



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE OCEANOGRAFIA E LIMNOLOGIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM OCEANOGRAFIA**

**CULTIVO DE MICROALGAS DE UMA ZONA ESTUARINA DA BAIA DE
SÃO MARCOS, ILHA DO MARANHÃO.**

BRENDA GARCES BARRETO

SÃO LUIS, MA - 2023

BRENDA GARCES BARRETO

**CULTIVO DE MICROALGAS DE UMA ZONA ESTUARINA DA BAIA DE
SÃO MARCOS, ILHA DO MARANHÃO.**

Monografia apresentada ao Curso De
Graduação em Oceanografia da
Universidade Federal do Maranhão,
como requisito para obtenção do Grau de
Bacharel em Oceanografia.

SÃO LUIS, MA /2023

Garces Barreto, Brenda.

CULTIVO DE MICROALGAS DE UMA ZONA ESTUARINA DA BAIA DE
SÃO MARCOS, ILHA DO MARANHÃO / Brenda Garces Barreto. -
2023.

32 p.

Orientador(a): Walter Luis Muedas Yauri.

Monografia (Graduação) - Curso de Oceanografia,
Universidade Federal do Maranhão, Universidade Federal do
Maranhão, 2023.

1. Algas Verdes. 2. Diatomáceas. 3. Isolamento. I.
Luis Muedas Yauri, Walter. II. Título.

BRENDA GARCES BARRETO

**CULTIVO DE MICROALGAS DE UMA ZONA ESTUARINA DA BAIA DE
SÃO MARCOS, ILHA DO MARANHÃO.**

Monografia apresentada ao Curso De
Graduação em Oceanografia da
Universidade Federal do Maranhão,
como requisito para obtenção do Grau de
Bacharel em Oceanografia.

Aprovada em _____ de _____ de _____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Walter Luis Muedas Yauri (Orientador)

Prof.^a. Dr.^a. Katiene Regia Silva Sousa (UFMA)

Prof.^a. Dr.^a. Paula Cilene Alves Da Silveira (UFMA)

AGRADECIMENTOS

Neste momento de conclusão desta etapa importante em minha vida acadêmica, quero expressar minha profunda gratidão às pessoas que desempenharam papéis fundamentais na realização deste trabalho e na minha jornada como um todo.

Primeiramente, quero agradecer de coração à minha mãe, Ana Lucia, e ao meu pai, Joel Barreto. Seu amor incondicional, apoio constante e encorajamento ao longo de todas as etapas deste percurso foram a luz que me guiou. Às minhas irmãs, Larissa e Daniele, também desempenharam papéis significativos, sendo fontes de apoio e ânimo.

Ao meu orientador, o Prof. Dr. Walter Luis Muedas Yauri, devo enorme gratidão. Sua orientação, sabedoria e apoio moldaram este estudo e minha visão como pesquisadora.

À Prof.^a Dr.^a Katiene Regia, sou grata por sua ajuda, paciência e conhecimento compartilhado. Sua dedicação e comprometimento com meu crescimento acadêmico foram fundamentais para o sucesso deste trabalho.

À Prof.^a Dr.^a Paula Cilene, agradeço por toda ajuda, orientações e apoio durante a minha jornada acadêmica.

Aos meus amigos e colegas de laboratório, quero agradecer por compartilharem comigo as alegrias, desafios e descobertas deste percurso acadêmico. Suas colaborações e amizade tornaram os dias de pesquisa mais produtivos e mais divertidos.

Por último, mas não menos importante, agradeço a Deus. Sua graça e misericórdia estiveram sempre presentes, guiando-me nos momentos difíceis e iluminando o meu caminho.

Este trabalho é dedicado a todas essas pessoas incríveis que tornaram possível esta realização. Cada um de vocês desempenhou um papel vital na minha jornada acadêmica e na minha vida como um todo. Espero que este seja apenas o início de uma jornada repleta de realizações e crescimento.

Com profunda gratidão, 

Brenda Garces.

RESUMO

Diversas microalgas eram consumidas por civilizações antigas, devido ao seu alto valor nutricional. Essas civilizações colhiam e consumiam as algas. Estas são seres fotossintetizantes com diversas formas e funções e são comuns em ambientes aquáticos e usados em atividades econômicas. Objetivou-se com o este estudo isolar e identificar as microalgas capturadas de um estuário da Baía de São Marcos, Ilha do Maranhão. As amostras foram coletadas em uma área estuarina da Baía de São Marcos, Ilha do Maranhão, localizado no Rio Bacanga, sendo realizadas duas coletas, uma coleta no mês de julho e a segunda no mês de agosto, realizadas sempre na maré enchente, devido a alta concentração de nutrientes. Os parâmetros físicos e químicos: temperatura, pH, condutividade elétrica, oxigênio dissolvido (OD), salinidade e sólidos totais em suspensão (TDS foram aferidos com o auxílio do multiparâmetro, e a transparência da água foi analisada *in situ* com o disco de sechi. Na amostragem qualitativa foram feitos nove arrastos para compor uma amostra com a rede 20 μ m, e mais nove arrastos para compor a segunda amostra com a rede de 45 μ m, cada arrasto á 40 cm de profundidade, sendo realizadas duas coletas, totalizando quatro amostras. Para amostragem quantitativa foram submersas garrafas de 1 litro próximo da margem, a 40 cm de profundidade; logo totalizando quatro amostras. Foram preparados dois meios de cultura, o meio SEAFDEC e o meio Conway. Realizou-se a adaptação das microalgas em meio de cultura SEAFDEC para diatomáceas e algas verdes, o meio Conway foi utilizado somente no processo de isolamento. A análise dos parâmetros físicos e químicos das amostras de água coletadas no local de estudo. As amostras de microalgas foram quantificadas por meio da contagem celular e identificadas com o nível mais de baixo de classificação sistemática. As diatomáceas adaptaram-se ao meio SEAFDEC com silicato em menor escala de tempo, e destacaram-se com levadas taxas de crescimento e predominância no cultivo. Para ambas as técnicas de isolamento foi utilizado meio de cultura Conway, foram identificadas as diatomáceas em nível de gênero a *Cymbella* spp. e, em nível de filo através do método por diluições sucessivas, foram caracterizadas as microalgas pertencentes ao filo Chlorophyta. As diatomáceas destacaram-se devido ao alto desenvolvimento, e maior valor em biomassa.

Palavras chaves: Algas verdes, diatomáceas, isolamento.

