

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA CELULAR, EMBRIOLOGIA E GENÉTICA

CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

João Vitor Schier de França

**Efeito de diferentes soluções nutritivas no cultivo de explantes de *Kappaphycus alvarezii*
submetidos a estresse por diminuição de temperatura**

Florianópolis

2023

João Vitor Schier de França

Efeito de diferentes soluções nutritivas no cultivo de explantes de *Kappaphycus alvarezii* submetidos a estresse por diminuição de temperatura

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

Orientadora: Carmen Simioni

Florianópolis

2023

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

de França, João Vitor Schier

Efeito de diferentes soluções nutritivas no cultivo de explantes de *Kappaphycus alvarezii* submetidos a estresse por diminuição de temperatura / João Vitor Schier de França ; orientadora, Carmen Simioni, 2023.

28 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Graduação em Ciências Biológicas, Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

1. Ciências Biológicas. 2. Micropropagação. 3. Rhodophyta. 4. Biofoco. 5. Bioestimulante. I. Simioni, Carmen. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Ciências Biológicas. III. Título.

João Vitor Schier de França

Efeito de diferentes soluções nutritivas no cultivo de explantes de *Kappaphycus alvarezii* submetidos a estresse por diminuição de temperatura

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

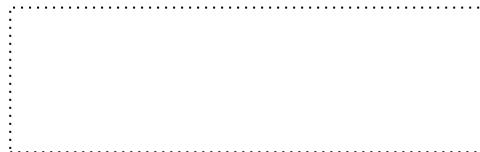
Florianópolis, 26 de junho de 2023.



Profa. Dra. Daniela de Toni

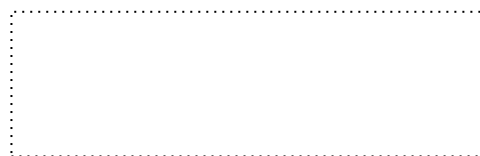
Coordenação do Curso

Banca examinadora



Prof^a.Dr^a. Carmen Simioni (Orientadora)

Universidade Federal de Santa Catarina



Dr^a. Zenilda Laurita Bouzon

Universidade Federal de Santa Catarina



Msc Thallis Felipe Boa Ventura

Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis, 2023.

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer especialmente a minha orientadora Dr^a. Carmen Simioni por ter me socorrido nesse momento tão crítico e ter me dado esperanças de fazer um bom trabalho. Além de uma excelente profissional é também uma pessoa muito gentil e certamente fonte de inspiração para mim e todos que puderam ter a oportunidade de ser orientados por ela, muito obrigado!

Às prof^{as} Zenilda, Luciane e todas as pessoas que conheci do LABCEV, por terem sido tão receptivos comigo e me ensinarem tantas coisas nesses últimos anos. Também a Thallis Boa Ventura por ajudar a reformular este trabalho, bem como participar da banca, muito obrigado!

À minha irmã Suelem Schier de França e minha mãe Solange Schier, as duas mulheres mais importantes da minha vida, por todo o apoio e carinho em toda minha jornada. Certamente a pessoa que sou hoje é por conta de vocês. A meus irmãos Ana Paula Floriani e Felipe Floriani por todo companheirismo e momentos bons que tivemos juntos. A Fabio S. Floriani, por ser o pai que eu sempre precisei, por todo amor e motivação que me ensinou, bem como a importância de ser humilde sempre. Espero que esteja orgulhoso de onde cheguei! Amo todos vocês!

A meus amigos Vinicius Rodrigues, João Felipe Conceição, Luana de Azevedo e João Victor Costa por todos esses nossos anos de graduação juntos, tantos momentos inesquecíveis com vocês que fizeram deste momento da minha vida um dos melhores. Também aos amigos Guilherme, Eduardo, Luís, Fabio Alves, Vinicius e Lucas que me acompanharam tantos dias com risadas, desabafos e companheirismo, com vocês nunca me sinto sozinho. A Pedro Goulart e Ana Carlyne, dois amigos que me acompanham por tanto tempo e que amo profundamente. Todos vocês são parte de minha família, muito obrigado!

A meu professor de teclado Luís Mariano pelas conversas aleatórias divertidas, por me ensinar tantas coisas sobre esse mundo incrível da música e principalmente pelos conselhos e motivações que vem me dando ao longo desses anos. Por fim, aos artistas Linkin Park pela força psicológica que sempre me traz para lidar com tantas dificuldades, e a ReoNa por ser minha distração frente às últimas situações estressantes, bem como ser uma das razões de buscar novas ambições.

RESUMO

Dentre toda a relevância que as algas têm, uma das principais é a produção de compostos indispensáveis para a indústria. A carragenana, um exemplo destes compostos, é extraída principalmente da alga *Kappaphycus alvarezii*. No sul do Brasil, essa alga tem seu cultivo prejudicado pela queda de temperatura da água devido às estações mais frias. Assim, o objetivo do estudo foi avaliar os efeitos da adição de soluções nutritivas (Von Stosch 50% (Vs50), efluente de bioflocos (BFT) e bioestimulante de algas (BFA)) no desenvolvimento dos explantes de *K. alvarezii* em diferentes temperaturas. Explantes de 5 mm foram cultivados em água do mar esterilizada enriquecida com VS 50%, BFT 25% e VS 50% + BFA 4% durante 28 dias, sendo separados em 2 grupos: Controle (C/VS, C/BFT e C/BFA) a 24°C, e Temperatura (T/VS, T/BFT e T/BFA) a 16°C. Para observar a morfologia e formação de eixos eretos foram feitas micrografias através do microscópio estereoscópio com 14 e 28 dias de experimento. Semanalmente, os explantes foram pesados para calcular a taxa de crescimento. Ao final do experimento foram feitas quantificações de pigmentos de todos os tratamentos. Com 14 dias de cultivo, os explantes não apresentavam grandes diferenças morfológicas, e as taxas de crescimento dos seis tratamentos se mantiveram constantes, exceto C/VS que se mostrou superior aos demais. Ao final de 28 dias, no grupo controle C/VS obteve a maior taxa de crescimento, enquanto no grupo “temperatura” todos os três tratamentos não tiveram diferença estatística e estavam perdendo peso. Para todos os pigmentos analisados, explantes com a solução BFT mostraram as maiores taxas em ambos os grupos. Por fim, explantes com BFA obtiveram as menores taxas de pigmentos em todos os grupos. Concluímos que em temperaturas ideais a solução nutritiva von Stosch é mais efetiva para a regeneração inicial e desenvolvimento de explantes de *Kappaphycus alvarezii*, enquanto a solução BFT se mostrou mais eficaz para síntese de pigmentos e pode ser um substituto em potencial de von Stosch quando utilizado talos de *K. alvarezii*. BFA não se mostrou eficiente para cultivo de explantes de *Kappaphycus alvarezii*. Nenhuma das soluções teve bons resultados quando usadas em baixas temperaturas, necessitando assim de outras estratégias para lidar com esse fator de estresse.

Palavra-chave: Micropropagação; Rhodophyta; Pigmentos; Bioflocos; Bioestimulante.

ABSTRACT

Among all the relevance that algae have, a key one is the production of compounds essential for the industry. Carrageenan, an example of these compounds, is mainly extracted from the algae *Kappaphycus alvarezii*. In southern Brazil, the cultivation of this algae is hindered by the decrease in water temperature during colder seasons. Therefore, the study's goal was to evaluate the effects of adding nutrient solutions (Von Stosch 50% (VS50), biofloc effluent (BFT), and algae biostimulant (BFA)) on the development of *K. alvarezii* explants at different temperatures. Explants of 5 mm were cultured in sterilized seawater enriched with VS 50%, BFT 25%, and VS 50% + BFA 4% for 28 days, separated into 2 groups: Control (C/VS, C/BFT, and C/BFA) at 24°C, and Temperature (T/VS, T/BFT, and T/BFA) at 16°C. Micrographs were taken using a stereomicroscope to observe morphology and erect axis formation at 14 and 28 days of the experiment. Weekly, the explants were weighed to calculate the growth rate. At the end of the experiment, pigment quantifications were performed for all treatments. At 14 days of cultivation, the explants did not show significant morphological differences, and the growth rates of the six treatments remained constant, except for C/VS, which showed superiority over the others. After 28 days, the control group C/VS had the highest growth rate, while in the "temperature" group, all of the three treatments did not show statistical differences and were losing weight. For all analyzed pigments, explants with the BFT solution showed the highest rates in both groups. Finally, explants with BFA obtained the lowest pigment rates from all groups. We concluded that at ideal temperatures, the von Stosch nutrient solution is more effective for initial regeneration and development of *Kappaphycus alvarezii* explants, while the BFT solution proved to be more effective for pigment synthesis and may be a potential substitute for von Stosch when using *K. alvarezii* thalli. BFA was not efficient for cultivating *Kappaphycus alvarezii* explants. Neither of the solutions yielded good results when used at low temperatures, requiring other strategies to deal with this stress factor.

