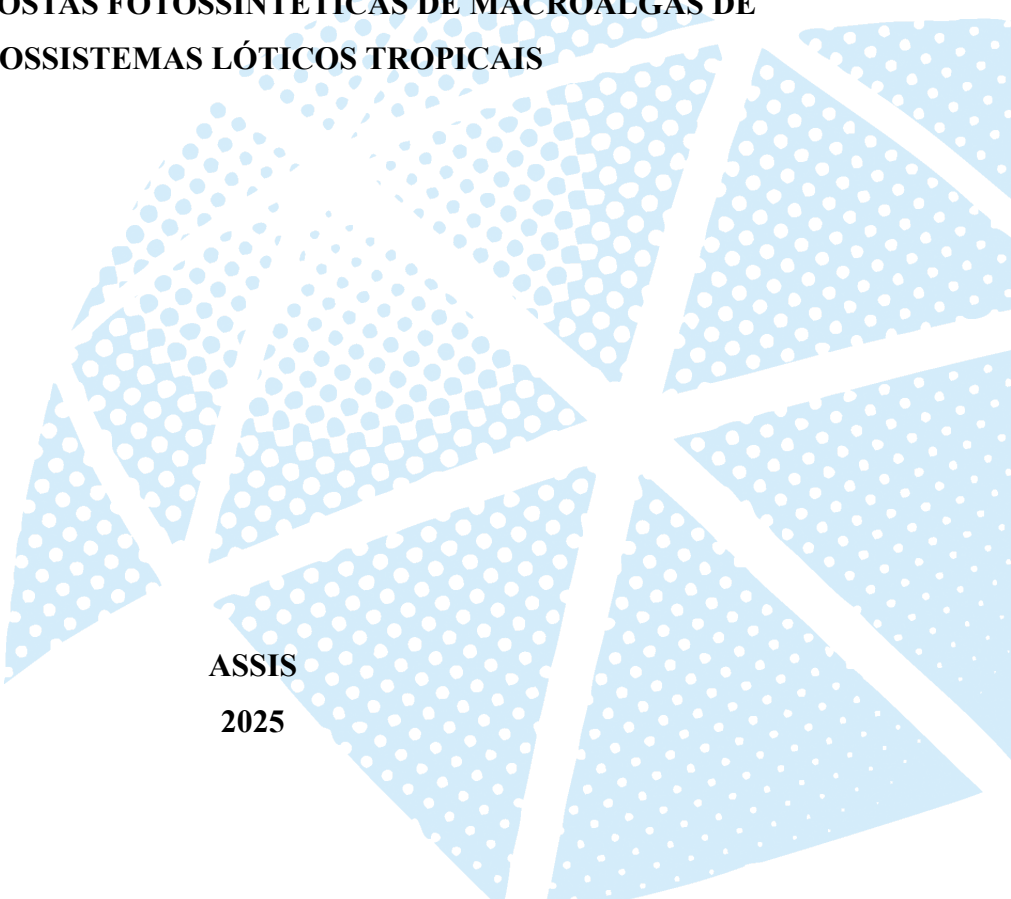


UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
Faculdade de Ciências e Letras - Campus de Assis

MARIANNE SCHNEITER

**EFEITOS DE HERBICIDA À BASE DE GLIFOSATO E VARIAÇÕES DE
TEMPERATURA RELACIONADAS À CENÁRIOS DE AQUECIMENTO GLOBAL
SOBRE AS RESPOSTAS FOTOSSINTÉTICAS DE MACROALGAS DE
ECOSSISTEMAS LÓTICOS TROPICAIS**

ASSIS
2025



MARIANNE SCHNEITER

**EFEITOS DE HERBICIDA À BASE DE GLIFOSATO E VARIAÇÕES DE
TEMPERATURA RELACIONADAS À CENÁRIOS DE AQUECIMENTO GLOBAL
SOBRE AS RESPOSTAS FOTOSSINTÉTICAS DE MACROALGAS DE
ECOSSISTEMAS LÓTICOS TROPICAIS**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências e Letras, Assis, para obtenção do título de Mestra em Biociência.

Orientador(a): Prof. Dr. Ciro Cesar Zanini
Branco

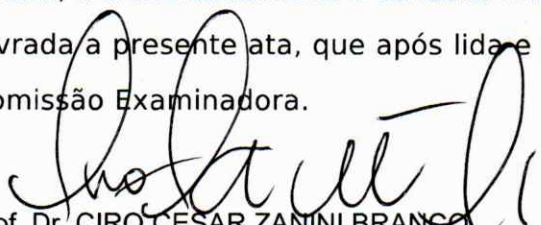
Coorientador(a): Prof. Dr. Lucas Kortz Vilas
Boas

ASSIS

2025

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE MARIANNE SCHNEITER, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCIÊNCIAS, DA FACULDADE DE CIÊNCIAS E LETRAS - CÂMPUS DE ASSIS.

Aos 22 dias do mês de janeiro do ano de 2025, às 9h, no(a) Sala de Defesas da Pós-graduação, realizou-se a defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de MARIANNE SCHNEITER, intitulada **EFEITOS DE HERBICIDA À BASE DE GLIFOSATO E VARIAÇÕES DE TEMPERATURA RELACIONADAS À CENÁRIOS DE AQUECIMENTO GLOBAL SOBRE AS RESPOSTAS FOTOSSINTÉTICAS DE MACROALGAS DE ECOSSISTEMAS LÓTICOS TROPICAIS**. A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Prof. Dr. CIRO CESAR ZANINI BRANCO (Orientador(a) - Participação Presencial) do(a) UNESP/FCL - Assis, Profa. Dra. JULIANA POMARI (Participação Presencial) do(a) Assis/SP, Prof. Dr. JORGE LAÇO PORTINHO (Participação Presencial) do(a) UNESP/FCL - Assis. Após a exposição pela mestranda e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, a discente recebeu o conceito final: APROVADA. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.



Prof. Dr. CIRO CESAR ZANINI BRANCO

S359e	Schneiter, Marianne Efeitos de herbicida à base de glifosato e variações de temperatura relacionadas à cenários de aquecimento global sobre as respostas fotossintéticas de macroalgas de ecossistemas lóticos tropicais / Marianne Schneiter. -- Assis, 2025 70 p. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências e Letras, Assis Orientador: Ciro Cesar Zanini Branco Coorientador: Lucas Kortz Vilas Boas 1. Ecotoxicologia aquática. 2. Ecossistemas lóticos. 3. Herbicidas. 4. Aquecimento global. 5. Macroalgas de riachos. I. Título.
-------	--

Dedico este trabalho à Heloisa Ap. Cantú Schneider, minha melhor amiga.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a todas as pessoas, que, de alguma forma, fizeram parte desta história.

Dentre essas pessoas, dedico um agradecimento especial para minha mãe, Heloisa, que sempre me apoiou em todas as aventuras nas quais me arrisco participar, que não me deixou e nunca deixará esquecer aquilo que já conquistei e o meu valor, que tem os conselhos mais sábios, que é minha melhor amiga e mãe, e que, acima de tudo, me lembra constantemente que “o universo conspira a nosso favor”. Não existe Marianne sem Heloisa. A você, meus mais profundos agradecimentos.

Agradeço o Dr. Ciro Cesar Zanini Branco por me dar a oportunidade de trilhar esta jornada, que foi essencial para meu crescimento e desenvoltura como pesquisadora. Obrigada pelo conhecimento compartilhado.

Agradeço a todos os amigos envolvidos neste processo, que me ajudaram com palavras de carinho, incentivo e motivação quando achei que não iria conseguir, em especial àqueles que me acompanharam de pertinho desde o início: Camila, Thaís, Flávio, Gabrielle e Giulianna.

Agradeço ao meu namorado e parceiro de vida, Gabriel, pelo suporte, paciência e cuidado comigo, principalmente nos dias mais exaustivos, nos quais as horas na frente do computador eram infinitas e os papos sobre algas intermináveis.

Agradeço a Camila, Juliana e Gabrielle, colegas do Laboratório de Biologia Aquática (LABIA), pelas eventuais ajudas na realização dos experimentos e pelas conversas no dia a dia, que tornaram a jornada mais leve.

Agradeço ao Dr. Lucas Kortz Vilas Boas pela coorientação e, principalemnte, por disponibilizar uma parte do seu tempo para nos ensinar sobre o funcionamento do DIVING-PAM.

Agradeço aos colegas do Laboratório IPBEN, Fernando e Eduardo, por todo o auxílio e disponibilidade em ajudar com autoclavagem dos meios básicos.

Agradeço ao Caetano pela ajuda com os equipamentos e materiais necessários para a pesquisa, além das valiosas instruções sobre o manuseio desses equipamentos.

Agradeço a todos os familiares e amigos, que mesmo de longe, sempre demonstraram seu apoio.

Por último, gostaria de agradecer a mim mesma pelo esforço, coragem, persistência e dedicação, mesmo diante de situações em que achei que não conseguiria. Obrigada por não desistir e acreditar nos planos que o universo reserva para você.

RESUMO

As pressões ocasionadas pela exposição à resíduos de herbicidas advindos, principalmente, de atividades agrícolas, concomitantemente a outros fatores estressores de origem antrópica, como o aumento de temperaturas globais associado ao aquecimento global, formam o que chamamos de ambientes “multi-estressores”. Diversos trabalhos têm revelado que entre os organismos “não-alvo” de ecossistemas aquáticos continentais, lênticos e lóticos, fortemente impactados por cenários multi-estressores, estão as macroalgas, reconhecidas como um dos principais produtores primários de riachos. Partindo deste panorama geral, o presente estudo avaliou o efeito de cenários multi-estressores específicos sobre as respostas fotossintéticas de espécies de macroalgas lóticas, com a suposição possíveis impactos negativos sobre a resposta fotossintética das macroalgas. Assim, cinco espécies de macroalgas pertencentes aos Filos Chlorophyta e Rhodophyta, foram expostas à combinações de dois cenários de aquecimento global, projetados a partir do 6º Relatório de Avaliação do Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas (SSP2-4.5 e SSP5-8.5), e a três concentrações nominais (0.28, 3.5 e 6.0 mg.L⁻¹) da formulação comercial de um herbicida à base de glifosato (Roundup®). Após sete dias de exposição, foram avaliados três parâmetros fotossintéticos obtidos através da técnica da fluorescência da clorofila *a*, sendo eles: i) Y(II) rendimento quântico efetivo, ii) Y(NO) rendimento da perda de energia não fotoquímica não regulada, iii) Y(NPQ) rendimento da perda de energia não fotoquímica regulada. As respostas das macroalgas analisadas foram espécie-específicas. Os resultados apresentados pelas macroalgas verdes sugerem nenhum efeito ou pouco sobre a eficiência fotossintética, neste caso associado principalmente a tratamentos com as combinações mais severas dos fatores (redução de “Y(II)”), com algum estresse fisiológico (redução de “Y(NPQ)” e aumento de “Y(NO)”). A espécie de macroalga vermelha, *Compsopogon caeruleus*, registrou maior sensibilidade dessa espécie algal frente aos cenários multi-estressores, uma vez que a exposição ocasionou redução da eficiência fotossintética e estresse fisiológico. Os resultados para as macroalgas do Filo Chlorophyta indicam que para estas espécies os cenários multi-estressores não produziram efeitos danosos significativos sobre as respostas fotossintéticas, refutando a hipótese inicial do trabalho. Nestes casos, é possível que as amostras, coletadas em riachos em áreas urbanizadas e/ou na vizinhança de campos de cultivo agrônômico, possam ter desenvolvido algum grau de tolerância, ou mesmo resistência, por exposição prévia a condições multi-estressoras semelhantes às testadas. Por outro lado, *Compsopogon caeruleus*, uma espécie de macroalga lótica pertencente ao Filo Rhodophyta, revelou ser fisiologicamente mais suscetível aos impactos aos quais foi submetida do que as espécies de algas verdes testadas, mesmo também tendo sido coletada em um riacho impactado antropicamente. A diferença observada no comportamento dos parâmetros fotossintéticos entre as algas verdes e a alga vermelha investigadas sugere que a eficiência fotossintética das macroalgas lóticas deva ser multifatorial, incluindo fatores ecológicos somados a aspectos filogenéticos e espécie-específicos.

Palavra-chave: ecotoxicologia aquática; ecossistemas lóticos; herbicidas; aquecimento global; macroalgas de riachos; fotossíntese; resistência/tolerância; algas verdes; algas vermelhas; ambientes multi-estressores.

ABSTRACT

The pressures caused by exposure to herbicide residues, mainly from agricultural activities, together with other stressors of anthropogenic origin, such as the increase in global temperatures associated with global warming, form what we call “multi-stressor” environments. Several studies have revealed that among the “non-target” organisms of continental, lentic and lotic aquatic ecosystems, strongly impacted by multi-stressor scenarios, are macroalgae, recognized as one of the main primary producers in streams. Based on this general overview, the present study evaluated the effect of specific multi-stressor scenarios on the photosynthetic responses of lotic macroalgae species, assuming possible negative impacts on the photosynthetic response of macroalgae. Thus, five species of macroalgae belonging to the phyla Chlorophyta and Rhodophyta were exposed to combinations of two global warming scenarios, projected from the 6th Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change (SSP2-4.5 and SSP5-8.5), and to three nominal concentrations (0.28, 3.5 and 6.0 mg.L⁻¹) of the commercial formulation of a glyphosate-based herbicide (Roundup®). After seven days of exposure, three photosynthetic parameters obtained through the chlorophyll a fluorescence technique were evaluated, namely: i) Y(II) effective quantum yield, ii) Y(NO) yield of unregulated non-photochemical energy loss, iii) Y(NPQ) yield of regulated non-photochemical energy loss. The responses of the analyzed macroalgae were species-specific. The results presented by green macroalgae suggest no or little effect on photosynthetic efficiency, in this case associated mainly with treatments with the most severe combinations of factors (reduction of “Y(II)”), with some physiological stress (reduction of “Y(NPQ)” and increase of “Y(NO)”). The red macroalgae species, *Compsopogon caeruleus*, recorded greater sensitivity of this algal species to the multi-stressor scenarios, since the exposure caused a reduction in photosynthetic efficiency and physiological stress. The results for macroalgae of the Chlorophyta Phylum indicate that for these species the multi-stressor scenarios did not produce significant harmful effects on the photosynthetic responses, refuting the initial hypothesis of the study. In these cases, it is possible that the samples, collected in streams in urbanized areas and/or in the vicinity of agronomic crop fields, may have developed some degree of tolerance, or even resistance, due to previous exposure to multi-stressor conditions similar to those tested. On the other hand, *Compsopogon caeruleus*, a species of lotic macroalgae belonging to the Rhodophyta Phylum, was physiologically more susceptible to the impacts to which it was subjected than the green algae species tested, even though it was also collected in a stream that had undergone anthropogenic impact. The difference observed in the behavior of the photosynthetic parameters between the green algae and the red algae investigated suggests that the photosynthetic efficiency of lotic macroalgae must be multifactorial, including ecological factors in addition to phylogenetic and species-specific aspects.

Keywords: aquatic ecotoxicology; lotic ecosystems; herbicides; global warming; stream macroalgae; photosynthesis; resistance/tolerance; green algae; red algae; multi-stress environments.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	10
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	21
CAPÍTULO 1 - Exposição de macroalgas do Filo Chlorophyta e Rhodophyta a concentrações nominais de Roundup® e cenários de aquecimento global: respostas com tendência espécie-específica frente aos tratamentos multi-estressores	26
RESUMO	26
ABSTRACT	27
INTRODUÇÃO	28
MATERIAIS E MÉTODOS	32
RESULTADOS.....	39
DISCUSSÃO	44
CONCLUSÃO	49
REFERÊNCIAS	50
TABELAS E FIGURAS RESULTADOS	56

INTRODUÇÃO GERAL

A economia brasileira possui forte influência do setor do agronegócio, a ponto do setor representar, no ano de 2022, 24,8% do produto interno bruto (PIB), segundo o Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada (Cepea 2022). Os avanços tecnológicos na agricultura, acompanhados do desenvolvimento e uso de plantas geneticamente modificadas, são fatores que influenciaram na intensificação das atividades agrícolas ao redor do mundo. Uma das consequências da expansão agrícola mundial foi o aumento na comercialização e uso dos agrotóxicos (pesticidas, inseticidas, praguicidas, biocidas, acaricidas, nematicidas, defensivos agrícolas etc.), utilizados para o melhoramento da produtividade das espécies de interesse comercial. De maneira geral, todos os agrotóxicos, embora apresentem diferenças quanto à composição e aos seus mecanismos de ação, buscam eliminar agentes que são tidos como prejudiciais à produção agrícola, como por exemplo microrganismos, animais ou plantas patogênicas ou que possam competir por recursos com as espécies que estão sendo cultivadas (Mascarenhas et al. 2020; Amaro et al. 2021). Certamente, entre os pesticidas mais utilizados no mundo estão os herbicidas que tem como ingrediente ativo a substância N-(fosfonometil) glicina, popularmente chamado de glifosato (Kruse et al. 2000).

Até meados da década de 1990, a aplicação de herbicidas à base de glifosato no controle de pragas agrícolas era limitada pela sensibilidade das plantas cultivadas à esta substância, tornando o seu uso questionável do ponto de vista econômico uma vez que destruía toda a vegetação da área aplicada (Kruse et al. 2000). Entretanto, a partir de meados da década de 1990, a capacidade de identificar e transferir genes que conferem resistência a esses agrotóxicos, possibilitou que os cultivos de interesse comercial fossem geneticamente manipulados e, então, passassem a se tornar resistentes aos herbicidas à base de glifosato (Kishore e Shah 1988; Kruse et al. 2000). Assim, com o surgimento das sementes transgênicas, inicialmente, de soja, milho e algodão, é que os herbicidas à base de glifosato passaram a ser utilizados em larga escala e atingiram o topo da lista de pesticidas mais utilizados no Brasil e no mundo (Rigotto et al. 2014). Considerando esse recorte histórico, a partir de 1996, com a introdução das plantas tolerantes ao herbicida e a expansão das possibilidades de seu uso, a adoção desse princípio ativo na prática agrícola foi fortemente impulsionada ganhando uma impressionante escala global, a ponto de, atualmente, ser produzido comercialmente em mais de 140 países (Kruse et al. 2000; Benbrook 2016; Landrigan e Belpoggi 2018). Nos EUA, o uso de herbicidas à base de glifosato aumentou 15

vezes entre 1992 e 2012 (USGS, 2015; Lasier et al. 2016) e no Brasil, durante os anos de 2009 a 2017, permaneceu em primeiro lugar no ranking de ingredientes ativos relativos a agrotóxicos mais vendidos no país (Teixeira et al. 2019). Embora amplamente utilizado no controle de vegetações indesejadas no ambiente agrícola, segundo Giesy et al. (2000), seu uso também é empregado em jardins ornamentais, em ambientes industriais, no controle de ervas daninhas aquáticas e no manejo de ervas daninhas residenciais.

Herbicidas formulados à base de glifosato, produzidos e distribuídos mundialmente, variam em sua composição quanto a concentração do princípio ativo e a presença e natureza de substâncias adjuvantes utilizados a fim de potencializar sua eficiência, com destaque aos surfactantes (Kruse et al. 2000; Howe et al. 2004; Annett et al. 2014). São classificados como sistêmicos, não seletivos, de amplo espectro e pós-emergentes, comumente aplicados em superfícies foliares para o controle de mais de 160 espécies de ervas-daninhas que são tratadas como sendo pragas agrônômicas, pois competem por recursos com as espécies cultivadas de interesse comercial (Kruse et al. 2000; de Araujo et al. 2023). Herbicidas à base de glifosato afetam tanto monocotiledôneas como dicotiledôneas, e atuam fortemente nas raízes, aumentando o controle das partes responsáveis por reprodução vegetativa (Boerboom e Wyse 1988; Amarante Júnior et al. 2002; Annett et al. 2014). Uma vez no solo, o glifosato possui alta adsorção aos coloides, ao mesmo tempo que a sua degradação é rapidamente feita por bactérias específicas. O resultado da degradação bacteriana do glifosato leva à formação de metabólitos intermediários, como o aminoácido glicina, formado pela quebra da ligação C-P, e o aminometil fosfonato (AMPA), resultado da clivagem da ligação carboximetil C-N (Dyer 1993; Padgett et al. 1996; Kruse et al. 2000).

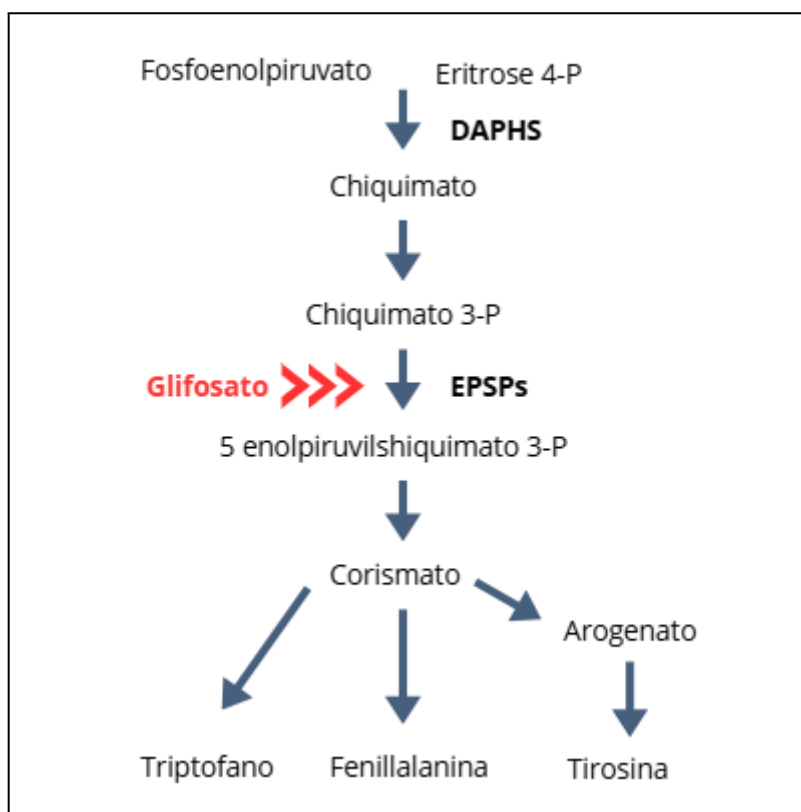
Sua absorção pela camada cuticular cerosa presente nas folhas das plantas pode ser influenciada por diferentes fatores como área da superfície coberta, a concentração aplicada, às espécies de plantas e as condições de crescimento presentes na área aplicada, os aspectos climáticos, além da integridade e composição da camada cuticular cerosa foliar (Kirkwood 1987; Giesy et al. 2000; Kruse et al. 2000). De fato, um fator muito importante na modulação da absorção do glifosato pelas plantas está justamente relacionado com as características da camada cuticular cerosa foliar, dada a baixa afinidade lipídica do glifosato. Esta é a principal razão para a adição de adjuvantes nas formulações comerciais dos herbicidas à base de glifosato, uma vez que estes compostos, sendo as aminas polietoxiladas (POEA) a classe de adjuvante mais comumente utilizada, agem reduzindo a tensão superficial existente entre a superfície foliar e o produto pulverizado, tornando essas superfícies mais hidratadas e

aumentando sua absorção (Giesy et al. 2000; Bringolf et al. 2007; Annett et al. 2014; Oliveira et al. 2016). Uma vez absorvido, o glifosato pode ser transportado pelo xilema, mas principalmente pelo floema (Franz et al. 1997; Giesy et al. 2000), geralmente por via simplástica (Kruse et al. 2000).

