

TOXICIDADE AGUDA DE BIOESTIMULANTE DE EXTRATO DE ALGA VERMELHA EM CLADOCERA

Erika dos Santos Silva ¹

Alexandra dos Santos Ambrósio ²

Anelise Vieira Rosa Fernandes da Silva ³

Juliana Leme Barbosa ⁴

Maria José dos Santos-Wisniewski ⁵

Sandro Barbosa ⁶

Recursos hídricos e qualidade da água

Resumo

O aumento da demanda alimentar levou à maior utilização de fertilizantes, intensificando os impactos ambientais. Assim, os bioestimulantes, como os de algas marinhas, surgem como alternativa sustentável. O objetivo foi investigar os possíveis riscos ambientais associados ao uso desse bioestimulante agrícola em ecossistemas aquáticos tropicais. Os testes foram realizados com neonatos de *C. silvestrii* expostos a diferentes concentrações do extrato (0,1; 0,2; 0,6; 1; 2; 3 e 4%) por 48 horas, em ambiente controlado. A mortalidade dos organismos foi registrada para calcular a concentração efetiva mediana (CE50). Os resultados indicaram que a concentração de 2,09% do extrato causou imobilidade em 50% dos organismos, com variações significativas nos parâmetros de qualidade da água, como condutividade elétrica, que aumentou com as concentrações mais altas de extrato. Além disso, notou-se que o aumento da salinidade nas soluções-teste, devido à natureza marinha da alga, pode ter contribuído para os efeitos tóxicos observados. O estudo demonstra que o uso indiscriminado de bioestimulantes à base de algas pode representar um risco para os ecossistemas de água doce, principalmente em concentrações elevadas. Esses resultados ressaltam a importância de avaliar o impacto ambiental desses produtos e sugerem a necessidade de mais estudos, incluindo testes crônicos, para compreender os efeitos de longo prazo na biota aquática.

Palavras-chave: *Ceriodaphnia silvestrii*; Ecotoxicologia; *Kappaphycus alvarezii*; Mobilidade, Sobrevivência.

¹ Pesquisadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, Universidade Federal de Alfenas – Campus Alfenas – Departamento de Ciências da Natureza, erika.silva@unifal-mg.edu.br

² Mestra em Ciências Ambientais, Universidade Federal de Alfenas – Campus Alfenas – Departamento de Ciências da Natureza, alexandra_dsa@hotmail.com.

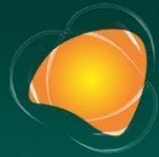
³ Aluna do curso de Ciências Biológicas Licenciatura – Universidade Federal de Alfenas – Campus Alfenas – Departamento de Ciências da Natureza, anelise.fernandes@sou.unifal-mg.edu.br.

⁴ Aluna do curso de Ciências Biológicas Bacharelado – Universidade Federal de Alfenas – Campus Alfenas – Departamento de Ciências da Natureza, juliana.barbosa@sou.unifal-mg.edu.br.

⁵ Prof^o. Dr^a. (s) Universidade Federal de Alfenas – Campus Alfenas – Departamento de Ciências da Natureza, zeze.wisniewski@unifal-mg.edu.br.

⁶ Prof. Dr. (s) Universidade Federal de Alfenas – Campus Alfenas – Departamento de Ciências da Natureza, sandro.barbosa@unifal-mg.edu.br.

REALIZAÇÃO



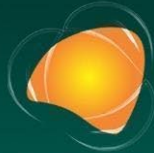
INTRODUÇÃO

Com o aumento populacional e a crescente demanda pela produção de alimentos, a indústria alimentícia tem explorado novos métodos para ampliar a produção e atender às necessidades cada vez maiores. Com isso, os fertilizantes passaram a ser de grande importância, pois se classifica como um insumo essencial para o aumento da produtividade da lavoura. Porém, o uso indiscriminado ou não estratégico de fertilizantes químicos na agricultura pode causar diversos danos aos ecossistemas naturais devido aos seus impactos nocivos. Como uma alternativa mais limpa e sustentável para reduzir a necessidade de insumos de nutrientes sintéticos, os bioestimulantes estão sendo amplamente estudados (VENDRUSCOLO et al., 2024).