Keywords: Micropropagation; Rhodophyta; Pigments; Biofloc; biostimulant.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Esquema representativo mostrando a temperatura do grupo controle (C) e grupo “temperatura” (T) durante 28 dias de experimento.	14
Figura 2: Curva de crescimento de explantes de <i>Kappaphycus alvarezii</i> cultivados durante 28 dias em diferentes temperaturas, 24°C	17
Figura 3: Morfologia dos explantes de <i>Kappaphycus alvarezii</i> com 14 dias e 21 dias.	18
Figura 4: Formação de eixos eretos nos explantes de <i>Kappaphycus alvarezii</i> após 28 dias de cultivo	19
Figura 5: (a) Taxa de clorofila a e carotenóides amostrados após 28 dias de experimento de explantes de <i>Kappaphycus alvarezii</i>	20
Figura 6: Quantificação de ficobiliproteínas: ficoeritrina, ficocianina e aloficocianina após 28 dias de experimento de explantes de <i>Kappaphycus alvarezii</i>	21

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. OBJETIVOS	13
2.1 Objetivo geral	13
2.2 Objetivos Específicos.....	13
3. MATERIAIS E MÉTODOS	14
3.1 Obtenção do material biológico	14
3.2 Cultivo em diferentes temperaturas com adição de soluções nutritivas	14
3.3 Taxa de Crescimento.....	15
3.4 Análise de pigmentos.....	15
3.5 Análise dos dados	16
4. RESULTADOS	16
5. DISCUSSÃO	22
6. REFERÊNCIAS	25

1. INTRODUÇÃO

A busca pela compreensão e inovações tecnológicas referentes às algas vêm crescendo cada vez mais. Este grupo muito diversificado de indivíduos, além de ser a base da cadeia trófica pela produção primária, são responsáveis pela produção aproximada de 50% de todo o oxigênio no planeta (NORTON et al., 1996; CHAPMAN, 2013). Além disso, as macroalgas constituem uma área de berçário para inúmeros invertebrados e peixes, aumentando consequentemente a biodiversidade dos ecossistemas associados a elas (LIPPERT et al., 2001).

A produção global de macroalgas marinhas cresceu drasticamente desde 2000 até 2018, indo de 10,6 milhões de toneladas para 32,4 milhões de toneladas, respectivamente, e vem se mantendo nesse nível até a atualidade (FAO, 2020). Um dos principais fatores de interesse à nossa sociedade é o potencial econômico que as macroalgas proveem, sendo fonte de matéria-prima para produção de compostos importantes à vida moderna, como ágar, alginatos e carragenana, seja para indústria farmacêutica, alimentícia, têxtil ou cosmética (PEDRINI, 2010). Contudo sua importância não se limita apenas a isso. O interesse na utilização das algas para biorremediação vem recebendo atenção nos últimos anos (HUANG *et al.*, 2010). A ideia desta estratégia é que as algas utilizem nitrogênio, fósforo, carbono e outros químicos de corpos d'água como fonte de nutrientes para seu desenvolvimento (KUMAR *et al.*, 2011). Por processo de bioacumulação, as algas também podem ser utilizadas para remoção de metais pesados e pesticidas agrícolas em ambientes marinhos afetados (ANSILAGO; OTTONELLI; CARVALHO, 2021; CÁCERES; MEGHARAJ; NAIDU, 2008; JIN *et al.*, 2012). Além disso, a preocupação com as mudanças climáticas estimulou pesquisas que visam reduzir/sequestrar dióxido de carbono (CO₂) da atmosfera utilizando algas, seja com a criação de fotobiorreatores (KUMAR *et al.*, 2011) ou de combustíveis ecológicos (NAHAK *et al.*, 2011). Outra área de destaque, é a busca por modelos de otimização do cultivo e produção de macroalgas (BÉCHET; SHILTON; GUIEYSSE, 2013).

Dos compostos provenientes das macroalgas, a carragenana é um dos produtos que mais se destaca. Esse polissacarídeo sulfatado é utilizado principalmente na indústria alimentícia, têxtil e cosmética. Alguns de seu uso são como agente estabilizante, espessante e emulsificante (HAYASHI; DE PAULA; CHOW, 2007a; STEINBÜCHEL *et al.* 2005). A carragenana está presente como constituinte da parede celular das rodófitas, sendo classificadas em 3 tipos principais, *kappa*, *iota* e *lambda*. (HAYASHI, 2007b). A carragenana *kappa* forma um gel mais

firme e quebradiço do que outras duas variantes de importância econômica (MILLANE; CHANDRASEKARAN; ARNOTT, 1988).

Uma das principais macroalgas utilizadas na extração de carragenana *kappa* é a *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty ex. P.C. Silva, Ordem Gigartinales, Divisão Rhodophyta (GUIRY, 2021). Esta espécie possui talo carnoso, multiaxial parenquimatoso, e sua coloração pode variar de vermelho, verde ou marrom, apresentando plasticidade fenotípica (ZITTA, 2012).

Nativa da Região de Filipinas e Indonésia, ocorrendo em águas rasas e claras na temperatura de 20 a 30 °C, *Kappaphycus alvarezii* foi introduzida no Brasil, no Instituto de Pesca da Secretaria de Agricultura e Abastecimento (Ubatuba, São Paulo) em 1995 para fins comerciais e de pesquisa (PAULA; PEREIRA; OHNO, 2002). Em 2008, *K. alvarezii* foi introduzida em Santa Catarina na praia de Sambaqui, Florianópolis, a fim de possibilitar estudos com a espécie (HAYASHI *et al.*, 2010). Após anos de estudo e verificada a viabilidade ambiental e econômica do cultivo de *K. alvarezii*, no início do ano de 2020 o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (Ibama) publicou a autorização para o cultivo comercial da espécie na Instrução Normativa 1, de 21 de janeiro de 2020.

O principal meio de propagação no cultivo dessa espécie é a propagação vegetativa, proveniente da fragmentação do talo, a qual consiste em dividir o talo em pequenas partes para obter maior número de indivíduos em desenvolvimento. O problema decorrente desse método está na perda de variabilidade genética, tornando-as mais suscetíveis a doenças e pragas, bem como a uma redução na taxa de crescimento e produção (PAULA, 1999). Para tentar evitar esse problema, métodos como a cultura de tecidos para micropropagação vegetativa, a qual consiste no cultivo de clones com características selecionadas que permite um grande número de replicação em um curto período de tempo (TITLYANOV; TITLYANOVA, 2010). A micropropagação é uma metodologia segura e acessível de seleção de linhagens com características consideradas importantes para o cultivo comercial (HAYASHI, 2008; NEVES *et al.*, 2014). Segundo os autores, essa técnica é uma alternativa para o aumento na produtividade do cultivo de *K. alvarezii* e possibilita o aumento de variabilidade genética, o que pode levar à seleção de linhagens mais produtivas. (HAYASHI *et al.*, 2007c; TITLYANOV; TITLYANOVA, 2010).

Um dos principais fatores limitantes para o desenvolvimento e crescimento das macroalgas é a temperatura. Sabe-se que alterações deste parâmetro, assim como na

luminosidade, podem mudar taxas reprodutivas, crescimento e distribuição desses organismos vegetais (LÜNING, 1990). Uma pesquisa publicada por Bastos (2013) com *Chondracanthus teedei* (Mertens ex Roth) Kützing mostrou a temperatura como um diferencial tanto na Taxa de Crescimento Relativa (TCR) quanto na biomassa amostrada.

Na região de Florianópolis, onde o clima é subtropical, um estudo feito por Hayashi e colaboradores (2010) observaram que a sazonalidade pode ser um fator limitante no desenvolvimento de *K. alvarezii*, visto que nos meses mais frios a água pode alcançar temperaturas de até 16°C, prejudicando o crescimento da espécie. Além disso, águas com temperaturas mais altas também influenciam negativamente o desenvolvimento e distribuição de macroalgas, como mostrou o trabalho de Piñeiro-Corbeira (2019), onde, mesmo em casos com alta taxa de nutrientes na água, a alta temperatura alterava o processo de afloramento e por conseguinte a disponibilidade de nutrientes disponíveis para as macroalgas. Para minimizar prejuízos, produtores de *K. alvarezii* no sul do Brasil antecipam sua colheita e venda, tornando a produção total variável. Os autores Ask e Azanza (2002) sugerem a transferência de parte do cultivo comercial para abrigos fechados e seguros das intempéries até a próxima época favorável para produção.

