OLIVEIRA, A. F. M. **Análise da qualidade da água do trecho do Rio Gurjaú localizado no Refúgio de Vida Silvestre (RVS) Matas do Sistema Gurjaú**. 9º Encontro Internacional das Águas, Recife-PE, p.1-10, 2017.
- BIGGS, B. J. F. Eutrophication of streams and rivers: dissolved nutrient-chlorophyll relationships for benthic algae. **Journal of the North American Benthological Society**, v. 19, p. 17–31, 2000.
- BIONE, M.A.A.; LIRA D.; R.M.; TAVARES, R.G. 2009. **Poluição do rio Capibaribe por esgoto doméstico**. IX Jornada de ensino, pesquisa e extensão, p.1-3, 2009.
- BIZZO, A. L. T. et al. Short-term physiological responses to copper stress in *Salvinia auriculata* Aubl. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 26, p.268-277, 2014.
- BRAGA, B., et al. Introdução à Engenharia Ambiental. **Editora Pearson**, São Paulo, v. 2, p.1-65, 2002.

BRASIL. CONAMA. **Resolução n.º 357, de 17 de março de 2005**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, Publicada no DOU nº 053, p. 58-63, 2005.

BRASIL. Vigilância e controle da qualidade da água para consumo humano. **Ministério da Saúde**. Brasília, DF, p. 1-213, 2006.

BORGES, G.M. **Diagnóstico e quantificação da perda de cobertura vegetal em um remanescente de Mata Atlântica (Reserva Ecológica de Gurjaú - Pernambuco - Brasil)**. Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2002.

BUKATSCH, F. Bemerkungen zur doppelfärbung astrablau-safranin. **Mikrokosmos**, v. 61, p. 255, 1972.

BUSH, R.T.; MCINERNEY, F.A. Leaf wax n-alkane distributions in and across modern plants: Implications for paleoecology and chemotaxonomy. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v. 117, p. 161-179, 2013.

CALLISTO, M.; GONÇALVES J.J. F.; MORENO, P. Invertebrados aquáticos como bioindicadores. Navegando o rio das Velhas das Minas aos Gerais: Proj. Manuelzão. Belo Horizonte: **Coopmed**, v. 1, p. 555-567, 2005.

CHAMBERS, P.A.; LACOUL, P.; MURPHY, K.J.; THOMAZ, S.M. Global diversity of aquatic macrophytes in freshwater. **Hydrobiologia**, v. 595, p. 9-26, 2008.

CORNATIONI, M.B. **Análises físico-químicas da água de abastecimento do município de Colina (SP)**. Trabalho de Conclusão de Curso, p.1-27, 2010.

CUNHA, D.G.F.; CALIJURI, M.C.; LAMPARELLI, M.C. A trophic state index for tropical/subtropical reservoirs (TSI). **Ecological Engineering**, v. 60, p. 126-134, 2013.

DONADIO, N.M.M.; GALBIATTI, J. A.; PAULA, R. C. Qualidade da água de nascentes com diferentes usos do solo na bacia hidrográfica do Córrego Rico, São Paulo, Brasil. **Engenharia Agrícola**, p. 115-125, 2005.

DUKA, S.; CULLAJ, A. Evaluation of chlorophyll as the primary index for trophic state classification. **Journal of Environmental Protection and Ecology**, v. 10, p. 401-410, 2009.

DVORAKI J.; BESTZ, E.P.H. Macro-invertebrate communities associated with the macrophytes of Lake Vechten: structural and functional relationships. **Hydrobiologia**, v. 95, 115-126, 1982.

EGLINTON, G.; HAMILTON, R.J. Leaf epicuticular waxes. **Science**, v. 156, 1-13, 1967.

ESCH, A.; MENGEL, K., Combined effects of acid mist and frost drought on the water status of young spruce trees (*Picea abies*). **Environmental and Experimental Botany**, v. 39, p. 57-65, 2002.

ESTEVEZ, F.A (Org.) et al. **Fundamentos de Limnologia**. Ed. Rio de Janeiro: Interciência. 3ª edição, p. 602, 2011.

FEDERLE, W.; RHEINDT, F. E. Macaranga ant-plants hide food from intruders: correlation of food presentation and presence of wax barriers analysed using phylogenetically independent contrasts. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 84, p. 177-193, 2002.

FERDOUSHI, Z.; et al. The Effects of two Aquatic Floating Macrophytes (*Lemna* and *Azolla*) as Biofilters of Nitrogen and Phosphate in Fish Ponds. **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 8, p. 253-258, 2008.

FERREIRA, G. L. B. V.; FERREIRA, N. B. V. Fundamentos da Política Nacional de Recursos Hídricos. **XIII SIMPEP**, Bauru (SP), 2006.

FIA, R.; et al. Qualidade da água de um ecossistema lótico urbano. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v. 20, 267-275, 2015.

FIDEM, Proteção das áreas estuarinas. Fundação de Desenvolvimento da Região Metropolitana do Recife. **Série de Desenvolvimento Urbano e Meio Ambiente**, Recife, 1987.

FORNO, I. W., HARLEY, K. L. S., The occurrence of *Salvinia molesta* in Brazil. **Aquatic Botany**, v. 6, p.185-187, 1979.

GUEDES, H.A. et al. Aplicação da análise estatística multivariada no estudo da qualidade da água do rio Pomba-MG. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 16, p.1- 5, 2012.

GOMES, A. C., AOKI, C. Efeito da sazonalidade hídrica sobre a fitossociologia de macrófitas aquáticas em uma lagoa no Pantanal, Brasil. **Revista Biologia Neotropical**, v. 12, p.1-7, 2015.

GOMES, A. et al. Efeito da salinidade sobre pigmentos fotossintéticos, prolina, biomassa e óxido nítrico em *Salvinia auriculata* Aubl. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 29, p. 1-13, 2017.

GUIMARÃES, M.D.A. et al. Toxicidade e tolerância ao cádmio em plantas. **Revista Trópica-Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 2, p. 58-68, 2008.

GUTBERLET J. Uso de *Sphagnum recurvum*, P. Beauv como biofiltro no monitoramento de poluição área industrial de metais pesados. **Acta botânica brasílica**, v. 2, p.103-114, 1988.

HENRY-SILVA, G.G.; CAMARGO, A.F.M. Composição química de macrófitas aquáticas flutuantes utilizadas no tratamento de efluentes de aquicultura. **Planta Daninha**, v. 24, p. 21-28, 2006.

HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. The water-culture method for growing plants without soil. California: **California Agricultural Experimental Station**, p.32. 1950.

HOLLOWAY P. J. Structure and histochemistry of plant cuticular membranes: an overview. **The plant cuticle**, Academic Press, London. p. 1-32, 1982.

IRGANG, B. E.; GASTAL JR. C. V. S. Macrófitas Aquáticas da Planície Costeira do Rio Grande do Sul, **Porto Alegre**, p. 290, 1996.

JAMPEETONG, A.; BRIX, H. Nitrogen nutrition of *Salvinia natans*: effects of inorganic nitrogen form of growth, morphology, nitrate reductase activity and uptake kinetics of ammonium and nitrate. **Aquatic Botany**, v. 90, p.67-73, 2009.

JEFFREE, C. E. The cuticle, epicuticular waxes and trichomes of plants, with reference

to their structure, functions and evolution. **Insects on the plant surface**, p. 23-64, 1986.

JIANQIN, M.; JINGJING, G.; XIAOJIE, L. Water quality model based on principal component analysis and information entropy: application in Jinshui River. **Journal of Resources and Ecology**, v. 3, p.249-252, 2010.

JOAQUIM W.M. et al. Year season on epicuticular waxes in leaves of *Echinodorus grandiflorus* (Cham. & Schlttdl.) Micheli (Alismataceae). **Naturalia**, v. 3, p.8-19, 2010.

Johansen, D.A. Plant microtechnique. **McGraw-Hill Book Company**, London; p.530, 1940.

JULIEN, M. H.; CENTER, T. D.; TIPPING, P. W. Floating fern (salvinia). **Biological control of invasive plants in the Eastern United States (FHTET-2002–2004)**. United States Department of Agriculture Forest Service, Washington, p. 17-32, 2002.

KARNOVSKY M.J. 1965. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. **The Journal of Cell Biology**, v.27, p.137-138.

KIM, K. S.; PARK, S.; H., JENKS, M. A. Changes in leaf cuticular waxes of sesame (*Sesamum indicum* L.) plants exposed to water deficit. **J. Plant Physiology**, v.164, p. 1134- 1143, 2007.

KOSMA, D. K., et al. The impact of water deficiency on leaf cuticle lipids of *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, v.151, p.1918-1929, 2009.

LAMPARELLI, M. C. **Graus de trofia em corpos d'água do estado de São Paulo: avaliação dos métodos de monitoramento**. 2004. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

LACERDA, C. H. F., et al. Influence of aquatic plants on the predation of *Piaractus mesopotamicus* larvae by *Pantala flavescens*. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, Maringá, v. 32, p. 147-151, 2010.

