



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS ANIMAIS
CURSO DE ENGENHARIA DE PESCA

JEFFERSON OLANSON DO NASCIMENTO GOMES

AVALIAÇÃO DA TOXIDADE AGUDA DE EXTRATOS DA MICROALGA
Thalassiosira weissflogii **SOBRE** *Artemia salina*.

MOSSORÓ

2025

JEFFERSON OLANSON DO NASCIMENTO GOMES

AVALIAÇÃO DA TOXIDADE AGUDA DE EXTRATOS DA MICROALGA
***Thalassiosira weissflogii* SOBRE *Artemia salina*.**

Monografia apresentada a Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Pesca.

Orientador: Geovan Figueirêdo de Sá-Filho,
Prof. Dr.

MOSSORÓ

2025

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

G633a Gomes, Jefferson Olanson do Nascimento.
AVALIAÇÃO DA TOXIDADE AGUDA DE EXTRATOS DA
MICROALGA *Thalassiosira weissflogii* SOBRE *Artemia*
salina. / Jefferson Olanson do Nascimento Gomes. -
2025.
37 f. : il.

Orientador: Geovan Figueirêdo de Sá-Filho.
Monografia (graduação) - Universidade Federal
Rural do Semi-árido, Curso de Engenharia de
Pesca, 2025.

1. *Artemia salina*. 2. Bioprospecção. 3.
Ecotoxicologia. 4. Microalgas. 5. *Thalassiosira*
weissflogii. I. Sá-Filho, Geovan Figueirêdo de ,
orient. II. Título.

Ficha catalográfica elaborada por sistema gerador automático em conformidade
com AACR2 e os dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Biblioteca Campus Mossoró / Setor de Informação e Referência
Bibliotecária: Keina Cristina Santos Sousa e Silva
CRB: 15/120

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

JEFFERSON OLANSON DO NASCIMENTO GOMES

AVALIAÇÃO DA TOXIDADE AGUDA DE EXTRATOS DA MICROALGA
***Thalassiosira weissflogii* SOBRE *Artemia salina*.**

Monografia apresentada a Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Pesca.

Defendida em: 26/11/2026.

BANCA EXAMINADORA

Geovan Figueirêdo de Sá-Filho, Prof. Dr. (UFERSA)
Presidente

Elisomar André da Silva, M.Sc. (UFERSA)
Membro Examinador

Heitor de Oliveira Braga, Prof. Dr. (UFERSA)
Membro Examinador

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela força, saúde e perseverança que me permitiram chegar até esta etapa da minha vida acadêmica.

Agradeço à minha família, pelo apoio incondicional, incentivo constante e compreensão nos momentos de ausência, que foram fundamentais para a realização deste trabalho.

Agradeço ao Laboratório Ecomares Aquicultura LTDA, pelo fornecimento das cepas de *Thalassiosira weissflogii* e pelo suporte técnico durante o desenvolvimento do trabalho.

Agradeço ao meu orientador(a), Prof. Dr. Geovan Figueirêdo de Sá-Filho, pela dedicação, paciência, orientação científica e por compartilhar seus conhecimentos, sempre contribuindo para o meu crescimento pessoal e profissional.

Agradeço também à banca examinadora, composta pelo Prof. Dr. Heitor de Oliveira Braga e Me. Elisomar André da Silva, pela disponibilidade em avaliar este trabalho e pelas valiosas contribuições sugeridas para o seu aprimoramento.

Agradeço aos meus amigos da Casa 13 da Vila Masculina — Alves, Anderson, João Vitor, Kaio, Luiz, Marlon, Marcos, Nalbert, Romário e Victor — pela amizade e companheirismo ao longo de toda a trajetória acadêmica, tornando este percurso mais leve, agradável e significativo.

Agradeço, de modo especial, aos meus amigos e amigas do Curso de Engenharia de Pesca e de outros cursos da Universidade — Anderson Ferreira, Eduardo, Jezualdo, Mayara, Mylla, Raquel, Shandley, Samuel e Véritas — pela amizade, pelo incentivo e pelo companheirismo. As vivências que compartilhamos ao longo da trajetória acadêmica permanecerão eternamente na memória.

Por fim, registro meus agradecimentos a todos os docentes que participaram da nossa formação, com destaque para aqueles que dedicaram esforços constantes para elevar a excelência do curso.

Se você quer algo na vida, vá e conquiste.
Porque ninguém vai fazer isso por você.

Natalie Portman

RESUMO

Este trabalho teve como propósito investigar de forma detalhada os efeitos de extratos da microalga marinha *Thalassiosira weissflogii* sobre o microcrustáceo *Artemia salina*, tradicionalmente empregado como organismo-teste em bioensaios ecotoxicológicos. O objetivo central foi avaliar o potencial desses extratos em aplicações científicas, ambientais e biotecnológicas, considerando a crescente importância das microalgas como fontes de biomoléculas de interesse. A espécie em estudo foi cultivada em condições laboratoriais rigorosamente controladas, em meio f/2 suplementado com silicato, sob monitoramento de parâmetros como temperatura, fotoperíodo, pH e salinidade, visando otimizar o crescimento celular e maximizar a produção de biomassa. A obtenção do extrato etanólico ocorreu por maceração em etanol 99%, seguida por processos de filtração a vácuo e concentração em evaporador rotativo, assegurando a preservação dos metabólitos secundários. Ensaios de toxicidade aguda foram conduzidos com náuplios recém-eclodidos de *A. salina*, expostos a diferentes concentrações do extrato (10%, 25%, 50% e 100%), sendo as taxas de mortalidade monitoradas após 24 e 48 horas de exposição. A análise estatística dos dados, realizada por ANOVA seguida do teste de Tukey, não evidenciou diferenças significativas entre os tratamentos ($p > 0,05$), o que indica baixa toxicidade aguda do extrato frente ao organismo-teste. Esses resultados sugerem que *T. weissflogii* apresenta potencial para uso seguro em sistemas aquícolas e em processos de bioprospecção, podendo contribuir para o desenvolvimento de insumos sustentáveis e ambientalmente responsáveis. Além disso, reforçam a importância da aplicação de bioensaios padronizados com *A. salina* como ferramenta preliminar na avaliação ecotoxicológica de compostos naturais derivados de microalgas.

Palavras-chave: *Artemia salina*, Bioprospecção, Ecotoxicologia, Microalgas, *Thalassiosira weissflogii*.

ABSTRACT

This study aimed to investigate in detail the effects of extracts from the marine microalga *Thalassiosira weissflogii* on the microcrustacean *Artemia salina*, a widely used model organism in ecotoxicological bioassays. The main objective was to evaluate the potential of these extracts for scientific, environmental, and biotechnological applications, considering the growing relevance of microalgae as sources of bioactive compounds. The species was cultured under strictly controlled laboratory conditions in f/2 medium supplemented with silicate, with parameters such as temperature, photoperiod, pH, and salinity carefully monitored to optimize cell growth and biomass production. Ethanolic extracts were obtained through maceration in 99% ethanol, followed by vacuum filtration and concentration in a rotary evaporator, ensuring the preservation of secondary metabolites. Acute toxicity assays were conducted using newly hatched *A. salina* nauplii exposed to different extract concentrations (10%, 25%, 50%, and 100%), with mortality rates recorded after 24 and 48 hours of exposure. Statistical analysis of the data, performed using ANOVA followed by Tukey's test, revealed no significant differences among treatments ($p > 0.05$), indicating low acute toxicity of the extract towards the test organism. These findings suggest that *T. weissflogii* may serve as a safe source of bioactive metabolites for aquaculture and bioprospecting, contributing to the development of sustainable and environmentally responsible products. Furthermore, the results highlight the importance of standardized bioassays with *A. salina* as a preliminary tool in the ecotoxicological evaluation of natural compounds derived from microalgae.