ABSTRACT

Various microalgae were consumed by ancient civilizations, due to their high nutritional value. These civilizations harvested and consumed algae. These are photosynthetic beings with diverse forms and functions and are common in aquatic environments and used in economic activities. The objective of this study was to isolate and identify microalgae captured from an estuary in Baía de São Marcos, Maranhão Island. The samples were collected in an estuarine area of São Marcos Bay, Maranhão Island, located on the Bacanga River, with two collections being carried out, one collection in July and the second in August, always carried out at high tide, due to high concentration of nutrients. The physical and chemical parameters: temperature, pH, electrical conductivity, dissolved oxygen (DO), salinity and total suspended solids (TDS) were measured with the aid of the multiparameter, and the transparency of the water was analyzed using the sechi disk. In the qualitative sampling, nine drags were made to compose a sample with the 20 μ m net, and nine more trawls to compose the second sample with the 45 μ m net, each trawl at a depth of 40 cm, two collections being carried out, totaling four samples. For sampling quantitative, 1-liter bottles were submerged close to the bank, 40 cm deep, thus totaling four samples. Two culture media were prepared, the SEAFDEC medium and the Conway medium. The microalgae were adapted to the SEAFDEC culture medium to diatoms and green algae, Conway medium was used only in the isolation process. The analysis of the physical and chemical parameters of the water samples collected at the study site. The microalgae samples were quantified through cell counting and identified with the highest level under systematic classification. The diatoms adapted to the SEAFDEC medium with silicate in a shorter period of time, and stood out with high growth rates and predominance in cultivation. For both isolation techniques, Conway culture medium was used; diatoms were identified at the genus level of *Cymbella* spp. and, at the phylum level, using the successive dilution method, microalgae belonging to the Chlorophyta phylum were characterized. Diatoms stood out due to their high development and higher biomass value.

Keywords: Green algae, diatoms, isolation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Mapa da área estuarina na Baía de Marcos, Ilha do Maranhão.....	14
Figura 2- Equipamento multipâmetro portátil.....	15
Figura 3- . Transparência da água aferida <i>in situ com</i> auxílio do disco de Secchi Coleta.....	15
Figura 4- Amostras coletadas.....	16
Figura 5- Método por Diluições Sucessivas. Direto.....	18
Figura 6- Esquematização do Isolamento Direto.....	19
Figura 7- Processo do Isolamento Direto.....	19
Figura 8- . Cultivo de Microalgas A- Dia 1. B - Dia 6. Garrafas 1 e 2 Meio seafdec com silicato e garrafas 3 e 4, meio seafdec sem silicato.....	22
Figura 9- Amostras após Adição do Meio de Cultura; 2: Amostra com apresentação de coloração.....	23
Figura 10- Amostras Da 1 ^a Coleta.....	25
Figura 11- Amostragem da 2 ^a Coleta.....	25
Figura 12- Placas Petri com 10-15 dias após Isolamento.....	26
Figura 13 - <i>Cymbella spp</i>	27
Figura 14 – Filo <i>Chloophyta</i>	27

LISTA DE TABELA

Tabela 1- Parâmetros Físicos E Químico Referente Às Duas Coletas Realizadas Na Área De Estudo.
..... 20

Tabela 2- Valores da Densidade e Volume Referente as Algas Verdes na Primeira e Segunda
Coleta.....
23

Tabela 3- Valores da Densidade e Volume Referente as Diatomáceas na Primeira e Segunda
Coleta.....
24

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	13
2.1 Geral:	13
2.2 Específicos:	13
3 METODOLOGIA	13
3.1 Área de Estudo	13
3.2 Coleta de Dados	13
3.3 Processamento das Amostras	16
3.4 Preparo do Meio de Cultura	16
3.5 Análise Quantitativa	17
3.5.1 Cálculo da densidade e volume (contagem de cél.)	17
3.6 Isolamento	17
2.2 Identificação	18
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
4.1 Análise dos Parâmetros Físicos e Químicos	21
4.2 Cultivo em Meio de Cultura Intensivo	21
4.3 Cálculo da Densidade e Volume	23
4.4 Isolamento Sucessivo e Direto	24
4.5 Identificação	26
5 CONCLUSÃO	28

1. INTRODUÇÃO

O primeiro uso de microalgas por humanos ocorreu por moradores que residiam próximo de lagos e mares que faziam a retirada da biomassa, secava e usava como fonte de alimento, em meados do século XX. Os cientistas já pesquisavam para entender melhor e saber as aplicações das microalgas. Por volta de 1950, as microalgas foram cultivadas para aplicações como suplemento alimentar pelo seu grande potencial como fonte de ácidos graxos, aminoácidos essenciais e vitaminas (CAMARGO, 2018). Populações indígenas vêm há anos utilizando diversas espécies de microalgas para alimentação, dentre elas *Nostoc*, *Spirulina* e *Aphanizomenon* (JENSEN, 2001).

Como segundo uso, as microalgas são principalmente utilizadas como alimento inicial de larvas de peixes e crustáceos. Estas, são seres fotossintetizantes unicelulares em sistemas aquáticos, envolvendo enorme diversidade de formas e funções ecológicas, sendo também aproveitadas em atividades econômicas. De forma geral, apresentam elevadas taxas de crescimento, condição que proporciona alta produção de biomassa em intervalos de tempo curtos. A produtividade de sistemas algáceos é superior à de quaisquer culturas agrícolas conhecidas (PULZ *et al*, 2004). Elas são consideradas como o maior grupo de organismos vivos, e são comumente classificadas de acordo com suas características morfológicas, cloroplastos e tipos de pigmentos, composição bioquímica, estrutura celular, ciclo de vida e sua sequência genômica (ANDERSEN, 2004). Portanto, a classificação das microalgas pode ser feita de acordo com a cor que elas apresentam: classe chlorophyceae - algas verdes, classe rhodophyceae - algas vermelhas, classe cyanophyceae - algas azuis e classe phaeophyceae - algas castanhas (BEGUN *et al*, 2016)

Esses organismos podem ser encontrados em ambiente marinho, dulcícola e no solo, sendo responsáveis por pelo menos 60% da produção primária de oxigênio no planeta (CHISTI, 2007). A facilidade de adaptação em ambiente aquático, tem despertado a atenção de cientistas em virtude da sua capacidade eficiente de controle de gases poluentes na atmosfera, sendo uma alternativa para combater o efeito estufa no planeta (MALINOSKI, 2018). O cultivo desses organismos também é empregado na produção de biomassa para biocombustíveis, além da utilidade na extração de lipídios, proteínas e carboidratos (RASTOGI *et al.*, 2017).

Na aquicultura, as microalgas são utilizadas diretamente na alimentação de moluscos bivalves, larvas de camarões, peixes e também para a produção de alimento vivo de artemias, rotíferos, copépodes, cladóceros. Desta forma, a maioria dos animais aquáticos necessita das microalgas em sua dieta, no mínimo em algum estágio do seu desenvolvimento, tanto diretamente através da filtração como indiretamente, pelo consumo de zooplâncton (SALES, 2020). Considerando a produção mundial dados segundo a FAO, 2022, esclarecerem que a produção de animais aquáticos em 2020 foi 30% superior à média dos anos 2000 e mais de 60% acima da média dos anos 1990. A produção recorde de aquicultura de 87,5 milhões de toneladas de animais aquáticos impulsionou em grande parte esses resultados.