LAURIDSEN, T.L.; JEPPESEN, E.; ANDERSEN, F.O. Colonization of submerged

macrophytes in shallow fish manipulated Lake Vaeng: impact of sediment composition and waterfowl grazing. **Aquatic Botany**, v. 46, p. 1-15, 1993.

LIZIERI, C.; KUKI, K.N.; ROSANE, A. The morphophysiological responses of free-floating aquatic macrophytes to a supra-optimal supply of manganese. **Water, Air and Soil Pollution**, v. 223, p. 2807-2820, 2012.

LORDELO, L.M.K. et al. Qualidade das águas superficiais e subterrâneas do município de Santa Brígida sertão da Bahia, para abastecimento humano. **IV Congresso Baiano de Engenharia Sanitária e Ambiental**, Cruz das Almas, Bahia. p.2. 2016.

LEWIS, M. A. Use of freshwater plants for phytotoxicity testing: a review. **Environmental Pollution**, v. 87, p. 319- 336, 2005.

LONE, P. A.; BHARDWAJ, A. K.; SHAH, K. W. Macrophytes as Powerful Natural Tools for Water Quality Improvement. **Research Journal of Botany**, v.9, p. 24-30, 2014.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. Piracicaba: **Potafos**, v. 2, p. 319, 1997.

MARION L.; PAILLISSON J.M. A mass balance assessment of the contribution of floating-leaved macrophytes in nutrient stocks in an eutrophic macrophyte-dominated lake. **Aquatic Botany**, v. 75, p. 249-260, 2002.

MERTEN, G. H.; MINELLA, J. P. Qualidade da água em bacias hidrográficas rurais: um desafio atual para a sobrevivência futura. **Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável**, Porto Alegre, v. 3, p.33-38, 2002.

MICKEL, J.T.; SMITH, A.R. The pteridophytes of Mexico. **Memoirs of the New York Botanical Garden**, v. 88, p. 1054, 2004.

MITTELBACH, G.G.; et al. What is the observed relationship between species richness and productivity? **Ecology**, v. 82, p. 2381-2396, 2001.

MORAES, L.A.F. A visão integrada da ecologia para o manejo sustentável dos ecossistemas aquáticos. **Oecologia Brasiliensis**, v. 13, p. 676-687, 2009.

MULLER, C.; RIEDERER, M. Plant surface properties in chemical ecology. **Journal of Chemical Ecology**, v. 31, p. 2621-2651, 2005.

MORUZZI, R. B.; REALI, M. A. P. Oxidação e remoção de ferro e manganês em águas para fins de abastecimento público ou industrial: uma abordagem geral. **Revista de Engenharia e Tecnologia**, v. 4, p. 29-43, 2012.

NAVAL, P. L.; CLEMENTE COUTO, T. Remoção de nitrogênio amoniacal em efluentes de sistemas anaeróbios. **In Congresso Regional, IV Región, AIDIS Paraguay**, v. 5, p. 1-5, 2005.

NORIEGA, C.E.D. **Estado trófico e balanço biogeoquímico dos nutrientes não conservativos (N e P), na região Metropolitana do Recife - Brasil**. Tese de Doutorado, Recife, p.101, 2010.

NÓBREGA, A. S. C. **Fontes de contaminação no estuário do rio Capibaribe, Pernambuco**. Trabalho de Conclusão de Curso, UFPE, p.1-57, 2011.

NORIEGA, C. E. D. **Estado trófico e balanço biogeoquímico dos nutrientes não conservativos (N e P), na Região Metropolitana do Recife - Brasil**. Tese de Doutorado, Recife, p.1-101, 2010.

ODUM, E. P. *Ecologia*. Rio de Janeiro: Guanabara, v. 2, p. 201,1988.

OLIVEIRA, M. A. G. D. **Anatomia e micromorfologia de *Salvinia auriculata* Aubl. (Salviniaceae) submetida ao arsênio**. Dissertação de Mestrado, p.1-47, 2012.

OLIVEIRA, A.F.M.; MEIRELLES, S.T.; SALATINO, A. Epicuticular waxes from caatinga and cerrado species and their efficiency against water loss. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 75, p. 431-439, 2003.

OSBORNE, R.; SALATINO, A.; SALATINO, M.L.F. Alkanes of foliar waxes of the genus *Encephalartos*, **Phytochemistry**, v. 28, p. 3027-3030, 1989.

PAOLIELLO, M. M. B.; CHASIN A. A. M. Ecotoxicologia do chumbo e seus compostos. Salvador. **Cadernos de Referência Ambiental**, v. 3, p.144, 2001.

PARRON, L.M.; MUNIZ, D.H.F.; PEREIRA, C.M. Manual de procedimentos de amostragem e análise físico-química de água. **Embrapa Florestas**, p.10, 2011.

PRADO, J. Criptógamos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP. Pteridophyta: 18. Salviniaceae. **Hoehnea**, v. 33, p.107-110, 2006.

PEIXOTO, P. H. P.; PIMENTA, D. S.; ANTUNES, F. Efeitos do flúor em folhas de plantas aquáticas de *Salvinia auriculata*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, p. 727- 734, 2005.

PURVIS, M.; COLLIER, D.; WALLS, D. Laboratory techniques in botany. **Butterworths**, London, 1964.

RENOVATO, D. C. C.; SENA C. P. S.; SILVA M. M. F. **Análise de parâmetros físico- químicos das águas da barragem pública da cidade de pau dos ferros (RN) – pH, cor, turbidez, acidez, alcalinidade, condutividade, cloreto e salinidade**. IX Congresso de Iniciação Científica do IFRN, p.10, 2013.

RIBEIRO-NETO, A. et al. Infrastructure sufficiency in meeting water demand under climate-induced socio- hydrological transition in the urbanizing Capibaribe River basin – Brazil. **Hydrology and Earth System Sciences**, v. 18, p. 3449-3459, 2014.

RICE, E.W. Standard Methods for Examination of Water and Wastewater American Public Health Association. American Public Health Association, American Water Works Association, **Water Environment Federation**, Washington, v. 22, p. 1496, 2012.

SALATINO, M. et al. Alkanes of foliar epicuticular waxes of Velloziaceae. **Phytochemistry**, v. 28, p. 1105–1114, 1989.

SANTANNA-SANTOS, B. F. Effects of simulated acid rain on leaf anatomy and micromorphology of *Genipa americana* L. (Rubiaceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 49, p. 313-321, 2006.

SANTOS, B. F. S. **Avaliação dos efeitos fitotóxicos do flúor em *Spondias dulcis* Forst F. (Anacardiaceae), espécie tropical sensível**. Tese de doutorado, UFV, p. 1-102, 2008.

SANTOS, D. R. et al. Poluentes orgânicos e inorgânicos. Qualidade dos sedimentos. **Associação Brasileira Recursos Hídricos**, Porto Alegre, p.1-397, 2006.

SCHINDLER, D.W. et al. Eutrophication of lakes cannot be controlled by reducing nitrogen input: results of a 37-year whole-ecosystem experiment. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, p. 11254-11258, 2008.

SCREMIN-DIAS, Edna; POTT, Vali Joana; DA HORA, Regis Catarino. **Nos jardins submersos da Bodoquena: guia para identificação de plantas aquáticas de Bonito e região**. ECOA-Ecologia e Ação, 1999.

SILVA, K. L. F. **Avaliações de biomarcadores anatômicos e fisiológicos em plantas expostas ao arsênio**. Tese de Doutorado, UFV, p. 1-109, 2008.

SILVA, H.K.P. Concentrações de metais pesados nos sedimentos do estuário do rio Capibaribe, na região metropolitana do Recife (RMR), Pernambuco, Brasil, p.129. 2004.

SILVA, L.C.D. **Avaliações bioquímicas, fisiológicas e anatômicas dos efeitos de poluentes atmosféricos sobre espécies vegetais de restinga**. Tese de Doutorado, Viçosa, p.132, 2003.

SILVA, L. C. et al. Flúor em chuva simulada: sintomatologia e efeitos sobre a estrutura foliar e o crescimento de plantas arbóreas. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 23,p.375-383, 2000.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. Editora Varela, São Paulo, v. 2, p. 295, 2001.

SILVA, T.A. **Zooplâncton do Estuário do rio Capibaribe, Recife-PE (Brasil)**. Trabalhos Oceanográficos da UFPE, Recife, v. 24, 79-102, 1994.

SIMON, T.; EBERHARD, A.; ROHR, R. Effect of Ni and As on radish tuber cultivated on artificially polluted soils. **European Journal of soil Biology**, v. 36, p. 73-80, 2000.

SINGH, A.; AGRAWAL, M. Response of two cultivars of *Triticum aestivum* L. to

simulated acid rain. **Environmental Pollution**, v. 91, p. 161-167, 1996.

SOUZA, V.L. et al. Efeitos do cádmio na anatomia e na fotossíntese de duas macrófitas aquáticas. **Acta Botanica Brasilica**, v. 23, p. 343-354, 2009.

