

RESSALVA

Atendendo solicitação do autor, o texto completo deste documento será disponibilizado somente a partir de 25/07/2027.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CÂMPUS DE ARARAQUARA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE BIOMATERIAIS E
BIOPROCESSOS
MESTRADO PROFISSIONAL**

RODOLFO OSIN DE MORAES

**BIOENSAIOS COM A LENTILHA D'ÁGUA (*LEMNA MINOR*) APLICADOS À
PROTOTIPAGEM E VALIDAÇÃO DE BIOINSUMOS AGRÍCOLAS À BASE DE
EXTRATO COMERCIAL DA MACROALGA MARROM *ASCOPHYLLUM NODOSUM***

ARARAQUARA

2025



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"



RODOLFO OSIN DE MORAES

**BIOENSAIOS COM A LENTILHA D'ÁGUA (*LEMNA MINOR*) APLICADOS À
PROTOTIPAGEM E VALIDAÇÃO DE BIOINSUMOS AGRÍCOLAS À BASE DE
EXTRATO COMERCIAL DA MACROALGA MARROM *ASCOPHYLLUM NODOSUM***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos (Mestrado Profissional), Área de Biomateriais, Bioprocessos, Bioprodutos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos.

Orientador: Prof. Dr. Levi Pompermayer Machado

Coorientadora: Profa. Dra. Bruna Roque Loureiro

ARARAQUARA

2025

M827b

Moraes, Rodolfo Osin de.

Bioensaios com a lentilha d'água (*Lemna minor*) aplicados à prototipagem e validação de bioinsumos agrícolas à base de extrato comercial da macroalga marrom *Ascophyllum nodosum* / Rodolfo Osin de Moraes. – Araraquara, 2025.
60 f. : il.

Dissertação (Mestrado Profissional) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho” Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós-graduação em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos.

Área de concentração: Biomateriais, Bioprocessos, Bioprodutos.

Orientador: Levi Pompermayer Machado.

Coorientadora: Bruna Roque Loureiro.

1. Bioestimulantes. 2. Crescimento vegetal sustentável. 3. Extrato de algas. 4. Lentilha-d'água. 5. Protocolo. I. Machado, Levi Pompermayer, orient. II. Loureiro, Bruna Roque, coorient. III. Título.

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP - Campus de Araraquara
Kazumi Tomoyose - CRB 8/10904

CAPES: 33004030170P0
Esta ficha não pode ser modificada

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: BIOENSAIOS COM A LENTILHA D'ÁGUA (*LEMNA MINOR*) APLICADOS À PROTOTIPAGEM E VALIDAÇÃO DE BIOINSUMOS AGRÍCOLAS À BASE DE EXTRATO COMERCIAL DA MACROALGA MARROM *ASCOPHYLLUM NODOSUM*

AUTOR: RODOLFO OSIN DE MORAES

ORIENTADOR: LEVI POMPERMAYER MACHADO

COORIENTADORA: BRUNA ROQUE LOUREIRO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Engenharia de Biomateriais e Bioprocessos, área: Biomateriais, Bioprocessos, Bioprodutos pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. LEVI POMPERMAYER MACHADO (Participação Presencial)

Departamento de Recursos Pesqueiros e Aquicultura / Faculdade de Ciências Agrárias do Vale do Ribeira do Campus de Registro da Unesp

Dra. JOHANA MARCELA CONCHA OBANDO (Participação Presencial)

SEALLG - Innovation, Solution & Products

Prof.^a Dr.^a ANA LETÍCIA MADEIRA SANCHES (Participação Presencial)

Departamento de Recursos Pesqueiros e Aquicultura / Faculdade de Ciências Agrárias do Vale do Ribeira - UNESP - Registro-SP

Araraquara, 25 de julho de 2025

AGRADECIMENTOS

O desenvolvimento deste trabalho foi uma jornada enriquecedora que contou com o apoio e contribuição de diversas pessoas, às quais manifesto minha profunda gratidão.

Ao professor orientador, Dr. Levi Pompermayer Machado, que me abriu as portas para o programa de pós-graduação. Esta experiência acadêmica proporcionou participação em eventos, congressos, projetos externos, valiosas conexões, vivências e muitas outras oportunidades de crescimento. Em seguida, agradeço à Dra. Bruna Roque Loureiro por sua sincera gratidão pela coorientação e pelo suporte indispensável para a conclusão desta pesquisa, pelos valiosos conselhos acadêmicos e profissionais, e pelas trocas que contribuíram imensamente para meu desenvolvimento pessoal e acadêmico.

