



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA
GRADUAÇÃO DE ENGENHARIA DE AQUICULTURA
MARINA CRISTINA CALINOWSKI

**ANÁLISE DOS EFEITOS DO EDTA E AMPEP SOBRE O CRESCIMENTO DE
Kappaphycus alvarezii (RHODOPHYTA, GIGARTINALES) QUANDO
SUBMETIDA À EXPOSIÇÃO AO COBRE**

FLORIANÓPOLIS

2014

Marina Cristina Calinowski

**ANÁLISE DOS EFEITOS DO EDTA E AMPEP SOBRE O CRESCIMENTO DE
Kappaphycus alvarezii (RHODOPHYTA, GIGARTINALES) QUANDO
SUBMETIDA À EXPOSIÇÃO AO COBRE**

Trabalho de Conclusão de Curso submetido
ao curso de Graduação de Engenharia de
Aquicultura da Universidade Federal de
Santa Catarina para obtenção do Título de
Engenheira de Aquicultura.

Orientadora: Profa. Dra. Leila Hayashi.

FLORIANÓPOLIS, SC

2014

Marina Cristina Calinowski

**ANÁLISE DOS EFEITOS DO EDTA E AMPEP SOBRE O CRESCIMENTO DE
Kappaphycus alvarezii (RHODOPHYTA, GIGARTINALES) QUANDO
SUBMETIDA À EXPOSIÇÃO AO COBRE**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado e adequado para obtenção do Título de Engenheiro de Aquicultura, e aprovado em sua forma final pelo curso de Engenharia de Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 02 de Dezembro de 2014.

Prof. Luis Alejandro Vinatea Arana Dr.

Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

Prof.^a, Dr.^a Leila Hayashi,

Orientadora

Universidade Federal de Santa Catarina

Mestre Eva Regina De Oliveira Rodrigues

Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Dr. Luis Alejandro Vinatea Arana,

Universidade Federal de Santa Catarina

AGRADECIMENTO

Queria agradecer ao meu pai Mário e minha mãe Ivani, por toda oportunidade cedida nesses anos e por todo o esforço que tiveram em sempre realizar meus sonhos. Vocês fazem muita falta, o cuidado e a dedicação, mesmo de longe foi que deram, em alguns momentos, a vontade de não desistir e seguir em frente.

As minhas primas Renata e Débora que me apoiaram e me deram suporte para realização deste trabalho.

Agradeço ao meu namorado Alexandre, pessoa com quem amo dividir os momentos da vida. Obrigada pelo carinho, pela paciência e por toda sua dedicação nesses anos, você faz uma grande parte disso.

Agradeço também a todos os professores que me acompanharam durante a graduação, em especial a Prof. Leila Hayashi, pelo suporte no pouco tempo que lhe coube, pelas correções e incentivos.

Aos meus colegas de estágio Filipe, Ticiane, Anna Gabi, Mari, Fabio, Ana Luisa, Clóvis, Marco que me proporcionaram bons momentos de risadas, companherismo e foram responsáveis pela realização deste trabalho.

Ao CNPq pela bolsa concedida.

A grande mãe da aquicultura, Jussara Gonçalves, que sempre me ajudou e esteve disposta em todas as horas.

Aos grandes amigos que criei durante a faculdade e que estavam ao meu lado nos melhores e piores momentos, em especial: Ana Clara, Ana Carolina, Eduardo, Darly, Silvano, Robson, Rodrigo, Mathias, Mariana.M, Karinne, Thais e Thiago.

Não posso esquecer-me das minhas amigas mais fiéis, que morro de saudades e mesmo de longe sempre deram um jeito de estar presente, são elas: Sabrina, Mona, Andressa, Paula, Ana Carol e ao meu irmão de coração, Thiago.C, o meu muito obrigado por tudo.

As minhas grandes amigas de Florianópolis que estiveram comigo nesse longo trajeto: Caroline, Roberta, Fernanda e Giulia.

Trabalho redigido conforme as normas da revista

Journal Applied Phycology

(http://www.springer.com/life+sciences/plant+sciences/journal/10811?print_view=true&detailsPage=pltci_1060355)

LISTA DE FIGURAS:

- Figura 1- Tratamentos com solução de Cobre em erlenmeyer de 500mL.....4
- Figura 2- Tratamento com EDTA em erlenmeyer de 500mL.....4
- Figura 3- Administração da solução de Cu (B) combinada com as soluções de EDTA: C, D e E em erlenmeyer de 500 mL.....5
- Figura 4- Administração da solução de Cobre B e EDTA E com pulso de AMPEP em erlenmeyer de 500 mL.....5
- Figura 5- Biomassa total (g) de *K. alvarezii* em projeção linear, cultivada ao longo de todo o período amostral, em diferentes concentrações de Cobre (Cu), cobre 0,0254 mg L⁻¹ e cobre 0,2545 mg L⁻¹.....7
- Figura 6- Taxa de crescimento (% dia⁻¹) de *K. alvarezii* ao longo de todo período amostral em diferentes concentrações de Cobre (Cu): cobre 0,0254 mg L⁻¹ e cobre 0,2545 mg L⁻¹ ..8
- Figura 7- Biomassa total (g) de *K. alvarezii* em projeção linear, cultivada ao longo de todo o período amostral, em diferentes concentrações de EDTA: EDTA 2.5mg L⁻¹, 5.0mg L⁻¹ e 10.0mg L⁻¹.....8
- Figura 8- Taxa de crescimento (% dia⁻¹) de *K. alvarezii* ao longo de todo período amostral em diferentes concentrações de EDTA: EDTA 2.0mg L⁻¹, 5.0mg L⁻¹ e 10.0mg L⁻¹9
- Figura 9- Biomassa total (g) de *K. alvarezii* em projeção linear, cultivada ao longo do período amostral, em diferentes concentrações de EDTA: EDTA 2.5mg L⁻¹, 5.0mg L⁻¹ e 10.0mg L⁻¹ com adição de solução de cobre 0,2524mg L⁻¹.....10

Figura 10- Taxa de crescimento (% dia⁻¹) de *K. alvarezii* ao longo de todo período amostral em diferentes concentrações de EDTA: 2,5mg L⁻¹, 5.0mg L⁻¹ e 10.0mg L⁻¹ com adição de solução de cobre 0,2524mg L⁻¹10

Figura 11- Biomassa total (g) de *K. alvarezii* em projeção linear, cultivada ao longo de todo o período amostral, em concentração de EDTA 10.0mg L⁻¹ com adição de solução de cobre 0,2524 mg L⁻¹ e AMPEP.....11