Bioestimulantes são substâncias aplicadas às culturas de plantas para melhorar o rendimento, a tolerância ao estresse biótico e abiótico e a eficácia nutricional. Seu uso tem ganhado destaque globalmente como uma estratégia para aumentar a produção agrícola com menor impacto ambiental, reduzindo a necessidade de fertilizantes sintéticos e oferecendo uma alternativa eficaz para incrementar o rendimento das culturas alimentares (IQBALA et al., 2023). Entre os diversos bioestimulantes, as algas marinhas têm sido amplamente utilizadas para promover o crescimento das plantas, além de melhorar a tolerância à seca, a eficiência do uso da água e a absorção de nutrientes e fortalecer suas defesas. Entre os bioestimulantes, a alga vermelha tropical *Kappaphycus alvarezii* tem ganhado relevância crescente como fonte de diversos extratos bioestimulantes (EL BOUKHARI et al., 2020).

Porém, apesar de seu uso extensivo como bioestimulante agrícola, pouco se sabe sobre os efeitos ecotoxicológicos do extrato de algas marinhas nos ecossistemas aquáticos dulcícolas. Os cladóceros, microcrustáceos frequentemente utilizados em testes ecotoxicológicos, são essenciais para avaliar a qualidade ambiental. A espécie de Cladocera *Ceriodaphnia silvestrii*, uma espécie nativa do Brasil, é recomendada como organismo de teste em protocolos técnicos e pesquisa ecotoxicológicas (ABNT, 2017). Devido à sua sensibilidade a diversos componentes tóxicos, torna-se um organismo ideal para estudos ambientais básicos e aplicados (MANSANO et al. 2016). Com isso, o objetivo desse estudo foi verificar a toxicidade aguda do extrato da alga marinha *Kappaphycus alvarezii* no cladóceros neotropical *Ceriodaphnia silvestrii*, a fim de estimar os possíveis riscos ambientais que esses bioestimulantes podem causar aos ecossistemas tropicais de água doce.

METODOLOGIA



EXTREMOS CLIMÁTICOS: **IMPACTOS ATUAIS** E RISCOS FUTUROS

Para os testes de toxicidade aguda, foi utilizada a espécie de Cladocera *C. silvestrii* Daday, 1902 (Crustacea, Cladocera, Daphnidae). As culturas foram mantidas sob temperatura e fotoperíodo controlados ($25 \pm 2^\circ\text{C}$ e 12:12-h claro/escuro) em água reconstituída com pH 7,0–7,6, condutividade de $160 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ e dureza de $40\text{--}48 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (CaCO_3). Os organismos foram alimentados diariamente com a alga *Raphidocelis subcapitata* (10^5 células. mL^{-1}) e uma suspensão contendo levedura (0,5%) e ração fermentada para peixes (0,5%), sendo fornecido $1\text{mL}\cdot\text{L}^{-1}$ (ABNT, 2017).

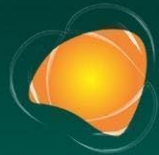
Os ensaios de toxicidade aguda seguiram os protocolos emitidos pela ABNT (2017) e com base nos resultados dos ensaios preliminares, foi estabelecida a faixa de concentrações para o extrato de alga: 4-3-2-1-0,6-0,2-0,1%. Para cada concentração foram utilizadas cinco réplicas e o controle (água reconstituída). O experimento foi realizado em copos plásticos de polipropileno atóxico contendo cinco neonatos (de 6-24 horas de vida) em 20 mL de solução teste ou água reconstituída (controle), mantidos em câmara de germinação à $25 \pm 2^\circ\text{C}$, sem adição de alimentos e no escuro. Após 48h de exposição, os organismos foram observados em um estereomicroscópio e o número de indivíduos imóveis foi contado e usado para determinar a concentração efetiva mediana (CE_{50} de 48h).

Para a análise dos dados, os valores da CE_{50} em 48h foram calculados por regressão não-linear, usando a curva logística de três parâmetros no software SigmaPlot 12.3 (SYSTAT SOFTWARE, 2013). Foi realizado um teste de normalidade (Shapiro-Wilk) e de variância (teste t). Em todos os testes estatísticos, a diferença foi considerada significativa quando $p \leq 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante os testes de toxicidade aguda, o pH das soluções teste permaneceu dentro da faixa de 7,0 e 7,6 e não variou em mais de 1,0 unidade em nenhum teste dado. Os outros parâmetros de qualidade da água variaram dentro de uma faixa estreita, com temperatura da água $24,1 - 25^\circ\text{C}$, dureza da água 40 a $44 \text{ mg CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$, e concentração de oxigênio dissolvido $5,89 - 7,9 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Assim, todos os testes atenderam aos critérios de validade definidos pela ABNT (2017). Nas soluções teste com maior concentração de extrato de alga a condutividade elétrica foi maior ($2390,0 \mu\text{Scm}^{-1}$ na solução de 4%).