Aos colegas que compartilharam comigo esta jornada, cujo apoio, troca de ideias e momentos de descontração tornaram este percurso mais leve: À Juliane Soares e à Thamires, pela ajuda na manutenção do cultivo das plantas em minhas ausências; ao Peterson; e, em especial, à minha irmã, Cris, que me incentivou incansavelmente, cujo carinho, compreensão e entusiasmo — quase como uma fã — foram o maior motor.

Meu reconhecimento também à professora Dra. Patrícia Santiago, pela confiança e generosidade em disponibilizar seu laboratório de Biomoléculas para projetos complementares à dissertação, e pela oportunidade de colaborar no Instituto de Estudos do Mar (IEAMar) – Polo de Registro –, compartilhando seu vasto conhecimento ao longo de toda essa caminhada.

Minha gratidão ao Aquário de Ideias – Incubadora de Empresas de Base Científica e Tecnológica no Vale do Ribeira e Litoral Sul. O engajamento da equipe foi fundamental ao fornecer suporte, mentorias de gestão e orientação estratégica para a aplicação dos resultados da pesquisa. Esta colaboração permitiu que o conhecimento gerado em laboratório fosse direcionado para inovações de base científica e tecnológica, abrindo caminhos para a geração de valor e serviços através da ação de startups.

Estendo meus agradecimentos à Companhia das Algas pela parceria e proatividade em fornecer o produto comercial, crucial para a realização dos ensaios com o grupo do laboratório de Algas e Plantas Aquáticas. Por fim, ao senhor Claudimir, nossa sincera gratidão pela hospitalidade em sua propriedade e por viabilizar a coleta de plantas nos tanques de piscicultura, colaboração fundamental para o nosso estudo.

"A educação é a arma mais poderosa que você pode usar para mudar o mundo."

— Nelson Mandela

RESUMO

O uso de extratos bioestimulantes de algas marinhas (EBA) na agricultura tem sido proposto como alternativa aos insumos convencionais para melhorar o crescimento vegetal em condições ambientais adversas. Com o surgimento de novos produtos no mercado de bioestimulantes, torna-se fundamental desenvolver processos de avaliação e padronização de bioensaios para garantir a eficácia destes produtos e garantir a repetibilidade dos efeitos bioestimulantes entre lotes distintos. O estudo objetivou avaliar o efeito de bioestimulantes à base de EBA utilizando *Lemna minor* como organismo modelo, sugerindo procedimentos iniciais de padronização de um bioensaio estático, rápido e eficiente, em conformidade com respaldo em diretrizes internacionais de ensaios de ecotoxicologia que utilizam *L. minor* e plantas aquáticas. O bioensaio foi conduzido em condições controladas ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, fotoperíodo 12/12h, $60 \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), em delineamento experimental com 10 tratamentos distribuídos em três grupos: T1: EBA isolado (0, 0,5 e 2,0 mg/L); T2: EBA integrado à solução nutritiva Hoagland e Arnon (0, 0,5 e 2,0 mg/L); e T3: EBA sob condições de estresse salino (NaCl 2,5 g/L) além do controle com água destilada. Foram avaliados parâmetros de crescimento: área de cobertura (%), biomassa seca (mg) e taxa de crescimento específico (TCE). Os resultados indicaram que o EBA isolado não diferiu significativamente do tratamento controle, evidenciando a importância do meio nutritivo para expressão do potencial de crescimento. O tratamento com estresse salino inibiu o crescimento das plantas, sem mitigação observada pelo bioestimulante nas concentrações testadas. O estudo destaca pontos importantes para futuras investigações metodológicas incluindo; ampliação das faixas de concentração do EBA, faixas inferiores ao utilizado para o estresse salino e, diferentes condições ambientais para futuros bioensaios. A *L. minor* demonstrou potencial como organismo modelo para a proposta deste ensaio. Concluiu-se que, embora promissora, a metodologia requer aprimoramentos para subsidiar um protocolo robusto de avaliação de bioestimulantes.

Palavras-chave: Bioestimulantes; Crescimento vegetal sustentável; Extrato de algas; Lentilha-d'água; Protocolo.