Se tratando de cultivo laboratorial, o meio de cultura von Stosch a 50% apresenta excelentes resultados para taxas de crescimento em *Kappaphycus alvarezii* (JOSE DE PAULA *et al.*, 2001), sendo também muito utilizado em várias culturas de algas pela mesma razão. Contudo, na produção em escala comercial, o meio von Stosch é financeiramente inviável. Sabendo disso, estudos com carcinicultura em sistemas de bioflocos (BFT – Biofloc Technology) em associação com macroalgas vêm sendo explorados como um dos possíveis métodos de cultivo financeiramente rentáveis e sustentáveis (PIRES, 2017). Usado em integração com psicultura e carciniculturas, por exemplo, o BFT é uma interação de agregados (bioflocos) de bactérias, microalgas, fungos, protozoários e outros organismos, dos quais utilizam do nitrogênio proveniente da amônia dessas culturas em questão para seu desenvolvimento, e dessa forma fazem a reciclagem dos resíduos presentes na água, mantendo a qualidade desta (CRAB *et al.*, 2012). É necessário também um acréscimo de fontes de carbono para balancear as proporções desses nutrientes. Assim, nesses sistemas superintensivos de produção a troca de água é mínima e o efluente gerado dela é rico em compostos nitrogenados e fosfatados, nutrientes essenciais que podem ser utilizados para o desenvolvimento de macroalgas (RIOS DA SILVA; WASIELESKY; ABREU, 2013). Pires e colaboradores (2021)

obtiveram ótimos resultados com *K. alvarezii* cultivados com efluentes de BFT, apontando este como um substituto do meio von Stosch 50% para cultivos de *K. alvarezii* em cultivos fechados.

O biofertilizante de algas (BFA) é outra possível suplementação a ser usada no cultivo de macroalgas. Apesar do nome, esse composto não pode substituir o uso de fertilizantes ou outras soluções de nutrição, sendo melhor denominado como bioestimulante. Esse composto consiste principalmente de diversos nutrientes minerais e orgânicos, fatores de crescimento vegetal e aliviadores de estresse, como betaínas (BLUNDEN *et al.*, 1986). Feito essencialmente por extrato de algas marrons, seu uso já é bem estudado e aplicado em culturas de plantas de importância econômica, como soja (MEYER *et al.*, 2021), milho (KUMAR *et al.*, 2020), tomate (HERNÁNDEZ-HERRERA *et al.*, 2014) e alface (ROVER, 2020), contribuindo de forma geral em um excelente crescimento dessas culturas mesmo sob condições de estresse. Contudo, estudos sobre sua aplicabilidade no cultivo de macroalgas é um pouco limitado. Sabendo da importância de *K. alvarezii* para produção de *kappa* carragenana, um processo foi desenvolvido para extração de carragenana e produção de bioestimulante simultaneamente (ESWARAN *et al.*, 2005). Diversos estudos mostraram melhoras na produtividade das culturas de vegetais terrestres com uso de BFA de *K. alvarezii* (MONDAL *et al.*, 2015; RATHORE *et al.*, 2009). Apesar de ser a principal fonte de carragenana *kappa*, em Santa Catarina a produção de *Kappaphycus alvarezii* é voltada totalmente para produção de BFA, pela empresa Algas Brasil (Agência AL, 2023).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos das soluções nutritivas no cultivo de explantes de *Kappaphycus alvarezii* em diferentes temperaturas.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a Taxa de Crescimento dos explantes durante o cultivo;
- Verificar a formação de eixos eretos após o cultivo;
- Determinar as alterações na concentração de pigmentos fotossintetizantes (clorofila *a* e ficobiliproteínas) após o cultivo;
- Verificar a variação de carotenoides após o cultivo.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Biologia Celular Vegetal (LABCEV), da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), localizado no Córrego Grande em Florianópolis, Santa Catarina – Brasil, ao longo de 28 dias.

3.1 Obtenção do material biológico

Foi utilizada nesse experimento uma linhagem marrom de *Kappaphycus alvarezii*, cultivada na seção de Macroalgas do Laboratório de Camarões Marinhos (LCM), localizado na Barra da Lagoa, em Florianópolis. A linhagem foi mantida na sala de cultivo, nas seguintes condições: água do mar esterilizada (35%), enriquecida com von Stosch a 50% (VS50), fotoperíodo de 12 h, temperatura a 25°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) e irradiância de 100 (± 10) $\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e aeração constante.

3.2 Cultivo em diferentes temperaturas com adi\u00e7\u00e3o de solu\u00e7\u00f5es nutritivas

Os talos de *Kappaphycus alvarezii* foram seccionados em aproximadamente 5 mm para obten\u00e7\u00e3o de explantes, evitando sempre partes muito jovens ou velhas da macroalga.

Para avaliar o efeito da temperatura, explantes foram colocados em Erlenmeyers de 200 ml, e separados em dois grandes grupos baseados na temperatura desejada; “Controle” e “Temperatura”. O grupo Controle permaneceu a 24°C durante 28 dias, e o grupo “temperatura” inicialmente come\u00e7ou seu cultivo a 24°C sendo diminuído para 16°C nos primeiros 14 dias (a cada 3 dias foi decrescida a temperatura em 2°C), sendo que permaneceu nesta temperatura at\u00e9 a finaliza\u00e7\u00e3o experimental.

	dias	Temperatura ($^\circ\text{C}$)	
		Grupo C	Grupo T
19/abr	0	24	24
26/abr	7	24	20
03/mai	14	24	16
10/mai	21	24	16
16/mai	28	24	16

Figura 1: Esquema representativo mostrando a temperatura do grupo controle (C) e grupo “temperatura” (T) durante 28 dias de experimento. A temperatura do grupo T foi decrescida em dois graus com 3, 6, 9, e 12 dias de experimento.

A fim de testar a efetividade de efluentes de biofloco (BFT- Biofloc Technology System) e do bioestimulante de alga (BFA) (Aditivo de extrato de alga marinha *Kappaphycus alvarezii*, produzido pela ALGAS BRASIL) para desenvolvimento dos talos e compará-los com a solução nutritiva von Stosch 50% foram estabelecidas três variações do grupo “Controle” e do grupo “Temperatura”: C/VS, C/BFT, C/BFA; e T/VS, T/BFT, T/BFA, respectivamente.

As condições gerais de cultivo para o C/VS e T/VS seguiram a metodologia utilizada por Hayashi e colaboradores (2007a) onde se utilizou 50% de von Stosch. Para o C/BFT e T/BFT foi adicionada a solução nutritiva BFT na concentração de 25% (DE MARTINO *et al.* 2021). Para o C/BFA e T/BFA foi utilizada a concentração de 4% do bioestimulante BFA juntamente com a adição de von Stosch (50%) conforme descrito no trabalho de Deolu-Ajayi *et al* (2021). Todos permaneceram a um fotoperíodo de 12 horas, aeração constante, salinidades 35‰ controladas e irradiância $50 (\pm 20) \mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Trocas dos meios de cultura foram realizadas a cada 7 dias. Todos os três controles e três tratamentos foram feitos em quintuplicatas, contendo 10 explantes em cada uma.

Semanalmente, os explantes de cada tratamento foram pesados e, ao final do experimento, foram feitas as análises de taxa de crescimento, a quantificação de pigmentos e carotenoides. Com 14 e 28 dias de experimentos, foi escolhido ao acaso um explante de cada quintuplicata de todos os tratamentos para fotografar no estereomicroscópio do Laboratório Multiusuários de Estudo em Biologia (LAMEB), a fim de analisar o crescimento e formação de eixos eretos.

3.3 Taxa de Crescimento

A análise sobre a taxa de crescimento foi realizada utilizando a fórmula descrita por Yong e colaboradores (2013), $\text{Tc}(\% \text{dia}^{-1}) = [(\text{Bf}/\text{Bi})^{1/t} - 1] \times 100$, na qual **Tc**: porcentagem diária de crescimento; **Bf**: biomassa final; **Bi**: biomassa inicial e **t**: tempo.