Keywords: *Artemia salina*, Bioprospecting, Ecotoxicology, Microalgae, *Thalassiosira weissflogii*.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Localização do CEPAS (UFERSA, Mossoró-RN). A esquerda, fachada do centro. À direita, imagem de satélite com destaque para o CEPAS (vermelho) e o LEDPOP (cinza). Coordenadas em UTM, Datum SIRGAS 2000, Zona 24 Sul. Fonte: IBGE (2025), imagens de satélite (2025), elaboração própria 16
- Figura 2 – Cultivo laboratorial de *Thalassiosira weissflogii* em frascos Erlenmeyer sob iluminação artificial para experimentos de crescimento e produção de biomassa 20
- Figura 3 – Cultivo de *Thalassiosira weissflogii* em garrações de 20 L sob iluminação artificial e aeração contínua, durante a fase de produção de biomassa. 20
- Figura 4 – Larvas de *Artemia salina* (náuplios) observadas ao microscópio óptico, utilizadas nos bioensaios de letalidade 23
- Figura 5 – Tubo de ensaio com culturas de *Thalassiosira weissflogii*. Sob diferentes concentrações (100%, 50%, 25% e 10%) de extrato em bioensaio de toxicidade 24
- Figura 6 – Placa de 24 poços com culturas de *Thalassiosira weissflogii*. Submetidas a diferentes concentrações de extrato (100%, 50%, 25% e 10%). 25

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 7	–	Porcentagem média de mortalidade de <i>Artemia salina</i> ($\pm$ desvio padrão) após 24h e 48h de exposição às diferentes concentrações do extrato	27
-----------	---	---	----

LISTA DE TABELA

Tabela 8	–	Composição química do meio f/2 + Si utilizado para o cultivo de <i>Thalassiosira weissflogii</i> em laboratório. Os valores representam a concentração por litro de água de mar filtrada e ajustada para 30 ppt de salinidade	18
Tabela 9	–	Condições laboratoriais de cultivo de <i>Thalassiosira weissflogii</i> , incluindo parâmetros físicos e procedimentos de manejo das culturas, com observações sobre ajuste e monitoramento do crescimento	19
Tabela 10	–	Produção estimada de biomassa de <i>Thalassiosira weissflogii</i> em cultivo laboratorial	21
Tabela 11	–	Tabela de contingência com os valores absolutos de <i>Artemia salina</i> mortas e vivas após 24h e 48h, por concentração, e respectivos valores de p do teste do qui-quadrado	29

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	15
2.1	Objetivo geral	15
2.2	Objetivos específicos	15
3	MATERIAL E MÉTODOS	16
3.1	Área de estudo	16
3.2	Produção de Biomassa da Microalga	17
3.3	Processo preparação dos extratos	21
3.4	Bioensaio para avaliação da letalidade em larvas de <i>Artemia salina</i>	22
3.5	Preparo das diluições seriadas dos extratos	23
3.6	Incubação das larvas em contato com o material	24
3.7	Procedimento de contagem das larvas	25
3.8	Análise estatística dos dados obtidos	25
4	RESULTADOS	26
5	DISCUSSÃO	29
6	CONCLUSÕES	30
	REFERENCIAS	32

1 INTRODUÇÃO

O estudo de compostos bioativos derivados de organismos marinhos tem ganhado crescente relevância no cenário científico contemporâneo, impulsionado pela demanda por novas substâncias com potenciais aplicações farmacológicas, agrícolas e industriais (Ferreira *et al.*, 2025). Nesse contexto, as microalgas se destacam como fontes promissoras, dada sua elevada diversidade metabólica e a capacidade de produzir uma ampla gama de metabólitos secundários biologicamente ativos, com propriedades antibacterianas, antitumorais e toxicológicas (Wu *et al.*, 2024).

Entre essas espécies, a diatomácea *Thalassiosira weissflogii* tem recebido atenção especial devido à sua ampla distribuição em ambientes marinhos e estuarinos, bem como pela reconhecida produção de compostos com potenciais efeitos citotóxicos e alelopáticos (Ortiz Román *et al.*, 2024). A avaliação da toxicidade de extratos microalgais representa, portanto, uma etapa fundamental na triagem de compostos bioativos, sendo tradicionalmente realizada por meio de bioensaios padronizados com organismos-teste sensíveis e de fácil manejo (Asadi Dokht Lish *et al.*, 2025).

Nesse sentido, o crustáceo branquiópode *Artemia salina* consolidou-se como um modelo amplamente utilizado em ensaios ecotoxicológicos preliminares, devido à sua fácil obtenção, curto ciclo de vida, elevada sensibilidade a substâncias tóxicas e tolerância a diferentes condições ambientais (NUNES *et al.*, 2021; RIBEIRO *et al.*, 2023). Sua utilização permite não apenas a avaliação inicial dos impactos ambientais de compostos bioativos, mas também a triagem de substâncias de interesse, como biocidas, extratos naturais, agentes terapêuticos e produtos aplicáveis à aquicultura (SÁ *et al.*, 2023; SILVA *et al.*, 2022).

Pesquisas recentes demonstram que extratos de microalgas, incluindo diatomáceas do gênero *Thalassiosira weissflogii*. Podem apresentar toxicidade significativa sobre *A. salina*, sugerindo a presença de metabólitos secundários com potencial atividade biocida (MARTINS; XAVIER, 2022). Entretanto, a caracterização química desses compostos e a elucidação dos mecanismos envolvidos em seus efeitos ainda constituem desafios para a comunidade científica (COSTA; ALMEIDA, 2021). Avanços nesse campo podem abrir novas perspectivas para o desenvolvimento de bioinsumos destinados à aquicultura e à agricultura sustentáveis.

De fato, estudos recentes de 2023 reforçam a atualidade e a relevância do uso de *Artemia salina* em ensaios de toxicidade. O trabalho de (Lustosa *et al.*, 2023) demonstrou a toxicidade aguda de um inseticida agrícola por meio do bioensaio com *A. salina*, validando

esse organismo-teste como um método “rápido, confiável e de baixo custo” para triagens toxicológicas em contextos ambientais e laboratoriais. Resultados semelhantes foram observados por (Gouveia *et al.*, 2023), que avaliaram resíduos agroindustriais de abacaxi utilizando o mesmo modelo biológico, evidenciando a versatilidade da espécie para testar diferentes matrizes químicas, incluindo resíduos, extratos e substâncias de origem vegetal.

Além disso, uma revisão abrangente publicada por (Santos *et al.*, 2023) destacou o uso consolidado de *A. salina* em estudos envolvendo produtos naturais, ressaltando sua eficiência, sensibilidade e adaptabilidade diante de diferentes classes de compostos bioativos. Esses achados corroboram a aplicabilidade de *A. salina* em pesquisas de ecotoxicologia, bioprospecção e avaliações preliminares de substâncias com potencial atividade biológica.

Dessa forma, ao investigar os efeitos tóxicos dos extratos de *Thalassiosira weissflogii* sobre *Artemia salina*, o presente estudo busca fornecer informações relevantes sobre o potencial bioativo dessa diatomácea, contribuindo para o aprimoramento do conhecimento relacionado a substâncias naturais marinhas. Os resultados obtidos poderão representar um avanço importante tanto na compreensão da dinâmica ecológica entre microalgas e organismos do zooplâncton quanto na identificação de compostos promissores para aplicações biotecnológicas.

2 OBJETIVO

2.1 Objetivo geral

Avaliar a toxicidade do extrato obtido da microalga *Thalassiosira weissflogii* por meio de ensaios biológicos utilizando *Artemia salina* como organismo-teste, com o intuito de identificar possíveis efeitos tóxicos e fornecer subsídios para a avaliação da segurança do uso dessa microalga em aplicações biotecnológicas e ambientais.