ABSTRACT

The use of seaweed-based biostimulant extracts (SBBEs) in agriculture has been proposed as an alternative to conventional inputs to enhance plant growth under adverse environmental conditions. With the emergence of new products in the biostimulant market, it is critical to develop evaluation processes and standardize bioassays to ensure product efficacy and reproducibility of biostimulant effects across different batches. This study aimed to evaluate the effects of SBBEs using *Lemna minor* as a model organism, proposing initial procedures for standardizing a static, rapid, and efficient bioassay aligned with international ecotoxicology guidelines for tests involving *L. minor* and aquatic plants. The bioassay was conducted under controlled conditions ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, 12/12h photoperiod, $60 \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) using an experimental design with 10 treatments divided into three groups: T1—isolated SBBEs (0, 0.5, and 2.0 mg/L); T2: SBBEs integrated into Hoagland and Arnon nutrient solution (0, 0.5, and 2.0 mg/L); and T3: SBBEs under saline stress (2.5 g/L NaCl), alongside a distilled water control. Growth parameters assessed included coverage area (%), dry biomass (mg), and specific growth rate (SGR). Results indicated that isolated SBBEs did not significantly differ from the control, underscoring the necessity of a nutrient medium for expressing growth potential. Saline stress inhibited plant growth, with no mitigation observed by the biostimulant at tested concentrations. The study highlights key considerations for future methodological investigations, such as expanding SBBE concentration ranges, testing lower saline stress levels, and exploring diverse environmental conditions in subsequent bioassays. *L. minor* demonstrated potential as a model organism for this assay. In conclusion, while promising, the methodology requires refinement to establish a robust protocol for evaluating biostimulants.

Keywords: Biostimulants; Duckweed; Protocol; Seaweed extract; Sustainable plant growth.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Exemplo de análise da área de cobertura de *L. minor*. A: imagem original. B: imagem de 8 bits. C: imagem final após tratamento com "Threshold" utilizando o *software* ImageJ.34
- Figura 2 - Efeito dos tratamentos sobre o número de folhas de *L. minor* ao sétimo dia. Barras representam a média e as linhas verticais indicam o erro padrão da média. Letras diferentes sobre as barras denotam diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos. Os códigos dos tratamentos são: OTC: corresponde ao controle geral; OT1, 05T1 e 2T1: aplicação isolada do bioestimulante (SBE) nas respectivas concentrações (0,0; 0,5 e 2,0 mg/L), sem meio nutricional Hoagland e Arnon; OT2, 05T2 e 2T2: combinação do bioestimulante (SBE) nas mesmas concentrações (0,0; 0,5 e 2,0 mg/L) com solução nutritiva Hoagland e Arnon; OT3, 0,5T3 e 2T3 indicam a combinação do bioestimulante (SBE) nas concentrações (0,0; 0,5 e 2,0 mg/L) com meio salino de NaCl na concentração de 2,50 g/L.....38
- Figura 3 - Efeito dos tratamentos sobre a área de cobertura (AC%) obtida pelo uso do *software* de análise de imagem ImageJ com base na cobertura total das folhas de *L. minor* ao sétimo dia. Barras representam a média e as linhas verticais o erro padrão da média. Letras diferentes sobre as barras denotam diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos. Os códigos dos tratamentos são: OTC: corresponde ao controle geral; OT1, 05T1 e 2T1: aplicação isolada do bioestimulante (SBE) nas respectivas concentrações (0,0; 0,5 e 2,0 mg/L), sem meio nutricional Hoagland e Arnon; OT2, 05T2 e 2T2: combinação do bioestimulante (SBE) nas mesmas concentrações (0,0; 0,5 e 2,0 mg/L) com solução nutritiva Hoagland e Arnon; OT3, 0,5T3 e 2T3 indicam a combinação do bioestimulante (SBE) nas concentrações (0,0; 0,5 e 2,0 mg/L) com meio salino de NaCl na concentração de 2,50 g/L.....39
- Figura 4 – Efeito dos tratamentos sobre a Taxa de Crescimento Específico (TCE, % dia⁻¹) de *L. minor* ao sétimo dia. Barras representam a média e as linhas verticais indicam o erro padrão da média. Letras diferentes sobre as barras denotam diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos. Os códigos dos tratamentos são: OTC: corresponde ao controle geral; OT1, 05T1 e 2T1: aplicação isolada do bioestimulante (SBE) nas respectivas concentrações (0,0; 0,5 e 2,0 mg/L), sem meio

nutricional Hoagland e Arnon; 0T2, 05T2 e 2T2: combinação do bioestimulante (SBE) nas mesmas concentrações (0,0; 0,5 e 2,0 mg/L) com solução nutritiva Hoagland e Arnon; 0T3, 0,5T3 e 2T3 indicam a combinação do bioestimulante (SBE) nas concentrações (0,0; 0,5 e 2,0 mg/L) com meio salino de NaCl na concentração de 2,50 g/L.40