Para a produção das microalgas são necessários os meios de cultivo que consistem na associação qualitativa e quantitativa de substâncias que fornecem os nutrientes necessários ao desenvolvimento de microrganismos fora do seu meio natural. Esses meios devem suprir todas as necessidades nutritivas do microrganismo para síntese do material celular. (ANDRADE *et al*, 2014). Para um ótimo desempenho do cultivo, vários nutrientes são essenciais ao desenvolvimento das microalgas. Uns são denominados de macronutrientes ou nutrientes essenciais, geralmente encontrados em quantidades significativas e os micronutrientes ou requeridos em pequenas quantidades pelo organismo.

O cultivo de organismos aquáticos torna-se de grande importância no fornecimento de proteína de elevado valor biológico para o ecossistema aquático. Em benefício a essas criações, as microalgas apresentam alto valor nutricional, no entanto, a avaliação de qualidade nutritiva da biomassa empregada na aquicultura considera aspectos como a taxa de mortalidade das larvas, taxa de desenvolvimento, viabilidade dos ovos e sucesso reprodutivo (OOSTLANDER *et al.*, 2020). Portanto, o maior problema associado ao uso das microalgas na aquicultura é a falta de conhecimento sobre o seu valor nutricional e os requerimentos essenciais de seus consumidores (BROWN *et al*, 2002). Atualmente, mais de 40 espécies de microalgas já foram testadas como fonte de alimento para aquicultura, mas nem todas elas têm condições de suprir as exigências nutritivas ao crescimento de uma única espécie de animal. Desta forma, uma das dificuldades nesse processo, é a alimentação das larvas recém-nascidas das espécies aquáticas, principalmente as de origem marinha. Em virtude disso, precisam-se incluir mais espécies a serem utilizadas na aquicultura principalmente autóctones onde será desenvolvida esta atividade.

O isolamento de microalgas é fundamental pois permite estudar e caracterizar espécies da região, compreendendo melhor suas propriedades fisiológicas e bioquímicas. Além disso, o isolamento é crucial para estabelecer culturas puras, evitando contaminações que poderiam comprometer a integridade genética e as características desejadas das microalgas. Ao isolar microalgas, podem-se desenvolver cepas mais produtivas e resistentes a condições adversas, contribuindo para a aquicultura. Portanto, o isolamento e o cultivo intensivo de espécies de microalgas contribuem para a produção inicial de organismos aquáticos, visto que, as larvas de peixes, crustáceos e moluscos bivalves alimentam-se diretamente das espécies de microalgas.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral: Isolar as microalgas capturadas de um estuário da Baía de São Marcos, Ilha do Maranhão.

2.2 Específicos:

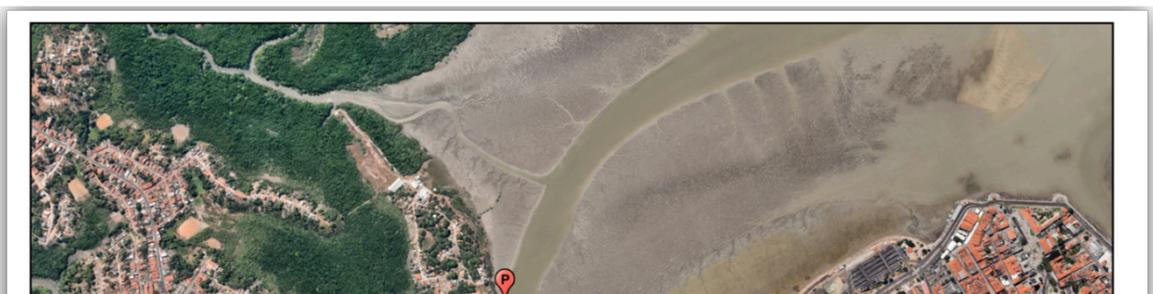
- Adaptar as microalgas em dois meios de cultura;
- Quantificar as amostras de fitoplâncton;
- Identificar as microalgas ao nível mais baixo de classificação sistemático;
- Analisar os parâmetros físicos e químicos.

3. METODOLOGIA

3.1 Área de Estudo

O local de pesquisa compreende uma área estuarina da Baía de São Marcos, Ilha do Maranhão, com as coordenadas 2°32'25.59''S e 44°18'42.22''O, localizada no Rio Bacanga (Figura 1) que possui uma área de 105,9 km² e 23,84 km de comprimento do leito principal que deságua na baía de São Marcos (SILVA *et al.*, 2015).

Figura 1. Mapa da área estuarina na Baía de Marcos, Ilha do Maranhão.



3.2 Coleta de Dados

Foram realizadas duas coletas uma no mês de julho e a segunda no mês de agosto em um único ponto amostral. Os parâmetros físicos e químicos: temperatura, pH, condutividade elétrica, oxigênio dissolvido (OD), salinidade e sólidos totais em suspensão (TDS) foram analisados com o auxílio de um multipâmetro (Figura 2) no LabCiclos (laboratório de Biogeoquímica dos Constituintes Químicos da Água) do departamento de Oceanografia e Limnologia (DEOLI). A transparência da água foi aferida *in situ* com o auxílio do disco de Secchi (Figura 3).

Figura 2. Equipamento multipâmetro portátil.



Figura 3. Transparência da água aferida *in situ* com auxílio do disco de Secchi.



Para os dados da amostragem qualitativa foram feitos nove arrastos para compor uma amostra com a rede 20 μ m, e mais nove arrastos para compor a segunda amostra com a rede de 45 μ m, cada arrasto á 40 cm de profundidade, sendo realizadas duas coletas, totalizando quatro amostras (Figura 4). As coletas foram realizadas sempre na maré de enchente. Para a amostragem quantitativa em ambas as coletas foram submergidas garrafas de 1 litro próximo da margem, a 40 cm de profundidade a fim de reter o material; logo totalizando quatro amostras.

Figura 4. Amostras coletadas.



3.3 Processamento das Amostras

Em laboratório as amostras de ambas as redes (20 μ m e 45 μ m) foram filtradas com duas telas respectivamente de 45 μ m e outra de 100 μ m, com a intenção de reter e descartar o zooplâncton; posteriormente o material foi etiquetado e analisado sob aumento de 40x em microscópio óptico.