Nas plantas, os herbicidas à base de glifosato podem afetar os processos de produção de compostos essenciais, metabólitos fotossintéticos e na divisão celular, a depender das características apresentadas pelo composto (Kishore e Shah 1988). O glifosato especificamente é um princípio ativo que possui como mecanismo de ação a inibição da enzima 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintase (EPSPs), presente na via do chiquimato (Kishore e Shah 1988). Essa via é responsável principalmente pela produção de aminoácidos aromáticos como a fenilalanina, tirosina e triptofano e está presente somente em plantas, fungos e algumas bactérias, tornando a toxicidade do glifosato por si só moderada, baixa ou nula para organismos que adquirem esses aminoácidos via dieta uma vez que não possuem a EPSPs (Giesy et al. 2000; Annett et al. 2014).

Organismos que possuem a via do chiquimato, produzem um complexo formado pela enzima EPSPs juntamente com o chiquimato-3-fosfato (S3P) (Kishore e Shah 1998; Kruse et al. 2000). É neste complexo que o glifosato absorvido se liga, impedindo posteriormente o encaixe do fosfoenolpiruvato (PEP) para que haja a produção de enolpiruvilchiquimato-3-fosfato (EPSP) (Kruse et al. 2000). Ocorre, assim, o acúmulo de chiquimato e, conseqüentemente, a não formação do arogenato, composto inibidor alostérico da enzima 3-deoxi-D-arabino-heptulosonato-7-fosfato sintase (DAHPS) que é responsável por iniciar a condensação de eritrose-4-fosfato com PEP (Kruse et al. 2000). Uma vez não inibida, a enzima DAHPS faz com que grande parte da eritrose-4-fosfato seja destinada apenas para a via do chiquimato (Kruse et al. 2000), e, não seja utilizada na regeneração da ribulose-1,5-bifosfato no Ciclo de Calvin, importante fase fotossintética (Geiger et al. 1986; 1987; Shieh et al. 1991) (Figura 1). Portanto, a inibição da enzima EPSPs, pode acarretar em efeitos secundários, como o dreno de carbono das vias fotossintéticas (Geiger et al. 1986; 1987; Shieh et al. 1991; Yamada e Castro 2007), além de reduzir a produção de proteínas relacionadas à estrutura dos centros de reações do fotossistema II, como já elucidado em trabalhos anteriores (Vivancos et al. 2011; Yannicari et al. 2012). Esses efeitos podem influenciar em uma conseqüente redução na produção de sacarose, gerando perda na produtividade primária de organismos fotossintetizantes expostos ao glifosato (Kishore e Shah 1998; Kruse et al. 2000).

Figura 1. Representação ilustrativa da ação do glifosato na Via do Chiquimato.



Fonte: Adaptado de Olivera (2018) e Christofolletti e López-Ovejero (2008).

Frequentemente, as formulações comercializadas apresentam informações incompletas acerca de sua composição, dificultando a compreensão da dimensão dos riscos que esses agroquímicos podem causar ao ambiente e aos diferentes grupos de organismos, uma vez que são desconhecidas as propriedades e a natureza dos adjuvantes utilizados, substâncias que podem intensificar a toxicidade do herbicida (Annett et al. 2014). Junto a isso, o uso indiscriminado e/ou incorreto dos herbicidas pode afetar organismos que não são, necessariamente, o alvo da aplicação, os chamados organismos não-alvo, tais como os ambientes aquáticos localizados nas vizinhanças de campos de cultivo agrônômico (Peres et al. 2003). A alta solubilidade do glifosato em água, juntamente a processos como o escoamento superficial a partir da infiltração excessiva de água, lixiviação e drenagem do solo, auxiliam na sua dispersão para ecossistemas aquáticos (Carter 2000; Annett et al. 2014).

Neste contexto, a exposição de organismos não-alvo à resíduos de herbicidas à base de glifosato presentes em ambientes naturais se traduz em forte pressão sobre a biodiversidade local, afetando não somente as espécies individualmente e as populações, mas também todo o

ecossistema (Sikorski et al. 2019). Este modelo de perturbação ambiental incide com especial intensidade em ecossistemas aquáticos (Sikorski et al. 2019). Hábitats aquáticos lóticos tropicais de baixas ordens, ricos em biodiversidade, adquirem grande parte da energia que sustenta suas teias alimentares de fontes autóctones, ou seja, uma energia produzida por seus produtores primários intrínsecos (March e Pringle 2003; Mantel et al. 2004; Branco et al. 2017; Vilas Boas et al. 2022b). O fornecimento energético autóctone é oriundo principalmente da comunidade de algas bentônicas, com destaque para as macroalgas (Branco et al. 2017). Uma vez que estão constantemente sendo expostos a diferentes poluentes químicos, alterações ocasionadas nesses ambientes podem resultar na contaminação da água, alteração em ciclos de nutrientes e, como consequência, perda da biodiversidade (Ricciardi & Rasmussen 1999; Woodward et al. 2010). Considerando, portanto, que as algas bentônicas, especialmente as macroalgas, desempenham papel crucial para a manutenção dos ecossistemas lóticos tropicais de baixas ordens, efeitos do glifosato e de seus produtos de degradação, sobre a resposta fotossintética destes produtores primários de riacho, devem ser ampla e profundamente estudados. Entretanto, não são muitos os grupos de pesquisa que se dedicam a este tipo de estudo e, portanto, estão produzindo informações desta natureza. Um grupo que tem tentado conduzir trabalhos experimentais sobre esta temática está instalado no Laboratório de Biologia Aquática da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Assis, (UNESP-FCL/Assis).

Este grupo tem estudado os efeitos de resíduos de glifosato, além de outros pesticidas, sobre as respostas fotossintéticas de produtores primários de ecossistemas lóticos tropicais desde meados da década de 2010. Assim, para se ter uma noção mais realista do atual estado da arte dos estudos desta natureza, alguns dos mais relevantes trabalhos produzidos no Laboratório de Biologia Aquática da UNESP-FCL/Assis serão, resumidamente, apresentados a seguir. Oliveira et al. 2016 registraram redução altamente significativa, e dose-dependente, da eficiência fotossintética de *Nitella microcarpa* var. *wrightii*, uma espécie de macroalga característica de ambientes lóticos tropicais, sob exposição à diferentes concentrações de Roundup® (concentrações de 0.28, 3.5 e 6.0 mg.L⁻¹). Além da concentração de Roundup®, o estudo mostrou que o tempo de exposição das amostras algais aos tratamentos com herbicida – também afetou significativamente a taxa fotossintética, de modo que as maiores concentrações e tempos de exposição mais longos produziram, em regra, impactos negativos mais severos. Por outro lado, neste mesmo estudo, Oliveira et al (2016) também observaram a ausência de efeitos negativos sobre a fotossíntese

de *N. microcarpa* var. *wrightii*, quando as amostras algais foram expostas a diferentes concentrações de glifosato de grau técnico, resultado que foi justificado a partir de dados da literatura que associam maiores níveis de toxicidade da formulação comercial em decorrência da presença de adjuvantes em sua composição, especialmente os surfactantes (Tsui e Chu 2003; Oliveira et al. 2016). Oliveira et al. (2016) também avaliaram os efeitos do subproduto da degradação do glifosato, o AMPA, que, em pequena concentração (0.03 mg.L^{-1}), resultou em um estímulo positivo da taxa fotossintética de *N. microcarpa* var. *wrightii*, o que poderia ser explicado por um relevante aumento no aporte de moléculas de fosfato no meio durante a fotólise e hidrólise do AMPA (Giesy et al. 2000) e que, em última análise, poderiam acarretar no aumento da produção fotossintética desta macroalga (Coupe et al. 2012).

Usando as mesmas concentrações de Roundup® (0.28 , 3.5 e 6.0 mg.L^{-1}) e de AMPA (0.03 mg.L^{-1}) e os mesmos tempos de exposição utilizados por Oliveira et al. (2016), Diagonel et al. (2022) realizaram um estudo ecotoxicológico com a espécie de macrófita *Egeria densa*, a fim de avaliar o efeito destes herbicidas sobre a taxa fotossintética desta planta aquática. Neste estudo, as amostras de *E. densa* registraram redução da fotossíntese líquida nos tratamentos com maiores concentrações de Roundup®, assim como reportado por Oliveira et al. (2016) para *N. microcarpa* var. *wrightii*. Entretanto, diferentemente do observado por Oliveira et al. (2016) para *N. microcarpa* var. *wrightii*, quando as amostras de *E. densa* foram expostas ao AMPA foi registrada uma redução significativa nos valores da taxa fotossintética desta macrófita aquática (Diagonel et al. 2022).

Uma prática que tem se tornado cada vez mais comum no cultivo de plantas de interesse comercial é o uso consorciado de dois ou mais herbicidas, com o objetivo de garantir a eliminação de linhagens de plantas daninhas que eventualmente desenvolveram resistência por conta de recorrente exposição prévia a um ou outro herbicida. Levando-se em consideração este contexto, Pamplona (2024) investigou possíveis efeitos dos herbicidas Roundup® (0.28 , 3.5 e 6.0 mg.L^{-1}) e Bratt® (0.30 , 2.0 , 10 mg.L^{-1}), isolados e em conjunto (M0.28-0.30, M3.5-2, M6-10), sobre as respostas fotossintéticas de quatro espécies de macroalgas de riacho pertencentes aos Filos Charophyta (*Nitella microcarpa* var. *wrightii*) e Chlorophyta (*Aegagropilopsis clavuligera*, *Arnoldiella emedii* e *Oedogonium* sp). Quanto a eficiência fotossintética, com exceção de *A. clavuligera*, que registrou aumento nos valores do rendimento quântico efetivo ($Y(II)$) para os tratamentos com Bratt® e com a misturas dos herbicidas (M3.5-2, M6-10) - sugerindo possível estímulo positivo -, as demais espécies não registraram nenhuma diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos com os

herbicidas e os grupos controle (ou seja, onde os meios estavam desprovidos de herbicidas). Portanto, de modo geral, as respostas fotossintéticas das quatro espécies de macroalgas investigadas neste estudo não revelaram qualquer efeito negativo evidente frente à exposição aos tratamentos testados, sugerindo haver a possibilidade da ocorrência de um fenômeno de resistência adquirida por exposição prévia a cenários estressores semelhantes.

Embora muito relevantes, os resíduos de herbicidas não são os únicos fatores antrópicos que atuam no sentido de impor pressão sobre a biodiversidade. Ambientes naturais, e a diversidade biológica associada a eles, também estão sendo ameaçados por outros fatores de origem antrópica que atuam de forma concomitante, no sentido de produzirem os chamados cenários multi-estressores (Forister et al. 2010; Hoffmann e Sgrò 2011). O aumento da temperatura relacionado com as mudanças climáticas globais, por exemplo, está ocorrendo ao mesmo tempo que o uso de herbicidas vem aumentando em função da ampliação das áreas de agricultura intensiva.

As mudanças climáticas globais refletem, de certa forma, o crescente aumento da poluição ambiental, atribuído principalmente às atividades antrópicas. Desde o período da industrialização, ocorreu uma crescente utilização de combustíveis fósseis para a produção de energia - que atualmente equivale a três quartos do fornecimento de energia mundial (Abdul-Wahab et al. 2019). Assim, tem-se registrado expressivo aumento nos níveis de emissão de gases responsáveis pelo efeito estufa na atmosfera terrestre, onde três desses gases - CO₂, metano e óxido nitroso - atingiram níveis recordes em 2022 (Dunn, et al. 2022).

A emissão do gás carbônico (CO₂) se sobressai dentre os demais gases do efeito estufa, sendo duplicada ao redor do mundo desde 1990, crescendo anualmente em uma taxa média de 1,8% e apresentando níveis mais elevados do que nos últimos 2 milhões de anos (El Kenawy et al. 2023). Tais níveis de CO₂ atmosférico resultam em diversos impactos danosos que podem ser percebidos no aumento de eventos climáticos extremos, tais como secas, precipitações intensas e ciclones tropicais, além da intensificação do degelo e do aumento no nível médio global dos mares (El Kenawy et al. 2023).

Uma vez que a concentração desses gases aumenta em demasia na atmosfera, ocorre acúmulo de energia devido ao desequilíbrio entre os processos de entrada de energia na terra proveniente do sol e a reemissão da mesma em ondas infravermelhas mais longas, impedindo que o calor seja dissipado de maneira efetiva, ocasionando aumento ao longo do tempo na temperatura média atmosférica global (Dunn et al. 2000). É fato que os organismos possuem

plasticidade quanto a sua adaptação a temperatura, porém, também é fato que as espécies possuem limites de tolerância térmica (que podem diferir de espécie para espécie) e, uma vez que as temperaturas ultrapassam tais limites, efeitos negativos sobre aspectos fisiológicos, ecológicos, comportamentais, etc, são claramente observados (Iqbal et al. 2022).

Medidas de temperatura que foram realizadas em diversas partes do globo terrestre mostraram que, de fato, a temperatura da terra aumentou significativamente (ca. de 1,1 °C) entre os anos 2000 e 2020 (Masson-Delmotte et al., 2021). Estudos recentes têm mostrado que aumentos dessa magnitude na temperatura do planeta já vêm produzindo efeitos nocivos mensuráveis sobre a biodiversidade, tais como efeitos sobre o crescimento, a reprodução, a diversidade, a sucessão e a estrutura das comunidades de animais, de vegetais e de algas (Gobler, 2020; Griffith e Gobler, 2020; Zohary et al., 2021; Inouye, 2022). Por exemplo, no contexto dos efeitos das mudanças climáticas globais e considerando especificamente as macroalgas de ecossistemas lóticos, já há estudos que sugerem há efeitos do aumento da temperatura sobre a eficiência fotossintética e a taxa de produtividade primária destes organismos, embora o sinal (se positivo ou negativo) e a magnitude destes efeitos sejam claramente espécie-específicos. Do mesmo modo que se observa para os herbicidas, a avaliação dos efeitos do aquecimento global sobre as respostas fotossintéticas de produtores primários de ecossistemas lóticos tropicais, especialmente macroalgas e macrófitas aquáticas, também tem sido um tema ainda pouco explorado, porém alguns grupos de pesquisa têm feito esforços neste sentido. Alguns estudos desta natureza foram conduzidos pelo grupo de pesquisa associado ao Laboratório de Biologia Aquática da UNESP-FCL/Assis estão, resumidamente, apresentados a seguir.

Vilas Boas et al. (2019), por exemplo, avaliaram o desempenho fotossintético de esporófitos e gametófitos de uma macroalga lótica pertencente ao Filo Rhodophyta, *Sirodotia delicatula*, frente a dois cenários de aquecimento global baseados na proposição do Quinto Relatório de Avaliação do IPCC (AR5), que apontam aumentos de temperatura de +2,3°C (o chamado cenário RCP4.5) e de +4,4°C (cenário RCP8.5). De maneira geral, resultados significativos foram registrados apenas no cenário mais severo, RCP8.5. Os esporófitos registraram perda na eficiência fotossintética – avaliada pelo parâmetro Y(II) oriundo da técnica da fluorescência da clorofila *a*, indicando que em cenários de temperatura mais elevada a produtividade desta macroalga tende a ser afetada, podendo resultar em efeito cascata nas cadeias tróficas nas quais este produtor primários está inserido. Os parâmetros relacionados ao estresse fisiológico desta macroalga, registraram aumento e redução de

Y(NO) e Y(NPQ), respectivamente, sugerindo possíveis danos ao seu aparato fotossintético, uma vez que a parte da energia que não está sendo destinada para a via-fotoquímica está sendo dissipada de maneira não regulada. Por sua vez, os gametófitos de *S. delicatula* não registraram perda de eficiência fotossintética em nenhum dos cenários de aquecimento global testados, embora, eventualmente, tenha sido reportado algum estresse fisiológico sobre os fotossistemas em determinados cenários.

Com o objetivo de ampliar o número de espécies testadas, Vilas boas et al. (2022b) avaliaram os efeitos dos mesmos cenários de aquecimento global projetados pelo AR5 que foram avaliados por Vilas Boas et al. (2019) (quais sejam, cenários RCP4.5 e RCP8.5) sobre macroalgas de riachos do Filo Rhodophyta (*Batrachospermum helminthosa*, *Sirodotia delicatula* e Estágio “Chantransia”), do Filo Charophyta (*Desmidium grevillei*, *Nitella microcarpa* var. *wrightii*, *Nitella subglomerata* e *Spirogyra* sp.) e do Filo Chlorophyta (*Oedogonium* sp.). Algumas das espécies de macroalgas analisadas tiveram seu desempenho fotossintético afetado negativamente, com redução da taxa fotossintética (p.ex., *D. grevillei* 25.2 °C), da eficiência fotossintética (p.ex., *Oedogonium* sp. 23.1 °C) ou de ambos os parâmetros (p.ex., *N. microcarpa* e *B. helimnthosa*; Estágio “Chantransia”). Em contrapartida, outras espécies de macroalgas apresentaram resultados que sugerem possível estímulo positivo dos cenários de aquecimento global sobre as respostas fotossintéticas, com valores maiores de taxa fotossintética do que os grupos controle, além de ausência de estresse fisiológico aparente, como é o caso da *N. subglomerata*, *Spirogyra* sp., *Oedogonium* sp.. Esses resultados sugerem, portanto, que as respostas fotossintéticas são espécie-específicas, sendo que há espécies que possuem maior resistência/tolerância e capacidade de aclimação frente aos cenários de aquecimento global. *S. delicatula* Skuja foi a única espécie de macroalga que não apresentou qualquer efeito, positivo ou negativo, quanto ao desempenho fotossintético frente aos cenários testados.

Carriel et al. (2023) por sua vez, utilizaram dos mesmos cenários de aquecimento global (RCP4.5 e RCP8.5) para compreender os possíveis efeitos do aquecimento global sobre um outro importante grupo de produtores primários de ecossistemas lóticos tropicais, as macrófitas aquáticas. Neste estudo, os autores testaram as espécies *Egeria densa*, *Mayaca sellowiana*, *Myriophyllum aquaticum*, *Riccia* sp. e *Fissidens* sp. Com exceção da *Riccia* sp., todas as demais espécies de macrófitas aquáticas apresentaram efeitos negativos quanto à eficiência fotossintética e estresse fisiológico em ambos os cenários de aquecimento, apesar das respostas serem claramente espécie-específica. Do ponto de vista ecológico, ficou claro

que o aquecimento global, representado pelos cenários avaliados, pode afetar negativamente a produção primária de macrófitas aquáticas, o que, seguramente, impacta o estoque de energia autóctone dos sistemas lóticos tropicais.

Mais recentemente, com a finalidade de avaliar os impactos de cenário multi-estressor sobre organismos fotossintetizantes de ecossistemas lóticos, especificamente as macroalgas, Vilas Boas et al. (2022a) analisaram os efeitos causados pela exposição conjunta a diferentes concentrações do herbicida tebuthiuron (0.05, 0.6 e 1.2 mg.L⁻¹) e a temperaturas projetadas a partir de cenários de aquecimento global (RCP4.5 23.9 °C, RCP 8.5 26 °C) propostos no Quinto Relatório de Avaliação do IPCC (AR5) sobre as respostas fotossintéticas da macroalga verde *Nitella microcarpa* var. *wrightii* (Filo Charophyta). De modo geral, os tratamentos de maior concentração do herbicida reduziram a eficiência fotossintética e, portanto, produziram danos fisiológicos às amostras algais. Porém, quanto aos cenários de aquecimento global, esta espécie de macroalga lótica mostrou que nenhum dos aumentos testados produziu impacto, nem positivo nem negativo, sobre os parâmetros fotossintéticos avaliados, sugerindo a presença de possíveis mecanismos de tolerância/resistência frente ao aumento da temperatura nesta macroalga.

Considerando a relevância da ampliação do conhecimento sobre as potenciais influências de fatores estressores sobre as respostas fotossintéticas de produtores primários de ecossistemas aquáticos continentais, como revelado pelo panorama apresentado acima, somada aos esforços que o grupo de pesquisa associado ao Laboratório de Biologia Aquática da UNESP-FCL/Assis vem dedicando no desenvolvimento de estudos que buscam compreender e aprofundar os conhecimentos sobre esta temática, o presente estudo foi conduzido com a proposta de avançar um passo adiante na avaliação dos potenciais efeitos da exposição de macroalgas lóticas à cenários ecotoxicológicos multi-estressores que expressem o mais próximo possível a realidade ambiental contemporânea.