3.4 Análise de pigmentos

Para extrair pigmentos fotossintéticos, foram utilizados 0,3 gramas de explantes de *Kappaphycus alvarezii* de cada tratamento. Clorofila *a* (Chla) e carotenoides foram extraídos em 2 ml de dimetil sulfóxido (DMSO, Merck, Darmstadt, FRG) a 40 °C, durante 30 min, usando um homogeneizador de tecidos, e quantificado a absorvância com um espectrofotômetro de microplacas TECAN (PRO Infinito M200) a 665, 649 e 651nm e calculadas a equações de acordo com Wellburn (1994).

Para quantificar o teor de ficobiliproteínas, 0,3 gramas de explantes de *Kappaphycus alvarezii* de cada tratamento também foram utilizados. No entanto, a extração foi realizada em tampão fosfato 0,05 M, pH 6,4, a 4 °C no escuro, as amostras foram trituradas usando o Ultraturrax Dremel 3000 seguido por centrifugação a 7 rpm durante 5 min. Depois de um segundo ciclo de centrifugação, um pellet foi obtido a partir do qual 0,200 µl foi pipetado para cada poço da placa. Níveis de ficobiliproteína [aloficocianina (APC) a 651 nm (APC = 181.3 A651 - 22.3 A614), ficocianina (PC) a 614 nm (PC= 151.1 A614 -99.1 A651) e ficoeritrina (PE) a 498 nm (PE = 155.8 A498.5- 40.0 A614 - 10.5 A651)], a absorbância foi obtida com um espectrofotômetro de microplacas TECAN (PRO Infinito M200) e calculados utilizando as equações de Kursar *et al* (1983).

3.5 Análise dos dados

Dos resultados obtidos foram realizados os testes de Análise de Variância multifatorial (ANOVA) e o teste Tukey A posteriori. As análises estatísticas foram feitas usando o software Statistic, considerando $p \leq 0,05$ como grau de significância.

4. RESULTADOS

A curva de crescimento dos explantes de *Kappaphycus alvarezii* durante os 28 dias (**Figura 2**) apresentou, nos primeiros 14 dias de cultivo, uma taxa de crescimento similar entre todos os tratamentos, porém o grupo “temperatura” não havia atingido 16°C até esse momento. Já nas semanas finais a diferença se torna estatisticamente relevante. Com 21 dias todos os três tratados do grupo “temperatura” começaram a diminuir sua taxa de crescimento, com T/BFA apresentando valores negativos nesse momento. No grupo controle, o C/VS tem um pico de crescimento em relação aos outros dois controles, C/BFT e C/BFA, dos quais o C/BFT mantém sua taxa de crescimento relativamente constante, enquanto C/BFA apresentou uma queda considerável em relação à semana anterior (14 dias). No final do experimento, o C/VS apresentou um aumento constante na taxa de crescimento em relação a todos os tratados. O C/BFT manteve seu crescimento ao longo de todo o experimento, enquanto C/BFA recupera sua taxa de crescimento em relação a 21 dias de experimento. Todos os tratamentos do grupo “temperatura” mostraram respostas similares ao frio, obtendo valores negativos de taxa de crescimento independente do meio nutritivo utilizado.

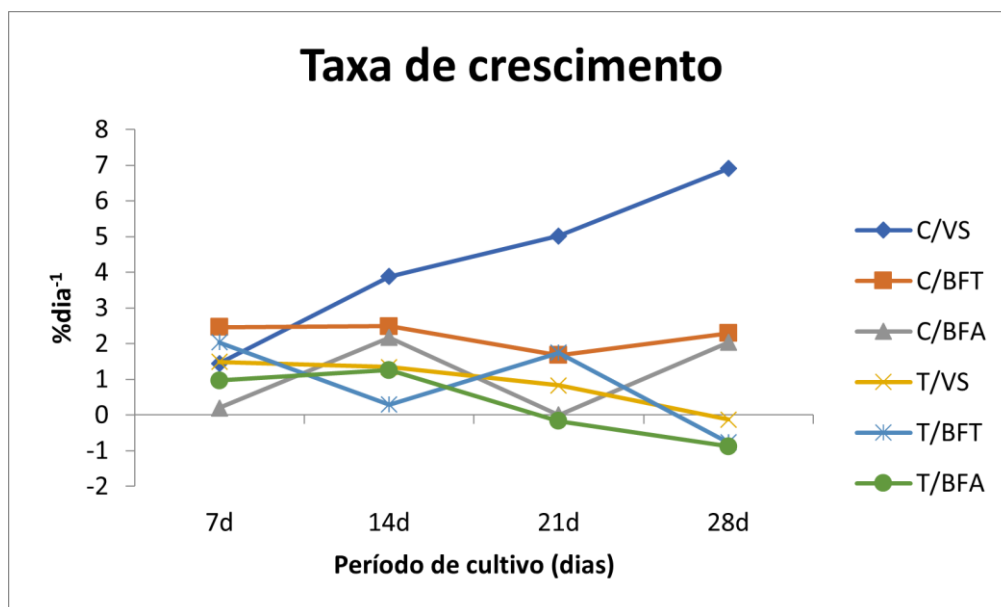


Figura 2: Taxa de crescimento de explantes de *Kappaphycus alvarezii* cultivados durante 28 dias em diferentes temperaturas, 24°C (C/VS, C/BFT e CBFA) e 16°C (T/VS, T/BFT e T/BFA). Note que todos os três controles obtiveram taxas de crescimento positivas até o fim do experimento, com o controle de von Stosch se diferenciando dos demais. Já para os três grupos “temperatura” conforme a temperatura foi diminuindo a taxa de crescimento também decaiu, chegando a valores negativos no final do experimento.

Quando observada a morfologia dos explantes de *Kappaphycus alvarezii* (**Figura 3**), bem como a formação de eixos eretos nas regiões seccionadas (**Figura 4**) é possível notar algumas diferenças entre o grupo controle e o grupo “temperatura”. Com 14 dias de experimento, todos os tratados apresentaram diferenças sutis em sua morfologia, contudo já era perceptível que os explantes que estavam sendo cultivados em baixa temperatura (**Figs 3 g, i, k**) mostraram uma perda da pigmentação característica da linhagem marrom. Já com 28 dias, as diferenças ficam mais evidentes. Em relação à cor, todos os tratamentos do grupo controle estavam bem pigmentados (**Figs 3b, d, f**) e apresentaram formação de eixos eretos. C/VS obteve uma média superior de eixos eretos amostrados em relação ao C/BFT e C/BFA, como mostra a **Figura 3**. Entre os tratamentos do grupo “temperatura” com 28 dias de experimento a perda de pigmentação é mais agravada, com explantes de T/BFA mais esverdeados do que T/VS e T/BFT. A quantidade de eixos eretos também é reduzida no grupo “temperatura” em relação ao controle, com poucos eixos encontrados em T/VS e T/BFT, e nenhum em T/BFA.