Figura 12- Taxa de crescimento (% dia⁻¹) de *K. alvarezii* ao longo de todo período amostral em concentração de EDTA 10.0mg L⁻¹ com adição de solução de cobre 0,2524 mg L⁻¹ e AMPEP.....12

Figura 13- Talos de *K. alvarezii* no início e final do experimento. A-B: controle. C-D: tratamento com cobre. E-F: tratamento com EDTA. G-H: tratamento com AMPEP. I-J: tratamento com cobre, EDTA e AMPEP.....13

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Concentração de cobre (mg L^{-1}) nos tratamentos A e B.....	3
Tabela 2- Concentração de EDTA (mg L^{-1}) nos tratamentos C, D e E.....	3

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. MATERIAL E MÉTODOS	3
2.1. Tratamento com Soluções de Cobre	4
2.2. Tratamento com Soluções EDTA.....	4
2.3. Tratamento com Soluções de Cobre e EDTA.....	5
2.4. Tratamento com Solução de Cobre e EDTA com Pulso AMPEP	5
2.5. Análises Estatísticas	6
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES	7
3.1. Tratamento com Soluções de Cobre	7
3.2. Tratamento com EDTA	8
3.3. Tratamento com Solução de Cobre e EDTA com Pulso AMPEP	11
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	15
ANEXO I	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.

ANÁLISE DOS EFEITOS DO EDTA E AMPEP SOBRE O CRESCIMENTO DE *Kappaphycus alvarezii* (RHODOPHYTA, GIGARTINALES) QUANDO SUBMETIDA À EXPOSIÇÃO AO COBRE

Marina Cristina Calinowski¹, Filipe Augusto S. Neves¹, Leila Hayashi¹.

[1] Departamento de Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis

Autor para correspondência (e-mail): marinacalinowski@hotmail.com

RESUMO

Kappaphycus alvarezii é uma alga vermelha com grande potencial comercial, pois possui um ficocoloide, denominado de carragenana, que é amplamente utilizado na indústria têxtil, farmacêutica e alimentícia. Contaminações com o cobre em cultivos podem ocorrer principalmente quando equipamentos como aeradores e bombas oxidam e acabam liberando o metal na água. Uma das alternativas para minimizar o problema seria utilizar o EDTA (ácido etileno diamino tetracético) na água de cultivo contaminada por cobre, uma vez que esta substância é quelante e pode formar complexos estáveis e o AMPEP que é um extrato em pó da macroalga *Ascophylum nodosum* muito utilizado como bioestimulante, favorecendo o crescimento da alga e a proteção contra epífitas e agentes estressantes. O objetivo deste trabalho foi testar o potencial do EDTA e do AMPEP na proteção de *Kappaphycus alvarezii* quando cultivada em meio de cultura contaminada com cobre. Para tanto, foram realizados quatro experimentos sob as seguintes condições laboratoriais: temperatura 25°C ±1°C, fotoperíodo de 12h, utilização de água esterilizada com salinidade 35‰ enriquecida de solução de von Stosch 50% e aeração constante. A maior concentração de cobre (0,2545 mg L⁻¹), foi letal às algas. Quando adicionado diferentes concentrações de EDTA ao meio contaminado com cobre, a concentração 10,0 mg L⁻¹ diminuiu a biomassa mas manteve as algas vivas até o final do experimento. Quando adicionado a solução AMPEP ao conjunto de cobre e EDTA, a biomassa dos talos teve um pequeno aumento. Sendo assim, a adição de EDTA e AMPEP colaboraram na sobrevivência dos talos de *K. alvarezii* em meio contaminado com cobre.

Palavras-chave: *Kappaphycus alvarezii*. Cobre. EDTA. AMPEP. Macroalga

1. INTRODUÇÃO

A *Kappaphycus alvarezii* é uma alga vermelha com grande potencial econômico, pois possui um ficocolóide denominado carragenana, polissacarídeo sulfatado composto por subunidades de β -D-galactose e 3,6- α -anidro-D-galactose (Lechat et al. 2000), que é amplamente utilizado na indústria têxtil, farmacêutica e alimentícia. É originária das Filipinas e da Indonésia, onde vive em águas claras e rasas de recifes de corais e temperaturas ideais da água entre 20 °C e 32 °C (Paula et al. 1998).

A Indonésia foi o maior produtor da espécie em 2010, onde a produção mundial ficou estimada em 1,8 milhão de toneladas (FAO 2013). Em 1995, no Instituto de Pesca da Secretaria de Agricultura e Abastecimento/SP, a alga foi introduzida no Brasil para desenvolver estudos sobre o potencial da espécie em atividades de maricultura no litoral do país (Paula et al. 1998).

Atualmente, o cultivo comercial da espécie está legalizado, segundo a Instrução Normativa IBAMA nº 185 de 2008, da Baía de Sepetiba, no estado do Rio de Janeiro, até o município de Ilhabela em São Paulo. Em Santa Catarina, estudos foram realizados de 2008 a 2010 em um cultivo experimental implantado na praia de Sambaqui, em Florianópolis (Hayashi et al. 2011). No momento, os estudos estão suspensos e aguardando a emissão da licença ambiental pelo IBAMA.

Pequenos cultivos em tanques de *Kappaphycus alvarezii*, podem ser necessários em regiões que apresentam baixas temperaturas das águas no período de inverno. A água de abastecimento destes cultivos muitas vezes é originária do mar e, embora tratada, às vezes não é o suficiente para evitar contaminações por metais pesados. Além disso, ambientes costeiros estão sendo cada vez mais prejudicados por metais pesados provenientes de descargas industriais, agrícolas e urbanas (Chen et al. 2007).

Inúmeras atividades industriais resultam na liberação de metais pesados em sistemas aquáticos, levando a uma maior preocupação sobre seu efeito tóxico contaminante de ambientes. Cobre (Cu), Zinco (Zn), Níquel (Ni), Cádmio (Cd) e Chumbo (Pb) estão entre os poluentes mais encontrados em efluentes que mesmo em baixas concentrações podem ser tóxicos para os organismos, inclusive ao ser humano (Kumar 2008).

Ainda, tubos e conexões de cobre são empregados na construção civil para distribuição de água quente, por suportarem altas temperaturas e apresentarem baixa necessidade de manutenção. Este material também é utilizado em certos modelos de

bombas aquáticas. Em ambos os casos, pode haver liberação de cobre na água. Segundo Pizarro et al. (2014), a liberação deste metal na água está relacionado com a presença de biofilme e hidrodinâmica das tubulações.