SOARES, D. C. F. et al. *Salvinia auriculata*: Aquatic bioindicator studied by instrumental neutron activation analysis (INAA). **Applied Radiation and Isotopes**, v. 66, p. 561-564, 2008.

SOIKKELI, S. Comparison of cytological injuries in conifer needles industrial environments in Finland. **Annales Botanici Fennici**, v. 18, p. 47-61, 1981.

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

PINHEIRO, R.B.; et al. Outorga para lançamento de efluentes - Uma metodologia de apoio à gestão de recursos hídricos. **Revista Brasileira de Recursos Hídricos**, v. 18, p.1-4, 2013.

TABARELLI, M. J. A. (Org.) Diversidade biológica e conservação da floresta atlântica ao norte do rio São Francisco. **Ministério do Meio Ambiente**, Brasília, p. 23-37, 2006.

THOMAS S. M.; BINI L.M. Análise crítica dos estudos sobre macrófitas aquáticas desenvolvidos no Brasil. In Ecologia e manejo de macrófitas aquáticas. **Editora da Universidade Estadual de Maringá**, Maringá, p.19, 2003.

THOMAZ, S. M.; CUNHA, E. R. The role of macrophytes in *habitat* structuring in aquatic ecosystems: methods of measurement, causes and consequences on animal assemblages composition and biodiversity. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 22, p. 218- 236, 2010.

TOLEDO, J. J.; PENHA, J. Performance of *Azolla caroliniana* Willd. and *Salvinia auriculata* Aubl. on fish farming effluent. **Brazilian Journal Biology**, v. 71, p.37-45, 2011.

VECCHIA, F.D. et al. Morfhogenetic ultrastructural and physiological damages suffered by submerged leaves of *Elodea canadensis* exposed to cadmium. **Plant Scienc, Ecology and the Environment**, v. 102, p. 3, 2005.

VON SPERLING, M. Princípios do tratamento biológico de águas residuárias: Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos. Belo Horizonte: **DESA-UFMG**, v. 3, p.452, 2005.

WANG, W., et al. Effects of high ammonium level on biomass accumulation of common duckweed *Lemna minor* L. **Environmental Science and Pollution Research**, v.21, p. 14202-14210, 2014.

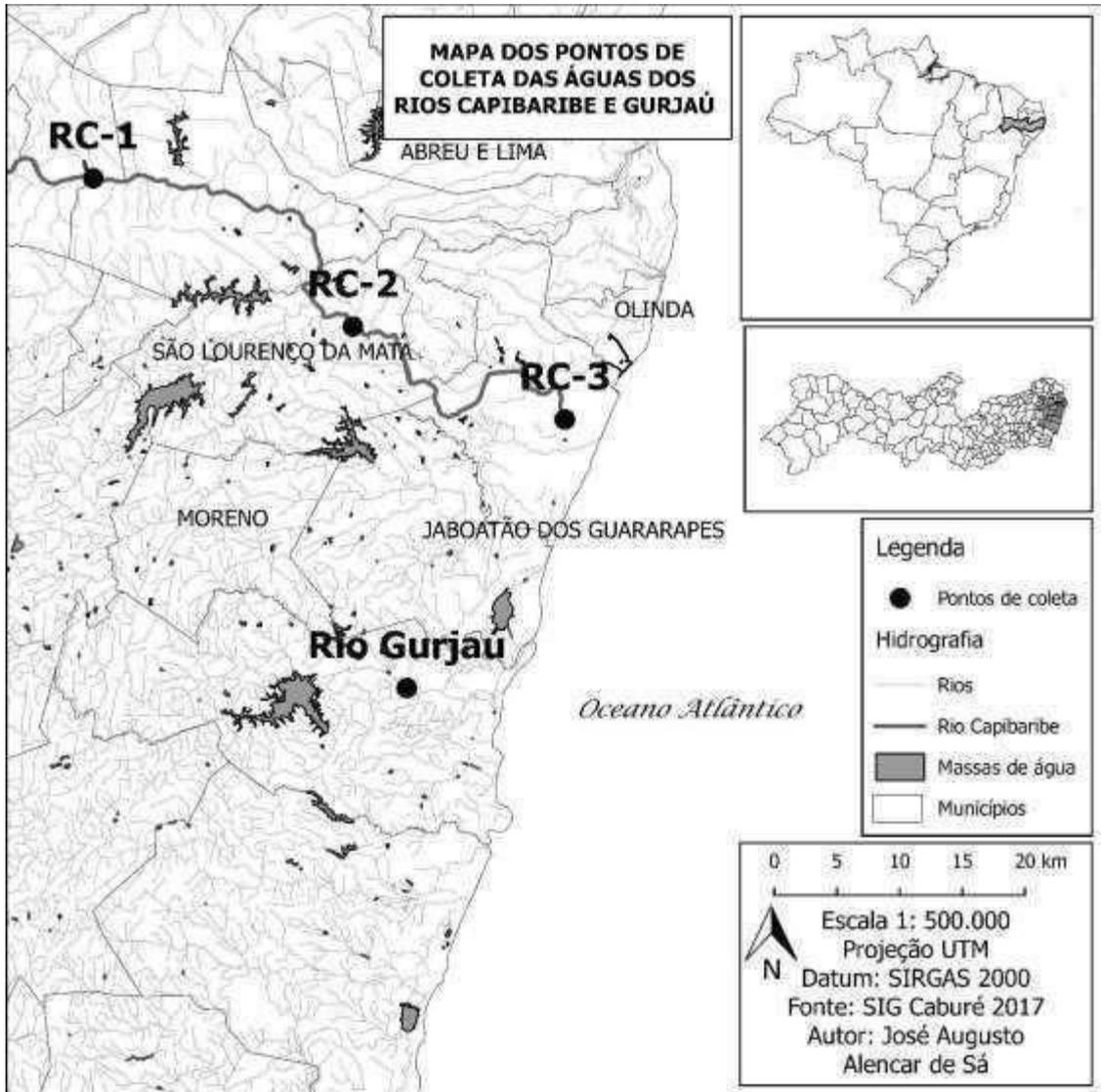
WETZEL, R. G. Effects and ion toxicity. *Limnologia*. Fundação Gulbenkian. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 56, p.148-154, 1993.

WOLFF, G. A. et al. The use of *Salvinia auriculata* as a bioindicator in aquatic ecosystems: biomass and structure dependent on the cadmium concentration. **Brazilian Journal of Biology**, v. 72, p. 71-77. 2012.

XAVIER, L.R.C.C. Urbanization effects on the composition and structure of macrophytes communities in a lotic ecosystem of Pernambuco State. **Brazilian Journal of Biology**, v. 76, p. 888-897, 2016.

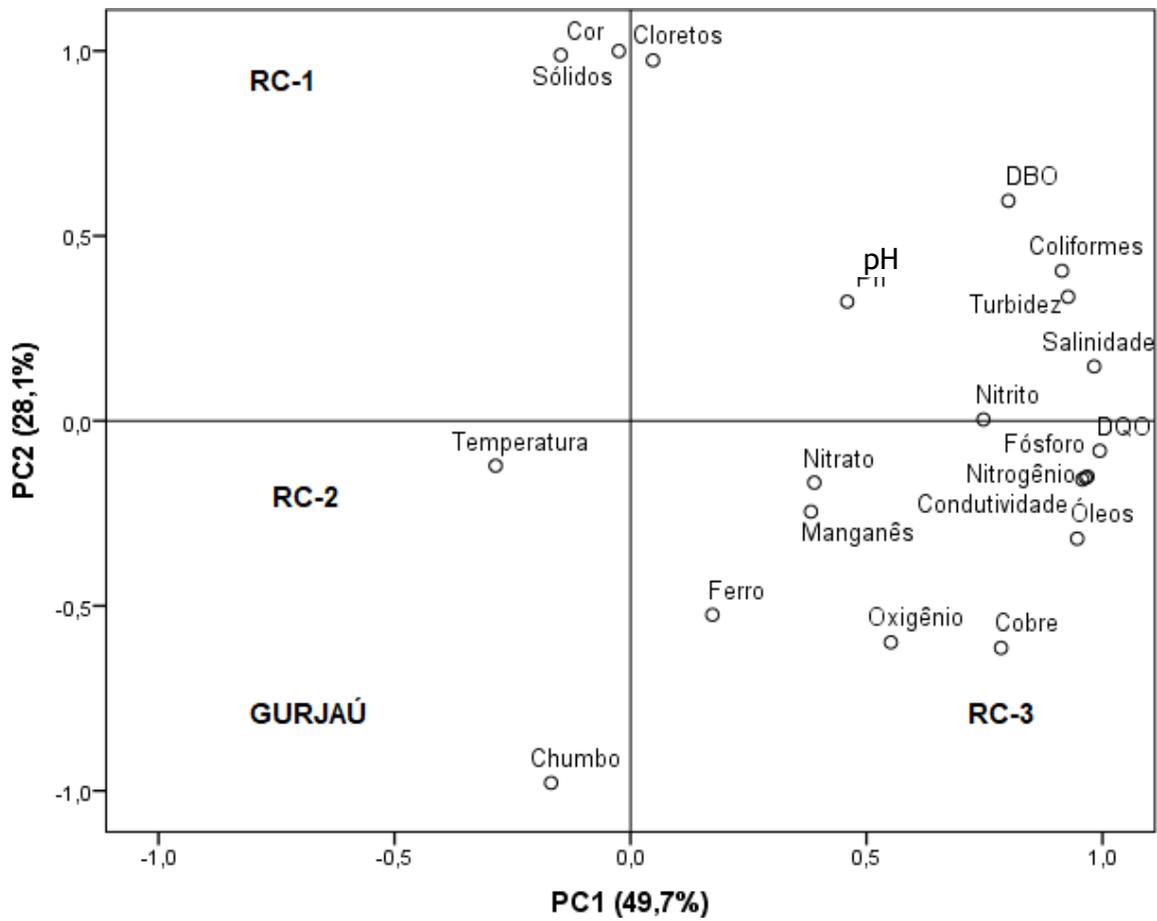
ZANARDI-LAMARDO, E. et al. Fontes e níveis de contaminação do sistema estuarino do rio Capibaribe (Pernambuco/ Brasil). **Tropical Oceanography**, v. 44, p.1-15, 2016.