Assim, neste sentido, o presente estudo avaliou os efeitos da exposição de cinco espécies de macroalgas de ambientes lóticos tropicais pertencentes aos Filos Chlorophyta (*Arnoldiella emedii*, *Cladophora glomerata*, *Rhizoclonium hieroglyphicum* e *Schizomeris leibleinii*) e Rhodophyta (*Compsopongon coeruleus*), a dois estressores ambientais, resíduos de herbicida à base de glifosato e aumento de temperatura relacionado à cenários de aquecimento global, considerando como variáveis-resposta alguns parâmetros indicadores da eficiência e do estresse fotossintético destes organismos. De modo mais específico, as avaliações das respostas fotossintéticas das espécies estudadas se basearam em parâmetros

oriundos da técnica da fluorescência da clorofila *a* mais especificamente o Y(II) (rendimento quântico efetivo do fotossistema II, um indicador direto da eficiência fotossintética - Tait et al., 2017), o Y(NPQ) (rendimento quântico da perda regulada de energia não-fotoquímica do fotossistema II), um indicador de estresse fisiológico, porém, inofensivo e controlado pelo aparelho fotoprotetor do aparato fotossintético (Klughammer e Schreiber 2008; Quick e Horton 1984; Kasajima et al. 2011) e o Y(NO) (rendimento quântico da perda não-regulada de energia não-fotoquímica no fotossistema II), um indicador de que o aparelho fotoprotetor não foi suficiente para processar toda energia absorvida e que esta energia não-fotoquímica passou a ser dissipada de maneira não-regulada e danosa ao aparato fotossintético, produzindo estresse fisiológico mais severo (Klughammer e Schreiber 2008).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdul-Wahab, S.; Charabi, Y.; Al-Mahrugi, A. M.; Osman, I.; Osman, S. Selection of the best solar photovoltaic (PV) for Oman. **Solar Energy**, v. 188, p. 1156-1168, 2019.
- Amarante Junior, O. P.; Santos, T. C. R.; Brito, N. M.; Ribeiro, M. L. Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. **Quim. Nova**, v. 25, n. 4, p. 589-593, 2002.
- Amaro, B. B. D. F.; Correia, D. B.; Freitas, R. A.; Teixeira, P. H. R.; Nascimento, C. A.; Pereira, C. M.; Silva, J. R. L.; Silva, M. S. A.; Cruz, G. V.; Queiroz, M. B.; Oliveira, J. P. C.; Silva, R.A.R.; Macedo, G. F.; Kamdem, J. P. A Biossegurança no uso de agrotóxicos na percepção de agricultores do Distrito de Cuncas, Barro - Ceará: Saúde Física e Ambiental. **Res. Soc. Dev.**, v. 10, n. 1, p. e15610111644, 2021.
- Annett, R.; Habibi, H. R.; Hontela, A. Impact of glyphosate and glyphosate-based herbicides on the freshwater environment. **J. Appl. Toxicol.**, v. 34, p. 458-479, 2014.
- Benbrook, C. M. Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally. **Environ. Sci. Eur.**, v. 28, n. 3, 2016.
- Boerboom, C. M.; Wyse, D. L. Influence of Glyphosate Absorption and Translocation in Canada Thistle (*Cirsium arvense*). **Weed Sci.**, v. 36, p. 291-295, 1988.
- Branco, C. C. Z.; Riolfi, T. A.; Crulhas, B. P.; Tonetto, A. F.; Bautista, A. I. N.; Necchi Júnior, O. Tropical lotic primary producers: Who has the most efficient photosynthesis in low order stream ecosystems? **Freshw. Biol.**, v. 62, p. 1623-1636, 2017.
- Bringolf, R. B.; Cope, W. G.; Mosher, S.; Barhnhart, M. C.; Shea, D. Acute and chronic toxicity of glyphosate compounds to glochidia and juveniles of *Lampsilis Siliquoidea* (Uninidae). **Environ. Toxicol. Chem.**, v. 26, n. 10, p. 2094-21
- Carriel, O. A.; Diagonal, G.; Vilas Boas, L. K.; Oliveira, R. C.; Branco, C. C. Z. The temperature increase due to climate warming can affect the photosynthetic responses of aquatic macrophytes from tropical lotic ecosystems. **Trop. Ecol.**, v. 64, p. 612-619, 2023.
- Carter, A. How pesticides get into water - and proposed reduction measures. **Pestic. Outlook**, v. 11, n. 4, p. 149-156, 2000.
- Cepea. PIB do Agronegócio Brasileiro 2022. **Conferência da Agricultura e Pecuária do Brasil**, 2023.
- Christoffoleti, P. J.; López-Ovejero, R. F. Resistência de plantas daninhas a herbicidas: definições, bases e situações no Brasil e no Mundo. Pedro Jacob Christoffoleti. (Org.). **Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas**. 3 ed. Piracicaba: HRAC-BR, p. 3-26, 2008.

Coupe, R. H.; Kalkhoff, S. J.; Capel, P. D.; Gregoire, C. Fate and transport of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in surface waters of agricultural basins. **Pest. Manag. Sci.**, v. 68, n. 1, p. 16-30, 2012.

de Araujo, L. G. A.; Zordan, D. F.; Celzard, A.; Fierro, V. Glyphosate uses, adverse effects and alternatives: focus on the current scenario in Brazil. **Environ. Geochem. Health**, v. 45, p. 9559-9582, 2023.

Diagonel, G.; Carriel, O. A.; Oliveira, R. C.; Vilas Boas, L. K.; Branco, C. C. Z. Effect of glyphosate-based herbicides on the photosynthetic responses of the macrophyte *Egeria densa* Planch. from tropical lotic ecosystems. **Limnetica**, v. 41, n. 1, p. 73-84, 2022.

Dunn, R. J. H.; Sandford, C.; Kendon, M.; Morice, C. P.; Kennedy, J.; Rayner, N. A. Global and regional climate in 2022. **Weather**, v. 78, p. 328-336, 2022.

Dyer, W. E.; Hess, F. D.; Holt, J. S.; Duke, S. O. Potential Benefits and Risks of Herbicide-Resistant Crops Produced by Biotechnology. **Hortic. Rev.**, v. 15, p. 367-408, 1993.

El Kenawy, A. M.; Al-Awadhi, T.; Abdullah, M.; Jawarneh, R.; Abulibdeh, A. Preliminary Assessment of Global CO₂: Spatial Patterns, Temporal Trends, and Policy Implications. **Global Chall.**, v. 7, n. 12, p. 1-18, 2023.

Franz, J. E.; Mao, M. K.; Sikorski, J. A. Glyphosate: a unique global herbicide. ACS Monograph 189, **Am. Chem. Soc.**, p. 163-175, 1997.

Forister, M. L.; McCall, A. C.; Sanders, N. J.; Shapiro, A. M. Compounded effects of climate change and habitat alteration shift patterns of butterfly diversity. **Proc. Natl. Acad. Sci. U S A**, v. 107, n. 5, p. 2088-2092, 2010.

Geiger, D. R.; Kapitan, S. W.; Tucci, M. A. Glyphosate inhibits photosynthesis and allocation of carbon to starch in sugar beet leaves. **Plant Physiology**, v. 82, n. 2, p. 468-472, 1986.

Geiger, D. R.; Tucci, M. A.; Serviates, J. C. Glyphosate effects on carbon assimilation and gas exchange in sugar beet leaves. **Plant Physiology**, v. 85, n. 2, p. 365-369, 1987

Giesy, J. P.; Dobson, S.; Solomon, K. R. Ecotoxicological risk assessment for Roundup® herbicide. **Rev. Environ. Contam. Toxicol.**, v. 167, p. 35-120, 2000.

Griffith, A. W.; Gobler, C. J. Harmful algal blooms: A climate change co-stressor in marine and freshwater ecosystems. **Harmful Algae**, v. 91, 2020.

Gobler, C. J. Climate Change and Harmful Algal Blooms: Insights and perspective. **Harmful Algae**, v. 91, 2020.

Hoffmann, A. A.; Sgrò, C. M. Climate change and evolutionary adaptation. **Nature**, v. 470, p. 479-485, 2011.

Howe, C. M.; Berrill, M.; Pauli, B. D.; Helbing, C. C.; Werry, K.; Veldhoen, N. Toxicity of glyphosate-based pesticides to four North American frog species. **Environ. Toxicol. Chem.**, v. 23, n. 8, p. 1928-1930, 2004.

Inouye, D. W. Climate change and phenology. Wiley Interdiscip. **Rev. Clim Change.**, v. 13, n. e764, 2022.

Iqbal, N.; Sehar, Z.; Fatma, M.; Umar, S.; Sofo, A.; Khan, N. A. Nitric Oxide and Absciscic Acid Mediate Heat Stress Tolerance through Regulation of Osmolytes and Antioxidants to Protect Photosynthesis and Growth in Wheat Plants. **Antioxidants**, v. 11, 2022.

Kasajima, I.; Ebana, K.; Yamamoto, T.; Takahara, K.; Yano, M.; Kawai-Yamada, M.; Uchimiya, H. Molecular distinction in genetic regulation of nonphotochemical quenching in rice. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 108, p. 13835-13840, 2011.

Kirkwood, R. C. Uptake and movement of herbicides from plant surfaces and the effects of formulation and environment upon them. In: Cottrell HJ ed. Pesticides on plant surfaces. John Wiley & Sons, Chichester, New York. p. 1-25, 1987.

Kishore, G. M.; Shah, D. M. Amino Acid Biosynthesis Inhibitors As Herbicides. **Ann. Rev. Biochem.**, v. 57, p. 627-630, 1988.

Klughammer, C.; Schreiber, U. Non-photochemical fluorescence quenching and quantum yields in PS I and PS II: Analysis of heat-induced limitations using Maz-Imaging-PAM and Dual-PAM-100. **PAM Applications Notes**, v. 1, p. 15-18, 2008.

Kruse, N. D.; Trezzi, M. M.; Vidal, R. A. Herbicidas inibidores da EPSPs: revisão literária. **Revista Brasileira de Herbicidas**, v. 1, n. 2, p. 139-146, 2000.

Landrigan, P. J.; Belpoggi, F. The need for independent research on the health effects of glyphosate-based herbicides. **Environ. Health**, v. 17, n. 1, 2018.

Lasier, P. J.; Urich, M. L.; Hassan, S. M.; Jacobs, W. N.; Bringolf, R. B.; Owens, K. M. Changing agricultural practices: potential consequences of aquatic organisms. **Environ. Monit. Assess.**, © Springer International Publishing Switzerland (outside the USA), p. 188-672, 2016.

Mantel, S. K.; Salas, M.; Dudgeon, D. Foodweb Structure in a Tropical Asian Forest Stream. **Journal of North American Benthological Society**, v. 23, n. 4, p. 728-755, 2004.

March, J. G.; Pringle, C. M. Food Web Structure and Basal Resource Utilization along a Tropical Island Stream Continuum, Puerto Rico. **Biotropica**, v. 35, n. 1, p. 84-93, 2003.

Mascarenhas, G. M. A.; Silva, J. A. T.; Araújo, L. M. Agrotóxicos, dominação e fronteiras: significação, relação e perspectivas sobre o pacote tecnológico agrícola e a Amazônia brasileira. **Revista Brasileira de Políticas Públicas**, Brasília, v. 10, n. 3, p. 417-438, 2020.

Masson-Delmotte, V.; Zhai, P.; Pirani, A.; Connors, S. L.; Péan, C.; Berger, S.; Caud, N.; Chen, Y.; Goldfarb, L.; Gomis, M.; Huang, Leitzell, K.; Lonnoy, E.; Matthews, J. B. R.;

Maycock, T. K.; Waterfield, T.; Yelekçi, O.; Yu, R.; Zhou, B. - **Eds. Summary for Policymakers**. In: Climate Change 2021: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Sixth Assessment Report of The Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, New York, 2021.

Oliveira, R. C. Respostas fotossintéticas de macroalgas lólicas do Filo Chlorophyta submetidas à herbicidas à base de glifosato. **Tese de Doutorado** - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Rio Claro, 2018.

Oliveira, R. C.; Vilas Boas, L. K.; Branco, C. C. Z. Assessment of the potential toxicity of glyphosate-based herbicides on the photosynthesis of *Nitella microcarpa* var. *wrightii* (Charophyceae). **Phycologia**, v. 55, p. 577-584, 2016.

Padgett, S. R.; Re, D. B.; Barry, G. F.; Eichholtz, D. E.; Xavier, D.; Fuchs, R. L.; Kishore, G. M.; Fraley, R. T. New Weed Control Opportunities: Development of Soybeans With A Roundup® Ready Gene. In: Duke, S. O. (Ed.) Herbicide resistant crops: agricultural, economy, environmental, regulatory, and technological aspects. **Boca Raton, FL.: Press**, p. 53-84, 1996.

Pamplona, M. V. Efeito da exposição aos herbicidas glifosato e 2,4-D, e suas misturas, sobre as respostas fotossintéticas de espécies de macroalgas de riachos. **Dissertação de Mestrado** - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Assis, São Paulo, 2024.

Peres, F.; Moreira, J. C.; Dubois, G. S. Agrotóxicos, saúde e ambiente: uma introdução ao tema. In: Peres, F. e Moreira, J. C., orgs. **É veneno ou é remédio? Agrotóxicos, saúde e ambiente**, Editora FIOCRUZ, p. 21-41, 2003.

Quick, W. P.; Horton, P. Studies on the induction of chlorophyll fluorescence in barley protoplasts. I. Factors affecting the observation of oscillations in the yield of chlorophyll fluorescence and the rate of oxygen evolution. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, n. 220, p. 361-370, 1984.

Ricciardi, A.; Rasmussen, J. B. Extinction Rates of North American Freshwater Fauna. **Conservation Biology**, v. 13, n. 5, p. 1220-1222.

Rigotto, R. M.; Vasconcelos, D. P.; Rocha, M. M. Uso de agrotóxicos no Brasil e problemas para a saúde pública. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 30, n. 7, p. 1360-1362, 2014.

Shieh, W. J.; Geiger, D. R.; Serviates, J. C. Effect of N-(Phosphonomethyl) glycine on carbon assimilation and metabolism during a simulated natural day. **Plant Physiology**, v. 97, n. 3, p. 1109-1114, 1991.

Sikorski, Ł.; Baciak, M.; Beś, A.; Adomas, B. The effects of glyphosate-based herbicide formulations on *Lemna minor*, a non-target species. **Aquatic Toxicology**, v. 209, p. 70-80, 2019.

Tait, L. W.; Hawes, I.; Schiel, D. R. Integrations of chlorophyll a fluorescence and photorespirometry techniques to understand production dynamics in macroalgal communities. **J. Phycol.**, v. 53, p. 476-485, 2017.

Teixeira, D. E.; Paula, R. L. G.; Napolitano, H. B. Legislação e Normatização para o Glifosato no Brasil. **Revista Processos Químicos**, v. 13, n. 25, 2019.

Tsui, M. T. K.; Chu, L. M. Aquatic toxicity of glyphosate-based formulations: comparison between different organisms and the effects of environmental factors. **Chemosphere**, v. 52, n. 7, 2003.

USGS. **Pesticide National Synthesis Project**. United States Geological Survey, 2015. Disponível em: http://water.usgs.gov/nawqa/pnsp/usage/maps/show_map.php?year=2011&map=GLYPHOSATE&hilo=H&disp=Glyphosate. Acesso em: 10 Jan 2023.

Vilas Boas, L. K.; Oliveira, R. C.; Necchi Júnior O.; Branco, C. C. Z. Temperature effects on photosynthesis in gametophytic and sporophytic stages of the freshwater red alga *Sirodotia delicatula* (Rhodophyta, Batrachospermales) under a global warming perspective. **Phycol. Res.**, v. 67, p. 39-44, 2019.

Vilas Boas, L. K.; Branco, C. C. Z. Effect of tebuthiuron and temperature increase related to climate change on the photosynthesis of *Nitella microcarpa* var. *wrightii* (Charophyceae). **J. Appl. Phycol.**, v. 34, p. 1721–1729, 2022a.

Vilas Boas, L. K.; Oliveira, R. C.; Branco, C. C. Z. Climate warming effects on photosynthetic responses of tropical stream macroalgae. **Fundam. Appl. Limnol.**, v. 195, p. 85–93, 2022b.

Vivancos, P. D.; Driscoll, S. P.; Bulman, C. A.; Ying, L.; Emami, K.; Treumann, A.; Mauve, C.; Noctor, G.; Foyer, C. H. Perturbations of amino acid metabolism associated with glyphosate-dependent inhibition of shikimic acid metabolism affect cellular redox homeostasis and alter the abundance of proteins involved in photosynthesis and photorespiration. **Plant physiology**, v. 157, n. 1, p. 256-268, 2011.

Woodward, G.; Perkins, D. M.; Brown, L. E. Climate change and freshwater: impacts across multiple levels of organization. **Phil. Trans. R. Soc. B**, v. 365, p. 2093-2106, 2010.

Yamada, T.; Castro, P. D. C. Efeitos do glifosato nas plantas: implicações fisiológicas e agronômicas. **Informações Agronômicas**, v. 119, p. 1-32, 2007.

Yannicari, M.; Tambussi, E.; Istilart, C.; Castro, A. M. Glyphosate effects on gas exchange and chlorophyll fluorescence responses of two *Lolium perenne* L. biotypes with differential herbicide sensitivity. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 57, p. 210-217, 2012.

Zohary, T.; Flaim, G.; Sommer, U. Temperature and the size of freshwater phytoplankton. **Hydrobiologia**, v. 848, p. 143–155, 2021.

Capítulo 1: Respostas fotossintéticas de macroalgas lólicas tropicais após exposição à resíduos de herbicidas à base de glifosato e cenários de aquecimento global: tendências espécie-específicas frente aos tratamentos multi-estressores.

RESUMO

O uso desenfreado de herbicidas em culturas agrícolas de interesse econômico vem sendo reportado como ambientalmente problemático, uma vez que essas substâncias químicas podem ser transportadas até ambientes naturais nas vizinhanças das áreas de aplicação e, então, atingirem outros organismos além das pragas agrícolas desejadas, os chamados organismos “não-alvo”. Entre os principais organismos não-alvo estão aqueles que habitam rios e riachos localizados nas proximidades de plantações comerciais, como é o caso, por exemplo, das macroalgas lólicas, importantes produtores primários destes tipos de ecossistemas aquáticos continentais. Concomitante à exposição aos agrotóxicos, estes produtores primários também estão expostos a temperaturas globais cada vez maiores, que, em grande parte, podem ser atribuídas ao alto nível de emissão de gases do efeito estufa, principalmente dióxido de carbono. Baseado nos níveis de emissão de CO₂, o Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas (IPCC) das Organização das Nações Unidas (ONU) projetou cenários futuros de aquecimento global,. Considerando este contexto, este estudo analisou os possíveis efeitos de cenários ambientais multi-estressores específicos sobre as respostas fotossintéticas de cinco espécies dos macroalgas - Filo Chlorophyta (*Arnoldiella emedii*, *Cladophora glomerata*, *Rhizoclonium hieroglyphicum*) e Filo Rhodophyta (*Composopogon coeruleus*). Os tratamentos multi-estressores utilizados neste estudo foram compostos pelas combinações binárias de dois cenários de aquecimento global projetados a partir do 6º relatório do IPCC - SSP2-4.5 e SSP5-8.5 - e três concentrações nominais da formulação comercial Roundup - herbicida à base de glifosato - (0.28, 3.5 e 6.0 mg.L⁻¹). Como variáveis respostas foram analisados os seguintes parâmetros obtidos a partir da técnica da fluorescência da clorofila *a*: rendimento quântico efetivo (Y(II)), ii) rendimento quântico da perda de energia não-fotoquímica não-regulada (Y(NO)) e iii) rendimento quântico da perda de energia não-fotoquímica regulada (Y(NPQ)). As respostas das algas foram espécie-específicas, como esperado, entretanto, as macroalgas pertencentes ao Filo Chlorophyta tenderam a ser mais resistentes frente aos tratamentos stressores. Considerando as espécies de macroalgas verdes, a interação dos fatores stressores ou, por um lado, não ocasionou perda na eficiência fotossintética (como nos casos de *A. emedii* e *R. hieroglyphicum*), ou, por outro, até produziu um leve efeito estimulante da fotossíntese (como nos casos de *C. glomerata* e *S. leibleinii*), de modo que a identificação de eventuais indicadores de estresse fisiológico foram isoladas e não impactaram significativamente a produtividade destas algas. Por sua vez, quando a espécie de macroalga vermelha analisada (*C. coeruleus*) foi exposta as concentrações de herbicida em conjunto com o aumento das temperaturas, os resultados experimentais registraram redução significativa de Y(II), acompanhado de altos valores de Y(NO) e Y(NPQ), revelando, em última análise, que o efeito do estresse fisiológico provocado pelo tratamentos foi capaz de produzir uma sensível perda de eficiência fotossintética nesta alga.

Palavra-chave: ecotoxicologia aquática; ecossistemas lólicos; herbicidas; aquecimento global; macroalgas de riachos; fotossíntese; resistência/tolerância; algas verdes; algas vermelhas; ambientes multi-estressores.

ABSTRACT

The unbridled use of herbicides in agricultural crops of economic interest has been reported as environmentally problematic, since these chemical substances can be transported to natural environments in the vicinity of the application areas and then reach organisms other than the desired agricultural pests, the so-called “non-target” organisms. Among the main non-target organisms are those that inhabit rivers and streams located near commercial plantations, such as lotic macroalgae, important primary producers in these types of continental aquatic ecosystems. Concomitant with exposure to pesticides, these primary producers are also exposed to increasingly higher global temperatures, which, to a large extent, can be attributed to the high level of greenhouse gas emissions, mainly carbon dioxide. Based on CO₂ emission levels, the Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC) of the United Nations (UN) projected future scenarios of global warming. Considering this context, this study analyzed the possible effects of specific multi-stressor environmental scenarios on the photosynthetic responses of five macroalgae species - Phylum Chlorophyta (*Arnoldiella emedii*, *Cladophora glomerata*, *Rhizoclonium hieroglyphicum*) and Phylum Rhodophyta (*Composopogon coeruleus*). The multi-stressor treatments used in this study were composed of binary combinations of two global warming scenarios projected from the 6th IPCC report - SSP2-4.5 and SSP5-8.5 - and three nominal concentrations of the commercial formulation Roundup - glyphosate-based herbicide - (0.28, 3.5 and 6.0 mg.L⁻¹). The following parameters obtained from the chlorophyll a fluorescence technique were analyzed as response variables: effective quantum yield (Y(II)), ii) quantum yield of unregulated non-photochemical energy loss (Y(NO)) and iii) quantum yield of regulated non-photochemical energy loss (Y(NPQ)). The responses of the algae were species-specific, as expected; however, macroalgae belonging to the Chlorophyta phylum tended to be more resistant to stress treatments. Considering the green macroalgae species, the interaction of stress factors either, on the one hand, did not cause loss in photosynthetic efficiency (as in the cases of *A. emedii* and *R. hieroglyphicum*), or, on the other hand, even produced a slight stimulating effect on photosynthesis (as in the cases of *C. glomerata* and *S. leibleinii*), so that the identification of possible indicators of physiological stress were isolated and did not significantly impact the productivity of these algae. In turn, when the species of red macroalgae analyzed (*C. coeruleus*) was exposed to herbicide concentrations together with increased temperatures, the experimental results recorded a significant reduction in Y(II), accompanied by high values of Y(NO) and Y(NPQ), ultimately revealing that the effect of physiological stress caused by the treatments was capable of producing a significant loss of photosynthetic efficiency in this algae.

Keywords: aquatic ecotoxicology; lotic ecosystems; herbicides; global warming; stream macroalgae; photosynthesis; resistance/tolerance; green algae; red algae; multi-stress environments.