3.4 Preparo do Meio de Cultura

Toda a vidraria que foi utilizada durante o procedimento foi devidamente lavada com água destilada e sabão neutro. Após serem lavadas as vidrarias foram depositadas no ácido clorídrico (HCl 1%) durante o período de 24 horas. Ao retirar o material do ácido o mesmo foi enxaguado de 5 a 10 vezes com água destilada, posteriormente, foram autoclavados, protegidos com papel alumínio. O meio de cultivo intensivo foi preparado seguindo a metodologia do Meio SEAFDEC (Yamashita *et al*, 1984). Portanto, foi elaborado o meio de cultura com silicato para o desenvolvimento de diatomáceas e sem silicato para Algas Verdes. A partir das amostras do material de ambas as redes de plâncton (20 μ m e 45 μ m) foram realizadas o processo de repicagem das amostras em garrafas (1L e erlenmeyer (1L), em dois tratamentos (com silicato e sem silicato) e quatro repetições por cada coleta realizada, posteriormente foram mantidas em temperatura 24°C, iluminação (fluorescentes 20Watts) e sistema de aeração (acima de 500ml é necessária aeração), e mantidas em cepário de microalgas do AQUALAB. O preparo do meio de cultura Conway foi feito segundo a metodologia especializada (DERNER, 1997), sendo utilizado somente para o cultivo unialgal durante processo de isolamento direto e por diluições sucessivas, desta forma garantindo maior acurácia, visto que, o meio possui mais nutrientes, tornando-se mais completo.

3.5 Análise Quantitativa

O método de determinação da densidade celular foi realizado segundo a metodologia do Manual de Produção de Pós-larvas de Camarão Marinho (DERNER, 1997); realizada sob microscópio óptico comum com o auxílio da câmera de Neubauer.

3.5.1. Cálculo da densidade e volume (contagem de cél.)

Para a densidade celular foi selecionado o tratamento da primeira coleta e da segunda coleta com a coloração mais intensa, sendo monitorado através da contagem de células utilizando a Câmara Neubauer em microscópio óptico (Figura 9). A contagem de células foi realizada aplicando-se uma alíquota de 0,05mL das amostras com coloração mais intensa, e a visualização ocorreu em aumento de 40x. A contagem foi realizada no quadrante A e C da câmara, sendo realizadas diversas contagens nos sub-quadrantes (1 e 2), afim de calcular a média para a determinação da concentração celular em células por mililitro (cél.mL⁻¹), através da seguinte equação:

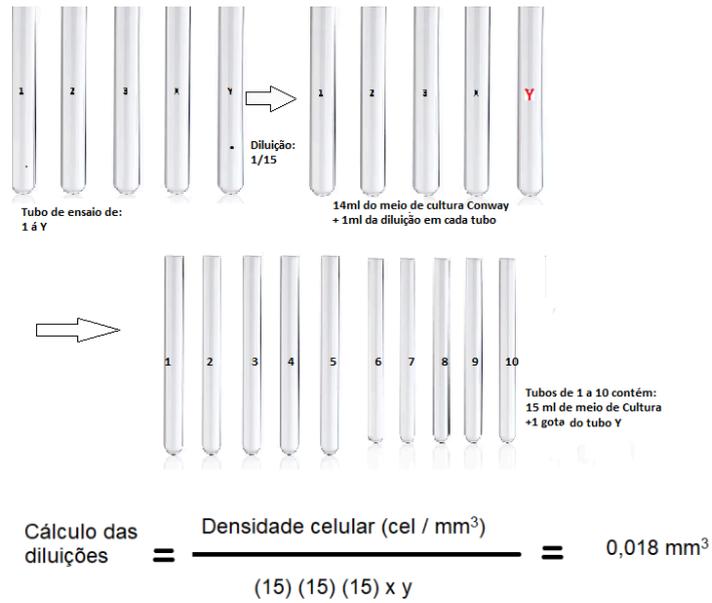
$$d\left(\frac{\text{células}}{\text{ml}}\right) = \frac{\text{contagem total} \times 10^4}{n^\circ \text{ de blocos contatados}}$$

3.6 Isolamento

Os métodos de isolamento das microalgas foram exercidos segundo a metodologia do Isolamento por Diluições Sucessivas e Isolamento Direto (ALFONSO *et al*, 1995).

As amostras a serem isoladas foram escolhidas considerando a coloração com mais intensidade, portanto foi selecionado o tratamento 25µm para diatomáceas (com silicato) e o tratamento 45µm para algas verdes (sem silicato). O isolamento por diluições sucessivas foi realizado com o intervalo de 15 dias entre as amostras, com meio de cultura Conway composto por 0,10 ml de vitamina e 1,5ml de silicato, e de acordo com o seguinte procedimento (Figura 6):

Figura 5. Método por Diluições Sucessivas.



O método de isolamento direto foi realizado seguindo o mesmo protocolo de esterilização e cuidados com as diferenças de temperatura e salinidade, este método foi combinado com o método das diluições sucessivas para melhor resultado, sendo realizado de acordo com o passo a passo (Figura 7 e 8):

Figura 6. Esquematização do Isolamento Direto.

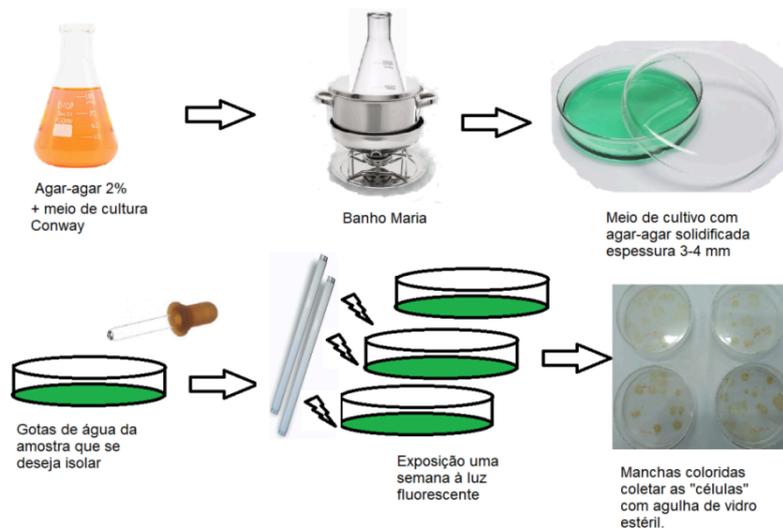
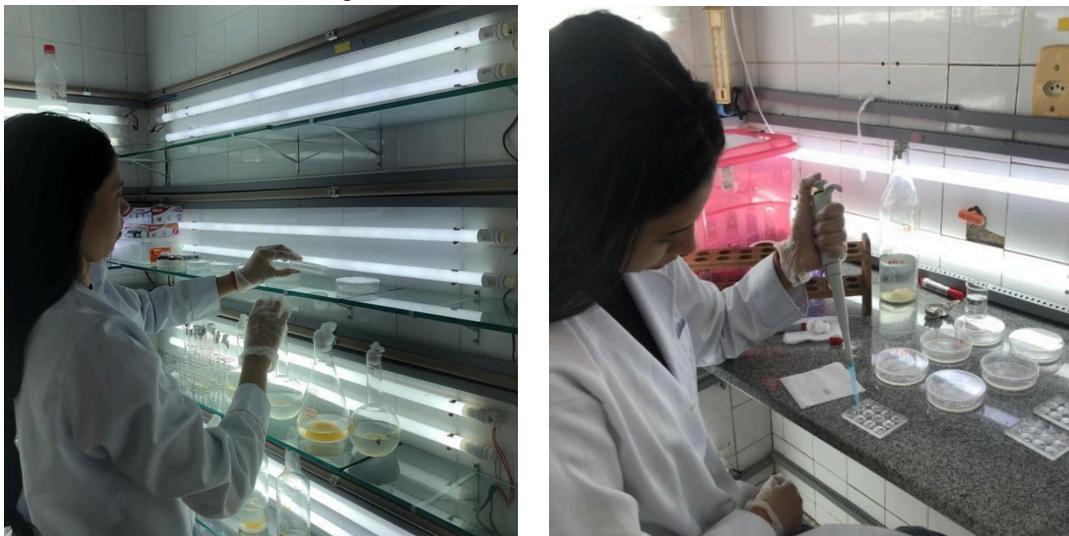


Figura 7. Processo do Isolamento Direto.