2.2 Objetivos específicos

- Cultivar *Thalassiosira weissflogii* em condições controladas de laboratório para obtenção da biomassa.
- Realizar ensaios toxicológicos em organismos bioindicadores, como *Artemia salina*.
- Discutir as implicações ambientais e potenciais aplicações do extrato.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Área de estudo

O experimento foi conduzido no período de 28 de abril a 2 de julho de 2025, nas dependências do Centro de Pesquisa em Aquicultura e Pesca Sustentável do Semiárido (CEPAS), vinculado à Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), localizado no município de Mossoró, estado do Rio Grande do Norte, Brasil, sob as coordenadas geográficas 5°12'30"S 37°19'05"W. As atividades experimentais foram desenvolvidas no Laboratório de Ecologia e Dinâmica Populacional de Peixes (LEDPOP), estrutura dedicada ao desenvolvimento de pesquisas em aquicultura, ecologia aquática e dinâmica populacional de organismos aquáticos.



Figura 1 – Localização do CEPAS (UFERSA, Mossoró-RN). A esquerda, fachada do centro. À direita, imagem de satélite com destaque para o CEPAS (vermelho) e o LEDPOP (cinza). Coordenadas em UTM, Datum SIRGAS 2000, Zona 24 Sul. Fonte: IBGE (2025), imagens de satélite (2025), elaboração própria.

As cepas da microalga *Thalassiosira weissflogii* utilizadas neste estudo foram gentilmente fornecidas pelo Laboratório Ecomares Aquicultura LTDA, especializado na produção de pós-larvas de *Penaeus vannamei*. O referido laboratório está localizado na praia de Barreiras, município de Icapuí, estado do Ceará, sob as coordenadas geográficas 4°40'47"S

e 37°23'15"W. O Ecomares destaca-se na região por suas atividades voltadas ao cultivo de organismos marinhos, pesquisa aplicada e fornecimento de insumos para aquicultura.

3.2 Produção de Biomassa da Microalga

O cultivo de *Thalassiosira weissflogii* foi realizado a partir de cepas axênicas ou provenientes de bancos de microalgas, garantindo a autenticidade do material biológico. A água utilizada consistiu em água do mar natural, previamente filtrada em membranas de 0,22 µm, ou em água artificial preparada com sais sintéticos, ajustada para salinidade entre 28 e 32 ppt, sendo 30 ppt considerada ideal. As culturas foram mantidas em temperaturas entre 18 e 22 °C, com preferência por estabilidade em 20 °C, sob iluminação de 80–150 µmol fótons m⁻² s⁻¹ e fotoperíodo de 16 h luz/8 h escuro. O pH foi controlado entre 7,8 e 8,3, podendo ser ajustado com tampão Tris (1–2 mM), e a aeração foi contínua, fornecida com ar filtrado em membranas de 0,22 µm, em regime suave (0,2–0,5 vvm) por difusores porosos, minimizando danos mecânicos às células.

O cultivo foi escalonado, iniciando-se em erlenmeyers de 250 mL a 2 L e, posteriormente, transferido para carboys de 5 a 20 L utilizando mangueiras de silicone esterilizadas. Durante a fase de produção de biomassa, as culturas foram mantidas em garrafões de 20 L sob iluminação artificial e aeração contínua, garantindo crescimento uniforme e homogeneidade celular.

O meio utilizado foi o f/2 enriquecido com silicato (f/2 + Si), preparado a partir de soluções-estoque concentradas (1.000×) armazenadas a 4 °C. As vitaminas foram mantidas em frascos âmbar para evitar degradação. As soluções de macronutrientes incluíram nitrato de sódio (NaNO₃, 75 g/L), fosfato de sódio monobásico monoidratado (NaH₂PO₄·H₂O, 5 g/L) e silicato de sódio nonaidratado (Na₂SiO₃·9H₂O, 30 g/L), adicionados na proporção de 1 mL/L do meio. O ferro foi fornecido como complexo Fe-EDTA, preparado a partir de Na₂EDTA·2H₂O (4,36 g/L) e FeCl₃·6H₂O (3,15 g/L), também suplementado a 1 mL/L. Micronutrientes foram incorporados na forma de solução-traço contendo CuSO₄·5H₂O (9,8 mg/L), Na₂MoO₄·2H₂O (6,3 mg/L), ZnSO₄·7H₂O (22 mg/L), CoCl₂·6H₂O (10 mg/L) e MnCl₂·4H₂O (180 mg/L), adicionada na proporção de 1 mL/L. As vitaminas incluíram tiamina-HCl (200 mg/L), biotina (0,2 mg/L) e cianocobalamina (1 mg/L), incorporadas somente após a esterilização, em condições assépticas, na proporção de 1 mL/L.

O cultivo de *Thalassiosira weissflogii* foi realizado em condições controladas de laboratório, visando a produção de biomassa para experimentos de aquicultura e estudos nutricionais. As condições de cultivo, e a composição química do meio f/2 + Si utilizadas estão apresentadas nas Tabelas 8 e 9.

Tabela 8 – Composição química do meio f/2 + Si para cultivo de *Thalassiosira weissflogii*

Componente	Concentração por litro	Função
Nitrato de sódio (NaNO ₃)	75 mg	Fonte de nitrogênio
Fosfato de sódio monobásico (NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O)	5 mg	Fonte de fósforo
Silicato de sódio nonaidratado (Na ₂ SiO ₃ ·9H ₂ O)	30 mg	Sílica para frústulas
FeCl ₃ ·6H ₂ O	3,15 mg	Ferro
Na ₂ EDTA·2H ₂ O	4,36 mg	Quelante de ferro
CuSO ₄ ·5H ₂ O	9,8 µg	Elemento-traço
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	22 µg	Elemento-traço
CoCl ₂ ·6H ₂ O	10 µg	Elemento-traço
MnCl ₂ ·4H ₂ O	180 µg	Elemento-traço
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	6,3 µg	Elemento-traço
Tiamina-HCl (B1)	200 µg	Vitamina
Biotina (B7)	0,2 µg	Vitamina
Cianocobalamina (B12)	1 µg	Vitamina

Fonte: Autoria Própria

Tabela 9 – Condições de cultivo de *Thalassiosira weissflogii* em laboratório

Parâmetro	Condição utilizada	Observações
Temperatura	20 °C	Mantida constante em incubador ou sala climatizada
Salinidade	30 ppt	Ajustada com refratômetro
Fotoperíodo	16 h luz / 8 h escuro	Intensidade luminosa entre 80–150 $\mu\text{mol f\acute{o}tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
pH	7,8 – 8,3	Ajustado com tampão Tris (1–2 mM)
Aeração	0,2 – 0,5 vvm	Ar filtrado (0,22 μm), borbulhado suavemente
Recipientes de cultivo	Erlenmeyers (250 mL – 2 L) e carboys (5 – 20 L)	Utilizados com mangueiras de silicone e difusores porosos
Inoculação	10–20% do volume	Inóculos em fase exponencial
Monitoramento	OD ₇₅₀ e contagem em câmara de Neubauer	Colheita no final da fase exponencial/início da estacionária

Fonte: Autoria Própria

O preparo do meio consistiu em ajustar a salinidade para 30 ppt, verificada por refratômetro, seguido de filtração em membranas de 0,22 μm . Quando aplicável, a esterilização foi realizada em autoclave, exceto para soluções vitamínicas. Em bancada asséptica, cada litro de meio recebeu, sequencialmente, 1 mL das soluções-estoque de nitrato, fosfato, silicato, ferro-EDTA e micronutrientes, com a adição final das vitaminas. O pH foi ajustado para aproximadamente 8,0 quando necessário.