INTRODUÇÃO

A intensa atividade econômica relacionada com a produção agrícolas voltadas para a exportação que se observa no Brasil é acompanhada de práticas de manejo que incluem o uso, frequente e em larga escala, de substâncias químicas que se prestam para o controle de eventuais patógenos e/ou espécies competidoras das culturas agrônômicas de interesse comercial (Cepea 2022). Esses organismos “indesejados”, que podem incluir fungos, bactérias, insetos ou outras plantas, interferem de diferentes formas sobre o plantio de interesse (Mascarenhas et al. 2020; Amaro et al. 2021), podendo agir como patógenos causadores de doenças agrícolas ou, simplesmente competir por espaço e recursos com a planta que está sendo cultivada comercialmente, como é o caso das ervas daninhas (Kruse et al. 2000). No caso das ervas daninhas, as substâncias utilizadas para inibir o crescimento ou erradicar completamente estas plantas são chamadas de herbicidas, sendo que os herbicidas à base do princípio ativo glifosato (N-(fosfonometil) glicina) estão entre os mais largamente utilizados em todo o planeta (Battaglin et al. 2014; Poiger et al. 2017). Herbicidas à base de glifosato, como o caso da formulação comercial chamada Roundup®, podem ser aplicados em pós-emergência de culturas, uma vez que, com o avanço da biotecnologia, desde meados do século XX, foram desenvolvidas variedades de plantas de interesse comercial com resistência aos efeitos deletérios deste princípio ativos (Kruse et al. 2000).

Como principal mecanismo de ação, os herbicidas à base de glifosato inibem competitivamente a enzima EPSPs (5-enol-piruvil-shiquimato-3-fosfato sintase) que integra a via do Chiquimato, presente apenas em plantas, fungos e algumas bactérias (Annett et al. 2014). Uma vez inibida a enzima a EPSPs, a produção de aminoácidos aromáticos é interrompida e danos secundários podem ser ocasionados em organismos fotossintetizantes, como o dreno de carbono das vias fotossintéticas (Geiger et al. 1986; Kishore e Shah 1998; Kruse et al. 2000), alteração nas concentrações de carotenoides, clorofila *a* e lipídios (Vera et al. 2012; Iummato et al. 2019) e redução de proteínas presentes nos centros de reação do fotossistema II (PSII) (Vivancos et al. 2011; Yanniccari et al. 2012), fatores que podem acarretar em redução da produtividade fotossintética.

Embora cumpra um papel importante no aumento da produtividade agrícola comercial, o uso intensivo de herbicidas à base de glifosato tem sido identificado como um potencial mecanismo de contaminação de ambientes naturais, especialmente os ecossistemas aquáticos, que muitas vezes se encontram distantes dos locais de aplicação. Neste sentido, já

há registros na literatura científica constatando a presença de elevadas concentrações de glifosato em rios e riachos em diversos países, tais como, Estados Unidos (Newton et al. 1994; Battaglin et al. 2014), Canadá (Legris e Couture, 1989; Feng et al. 1990; Couture et al. 1995); Argentina (Peruzzo et al. 2008) e Brasil (Silva et al. 2003). A contaminação de rios e riachos, ou seja, ambientes que não são o alvo direto da aplicação dos herbicidas ocorre porque a água da chuva ajuda a conduzir essas substâncias que, por fim, acabam se infiltrando no solo ou escoando superficialmente até atingirem esses sistemas (Peters et al. 2013; Oliveira et al. 2016). Vários estudos têm mostrado que uma vez em rios e riachos, resíduos de herbicidas à base de glifosato podem produzir alterações nas relações entre as espécies e no comportamento fisiológico dos organismos não-alvos e, em última análise, ocasionar até mesmo a perda de diversidade em escala local (Relyea e Edwards 2010; Martinou et al. 2013; Vilas Boas et al. 2022a). Alterações fisiológicas advindas da exposição aos resíduos de glifosato e suas formulações comerciais já foram relatadas para comunidade perifítica e planctônica (Pérez et al. 2007; Pizarro et al. 2016; Portinho et al. 2018), incluindo as macroalgas de riachos (Oliveira et al. 2016, 2021; Pamplona 2024), um dos mais importantes produtores primários em ecossistemas lóticos (Stevenson et al. 1996; Arscott et al. 1998; Branco et al. 2017).

As consequências ambientais advindas das ações antrópicas não se restringem ao uso dos agrotóxicos. As altas concentrações de gases do efeito estufa - com destaque para o dióxido de carbono (CO_2) - geram um aumento na energia no sistema climático do planeta, alterando, consequentemente, o forçamento radiativo terrestre, ou seja, o fluxo de energia entre a superfície da terra e a troposfera (Myhre et al. 2013). Como o forçamento radioativo terrestre tem influência direta sobre diversos parâmetros climáticos, qualquer alteração neste fenômeno resulta em alterações climáticas antropogênicas, entre as quais o aumento de temperatura do planeta (Hartmann et al. 2013; Vilas Boas et al. 2022b). No Sexto Relatório de Avaliação do Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas (AR6) (Masson-Delmotte et al. 2021; Pörtner et al. 2022), o mais atualizado daqueles publicado pelo IPCC, foram apresentadas projeções de possíveis cenários futuros de aquecimento global a depender das diferentes trajetórias possíveis na evolução das emissões de gases do efeito estufa pelas sociedades humanas. Neste contexto, o AR6 do IPCC propôs cinco cenários possíveis de acordo com diferentes níveis de emissões de CO_2 , sendo eles i) dois de baixas emissões (SSP1-1.9 e SSP1-2.6), ii) um de emissões médias (SSP2-4.5) e iii) dois de altas emissões (SSP3-7 e SSP5-8.5). Nos casos menos severos, a temperatura global tende a

ser 1 °C a 1.8 °C mais alta que nos anos de 1850 a 1900, enquanto nos cenários mais severos a magnitude desse aumento pode ser de 3.3 °C a 5.7 °C (Masson-Delmotte et al. 2021; Pörtner et al. 2022).

Do ponto de vista ecossistêmico, alterações na temperatura podem influenciar a abundância, distribuição e comportamento dos organismos, uma vez que a tolerância térmica está diretamente associada a diversos padrões fisiológicos (Parmesan e Yohe 2003; Sunday et al. 2012; Vilas Boas et al. 2022b), além de afetar as interações entre indivíduos, espécies, populações e, até comunidades (Penuelas et al. 2002). O aumento exacerbado das temperaturas pode acarretar desde danos celulares, que podem ser observados através de respostas fisiológicas (Becklin et al. 2016), até danos em escalas maiores, afetando processos ecossistêmicos e provocando a extinção de diversas espécies (Vilas Boas et al. 2019).

Considerando especificamente os efeitos da exposição de macroalgas lóticas tropicais a cenários ambientais nos quais estressores de origem antrópica estão presentes, estudos que vêm sendo realizados desde meados dos anos 2010 têm demonstrado, em regra, impactos negativos significativos sobre estes organismos, especialmente na eficiência e rendimento fotossintéticos (Oliveira et al. 2016, 2021; Vilas Boas et al. 2019, 2022a, 2022b).

As macroalgas contribuem para riqueza e complexidade dos ambientes lóticos, especialmente os de baixas ordens, onde são utilizadas muitas vezes como substrato por outros organismos, além de serem responsáveis por grande parte da energia presente nesses ecossistemas (Mayer e Likens 1987; Downes et al. 2000; March e Pringle 2003; Branco et al. 2017; Vilas Boas et al. 2019). O reconhecimento de que o papel funcional destes organismos, e, no limite, a sua existência em escala local, podem estar em risco geram grande preocupação do ponto de vista ecossistêmico. É em linha com esta preocupação que o presente estudo foi conduzido no sentido de investigar os possíveis impactos sobre as respostas fotossintéticas de espécies de macroalgas lóticas ocasionados pela exposição conjunta a tratamentos multi-estressores compostos da combinação de dois cenários futuros de aquecimento global e três diferentes concentrações de resíduos de herbicidas à base de glifosato.

A partir das informações já reportadas em trabalhos previamente realizados (Tabela 1), foram estabelecidas as seguintes hipóteses para o presente estudo: 1) a exposição aos resíduos de herbicidas à base de glifosato devem afetar negativamente o desempenho fotossintético das espécies de macroalgas testadas, especialmente nas concentrações nominais mais altas; 2) no caso das macroalgas pertencentes ao Filo Chlorophyta, por serem

macroalgas que, naturalmente, tendem a ocorrer em riachos com mais altas irradiâncias e águas mais quentes (Branco et al. 2017), os tratamentos envolvendo apenas os cenários de aquecimento global podem, eventualmente, não afetar significativamente o desempenho fotossintético destas espécies. Entretanto, em tratamentos que combinam ambos os dois estressores, especialmente nas condições mais severas, espera-se que os efeitos negativos da exposição aos resíduos de herbicidas à base de glifosato sobre o desempenho fotossintético das macroalgas verdes possam ser amplificado pelo estresse térmico. Já no caso da espécie pertencente ao Filo Rhodophyta, uma vez que as macroalgas vermelhas de riachos tendem a ocorrer em ambientes sombreados, com menor intensidade de luz e com águas mais frias (Branco et al. 2017), espera-se que os cenários de aquecimento global afetem, por si só, negativamente o desempenho fotossintético das amostras testadas e que tais efeitos negativos sejam assegurados nos tratamentos onde os dois estressores são aplicados em conjunto; 3) a despeito de algumas similaridades ecológicas compartilhadas entre as macroalgas verdes e suas diferenças em relação à macroalga vermelha, espera-se que as respostas fotossintéticas em função da exposição aos tratamentos tenham uma forte tendência espécie-específica.

Tabela 1. Trabalhos ecotoxicológicos em ordem cronológica desenvolvido pelo Laboratório de Biologia Aquática - UNESP FCL Assis.

Trabalho	<i>Fatores experimentais</i>		<i>Espécies analisadas</i>
Oliveira <i>et al.</i> 2016	Glifosato de grau técnico Roundup® AMPA	Isolados	<i>Nitella microcarpa</i> var. <i>wrightii</i>
Vilas Boas <i>et al.</i> 2019	Cenários de aquecimento global	Isolados	Gametófitos e Esporófitos de <i>Sirodotia delicatula</i>
Oliveira <i>et al.</i> 2021	Glifosato de grau técnico Roundup®	Isolados	<i>Nitella subglomerata</i> <i>Oedogonium</i> sp. <i>Spirogyra</i> sp. <i>Desmidium grevillei</i>
Diagonel <i>et al.</i> 2022	Roundup ® AMPA	Isolados	<i>Egeria densa</i> Planch.
Vilas Boas <i>et al.</i> 2022	Tebuthiuron Cenários de aquecimento global	Isolado e em conjunto	<i>Nitella microcarpa</i> var. <i>wrightii</i>

Trabalho	Fatores experimentais		Espécies analisadas
Vilas Boas <i>et al.</i> 2022	Cenários de aquecimento global	Isolados	<i>Virescentia Helminhtosa</i> <i>Sirodotia delicatula</i> Skuja Estágio “chantransia” <i>Desmidium grevillei</i> <i>Nitella microcarpa</i> <i>Nitella subglomerata</i> <i>Spirogyra</i> sp. <i>Oedogonium</i> sp
Carriel <i>et al.</i> 2023	Cenários de aquecimento global	Isolado	<i>Egeria densa</i> Planch <i>Mayaca sellowiana</i> Kunth. <i>Myriophyllum aquaticum</i>
Pamplona 2023	Bratt® Roundup®	Isolados e em conjunto	<i>Aegagropilopsis clavuligera</i> <i>Arnoldiella emedii</i> <i>Nitella microcarpa</i> var. <i>wrightii</i> <i>Oedogonium</i> sp.

Fonte: Marianne Schneider (2025).

MATERIAIS E MÉTODOS

Coleta e preparação dos espécimes algais

Foram coletadas cinco espécies de macroalgas lólicas, em ecossistemas lólicos de baixas ordens do estado de São Paulo, Tabela 2, com presença de sinais de urbanização intensa, com consequente exposição prévia a poluentes advindos de diversas atividades antrópicas (ex. esgoto doméstico e industrial e resíduos de substância de uso comum em cultivos agrônômicos intensivos). Dentre as espécies analisadas, estão: i) quatro algas verdes, Filo Chlorophyta, sendo elas *Arnoldiella emedii*, *Cladophora glomerata*, *Schizomeris leibleinii* e *Rhizoclonium hieroglyphicum* e, ii) uma alga vermelha, Filo Rhodophyta, *Compsopogon coeruleus*.

Tabela 2. Locais de coleta das cinco espécies de macroalgas lóticás.

Espécie	<i>Local da coleta</i>	<i>Coordenadas</i>
<i>Arnoldiella emedii</i> <i>Cladophora glomerata</i>	Córrego Piedade Mirassol, SP	20°49'01"S – 49°26'16"W
<i>Schizomeris leibleinii</i>	Córrego Cavenagui Guapiaçu, SP	20°47'45"S – 49°13'14"W
<i>Compsopogon caeruleus</i> <i>Rhizoclonium hieroglyphicum</i>	Córrego do Mato Jundiaí, SP	23°11'12"S – 46°53'31"W

Fonte: Marianne Schneider (2025).

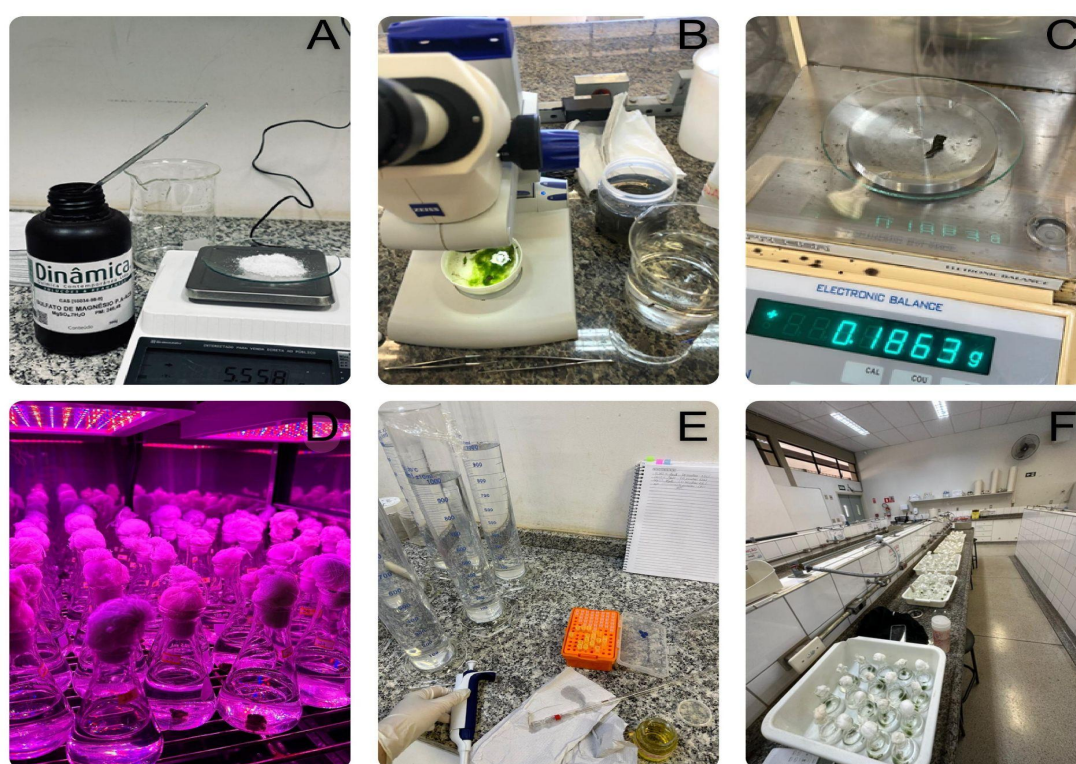
Os espécimes algais foram submetidos a um processo de preparação anterior à exposição aos cenários multi-estressores, conforme ilustrado na Figura 1. As espécies coletadas foram conduzidas ao laboratório em frascos contendo água do próprio riacho, onde, sucedeu-se a limpeza de toda biomassa, sob lupa e com auxílio de pincel de cerdas duras e jatos de água destilada. As amostras limpas de cada espécie foram pesadas ($150 \text{ mg} \pm 10 \text{ mg}$) e destinadas aos experimentos de avaliação do desempenho fotossintético. Considerando que para cada tratamento multi-estressor (12 no total) são necessárias cinco réplicas ($n = 5$), preparou-se, no total, 60 amostras de $150 \text{ mg} (\pm 10 \text{ mg})$ para cada espécie testada, portanto, ao final do período experimental, analisaram-se ao todo 300 amostras algais.

As amostras pesadas foram acondicionadas em erlenmeyers de 150 ml contendo 100 ml de meio básico de Bold (Watanabe 2005) e aclimatadas sob as temperaturas próprias de cada tratamento experimental (cenários de aquecimento global). O período de aclimação durou 24 horas (Oliveira et al. 2021), sendo realizado em incubadoras tipo B.O.D. (marca Nova Ética, modelo 411/FDP355) com irradiância constante ($140 \mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$) e fotoperíodo de 12h/12h (claro/escuro). Após o período de aclimação, substituiu-se o meio básico de Bold das amostras por um novo meio básico de Bold suplementado com o herbicida (exceto as amostras do grupo controle) nas concentrações estabelecidas para cada tratamento multi-estressor.

Para evitar depleção de nutrientes e manter as concentrações de glifosato constantes durante o período experimental, renovou-se o meio básico de Bold no quarto dia de

exposição (adaptado de Oliveira et al. 2016). As amostras permaneceram sob exposição aos cenários multi-estressores (concentrações de glifosato + cenários de aquecimento global) por um total de 7 dias, sendo que as análises experimentais ocorreram no último dia do período experimental.

Figura 1. Preparação dos espécimes algais, referentes às etapas de: A) Pesagem de reagentes para preparação do meio básico de Bold; B) Limpeza das algas; C) Pesagem; D) Período de aclimação.; E) Adição do herbicida aos tratamentos; F) Alocação dos espécimes aos tratamentos específicos.



Fonte: Marianne Schneider (2025).

Determinação das temperaturas experimentais

As temperaturas experimentais foram calculadas a partir do valor aproximado da temperatura média (TM) de 10 riachos localizados na bacia do Rio do Cervo, região Centro-Oeste do Estado de São Paulo. Com base no valor de TM, calcularam-se os valores das temperaturas experimentais considerando dois dos cenários futuros projetados pelo 6º Relatório de Avaliação do IPCC para o período de 2081-2100 (Masson-Delmotte et al., 2021;

Pörtner, H.O. et al., 2022), de modo que o valor final de cada tratamento corresponda à TM + o valor do aumento de temperatura do cenário. Para o cenário SSP2-4.5, um cenário com emissões intermediárias de gases do efeito estufa e emissões remanescentes de CO₂ em torno dos níveis atuais, a amplitude do aumento da temperatura é da ordem de 2,1 °C a 3,5 °C, com estimativa central de 2,7 °C. Já para o cenário SSP5-8.5, no qual se admite alta emissão de gases do efeito estufa e emissões de CO₂ que quase dobram em relação aos níveis atuais, projeta-se um aumento da temperatura variando entre 3,3 °C e 5,7 °C, com estimativa central de 4,4 °C. Assim, i) para o cenário controle utilizamos, como temperatura experimental, o valor da TM da bacia do Rio do Cervo, referente a 21.6 °C (daqui por diante, este tratamento será designado pela sigla TM); ii) para o cenário SSP2-4.5, a temperatura experimental foi calculada com base na fórmula $TM + 2,7\text{ °C}$ (4.5), somando em 24.3 °C e iii) para o cenário SSP5-8.5, a temperatura experimental será calculada com base na fórmula $TM + 4,4\text{ °C}$ (8.5) somando em 26 °C.

Determinação das concentrações nominais de glifosato

A fim de avaliar os efeitos do herbicida à base de glifosato sobre as macroalgas lótic, foram utilizadas três diferentes concentrações nominais de uma formulação comercial, o Roundup®. A definição das três concentrações nominais obedeceu aos seguintes critérios (segundo Oliveira et al., 2016; 2021): i) 0,28 mg L⁻¹, representando a concentração máxima para irrigação e consumo animal (águas de Classe III) permitido pela Resolução CONAMA n°357/05 (CONAMA, 2005) (daqui por diante, este tratamento será designado pela sigla R1); ii) 3,5 mg L⁻¹, representando a concentração recomendada para controle de pragas aquáticas e terrestres (Giesy et al., 2000; Vera et al. 2012) (R2) e iii) 6,0 mg L⁻¹, representando uma concentração próxima à máxima encontrada em ambientes aquáticos naturais (Edwards et al., 1980) (R3). Além das concentrações nominais descritas acima, foi utilizado um grupo controle representado pelo meio basal de Bold sem qualquer adição de herbicida (0,0 mg L⁻¹) (C).

As concentrações nominais foram preparadas pela adição de Roundup® diretamente ao meio básico de Bold, sendo elas calculadas pela fórmula $C1.v1 = C2.v2$ e com base no valor de ácido equivalente (a.e.) (ou seja, 360 g L⁻¹) (Oliveira et al., 2016).

Tratamentos multi-estressores

A partir dos tratamentos com as temperaturas calculadas com base nos cenários do IPCC (além da TM, grupo controle para o fator temperatura) e dos tratamentos com as concentrações calculadas de glifosato (além do grupo controle), foram configurados tratamentos multi-estressores (Tabela 3), utilizando combinações pareadas dos tratamentos únicos de cada um destes estressores ambientais. Tais tratamentos multi-estressores (12 no total) serão assim definidos (para as siglas, ver a Tabela 2): TM+C, TM+R1, TM+R2 e TM+R3; 4.5+C, 4.5+R1, 4.5-R2 e 4.5-R3; 8.5+C, 8.5+R1, 8.5+R2 e 8.5+R3. É importante ressaltar que TM aqui se refere ao cenário controle para temperatura enquanto que C, refere-se ao grupo controle dos tratamentos com herbicida. Por se tratar de um experimento envolvendo dois fatores, em conjunto ou isolados, a importância de delimitar tratamentos controle para ambos os fatores é necessário pois, em alguns casos, esses estressores podem ter efeito isolados, sendo necessário analisá-los de maneira isolada.

Tabela 3. Configuração dos tratamentos multi-estressores que serão utilizados nos experimentos com as macroalgas lólicas.