Recentemente, os processos de remoção biológica para a mitigação de metais pesados de resíduos aquosos têm atraído uma atenção considerável. Estes incluem novas abordagens tais como a utilização da biomassa algácea marinha para bioabsorção destes compostos, segundo Fourest e Roux (1992), Mattuschka e Straube (1993), Volesky (1994), Volesky e Holan (1995) (*apud* Kumar 2008). Além disso, por possuírem alta capacidade de absorção e estarem disponíveis em grande quantidade nos mares e oceanos, as algas marinhas são de grande interesse na busca para desenvolver novos materiais bioabsorventes (Feng e Aldrich 2004).

Entretanto, as algas marinhas em geral são muito sensíveis aos metais pesados. Nesse sentido, para aproveitar o cultivo de macroalgas como potencial biorremediadoras, sem prejuízo ao seu crescimento, a utilização de substâncias como o EDTA e o AMPEP surgem como uma alternativa para viabilizar tais cultivos. O EDTA (Ácido Etilenodiamino Tetracético) é um composto orgânico cuja principal função é ser um agente quelante ou sequestrante de metais, como por exemplo, o cobre. Esse composto foi patenteado na Alemanha no ano de 1935 por F. Munz (Oviedo 2003). Já o AMPEP (Acadian Marine Plant Extract Powder) é um composto bioestimulante comercial que propicia melhor crescimento de plantas, como também, imunoestimulante contra epífitas e agentes estressantes, produzido a partir da macroalga marrom *Ascophyllum nodosum* (Loureiro et al. 2010). Encontrada em países de clima temperado como o Canadá, esta macroalga marrom tem seus produtos vendidos em concentração líquida ou pó solúvel.

Devido à preocupação em relação aos metais pesados presentes na água dos tanques de cultivo, que podem prejudicar o crescimento das algas, este trabalho teve como objetivo analisar o efeito do EDTA (Ácido Etilenodiamino Tetracético) e do AMPEP (Extrato vegetal de *Ascophyllum nodosum* (ACADIAN) sobre o crescimento da macroalga *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Gigartinales) quando exposta ao cobre em diferentes concentrações.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados talos do tetrasporófito da linhagem verde de *Kappaphycus alvarezii*, provenientes do banco de linhagens da Seção de Macroalgas do Laboratório de Camarões Marinhos (LCM- UFSC).

Talos com $2,5 \pm 0,8$ g (média \pm intervalo de confiança) foram cultivados em erlenmeyer de 500 mL com água do mar esterilizada enriquecida com solução von Stosch 50% (Alveal 1995), irradiância de $100 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, fotoper\u00edodo de 12h, salinidade de 35‰ e aera\u00e7\u00e3o constante.

Para os tratamentos foram utilizadas duas concentra\u00e7\u00f5es de cobre, obtidas pela dilui\u00e7\u00e3o de CuSO_4 : A e B (Tabela 1) e tr\u00eas concentra\u00e7\u00f5es de EDTA: C, D e E (Tabela 2). Para a solu\u00e7\u00e3o AMPEP, a concentra\u00e7\u00e3o utilizada foi de $20,0 \text{ g L}^{-1}$ (Loureiro et al. 2010) dilu\u00edda em \u00e1gua do mar esterilizada, com salinidade de 35 ‰, pH 8,5 e temperatura de 25°C .

Tabela 1- Concentra\u00e7\u00e3o de Cobre (mg L^{-1}) nos tratamentos A e B.

Concentra\u00e7\u00e3o do tratamento de Cobre (mg L^{-1})	
A	0,0254 (0,1 mg L^{-1} de CuSO_4)
B	0,2545 (1,0 mg L^{-1} de CuSO_4)

Tabela 2- Concentra\u00e7\u00e3o de EDTA (mg L^{-1}) nos tratamentos C, D e E.

Concentra\u00e7\u00e3o do tratamento com EDTA (mg L^{-1})	
C	2,5
D	5,0
E	10,0

Todos os experimentos tiveram dura\u00e7\u00e3o de cinco semanas com manejo semanal, onde foi observada a qualidade dos talos e suas respectivas massas foram medidas. No processo de pesagem foi utilizada balan\u00e7a anal\u00edtica com duas casas decimais. Todos os tratamentos e controle foram realizados em triplicata.

2.1. Tratamento com Soluções de Cobre

O experimento foi realizado com dois tratamentos e um controle, sendo o primeiro tratamento com a adição de solução de Cu A e o segundo com adição de Cu B (conforme Tabela 1). O grupo controle não teve adição de Cobre.

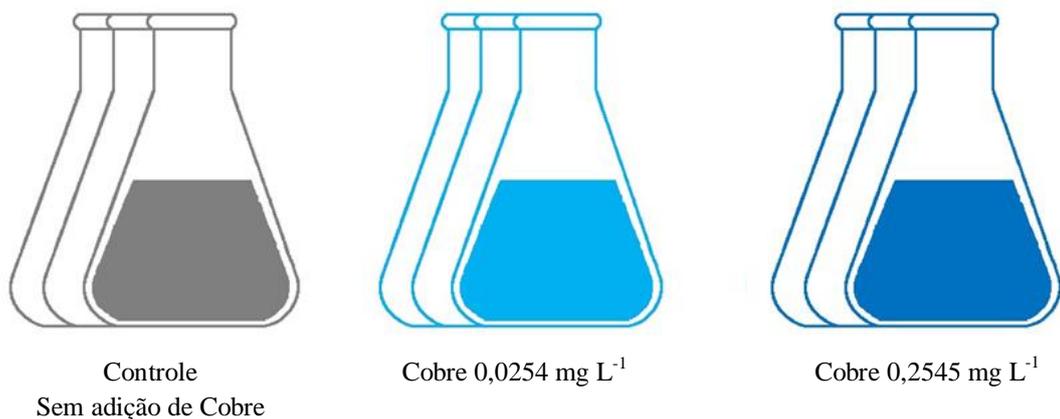


Figura 1-Tratamentos com solução de Cobre em erlenmeyer de 500mL.

2.2. Tratamento com Soluções EDTA

Foram realizados três tratamentos, sendo: tratamento 1 com a adição de solução EDTA C; tratamento 2 com adição de solução EDTA D; e tratamento 3 com adição de solução EDTA E (conforme a Tabela 2). Para o grupo controle não foi adicionado solução EDTA.