3.7 Identificação

As microalgas foram identificadas com o nível mais baixo possível de classificação sistemático. Assim, para a sua identificação o material foi fixado em solução de lugol, consultando o site <https://www.algaebase.org/>.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análise dos Parâmetros Físicos e Químicos

Os parâmetros físicos e químicos: temperatura, salinidade, sólidos totais dissolvidos, oxigênio dissolvido, pH e transparência da água encontram-se na tabela 1.

Tabela 1. Parâmetros Físicos E Químico Referente Às Duas Coletas Realizadas Na Área De Estudo.

Coletas	Temp (°C) Água	Sal. (gKg ⁻¹)	TDS (mg ⁻¹)	OD (mgL ⁻¹)	pH	Transp. (cm)
1° coleta	28,01 °C	16,48psu	13,50ppt	7,60ppm	8,17	42 cm

2° coleta	25,88°C	20,51psu	16,43ppt	5,30ppm	7,59	61 cm
Média±DP	26,95±1,51	18,50±2,85	14,97±2,07	6,45±1,63	7,88±0,41	51,50±13,44

Temp.: temperatura; Sal.: salinidade; TDS: sólidos dissolvidos totais; OD: oxigênio dissolvido; Transp.: transparência da água; DP: desvio padrão.

Os parâmetros físicos e químicos da água influenciam diretamente o crescimento das microalgas, os quais também podem influenciar na composição da biomassa em relação a produção de alguns metabólitos específicos, como: ácidos graxos poli-insaturados (LEE, 2008; RICHMOND, 2004).

A média da temperatura para as duas coletas realizadas foi de 26,95°C, e o ideal para o crescimento das microalgas é em torno de 20-35°C (ZARDO, 2011). Portanto, o valor obtido encontra-se dentro do padrão para o crescimento das microalgas.

Para o cultivo de microalgas a salinidade ideal altera de acordo com as espécies a serem cultivadas, esta tolerância pode variar entre 8 e 40 ‰ (SOARES *et al*, 2000). A média da salinidade encontrada foi de 18,5^{gKg⁻¹}; caracterizando o local de coleta como adequado para o desenvolvimento de inúmeras espécies. Essa salinidade é característica de um ambiente estuarino, devido ao recorrente fluxo de maré que ocasiona a diluição dos sais na coluna d'água.

Os sólidos totais dissolvidos são a somatória de todos os constituintes minerais dissolvidos na água, mede-se a concentração de substâncias iônicas e é expressa em mg L⁻¹ (PARRON *et al.*, 2011). A média obtida foi de 14,97 mg⁻¹; desta forma, o valor está dentro do padrão esperado uma vez que, as coletas foram realizadas no período de estiagem, ocasionando a concentração dos sólidos.

Segundo Resolução CONAMA n°. 357/2005, que estabelece um padrão onde haja pesca ou cultivo de organismos para fins de consumo humano em águas salinas e salobras (BRASIL, 2005), afirma que o parâmetro OD (oxigênio dissolvido) em qualquer amostra, não deve ser inferior a 4 mg/L, o que pode ser observado em nossos dados que teve média de 6,45, e encontra-se em condição estabelecida.

No processo de cultivo, o pH também é importante, variando de neutro a alcalino para a maioria das espécies de microalgas (RAVEN, 1990). Sendo, um dos grandes fatores a alterar o crescimento de uma biomassa de microalgas, isso porque ele influencia na fixação de CO₂ por esses organismos fotossintetizantes, que o transformam em biomassa (TRIPATHI *et al*, 2015). A média do pH obtido foi de 7,88, o

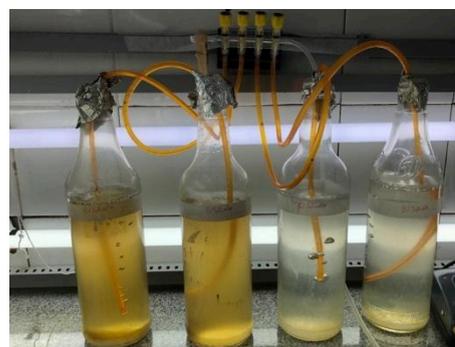
que está de acordo com o esperado, mas se deve ter o cuidado com controle do pH para não provocar mudanças bruscas, que são muito prejudiciais ao crescimento das microalgas (JUNEJA *et al*, 2018).

A transparência da água foi aferida com o auxílio do disco de Secchi, e na primeira coleta o valor foi 42 cm, já na segunda coleta foi de 61 cm, assim elevando o desvio padrão, esse fato pode ser devido ao pisoteado do solo durante a coleta ocasionando a movimentação e turbulência no sedimento, sendo mais intenso na primeira coleta, desta forma causando a suspensão do material de fundo, bem como a presença de nuvens no local e alta interferência antrópica nas margens, além do descarte irregular de resíduos sólidos. Portanto, os demais parâmetros físicos estão de acordo com a literatura para o crescimento das microalgas.

4.2 Cultivo em Meio de Cultura Intensivo

Para o cultivo de microalgas, a luz e a concentração de nutrientes são os fatores que mais limitam o seu crescimento. Isto porque, a intensidade da luz e a duração do fotoperíodo regulam a energia necessária para a fotossíntese, enquanto a concentração de nutrientes influencia diretamente a constituição estrutural das células (YIN *et al.*, 2020). Seguindo a metodologia do meio SEAFDEC (YAMASHITA *et al*, 1984) as amostras da primeira coleta obtiveram coloração inicial em seis dias após repicagem, este fato pode ser devido a alta adaptação ao meio de cultura e condições ideais ao crescimento da biomassa.