Tratamentos multi-estressores			
Tratamentos com Roundup®	Cenários de aquecimento global		
	TM (21,6 °C)	Cenário 4.5 (TM + 2,7 °C)	Cenário 8.5 (TM + 4,4 °C)
Controle	TM+C	4.5+C	8.5+C
Tratamento 0,28	TM+R1	4.5+R1	8.5+R1
Tratamento 3,5	TM+R2	4.5+R2	8.5+R2
Tratamento 6	TM+R3	4.5+R3	8.5+R3

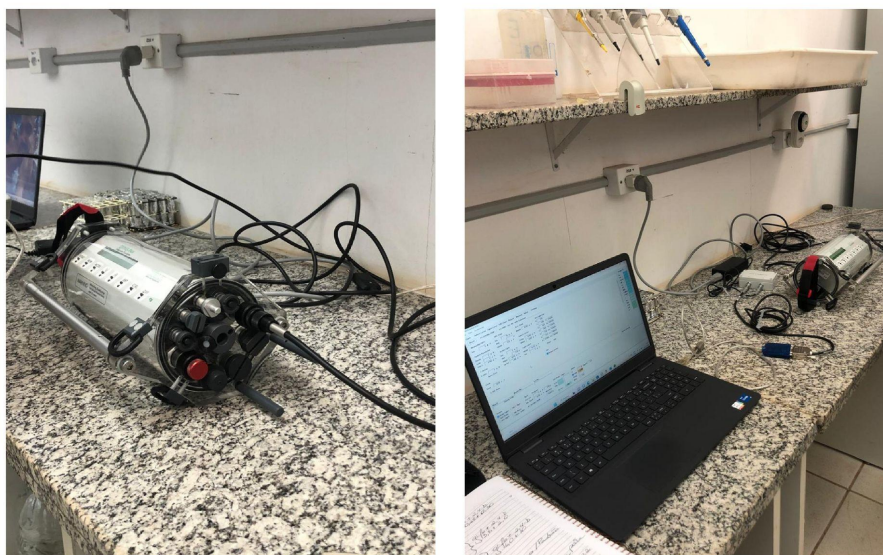
Fonte: Marianne Schneider (2025).

Análises experimentais

Considerando a capacidade que ambos estressores ambientais têm de produzir importantes alterações metabólicas nas macroalgas lólicas, os potenciais efeitos ecofisiológicos dos tratamentos sobre as espécies testadas foram avaliados a partir das análises do desempenho fotossintético.

O desempenho fotossintético das espécies de macroalgas lólicas foi avaliado a partir de parâmetros fotossintéticos específicos mensurados pela técnica da fluorescência da clorofila *a* (Baker, 2008; Vilas Boas et al., 2019, 2022a, 2022b; Oliveira et al., 2021), com auxílio de um fluorômetro Diving-PAM (Walz, Effeltrich, Alemanha). Na prática, após um período de 30 minutos de aclimação no escuro, as amostras de cada uma das cinco réplicas ($n = 5$, portanto) de cada tratamento de cada espécie foram posicionadas a 10 mm de distância da ponta da fibra óptica do fluorômetro e, então, submetidas a um teste de “Curva de Indução” (função "Induction Curve" do equipamento - Schreiber et al. 1995; Vilas Boas et al., 2019; 2022a; 2022b; Oliveira et al., 2021). As curvas de indução foram realizadas utilizando-se luz actínica com intensidade de $285 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, e pulsos de saturação a cada 15 segundos, com duração de 0,8 segundos e intensidade de $2,000 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Os parâmetros do fotossistema II (PSII) mensurados para cada espécie submetida a cada tratamento foram (Klughammer e Schreiber, 2008; Vilas Boas et al., 2019; 2022a; 2022b): i) rendimento quântico efetivo do fotossistema II ("Y(II)"); ii) rendimento quântico da perda de energia não fotoquímica regulada no fotossistema II ("Y(NPQ)") e iii) rendimento quântico da perda de energia não-fotoquímica não regulada no fotossistema II ("Y (NO)").

Figura 2. Fluorômetro DIVING-PAM utilizado para aplicação da técnica da fluorescência da clorofila *a*.



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Análise de dados e interpretação dos resultados

Os resultados obtidos à partir da técnica da fluorescência da clorofila *a*, que apontam as diferenças nos desempenhos fotossintéticos para as espécies de macroalgas, foram avaliados pelo teste estatístico da Análise estatística de variância (ANOVA) de Scott-Knott, juntamente com teste de normalidade (Shapiro-Wilk) a fim de verificar se os dados atendiam ao pressuposto de normalidade de resíduos, e, posteriormente, foi aplicado o teste do post-hoc de Tukey, a fim de determinar se os efeitos dos fatores multi-estressores, isolados ou interagindo, surtiram efeitos estatisticamente significativos nos tratamentos. Construiu-se as ANOVAs utilizando os parâmetros fotossintéticos, Y(II), Y(NO), Y(NPQ) como variáveis dependentes, enquanto os tratamentos experimentais com diferentes concentrações de herbicida à base de glifosato e os cenários de temperatura do IPCC foram utilizados como variáveis independentes. As análises estatísticas foram realizadas com o uso do software estatístico Sisvar 5.8 (Ferreira, 2011).

A interpretação dos resultados foi padronizado de modo que: i) para análise dos efeitos ocasionados apenas pelas concentrações nominais de Roundup® foram feitas comparações entre os tratamentos com o grupo controle (0.0 mg.L⁻¹ do herbicida) no cenário de Temperatura Média, cenário sem projeção de aquecimento global; ii) os efeitos ocasionados apenas pela temperatura foram identificados pela comparação dos cenários de aquecimento global (SSP2-4.5 e SSP5-8.5) com a Temperatura Média, na ausência do glifosato; iii) para a análise dos efeitos advindos da interação binária dos dois fatores, cada tratamento de Roundup® foi comparado com grupo controle - ausência do herbicida - dentro de cada cenário de temperatura (TM, SSP2-4.5 e SSP5-8.5).

No caso de valores inferiores do parâmetro Y(II) nos tratamentos em relação ao grupo controle, deduzimos que houve diminuição na conversão de energia luminosa em energia química pelos processos fotoquímicos (Maxwell e Johson, 2000) e, consequentemente, impactos ecológicos potencialmente negativos sobre as cadeias alimentares. No caso do parâmetro Y(NO), valores superiores aos reportados para o grupo controle, sugerem possíveis danos fisiológicos ao aparato fotossintético da macroalga, já que este parâmetro indica que a energia que não está sendo destinada para a via relacionada à eficiência fotossintética, está sendo dissipada de maneira não-controlada pelas algas (Vilas Boas et al. 2019; Klughammer e Schreiber 2008; Kramer et al. 2004). Por fim, para o

parâmetro $Y(NPQ)$, as interpretações podem variar, uma vez que o aumento nos valores deste parâmetro pode indicar aclimação das macroalgas frente aos fatores estressores, aumentando a dissipação de energia de modo ainda regulada, porém também pode sugerir sobrecarga do aparato fotossintético (Zhao et al. 2017).

RESULTADOS

Os resultados obtidos para as cinco espécies de macroalgas analisadas no presente estudo, foram descritos de maneira individual e, posteriormente, interpretados nas discussões. É importante ressaltar que, para a apresentação desses dados, foi levado em conta, principalmente, a presença de efeitos estatisticamente significativos, apontados pela ANOVA de Scott-Knott, dos fatores estressores isolados ou em conjunto, sobre cada um dos parâmetros analisados (Tabelas 4, 6, 8, 10 e 12). Por sua vez, o desdobramento da análise de variância (Tabelas 5, 7, 9, 11 e 13), indica quais tratamentos apresentaram diferença estatisticamente significativa entre si.

Filo Chlorophyta

Arnoldiella emedii

A análise de variância de Scott-Knott, seguida pelo teste de Tukey, realizada para as amostras de *Arnoldiella emedii* não registrou efeitos negativos significativos quanto ao rendimento quântico efetivo ($Y(II)$) - eficiência fotossintética-, tanto para os tratamentos com as diferentes concentrações de Roundup® e os cenários de aquecimento global individualmente como para os cenários multi-estressores com as combinações de ambos (Tabelas 4-5; Figura 3).

Quanto ao rendimento quântico da perda de energia não fotoquímica não regulada ($Y(NO)$), indicador de estresse fisiológico fotossintético dos possíveis impactos negativos pela exposição da macroalga aos cenários multi-estressores, registrou efeitos estatisticamente significativos nos valores médios dos tratamentos para as diferentes concentrações de Roundup® e para os diferentes cenários de aquecimento global (Tabela 4). Considerando o desdobramento da ANOVA de Scott-Knott (Tabela 5) e os valores médios ($\pm$ desvio padrão) (Figura 3) para este parâmetro, é possível observar que para os tratamentos envolvendo o

Roundup®, o grupo controle registrou valores médios inferiores ao dos tratamentos com presença do herbicida, que por sua vez, não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre si. Já para os diferentes cenários de aquecimento global, o desdobramento da ANOVA de Scott-Knott (Tabela 5) registrou valor médio inferior para o cenário controle (Temperatura Média) quando comparado aos valores observados nos cenários SSP2-4.5 e SSP5-8.5.

Para o último parâmetro fotossintético analisado, o rendimento quântico da perda de energia não fotoquímica regulada (Y(NPQ)), igualmente utilizado para indicar possíveis estresses fisiológicos, registrou efeito estatisticamente significativo apenas nos tratamentos com as diferentes concentrações de Roundup®, como indicado pela análise de variância (Tabela 4). Os valores médios apresentados pelos tratamentos em presença do herbicida registraram redução quando comparados a média do grupo controle (tratamento sem herbicida) para este parâmetro (Figura 3).

Cladophora glomerata

A ANOVA de Scott-Knott conduzida a partir dos dados oriundos da técnica da fluorescência da clorofila *a* das amostras de *Cladophora glomerata* submetidas aos tratamentos experimentais, revelou diferenças estatisticamente significativas nos tratamentos relacionados ao Roundup®, nos diferentes cenários de aquecimento global, assim como na interação de ambos os fatores estressores (Tabela 6-7). Os resultados registrados quanto ao Y(II) para esta espécie de macroalga, sugerem um possível efeito estimulante por parte dos fatores estressores para este parâmetro (Figura 4). Deste modo, o desdobramento da análise de variância (Tabela 7) para os tratamentos com as diferentes concentrações de Roundup® sob os cenários de IPCC revelam que: i) para o cenário controle, o tratamento com ausência do herbicida apresentou valor médio de Y(II) significativamente inferior em relação às demais concentrações, que por sua vez, não se diferenciam-se entre si, e ii) para o cenário IPCC SSP2-4.5, semelhante ao observado no cenário controle, o tratamento com menor concentração de glifosato (0,28 mg.L⁻¹) e o tratamento controle registraram valores médios significativamente menores do que os valores apresentados pelos tratamentos com maiores concentrações de Roundup® (Figura 4).

Semelhante ao reportado para o Y(II), a ANOVA de Scott-Knott (Tabela 6) realizada com os valores de Y(NO) registrados para as amostras de *C. glomerata* também revelou

diferenças estatisticamente significativas para a interação binária das diferentes concentrações de Roundup® e os diferentes cenários de aquecimento global. O desdobramento da ANOVA de Scott-Knott (Tabela 7), por sua vez, mostrou valores significativamente maiores para as amostras expostas ao tratamento controle e ao tratamento com concentração 0,28 mg.L⁻¹ de Roundup® sob o cenário IPCC 4.5 (Figura 4), enquanto para os demais cenários IPCC não foram identificadas diferenças estatisticamente significativas entre os valores médios dos diferentes tratamentos com Roundup®. Finalmente, para o Y(NPQ), apenas os tratamentos com as diferentes concentrações de Roundup® registraram diferenças estatisticamente significativas, sendo observados os maiores valores médios para este parâmetro nas concentrações 0,0 e 0,28 mg.L⁻¹ de Roundup®, respectivamente (Figura 4).

Rhizoclonium hieroglyphicum

Semelhante ao observado para *C. caeruleus*, a análise dos parâmetros obtidos pela técnica da fluorescência de clorofila *a* para as amostras de *Rhizoclonium hieroglyphicum*, sugere prováveis impactos negativos sobre as respostas fotossintéticas desta espécie de macroalga (Figura 5). A ANOVA de Scott-Knott (Tabela 8) constatou efeito estatisticamente significativo sobre o parâmetro Y(II) apenas para os cenários do IPCC, com o desdobramento da análise de variância (Tabela 9) indicando, em média, valores maiores para o cenário controle, seguido pelo cenário IPCC 4.5 e, por último, IPCC 8.5. Já para o Y(NO) houve diferenças estatisticamente significativas entre os valores médios dos tratamentos tanto para as diferentes concentrações de Roundup® quanto para os cenários de aquecimento global, indicando interação significativa para os dois fatores (Tabela 8-9). Neste sentido, os resultados apresentados pelo desdobramento da ANOVA de Scott-Knott (Tabela 9) sugerem que, para os tratamentos no cenário IPCC 4.5, as amostras expostas à concentração 0,28 mg.L⁻¹ de Roundup® registraram valor médio superior para Y(NO), enquanto a menor média foi observada para as amostras de concentração 3,5 mg.L⁻¹ do herbicida. Por sua vez, entre os tratamentos do cenário IPCC 8.5, as amostras expostas à concentração 6,0 mg.L⁻¹ de Roundup® obtiveram menores valores médios. De maneira semelhante a Y(NO), o parâmetro Y(NPQ) também apresentou diferenças estatisticamente significativas entre os valores médios para os dois fatores estressores, com interação significativa entre ambos (Tabela 8-9). Os valores médios ($\pm$ desvio-padrão) (Figura 5) registrados para os diferentes cenários de aquecimento global se sobressaem para os tratamentos de IPCC 4.5, que, seguido do

desdobramento da ANOVA e teste de Tukey (Tabela 9), apresenta maior valor médio para as amostras de concentração 3,5 mg.L⁻¹ de Roundup®, não havendo diferença significativa entre as demais concentrações para este cenário. Enquanto isso, para o cenário IPCC 8.5, as amostras expostas à concentração 6,0 mg.L⁻¹ aparentam sofrer maior impacto, apresentando valor médio superior às demais concentrações, que por sua vez, também não se diferenciam significativamente entre si.

Schizomeris leibleinii

As amostras de *Schizomeris leibleinii*, quanto ao Y(II), registraram, segundo a ANOVA de Scott-Knott (Tabela 10), efeito significativo para a interação das concentrações de Roundup® e os diferentes cenários de aquecimento global. O desdobramento da ANOVA de Scott-Knott, seguido do teste de Tukey (Tabela 10-11), indicou diferenças estatisticamente significativas entre os valores médios das amostras expostas às diferentes concentrações em todos os cenários de aquecimento global. Assim, para as amostras algais submetidas ao cenário controle e ao cenário IPCC 4.5, os maiores valores médios de Y(II) foram registrados para os tratamentos com presença do herbicida, enquanto, em contrapartida, para o cenário IPCC 8.5 o grupo controle do herbicida mostrou maior valor médio quando comparado com as demais concentrações.

A perda de energia não fotoquímica não regulada (Y(NO)) e a regulada (Y(NPQ)), para as amostras de *S. leibleinii*, registraram diferença estatisticamente significativa entre os valores médios tanto para as diferentes concentrações de Roundup® como para os cenários de aquecimento global, apresentando também efeito significativo para a interação entre os dois fatores (Tabela 10-11). Os valores médios ($\pm$ desvio-padrão) de Y(NO) (Figura 6) e o desdobramento da ANOVA de Scott-Knott (Tabela 11) revelaram que para o cenário controle, o maior valor médio foi observado no tratamento com a maior concentração de Roundup®, 6,0 mg.L⁻¹, enquanto, para o cenário IPCC 4.5, o maior valor médio deste parâmetro ocorreu nas amostras do grupo controle para o herbicida. Por último, no cenário IPCC 8.5, os valores maiores ocorreram nos tratamentos com herbicida, de modo que os menores e maiores valores médios foram registrados para as concentrações 0,0 e 6,0 mg.L⁻¹ de Roundup®, respectivamente.

Filo Rhodophyta

Compsopogon coeruleus

As amostras de *Compsopogon coeruleus*, após o período de exposição aos cenários multi-estressores, apresentaram valores médios ($\pm$ desvio-padrão) de Y(II) que sugerem impactos negativos para os tratamentos expostos às concentrações de Roundup® e aos cenários de aquecimento global propostos pelo IPCC. Neste sentido, a ANOVA de Scott-Knott, seguida do teste Tukey (Tabela 12-13; Figura 7), indica interação significativa para os dois fatores estressores e registra diferença estatisticamente significativa entre os valores médios para Y(II). O desdobramento da ANOVA de Scott-Knott (Tabela 13) para o cenário controle, apresentou para a concentração 3,5 mg.L⁻¹ de Roundup® valor médio inferior ao das demais concentrações presentes neste cenário, enquanto, para o IPCC 4.5, as amostras expostas à concentração 0,28 mg.L⁻¹ exibiram valor médio superior aos tratamentos com as demais concentrações do herbicida. Entretanto, todos estes apresentaram valores médios inferiores ao grupo controle.

Do mesmo modo, os efeitos negativos das concentrações de Roundup® e dos cenários de IPCC, com interação significativa entre os fatores (Tabela 12), também foram observados para o parâmetro Y(NO). Os valores médios ($\pm$ desvio-padrão) (Figura 7) das amostras para a perda de energia não fotoquímica não regulada, apresentaram, em média, aumento para os tratamentos expostos aos cenários multi-estressores. No desdobramento da ANOVA de Scott-Knott (Tabela 13), as amostras expostas à concentração 3,5 mg.L⁻¹ de Roundup® obtiveram maior valor médio de Y(NO) sob o cenário controle. Para o cenário 4.5, os valores médios observados nas amostras expostas às concentrações 3,5 mg.L⁻¹ e 6,0 mg.L⁻¹ foram significativamente superiores aos registrados para as amostras expostas à concentração 0,28 e o tratamento sem herbicida. Por outro lado, para o parâmetro Y(NPQ), a ANOVA de Scott-Knott (Tabela 12) revelou para *C. coeruleus* efeito significativo apenas para os cenários de aquecimento global, indicando diferença estatisticamente significativa (Tabela 12) entre os valores médios dos cenários testados, de modo que os valores mais elevados foram registrados para IPCC 4.5 e 8.5, quando comparados ao cenário controle.

DISCUSSÃO

As respostas das macroalgas avaliadas no presente estudo não confirmam, pelo menos em parte, o que foi proposto nas hipóteses iniciais deste trabalho e também o que já foi registrado em trabalhos semelhantes conduzidos previamente (p.ex., Oliveira et al. 2016; 2021; Vilas Boas et al. 2019, 2022b; Diagonel et al. 2022), indicando que a tendência de tolerância/resistência observada no presente estudo precisa ser investigada com mais profundidade em estudos futuros. Uma das questões que emergiram a partir dos resultados do presente estudo, e que merece ser investigada, é o quanto a origem das amostras macroalgais e os seus históricos de exposição prévia a condições altamente estressantes, podem produzir tendências populacionais específicas, tanto no espaço como no tempo. Em outras palavras, esta questão se resume ao quanto populações de macroalgas oriundas de riachos urbanizados e/ou próximos a áreas rurais que estão sujeitas ao manejo agrícola já estariam pré-ajustadas (i.e., aclimatadas) ou adaptadas a ponto de terem desenvolvido mecanismos de tolerância/resistência mais eficientes frente a fatores ambientais tidos como estressores.

Os resultados dos experimentos conduzidos ao longo do presente estudo sugerem que as hipóteses inicialmente propostas não foram integralmente corroboradas. Apesar dos efeitos ocasionados pelos tratamentos experimentais, de fato, confirmaram-se que há um padrão de resposta espécie-específica entre as macroalgas testadas (ou seja, a hipótese 3 ter sido satisfeita), a maioria dos efeitos negativos significativos esperados após o período de exposição aos cenários multi-estressores não foram observados (*Arnoldiella emedii* e *Rhizoclonium hieroglyphicum*) ou foram menores que o esperado e estiveram, em regra, associados aos tratamentos com as combinações de fatores mais severas (*Cladophora glomerata* e *Schizomeris leibleinii*). Além disso, para a maioria das espécies testadas os efeitos negativos sobre o rendimento quântico efetivo (Y(II)) se apresentaram de modo errático, sem que houvesse qualquer claro padrão de variação. Apenas a espécie de macroalga vermelha, *Compsopogon coeruleus*, apresentou, consistentemente, uma maior sensibilidade aos tratamentos que combinaram a presença de resíduos do herbicida e os cenários de temperatura, registrando redução significativa generalizada nos valores de Y(II), acompanhada de altos valores de dissipação de energia não-fotoquímica de maneira não-regulada (parâmetro Y(NO)) em relação ao grupo controle.

Eventualmente, efeitos negativos significativos foram registrados para alguns tratamentos individuais. Por exemplo, os cenários de aumento temperatura afetaram, de forma

isolada, negativamente a eficiência fotossintética (Y(II)) das amostras de *Rizhoclodium hieroglyphicum*, de modo que o grupo controle registrou maiores valores de Y(II) do que as amostras submetidas aos cenários 4.5 e 8.5, porém sem que os mesmos efeitos fossem observados para os tratamentos com herbicidas

Os resultados apresentados para as amostras da espécie *Arnoldiella emedii*, sugerem que as macroalgas desta espécie possuem mecanismos eficientes de resistência frente aos estressores aqui estudados. O aumento no excesso de energia dissipada por mecanismos não-regulados, expresso aqui por Y(NO), geralmente é acompanhado da redução na taxa de transporte de elétrons e na concentração de NADPH e ATP, indicado pela redução nos valores de Y(II) (Vivancos et al. 2011; Yannicari et al. 2012; Gomes et al. 2017). Entretanto, quando submetidas aos cenários multi-estressores, as amostras de *A. emedii* não apresentaram quaisquer efeitos sobre a eficiência fotossintética ("Y(II)"), enquanto, os valores obtidos para Y(NO) registraram aumento na presença do herbicida e nos cenários de aquecimento global. A exposição ao glifosato, pode acarretar a redução na concentração de carotenoides, pigmentos acessórios presentes no complexo antena, o que poderia justificar a redução na dissipação de energia de maneira regulada, levando a valores maiores de Y(NO) (Gomes et al. 2017). De maneira geral, os resultados de *A. emedii* podem sugerir possíveis mecanismos de defesa frente aos estressores, onde, mesmo ocasionando estresse fisiológico, a macroalga ainda é capaz de preservar sua performance fotossintética. Do ponto de vista ecossistêmico, a porção da produtividade primária oriunda desta macroalga não seria afetada e, consequentemente, o fluxo energético se manteria estável dentro das teias alimentares.