Figura 1- Localização aeroespacial dos pontos de amostragem nos rios Gurjaú e Capibaribe (RC-1, RC-2 e RC-3), no estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil.



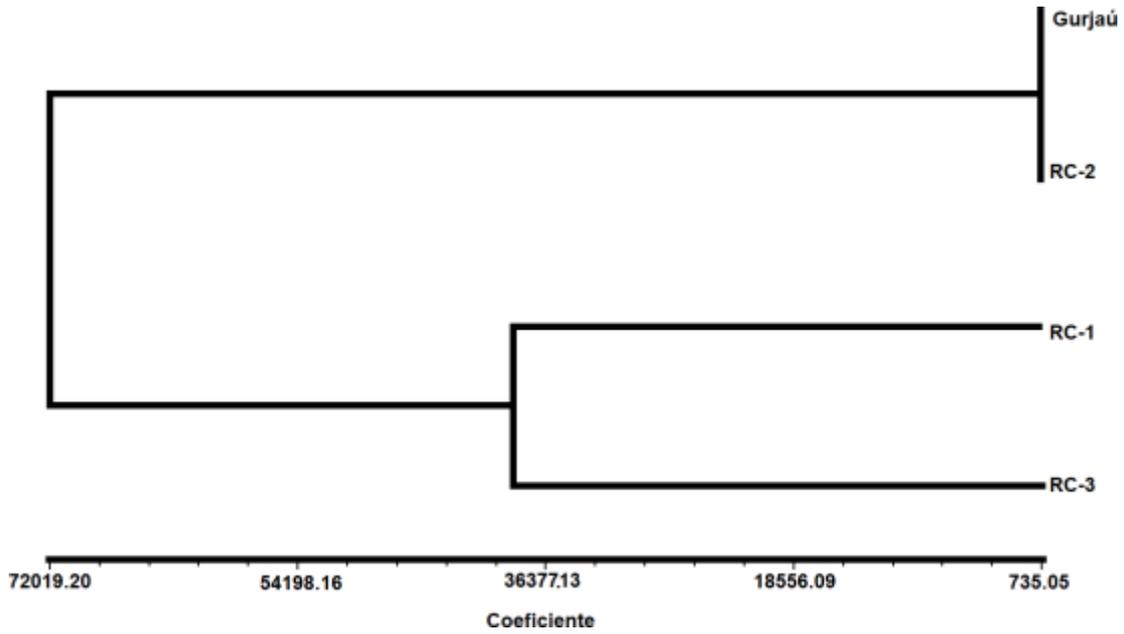
(Fonte: Dados da Pesquisa, 2018).

Figura 2-Análise dos componentes principais utilizando 21 parâmetros físico-químicos e biológicos da água dos rios Gurjaú e Capibaribe (RC-1, RC-2 e RC-3).



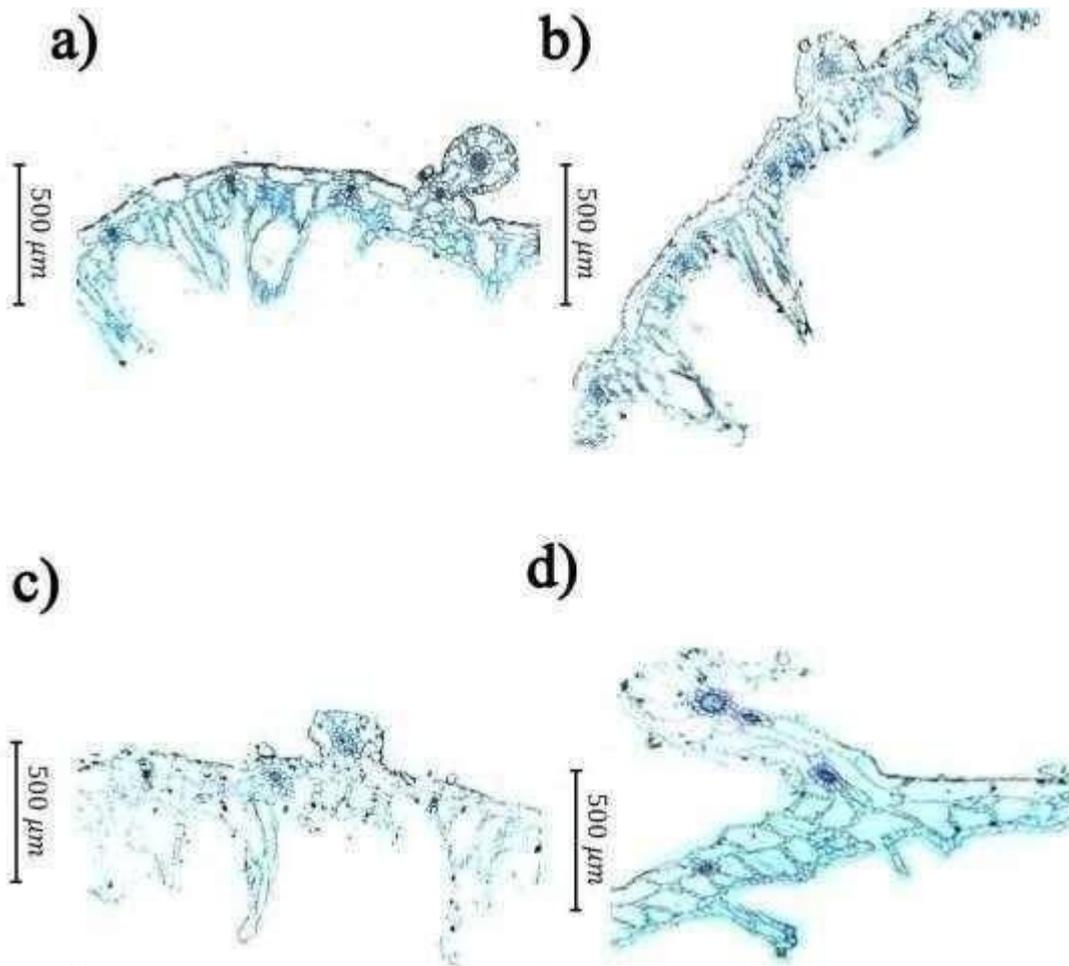
(Fonte: Dados da Pesquisa, 2018).

Figura 3- Dendrograma de similaridade com base em 21 parâmetros físico-químicos e biológicas da água dos rios Gurjaú e Capibaribe (RC-1, RC-2 e RC-3), determinado pelo coeficiente de distâncias Euclidianas e método UPGMA de agrupamento.



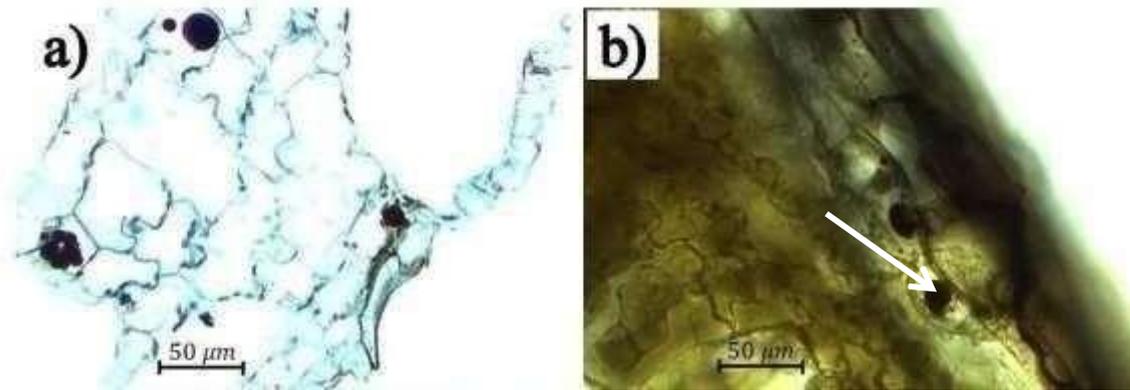
(Fonte: Dados da Pesquisa, 2018).