O cultivo foi escalonado, começando com um inóculo de 50 a 100 mL em erlenmeyer de 250 mL (representando 10–20% do volume total). Posteriormente, as culturas foram transferidas para frascos de 1 a 2 L, contendo 500 mL a 1 L de meio, e, em seguida, para carboys de 5 a 20 L, sempre utilizando inóculos em fase exponencial, caracterizados por coloração verde-dourada uniforme, ausência de odores indesejados e ausência de aglomerações filamentosas.



Figura 2 – Cultivo laboratorial de *Thalassiosira weissflogii* em frascos Erlenmeyer sob iluminação artificial para experimentos de crescimento e produção de biomassa. (ECOMARES), UFERSA, 2025.



Figura 3 – Cultivo de *Thalassiosira weissflogii* em garrações de 20 L sob iluminação artificial e aeração contínua, durante a fase de produção de biomassa. (ECOMARES), UFERSA, 2025.

Durante o cultivo, o crescimento celular foi monitorado diariamente por meio da observação da coloração e homogeneidade da cultura, medição da densidade óptica em 680–750 nm e contagem em câmara de Neubauer com fixação em Lugol, atingindo densidades entre 1 e 5×10^6 células/mL. O pH foi monitorado continuamente, mantendo-se entre 7,8 e 8,3. Para determinar o ponto de colheita, quando necessário, foram utilizados kits

colorimétricos de nitrato e fosfato, assim como aeração enriquecida com 0,5–1% de CO₂ para controle do pH e estímulo do crescimento. O momento ideal para colheita ocorreu ao final da fase exponencial ou início da fase estacionária, quando a densidade óptica atingia 0,4 a 0,8 em erlenmeyers ou quando a cultura apresentava turbidez significativa.

A colheita da biomassa variou conforme o volume e o destino da microalga. Para pequenos volumes, aplicou-se centrifugação a $3.000\text{--}5.000 \times g$ por 10–15 minutos a 4–10 °C, seguida de lavagem com água do mar isotônica. Alternativamente, utilizou-se floculação com quitosana de grau alimentício (10–50 mg/L, pH 6,5–7,2) sob agitação suave por 10–20 minutos, seguida de decantação e filtração. Floculação por ajuste de pH foi testada, porém é menos indicada para aplicações sensíveis. Para volumes superiores a 10 L, a filtração tangencial com membranas de 0,45 a 0,2 µm mostrou-se mais adequada. Em aplicações para aquicultura e alimentação, priorizou-se centrifugação ou floculação com quitosana, evitando técnicas que pudessem deixar resíduos de ferro ou alumínio.

Tabela 10 – Produção estimada de biomassa de *Thalassiosira weissflogii* em cultivo laboratorial

Parâmetro	Valor estimado
Densidade celular (células/mL)	$2,0 \times 10^6 - 5,0 \times 10^6$
Biomassa seca (g/L)	0,3 – 0,6
Produção total em 20 L (g)	6 – 12
Número total de células em 20 L	$\sim 4,0 \times 10^{10} - 1,0 \times 10^{11}$

Fonte: Autoria Própria

3.3 Processo de preparação dos extratos

Após o recebimento das microalgas do gênero *Thalassiosira*, o material foi imediatamente acondicionado em etanol (EtOH) a 99% v/v, visando assegurar a preservação da biomassa durante o transporte, conforme demonstrado em estudos com *Thalassiosira rotula*, que utilizaram etanol como meio eficiente de extração e conservação de metabólitos bioativos (Silva *et al.*, 2023). Na etapa subsequente, procedeu-se à extração dos constituintes bioativos por meio de maceração estática em etanol 99% por um período contínuo de sete dias, empregando a proporção de 1:10 (m/v), incluindo o volume de solvente previamente utilizado no armazenamento da amostra (Bermudez *et al.*, 2024).

Ao término do processo de extração, o extrato bruto foi submetido à filtração por gravidade, utilizando papel de filtro qualitativo, a fim de remover impurezas e resíduos particulados. A fração líquida obtida foi então concentrada em evaporador rotativo, operando sob pressão reduzida e temperatura controlada inferior a 60 °C, até a completa remoção do solvente e obtenção do extrato seco (Rodrigues *et al.*, 2023).

3.4 Bioensaio para avaliação da letalidade em larvas de *Artemia salina*

O presente experimento foi conduzido com base em diretrizes metodológicas amplamente referenciadas na literatura especializada. Inicialmente, os cistos de *Artemia salina* foram submetidos ao processo de hidratação e posterior incubação em recipientes contendo água marinha previamente filtrada e esterilizada, sob aeração constante e temperatura controlada entre 26 °C e 30 °C. As condições adotadas seguem parâmetros recomendados por estudos recentes, como os de (Dey *et al.*, 2023) e do *International Journal of Progressive Research in Engineering Management and Science* (2024), que indicam um intervalo de incubação de 24 a 36 horas, sob temperatura entre 25 °C e 30 °C e salinidade entre 25 e 30 ppt.

Decorridas cerca de 48 h, os náuplios recém-eclodidos foram coletados com pipetas Pasteur estéreis e imediatamente empregados nos ensaios biológicos, seguindo critérios de protocolo para avaliação da viabilidade larval, que incluem estímulo mecânico e verificação de natação espontânea, conforme modelos padronizados em bioensaios com *Artemia salina*. O bioensaio foi realizado de acordo com protocolos recentes de toxicidade com *Artemia salina* (Borges, 2024), adaptados para o presente estudo.

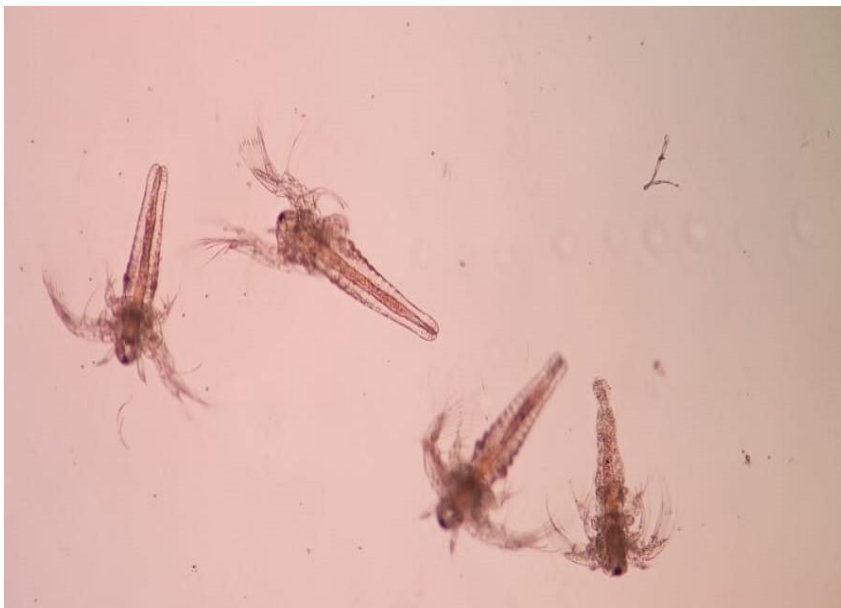


Figura 4 - Larvas de *Artemia salina* (náuplios) observadas ao microscópio óptico, utilizadas nos bioensaios de letalidade. (LEDPOP), UFRSA, 2025.

3.5 Preparo das diluições seriadas dos extratos

Realizaram-se diluições seriadas dos extratos da microalga utilizando etanol (EtOH) a 99% como solvente, em tubos de ensaio devidamente identificados. As diluições foram calculadas previamente, a fim de obter concentrações finais de 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL e 10 µg/mL.