De modo semelhante, os resultados de *A. emedii* aqui obtidos estão em linha com um trabalho muito recente, Pamplona (2024), que reportou a ausência de efeitos negativos de herbicidas à base de glifosato sobre as respostas fotossintéticas de algumas espécies de macroalgas líticas pertencentes ao Filo Chlorophyta. Submetidas às mesmas concentrações de Roundup® aqui utilizadas (0.28, 3.5 e 6.0 mg.L⁻¹), espécies algais analisadas por Pamplona (2024), *Nitella microcarpa* var. *wrightii*, *Oedogonium* sp., *Aegagropilopsis clavuligera* e *Arnoldiella emedii*, não registraram efeitos significativos, negativos ou positivos, sobre os valores de Y(II), ou seja, também não afetaram a eficiência fotossintética destas macroalgas. Por sua vez, a falta de efeitos negativos dos cenários de aquecimento global sobre a fotossíntese de *A. emedii* (e também das outras macroalgas verdes avaliadas no presente estudo) já era esperado. As macroalgas verdes são comumente encontradas em áreas abertas de riachos com alta disponibilidade luminosa (Hut et al. 2013; Branco et al. 2017) e, portanto,

geralmente associadas a ambientes com águas mais quentes, o que justificaria a presença de mecanismos de adaptação frente a temperaturas maiores. Resultados obtidos por Vilas Boas et al. (2022b) demonstram que, de fato, o desempenho fotossintético de algumas espécies de macroalgas verdes, tais como *Desmidium grevillei*, *Nitella subglomerata*, *Spirogyra* sp. e *Oedogonium* sp., não sofreram nenhum efeito significativo quando são submetidas a aumentos de temperatura vinculados a cenários de aquecimento global.

As amostras de *Cladophora glomerata* e *Schizomeris leibleinii*, não apenas sugerem uma possível tolerância/resistência, mas também um possível efeito estimulante dos cenários multi-estressores sobre a eficiência fotossintética para estas espécies. Os resultados apresentados por ambas as espécies se assemelham, uma vez que o aumento das concentrações nominais de Roundup® na temperatura controle e no cenário 4.5 tendeu a estimular positivamente suas eficiências fotossintéticas, sugerindo que essas macroalgas possuem capacidade de promover ajustes fisiológicos a fim de proteger o aparato fotossintético sob esta combinação de estresses ambientais. Também de forma similar, tanto para *C. glomerata* como para *S. leibleinii*, esse padrão de resposta fotossintética parece ser interrompido (no caso de *C. glomerata*) ou até revertido (no caso de *S. leibleinii*) sob o cenário de aquecimento global mais severo, sugerindo que sob estas condições de extremo estresse térmico é gerada uma perda da eficiência fotossintética, acompanhada de possíveis danos ao aparato fotossintético (Klughammer e Schreiber 2008; Kramer et al. 2004).

A resistência de *C. glomerata* frente a exposição ao herbicida, poderia ser explicada pela preferência das espécies da ordem Cladophorales, de águas continentais, por ambientes com altas cargas de poluição orgânica e inorgânica. Dessa maneira, a exposição crônica a esses compostos poderia resultar no desenvolvimento de mecanismos de defesa, como já observado em “ervas-daninhas” que são, recorrentemente, alvo da aplicação de herbicidas à base de glifosato (Peres e Branco 2014; Pamplona 2024). Neste mesmo sentido, resultados de estudos prévios que avaliaram outras espécies de produtores primários de riachos urbanizados e, portanto, sob pressão antrópica, ajudam a sustentar esta suposição. Diagonel et al. (2022), por exemplo, observaram um comportamento muito semelhante na macrófita aquática da espécie *Egeria densa*, quando expostas a concentrações de Roundup® (0.28, 3.5 e 6.0 mg L⁻¹). Oliveira et al. (2016), por sua vez, também registraram um aumento nos valores de Y(II) para espécimes de *Nitella microcarpa* var. *wrightii*, submetidas ao AMPA (0.03 mg L⁻¹), subproduto do glifosato, enquanto Pamplona (2024) demonstrou que o herbicida Bratt® em conjunto com Roundup® também aumentam a eficiência fotossintética de *Aegagropilopsis*

clavuligera. Em todos esses casos, a ideia central que embasaria o improvável efeito estimulante de um herbicida está no fato de que a degradação do glifosato libera moléculas de fosfato no meio (Giesy et al. 2000), o que, em última análise, aumentaria o aporte deste nutriente, justificando, então, o estímulo à produtividade fotossintética das macroalgas mesmo expostas a um agente potencialmente inibidor da fotossíntese.

Considerando a tolerância/resistência relativa tanto de *C. glomerata* como *S. leibleinii* ao cenário de aquecimento global mais moderado (cenário 4.5), como já comentado anteriormente, as macroalgas verdes tendem, no geral, a ter uma preferência por ambientes que possuam maior disponibilidade de energia solar (Richardson et al. 1983; Necchi Jr. 2004), condição nas quais apresentam maior eficiência fotossintética (DeNicola e Hoagland 1992; Branco et al. 2017). Vila Boas et al. (2022b) observaram que, em temperaturas variando entre 23°C a 27.4°C, não afetaram a eficiência fotossintética das espécies de macroalgas *Desmidium grevillei* e *Oedogonium* sp., enquanto, *Nitella subglomerata* apresentou estímulo no desempenho fotossintético a 27.4°C, evidenciando, no mínimo, um forte grau de tolerância/resistência a cenários mais severos de aumento de temperatura. Entretanto, corroborando a ideia de que as respostas das macroalgas frente aos estressores são espécie-específicas, as amostras de *Rhizoclonium hieroglyphicum* aqui estudadas, apresentaram redução na eficiência fotossintética ocasionada pelos cenários de aquecimento global individualmente. Essas variações espécie-específicas nas respostas das macroalgas a cenários de temperaturas também foram encontradas por Vilas Boas et al. (2022b), até mesmo entre espécies de um mesmo gênero. Neste estudo, os autores registraram, sob as mesmas condições de aumento de temperatura experimental, redução significativa nos valores de Y(II) para a espécie *Nitella microcarpa* var. *wrightii* ao mesmo tempo que reportaram ausência de efeitos sob este parâmetro fotossintético para *Nitella subglomerata*.

Finalmente, a análise da fluorescência da clorofila *a* para as amostras de *Compsopogon caeruleus*, única espécie de macroalga vermelha aqui analisada, revelou que os valores médios de Y(II) foram significativamente menores nos tratamentos com as combinações mais severas dos fatores estressores. Além disso, nestes tratamentos, também se observou o aumento nos valores de Y(NO) e Y(NPQ), sugerindo, portanto, que a exposição ao Roundup® e aos cenários de aquecimento global, em conjunto, determinaram efeitos negativos sinérgicos sobre a eficiência fotossintética e o aumento do estresse fotossintético dessa macroalga. De modo geral, a redução nos valores de Y(II) e os valores elevados de Y(NO) observados para *C. caeruleus* frente aos cenários multi-estressores mais severos,

podem sugerir que a energia luminosa não foi convertida em energia química de maneira plenamente eficiente, sendo dissipada, principalmente, via processos não fotoquímicos associados a possíveis danos ao fotossistema II (Klughammer e Schreiber 2008). Vilas Boas et al. (2019;2022b) fizeram observações semelhantes sobre os valores de Y(II) e Y(NO) de amostras de esporófitos de *Sirodotia delicatula*, uma macroalga vermelha de riacho, assim como *C. caeruleus*, submetidos a cenários de aquecimento global no verão com temperaturas em torno de 27,4°C.. Seguramente, *C. caeruleus* foi, entre as espécies investigadas no presente estudo, aquela que demonstrou maior sensibilidade quanto às respostas fotossintéticas aos cenários multi-estressores avaliados, indicando que, se confirmados futuramente, tais cenários podem afetar diretamente a abundância e a distribuição desta espécie de macroalga.

Adicionalmente, e em um sentido mais amplo, os resultados aqui obtidos para *C. caeruleus* quando são somados a resultados de estudos ecotoxicológicos prévios que também investigaram espécies de macroalgas de riachos pertencentes ao Filo Rhodophyta apontam para uma maior sensibilidade das espécies deste filo frente a cenários de aquecimento global, principalmente em temperaturas que variam entre 25 a 27.5°C (Vilas Boas et al. 2019; Vilas Boas et al. 2022b). Entretanto, embora seja possível vislumbrar um padrão geral mais consistente das respostas fotossintéticas das macroalgas vermelhas quando expostas a cenários de aquecimento global e à resíduos de herbicidas, não se pode deixar de registrar que, ainda assim, as respostas fotossintéticas dessas macroalgas se mostram espécie-específica, podendo, portanto, também serem influenciadas por características genéticas/ecológicas/fisiológicas próprias de cada espécie individualmente (Vilas Boas et al. 2019, 2022a, 2022b).

Em suma, considerando os resultados como um todo, as análises de fluorescência da clorofila *a* para as amostras das espécies testadas no presente trabalho corroboram o padrão geral observado em pesquisas semelhantes a esta, onde sugere-se que os efeitos sobre a fotossíntese de produtores primários de ecossistemas aquáticos continentais advindos da exposição à fatores estressores produzem respostas que são espécie-específicas (Oliveira et al 2016; 2021; Vilas Boas et al. 2022a, 2022b).

CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos no presente estudo, podemos constatar que os impactos dos cenários multi-estressores, formados por concentrações nominais de Roundup® combinados com cenários de aquecimento global, produziram, no geral, poucos efeitos sobre o desempenho fotossintético das espécies de macroalgas de riachos testadas, principalmente as pertencentes ao Filo Chlorophyta. No entanto, o registro de efeitos significativos menos expressivos do que o previsto nas hipóteses iniciais do estudo abrem o caminho para a formulação de novos estudos que sejam capazes de avaliar o desenvolvimento de possíveis mecanismos de tolerância, ou mesmo de resistência, que pode ser resultado de exposição prévia e crônica a ambientes impactados por ação antrópica intensa e contínua.

REFERÊNCIAS

Amaro, B. B. D. F.; Correia, D. B.; Freitas, R. A.; Teixeira, P. H. R.; Nascimento, C. A.; Pereira, C. M.; Silva, J. R. L.; Silva, M. S. A.; Cruz, G. V.; Queiroz, M. B.; Oliveira, J. P. C.; Silva, R. A. R.; Macedo, G. F.; Kamdem, J. P. A Biossegurança no uso de agrotóxicos na percepção de agricultores do Distrito de Cuncas, Barro – Ceará: Saúde Física e Ambiental. **Res. Soc. Dev.**, v. 10, n. 1, p. e15610111644, 2021.

Annett, R.; Habibi, H. R.; Hontela, A. Impact of glyphosate and glyphosate-based herbicides on the freshwater environment. **J. Appl. Toxicol.**, v. 34, p. 458-479, 2014.

Carter, A. How pesticides get into water - and proposed reduction measures. **Pestic. Outlook**, v. 11, n. 4, p. 149-156, 2000.

Arcsott, D. B.; Bowden, W. B.; Finlay, J. C. Comparison of Epilithic Algal and Bryophyte Metabolism in an Arctic Tundra Stream, Alaska. **J. N. Am. Benthol. Soc.**, v. 17, p. 210-227, 1998.

Baker, N. R. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. **Annu. Rev. Plant. Biol.**, v. 59, n. 1, p. 89-113, 2008.

Battaglin, W. A.; Meyer, M. T.; Kuivila, K. M.; Dietze, J. E. Glyphosate and Its Degradation Product AMPA Occur Frequently and Widely in U.S. Soils, Surface Water, Groundwater, and Precipitation. **JAWRA Journal of the American Water Resources Association**, v. 50, n. 2, p. 275-290, 2014.

Becklin, K. M.; Anderson, J. T.; Gerhart, L. M.; Wadgymar, S. M. Examining Plant Physiological Responses to Climate Change through an Evolutionary Lens. **Plant Physiology**, v. 172, n. 2, p. 635-649, 2016.

Branco, C. C. Z.; Riolfi, T. A.; Crulhas, B. P.; Tonetto, A. F.; Bautista, A. I. N.; Necchi Júnior, O. Tropical lotic primary producers: Who has the most efficient photosynthesis in low order stream ecosystems? *Freshw. Biol.*, v. 62, p. 1623-1636, 2017.

Cepea. PIB do Agronegócio Brasileiro 2022. **Conferência da Agricultura e Pecuária do Brasil**, 2023

CONAMA. Resolução CONAMA nº 357. 17 de março de 2005. Disponível em: <https://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Resolucao/2005/res_conama_357_2005_classificacao_corpos_agua_rtfda_altrd_res_393_2007_397_2008_410_2009_430_2011.pdf>. Acesso em: 02 Fev 2023.

Couture, G.; Legris, J.; Langevin, R. Evaluation des impacts du glyphosate utilise dans le milieu forestier. **Ministere des Ressources Naturelles**. Direction de Penvironment forestier. Service du suivi environnemental. Charlesbourg. Quebec. Canada, 1995.

DeNicola, M.; Hoagland, K. D. Effects of Solar Spectral Irradiance (Visible to UV) on a Prairie Stream Epilithic Community. **Journal of the North American Benthological Society**, v. 15, n. 2, p. 155-169, 1996.

- Diagonel, G.; Carriel, O. A.; Oliveira, R. C.; Vilas Boas, L. K.; Branco, C. C. Z. Effect of glyphosate-based herbicides on the photosynthetic responses of the macrophyte *Egeria densa* Planch. from tropical lotic ecosystems. *Limnetica*, v. 41, n. 1, p. 73-84, 2022.
- Dong, C.; Dong, X.; Jiang, Q.; Dong, K.; Liu, G. What is the probability of achieving the carbon dioxide emission targets of the Paris Agreement? Evidence from the top ten emitters. *Sci. Total. Environ.*, v. 622-623, p. 1294-1303, 2018.
- Downes, B. J.; Lake, P. S.; Schreiber, E. S. G.; Glaister, A. Habitat structure, resources and diversity: the separate effects of surface roughness and macroalgae on stream invertebrates. *Oecologia*, v. 123, p. 569-581, 2000.
- Edwards, W. M.; Triplett Jr., G. B.; Kramer, R. M. A watershed study of glyphosate transport in runoff. *J. Environ. Qual.*, v. 9, n. 4, p. 661-665, 1980.
- Feng, J.; Thompson, D.; Reynolds, P. Fate of glyphosate in a Canadian forest watershed. 1. Aquatic residues and off-target deposit assessment. **J. Agric. Food Chem.**, v. 38, n. 4, p. 1110-1118, 1990.
- Ferreira, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.
- Geiger, D. R.; Kapitan, S. W.; Tucci, M. A. Glyphosate inhibits photosynthesis and allocation of carbon to starch in sugar beet leaves. **Plant Physiology**, v. 82, n. 2, p. 468-472, 1986.
- Giesy, J. P.; Dobson, S.; Solomon, K. R. Ecotoxicological risk assessment for Roundup® herbicide. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, v. 167, p. 35-120, 2000.
- Gomes, G. V. L.; Solar, M. R.; Marostegan, L. F. P.; Jange, C. G.; Caado, C. P. S.; Pinheiro, A. C.; Vicente, A. A.; Pinho, S. C. Physico-chemical stability and *in vitro* digestibility of beta-carotene-loaded lipid nanoparticles of cupuacu butter (*Theobroma grandiflorum*) produced by phase inversion temperature (PIT) method. **Journal of Food Engineering**, v. 192, p. 93-102, 2017.
- Hartmann, D. L.; Klein Tank, A. M. G.; Rusticucci, M. Observations: Atmosphere and Surface. In: **Climate Change 2013 the Physical Science Basis: Working Group I Contribution to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change**, Cambridge University Press, Cambridge, p. 159-254, 2013.
- Hut, R. A.; Paolucci, S.; Dor, R.; Kyriacou, C. P.; Daan, S. Latitudinal clines: an evolutionary view on biological rhythms. **Proc. Biol. Sci.**, v. 280, n. 1765, ISSN 471-2954, 2013.
- Iummato, M. M.; Fassiano, A.; Graziano, M.; Afonso, M. S.; Molina, M. C. R.; Juárez, A. B. Effect of glyphosate on the growth, morphology, ultrastructure and metabolism of *Scenedesmus vacuolatus*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, v. 172, p. 471-479, 2019.
- Kishore, G. M.; Shah, D. M. Amino Acid Biosynthesis Inhibitors As Herbicides. *Ann. Rev. Biochem.*, v. 57, p. 627-630, 1988.

Klughammer, C.; Schreiber, U. Non-photochemical fluorescence quenching and quantum yields in PS I and PS II: Analysis of heat-induced limitations using Maz-Imaging-PAM and Dual-PAM-100. *PAM Applications Notes*, v. 1, p. 15-18, 2008.

Kramer, A. F.; Bherer, L.; Colcombe, S. J.; Dong, W.; Greenough, W. T. Environmental influences on cognitive and brain plasticity during aging. **The Journals of Gerontology: Series A**, v. 59, n. 9, p. 940-957, 2004.

Kruse, N. D.; Trezzi, M. M.; Vidal, R. A. Herbicidas inibidores da EPSPs: revisão literária. *Revista Brasileira de Herbicidas*, v. 1, n. 2, p. 139-146, 2000.

Legris, J.; Couture, G. Résidus de glyphosate dans l'eau et les sédiments suite à des pulvérisations terrestres en milieu forestier en 1986. Publication #3322. **Ministère de l'Énergie et des Ressources**. Direction de la Conservation. Chaerlesbourg. Quebec. Canada, 1989.

March, J. G.; Pringle, C. M. Food Web Structure and Basal Resource Utilization along a Tropical Island Stream Continuum, Puerto Rico. **Biotropica**, v. 35, n. 1, p. 84-93, 2003.

Martinou, A. F.; Seraphides, N.; Stavrinides, M. C. Lethal and behavioral effects of pesticides on the insect predator *Macrolophus pygmaeus*. **Chemosphere**, v. 96, p. 167-173, 2013.

Mascarenhas, G. M. A.; Silva, J. A. T.; Araújo, L. M. Agrotóxicos, dominação e fronteiras: significação, relação e perspectivas sobre o pacote tecnológico agrícola e a amazônia brasileira. *Revista Brasileira de Políticas Públicas*, Brasília, v. 10, n. 3, p. 417-438, 2020.

Masson-Delmotte, V.; Zhai, P.; Pirani, A.; Connors, S. L.; Péan, C.; Berger, S.; Caud, N.; Chen, Y.; Goldfarb, L.; Gomis, M. I.; Huang, M.; Leitzell, K.; Lonnoy, E.; Matthews, J. B. R.; Maycock, T. K.; Waterfield, T.; Yelekçi, O.; Yu, R.; Zhou, B. - Eds. Summary for Policymakers. In: **Climate Change 2021: The Physical Science Basis**. Contribution of Working Group I to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, New York, , 2021.

Maxwell, K.; Johnson, G. N. Chlorophyll Fluorescence - A Practical Guide. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, p 659-668, 2000.

Mayer, M. S.; Likens, G. E. The Importance of Algae in a Shaded Headwater Stream As Food for an Abundant Caddisfly (Trichoptera). **J. N. Am. Benthol. Soc.**, v. 6, p. 262-269, 1987.

Myhre, G.; Shindell, D.; Bréon, F. M.; Collins, W.; Fuglestedt, J.; Huang, J.; Koch, D.; Lamarque, J. F.; Lee, D.; Mendoza, B.; Nakajima, T.; Rodbock, A.; Stephens, G.; Takemura, T.; Zhang, H. Anthropogenic and natural radiative forcing. In: **Climate Change 2013: The Physical Science Basis**. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, p. 659-740, 2013.

Necchi Jr., O. Light-related photosynthetic characteristics of lotic macroalgae. **Hydrobiologia**, v. 299, 219-230, 2004.

- Newton, M.; Horner, L. M.; Cowell, J. E.; White, D. E.; Cole, C. E. Dissipation of Glyphosate and Aminomethylphosphonic Acid in North American Forests. **J. Agric. Food Chem.**, v. 42, n. 8, p. 1795-1802, 1994.
- Oliveira, R. C., Vilas Boas, L. K.; Branco, C. C. Z. Assessment of the potential toxicity of glyphosate-based herbicides on the photosynthesis of *Nitella microcarpa* var. *wrightii* (Charophyceae). *Phycologia*, v. 55, p. 577-584, 2016.
- Oliveira, R. C., Vilas Boas, L. K.; Branco, C. C. Z. Effect of herbicides based on glyphosate on the photosynthesis of green macroalgae in tropical lotic environments. *Fundam. Appl. Limnol.*, v. 195, p. 85-93, 2021.
- Pamplona, M. V. Efeito da exposição aos herbicidas glifosato e 2,4-D, e suas misturas, sobre as respostas fotossintéticas de espécies de macroalgas de riachos. Dissertação de Mestrado - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Assis, São Paulo, 2024.
- Parmesan, C.; Yohe, G. A Globally Coherent Fingerprint of Climate Change Impacts across Natural Systems. **Nature**, v. 421, p. 37-42, 2003.
- Penuelas, J.; Filella, I.; Comas, P. Changed Plants and Animal Cycles from 1952 to 2000 in the Mediterranean Region. **Global Change Biology**, v. 8, p. 531-544, 2002.
- Peres, C. K.; Branco, C. C. Z. Algas verdes macroscópicas de ambientes lóticos do Sul do Brasil: Taxonomia e aspectos ecológicos. **Novas Edições Acadêmicas**, 2014.
- Pérez, G. L.; Torremorell, A.; Mugni, H.; Rodríguez, P.; Vera, M. S.; Do Nascimento, M.; Allende, L.; Bustingorry, J.; Escaray, R.; Ferraro, M.; Izaguirre, I.; Pizarro, H.; Bonetto, C.; Morris, D. P.; Zagarese, H. Effects of the herbicide Roundup on freshwater microbial communities: a mesocosm study. **Ecol Appl.**, v. 17, p. 2310-2322, 2007.
- Peruzzo, P. J.; Porta, A. A.; Ronco, A. E. Levels of glyphosate in surface waters, sediments and soils associated with direct sowing soybean cultivation in north pampasic region of Argentina. **Environmental Pollution**, v. 156, p. 61-66, 2008.
- Peters, K.; Bundschuh, M.; Schäfer, R. B. Review on the effects of toxicants on freshwater ecosystem functions. **Environ. Pollut.**, v. 180, p. 324-329, 2013.
- Pizarro, H.; Di Fiori, E.; Sinistro, R.; Ramírez, M.; Rodríguez, P.; Vinocur, A.; Cataldo, D. Impact of multiple anthropogenic stressors on freshwater: how do glyphosate and the invasive mussel *Limnoperna fortunei* affect microbial communities and water quality?. **Ecotoxicology**, v. 35, p. 56-68, 2016.
- Poiger, T.; Buerge, I. J.; Bachli, A.; Müller, M. D.; Balmer, M. E. Occurrence of the herbicide glyphosate and its metabolite AMPA in surface waters in Switzerland determined with on-line solid phase extraction LC-MS//MS. **Environ. Sci. Pollut. Res.**, v. 24, p. 1588-1596, 2017.
- Portinho, J. L. Nielsen, D. L.; Daré, L.; Henry, R.; Oliveira, R. C.; Branco, C. C. Z. Mixture of commercial herbicides based on 2,4-D and glyphosate mixture can suppress the emergence of zooplankton from sediments. **Chemosphere**, v. 203, p. 151-159, 2018.