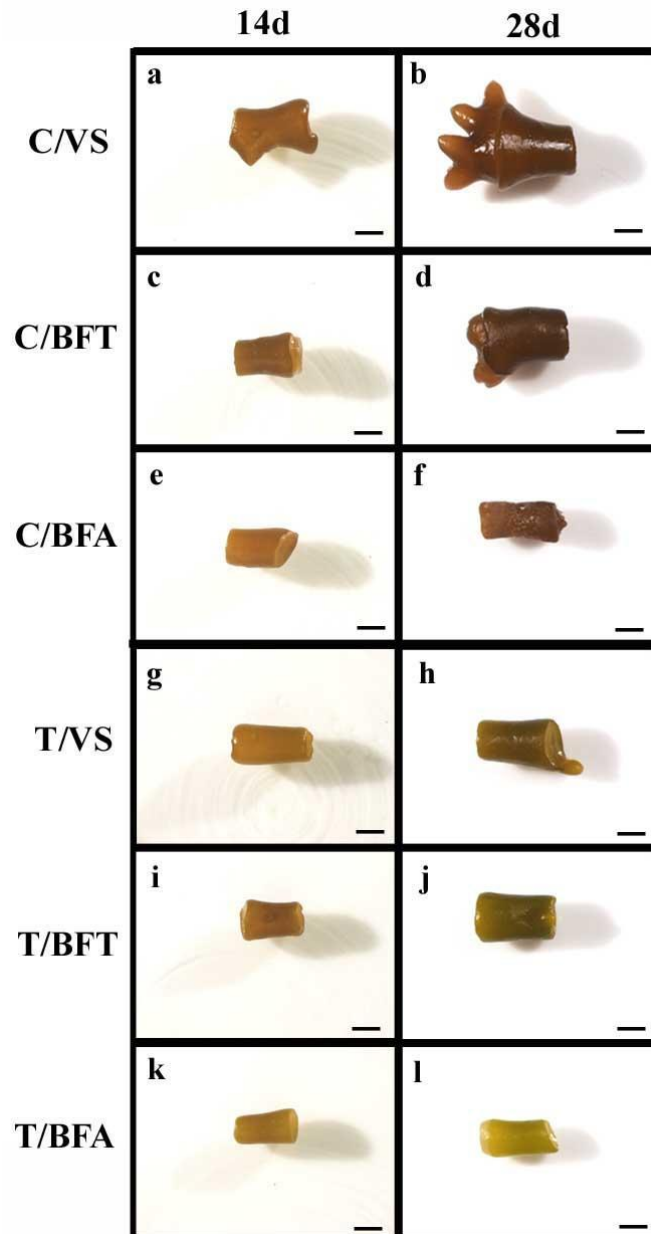


Figura 3: Morfologia dos explantes de *Kappaphycus alvarezii* com 14 dias (a,c,e,g,i,k) e 21 dias (b,d,f,h,j,l). (a,b) explantes controle tratados com meio von Stosch a 24°C. (c,d) explantes controle com efluentes de BFT a 24°C. (e,f) explantes controle com BFA a 24°C. (g,h) explantes com von Stosch a 16°C. (i,j) explantes com efluentes de BFT a 16°C. (k,l) explantes com BFA a 16°C. Note que todos os tratamentos “controle” tiveram formação de eixos eretos ao final do experimento. Todos do grupo “temperatura” ficaram com aspecto mais esverdeado em 28 dias, principalmente T/BFA (l).

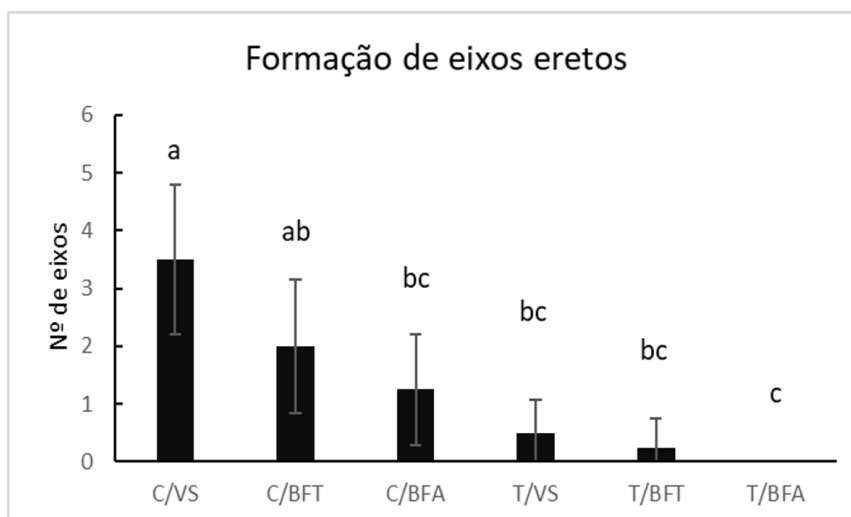


Figura 4: Formação de eixos eretos nos explantes de *Kappaphycus alvarezii* após 28 dias de cultivo (n=4, média \pm DP). As letras associadas às barras representam diferenças estatísticas entre cada amostra, segundo teste ANOVA multifatorial ($p \leq 0,05$).

Os resultados obtidos com a quantificação de clorofila *a* e carotenoides (**Figura 5**) após 28 dias de cultivo mostram que houve diferenças consideráveis entre os tratamentos. Na **Figura 5a** o C/BFT obteve a maior quantidade de clorofila *a* do que C/VS e C/BFA, também o T/BFT superou os outros dois tratados do grupo “temperatura”. Os tratamentos com von Stosch, apesar de ter um bom resultado no controle, obteve uma queda considerável para o T/VS. Por fim, os tratamentos com BFA tiveram a menor quantificação de clorofila *a* entre os tratamentos, com T/BFA sendo a menor amostrada. Para os carotenoides (**Figura 5-b**), notam-se algumas semelhanças com as análises estatísticas. Explantes cultivados com efluentes de BFT e von Stosch obtiveram a maior quantificação para o grupo controle, contudo BFT obteve uma maior quantificação no grupo “temperatura”. Por fim, tanto os tratamentos T/VS e T/BFA quanto o controle C/BFA não mostraram diferenças estatísticas, apresentando os menores valores em quantidade de carotenoides.

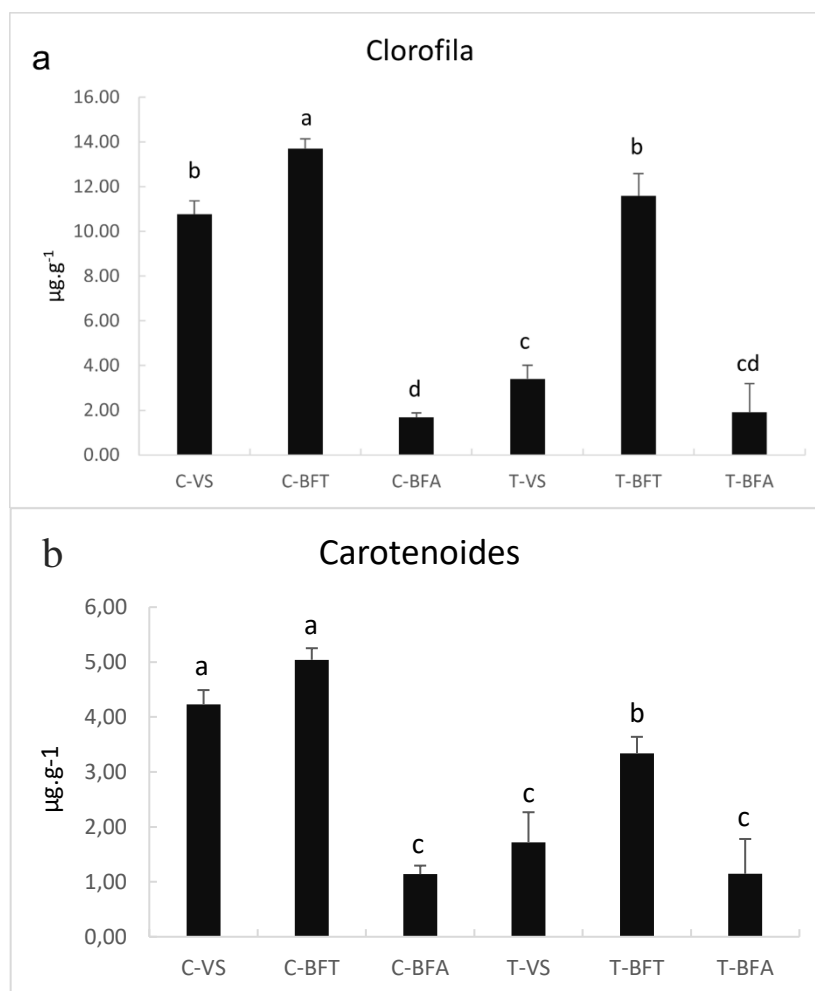


Figura 5: (a) Quantificação de clorofila a e (b) carotenoides amostrados após 28 dias de experimento de explantes de *Kappaphycus alvarezii*. Tratamentos com efluentes de BFT mostraram a maior taxa, tanto entre o grupo controle quanto entre o grupo “temperatura” para clorofila. Para carotenoides, a solução von Stosch e BFT obtiveram a maior quantificação para o grupo controle, e BFT se destacou no grupo temperatura. Por fim, tratamentos com BFA mostraram a menor taxa em ambos os grupos para os dois pigmentos. As letras associadas às barras representam diferenças estatísticas entre cada amostra, segundo teste ANOVA multifatorial ($p \leq 0,05$).