Figura 8. Cultivo de Microalgas A- Dia 1. B - Dia 6. Garrafas 1 e 2 Meio seafdec com silicato e garrafas 3 e 4, meio seafdec sem silicato



O crescimento das microalgas em meio SEAFDEC com adição de silicato (Figura 9) expressaram melhores resultados em relação a coloração (parda/marrom), destacando a predominância de Diatomáceas, como são conhecidas a classe

Bacillariophyta, sendo as maiores produtoras de biomassa (RAVEN *et al*, 2001), que demonstra que o meio empregado, os fatores físicos e químicos estavam de acordo para o crescimento das microalgas. Já, as algas verdes apresentaram desenvolvimento mais lento na fase inicial do cultivo, evidenciando coloração mais intensa de 10 a 15 dias após a primeira repicagem (Figura 9). Pesquisas relacionadas com a interação entre intensidade luminosa, temperatura, agitação e concentração de nutrientes podem contribuir para a otimização do cultivo, pois o crescimento de microalgas deriva de diversas reações bioquímicas e biológicas (DUARTE, 2001).

Na segunda coleta foram obtidos resultados semelhantes ao da primeira repicagem, no entanto o tempo de crescimento e a apresentação da coloração foram mais próximas, em torno de 6 a 8 dias.

Figura 9. 1: Amostras após Adição do Meio de Cultura; 2: Amostra com apresentação de coloração.



Nota-se na figura 10 que a coloração se apresentou verde, mesmo com a adição de silicato o que favorece o desenvolvimento de diatomáceas, entretanto evidenciou a alta predominância de Algas Verdes capturadas em malha de 45µm neste tratamento, este fato pode ser explicado devido que, mesmo com o acréscimo de silicato as microalgas verdes adaptaram-se ao meio com melhores taxas metabólicas. Contudo, as diatomáceas tanto capturadas com a rede de 20µm como de 45µm se desenvolveram em maior biomassa após repicagem em ambas as coletas.

4.3 Cálculo da Densidade e Volume

Os valores de densidade e volume encontram-se na Tabela 02 e 03

Tabela 2. Valores da Densidade e Volume Referente as Algas Verdes na Primeira e Segunda Coleta.

Algas Verdes	Algas Verdes (1ª coleta)	Algas Verdes (2ª coleta)
Densidade	330.000 cel./ml	625.000 cel./ml
Volume	330 cel./mm ³	625 cel./mm ³
Média do volume	477,5 cel./mm ³	

Tabela 3. . Valores da Densidade e Volume Referente as Diatomáceas na Primeira e Segunda Coleta.

Diatomáceas	Diatomáceas (1ª coleta)	Diatomáceas (2ª coleta)
Densidade	1.587.500 cel./ml	1.405.000 cel./ml
Volume	1.587,5 cel./mm ³	1.405 cel./mm ³
Média do volume	1.496,25 cel./mm ³	

Na primeira e na segunda coleta as algas verdes representaram o menor valor em composição celular, ou seja, menor densidade. Este fato pode ser devido à adaptação ao meio, a presença de protozoários, ou a possível influência de outros organismos sobre o desenvolvimento das microalgas. Já as Diatomáceas apresentaram alto desenvolvimento em fase exponencial, na qual a biomassa se duplica sucessivamente, portanto obtiveram

maior predominância nos demais tratamentos (20µm e 45µm com silicato). Sendo importante pois ela tem alto valor de nutrientes e, ácidos graxos poli-insaturados.

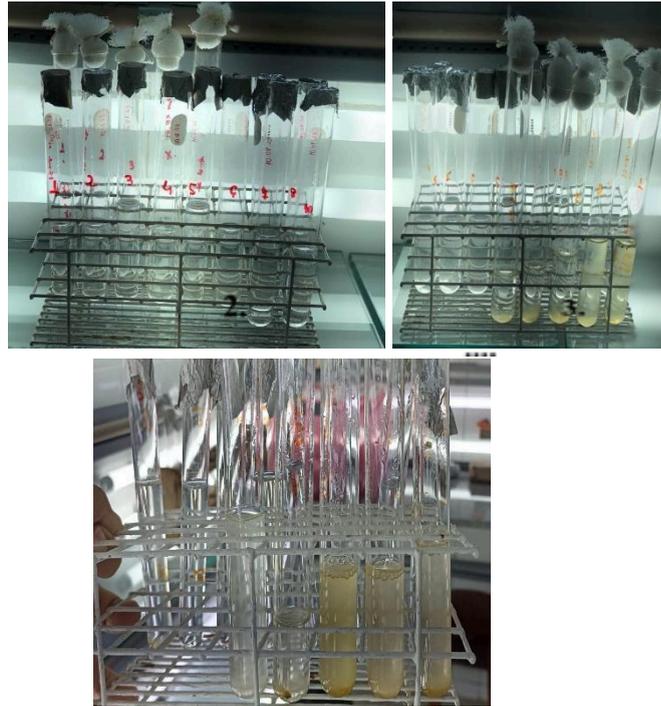
4.4 Isolamento Sucessivo e Direto

O meio Conway é semidefinido e elaborado a partir de água do mar enriquecida com uma mistura de substâncias orgânicas e inorgânicas de composição conhecida (PINHEIRO, 2002), sendo utilizado para as duas técnicas de isolamento (sucessivo e direto).

A técnica por diluições sucessivas evidenciou que os tubos de ensaio de 1 a Y apresentou coloração, e nos demais tubos de 1 a 10 após diluição não ocorreu crescimento das microalgas (Figura 11 e Figura 12). Esse resultado se repetiu nas demais tentativas de isolamento. No entanto, alguns fatores biológicos também afetam o crescimento das microalgas, como por exemplo, a presença de algumas bactérias, vírus, fungos ou microalgas de outras espécies (YIN *et al.*,2020).

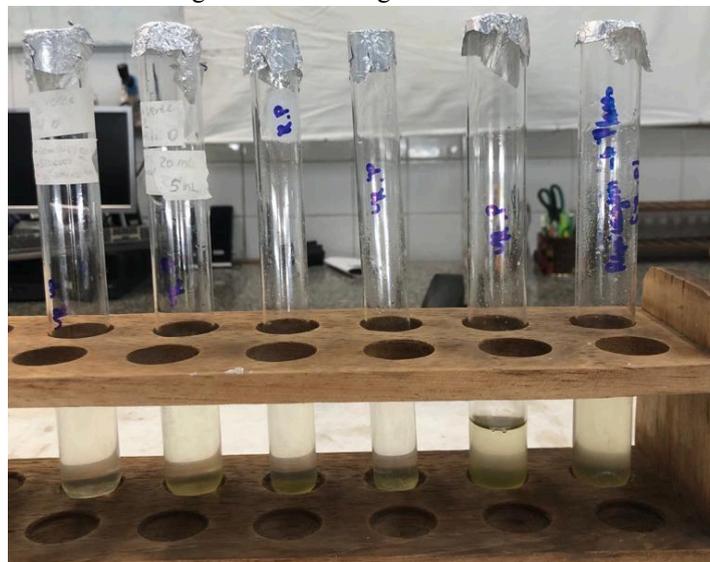
Figura 10. Amostras da 1ª Coleta.

1.



1: 1º dia após aplicação da técnica por diluições sucessivas; 2: 7 dias após repicagem; 3: Fase de manutenção da cepa; 1 a y: repetições com 1ml da cepa original; 1 a 10: repetições com uma gota(0,5ml) do tubo Y.