Figura 5 – Efeito dos tratamentos sobre a biomassa seca (mg) de *L. minor* coletada ao sétimo dia após secagem em estufa de ventilação forçada. Barras representam a média e as linhas verticais indicam o erro padrão da média. Letras diferentes sobre as barras denotam diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos. Os códigos dos tratamentos são: 0TC: corresponde ao controle geral; 0T1, 05T1 e 2T1: aplicação isolada do bioestimulante (SBE) nas respectivas concentrações (0,0; 0,5 e 2,0 mg/L), sem meio nutricional Hoagland e Arnon; 0T2, 05T2 e 2T2: combinação do bioestimulante (SBE) nas mesmas concentrações (0,0; 0,5 e 2,0 mg/L) com solução nutritiva Hoagland e Arnon; 0T3, 0,5T3 e 2T3 indicam a combinação do bioestimulante (SBE) nas concentrações (0,0; 0,5 e 2,0 mg/L) com meio salino de NaCl na concentração de 2,50 g/L.41

Figura 6 - Registro gráfico qualitativo dos parâmetros morfológicos dos grupos de tratamentos utilizando 0,5mg/L de SBE ao longo dos dias de avaliação do bioensaio utilizando a planta aquática *L. minor* como modelo para verificação e validação dos efeitos bioestimulantes de extrato comercial de algas marinhas a base *A. nodosum*.43

Figura 7 – Análise de Componentes Principais (PCA) em relação aos parâmetros físico-químicos pH e eletrocondutividade do bioensaio subcrônico de sete dias utilizando *L. minor* à temperatura de 25 °C e meio nutritivo Hoagland e Arnon.44

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Códigos dos tratamentos, concentração de Acadian e informações sobre solução/meio utilizados.	31
Quadro 2 - Solução Nutritiva Hoagland e Arnon (Completa) demonstrando os sais utilizados para o preparo da solução estoque de nutrientes com indicação dos volumes necessários para preparo de soluções nutritivas completas de um litro para condução do bioensaio.....	32
Quadro 3 - Registro descritivos gerais dos parâmetros morfológicos qualitativos observados em cada grupo de tratamento.....	42

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

EBA: Extratos bioestimulantes de algas marinhas

SBE: Seaweed-based extracts

BS: Biomassa Seca

TCE: Taxa de Crescimento Específico

PCA: Principal Component Analysis (Análise de Componentes Principais)

PERMANOVA: Análise de Variância Permutacional Multivariada

OECD: *Organisation for Economic Co-operation and Development*

ISO: *International Organization for Standardization*

ABNT NBR: Associação Brasileira de Normas Técnicas Norma Brasileira

BS: Biomassa Seca

CAT: Catalase

SOD: Superóxido Dismutase

APX: Ascorbato Peroxidase

AMPEP®: *Marine Plant Extract Powder*

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVOS	18
2.1 Objetivos específicos	18
3. REVISÃO DE LITERATURA	19
3.1 Bioestimulantes e biofertilizantes: Distinção e Definições Legais	21
3.2 <i>Lemna minor</i> como organismo modelo em bioensaios	22
3.3 Composição bioquímica de extratos bioestimulantes de algas marinhas e parâmetros de resposta da <i>L. minor</i>	25
3.4 Condições de cultivo e padronização experimental	27
4. MATERIAIS E METODOS	30
4.1 Condições e delineamento experimental	30
4.1.2 Preparo das Soluções	31
4.1.3 Condições de Incubação	32
4.2 Parâmetros avaliadas	32
4.3 Parâmetros de crescimento	33
4.3.1 Área de cobertura (AC%):	33
4.3.2 Biomassa seca	34
4.3.3 Taxa de Crescimento Específico (TCE)	34
4.4 Parâmetros morfológicos	34
4.5 Análise estatística	35
5. RESULTADOS	37
5.1 Número de folhas	37
5.2 Área de cobertura	38
5.3 Taxa de Crescimento Específico (TCE)	39
5.4 Biomassa Seca	40
5.5 Variações Morfológicas e Alterações Visuais em <i>L. minor</i>	41

5.6 Análise integrada dos parâmetros.....	43
6.DISSCUSSÃO	44
7. CONCLUSÃO	51
REFERÊNCIAS.....	52
APENDICE A - Registro fotográfico completo dos parâmetros morfológicos ao longo do bioensaio para observação do número de folhas, cloroses e tons de verde. tratamentos identificados com seus respectivos códigos.....	59