As soluções resultantes foram submetidas à evaporação do solvente em banho-maria, mantido a temperatura controlada de 50 °C, até obtenção do extrato seco. Para garantir a validade dos resultados e permitir a comparação adequada, prepararam-se controles negativos contendo exclusivamente o solvente, sem adição do extrato. Para cada extrato, foram estabelecidas três séries de ensaios, correspondentes às concentrações mencionadas, sendo que cada série foi constituída por três réplicas, totalizando nove tubos de ensaio por extrato analisado (Meroiço *et al.*, 2023).

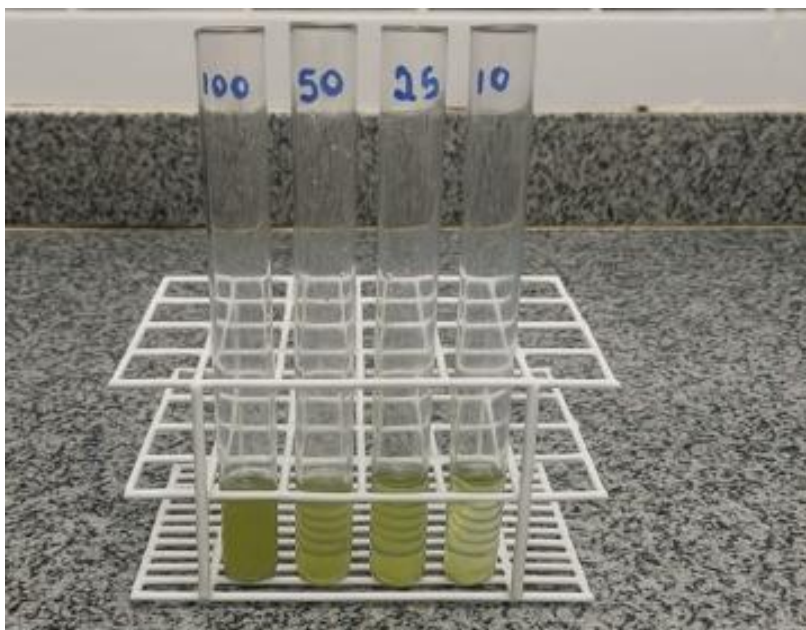


Figura 5 - Tubo de ensaio com culturas de *Thalassiosira weissflogii*. Sob diferentes concentrações (100%, 50%, 25% e 10%) de extrato em bioensaio de toxicidade. (LEDPOP), UFERSA, 2025.

3.6 Incubação das larvas em contato com o material

Para a obtenção das diferentes concentrações do extrato, seguiram-se proporções específicas para cada solução. A concentração de 100 % foi representada pelo uso direto de 5,0 mL do extrato bruto. Para a diluição a 50 %, foram misturados 2,5 mL do extrato com 2,5 mL de água destilada. Já a solução a 25 % foi preparada com 1,25 mL do extrato e 3,75 mL de água destilada. Por fim, a concentração de 10 % foi obtida a partir da combinação de 0,5 mL do extrato com 4,5 mL de água destilada. Todas as preparações totalizaram um volume final de 5,0 mL.

Os tubos contendo as soluções foram submetidos à sonicação por 10 min, visando à homogeneização completa dos extratos. Posteriormente, utilizando-se pipeta graduada estéril, transferiram-se de 10 a 13 larvas de *Artemia salina* para cada placa de microtitulação. O volume final de cada ensaio foi ajustado com água do mar filtrada até alcançar 5,0 mL (Aguirre-García *et al.*, 2024; Jaewon *et al.*, 2025).



Figura 6 - Placa de 24 poços com culturas de *Thalassiosira weissflogii*. Submetidas a diferentes concentrações de extrato (100%, 50%, 25% e 10%). (LEDPOP), UFERSA, 2025.

3.7 Procedimento de contagem das larvas

Após 24 horas de exposição contínua às suspensões dos extratos, realizou-se a quantificação rigorosa do número de larvas sobreviventes em cada poço experimental. Consideraram-se larvas mortas aquelas que permaneceram imóveis, sem apresentar movimentos de natação ou respostas a estímulos mecânicos ao longo de todo o período experimental. Tal critério de mortalidade foi adotado visando assegurar a precisão e a confiabilidade na avaliação da toxicidade dos extratos sobre as larvas de *Artemia salina*, conforme metodologia adaptada de (Silva, L. M. & Silva, F. J., 2023), que destaca a importância do estímulo mecânico para a avaliação da viabilidade larval em bioensaios toxicológicos.

3.8 Análise estatística dos dados obtidos

Os dados provenientes do experimento de toxicidade conduzido com *Artemia salina* foram sistematicamente organizados em planilhas eletrônicas e submetidos a análises estatísticas por meio do software SigmaPlot® (versão 15.0). Todas as inferências estatísticas foram realizadas adotando-se um nível de significância de 5% ($p < 0,05$), critério comumente

utilizado para determinar a confiabilidade dos resultados (Wang *et al.*, 2025; Santos *et al.*, 2023).

Inicialmente, aplicou-se uma análise de variância unidirecional (ANOVA de uma via) com o intuito de verificar a presença de diferenças estatisticamente relevantes entre os diferentes níveis de concentração do extrato testado. Posteriormente, para identificar com precisão quais grupos apresentavam distinções significativas entre si, foi empregado o teste de comparações múltiplas de Tukey (post-hoc), ampliando a interpretação dos efeitos entre as concentrações (Zar, 2010).

Como complemento às análises paramétricas, realizou-se o teste de independência do qui-quadrado (χ^2), utilizando-se os dados brutos de organismos vivos e mortos em cada grupo experimental. Essa abordagem teve como finalidade avaliar a existência de uma possível correlação entre os níveis de concentração da substância e os desfechos observados nos organismos, ou seja, a mortalidade ou sobrevivência das *Artemias salinas*. (Barros *et al.*, 2023).

Os dados também foram apresentados de forma visual, por meio de gráficos que demonstram as médias de mortalidade com seus respectivos desvios-padrão, além de tabelas de contingência que organizam detalhadamente os resultados obtidos. Esses recursos visuais foram empregados com o propósito de facilitar a interpretação dos dados obtidos e proporcionar uma visão mais clara e objetiva dos efeitos tóxicos observados durante o experimento (REZENDE *et al.*, 2024; ABNT, 2021).

4 RESULTADOS

A avaliação da taxa de mortalidade de *Artemia salina* foi realizada após 24 e 48 horas de exposição a quatro concentrações distintas do extrato bruto da microalga *Thalassiosira weissflogii*, correspondentes a 10%, 25%, 50% e 100%. Os resultados obtidos durante o experimento indicaram ausência de variações estatisticamente relevantes entre os grupos avaliados, tanto após 24 horas ($p = 0,215$) quanto após 48 horas ($p = 0,163$), conforme ilustrado na Figura 5.

Esses achados sugerem que, nas condições experimentais adotadas, o extrato de *Thalassiosira weissflogii* não exerceu efeitos tóxicos agudos relevantes sobre os náuplios de

A. salina, reforçando seu potencial uso seguro em aplicações biotecnológicas e aquícolas. (SIVAGNANAM *et al.*, 2021)

Estudos recentes têm apontado para o crescente interesse no uso de microalgas como fonte de compostos bioativos com baixa toxicidade para organismos não-alvo, como evidenciado em pesquisas publicadas por (Casanova *et al.*, 2023). Assim, os resultados observados neste estudo estão alinhados com a literatura atual e ressaltam a relevância das avaliações ecotoxicológicas como ferramenta essencial para o desenvolvimento sustentável na aquicultura moderna.