Após 28 dias de experimento também foram quantificadas as ficobiliproteínas: ficoeritrina, ficocianina e aloficocianina (**Figura 6**). Similar à quantificação de clorofila *a*, os tratamentos com efluentes de BFT obtiveram a maior taxa dentro de cada grupo (controle e “temperatura”) desses três pigmentos, não havendo diferença estatística entre C/BFT e T/BFT. Para ficoeritrina (**Fig. 6a**) o C/BFA obteve quantidades idênticas de pigmentos ao C/VS e T/VS, mostrado pela diferença estatística abaixo. Por fim, o T/BFA ficou abaixo obteve a menor quantidade amostrada para ficoeritrina. Para ficocianina (**Fig. 5b**) e aloficocianina (**Fig. 6c**) os tratamentos com efluentes de BFT também se destacaram dos demais. Não houve diferença

estatística para C/VS, C/BFA e T/VS e, em ambos pigmentos, o T/BFA obteve a menor amostragem de ficocianina e aloficocianina.

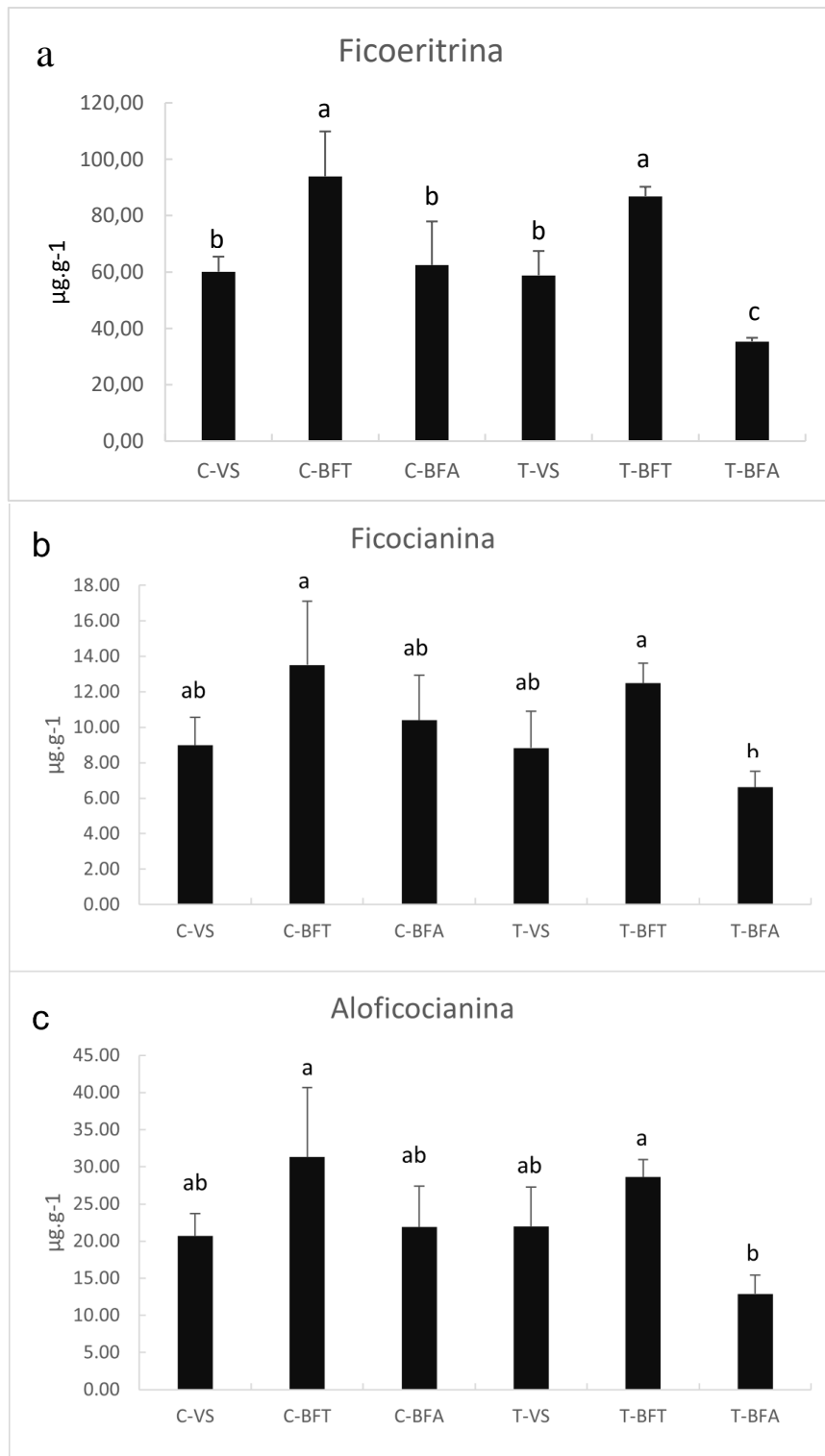


Figura 6: Quantificação de ficobiliproteínas: ficoeritrina (a), ficocianina (b) e aloficocianina (c) após 28 dias de experimento de explantes de *Kappaphycus alvarezii*. Explantes cultivados com efluentes de BFT obtiveram as maiores taxas nos três tipos de ficobiliproteínas, tanto nos grupos controle quanto nos grupos “temperatura”. Explantes com von Stosch e BFA obtiveram resultados semelhantes em grande parte, exceto nos grupos

“temperatura”, onde T/BFA ainda apresentou a menor amostragem dentre as soluções nutritivas em estudo. As letras associadas às barras representam diferenças estatísticas entre cada amostra, segundo teste ANOVA multifatorial ($p \leq 0,05$).

5. DISCUSSÃO

A macroalga *Kappaphycus alvarezii* é uma das algas mais utilizadas para produção de carragenana *kappa*, contudo seu cultivo no sul do Brasil se torna complicado devido à queda de temperatura da água (HAYASHI *et al.*, 2010). O efluente de BFT (biofloc Technology) vem mostrando excelentes resultados para substituição de von Stosch em sistemas *indoor* (CRAB *et al.*, 2012; PIRES *et al.*, 2021). Além dele, o bioestimulante de algas (BFA) já mostrou efetividade no cultivo de plantas quando em ambientes de estresse (DEOLU-AJAYI *et al.*, 2022; KUMAR *et al.*, 2020; MEYER *et al.*, 2021).

No presente estudo, comparando os três tratamentos controle percebe-se que o meio von Stosch se destacou tanto na taxa de crescimento ($6,905 \text{ \% dia}^{-1}$, em 28 dias de experimento) quanto na formação de eixos eretos para os explantes de *Kappaphycus alvarezii*. Contudo, no trabalho de Pires e colaboradores (2021) com talos de *K. alvarezii*, a taxa de crescimento obtida com von Stosch 50% e BFT 25% não mostrou diferença estatística. A concentração de BFT poderia ser um motivo, porém De Martino (2021) e Pires (2021) concluíram que BFT a 25% mostrava melhores resultados para desenvolvimento de *K. alvarezii*. Nos trabalhos destes autores foram utilizados talos de *K. alvarezii* para avaliar os efeitos da solução von Stosch e BFT, contudo no estudo atual foram utilizados explantes desta macroalga. Isso pode mostrar que o meio von Stosch 50% fornece mais nutrientes para a regeneração inicial dos explantes do que BFT e dessa forma possibilitou maiores taxas de crescimento para *K. alvarezii* quando tratados com von Stosch. Porém vale ressaltar que os explantes tratados com efluentes de BFT em temperaturas ideais obtiveram taxas de crescimento superiores ($2,291 \text{ \% dia}^{-1}$) às observadas nos estudos de Hayashi e colaboradores (2008) ($0,8\% \text{ dia}^{-1}$), Li e colaboradores (1990) ($0,8\% \text{ dia}^{-1}$), Pires (2014) ($2,23 \text{ \% dia}^{-1}$) e inferiores às taxas amostradas por Rodriguez e Montañó (2007) ($2,75\% \text{ dia}^{-1}$), mostrando sua eficiência mesmo no desenvolvimento de explantes de *K. alvarezii*. O modo de uso do BFT pode também ter afetado as taxas de crescimento. No estudo atual o biofoco foi decantado para remoção de partículas em suspensão, contudo no estudo de Carvalho e colaboradores (2023) com *Ulva lactuca*, quando decantado o efluente de BFT mostrou uma taxa de crescimento um pouco menor do que VS50, enquanto seu uso com partículas em suspensão resultou em taxas de crescimento semelhantes ao von Stosch.

Os resultados em relação à solução nutritiva BFA demonstraram que a mesma não contribuiu para o desenvolvimento dos explantes de *K. alvarezii* em ambas as temperaturas. Bioestimulantes de algas são muito estudados para aplicação em culturas de plantas, porém seu uso para desenvolvimento em algas precisa ser mais elucidado. Os explantes cultivados com BFA mesmo tendo a adição da solução nutritiva von Stosch, pareceu prejudicar o seu desenvolvimento, visto que a formação de eixos eretos para C/BFA foi bem discreta, e para T/BFA houve total ausência. A adição de BFA alterou a coloração da água, deixando-a esbranquiçada, além de acumular resíduos sobre os explantes, o que pode ter afetado o seu desenvolvimento.