1. INTRODUÇÃO

A crescente demanda por práticas agrícolas sustentáveis impulsiona o desenvolvimento de bioinsumos como uma alternativa viável aos insumos químicos convencionais. O mercado global de bioinsumos, está projetado, de forma geral, para ultrapassar US\$ 18,9 bilhões até 2026 (Mordor Intelligence, 2022). Especificamente no segmento de bioestimulantes, o mercado foi avaliado em US\$ 4,46 bilhões em 2025 e tem projeção de alcançar US\$ 7,84 bilhões até 2030, crescendo a uma taxa composta anual de 11,9% (Markets and Markets, 2025).

Bioestimulantes são definidos como substâncias ou microrganismos aplicados a plantas, sementes ou na rizosfera que otimizam processos fisiológicos naturais, resultando em melhor absorção e eficiência nutricional, aumento da tolerância a estresses abióticos e aprimoramento da qualidade da cultura (Calvo *et al.*, 2014). Esta categoria de insumos agrícolas atua independentemente de seu conteúdo nutricional intrínseco, focando na estimulação de respostas inatas das plantas para melhorar seu desempenho geral (Rouphael; Colla, 2020).

Entre os produtos bioestimulantes que têm demonstrado potencial para modificar a fisiologia vegetal e melhorar a resposta ao estresse, os extratos de algas marinhas do inglês “*Seaweed-based extracts*” (SBE) destacam-se pela matriz complexa de moléculas bioativas, incluindo polissacarídeos, aminoácidos, hormônios vegetais e minerais (Du Jardin, 2015; Van Oosten *et al.*, 2017). Particularmente promissores são os extratos derivados da alga marrom *Ascophyllum nodosum*, que em baixas concentrações têm demonstrado capacidade de estimular o crescimento de plantas cultivadas, modular o desenvolvimento radicular e favorecer a tolerância a estresses abióticos (Calvo *et al.*, 2014; Shukla *et al.*, 2019).

A validação da eficácia e segurança destes bioinsumos requer metodologias confiáveis, rápidas e economicamente viáveis para triagem inicial antes de testes em campo (Brain *et al.*, 2004). Neste contexto, a lentilha d'água (*Lemna minor*), uma pequena planta aquática da família Lemnaceae, emerge como um organismo modelo aquático ideal devido à sua alta sensibilidade a parâmetros ambientais, resposta rápida a alterações nutricionais e facilidade de cultivo em condições controladas (Ziegler *et al.*, 2015; Ceschin *et al.*, 2020^a).

A adequação de *L. minor* como bioindicador para a avaliação de bioestimulantes é evidenciada pela sua sensibilidade e pela forma como ela reage a reguladores de crescimento vegetal e a estímulos ambientais. As respostas rápidas da planta são características fundamentais para a sua utilização em estudos de triagem e prototipagem em laboratório. (Ziegler *et al.*, 2015; Utami *et al.*, 2018).

Um exemplo prático dessa aplicabilidade é uso da *L. minor* para averiguar uma abordagem de baixo custo para biomonitoramento com o objetivo de quantificar com base em análise de imagens computacionais a influência negativa de toxinas nas águas superficiais, que pode ser realizada sem a necessidade de plataformas de *hardware* caras. Desta forma, bioensaios computadorizados podem permitir a realização de muitas avaliações em menor tempo, acelerando o processo de pesquisa e desenvolvimento resultando na eliminação de erros de medição, decorrentes da subjetividade dos observadores em testes de ecotoxicidade (Mazur *et al.*, 2017).

Apesar desses avanços no biomonitoramento e dos progressos no uso de extratos de algas marinhas em culturas terrestres, como por exemplo, estudos da melhor época fenológica de aplicações em culturas como soja, milho, onde práticas fitossanitárias influenciam diretamente no manejo da cultura e em sua produção final por hectare, suas aplicações em sistemas de plantas aquáticas, particularmente na família Lemnoideae, permanecem relativamente inexploradas, representando uma lacuna que carece de mais investigações científicas. Esta lacuna é especialmente relevante considerando o potencial da lentilha d'água (*L. minor*) para avaliação de bioinsumos. A planta permite avaliar múltiplos parâmetros importantes para caracterização de bioinsumos, incluindo taxa de crescimento relativo, área foliar e biomassa, conteúdo de clorofila, atividade fotossintética e expressão de enzimas antioxidantes (Radić *et al.*, 2011; Zezulka *et al.*, 2013^b).