Figura 4- Cortes transversais realizados em folhas com colorações de azul de Astra em folhas completamente expandidas flutuantes de *Salvinia auriculata* com quinze dias de bioensaio, submetidas às amostras de água do grupo controle (solução de Hoagland) e às amostras de águas do rio Capibaribe respectivamente ao grupo controle (a), RC-1 (b), RC-2 (c) e RC-3 (d).



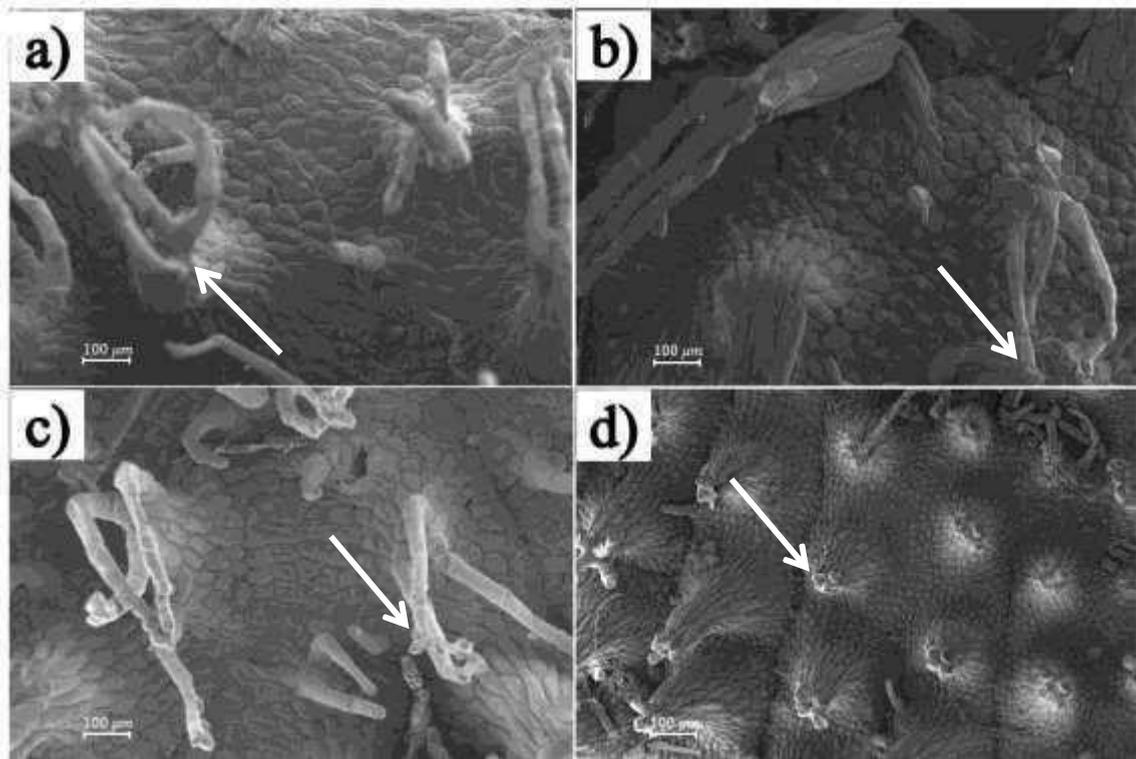
(Fonte: Dados da Pesquisa, 2018).

Figura 5- Corte transversal da folha completamente expandida flutuante de *Salvinia auriculata* da amostra de água RC-3. (a): observa-se presença de pigmentos escuros no parênquima; (b): análise histoquímica com cloreto férrico para confirmar a presença de compostos fenólicos no interior das células (seta) de *S. auriculata*.



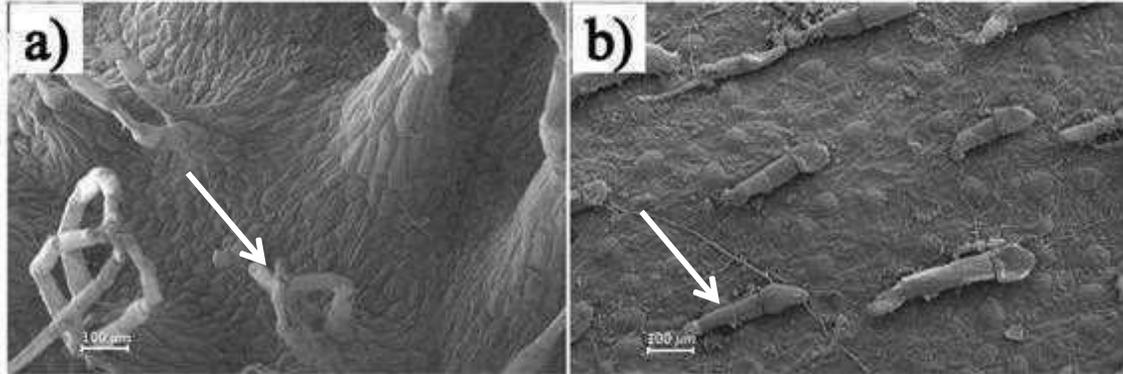
(Fonte: Dados da Pesquisa, 2018).

Figura 6- Eletromicrografia de varredura da superfície foliar de *Salvinia auriculata*, em solução de Hoagland evidenciando os tricomas tectores pluricelulares. As setas indicam os tricomas tectores pluricelulares: face adaxial (a) e face abaxial (b).



(Fonte: Dados da Pesquisa, 2018).

Figura 7: Microscopia eletrônica de varredura da face adaxial de folhas flutuantes de *Salvinia auriculata*. As setas indicam as estruturas dos tricomas tectores pluricelulares submetidos: controle (Hoagland) (a), RC-1(b), RC-2 (c) e RC-3 (d).



(Fonte: Dados da Pesquisa, 2018).

Tabela 1-Resultados das variáveis físico-químicas e biológicas analisadas nas amostras de águas coletadas nos rios Gurjaú e Capibaribe (RC-1, RC-2 e RC-3). (Fonte: Dados da Pesquisa, 2018).

Parâmetros	Rios				Metodologia*
	Gurjaú	Capibaribe			
		RC-1	RC-2	RC-3	
pH	6,7 ± 0,1	7,3 ± 0,2	7,6 ± 0,4	7,7 ± 0,2	SMEWW 4500-H+
Temperatura (°C)	26,6 ± 0,1	26,7 ± 0,0	28 ± 0,1	27,0 ± 0,1	SMEWW 2550
Turbidez (NTU)	0,01 ± 0,0	15,0 ± 0,4	4,5 ± 0,2	30,0 ± 0,2	SMEWW 2130
Condutividade (µS)	5,5 ± 0,4	2.270 ± 0,1	440 ± 5,0	7.780 ± 4,0	SMEWW 2510 B
DQO (mg/L)	468,8 ± 5,0	485,0 ± 1,2	89 ± 1,0	1.660 ± 37,0	SMEWW 5220 D
DBO (mg/L)	1,2 ± 0,1	12 ± 0,2	1,4 ± 0,3	14,1 ± 0,3	SMEWW 5220 D
Oxigênio dissolvido (mg/L)	6,0 ± 0,3	3,6 ± 0,4 ^{nc}	6,2 ± 0,3	7,0 ± 0,1	SMEWW 5220 D
Nitrogênio amoniacal (mg/L)	0,01 ± 0,0	0,01 ± 0,0	0,6 ± 0,2	20,6 ± 0,1 ^{nc}	SMEWW 4500-NH3 F
Nitrito (mg/L)	3,1 ± 0,2 ^{nc}	2,84 ± 0,1 ^{nc}	0,25 ± 0,0	3,98 ± 0,0 ^{nc}	SMEWW 4500-NO2
Nitrato (mg/L)	0,7 ± 0,1	0,84 ± 0,0 ^{nc}	2,0 ± 0,2	2,0 ± 0,0 ^{nc}	SMEWW 4500-NO3
Fósforo total (µg/L)	0,026 ± 2,6 ^{nc}	0,029 ± 5,5 ^{nc}	0,04 ± 0,0 ^{nc}	0,91 ± 0,0 ^{nc}	SMEWW 4500-P C
Cobre (mg/L)	0,25 ± 0,0 ^{nc}	0,04 ± 0,0 ^{nc}	0,1 ± 0,0 ^{nc}	0,4 ± 0,0 ^{nc}	SMEWW 3500-Cu B
Ferro total (mg/L)	1,59 ± 0,0 ^{nc}	1,18 ± 0,1 ^{nc}	1,0 ± 0,1 ^{nc}	1,3 ± 0,1 ^{nc}	SMEWW 3500-Fe
Chumbo (mg/L ⁻¹)	0,002 ± 0,5	0,001 ± 1,1	0,0016 ± 0,0	0,0015 ± 0,0	SMEWW 3500-Pb
Manganês (mg/L)	0,01 ± 0,0	0,01 ± 0,0	4,0 ± 1,0 ^{nc}	4,0 ± 0,8 ^{nc}	SMEWW 3500-Mn
Cor (mg/L PtCo)	45,2 ± 2,5	87,2 ± 2,6	60,7 ± 0,9	54,0 ± 2,0	SMEWW 2120 C
Cloretos (mg/L Cl/L)	8,1 ± 0,7	772,9 ± 5,8	88,2 ± 7,5	192,5 ± 2,0	SMEWW 4500-Cl- B
Óleos e graxas totais (mg/L)	20,0 ± 1,7	9,0 ± 0,4	10 ± 0,2	57,3 ± 1,1	SMEWW 5220 D
Sólidos totais (mg/L ⁻¹)	1.649 ± 45,2	994 ± 5,0	334 ± 26,6	300 ± 31,0	SMEWW 2540 B
Coliformes termotolerantes (NMP)	1.000 ± 1,0	54.000 ± 2,0 ^{nc}	1.300 ± 17,0 ^{nc}	92.000 ± 2,0 ^{nc}	SMEWW 9223
Salinidade (mg/L ⁻¹)	0,1 ± 0,1	1,4 ± 0,2	0,2 ± 0,1	4,3 ± 0,15	SMEWW 2510 B