Pörtner, H. O.; Roberts, D. C.; Tignor, M.; Poloczanska, E. S.; Mintenbeck, K.; Alegria, A.; Craig, M.; Langsdorf, S.; Löschke, S.; Möller, V.; Okem, A.; Rama, B. - Eds. *Climate Change 2022: Impacts, Adaptation and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, New York, 2022.

Relyea, R. A.; Edwards, K.; What doesn't kill you makes you sluggish: How sublethal pesticides alter predator-prey interactions. **Copeia**, n. 4, p. 558-567, 2010.

Richardson, K.; Beardall, J.; Raven, J. A. Adaptation of unicellular algae to irradiance: an analysis of strategies. **New Phytologist**, v. 93, n. 2, p. 157-191, 1983.

Schreiber, U.; Bilger, W.; Neubauer, C. Chlorophyll fluorescence as a non-intrusive indicator for rapid assessment of in vivo photosynthesis. In: Schulze, E.D. & Caldwell, M.M. (eds.). *Ecophysiology of photosynthesis*. © Springer-Verlag, Berlin, p. 49-70, 1995.

Schreiber, U.; Klughammer, C. Nonphotochemical fluorescence quenching and quantum yields in PS I and PS II: Analysis of heat-induced limitations using Maxi-Imaging-PAM and Dual-PAM-100. *PAM Application Notes*, v. 1, p. 15-18, 2008.

Silva, M. D.; Peralba, M. C. R.; Mattos, M. L. T. Determinação de glifosato e ácido aminometilfosfônico em águas superficiais do Arroio Passo do Pilão. **Pesticidas**, v. 13, p. 19-29, 2003.

Stevenson, R. J.; Bothwell, M. L.; Lowe, R. L.; Thorp, J. H. *Algal Ecology: Freshwater Benthic Ecosystem*. **Aquatic Ecology**, 1 Ed., 1996.

Sunday, J. M.; Bates, A. E.; Dulvy, N. K. Thermal tolerance and the global redistribution of animals. **Nature Climate Change**, v. 2, p. 686-690, 2012.

Vera, M. S.; Di Fiori, E.; Lagomarsino, L.; Sinistro, R.; Escaray, R.; Iummato, M. M.; Juárez, A.; Molina, M. C. R.; Tell, G.; Pizarro, H. Direct and indirect effects of the glyphosate formulation Glifosato Atanor on freshwater microbial communities. *Ecotoxicology*, v.21, n. 7, p. 1805–1816, 2012.

Vilas Boas, L. K.; Oliveira, R. C.; Necchi Júnior O.; Branco, C. C. Z. Temperature effects on photosynthesis in gametophytic and sporophytic stages of the freshwater red alga *Sirodotia delicatula* (Rhodophyta, Batrachospermales) under a global warming perspective. *Phycol. Res.*, v. 67, p. 39-44, 2019.

Vilas Boas, L. K.; Branco, C. C. Z. Effect of tebuthiuron and temperature increase related to climate change on the photosynthesis of *Nitella microcarpa* var. *wrightii* (Charophyceae). *J. Appl. Phicol.*, v. 34, p. 1721–1729, 2022a.

Vilas Boas, L. K.; Oliveira, R. C.; Branco, C. C. Z. Climate warming effects on photosynthetic responses of tropical stream macroalgae. **Fundam. Appl. Limnol.**, v. 195, p. 85–93, 2022b.

Vivancos, P. D.; Driscoll, S. P.; Bulman, C. A.; Ying, L.; Emami, K.; Treumann, A.; Mauve, C.; Noctor, G.; Foyer, C. H. Perturbations of amino acid metabolism associated with glyphosate-dependent inhibition of shikimic acid metabolism affect cellular redox homeostasis and alter the abundance of proteins involved in photosynthesis and photorespiration. **Plant. Physiology**, v. 157, p. 256-268, 2011.

Watanabe, M. M. Freshwater Culture Media. In: Andersen, R. A. (Ed.). **Algal Culturing Techniques**: Elsevier Academic Press, 2005.

Yanniccari, M.; Tambussi, E.; Istilart, C.; Castro, A. M. Glyphosate effects on gas exchange and chlorophyll fluorescence responses of two *Lolium perenne* L. biotypes with differential herbicide sensitivity. **Plant. Physiology and Biochemistry**, v. 57, p. 210-217, 2012.

Zhao, C.; Liu, B.; Piao, S.; Wang, X.; Lobell, D. B.; Huang, M.; Huang, Y.; Yao, Y.; Bassu, S.; Ciais, P.; Durand, J.; Elliott, J.; Ewert, F.; Janssens, I. A.; Li, T.; Lin, E.; Liu, Q.; Martre, P.; Müller, C.; Peng, S.; Peñuelas, J.; Ruane, A. C.; Wallach, D.; Wang, T.; Wu, D.; Liu, Z.; Zhu, Y.; Zhu, Z.; Asseng, S. Temperature increase reduces global yields of major crops in four independent estimates, **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, v. 114, n. 35, 9326-9331, 2017.

Tabela 4. Resultados da análise de variância (ANOVA) de Scott-Knott dos parâmetros da técnica da fluorescência da clorofila *a*, Y(II) (rendimento quântico efetivo do fotossistema II), Y(NO) (rendimento quântico de perda de energia não fotoquímica não regulada no fotossistema II) e Y(NPQ) (rendimento quântico da perda de energia não fotoquímica regulada no fotossistema II), considerando os valores dos grupos controles e dos tratamentos de exposição ao herbicida Roundup® e a cenários de aquecimento global, isolados e em combinação, obtidos para a espécie de macroalgas lólicas *Arnoldiella emedii*. Valores de p grafados em negrito indicam que a diferença entre os tratamentos é significativa ($p < 0,05$).

Rendimento Quântico Efetivo - Y(II)					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Tratamentos com Roundup® [GLI]	3	0,0119	0,0040	1,454	0,238
Cenários de Aquecimento Global [IPCC]	2	0,1139	0,0056	2,071	0,137
Interação [GLI]*[IPCC]	6	0,0110	0,0018	0,669	0,675
Erro	48	0,1320	0,0027		
Rendimento Quântico da Perda de Energia Não Fotoquímica Não Regulada - Y(NO)					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Tratamentos com Roundup® [GLI]	3	0,0105	0,0035	4,098	0,011
Cenários de Aquecimento Global [IPCC]	2	0,0142	0,0071	8,305	0,000
Interação [GLI]*[IPCC]	6	0,0057	0,0009	1,111	0,368
Erro	48	0,0411	0,0008		
Rendimento Quântico da Perda de Energia Não Fotoquímica Regulada - Y(NPQ)					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Tratamentos com Roundup® [GLI]	3	0,0383	0,0127	5,223	0,003
Cenários de Aquecimento Global [IPCC]	2	0,0031	0,0015	0,645	0,528
Interação [GLI]*[IPCC]	6	0,0058	0,0009	0,398	0,876
Erro	48	0,1173	0,0024		

Tabela 5. Resultado do desdobramento da análise de variância (ANOVA) de Scott-Knott dos parâmetros da técnica da fluorescência da clorofila *a*, Y(II) (rendimento quântico efetivo do fotossistema II), Y(NO) (rendimento quântico de perda de energia não fotoquímica não regulada no fotossistema II) e Y(NPQ) (rendimento quântico da perda de energia não fotoquímica regulada no fotossistema II), considerando os valores dos grupos controles e dos tratamentos de exposição ao herbicida Roundup® e a cenários de aquecimento global, isolados e em combinação, obtidos para a espécie de macroalgas lólicas, *Arnoldiella emedii*. Diferentes letras indicam diferenças entre tratamentos observadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Rendimento Quântico Efetivo - Y(II)			
Tratamento com Roundup®	Cenário de aquecimento global		
	TM (Controle)	Cenário 4.5	Cenário 8.5
Controle	0,412	0,402	0,391
Tratamento 0,28	0,469	0,401	0,422
Tratamento 3,5	0,471	0,436	0,411
Tratamento 6	0,415	0,416	0,421

Rendimento Quântico da Perda de Energia Não Fotoquímica Não Regulada - Y(NO)			
Tratamento com Roundup®	Cenário de aquecimento global		
	TM (Controle) (A)	Cenário 4.5 (B)	Cenário 8.5 (B)
Controle (a)	0,221	0,240	0,239
Tratamento 0,28 (b)	0,238	0,295	0,278
Tratamento 3,5 (b)	0,221	0,283	0,252
Tratamento 6 (b)	0,252	0,264	0,250

Rendimento Quântico da Perda de Energia Não Fotoquímica Regulada - Y(NPQ)			
Tratamento com Roundup®	Cenário de aquecimento global		
	TM (Controle)	Cenário 4.5	Cenário 8.5
Controle (b)	0,366	0,357	0,369
Tratamento 0,28 (a)	0,292	0,303	0,299
Tratamento 3,5 (a)	0,307	0,280	0,336
Tratamento 6 (a)	0,332	0,319	0,327

Tabela 6. Resultados da análise de variância (ANOVA) de Scott-Knott dos parâmetros da técnica da fluorescência da clorofila *a*, Y(II) (rendimento quântico efetivo do fotossistema II), Y(NO) (rendimento quântico de perda de energia não fotoquímica não regulada no fotossistema II) e Y(NPQ) (rendimento quântico da perda de energia não fotoquímica regulada no fotossistema II), considerando os valores dos grupos controles e dos tratamentos de exposição ao herbicida Roundup® e a cenários de aquecimento global, isolados e em combinação, obtidos para a espécie de macroalgas lóticis *Cladophora glomerata*. Valores de p grafados em negrito indicam que a diferença entre os tratamentos é significativa ($p < 0,05$).

Rendimento Quântico Efetivo - Y(II)					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Tratamentos com Roundup® [GLI]	3	0,0301	0,0100	5,712	0,002
Cenários de Aquecimento Global [IPCC]	2	0,0113	0,0056	3,217	0,048
Interação [GLI]*[IPCC]	6	0,0356	0,0059	3,380	0,007
Erro	48	0,0844	0,0017		
Rendimento Quântico da Perda de Energia Não Fotoquímica Não Regulada - Y(NO)					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Tratamentos com Roundup® [GLI]	3	0,0041	0,0013	0,687	0,564
Cenários de Aquecimento Global [IPCC]	2	0,0060	0,0030	1,487	0,236
Interação [GLI]*[IPCC]	6	0,0417	0,0069	3,427	0,006
Erro	48	0,0974	0,0020		
Rendimento Quântico da Perda de Energia Não Fotoquímica Regulada - Y(NPQ)					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Tratamentos com Roundup® [GLI]	3	0,0149	0,0049	3,713	0,017
Cenários de Aquecimento Global [IPCC]	2	0,0006	0,0003	0,258	0,773
Interação [GLI]*[IPCC]	6	0,0087	0,0014	1,088	0,383
Erro	48	0,0645	0,0013		

Tabela 7. Resultado do desdobramento da análise de variância (ANOVA) de Scott-Knott dos parâmetros da técnica da fluorescência da clorofila *a*, Y(II) (rendimento quântico efetivo do fotossistema II), Y(NO) (rendimento quântico de perda de energia não fotoquímica não regulada no fotossistema II) e Y(NPQ) (rendimento quântico da perda de energia não fotoquímica regulada no fotossistema II), considerando os valores dos grupos controles e dos tratamentos de exposição ao herbicida Roundup® e a cenários de aquecimento global, isolados e em combinação, obtidos para a espécie de macroalgas lólicas, *Cladophora glomerata*. Diferentes letras indicam diferenças entre tratamentos observadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Rendimento Quântico Efetivo - Y(II)			
Tratamento com Roundup®	Cenário de aquecimento global		
	TM (Controle)	Cenário 4.5	Cenário 8.5
Controle	0,364 Aa	0,415 Ba	0,437 Ba
Tratamento 0,28	0,417 Ab	0,400 Aa	0,386 Aa
Tratamento 3,5	0,454 Ab	0,460 Ab	0,423 Aa
Tratamento 6	0,453 Ab	0,50 Bb	0,397 Ba

Rendimento Quântico da Perda de Energia Não Fotoquímica Não Regulada - Y(NO)			
Tratamento com Roundup®	Cenário de aquecimento global		
	TM (Controle)	Cenário 4.5	Cenário 8.5
Controle	0,435 Aa	0,394 Aa	0,389 Aa
Tratamento 0,28	0,371 Aa	0,438 Aa	0,399 Aa
Tratamento 3,5	0,399 Aa	0,368 Ab	0,410 Aa
Tratamento 6	0,380 Aa	0,337 Ab	0,438 Ba

Rendimento Quântico da Perda de Energia Não Fotoquímica Regulada - Y(NPQ)			
Tratamento com Roundup®	Cenário de aquecimento global		
	TM (Controle)	Cenário 4.5	Cenário 8.5
Controle (b)	0,200	0,189	0,173
Tratamento 0,28 (b)	0,211	0,170	0,213
Tratamento 3,5 (a)	0,146	0,171	0,166
Tratamento 6 (a)	0,166	0,161	0,163

Tabela 8. Resultados da análise de variância (ANOVA) de Scott-Knott dos parâmetros da técnica da fluorescência da clorofila *a*, Y(II) (rendimento quântico efetivo do fotossistema II), Y(NO) (rendimento quântico de perda de energia não fotoquímica não regulada no fotossistema II) e Y(NPQ) (rendimento quântico da perda de energia não fotoquímica regulada no fotossistema II), considerando os valores dos grupos controles e dos tratamentos de exposição ao herbicida Roundup® e a cenários de aquecimento global, isolados e em combinação, obtidos para a espécie de macroalgas lólicas *Rhizoclonium hieroglyphicum*. Valores de p grafados em negrito indicam que a diferença entre os tratamentos é significativa ($p < 0,05$).

Rendimento Quântico Efetivo - Y(II)					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Tratamentos com Roundup® [GLI]	3	0,5084	0,2542	14,906	0,857
Cenários de Aquecimento Global [IPCC]	2	0,0130	0,0043	0,255	0,000
Interação [GLI]*[IPCC]	6	0,0259	0,0043	0,253	0,955
Erro	48	0,8187	0,0170		
Rendimento Quântico da Perda de Energia Não Fotoquímica Não Regulada - Y(NO)					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Tratamentos com Roundup® [GLI]	3	0,2779	0,1389	14,949	0,000
Cenários de Aquecimento Global [IPCC]	2	0,1379	0,0459	4,948	0,004
Interação [GLI]*[IPCC]	6	0,2090	0,0348	3,748	0,003
Erro	48	0,4461	0,0092		
Rendimento Quântico da Perda de Energia Não Fotoquímica Regulada - Y(NPQ)					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Tratamentos com Roundup® [GLI]	3	0,1034	0,0517	9,817	0,003
Cenários de Aquecimento Global [IPCC]	2	0,1107	0,0369	7,010	0,005
Interação [GLI]*[IPCC]	6	0,2275	0,0379	7,199	0,000
Erro	48	0,2528	0,0052		

Tabela 9. Resultado do desdobramento da análise de variância (ANOVA) de Scott-Knott dos parâmetros da técnica da fluorescência da clorofila *a*, Y(II) (rendimento quântico efetivo do fotossistema II), Y(NO) (rendimento quântico de perda de energia não fotoquímica não regulada no fotossistema II) e Y(NPQ) (rendimento quântico da perda de energia não fotoquímica regulada no fotossistema II), considerando os valores dos grupos controles e dos tratamentos de exposição ao herbicida Roundup® e a cenários de aquecimento global, isolados e em combinação, obtidos para a espécie de macroalgas lóticas *Rhizoclonium hieroglyphicum*. Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas nas colunas e diferentes letras minúsculas nas linhas diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Rendimento Quântico Efetivo - Y(II)			
Tratamentos com Roundup®	Cenários de aquecimento global		
	TM (Controle) (B)	Cenário 4.5 (A)	Cenário 8.5 (A)
Controle	0,480	0,367	0,289
Tratamento 0,28	0,464	0,276	0,280
Tratamento 3,5	0,512	0,279	0,297
Tratamento 6	0,519	0,298	0,304

Rendimento Quântico da Perda de Energia Não Fotoquímica Não Regulada - Y(NO)			
Tratamentos com Roundup®	Cenário de aquecimento global		
	TM (Controle)	Cenário 4.5	Cenário 8.5
Controle	0,248 Aa	0,333 Aa	0,464 Bb
Tratamento 0,28	0,296 Aa	0,381 Aa	0,433 Ab
Tratamento 3,5	0,152 Aa	0,216 Aa	0,465 Bb
Tratamento 6	0,214 Aa	0,334 Aa	0,215 Aa

Rendimento Quântico da Perda de Energia Não Fotoquímica Regulada - Y(NPQ)			
Tratamentos com Roundup®	Cenário de aquecimento global		
	TM (Controle)	Cenário 4.5	Cenário 8.5
Controle	0,271 Aa	0,298 Aa	0,246 Aa
Tratamento 0,28	0,238 Aa	0,341 Aa	0,286 Aa
Tratamento 3,5	0,334 Aa	0,504 Bb	0,237 Aa
Tratamento 6	0,266 Aa	0,367 Aa	0,480 Bb

Tabela 10. Resultados da análise de variância (ANOVA) de Scott-Knott dos parâmetros da técnica da fluorescência da clorofila *a*, Y(II) (rendimento quântico efetivo do fotossistema II), Y(NO) (rendimento quântico de perda de energia não fotoquímica não regulada no fotossistema II) e Y(NPQ) (rendimento quântico da perda de energia não fotoquímica regulada no fotossistema II), considerando os valores dos grupos controles e dos tratamentos de exposição ao herbicida Roundup® e a cenários de aquecimento global, isolados e em combinação, obtidos para a espécie de macroalgas lótic *Schizomeris leibleinii*. Valores de p grafados em negrito indicam que a diferença entre os tratamentos é significativa ($p < 0,05$).

Rendimento Quântico Efetivo - Y(II)					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Tratamentos com Roundup® [GLI]	3	0,0300	0,0100	5,025	0,005
Cenários de Aquecimento Global [IPCC]	2	0,0110	0,0055	2,763	0,076
Interação [GLI]*[IPCC]	6	0,1335	0,0222	11,166	0,000
Erro	36	0,0717	0,0019		
Rendimento Quântico da Perda de Energia Não Fotoquímica Não Regulada - Y(NO)					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Tratamentos com Roundup® [GLI]	3	0,0162	0,0054	5,343	0,003
Cenários de Aquecimento Global [IPCC]	2	0,0344	0,0172	16,976	0,000
Interação [GLI]*[IPCC]	6	0,0885	0,0147	14,540	0,000
Erro	36	0,0365	0,0010		
Rendimento Quântico da Perda de Energia Não Fotoquímica Regulada - Y(NPQ)					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Tratamentos com Roundup® [GLI]	3	0,0140	0,0046	68,862	0,000
Cenários de Aquecimento Global [IPCC]	2	0,0016	0,0008	12,186	0,000
Interação [GLI]*[IPCC]	6	0,0037	0,0006	9,178	0,000
Erro	36	0,0024	0,0000		

Tabela 11. Resultado do desdobramento da análise de variância (ANOVA) de Scott-Knott dos parâmetros da técnica da fluorescência da clorofila *a*, Y(II) (rendimento quântico efetivo do fotossistema II), Y(NO) (rendimento quântico de perda de energia não fotoquímica não regulada no fotossistema II) e Y(NPQ) (rendimento quântico da perda de energia não fotoquímica regulada no fotossistema II), considerando os valores dos grupos controles e dos tratamentos de exposição ao herbicida Roundup® e a cenários de aquecimento global, isolados e em combinação, obtidos para a espécie de macroalgas lólicas *Schizomeris leibleinii*. Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas nas colunas e diferentes letras minúsculas nas linhas diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Rendimento Quântico Efetivo - Y(II)			
Tratamentos com Roundup®	Cenários de aquecimento global		
	TM (Controle)	Cenário 4.5	Cenário 8.5
Controle	0,511 Aa	0,446 Aa	0,667 Bb
Tratamento 0,28	0,630 Bb	0,540 Ab	0,508 Aa
Tratamento 3,5	0,615 Ab	0,602 Ab	0,564 Aa
Tratamento 6	0,529 Aa	0,546 Ab	0,509 Aa

Rendimento Quântico da Perda de Energia Não Fotoquímica Não Regulada - Y(NO)			
Tratamentos com Roundup®	Cenário de aquecimento global		
	TM (Controle)	Cenário 4.5	Cenário 8.5
Controle	0,304 Aa	0,471 Bb	0,265 Aa
Tratamento 0,28	0,289 Aa	0,365 Ba	0,387 Bb
Tratamento 3,5	0,290 Aa	0,309 Aa	0,338 Ab
Tratamento 6	0,354 Ab	0,355 Aa	0,379 Ab

Rendimento Quântico da Perda de Energia Não Fotoquímica Regulada - Y(NPQ)			
Tratamentos com Roundup®	Cenário de aquecimento global		
	TM (Controle)	Cenário 4.5	Cenário 8.5
Controle	0,043 Aa	0,081 Ca	0,067 Ba
Tratamento 0,28	0,079 Ab	0,094 Ba	0,104 Bb
Tratamento 3,5	0,094 Ab	0,088 Aa	0,097 Ab
Tratamento 6	0,116 Bc	0,098 Ab	0,110 Ab

Tabela 12. Resultados da análise de variância (ANOVA) de Scott-Knott dos parâmetros da técnica da fluorescência da clorofila *a*, Y(II) (rendimento quântico efetivo do fotossistema II), Y(NO) (rendimento quântico de perda de energia não fotoquímica não regulada no fotossistema II) e Y(NPQ) (rendimento quântico da perda de energia não fotoquímica regulada no fotossistema II), considerando os valores dos grupos controles e dos tratamentos de exposição ao herbicida Roundup® e a cenários de aquecimento global, isolados e em combinação, obtidos para a espécie de macroalgas lólicas *Composopogon caeruleus*. Valores de p grafados em negrito indicam que a diferença entre os tratamentos é significativa ($p < 0,05$).