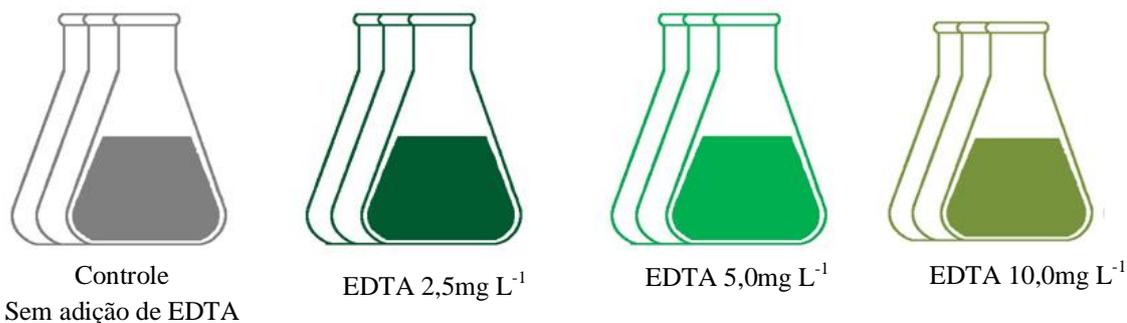


Figura 2- Tratamento com EDTA em erlenmeyer de 500mL.

2.3. Tratamento com Soluções de Cobre e EDTA

Esta etapa constituiu na administração da solução de Cobre B, combinadas com as diferentes soluções de EDTA: C, D, e E, conforme a Figura 3 abaixo.

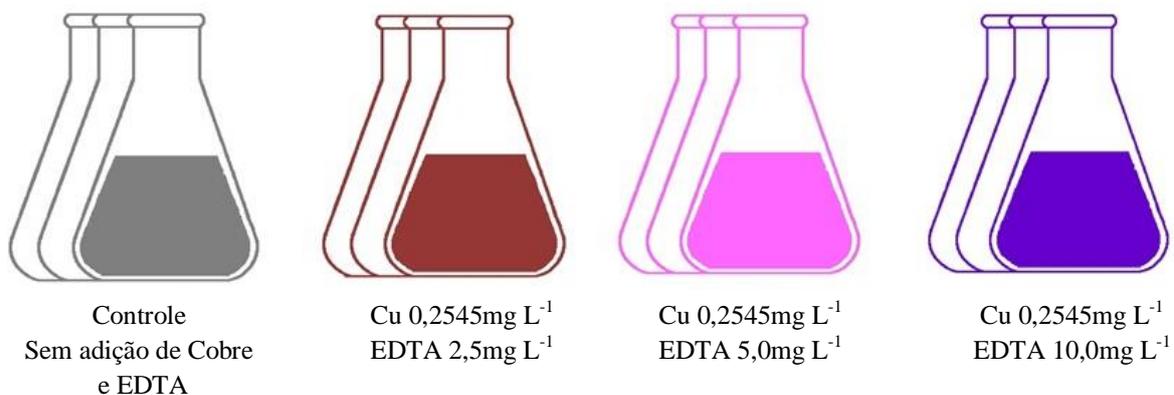


Figura 3- Administração da solução de Cu (B) combinada com as soluções de EDTA: C, D e E em erlenmeyer de 500 mL.

2.4. Tratamento com Solução de Cobre e EDTA com Pulso AMPEP

Um pulso de solução AMPEP foi realizado com auxílio de uma mesa agitadora em talos de *Kappaphycus alvarezii* durante uma hora, e posteriormente foram colocados nos tratamentos a seguir. O primeiro tratamento foi composto de talos apenas com o pulso de AMPEP. No segundo tratamento adicionou-se solução de cobre B. Para o terceiro tratamento adicionou-se solução Cobre B e EDTA E. Os talos utilizados no controle não receberam pulso de AMPEP.

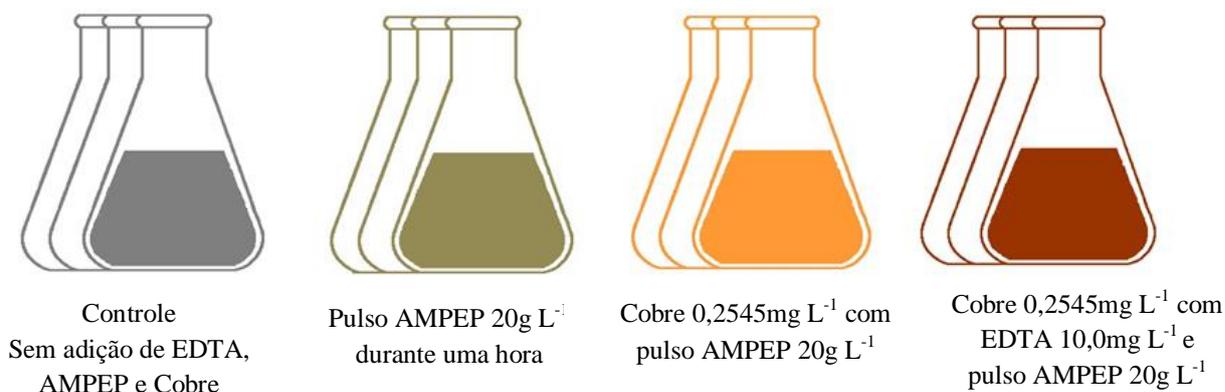


Figura 4- Administração da solução de Cobre B e EDTA E com pulso de AMPEP em erlenmeyer de 500mL.

2.5. Análises Estatísticas

A análise dos dados foi realizada pela taxa de crescimento relativo diário, TRC, calculadas através da equação 1, de acordo com Dawes (1998).

$$TCR (\% \text{ diário}) = \left[\left(\frac{B_f}{B_i} \right)^{1/t} - 1 \right] \times 100 \quad (1)$$

Onde, Bf = biomassa final [g], Bi = biomassa inicial [g], e t = tempo [dias].

A análise estatística foi feita por meio de ANOVA unifatorial seguida de teste de Fisher (P<0,05) com auxílio do programa Statistica 7.0.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1. Tratamento com Soluções de Cobre

Nas amostras do tratamento com menor concentração de cobre ($0,0254 \text{ mg L}^{-1}$), houve sobrevivência dos talos até o final do período experimental, porém com perda de biomassa, e taxa de crescimento decrescente (Fig 6).

Em algas tratadas em maior concentração de cobre ($0,2545 \text{ mg L}^{-1}$) ocorreu mortalidade dos talos a partir da terceira semana (Fig. 5, 6). O controle manteve seu crescimento exponencial como pode ser observado na Figura 6.

Este resultado corrobora com o observado por Gledhill (1997), que relata sobre tratamentos com cobre em diversas espécies de macroalgas, sendo que em todas elas o cobre prejudicou o crescimento, tendo ligação direta com a concentração da solução de cobre utilizada.