Figura 11. Amostragem da 2ª coleta.



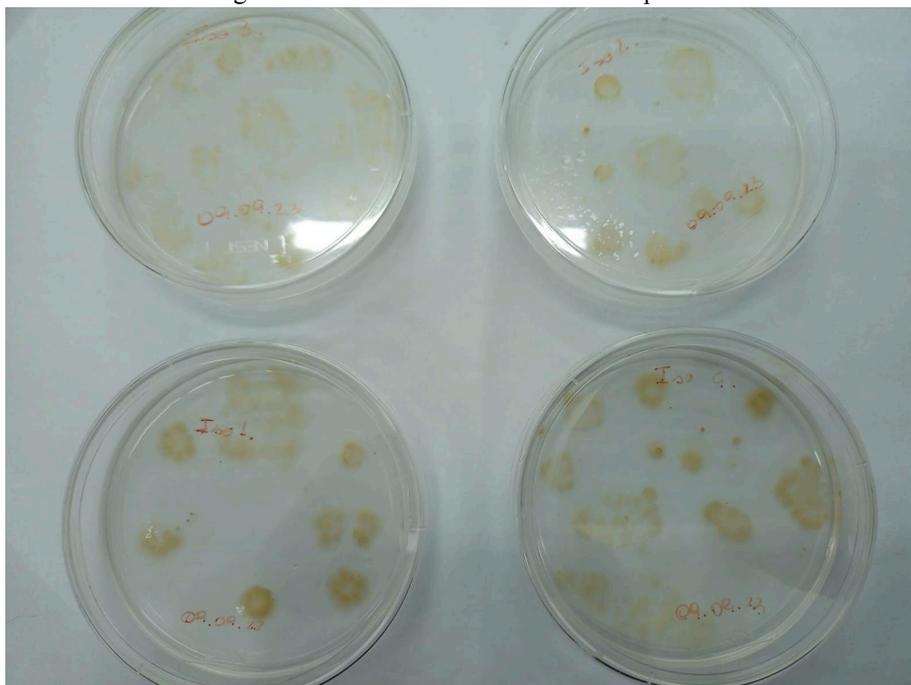
Cepas com 15 dias após aplicação da técnica por diluições sucessivas.

A técnica por isolamento direto foi realizada combinada com o método por diluições sucessivas, sendo iniciada com o tubo de ensaio Y da segunda coleta. Essa escolha foi definida através do tubo de ensaio que apresentou a coloração mais intensa,

células mais isoladas, e sem formação de colônias, ou seja, a lâmina mais “limpa” a fim de diminuir as chances de contaminação após inoculação.

O método forneceu resultados positivos, uma vez que em todas as placas de petri houve a formação de colônias de apenas uma espécie (Figura 13), portanto sendo possível o isolamento das microalgas. No entanto, em todos os tratamentos das lâminas escavadas não houve o crescimento de biomassa de nenhuma espécie de microalgas, devido ao ressecamento do gel após a inoculação.

Figura 12. Placas Petri com 10-15 dias após Isolamento.



4.5 Identificação

No processo de identificação das espécies foi realizado apenas a identificação em nível de gênero.

Em nível de gênero a *Cymbella* (Diatomácea) foi isolada através do método isolamento direto (Figura 14). E, em nível de filo através do método por diluições sucessivas, foram caracterizadas as microalgas pertencentes ao filo Chlorophyta (Figura 15), pois no inoculo tinha outras espécies, e presença de protozoários, tornando inviável o isolamento de apenas uma espécie.

Figura 13. *Cymbella spp*

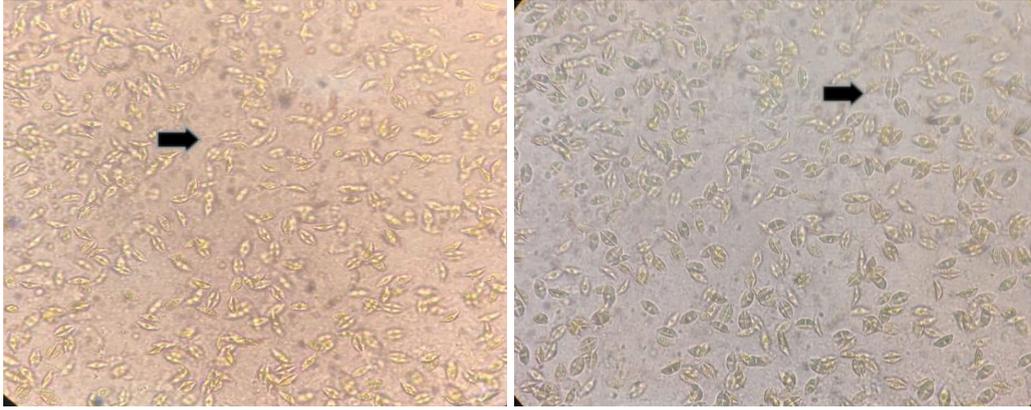
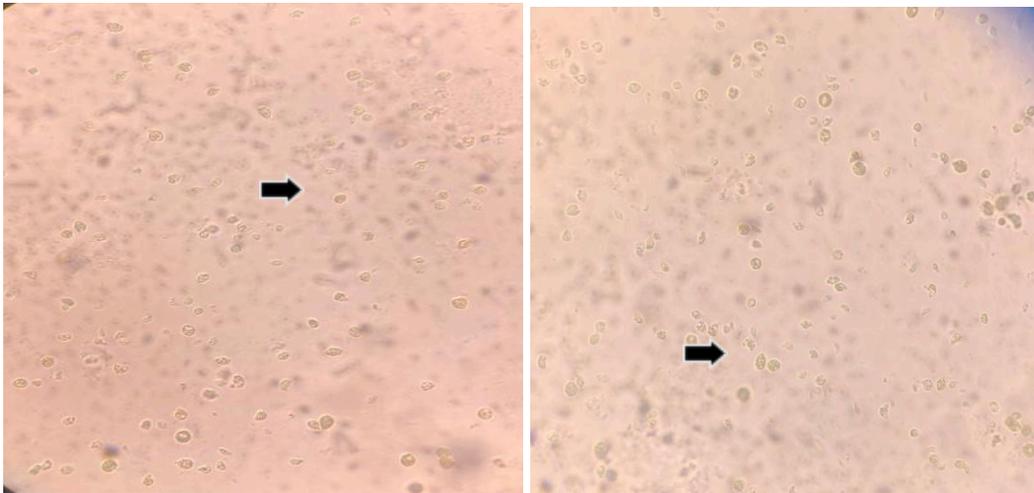


Figura 14. Filo Chlorophyta



5 CONCLUSÃO

Os parâmetros físicos e químicos estão de acordo com a literatura para o desenvolvimento algal. Em meio intensivo as amostras cultivadas das duas redes (20 μ m e 45 μ m) apresentaram desenvolvimento algal, as diatomáceas adaptaram-se ao meio em menor escala de tempo. Na amostragem quantitativa às algas verdes na primeira e segunda coleta representaram o menor valor em composição celular.