No final dos testes de toxicidade aguda, a mortalidade no controle não excedeu 10%, conforme recomendado pelo ABNT (2017). O teste de referência (agudo) com NaCl também indicou que a



EXTREMOS CLIMÁTICOS: IMPACTOS ATUAIS E RISCOS FUTUROS

sensibilidade de *C. silvestrii* (EC 50 em 48-h) variou de 1,42 a 1,68 g L⁻¹ e estava dentro da faixa de referência de 1,00 a 1,83 g L⁻¹ (CASALI-PEREIRA et al., 2015). Nos testes de toxicidade aguda, os valores de EC₅₀ para o extrato da alga *K. alvarezii* foi de 2,09%, como evidenciado na figura 1. Os dados passaram no teste de normalidade e de variância, com $p < 0,0001$ e intervalo de confiança de 95%.

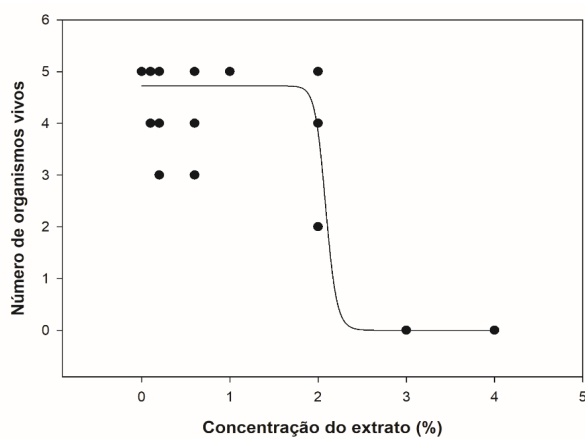
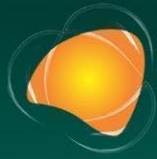


Figura 1: Mobilidade dos organismos *Ceriodaphnia silvestrii* expostos a diferentes concentrações do extrato de alga *K. alvarezii* após 48 h de exposição.

Segundo um estudo realizado por Vaghela et al. (2022), os extratos da alga *K. alvarezii* são compostos por diversos metabólitos, dentre eles, compostos fitoquímicos como fenóis, flavonoides, esteroides, quinonas, proteínas, lipídios, carotenoides e ácido ascórbico. Esses compostos possuem um importante papel na promoção do crescimento de plantas, sinalização hormonal, fotoproteção, conferindo resistência a doenças, propriedades antioxidantes, antimicrobianas e anti-herbivoria. Porém, pouco se conhece sobre o efeito tóxico desse extrato para organismos aquáticos, uma vez que é um composto utilizado em larga escala como bioestimulante na agricultura, podendo alcançar os ecossistemas de água doce.

De acordo com os testes realizados, uma concentração de 2,09% do extrato da alga *K. alvarezii* causou toxicidade em 50% dos organismos. De acordo com uma revisão realizada por Trivedi et al. (2023) sobre o uso do bioestimulante a base de *K. alvarezii*, as concentrações normalmente utilizadas nos cultivos das plantas variam de 0,5 a 15%, podendo ser preparada em água por imersão ou pulverização foliar em diferentes culturas. Essa concentração é maior quando comparada à que causou toxicidade efetiva mediana (CE₅₀ de 48h) no cladóceros testado no presente estudo (2,09%).

Foi observado um aumento da condutividade elétrica nas soluções-teste que continham concentrações maiores de extrato de alga, chegando a 2390,0 μScm^{-1} na concentração de 4%. O fato do



EXTREMOS CLIMÁTICOS: **IMPACTOS ATUAIS** E RISCOS FUTUROS

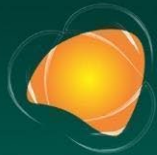
bioestimulante utilizado nos testes ser produzido a partir de uma espécie de alga marinha, pode ter ocasionado o aumento da salinidade das soluções. A alga pode liberar alguns sais na água, o que provoca um aumento dos valores de condutividade elétrica. A salinidade é um fator que afeta a dinâmica populacional zooplancônica, podendo prejudicar a sobrevivência dos organismos, como por exemplo os cladóceros, que são extremamente sensíveis às alterações nas condições físicas e químicas da água.