Rendimento Quântico Efetivo - Y(II)					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Tratamentos com Roundup® [GLI]	3	0,8816	0,4408	28,584	0,000
Cenários de Aquecimento Global [IPCC]	2	0,2070	0,0690	4,475	0,000
Interação [GLI]*[IPCC]	6	0,3692	0,0615	3,991	0,002
Erro	48	0,7402	0,0154		
Rendimento Quântico da Perda de Energia Não Fotoquímica Não Regulada - Y(NO)					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Tratamentos com Roundup® [GLI]	3	0,5454	0,2727	23,874	0,000
Cenários de Aquecimento Global [IPCC]	2	0,2015	0,0671	5,882	0,000
Interação [GLI]*[IPCC]	6	0,3418	0,0569	4,988	0,000
Erro	48	0,5483	0,0114		
Rendimento Quântico da Perda de Energia Não Fotoquímica Regulada - Y(NPQ)					
Fonte de Variação	GL	SQ	QM	F	p
Tratamentos com Roundup® [GLI]	3	0,0408	0,0204	6,467	0,003
Cenários de Aquecimento Global [IPCC]	2	0,0095	0,0031	1,012	0,395
Interação [GLI]*[IPCC]	6	0,0253	0,0042	1,339	0,258
Erro	48	0,1515	0,0031		

Tabela 13. Resultado do desdobramento das interações identificadas na análise de variância (ANOVA) de Scott-Knott dos parâmetros da técnica da fluorescência da clorofila *a*, Y(II) (rendimento quântico efetivo do fotossistema II), Y(NO) (rendimento quântico de perda de energia não fotoquímica não regulada no fotossistema II) e Y(NPQ) (rendimento quântico da perda de energia não fotoquímica regulada no fotossistema II), considerando os valores dos grupos controles e dos tratamentos de exposição ao herbicida Roundup® e a cenários de aquecimento global, isolados e em combinação, obtidos para a espécie de macroalgas lólicas, *Compsopogon caeruleus*. Médias seguidas de diferentes letras maiúsculas nas colunas e diferentes letras minúsculas nas linhas diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Rendimento Quântico Efetivo - Y(II)			
Tratamento com Roundup®	Cenário de aquecimento global		
	TM (Controle)	Cenário 4.5	Cenário 8.5
Controle	0,598 Bb	0,450 Bc	0,318 Aa
Tratamento 0,28	0,578 Bb	0,408 Ab	0,318 Aa
Tratamento 3,5	0,387 Ba	0,196 Aa	0,351 Aa
Tratamento 6	0,673 Bb	0,222 Aa	0,264 Aa

Rendimento Quântico da Perda de Energia Não Fotoquímica Não Regulada - Y(NO)			
Tratamento com Roundup®	Cenário de aquecimento global		
	TM (Controle)	Cenário 4.5	Cenário 8.5
Controle	0,315 Aa	0,417 Ba	0,566 Ba
Tratamento 0,28	0,333 Aa	0,487 Ba	0,575 Ba
Tratamento 3,5	0,562 Ab	0,670 Ab	0,527 Aa
Tratamento 6	0,251 Aa	0,657 Bb	0,635 Ba

Rendimento Quântico da Perda de Energia Não Fotoquímica Regulada - Y(NPQ)			
Tratamento com Roundup®	Cenário de aquecimento global		
	TM (Controle) (A)	Cenário 4.5 (B)	Cenário 8.5 (B)
Controle	0,086	0,132	0,115
Tratamento 0,28	0,088	0,104	0,106
Tratamento 3,5	0,050	0,132	0,121
Tratamento 6	0,074	0,120	0,199

Figura 3. Valores médios e desvio-padrão dos parâmetros da fluorescência da clorofila *a*, Y(II) (rendimento quântico efetivo do fotossistema II), Y(NPQ) (rendimento quântico da perda de energia não fotoquímica regulada no fotossistema II) e Y(NO) (rendimento quântico de perda de energia não fotoquímica não regulada no fotossistema II) de *Arnoldiella emedii* após 7 dias de exposição aos tratamentos com o herbicida Roundup® cenários de aquecimento global propostos pelo IPCC (6º Relatório de Avaliação), isolados ou em combinação. TM: Temperatura média (Controle de temperatura = 21,6 °C); 4.5: cenário SSP2-4.5, ou seja, TM + 2,7 °C; 8.5: cenário SSP5-8.5, ou seja, TM + 4,4 °C; R1: Roundup® na concentração 0,28 mg [i.a.].L⁻¹; R2: Roundup® - 03,5 mg [i.a.].L⁻¹, R3: Roundup® - 6 mg [i.a.].L⁻¹.

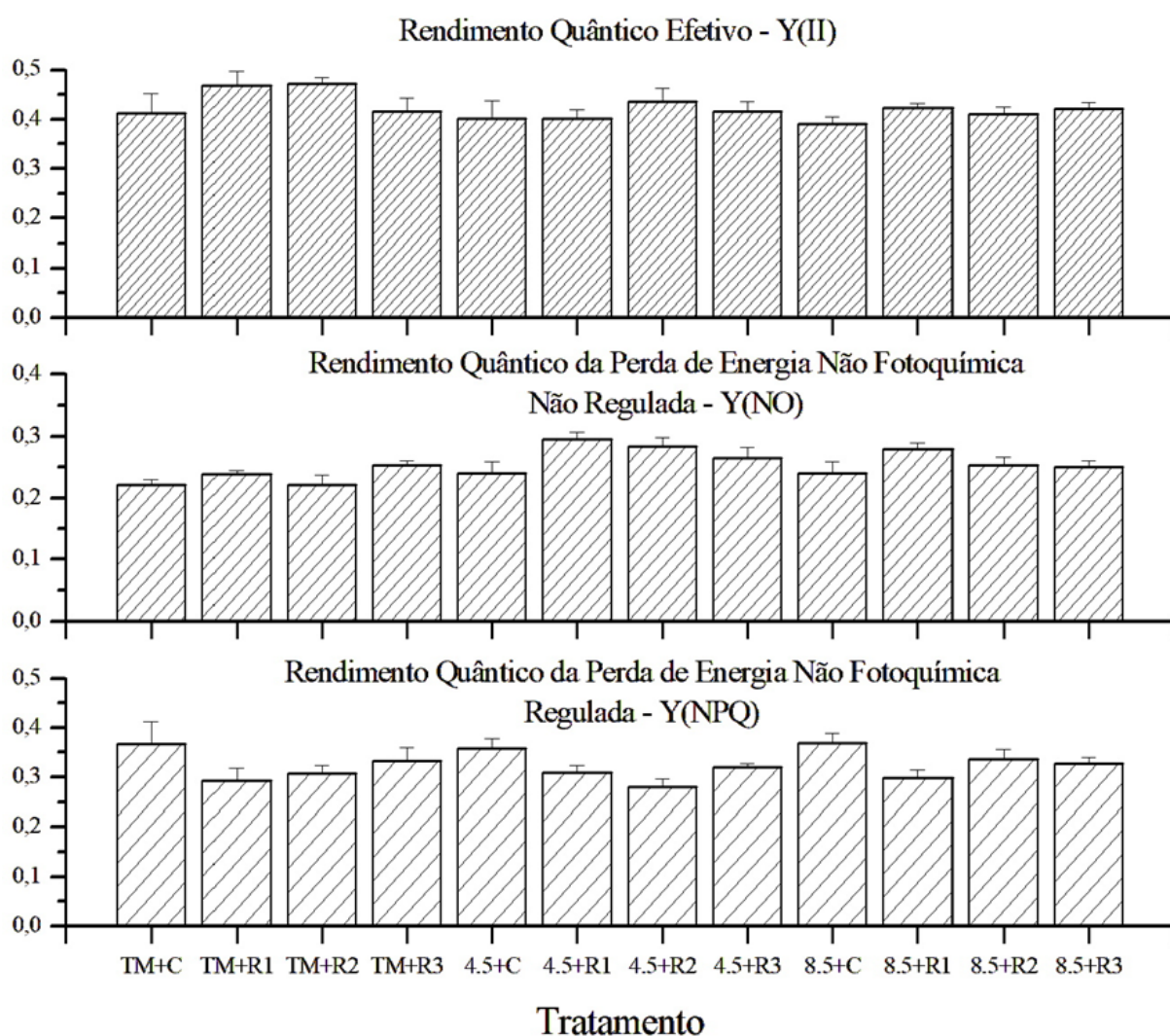


Figura 4. Valores médios e desvio-padrão dos parâmetros da fluorescência da clorofila a, Y(II) (rendimento quântico efetivo do fotossistema II), Y(NPQ) (rendimento quântico da perda de energia não fotoquímica regulada no fotossistema II) e Y(NO) (rendimento quântico de perda de energia não fotoquímica não regulada no fotossistema II), de *Cladophora glomerata* após 7 dias de exposição aos tratamentos com o herbicida Roundup® cenários de aquecimento global propostos pelo IPCC (6º Relatório de Avaliação), isolados ou em combinação. TM: Temperatura média (Controle de temperatura = 21,6 oC); 4.5: cenário SSP2-4.5, ou seja, TM + 2,7 °C; 8.5: cenário SSP5-8.5, ou seja, TM + 4,4 °C; R1: Roundup® na concentração 0,28 mg [i.a.].L-1; R2: Roundup® - 03,5 mg [i.a.].L-1, R3: Roundup® - 6 mg [i.a.].L-1.

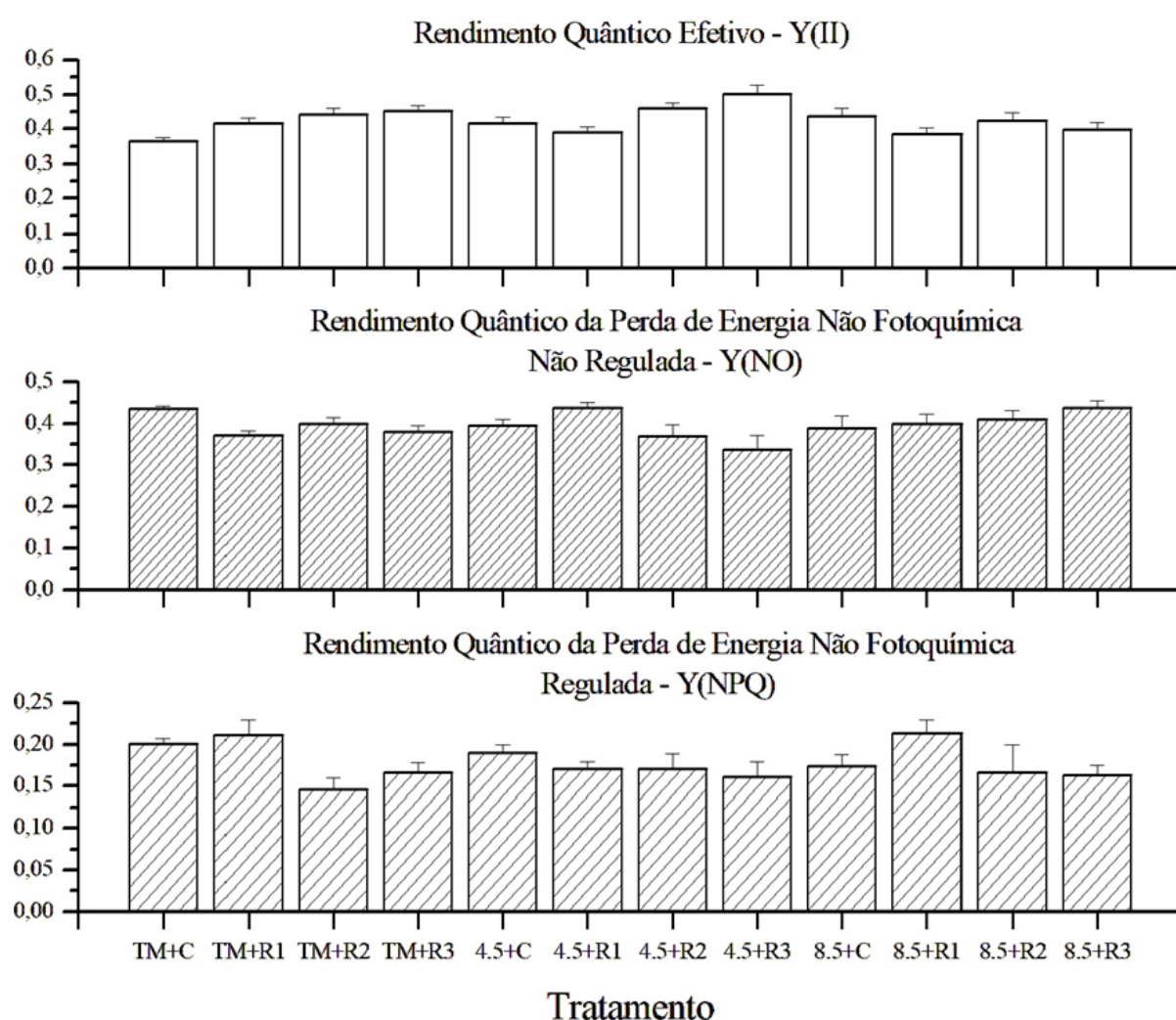


Figura 5. Valores médios e desvio-padrão dos parâmetros da fluorescência da clorofila *a*, Y(II) (rendimento quântico efetivo do fotossistema II), Y(NPQ) (rendimento quântico da perda de energia não fotoquímica regulada no fotossistema II) e Y(NO) (rendimento quântico de perda de energia não fotoquímica não regulada no fotossistema II) de *Rhizoclonium hieroglyphicum* após 7 dias de exposição aos tratamentos com o herbicida Roundup® cenários de aquecimento global propostos pelo IPCC (6º Relatório de Avaliação), isolados ou em combinação. TM: Temperatura média (Controle de temperatura = 21,6 °C); 4.5: cenário SSP2-4.5, ou seja, TM + 2,7 °C; 8.5: cenário SSP5-8.5, ou seja, TM + 4,4 °C; R1: Roundup® na concentração 0,28 mg [i.a.].L⁻¹; R2: Roundup® - 03,5 mg [i.a.].L⁻¹, R3: Roundup® - 6 mg [i.a.].L⁻¹.

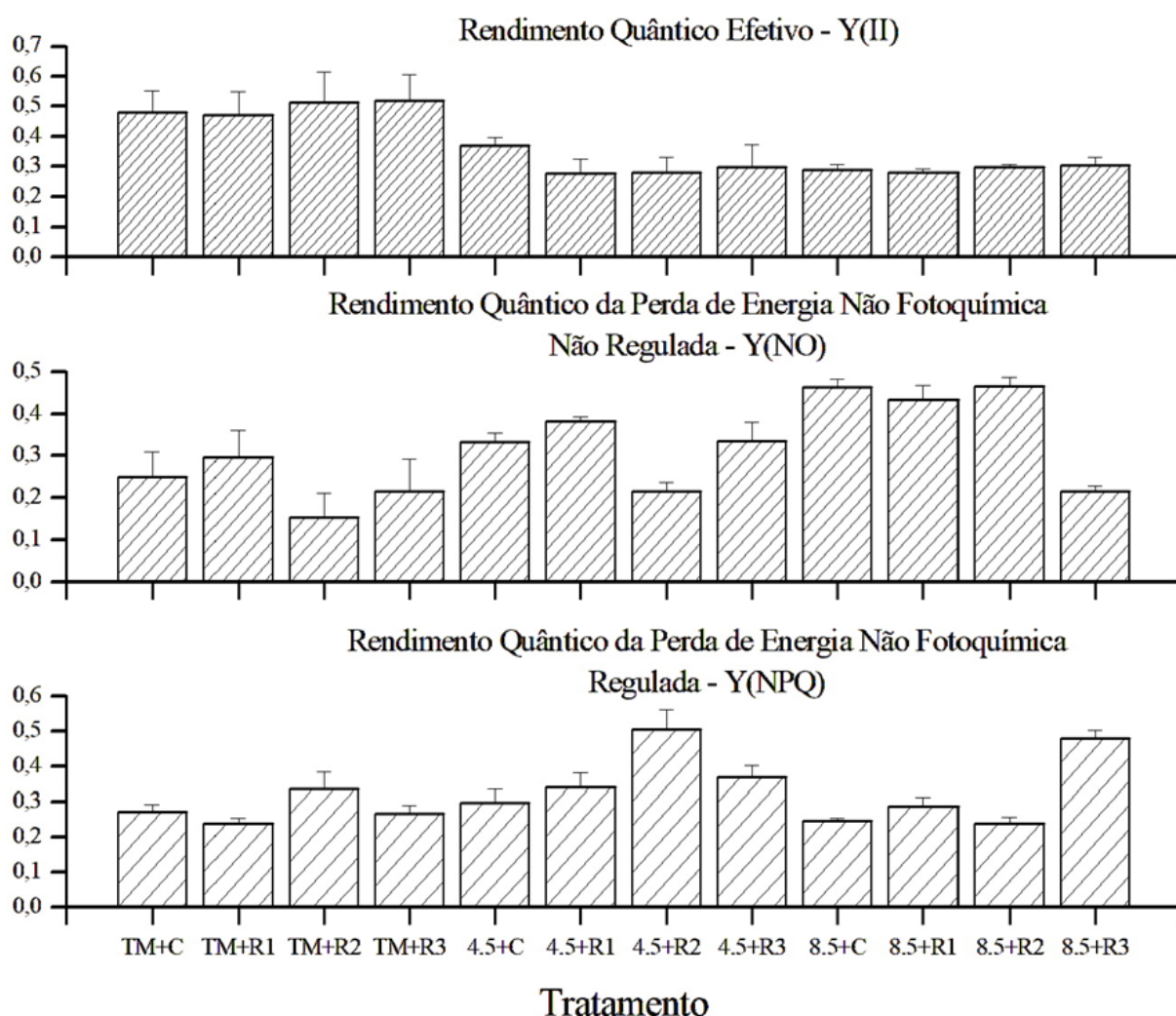


Figura 6. Valores médios e desvio-padrão dos parâmetros da fluorescência da clorofila *a*, Y(II) (rendimento quântico efetivo do fotossistema II), Y(NPQ) (rendimento quântico da perda de energia não fotoquímica regulada no fotossistema II) e Y(NO) (rendimento quântico de perda de energia não fotoquímica não regulada no fotossistema II) de *Schizomeris leibleinii* após 7 dias de exposição aos tratamentos com o herbicida Roundup® cenários de aquecimento global propostos pelo IPCC (6º Relatório de Avaliação), isolados ou em combinação. TM: Temperatura média (Controle de temperatura = 21,6 °C); 4.5: cenário SSP2-4.5, ou seja, TM + 2,7 °C; 8.5: cenário SSP5-8.5, ou seja, TM + 4,4 °C; R1: Roundup® na concentração 0,28 mg [i.a.].L⁻¹; R2: Roundup® - 03,5 mg [i.a.].L⁻¹, R3: Roundup® - 6 mg [i.a.].L⁻¹.

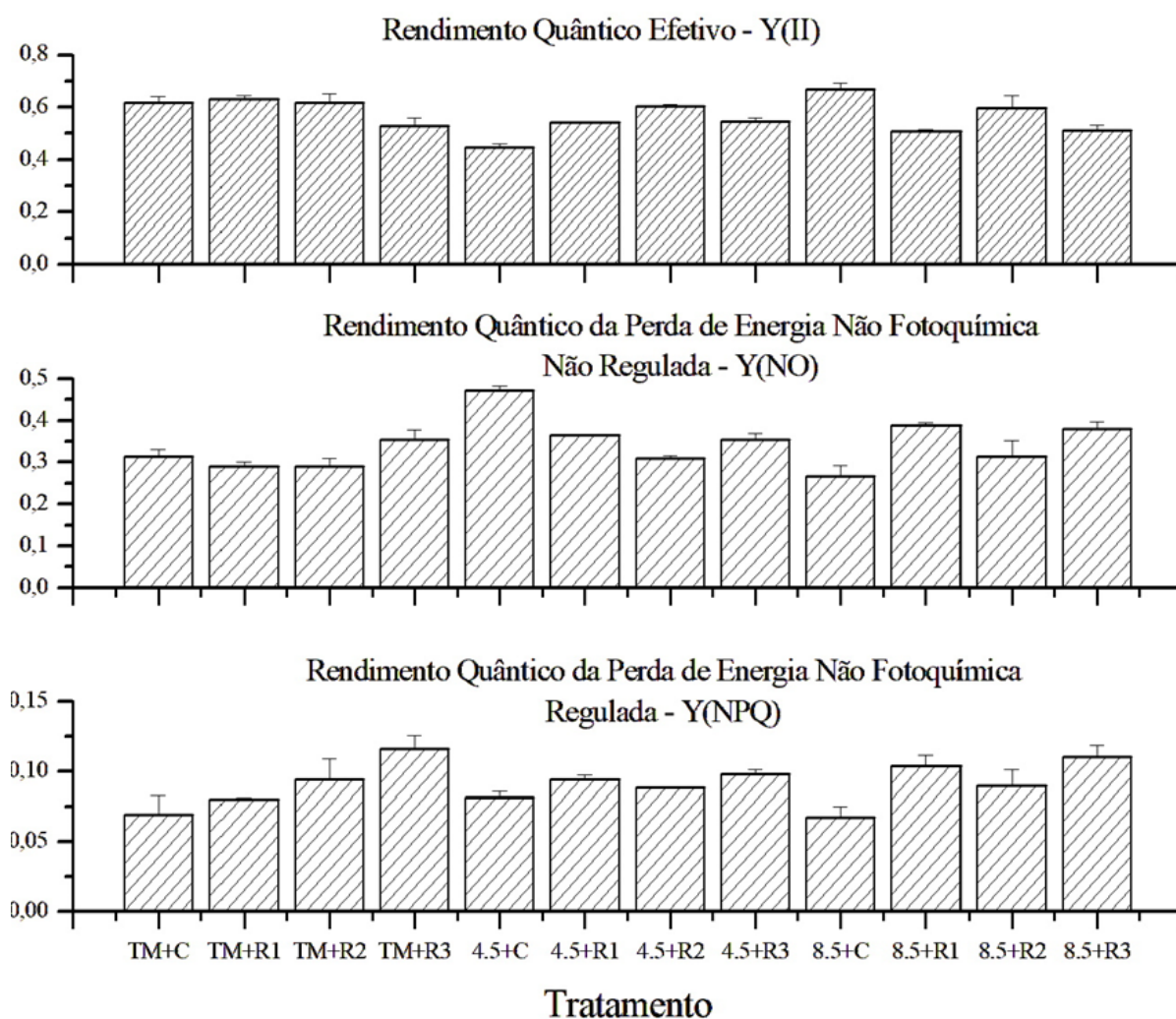


Figura 7. Valores médios e desvio-padrão dos parâmetros da fluorescência da clorofila *a*, Y(II) (rendimento quântico efetivo do fotossistema II), Y(NPQ) (rendimento quântico da perda de energia não fotoquímica regulada no fotossistema II) e Y(NO) (rendimento quântico de perda de energia não fotoquímica não regulada no fotossistema II) de *Compsopogon caeruleus* após 7 dias de exposição aos tratamentos com o herbicida Roundup® cenários de aquecimento global propostos pelo IPCC (6º Relatório de Avaliação), isolados ou em combinação. TM: Temperatura média (Controle de temperatura = 21,6 °C); 4.5: cenário SSP2-4.5, ou seja, TM + 2,7 °C; 8.5: cenário SSP5-8.5, ou seja, TM + 4,4 °C; R1: Roundup® na concentração 0,28 mg [i.a.].L⁻¹; R2: Roundup® - 03,5 mg [i.a.].L⁻¹, R3: Roundup® - 6 mg [i.a.].L⁻¹.