Observando a taxa de clorofila *a* em cada tratamento, o BFT obteve a maior quantidade amostrada dentro de cada grupo (controle e “temperatura”). A clorofila *a* é o principal pigmento fotossintético, encontrada em associação com complexos multiproteicos dentro de cloroplastos, sua estrutura consiste de um anel porfirínico composto por quatro anéis pirrólicos associados a um íon Magnésio (NOBEL, 2009; FALKOWSKI, RAVEN, 2013). Sabendo que efluentes de biofloco são ricos em compostos nitrogenados, percebe-se um aumento na produção de clorofila *a* em explantes *K. alvarezii* quando cultivados nesta solução nutritiva, mesmo quando mantida em temperaturas mais baixas. O uso da solução nutritiva von Stosch manteve a concentração de clorofila *a* somente em condições ideais de temperatura. Os tratamentos com BFA tiveram a menor quantificação de clorofila *a* de cada grupo, corroborando com a ideia de que, além de prejudicar o crescimento desta macroalga, também interfere na síntese desse pigmento tão importante. Essas taxas de clorofila baixas podem explicar o porquê dos explantes tratados com BFA terem crescido pouco, além de haver pouca formação de eixos eretos.

Para a taxa de carotenoides, resultados semelhantes foram obtidos. Esses pigmentos acessórios são componentes essenciais para fotossíntese devido a sua capacidade fotoprotetora e antioxidante (HARRIS, STERN, WITMAN, 2009). Tratamentos com efluentes de BFT apresentaram uma taxa maior de carotenoides em relação ao BFA e idênticas a von Stosch, mostrando como essa solução nutritiva otimiza a produção de pigmentos em *Kappaphycus alvarezii*. Semelhante à análise de clorofila *a*, T/VS mostrou que a temperatura dificulta também a produção de carotenoides quando essa macroalga é cultivada em von Stosch.

Explantes de *K. alvarezii* com a solução nutritiva BFT também apresentaram as maiores taxas de ficobiliproteínas. Ficobiliproteínas são pigmentos fotossintéticos que se encontram em complexos multiproteicos denominados ficobilissomos. Elas permitem que cianobactérias e

algas vermelhas absorvam um maior espectro luminoso do que o possível apenas com clorofila *a*, permitindo a esses organismos a ocupação de ambientes e nichos que não seriam possíveis apenas com clorofila (DAGNINO-LEONE *et al*, 2022). Diferente das taxas de clorofila *a* e carotenoides, a produção de ficobiliproteínas nos explantes de *K. alvarezii* não foi tão afetada pela temperatura baixa. Comparando o efeito das soluções nutritivas no grupo controle e no grupo “temperatura” se percebe que não houveram diferenças estatísticas, exceto para tratamentos com BFA. Esses resultados juntamente com as taxas de clorofila e carotenoides corroboram com a coloração observada nos explantes cultivados com BFA, com vários bastante despigmentados e alguns começando a perder totalmente a pigmentação.

Dessa forma, quando submetidos a temperaturas inferiores a ideal, os explantes de *Kappaphycus alvarezii* não tiveram sucesso, independente de qual solução nutritiva foi utilizada. Isso pois com 28 dias de experimento todos os tratamentos estavam com perdendo peso. Por outro lado, quando cultivados em temperaturas ideais, os explantes cultivados com a solução nutritiva von Stosch tiveram as melhores taxas de crescimento, enquanto BFT obteve resultados favoráveis para todas as taxas de pigmento, mesmo em baixas temperaturas. Contudo, o uso de bioestimulante neste trabalho se mostrou ineficiente para o desenvolvimento de explantes de *K. alvarezii*.

De maneira geral, ambas as soluções nutritivas von Stosch e efluentes de BFT se mostraram promissoras em temperaturas ideais, assim concluímos com este trabalho que, quando utilizada técnicas de micropropagação com *Kappaphycus alvarezii*, o meio von Stosch possibilita uma maior regeneração dos explantes em vista de sua composição, e conseqüentemente os explantes conseguem obter taxas de crescimento mais elevadas. Da mesma forma, a solução nutritiva BFT se mostrou promissora como substituta para o meio von Stosch quando usada no cultivo de talos de *K. alvarezii*, considerando os resultados de Pires e colaboradores (2021) bem como análises de pigmentos deste estudo. Apesar da solução nutritiva BFA se mostrar ineficaz para cultivos de explantes de *K. alvarezii*, estudos com cultivo de talos devem ser realizados para maior assertividade sobre o potencial deste meio.

6. REFERÊNCIAS

- ANSILAGO, M., OTTONELLI, F., and CARVALHO, E. M.. "Metals bioremediation potential using *Pseudokirchneriella subcapitata*." **Brazilian Journal of Environmental Sciences (Online)**, 2021.
- ASK, E.I.; AZANZA, R.V. Advances in cultivation technology of commercial eucheumatoid species: a review with suggestions for future research. **Aquaculture**, v.26, p.257-277, 2002.
- BASTOS, E.O. **Bases biológicas para a domesticação de uma alga vermelha nativa de valor econômico: *Chondracanthus teedei***. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina, 2013.
- BÉCHET, Q., SHILTON, A., and GUIEYSSE, B.. "Modeling the effects of light and temperature on algae growth: state of the art and critical assessment for productivity prediction during outdoor cultivation." **Biotechnology advances**, 2013.
- BLUNDEN, G. *et al.* The Characterisation and Quantitative Estimation of Betaines in Commercial Seaweed Extracts. **Botanica Marina**, 1986.
- CÁCERES, T. P., MEGHARAJ, M., and NAIDU, R.. "Biodegradation of the pesticide fenamiphos by ten different species of green algae and cyanobacteria." **Current microbiology**, 2008.
- CARVALHO, A. *et al.* Influence of Total Suspended Solids on the Growth of the Sea Lettuce *Ulva lactuca* Integrated with the Pacific White Shrimp *Litopenaeus vannamei* in a Biofloc System. **Fishes**, v. 8, n. 3, p. 163, 15 mar, 2023.
- CHAPMAN, Russell Leonard. "Algae: the world's most important "plants"—an introduction." **Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change**, 2013.
- CRAB, R. *et al.* Biofloc technology in aquaculture: Beneficial effects and future challenges. **Aquaculture**, 1 ago. 2012.
- DAGNINO-LEONE J, FIGUEROA CP, CASTAÑEDA ML, *et al.* **Phycobiliproteins: Structural aspects, functional characteristics, and biotechnological perspectives. Comput Struct Biotechnol J.** 2022; 20:1506-1527. Published 2022 Feb 23.
- DE MARTINO, R. *et al.* Effects of biofloc effluent in different regimes as a fertilizer for *Kappaphycus alvarezii*: indoor maintenance and sea cultivation. **Journal of Applied Phycology**, v. 33, n. 5, p. 3225–3237, 1 out. 2021.
- DEOLU-AJAYI, A. O. *et al.* The power of seaweeds as plant biostimulants to boost crop production under abiotic stress. Plant Cell and Environment. **John Wiley and Sons Inc**, 1 set. 2022.
- ESWARAN, K. *et al.* **Integrated method for production of carrageenan and liquid fertilizer from fresh seaweeds.** 2005. Disponível em <https://patents.google.com/patent/US6893479B2/en> . Acesso em: 31 de mai. de 2023.
- FALKOWSKI PG. RAVEN J. A. Aquatic Photosynthesis. **Princeton University Press**, 2013. 10.1515/9781400849727

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). **The State of World Fisheries and Aquaculture: Opportunities and challenges**. Rome, 2020.

GUIRY, M.D. & GUIRY, G.M. 2021. AlgaeBase. World-wide electronic publication, **National University of Ireland, Galway**. Disponível em: <https://www.algaebase.org>; acesso em: 10 de dezembro de 2021.

HARRIS, E. H., STERN, D. B., WITMAN, G. B., The *Chlamydomonas* Sourcebook (Second Edition), **Academic Press**, 2009.

HAYASHI, L.; PAULA, E.J.; CHOW, F. Growth rate and carrageenan analysis of four strains of *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Gigartinales) farmed in the subtropical waters of São Paulo State, Brazil. **Journal of Applied Phycology**, v.19, n.1, p.393-399. 2007a.