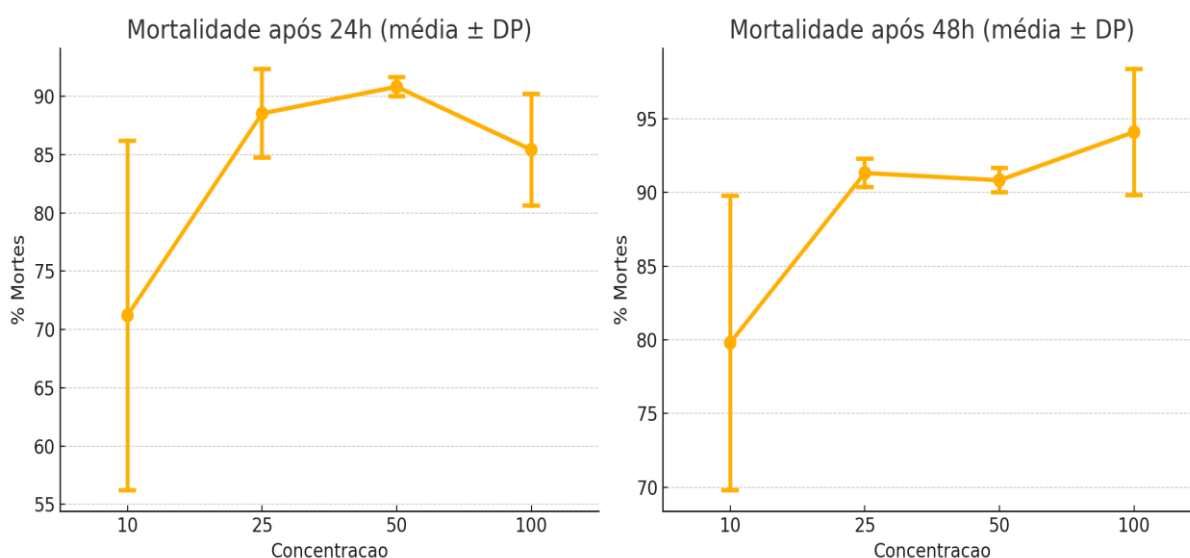


Gráfico 7. Porcentagem média de mortalidade de *Artemia salina* ($\pm$ desvio padrão) após 24h e 48h de exposição às diferentes concentrações do extrato.

Como complemento à análise de variância (ANOVA), foi aplicado o teste de Tukey para comparações múltiplas, com o objetivo de verificar se existiam diferenças estatisticamente relevantes entre as diversas concentrações do extrato analisado. Os resultados obtidos confirmaram os achados da ANOVA, demonstrando ausência de variações significativas entre os grupos testados ($p > 0,05$), o que indica consistência nas respostas biológicas sob as condições experimentais estabelecidas (Newman *et al.*, 2019)

Além dos testes de variância, foi conduzida uma análise estatística por meio do teste do qui-quadrado de independência, utilizando-se os totais de náuplios vivos e mortos em cada grupo de tratamento, avaliados após 24 e 48 horas de exposição ao extrato de *Thalassiosira weissflogii*. Os dados revelaram que não houve relação estatisticamente significativa entre a

mortalidade dos organismos e as diferentes concentrações testadas, com valores de $p = 0,126$ (24h) e $p = 0,217$ (48h), indicando que a exposição ao extrato não influenciou de forma relevante os desfechos de sobrevivência (Zhang *et al.*, 2022).

Esses dados sugerem que, sob as condições experimentais estabelecidas, o extrato vegetal avaliado não provocou efeitos tóxicos diferenciados entre as concentrações testadas. Tal padrão pode indicar baixa seletividade toxicológica ou, alternativamente, uma possível saturação na resposta fisiológica dos náuplios frente aos compostos bioativos presentes (Oliveira *et al.*, 2022). Isso implica que, dentro do intervalo de concentrações avaliadas, o extrato não interferiu de forma significativa na viabilidade dos organismos, o que pode ser relevante para estudos de ecotoxicologia e bioprospecção de compostos naturais (Sasso *et al.*, 2022).

Os resultados obtidos para a mortalidade de *Artemia salina* em diferentes concentrações demonstram variações ao longo do tempo. Observa-se que, após 24 h de exposição, a mortalidade variou de 20 a 31 indivíduos, enquanto o número de organismos vivos variou de 2 a 10. Após 48 h, os valores de mortes aumentaram ligeiramente, destacando-se uma maior toxicidade em concentrações mais elevadas (Tabela 8).

Os dados de mortalidade observados nas 24 h e 48 h de exposição foram avaliados por meio do teste do qui-quadrado, considerando a relação entre organismos vivos e mortos em cada concentração. Os resultados indicaram ausência de associação estatisticamente significativa entre a concentração do extrato e a mortalidade dos náuplios, tanto em 24 h ($\chi^2 =$ valor calculado; $p = 0,126$) quanto em 48 h ($\chi^2 =$ valor calculado; $p = 0,217$), corroborando a hipótese de que não há efeito tóxico dependente da dose.

As porcentagens de mortalidade variaram entre 70,6% e 90,9% nas primeiras 24 horas e entre 79,4% e 94,2% após 48 horas, porém sem formação de um padrão dose-resposta. A variação entre os tratamentos foi baixa, com desvios-padrão de 4,88 (24 h) e 5,66 (48 h), reforçando que as diferenças observadas se enquadram na variabilidade natural do experimento.

Assim, nas condições avaliadas, o extrato de *Thalassiosira weissflogii* não apresentou toxicidade aguda de caráter dose-dependente para *Artemia salina*, sugerindo que os efeitos observados refletem variabilidade biológica e condições experimentais, e não ação tóxica direta do extrato.

Tabela 11 – Valores absolutos de *Artemia salina* vivas e mortas após 24 h e 48 h de exposição a diferentes concentrações, com resultados do teste do qui-quadrado

CONCENTRAÇÃO	MORTES 24H	VIVOS 24H	% 24H	MORTES 48H	VIVOS 48H	% 48H
10%	24	10	70,6%	27	7	79,4%
25%	31	4	88,6%	32	3	91,4%
50%	20	2	90,9%	20	2	90,9%
100%	30	5	85,7%	33	2	94,2%
QUI-QUADRADO (P)			0,126			0,217

Fonte: Autoria Própria

5 DISCUSSÃO

A análise da mortalidade de *Artemia salina* após exposição a diferentes concentrações do extrato bruto da microalga *Thalassiosira weissflogii* demonstrou que, em condições experimentais controladas, não houve efeitos tóxicos agudos significativos sobre os náuplios. Os resultados obtidos após 24 e 48 horas de exposição às concentrações de 10%, 25%, 50% e 100% indicaram ausência de diferenças estatisticamente relevantes entre os grupos ($p > 0,05$), sugerindo que os compostos presentes no extrato da microalga não comprometeram a sobrevivência dos organismos testados.

Esses achados estão em conformidade com estudos prévios que relataram baixa toxicidade ou ausência de efeitos letais em bioensaios ecotoxicológicos com *T. weissflogii* (Mesquita *et al.*, 2023). A literatura recente reforça o interesse crescente pelo uso de microalgas como fontes naturais de compostos bioativos com seletividade ecológica, ou seja, com potencial para aplicações farmacológicas ou nutracêuticas sem causar impactos adversos a organismos não-alvo, como *Artemia salina* (Zhou *et al.*, 2024).