* Standard Methods for Examination of Water and Wastewater American Public Health Association (Rice et al., 2012). nc = Parâmetro em não conformidade com a Resolução CONAMA 357/2005.

Tabela 2- Espessura média da cutícula, mesofilo e da nervura central de *Salvinia auriculata* submetidas às amostras de águas do grupo controle e do rio Capibaribe (RC- 1, RC-2 e RC-3) após 15 dias de bioensaio.

Amostras	Espessura (μm)		
	Cutícula	Mesofilo	Nervura Central
Controle*	$4,75 \pm 1,78\text{ab}$	$24,95 \pm 7,68\text{ab}$	$12,50 \pm 1,68\text{a}$
RC-1	$5,40 \pm 2,30\text{a}$	$26,40 \pm 9,90\text{a}$	$14,00 \pm 2,70\text{a}$
RC-2	$3,80 \pm 2,38\text{ab}$	$15,35 \pm 5,59\text{b}$	$12,90 \pm 2,27\text{a}$
RC-3	$3,25 \pm 1,37\text{b}$	$23,85 \pm 11,18\text{ab}$	$13,45 \pm 3,80\text{a}$

* Solução de Hoagland. Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0.05$). Os valores são médias de vinte repetições (\pm DP).

(Fonte: Dados da Pesquisa, 2018).

Tabela 3- Morfometria foliar de *Salvinia auriculata* submetidas às amostras de águas do grupo controle e do rio Capibaribe (RC-1, RC-2 e RC-3) com 15 dias de bioensaio.

Amostras	Folha submersa	Comprimento (cm)		
		Folha flutuante completamente expandida	Ramete	Folha nova flutuante completamente expandida
Controle*	4,4 ± 1,73a	1,97 ± 0,38a	5,43 ± 1,75a	0,83 ± 0,15a
RC-1	3,97 ± 1,81a	1,77 ± 0,25a	4,77 ± 1,42a	0,5 ± 0,17a
RC-2	1,77 ± 0,21a	1,73 ± 0,06a	3,97 ± 2,47a	0,6 ± 0,00a
RC-3	2,63 ± 0,42a	1,87 ± 0,12a	4,63 ± 1,52a	0,40 ± 0,05a

* Solução de Hoagland. Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0.05$). Os valores são médias de três repetições (\pm DP).

(Fonte: Dados da Pesquisa, 2018).

Tabela 4- Teor de clorofila *a* e *b*, clorofila total e carotenoides de *Salvinia auriculata* submetidas às amostras de águas do grupo controle e do rio Capibaribe (RC-1, RC-2 e RC-3) após 15 dias de bioensaio.

Tratamentos	Pigmentos ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)			
	Clorofila <i>a</i>	Clorofila <i>b</i>	Clorofila total	Carotenoides
Controle*	41,99 \pm 13,92a	18,67 \pm 10,92a	60,66 \pm 10,48a	1,81 \pm 1,24a
RC-1	38,33 \pm 3,70a	22,66 \pm 7,60a	60,99 \pm 12,67a	1,96 \pm 0,35a
RC-2	37,99 \pm 7,07a	17,68 \pm 3,66a	55,67 \pm 3,68a	1,74 \pm 0,25a
RC-3	40,33 \pm 3,10a	20,01 \pm 16,22a	60,34 \pm 24,41a	2,09 \pm 1,81a

* Solução de Hoagland. Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0.05$). Os valores são médias de três repetições (\pm DP).

(Fonte: Dados da Pesquisa, 2018).

Tabela 5- Abundância relativa dos homólogos de *n*-alcanos de *Salvinia auriculata* submetidos às amostras de águas do grupo controle e do rio Capibaribe (RC-1, RC-2, RC-3) após 15 dias de bioensaio.

Amostras	<i>n</i> -alcanos (%)										Total
	C21	C22	C23	C25	C26	C27	C28	C29	C30	C31	
RC-1	0,9 ± 0,1	1,5 ± 0,1	10,76 ± 0,5	1,6 ± 0,1	3,9 ± 0,2	11,7 ± 0,5	1,3 ± 0,1	16,9 ± 2,0	8,9 ± 1,0	36,0 ± 5,0	93,4
RC-2	3,0 ± 0,2	4,7 ± 0,3	4,4 ± 0,3	3,9 ± 0,2	1,2 ± 0,1	14,1 ± 1,0	2,3 ± 0,1	30,5 ± 3,0	8,4 ± 1,0	10,1 ± 0,5	82,6
RC-3	2,8 ± 0,2	5,7 ± 0,4	5,8 ± 0,4	4,3 ± 0,2	2,0 ± 0,1	19,5 ± 2,0	1,5 ± 0,1	6,2 ± 0,4	8,3 ± 1,0	7,5 ± 0,6	63,6
Controle*	5,4 ± 0,3	6,5 ± 0,4	2,8 ± 0,2	2,8 ± 0,1	1,3 ± 0,1	8,0 ± 0,8	1,3 ± 0,1	10,9 ± 0,5	6,8 ± 0,5	37,9 ± 6,0	83,7

* Solução de Hoagland (Fonte: Dados da Pesquisa, 2018).

ANEXO A- NORMAS DA REVISTA AQUATIC BOTANY



AQUATIC BOTANY

An International Scientific Journal dealing with Applied and Fundamental Research on Macroscopic Submerged, Floating and Emergent Plants in Marine and Freshwater Ecosystems

AUTHOR INFORMATION PACK

TABLE OF CONTENTS

•	Description	p.1
•	Audience	p.2
•	Impact Factor	p.2
•	Abstracting and Indexing	p.2
•	Editorial Board	p.2
•	Guide for Authors	p.3



ISSN: 0304-3770

DESCRIPTION

Aquatic Botany offers a platform for papers relevant to a broad international readership on **fundamental and applied aspects of aquatic macroscopic plants in a context of ecology or environmental biology**. This includes molecular, biochemical and physiological aspects of macroscopic aquatic plants as well as the classification, structure, function, dynamics and ecological interactions in plant-dominated aquatic communities and ecosystems. It is an outlet for papers dealing with research on the **consequences of disturbance and stressors** (e.g. environmental fluctuations and climate change, pollution, grazing and pathogens), **use and management of aquatic plants** (plant production and decomposition, commercial harvest, plant control) and the **conservation of aquatic plant communities** (breeding, transplantation and restoration). Specialized publications on certain rare taxa or papers on aquatic macroscopic plants from under-represented regions in the world can also find their place, subject to editor evaluation. Studies on fungi or microalgae will remain outside the scope of *Aquatic Botany* unless these organisms are in relation to macroscopic aquatic plants.

Interesting for further reading:

Editorial: [What is a plant? and what is aquatic botany?](#)

Elisabeth M. Gross, Thomas Wernberg, Jorge Terrados [http://dx.doi.org/10.1016/S0304-3770\(16\)30052-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-3770(16)30052-3)

Editorial: [Aquatic botany since 1975: Have our views changed?](#)

Jan E. Vermaat, Elisabeth M. Gross <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquabot.2016.07.001>

Benefits to authors

We also provide many author benefits, such as free PDFs, a liberal copyright policy, special discounts on Elsevier publications and much more. Please click here for more information on our [author services](#).

Please see our [Guide for Authors](#) for information on article submission. If you require any further information or help, please visit our support pages: <http://support.elsevier.com>

AUDIENCE

Aquatic Botanists, Marine and Freshwater Ecologists.