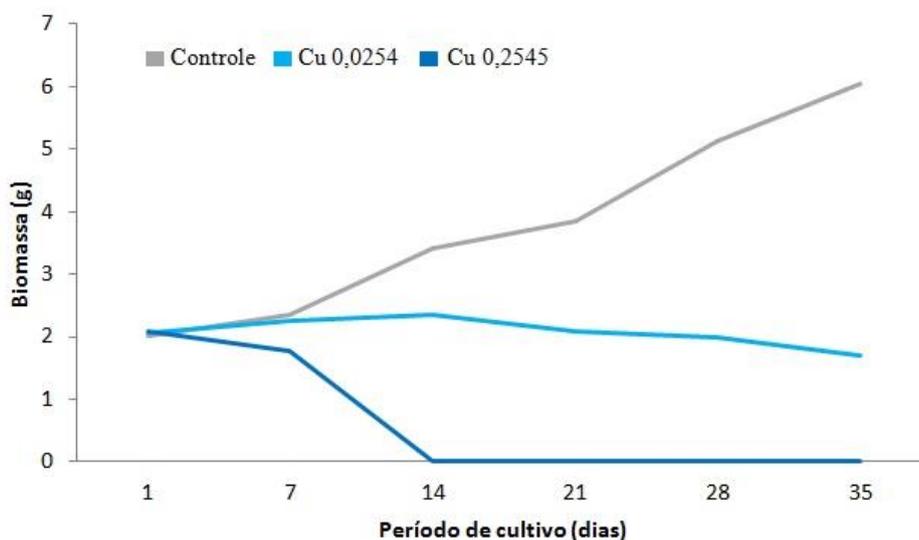


Figura 4- Biomassa total (g) de *K. alvarezii* em projeção linear, cultivada ao longo de todo o período amostral, em diferentes concentrações de Cobre (Cu): cobre $0,0254 \text{ mg L}^{-1}$ e cobre $0,2545 \text{ mg L}^{-1}$

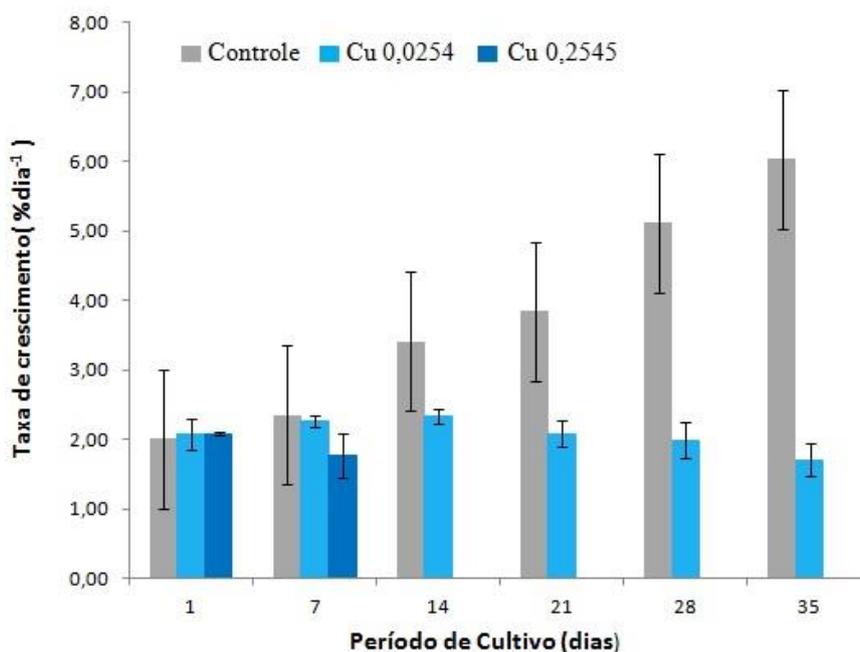


Figura 5- Taxa de crescimento (% dia⁻¹) de *K. alvarezii* ao longo de todo período amostral em diferentes concentrações de Cobre (Cu), cobre 0,0254 mg L⁻¹ e cobre 0,2545 mg L⁻¹.

3.2. Tratamento com EDTA

As amostras apresentaram uma correlação positiva entre o ganho de biomassa e a concentração de EDTA, e não apresentaram diferenças significativas (Fig. 7 e 8).

A biomassa sob concentração de EDTA de 2,5mg L⁻¹ foi de 2,82g, de EDTA 5,0mg L⁻¹ de 3,09g e de EDTA 10,0 mg L⁻¹ foi de 2,89g todas apresentando melhores resultados do que os observados no controle (Fig 7)

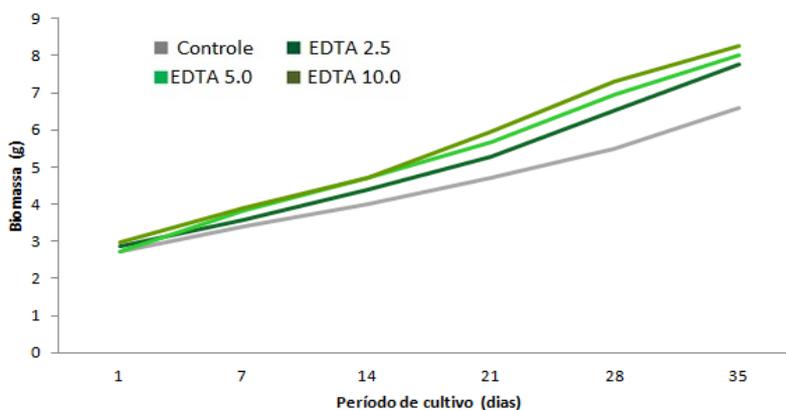


Figura 6- Biomassa total (g) de *K. alvarezii* em projeção linear, cultivada ao longo de todo o período amostral, em diferentes concentrações de EDTA: EDTA 2.5mg L⁻¹, 5.0mg L⁻¹ e 10.0mg L⁻¹.