Além disso, o extrato de alga possui diversos compostos bioativos em sua composição, como citocinas, glicinas, proteínas e aminoácidos. Também contém compostos antimicrobianos e antibacterianos, incluindo incluem fenóis, terpenos, acetogeninas, indóis, ácidos graxos e hidrocarbonetos halogenados voláteis (TRIVED et al., 2023). Esses compostos quando disponíveis na água podem agir sozinhos ou sinergicamente, o que implica respostas fisiológicas e toxicológicas nos organismos testados. Um estudo testou o extrato de *K. alvarezii* e avaliou a sua capacidade de suprimir o câncer e observou que a alga possui propriedades antiproliferativas, inibindo a taxa de crescimento das células tumorais (CHANG, OKECHUKWU, TEO, 2017). Isso demonstra que o extrato pode provocar morte celular, sendo tóxico para os organismos testados no presente estudo

Assim, uso indiscriminado em altas concentrações de bioestimulantes à base de algas marinhas podem a um aumento da salinização dos ecossistemas de água doce, o que leva à degradação da qualidade da água, contribuindo para a perda de biodiversidade e substituição taxonômica por espécies (HUANG et al., 2022). Assim, estudos que avaliem a toxicidade aguda de bioestimulantes utilizando organismos testes são importantes para elucidar seu possível efeito na biota aquática. Novos estudos, com testes crônicos, são necessários para avaliar os efeitos na reprodução e sobrevivência dos organismos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estudos ecotoxicológicos desempenham um papel crucial na avaliação dos efeitos tóxicos de substâncias à base de alga marinha. O extrato da alga *Kappaphycus alvarezii* causou efeitos tóxico significativos na espécie *Ceriodaphnia silvestrii*, com mortalidade de 50% dos organismos expostos a uma concentração de 2% do extrato de alga. A toxicidade do extrato para os organismos deve-se provavelmente devido aos compostos bioativos presentes no bioestimulante, além da liberação de sais que causaram o aumento da salinidade, e conseqüentemente da condutividade elétrica das soluções testes de maiores concentrações. Este estudo demonstra a necessidade de um cuidadoso manejo no uso



EXTREMOS CLIMÁTICOS: **IMPACTOS ATUAIS** E RISCOS FUTUROS

de bioestimulantes, além de ressaltar a importância das avaliações ecotoxicológicas como forma de minimizar os impactos negativos nos ecossistemas aquáticos.

AGRADECIMENTOS

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) [Funding Code 001], CAPES/BRASIL MEC/SESu/FNDE/PET. Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) [BPD-00571-22].

REFERÊNCIAS

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 12713. **Aquatic ecotoxicology - acute toxicity - test with *Daphnia* spp. Crustacea, Cladocera**. Rio de Janeiro, Brasil, 2017.

CASALI-PEREIRA, M. P. et al. Toxicity of Vertimec® 18 EC (active ingredient abamectin) to the neotropical cladoceran *Ceriodaphnia silvestrii*. **Chemosphere**, v. 139, p. 558-564, 2015.

CHANG, Vi-Sion; OKECHUKWU, Patrick N.; TEO, Swee-Sen. The properties of red seaweed (*Kappaphycus alvarezii*) and its effect on mammary carcinogenesis. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 87, p. 296-301, 2017.

EL BOUKHARI, M. E. M. et al. Trends in seaweed extract based biostimulants: Manufacturing process and beneficial effect on soil-plant systems. **Plants**, v. 9, n. 3, p. 359, 2020.

HUANG, J. et al. Size-specific sensitivity of cladocerans to freshwater salinization: evidences from the changes in life history and population dynamics. **Environmental Pollution**, v. 296, p. 118770, 2022.

IQBAL, W. et al. Effect of foliar application of bio-stimulants on growth, yield and nutritional quality of broccoli. **Brazilian Journal of Biology**, v. 83, p. e263302, 2023.

MANSANO, A. S. et al. Acute and chronic toxicity of diuron and carbofuran to the neotropical cladoceran *Ceriodaphnia silvestrii*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, p. 13335-13346, 2018.

SYSTAT SOFTWARE. **SigmaPlot Version 12.3**. San Jose, California, 2013.

VAGHELA, P. et al. Characterization and metabolomics profiling of *Kappaphycus alvarezii* seaweed extract. **Algal Research**, v. 66, p. 102774, 2022.

VENDRUSCOLO, E. P. et al. Biostimulant potential of *Azospirillum brasilense* and nicotinamide for hydroponic pumpkin cultivation. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 28, n. 4, p. e278962, abr. 2024.