IMPACT FACTOR

2015: 1.846 © Thomson Reuters Journal Citation Reports 2016

ABSTRACTING AND INDEXING

Aquatic Sciences and Fisheries Abstracts
 BIOSIS
 Current Contents/Agriculture, Biology & Environmental Sciences
 Marine Science Contents Tables
 Ecological Abstracts
 Ecology Abstracts
 Fisheries Review
 Freshwater and Aquaculture Contents Tables
 Scopus
 EMBiology

EDITORIAL BOARD

Editors-in-Chief:

Elisabeth M. Gross, Université de Lorraine, Metz, France

Thomas Wernberg, University of Western Australia, Crawley, Western Australia, Australia

Jorge Miguel Terrados, IMEDEA (Institut Mediterrani d'Estudis Avançats), Spain

Honorary Editor:

George Bowes, University of Florida, Gainesville, Florida, USA

Consulting Editor:

Cornelis den Hartog, Nijmegen, Netherlands

Editorial Advisory Board:

Jean Armstrong, Hull, UK

Sven Beer, Tel Aviv, Israel

Irmgard Blindow, Kloster, Germany

Hans Brix, Aarhus, Denmark

Melinda Coleman, Coffs Harbour, New South Wales, Australia

William Dennison, Cambridge, Maryland, USA

John Eaton, Liverpool, UK

Sabine Hilt, Berlin, Germany

Michiel Hootsmans, Nieuwegein, Netherlands

Donald Les, Storrs, Connecticut, USA

Stephen Maberly, Ambleside, UK

Erik-Jan Malta, Cadiz, Spain

Nuria Marba, Esporles (Iles Balears), Spain

Morten Pedersen, Roskilde, Denmark

Gloria Peralta Gonzalez, Puerto Real Cadiz, Spain

Tenna Riis, Risskov, Denmark

Fred Short, Durham, New Hampshire, USA

Brian Sorrell, Aarhus, Denmark

Mads Thomsen, Christchurch, New Zealand

John Titus, Binghamton, New York, USA

Brigitta van Tussenbroek, Ciudad Universitaria, Mexico

Li Wei, Wuhan, Hubei, China

GUIDE FOR AUTHORS

INTRODUCTION

Aquatic Botany is concerned with fundamental studies on structure, function, dynamics and classification of plant-dominated aquatic communities and ecosystems, as well as molecular, biochemical and physiological aspects of aquatic plants. It is also an outlet for papers dealing with applied research on plant-dominated aquatic systems, including the consequences of disturbance (e.g. transplantation, influence of herbicides and other chemicals, thermal pollution, biological control, grazing and disease), the use of aquatic plants, conservation of resources, and all aspects of aquatic plant production and decomposition.

Types of paper

1. Original research papers (Regular Papers)
2. Review articles
3. Short Communications
4. Letters to the Editor

Regular papers should report the results of original research. The material should not have been previously published elsewhere, except in a preliminary form.

Review articles should cover subjects falling within the scope of the journal which are of active current interest. They may be submitted or invited.

A Short Communication

Results and discussion can be combined in a short communication, while they should be separate sections in regular papers. Short Communications should be as completely documented, both by reference to the literature and description of the experimental procedures employed, as a regular paper. They should not occupy more than 3500 words including references, 2 figures or 2 tables or one of each

Letters to the Editor offering comment or appropriate critique on material published in the journal are welcomed. The decision to publish submitted letters rests purely with the Editor-in-Chief.

Authors are encouraged to place all species distribution records in a publicly accessible database such as the national Global Biodiversity Information Facility (GBIF) nodes (<http://www.gbif.org>) or data centers endorsed by GBIF, including BioFresh (<http://www.freshwaterbiodiversity.eu>)"

Submission checklist

You can use this list to carry out a final check of your submission before you send it to the journal for review. Please check the relevant section in this Guide for Authors for more details.

Ensure that the following items are present:

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address

All necessary files have been uploaded:

Manuscript:

- Include keywords
- All figures (include relevant captions)
- All tables (including titles, description, footnotes)
- Ensure all figure and table citations in the text match the files provided
- Indicate clearly if color should be used for any figures in print

Graphical Abstracts / Highlights files (where applicable)

Supplemental files (where applicable)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell checked' and 'grammar checked'
- All references mentioned in the Reference List are cited in the text, and viceversa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Internet)
- Relevant declarations of interest have been made

- Journal policies detailed in this guide have been reviewed
- Referee suggestions and contact details provided, based on journal requirements

For further information, visit our [Support Center](#).

BEFORE YOU BEGIN

Ethics in publishing

Please see our information pages on [Ethics in publishing](#) and [Ethical guidelines for journal publication](#).

Declaration of interest

All authors are requested to disclose any actual or potential conflict of interest including any financial, personal or other relationships with other people or organizations within three years of beginning the submitted work that could inappropriately influence, or be perceived to influence, their work. [More information](#).

Submission declaration and verification

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see '[Multiple, redundant or concurrent publication](#)' section of our ethics policy for more information), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service [CrossCheck](#).

Contributors

Each author is required to declare his or her individual contribution to the article: all authors must have materially participated in the research and/or article preparation, so roles for all authors should be described. The statement that all authors have approved the final article should be true and included in the disclosure.

Changes to authorship

Authors are expected to consider carefully the list and order of authors **before** submitting their manuscript and provide the definitive list of authors at the time of the original submission. Any addition, deletion or rearrangement of author names in the authorship list should be made only **before** the manuscript has been accepted and only if approved by the journal Editor. To request such a change, the Editor must receive the following from the **corresponding author**: (a) the reason for the change in author list and (b) written confirmation (e-mail, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed.

Only in exceptional circumstances will the Editor consider the addition, deletion or rearrangement of authors **after** the manuscript has been accepted. While the Editor considers the request, publication of the manuscript will be suspended. If the manuscript has already been published in an online issue, any requests approved by the Editor will result in a corrigendum.

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (see [more information](#) on this). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. [Permission](#) of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations. If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has [preprinted forms](#) for use by authors in these cases.

For open access articles: Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete an 'Exclusive License Agreement' ([more information](#)). Permitted third party reuse of open access articles is determined by the author's choice of [userlicense](#).

Author rights

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. [More information](#).

Elsevier supports responsible sharing

Find out how you can [share your research](#) published in Elsevier journals.

Role of the funding source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated.

Funding body agreements and policies

Elsevier has established a number of agreements with funding bodies which allow authors to comply with their funder's open access policies. Some funding bodies will reimburse the author for the Open Access Publication Fee. Details of [existing agreements](#) are available online.

Open access

This journal offers authors a choice in publishing their research:

Open access

- Articles are freely available to both subscribers and the wider public with permitted reuse.
- An open access publication fee is payable by authors or on their behalf, e.g. by their research funder or institution.

Subscription

- Articles are made available to subscribers as well as developing countries and patient groups through our [universal access programs](#).
- No open access publication fee payable by authors.

Regardless of how you choose to publish your article, the journal will apply the same peer review criteria and acceptance standards.

For open access articles, permitted third party (re)use is defined by the following [Creative Commons user licenses](#):

Creative Commons Attribution (CC BY)

Lets others distribute and copy the article, create extracts, abstracts, and other revised versions, adaptations or derivative works of or from an article (such as a translation), include in a collective work (such as an anthology), text or data mine the article, even for commercial purposes, as long as they credit the author(s), do not represent the author as endorsing their adaptation of the article, and do not modify the article in such a way as to damage the author's honor or reputation.

Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs (CC BY-NC-ND)

For non-commercial purposes, lets others distribute and copy the article, and to include in a collective work (such as an anthology), as long as they credit the author(s) and provided they do not alter or modify the article.

The open access publication fee for this journal is **USD 3300**, excluding taxes. Learn more about Elsevier's pricing policy: <http://www.elsevier.com/openaccesspricing>.

Green open access

Authors can share their research in a variety of different ways and Elsevier has a number of green open access options available. We recommend authors see our [green open access page](#) for further information. Authors can also self-archive their manuscripts immediately and enable public access from their institution's repository after an embargo period. This is the version that has been accepted for publication and which typically includes author-incorporated changes suggested during submission, peer review and in editor-author communications. Embargo period: For subscription articles, an appropriate amount of time is needed for journals to deliver value to subscribing customers before an article becomes freely available to the public. This is the embargo period and it begins from the date the article is formally published online in its final and fully citable form. [Find out more](#).

This journal has an embargo period of 24 months.

Elsevier Publishing Campus

The Elsevier Publishing Campus (www.publishingcampus.com) is an online platform offering free lectures, interactive training and professional advice to support you in publishing your research. The College of Skills training offers modules on how to prepare, write and structure your article and explains how editors will look at your paper when it is submitted for publication. Use these resources, and more, to ensure that your submission will be the best that you can make it.

Language services

Manuscripts should be written in English. Authors who are unsure of correct English usage should have their manuscript checked by someone proficient in the language. Manuscripts in which the English is difficult to understand may be returned to the author for revision before scientific review.

Authors who require information about language editing and copy editing services pre- and post-submission please visit <http://www.elsevier.com/languagepolishing> or our customer support site at <http://support.elsevier.com> for more information. Please note Elsevier neither endorses nor takes responsibility for any products, goods or services offered by outside vendors through our services or in any advertising. For more information please refer to our Terms & Conditions: <http://www.elsevier.com/termsandconditions>.