HAYASHI L. **Contribuição à maricultura da alga vermelha *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Solieriaceae) para produção de carragenana**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 100pp. 2007b.

HAYASHI, L., *et al.* "Callus induction and micropropagation improved by colchicine and phytohormones in *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Solieriaceae)." **Nineteenth International Seaweed Symposium**. Springer, Dordrecht, 2007c.

HAYASHI, L., YOKOYA, N.S., OSTINI, S., PEREIRA, R.T.L., BRAGA, E.S., OLIVEIRA, E.C.. Nutrients removed by *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Solieriaceae) in integrated cultivation with fishes in re-circulating water. **Aquaculture**. 277, 185-191. 2008.

HAYASHI, L. *et al.* *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Areschougiaceae) cultivated in subtropical waters in Southern Brazil. **Journal of Applied Phycology**, v. 23, p. 337-343, 2010.

HERNÁNDEZ-HERRERA, R. M. *et al.* Effect of liquid seaweed extracts on growth of tomato seedlings (*Solanum lycopersicum* L.). **Journal of Applied Phycology**, v. 26, n. 1, p. 619–628, 1 fev. 2014.

HUANG, G.; CHEN, F.; WEI, D.; ZHANG, X.; CHEN, G. Biodiesel production by microalgal biotechnology. **Applied Energy**, v. 87, p. 38-46, 2010.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. **Instrução Normativa nº 1/2020, de 21 de janeiro de 2020**. Permite o cultivo de *Kappaphycus alvarezii* no litoral de Santa Catarina, do Rio de Janeiro e São Paulo nas áreas delimitadas nesta norma. Disponível em: <https://www.ibama.gov.br/component/legislacao/?view=legislacao&legislacao=138683#:~:text=>. Acesso em 11 de dezembro de 2021.

JIN, Z. P.; LUO, K.; ZHANG, S.; ZHENG, Q.; YANG, H. Bioaccumulation and catabolism of prometryne in green algae. **Chemosphere**, v. 87, p. 278-284, 2012.

JOSE DE PAULA, E. *et al.* Growth rate of the carrageenophyte *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Gigartinales) in vitro. **Phycological Research**, 2001.

KUMAR, K., *et al.* "Development of suitable photobioreactors for CO₂ sequestration addressing global warming using green algae and cyanobacteria." **Bioresource technology** 102.8, 2011.

KUMAR, R. *et al.* Science behind biostimulant action of seaweed extract on growth and crop yield: insights into transcriptional changes in roots of maize treated with *Kappaphycus alvarezii*

seaweed extract under soil moisture stressed conditions. **Journal of Applied Phycology**, v. 32, n. 1, p. 599–613, 1 fev. 2020.

KURSAR, T. A.; VAN DER MEER, J.; ALBERTE, R. S. Lightharvesting system of the red alga *Gracilaria tikvahiae*: II. Phycobilisome characteristics of pigment mutants. **Plant Physiology**, v. 73, n. 2, p. 361-369, 1983.

LIPPERT, H., *et al.* "Macrofauna associated with macroalgae in the Kongsfjord (Spitsbergen)." **Polar Biology** 24.7, 2001.

LI, R., LI, J., WU, C.Y. Effect of ammonium on growth and carrageenan content in *Kappaphycus alvarezii* (Gigartinales, Rhodophyta). **Hydrobiologia**. v. 204, pp. 499–503, 1990.

LÜNING, K. Seaweeds: their environment, biogeography, and ecophysiology. **John Wiley & Sons**, 1990.

MEYER, F. R. *et al.* Foliar spraying of a seaweed-based biostimulant in soybean. **Revista Caatinga**, v. 34, n. 1, p. 99–107, 2021.

MILLANE, R. P., CHANDRASEKARAN, R., ARNOTT, S., & DEA, I. C. M. "The molecular structure of *kappa*-carrageenan and comparison with *iota*-carrageenan." **Carbohydrate research** 182.1, 1988.

MONDAL, D. *et al.* Elimination of gibberellin from *Kappaphycus alvarezii* seaweed sap foliar spray enhances corn stover production without compromising the grain yield advantage. **Plant Growth Regulation**, v. 75, n. 3, p. 657–666, 1 abr. 2015.

NAHAK, Sabitri, *et al.* "Bioethanol from marine algae: a solution to global warming problem." **J. Appl. Environ. Biol. Sci** 1.4, 2011.

NEVES, F.A.S. *et al.* Effects of spindle inhibitors and phyto regulators on the micropropagation of *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Gigartinales). **Journal of applied phycology**, v. 27, n. 1, p. 437-445, 2014.

NOBEL P.S. Photochemistry of photosynthesis. Physicochem Environ **Plant Physiol**. 2009. doi: 10.1016/b978-0-12-374143-1.00005-3.

NORTON, T. A., MELKONIAN, M., and ANDERSEN, R. A. "Algal biodiversity." **Phycologia** 35.4, 1996.

PAULA, E.J.. "Strain selection in *Kappapycus alvarezii* var. *alvarezii* (Solieriaceae, Rhodophyta) using tetraspore progeny." **J. Appl. Phycol.** 11, 1999.

PAULA, E.J., PEREIRA, R.T.L., and OHNO, M. "Growth rate of the carrageenophyte *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Gigartinales) introduced in subtropical waters of São Paulo State, Brazil." **Phycological Research** 50.1, 2002.

PEDRINI, A.G. Macroalgas: Uma introdução a taxonomia. Rio de Janeiro: Tecnical **Books Editora**, 125p, 2010.

PIÑEIRO-CORBEIRA, C. *et al.* Unexpected nutrient influence on the thermal ecophysiology of seaweeds that recently followed opposite abundance shifts. **Marine environmental research**, v. 151, p. 104747, 2019.

PIRES, C.M., **Análise do potencial de fertilização da macroalga *Kappaphycus alvarezii* com efluentes oriundos da carcinicultura de *Litopenaeus vannamei* cultivados em sistema de bioflocos**. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia de Aquicultura, Departamento de Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

PIRES, C. M., **Aproveitamento do efluente da carcinicultura de *Litopenaeus vannamei* em sistema biofoco pela macroalga *Kappaphycus alvarezii***. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina, 2017.

PIRES, C. M. *et al.* Cultivation of the red seaweed *Kappaphycus alvarezii* using biofloc effluent. **Journal of Applied Phycology**, 2021.

Primeira safra de macroalga de SC produz 102,3 toneladas por quatro produtores. **Agência AL**. Florianópolis, 12 de abr. de 2023. Disponível em: https://agenciaal.alesc.sc.gov.br/index.php/gabinetes_single/primeira-safra-de-macroalga-de-sc-produz-1023-toneladas-por-quatro-produtor . Acesso em 04 de jul. de 2023

STEINBÜCHEL, A. *et al.* **Polysaccharides and polyamides in the food industry: properties, production, and patents**. Wiley-VCH Verlag GmbH & CO. KGaA, 2005.

RATHORE, S. S. *et al.* Effect of seaweed extract on the growth, yield and nutrient uptake of soybean (*Glycine max*) under rainfed conditions. **South African Journal of Botany**, v. 75, n. 2, p. 351–355, abr. 2009.

RIOS DA SILVA, K.; WASIELESKY, W.; ABREU, P. C. Nitrogen and Phosphorus Dynamics in the Biofloc Production of the Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Journal of the World Aquaculture Society**. 2013.

RODRIGUEZA, M.R.C., MONTAÑO, M.N. E. Bioremediation potential of three carrageenophytes cultivated in tanks with seawater from fish farms. **J Appl Phycol**. 19, 755–762, 2007.

ROVER, S. **Avaliação do efeito de bioestimulante comercial na severidade de oídio, fisiologia e rendimento de alface (*Lactuca sativa L.*) hidropônica**. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas, Florianópolis, 2020.

TITLYANOV, E.A., and TITLYANOVA, T.V.. "Seaweed cultivation: methods and problems." **Russian Journal of Marine Biology** 36.4, 2010.

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

YONG, Y.S.; YONG, W.T.L.; ANTON, A. Analysis of the formulae for determination of seaweed growth rate. **Journal of Applied Phycology**. 25:2 1831-1834. 2013.

ZITTA, C. S.. **"Determinação da ploidia de três linhagens de *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Gigartinales) cultivadas em laboratório e análise da ontogênese de calos da linhagem tetrasporofítica marrom"**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina, 2012.