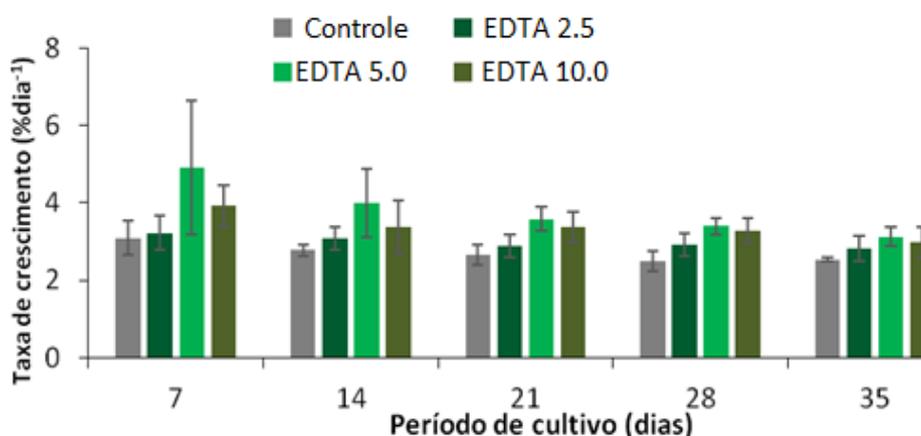


Figura 7- Taxa de crescimento (% dia⁻¹) de *K. alvarezii* ao longo de todo período amostral em diferentes concentrações de EDTA: EDTA 2.0mg L⁻¹, 5.0mg L⁻¹ e 10.0mg L⁻¹.

4.3 Tratamentos com Soluções de Cobre e EDTA

Neste experimento, conforme o tópico 3.1, onde foram avaliadas diferentes concentrações de cobre, foi selecionado a concentração letal de cobre (0,2524mg L⁻¹) a qual apresentou maior taxa de mortalidade e foi utilizada em combinação com concentrações de EDTA.

As algas tratadas com cobre e EDTA de 2,5mg L⁻¹ apresentaram um leve aumento de biomassa na primeira semana e posteriormente um decréscimo, seguido de não sobrevivência dos talos a partir da terceira semana. Com a concentração 5,0mg L⁻¹ de EDTA as algas tiveram aumento de biomassa até a terceira semana, diminuindo e morrendo na última semana. E com a concentração de 10,0mg L⁻¹ de EDTA as algas sobreviveram até o final do experimento entretanto, ao longo do tempo ocorreu uma mínima perda de biomassa (Fig. 9, 10). O controle manteve-se estável durante o período experimental.

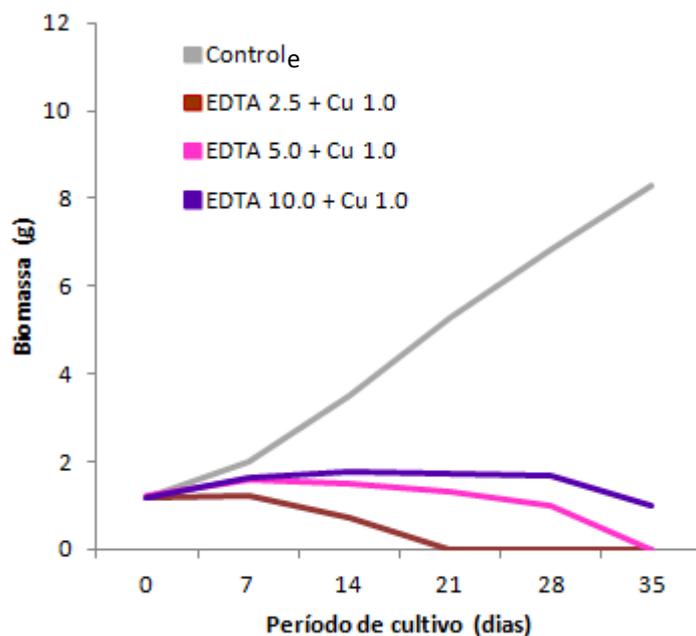


Figura 9: Biomassa total (g) de *K. alvarezii* em projeção linear, cultivada ao longo do período amostral, em diferentes concentrações de EDTA: EDTA 2.5mg L⁻¹, 5.0mg L⁻¹ e 10.0mg L⁻¹ com adição de solução de cobre 0,2524mg L⁻¹.

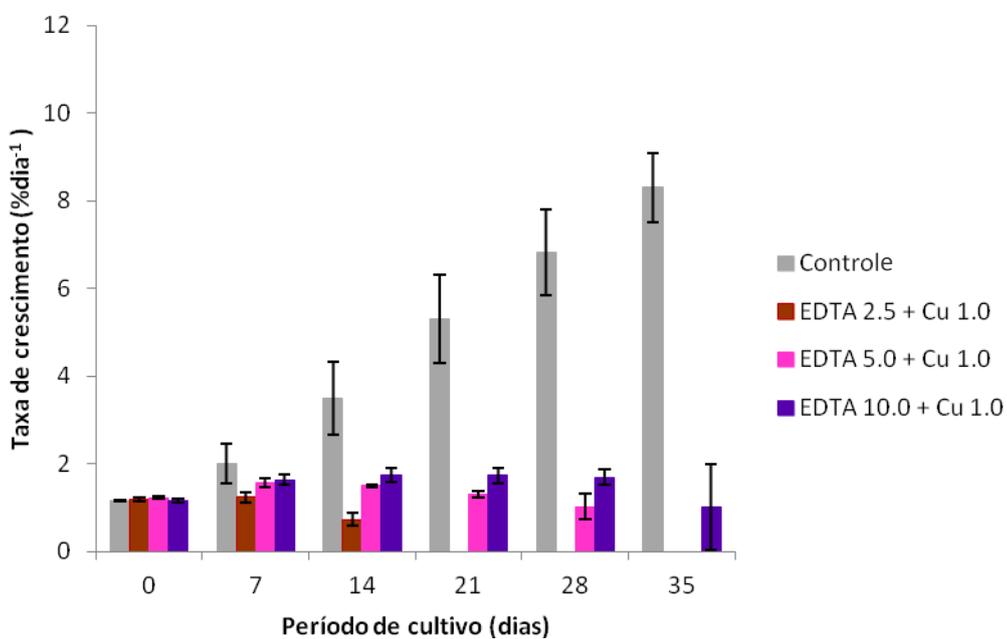


Figura 10- Taxa de crescimento (% dia⁻¹) de *K. alvarezii* ao longo de todo período amostral em diferentes concentrações de EDTA: 2,5mg L⁻¹, 5.0mg L⁻¹ e 10.0mg L⁻¹ com adição de solução de cobre 0,2524mg L⁻¹.

3.3. Tratamento com Solução de Cobre e EDTA com Pulso AMPEP

Conforme os resultados anteriores, foi selecionada a concentração de cobre com maior mortalidade ($0,2524\text{mg L}^{-1}$) e a concentração de EDTA que obteve maior taxa de sobrevivência em combinação com o cobre, $10,0\text{mg L}^{-1}$. Um pulso de AMPEP foi realizado para determinar se haveria alguma mudança no desenvolvimento das algas.