O método por diluições sucessivas evidenciou que apenas os tubos de 1 a y após diluição obtiveram incidência de biomassa, mas sem sucesso para o isolamento de microalgas, já o método por isolamento direto evidenciou a formação de colônias de apenas uma espécie, sendo identificado em nível de gênero a *Cymbella* spp. As diatomáceas destacaram-se em todos os tratamentos (20 μ m e 45 μ m com silicato) com elevadas taxas de crescimento, alta adaptação e predominância no cultivo, sendo importante, pois elas são as maiores produtoras de biomassa, devido a qualidade nutricional, o que torna este grupo ser mais utilizado para a alimentação de larvas e juvenis de moluscos bivalves, peixes e crustáceos.

REFERÊNCIAS

ALFONSO, E. LEAL, S. **Tópicos Básicos para Criação e Manutenção de um Cepário de Microalgas**. São Paulo, 1995.

ALGAE BASE, 2023. Disponível em: <https://www.algaebase.org/>

Andersen, R.A. **Biology and systematics of heterokont and haptophyte algae**. *American Journal of Botany*, v. 91, p. 1508-1522, 2004.

ANDRADE, D. S.; FILHO-COLOZZI, A. **Microalgas de águas continentais, potencialidades e desafios do cultivo**. Londrina: Instituto Agronômico do Paraná, 2014.

Ashworth J, Coesel S, Lee A, Armbrust EV, Orellana MV, Baliga NS (2013) **Genomewide diel growth state transitions in the diatom *Thalassiosira pseudonana***. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 30:7518-7523. doi:10.1073/pnas.1300962110.

BEGUM.; YUSOFF, F. M.D. ; BANERJEE, S. ; KHATOON, H. ; SHARIFF, M. **Availability and Utilization of Pigments from Microalgae**. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, v.56, n.13, p.2209-2223, 2016.

BROWN, M., Robert, R. (2002). **Preparation and assessment of microalgal concentrates as feeds for larval and juvenile Pacific oyster (*Crassostrea gigas*)**. *Aquaculture*, 207(3-4), 289-309.

CAMARGO, L. S. F. **Microalgas 2018**. Disponível em: <https://proec.ufabc.edu.br/>. Acesso em: 28 mar 2021.

CHISTI, Y. **Biodiesel from microalgae**. *Biotechnology Advances*, New York, v. 25, n.3, p. 294–306, 2007.

DERNER, R.B. Cultivo de Microalgas em ANDREATA E. R. *et all*. **Produção de Pós-larvas de Camarão Marinho II curso Internacional. Programa Interamericano de Ciencia y Tecnologia para el Desarrollo – Sub programa II Acuicultura**. Florianópolis, 03 à 12 de novembro de 1997. Laboratório de Camarões Marinhos, Departamento de Aquicultura – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina. 193 p.

DUARTE, I. C. S. **Influência do meio nutricional no crescimento e composição centesimal de *Chlorella* sp (Chlorophyta, Chlorococcales)**. Rio Claro 2001. 148 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista.

(CONAMA). **Resolução No. 357 de 17 de março de 2005**. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/conama/res/res05/res35705.pdf>. Acesso em: 25 de Abril de 2011.

FAO, 2022. Fisheries and Aquaculture. Disponível em: <https://www.fao.org/fishery/en>. Acesso em: 11/10/2023.

JENSEN, G. S., GINSBERG, D. I., DRAPEAU, M. S. **Blue-green algae as an immune enhancer and biomodulator**. *Journal of the American Nutraceutical Association*, v. 3, p. 24-30, 2001.

JUNEJA, A.; CEBALLOS, R. M.; MURTHY, G. S. **Effects of Environmental Factors and Nutrient Availability on the Biochemical Composition of Algae for Biofuels Production: A Review**. *Energies*, United States of America, v. 6, p. 4607–4638, 2013.

LEE, R.E. **Phycology**. 4th Ed. Cambridge University Press. USA. 2008.

MALINOSKI, Leticia. **O que são microalgas**, 2018. Disponível em: <http://www.bioblog.com.br/>. Acesso em: 02 abr. 2021.

OOSTLANDER, P. C. et al. **Microalgae production cost in aquaculture hatcheries**. *Aquaculture*, v. 525. 2020.

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

PINHEIRO, A. C. A. S. **Cultivo, adaptação e composição proteica da microalga *Dunaliella viridis* em diferentes salinidades**. 2002.

PULZ, O.; GROSS, W. **Valuable products from biotechnology microalgae**. *Applied Microbiology Biotechnology*, v.65, n.6, p.635-648, 2004.

RASTOGI, R. P. et al. **Algal Green Chemistry: Recent progress in biotechnology**. Amsterdam: Copyright, 2017.

RAVEN, J. A. **Sensing pH?** *Plant, Cell and Environment*, v.13, p.721-729, 1990.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. 6a ed. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, Brasil, 906pp, 2001.

RICHMOND, A. (Ed). **Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology**. Oxford: Blackwell Science, 566p. 2004.

SALES, Rafael de Oliveira Jaime et al. **Produção e uso de processados de *Nannochloropsis* spp. para aplicação em aquicultura**. 2020.

SILVA, G. S., Correa, L. B., Marques, A. L., Marques, E. P., Nunes, M. D. L., de Sousa, E. R., & da Silva, G. S. (2015). **The role of metals and their fractions in the Bacanga**

River estuary: An example of the anthropogenic interference in a tropical ecosystem. *Revista Virtual de Química*, 7(4), 1130-1144.

SIPAÚBA, TAVARES, L.H.; ROCHA, O. 2003. **Produção de plâncton (fitoplâncton e zooplâncton) para alimentação de organismos aquáticos.** São Carlos. Rima.106p. ISBN 8586552178 – 2002.

SOARES, Rosa de Jesus Bento. **Avaliação das possibilidades de tratamento de um efluente piscícola marinho por microalgas.** 2000.

TRIPATHI, R.; SINGH, J.; THAKUR, I. S. **Characterization of microalga *Scenedesmus* sp. ISTGA1 for potential CO₂ sequestration and biodiesel production.** *Renewable Energy*, India, v. 74, p. 774–781, 2015.

YAMASHITA, C. P. **Uso de diferentes Espécies de Algas na Alimentação de Camarão *Penaeus brasiliensis* no Estágio de Zoea,** 1984.

Yin, Z., Zhu, L., Li, S., Hu, T., Chu, R., Mo, F., Hu, D., Liu, C., & Li, B. (2020). **A comprehensive review on cultivation and harvesting of microalgae for biodiesel production: Environmental pollution control and future directions.** *Bioresource Technology*, 301, 122804. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122804>

ZARDO, I. **Análise de viabilidade econômica da produção de biodiesel a partir de microalgas.** 2011.