Submission

Our online submission system guides you stepwise through the process of entering your article details and uploading your files. The system converts your article files to a single PDF file used in the peer-review process. Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, is sent by e-mail.

Please submit your article via <http://ees.elsevier.com/aqbot/>

Referees

Please submit, with the manuscript, the names and e-mail addresses of 4 potential referees.

Page charges

Aquatic Botany has no page charges.

PREPARATION

Use of wordprocessing software

It is important that the file be saved in the native format of the wordprocessor used. The text should be in single-column format. The document must have line numbers inserted. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the wordprocessor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier: <http://www.elsevier.com/guidepublication>). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your wordprocessor.

Article structure

Subdivision - numbered sections

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Experimental

Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should be described.

Results

Results should be clear and concise.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Conclusions

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

Appendices

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. **Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.**
- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Abstract

A concise and factual abstract is required, no longer than 250 words. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separate from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, they must be cited in full, without reference to the reference list. Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

Graphical abstract

Although a graphical abstract is optional, its use is encouraged as it draws more attention to the online article. The graphical abstract should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531 × 1328 pixels (h × w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5 × 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. You can view [Example Graphical Abstracts](#) on our information site.

Authors can make use of Elsevier's Illustration and Enhancement service to ensure the best presentation of their images and in accordance with all technical requirements: [Illustration Service](#).

Highlights

Highlights are mandatory for this journal. They consist of a short collection of bullet points that convey the core findings of the article and should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point). You can view [example Highlights](#) on our information site.

Keywords

Immediately after the abstract, provide keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, "and", "of"). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Formatting of funding sources

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements:

Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa].

It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding.

If no funding has been provided for the research, please include the following sentence:

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Nomenclature and units

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other quantities are mentioned, give their equivalent in SI.

Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article. Many word processors can build footnotes into the text, and this feature may be used. Otherwise, please indicate the position of footnotes in the text and list the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Referencelist.

Artwork

Electronic artwork

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the published version.
- Submit each illustration as a separate file.

A detailed [guide on electronic artwork](#) is available.

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format.

Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.** Please indicate your preference for color: in print or online only. [Further information on the preparation of electronic artwork.](#)

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Tables

Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules.

References

Citation in text

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

Referencelinks

Increased discoverability of research and high quality peer review are ensured by online links to the sources cited. In order to allow us to create links to abstracting and indexing services, such as Scopus, CrossRef and PubMed, please ensure that data provided in the references are correct. Please note that incorrect surnames, journal/book titles, publication year and pagination may prevent link creation. When copying references, please be careful as they may already contain errors. Use of the DOI is encouraged.

A DOI can be used to cite and link to electronic articles where an article is in-press and full citation details are not yet known, but the article is available online. A DOI is guaranteed never to change, so you can use it as a permanent link to any electronic article. An example of a citation using DOI for an article not yet in an issue is: VanDecar J.C., Russo R.M., James D.E., Ambeh W.B., Franke M. (2003). Aseismic continuation of the Lesser Antilles slab beneath northeastern Venezuela. *Journal of Geophysical Research*, <http://dx.doi.org/10.1029/2001JB000884>. Please note the format of such citations should be in the same style as all other references in the paper.

Web references

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the referencelist.

Data references

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

References in a special issue

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference management software

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support [Citation Style Language styles](#), such as [Mendeley](#) and [Zotero](#), as well as [EndNote](#). Using the word processor plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide.

Users of Mendeley Desktop can easily install the reference style for this journal by clicking the following link:

<http://open.mendeley.com/use-citation-style/aquatic-botany>

When preparing your manuscript, you will then be able to select this style using the Mendeley plug-ins for Microsoft Word or LibreOffice.

Free Reference Style

There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct. If you do wish to format the references yourself they should be arranged according to the following example:

[dataset] Oguro, M., Imahiro, S., Saito, S., Nakashizuka, T., 2015. Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions. Mendeley Data, v1. <http://dx.doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.

Reference style

Text:

All citations in the text should refer to:

1. *Single author:* the author's name (without initials, unless there is ambiguity) and the year of publication;
 2. *Two authors:* both authors' names and the year of publication;
 3. *Three or more authors:* first author's name followed by "et al." and the year of publication.
- Citations may be made directly (or parenthetically). Groups of references should be listed chronologically.

List: References should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters "a", "b", "c", etc., placed after the year of publication.

Use the following system for arranging your references:

a. For periodicals

Stewart, D.A., Agnew, D., Boyd, R., Briggs, R., Toland, P., 1993. The derivation of changes in Nephrops per unit effort values for the Northern Ireland fishing fleet. *Fish. Res.* 17, 273-292.

b. For edited symposia, special issues, etc. published in a periodical

Roberts, R.J., 1993. Ulcerative dermal necrosis (UDN) in wild salmonids. In: Bruno, D.W. (Ed.), Pathological conditions of wild salmonids. Fish. Res. 17, 3 14.

c. For books

Gaugh, Jr., H.G., 1992. Statistical Analysis of Regional Yield Trials. Elsevier, Amsterdam.

d. For multi-author books

Bucke, D., 1989. Histology. In: Austin, B., Austin, D.A. (Eds.), Methods for the Microbiological Examination of Fish and Shellfish. Wiley, New York, pp. 69-97.

In the case of publications in any language other than English, the original title is to be retained. However, the titles of publications in non-Latin alphabets should be transliterated, and a notation such as "(in Russian)" or "(in Greek, with English abstract)" should be added.

Work accepted for publication but not yet published should be referred to as "in press".

References concerning unpublished data and "personal communications" should not be cited in the reference list but may be mentioned in the text.

Journal abbreviations source

Journal names should be abbreviated according to the [List of Title Word Abbreviations](#).

Video

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the files in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 150 MB. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including [ScienceDirect](#). Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our [video instruction pages](#). Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

Supplementary material

Supplementary material can support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, high-resolution images, background datasets, sound clips and more. Please note that such items are published online exactly as they are submitted; there is no typesetting involved (supplementary data supplied as an Excel file or as a PowerPoint slide will appear as such online). Please submit the material together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file. If you wish to make any changes to supplementary data during any stage of the process, then please make sure to provide an updated file, and do not annotate any corrections on a previous version. Please also make sure to switch off the 'TrackChanges' option in any Microsoft Office files as these will appear in the published supplementary file(s). For more detailed instructions please visit our [artwork instructionpages](#).

ARTICLE ENRICHMENTS

AudioSlides

The journal encourages authors to create an AudioSlides presentation with their published article. AudioSlides are brief, webinar-style presentations that are shown next to the online article on ScienceDirect. This gives authors the opportunity to summarize their research in their own words and to help readers understand what the paper is about. [More information and examples are available](#). Authors of this journal will automatically receive an invitation e-mail to create an AudioSlides presentation after acceptance of their paper.

Google Maps and KML files

KML (Keyhole Markup Language) files (optional): You can enrich your online articles by providing KML or KMZ files which will be visualized using Google maps. The KML or KMZ files can be uploaded in our online submission system. KML is an XML schema for expressing geographic annotation and visualization within Internet-based Earth browsers. Elsevier will generate Google Maps from the submitted KML files and include these in the article when published online. Submitted KML files will also be available for downloading from your online article on ScienceDirect. [More information](#).

Interactive Phylogenetic Trees

You can enrich your online articles by providing phylogenetic tree data files (optional) in Newick or NeXML format, which will be visualized using the interactive tree viewer embedded within the online article. Using the viewer it will be possible to zoom into certain tree areas, change the tree layout, search within the tree, and collapse/expand tree nodes and branches. Submitted tree files will also be available for downloading from your online article on ScienceDirect. Each tree must be contained in an individual data file before being uploaded separately to the online submission system, via the 'phylogenetic tree data' submission category. Newick files must have the extension .new or .nwk (note that a semicolon is needed to end the tree). Please do not enclose comments in Newick files and also delete any artificial line breaks within the tree data because these will stop the tree from showing. For NeXML, the file extension should be .xml. Please do not enclose comments in the file. Tree data submitted with other file extensions will not be processed. Please make sure that you validate your Newick/NeXML files prior to submission. [More information](#).

Interactive plots

This journal enables you to show an Interactive Plot with your article by simply submitting a data file. [Full instructions](#).

AFTER ACCEPTANCE

Online proof correction

Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors.

If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.

We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

Offprints

The corresponding author will, at no cost, receive a customized [Share Link](#) providing 50 days free access to the final published version of the article on [ScienceDirect](#). The Share Link can be used for sharing the article via any communication channel, including email and social media. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's [Webshop](#). Corresponding authors who have published their article open access do not receive a Share Link as their final published version of the article is available open access on ScienceDirect and can be shared through the article DOI link.

Author's discount

Contributors to Elsevier journals are entitled to a 30% discount on most Elsevier books, if ordered directly from Elsevier.

AUTHOR INQUIRIES

Visit the [Elsevier Support Center](#) to find the answers you need. Here you will find everything from Frequently Asked Questions to ways to get in touch.

You can also [check the status of your submitted article](#) or find out [when your accepted article will be published](#).