O controle e o tratamento em que as algas foram tratadas somente com o pulso de AMPEP, apresentaram taxas de crescimento semelhantes, com média de crescimento de $4,20 \pm 0,57 \text{ \% dia}^{-1}$ e $4,14 \pm 0,40 \text{ \% dia}^{-1}$ (Fig 12). No tratamento com cobre e AMPEP, as algas não sobreviveram, morrendo a partir da segunda semana (Fig 11). As algas tratadas com cobre, EDTA e AMPEP sobreviveram e mantiveram sua biomassa estável até ao final do período experimental. (Fig 11, 12)

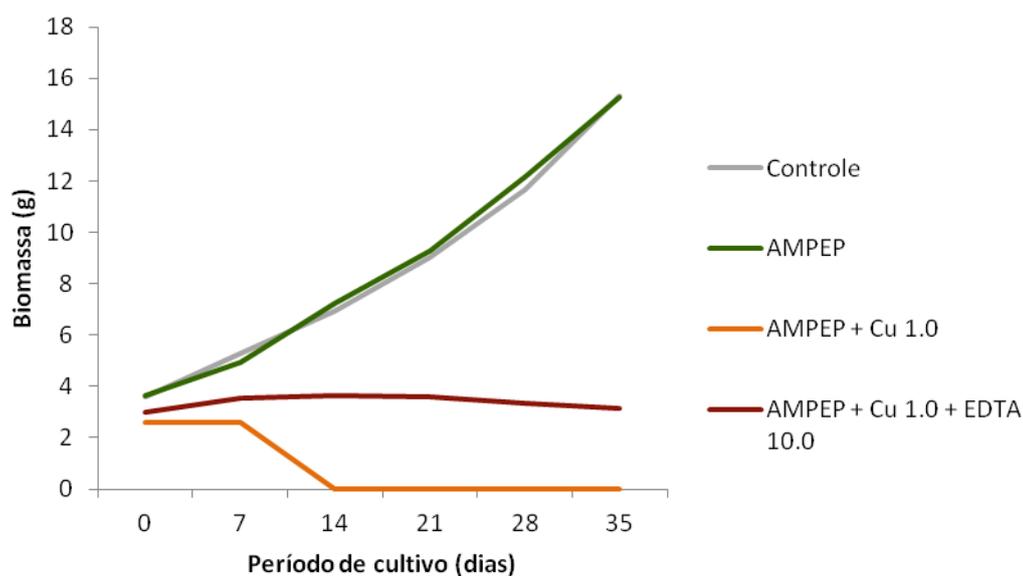


Figura 11- Biomassa total (g) de *K. alvarezii* em projeção linear, cultivada ao longo de todo o período amostral, em concentração de EDTA $10,0\text{mg L}^{-1}$ com adição de solução de cobre $0,2524 \text{ mg L}^{-1}$ e AMPEP.

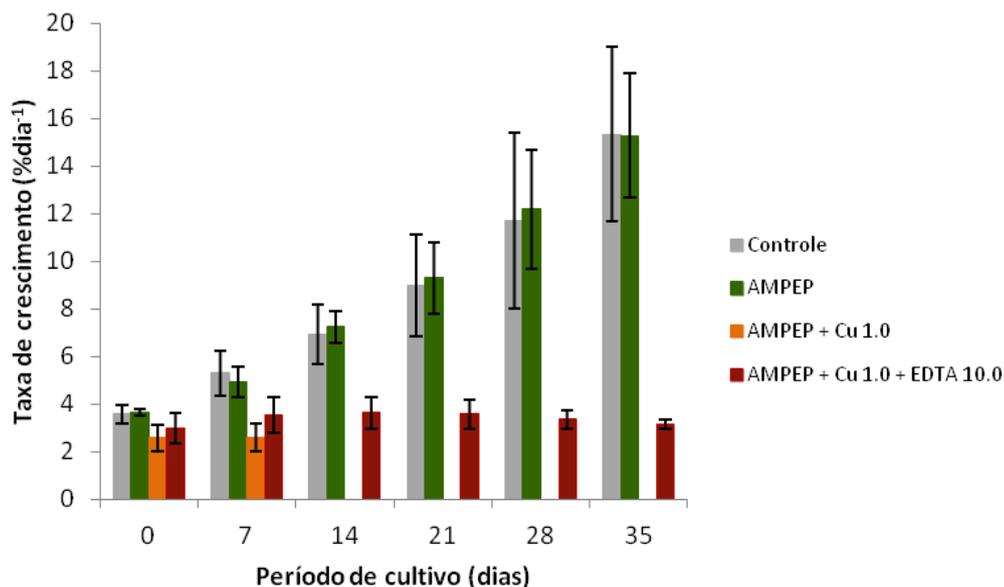


Figura 12- Taxa de crescimento (% dia⁻¹) de *K. alvarezii* ao longo de todo período amostral em concentração de EDTA 10.0mg L⁻¹ com adição de solução de cobre 0,2524 mg L⁻¹ e AMPEP.

Como pode ser observado na figura 13, o talo tratado com EDTA, AMPEP e cobre, apresentou semelhança morfológica no início e no final do experimento (fig. 13I, J), semelhante ao observado nas amostras controle (Fig. 13A, B), EDTA (Fig. 13E, F) e com AMPEP (Fig. 13G, H). Somente com o tratamento de cobre foi possível observar deterioração dos talos na biomassa final (Fig. 13C, D).