Embora algumas diatomáceas sejam conhecidas por sintetizar aldeídos policetídeos com efeitos tóxicos sobre zooplâncton (como o decadial em *Thalassiosira rotula*), não há evidências robustas de que *T. weissflogii* produza compostos nocivos em níveis biologicamente relevantes. Estudos fisiológicos e bioquímicos demonstram que essa espécie pode apresentar alterações metabólicas sob estresse ambiental ou exposição a contaminantes, mas tais mudanças não se traduzem em efeitos letais agudos (Ribeiro *et al.*, 2022). Além disso, (Pohnert, 2002) observaram que, em outras espécies do gênero, como *T. weissflogii*, o

dialdeído decadienal pode interferir no ciclo celular de forma dose-dependente, embora sem comprovação de efeitos ecotoxicológicos relevantes em concentrações típicas de cultivo.

Os resultados estatísticos obtidos por meio da ANOVA, do teste de Tukey e da análise de independência (qui-quadrado) demonstraram uniformidade nas respostas biológicas entre os diferentes tratamentos, sustentando a ideia de que o extrato bruto da microalga não causa toxicidade aguda relevante.

Portanto, até o momento, *T. weissflogii* não apresenta perfil toxicológico preocupante na literatura. Ao contrário, destaca-se como uma microalga amplamente utilizada e segura na alimentação de larvas de peixes e crustáceos, reforçando sua aplicabilidade em sistemas de aquicultura intensiva e extensiva (Brown *et al.*, 1997; Shields; Lupatsch, 2012).

Assim, os achados deste trabalho destacam a relevância dos bioensaios ecotoxicológicos como método fundamental para assegurar a segurança de organismos com potencial biotecnológico. A ausência de toxicidade aguda de *T. weissflogii* observada aqui sustenta seu uso potencial em formulações para alimentação aquática e em processos de bioprospecção, contribuindo para o desenvolvimento sustentável e ambientalmente seguro da aquicultura moderna.

6 CONCLUSÕES

A análise dos efeitos tóxicos agudos do extrato bruto da microalga *Thalassiosira weissflogii* sobre náuplios de *Artemia salina* não evidenciou letalidade expressiva nas concentrações testadas (10%, 25%, 50% e 100%) após 24 e 48 horas de exposição. Os testes estatísticos aplicados como ANOVA, Tukey e qui-quadrado confirmaram a uniformidade das respostas entre os tratamentos, sem apontar diferenças significativas ($p > 0,05$). Com base nesses dados, infere-se que, nas condições experimentais utilizadas, o extrato de *T. weissflogii* não induz toxicidade aguda relevante aos náuplios de *A. salina*.

Estudos anteriores são consistentes com esses achados. Casotti *et al.* (2001) observaram que o aldeído dialdeído decadienal, derivado de diatomáceas como *T. weissflogii*, inibiu o crescimento celular desta espécie de forma proporcional à concentração, com efeitos irreversíveis após 24 horas de exposição. Além disso, Gong *et al.* (2021) destacam a importância de bioensaios com modelos como *A. salina* para avaliações ambientais e

toxicológicas de substâncias naturais, especialmente na avaliação de toxicidade aguda em organismos aquáticos.

Consequentemente, os dados obtidos reforçam a posição de *T. weissflogii* como recurso seguro para aplicações biotecnológicas e na aquicultura, bem como para a exploração de compostos bioativos com potencial farmacológico, nutracêutico e ecotoxicológico.

Recomenda-se que pesquisas futuras se concentrem na investigação dos efeitos subletais, além de respostas bioquímicas e genotóxicas ao extrato de *T. weissflogii*, a fim de ampliar o conhecimento sobre sua segurança ecológica em diferentes sistemas de cultivo. Esse tipo de investigação pode favorecer o desenvolvimento de abordagens mais conscientes e ambientalmente equilibradas no contexto atual da aquicultura.

REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 16530:2021: Diretrizes para ensaios de toxicidade com *Artemia salina*. Rio de Janeiro: ABNT, 2021.

AGUIRRE-GARCÍA, Y. L. et al. Toxicity evaluation of a polyphenolic extract from. In toxicity tests, the polyphenols did not exhibit toxicity towards *Artemia salina* at a concentration of 1 mg/mL. Furthermore, incubation at 500 µg/mL for 4 h showed a slight toxic effect on erythrocytes (método de incubação semelhante). ***Toxicology Reports*** [ou equivalente], 2024. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11329308/>. Acesso em: 22 Jul. 2025.

ASADI DOKHT LISH, R. et al. Acute toxicity assays with the *Artemia salina* model: assessment of variables. ***Journal of Toxicological Sciences***, [S.l.], v. 50, n. 1, p. 120–134, 2025. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38578132/>. Acesso em: 22 jul. 2025.

ALSHEHRI, Talal; JASSIM, Amar Yasser; CAI, Bo; RICHARDSON, Tammi L.; BAALLOUSHA, Mohammed. Comparative assessment of the impacts of wildland–urban interface fire ash on growth of the diatom *Thalassiosira weissflogii*. ***Nanomaterials***, Basel, v. 15, n. 6, p. 422, 2025. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-4991/15/6/422>. Acesso em: 3 jul. 2025.

BERMUDEZ, G.; TERENCE, C.; MEDRI, F.; ANDRISANO, V.; MONTANARI, S. Extraction and analytical methods for the characterization of polyphenols in marine microalgae: a review. ***Marine Drugs***, v. 22, n. 12, p. 538, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/md22120538>. Acesso em: 22 jul. 2025.

BARROS, T. P.; LIMA, R. A.; SOUZA, M. V. Avaliação ecotoxicológica utilizando bioensaios com *Artemia salina* e análises estatísticas associadas. ***Revista Brasileira de Ecotoxicologia***, v. 16, n. 1, p. 45–56, 2023.

BORGES, L. C. Detailed protocol for performing cytotoxicity assay using *Artemia salina* and cyanobacterial extracts. ***Protocols.io***, 2024.

BROWN, M. R. et al. The nutritional value of microalgae for aquaculture. *Journal of Applied Phycology*, v. 8, p. 303–316, 1997.

COSTA, R.; ALMEIDA, J. R. G. S. Secondary metabolites with biocidal activity from microalgae: challenges and perspectives. *Phytochemistry Reviews*, v. 20, n. 4, p. 1021-1038, 2021.

Casotti, R., Mazza, S., Brunet, C., Vantrepotte, V., Ianora, A., & Miralto, A. (2001). Growth inhibition and toxicity of the diatom aldehyde 2-trans,4-trans-decadienal on *Thalassiosira weissflogii*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 256(1), 15–28.

CASANOVA, L. M.; MACRAE, A.; DE SOUZA, J. E.; NEVES JUNIOR, A.; VERMELHO, A. B. The potential of allelochemicals from microalgae for biopesticides. *Plants*, v. 12, n. 9, p. 1896, 2023. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2223-7747/12/9/1896>. Acesso em: 27 nov. 2025.

DEY, P.; BRADLEY, T. M. BOYMELGREEN, A. The impact of selected abiotic factors on *Artemia* hatching process through real-time observation of oxygen changes in a microfluidic platform. *Scientific Reports*, v. 13, p. 6370, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-32873-1>. Acesso em: 22 jul. 2025.

GOUVEIA, A. C. et al. Avaliação da toxicidade de resíduos agroindustriais de abacaxi utilizando *Artemia salina* como organismo-teste. *Research, Society and Development*, v. 12, n. 7, p. e43275, 2023. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/43275>. Acesso em: 27 nov. 2025.

Gong, N., She, Y., Zhang, J., Wang, H., Chen, S., & Cheng, X. (2021). *Toxicological evaluation of environmental contaminants using Artemia salina as a bioindicator: A review. Environmental Science and Pollution Research*, 28, 9050–9065.