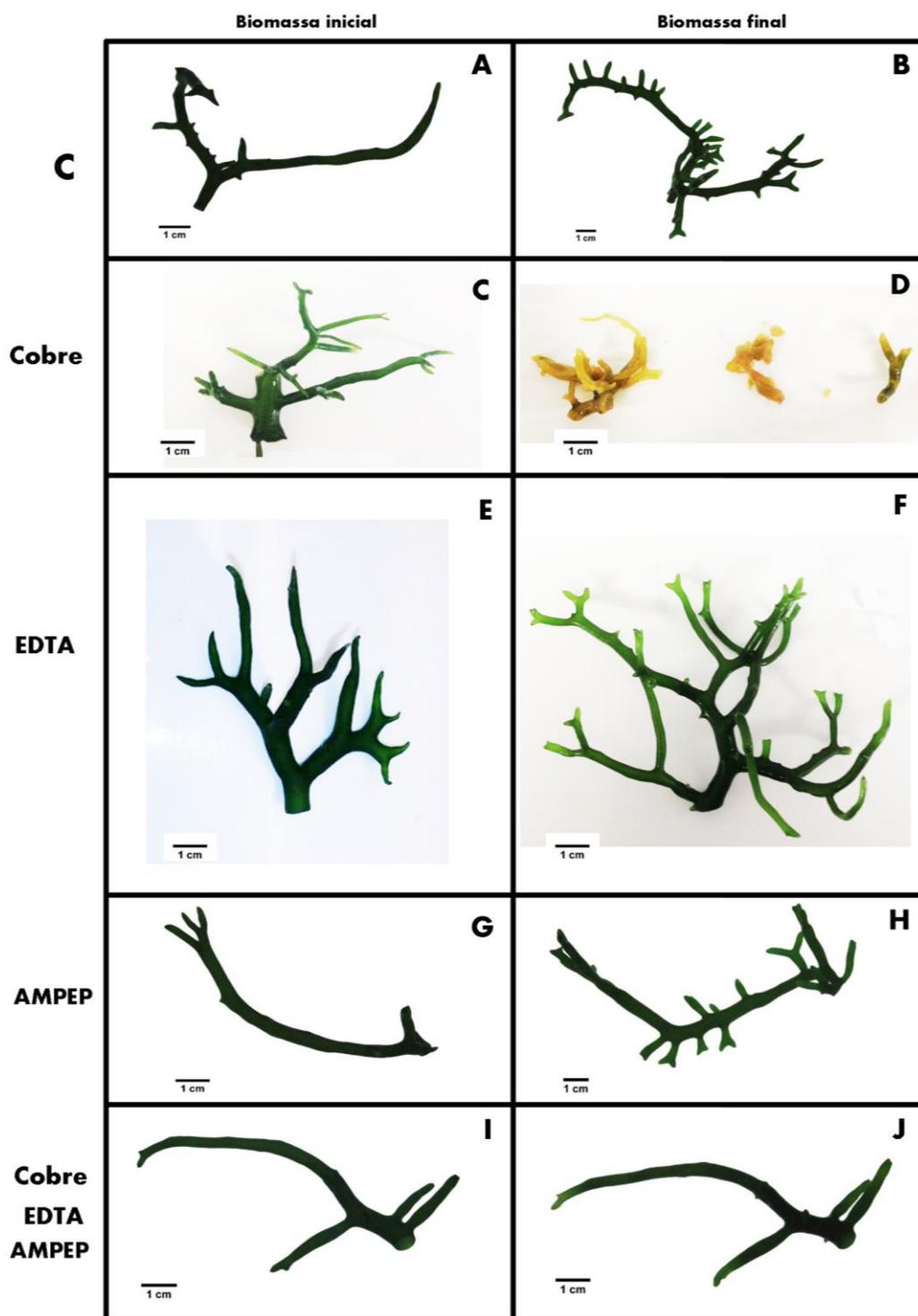


Figura 13- Talos de *K. alvarezii* no início e final do experimento. A-B: controle. C-D: tratamento com cobre. E-F: tratamento com EDTA. G-H: tratamento com AMPEP. I-J: tratamento com cobre, EDTA e AMPEP.

O cobre foi prejudicial para a *Kappaphycus alvarezii* nas duas concentrações testadas. Entretanto, quando cultivadas com solução de EDTA na concentração mais alta as algas sobreviveram. Isso ocorreu, possivelmente porque o EDTA é um agente quelante

que sequestra certas substâncias da água impedindo a absorção do cobre pela alga. Algas tratadas com pulso de AMPEP apresentaram maiores ramificações, como observado por Loureiro *et al.* (2010). Entretanto, o AMPEP não foi suficiente para proteger a alga da contaminação com o cobre. Por outro lado, quando combinado com EDTA no meio contaminado com cobre, a biomassa de algas se manteve estável ao longo de todo experimento, sugerindo que o EDTA sequestrou o cobre da água e o AMPEP ajudou a promover o crescimento da macroalga. Novos estudos deverão ser realizados para avaliar a interação metabólica do EDTA e AMPEP na macroalga *Kappaphycus alvarezii* quando submetida a exposição ao cobre.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alveal K (1995) Manual de métodos Ficológicos: **Manejo de algas marinas**. Concepción.
- Chen Y, Lin L, Viadero RC, Gang D (2007) **Nonpoint source pollution**. Water Environ. Res. 79:2032–2048.
- Dawes CJ (1998) **Marine Botany**. New York.
- FAO (2013). Disponível em: http://www.fao.org/figis/servlet/SQServlet?file=/work/FIGIS/prod/webapps/figis/temp/hqp_2702555681029869132.xml&outtype=html. Acessado em: 28/01/2013.
- Feng D, Aldrich C (2004) **Adsorption of heavy metals by biomaterials derived from the marine alga *Ecklonia maxima***. Hidrometallurgy 73:1-10.
- Gledhill M, Nimmo M, Hill SJ, Brown MT (1997) **the toxicity of copper (ii) species to marine algae, with particular reference to macroalgae**. J Phycol 33:2-1.
- Hayashi L, Santos AA, Faria GSM, Nunes BG, Souza MS, Fonseca ALD, Barreto PLM, Oliveira EC, Bouzon ZL (2011) ***Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Areschougiaceae) cultivated in subtropical waters in Southern Brazil**. J Appl. Phycol 23:337-342.
- Kumar KS, Ganesan K, Rao PV (2008) **Heavy metal chelation by non-living biomass of three color forms of *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty**. J Appl Phycol 20:63-66.
- Lechat H, Amat M, Mazoyer J (2000) **Structure and distribution of glucomannan and sulfated glucan in the cell walls of the red alga *Kappaphycus alvarezii* (Gigartinales, Rhodophyta)**. J Phycol 36:891-902.
- Loureiro RR, Reis RP, Critchley AT (2010) **In vitro cultivation of three *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Areschougiaceae) variants (green, red and brown) exposed to a commercial extract of the brown alga *Ascophyllum nodosum* (Fucaceae, Ochrophyta)**. J Appl Phycol 22:101–104.
- Oviedo C, Rodriguez J (2014) **EDTA: the chelating agent under environmental scrutiny**. Quím. Nova 26.
- Paula EJ, Pereira RTL, Ostini S (1998) **Introdução de espécies exóticas de *Eucheuma* e *Kappaphycus* (Gigartinales, Rhodophyta) para fins de maricultura no litoral brasileiro: abordagem teórica e experimental**. IV Congr. Latinoamer. Ficologia 341-357.
- Pizarro G, Vargas I, Pastén P, Calle, G (2014) **Modeling MIC copper release from drinking water pipes**. Bioelectrochemistry. 97. p. 23-33.