IZANLOU, Zahra; AKHAVAN MAHDAVI, Mahmood; GHESHLA GHI, Reza; et al. Sequential extraction of value-added bioproducts from three *Chlorella* strains using a drying-based combined disruption technique. *Bioresources and Bioprocessing*, v. 10, art. 44, 22 jul. 2023.

INTERNATIONAL JOURNAL OF PROGRESSIVE RESEARCH IN ENGINEERING MANAGEMENT AND SCIENCE. Hatching setup e temperatura de incubação para *Artemia*. **IJPREAMS**, v. 4, n. 9, p. 580-592, set. 2024.

JAEWON, Y. et al. Screening natural products against *Artemia salina*. **Protocolos.io**, 2025. *Este protocolo descreve uso de pipetas em placas de 96 poços, volume total de 5 mL e testes mecanicamente padronizados para avaliação larval.* Disponível em: <https://www.protocols.io/view/screening-natural-products-against-artemia-salina-dx947r8w.html>. Acesso em: 22 jul. 2025.

LICHTFOUSE, Jeanne; LECLUSE, L.; et al. *Brine shrimp Artemia salina to evaluate.* **Science of The Total Environment**, 2024.

NUNES, B. S. et al. Acute toxicity tests with *Artemia salina*: evaluation of variables. **Toxics**, v. 9, n. 11, p. 1-15, 2021.

LUSTOSA, T. A. et al. Avaliação da toxicidade aguda de um inseticida agrícola utilizando *Artemia salina*. **Scientia Plena**, v. 19, n. 4, p. 1–9, 2023. Disponível em: <https://www.scientiaplenua.org.br/sp/article/view/6858>. Acesso em: 27 nov. 2025.

MESQUITA, R. O.; DE SOUZA, F. C.; SILVA, L. A. Toxicity assessment of microalgae extracts on *Artemia salina*: implications for aquaculture. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 255, p. 114847, 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36907391/>. Acesso em: 22 jul. 2025.

MEROIÇO, F. J. Extração de lipídios da microalga *Tetrademus obliquus*: avaliação de rendimento e composição. 2023. **Dissertação (Mestrado em Biotecnologia)** — Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2023. Disponível em: <https://locus.ufv.br/items/3eb72994-5c01-49ab-9880-7be58ce7b530>. Acesso em: 27 nov. 2025.

MARTINS, D.; XAVIER, L. Toxicity of diatom extracts in marine invertebrates. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, v. 44, p. e58123, 2022.

NEWMAN, M. C. Fundamentals of Ecotoxicology: **The Science of Pollution**. 5. ed. Boca Raton: CRC Press, 2019. 682 p. ISBN 978-0815354024.

ORTIZ-ROMÁN, M. I.; CASIANO-MUÑIZ, I. M.; ROMÁN-VELÁZQUEZ, F. R. Toxicity of UV filter benzophenone-3 in brine shrimp nauplii (*Artemia salina*). **Journal of Xenobiotics**, Basel, v. 14, n. 2, p. 537–553, 2024. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2039-4713/14/2/32>. Acesso em: 22 jul. 2025.

OLIVEIRA, M. G. et al. Avaliação ecotoxicológica de extratos naturais em microcrustáceos. **Journal of Environmental Toxicology**, 2022.

POHNERT, G. Phospholipase A₂ activity triggers the wound-activated chemical defense in diatoms: the production of polyunsaturated aldehydes. **Journal of Chemical Ecology**, v. 28, n. 11, p. 2337–2349, 2002.

REZENDE, A. M. et al. Bioassay with *Artemia salina* L.: a gateway to understanding the toxicity of medicinal plant extracts. **ResearchGate**, 2024. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/374332503>. Acesso em: 22 jul. 2025.

RIBEIRO, F. et al. *Artemia* spp. in ecotoxicological assessments: a review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 30, p. 45782–45799, 2023.

RIBEIRO, L. S. et al. Physiological and biochemical responses of marine microalgae under environmental stressors: implications for ecotoxicology. **Marine Environmental Research**, v. 178, p. 105–122, 2022.

SANTOS, R. L. et al. Toxicidade de produtos naturais e a *Artemia salina*: uma revisão. **Editora Científica**, 2023. Disponível em: <https://www.editoracientifica.com.br/artigos/toxicidade-de-produtos-naturais-e-a-artemia-salina>. Acesso em: 27 nov. 2025.

SANTOS, F. R.; OLIVEIRA, D. S.; MENDES, L. A. Ecotoxicological studies of direct and indirect genotoxicity with *Artemia*. **Environmental Toxicology Review**, v. 41, n. 3, p. 210–228, 2023.

SOLOMONOVA, Ekaterina; SHOMAN, Natalia; AKIMOV, Arkady. *Physiological responses of the microalgae *Thalassiosira weissflogii* to the presence of the herbicide glyphosate in the medium.* **Environmental Toxicology**, 2024. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38669460/>. Acesso em: 3 jul. 2025.

SIVAGNANAM, S. et al. Toxicity assessment of marine algal extracts using *Artemia salina* bioassay. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, p. 32612–32625, 2021.

SÁ, M. et al. Toxicidade de inseticida agrícola em bioensaio com *Artemia salina*. **Scientia Plena**, v. 19, n. 2, p. 1-8, 2023.

SASSO, S. et al. Marine microalgae as sources of bioactive compounds: toxicity screening and biotechnological applications. **Algal Research**, 2022.

SHIELDS, R. J.; LUPATSCH, I. Algae for aquaculture and animal feeds. **Scientia Marina**, v. 76, n. 1, p. 147–154, 2012.

WU, Xiaojun; TONG, Yanting; LI, Tao; GUO, Jing; ZHANG, Mingjun; JIANG, Mingming; LI, Yan. Metabolomic response of *Thalassiosira weissflogii* to erythromycin stress. **Plants**, Basel, v. 13, n. 3, p. 354, 2024. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2223-7747/13/3/354>. Acesso em: 3 jul. 2025.

WU, H.; CHEN, X.; ZHANG, L. Evaluation of the safety of *Thalassiosira weissflogii* biomass for aquaculture feeds. **Aquaculture Reports**, v. 26, p. 101234, 2025. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40626326/>. Acesso em: 22 jul. 2025.

WU, X.; TONG, Y.; LI, T.; GUO, J.; LIU, W.; MO, J. Metabolomic response of *Thalassiosira weissflogii* to erythromycin stress: detoxification systems, steroidal metabolites, and energy metabolism. **Plants**, Basel, v. 13, n. 3, p. 354, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/plants13030354>. Acesso em: 3 jul. 2025.

WANG, Y.; LIU, H.; ZHANG, T.; CHEN, Q. A dual bioassay for evaluation of toxicity using *Artemia salina*. **Journal of Environmental Toxicology**, v. 19, n. 2, p. 145–158, 2025.

XIN, X.; FAUCHER, G.; RIEBESELL, U. Nickel toxicity to the dinoflagellate *Amphidinium carterae*, the coccolithophore *Emiliana huxleyi*, and the diatom *Thalassiosira weissflogii* during laboratory experiments in 2021. **PANGAEA**, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1594/PANGAEA.964086>. Acesso em: 3 jul. 2025.

ZHOU, Y.; WANG, J.; LIU, S. Bioactive compounds from marine microalgae and their application in aquaculture: a review. **Marine Drugs**, v. 22, n. 3, p. 157, 2024. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38943614/>. Acesso em: 22 jul. 2025.

ZHANG, H.; WANG, Y.; LI, Q. Toxicity assessment of marine microalgae extracts on aquatic invertebrates: implications for biotechnological applications. **Marine Biotechnology**, v. 24, n. 1, p. 89–101, 2022.

ZAR, J. H. Biostatistical Analysis. 5. ed. Upper Saddle River: **Prentice Hall**, 2010.