A replicação de testes e a obtenção de dados robustos em um curto período diminuem os riscos associados ao lançamento de novos produtos como herbicidas e reguladores de crescimento vegetal no mercado, otimizando o investimento em pesquisa antes de etapas mais avançadas e custosas (Naumann *et al.*, 2012). A integração de bioensaios com *L. minor* na prototipagem de bioinsumos representa uma solução

inovadora ao se estabelecer um processo de padronização, sendo uma potencial ferramenta para a avaliação de bioinsumos de EBA.

Com isso, o presente estudo busca propor como solução para uma das lacunas identificadas ao uso de bioinsumos, propondo o desenvolvimento e validação de um protocolo de bioensaio de baixo custo. Utilizando a planta aquática *L. minor*, o trabalho visa avaliar os resultados dos efeitos de bioestimulante de extratos de algas marinhas nos parâmetros de crescimento vegetativo, com a Taxa de Crescimento Específico (TCE), Área foliar e Biomassa.

7. CONCLUSÃO

Este estudo demonstrou a viabilidade e eficácia de adotar a planta aquática *L. minor* como modelo biológico para a avaliação de bioestimulantes à base de extratos de algas marinhas, embora não tenham sido detectadas diferenças significativas entre as concentrações de EBA propostas. A partir dos resultados obtidos, foi possível identificar a importância da nutrição adequada para o crescimento vegetal durante os bioensaios.

Os resultados revelaram que a combinação do EBA (0,5 mg/L) com a solução nutritiva de Hoagland e Arnon (T2) promoveu os melhores desempenhos em termos de número de folhas, área de cobertura, taxa de crescimento específico e biomassa seca nas médias absolutas, corroborando que os extratos de algas marinhas não são substitutos de um balanço nutricional equilibrado. Este achado foi confirmado pelo contraste observado: a aplicação isolada do bioestimulante (T1) ou em condições de estresse salino (T3) não apresentou efeitos significativos, reforçando a dependência de condições ambientais e nutricionais favoráveis para a expressão de seus benefícios.

A metodologia desenvolvida buscou elaborar um protótipo inicial simples e replicável, atendendo aos critérios necessários para um bioensaio preliminar rápido e de baixo custo, capaz de validar a eficácia de bioinsumos antes de testes em campo. Além disso, a padronização da solução nutritiva, da temperatura e duração do bioensaio, aliada a parâmetros de crescimento bem definidos e mensuráveis, oferece base para futuras pesquisas.

Como perspectivas futuras, sugere-se para novos bioensaio: (I) faixas mais amplas de concentração de EBA para formulação de uma curva dose-reposta; (II) explorar concentrações mais brandas para estresse salino, utilizando doses inferiores a 2,5 g/L de NaCl, e (III) incluir parâmetros físico-químicos que possam complementar a análise dos resultados de crescimento da planta.

Este trabalho contribui, portanto, como um subsídio inicial para o desenvolvimento de protocolos eficientes que possam ser adotados para a avaliação da eficácia de bioinsumos à base de EBA e validação de lotes, empregando uma planta amplamente utilizada como organismo modelo (*L. minor*).

REFERÊNCIAS

- AINA, O. *et al.* Seaweed-derived phenolic compounds in growth promotion and stress alleviation in plants. **Life**, v. 12, n. 10, p. 1548, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/life12101548>. Acesso em: 10 jan. 2025.
- ALI, O.; RAMSUBHAG, A.; JAYARAMAN, J. Biostimulant properties of seaweed extracts in plants: implications towards sustainable crop production. **Plants**, v. 10, n. 3, p. 531, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants10030531>. Acesso em: 15 jan. 2025.
- APPENROTH, K. J. *et al.* Effects of nickel on the chloroplasts of the duckweeds *Spirodela polyrhiza* and *Lemna minor* and their possible use in biomonitoring and phytoremediation. **Chemosphere**, v. 78, n. 3, p. 216-223, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.11.007>. Acesso em: 15 jan. 2025.
- APPENROTH, K. J. *et al.* Nutritional value of duckweeds (Lemnaceae) as human food. **Food Chemistry**, v. 217, p. 266-273, 2017^a. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.116>. Acesso em: 22 jan. 2025.
- APPENROTH, K. J. *et al.* Update on the biology of duckweeds. **Botanical Review**, v. 83, n. 2, p. 259-285, 2017^b. Acesso em: 22 jan. 2025
- APPENROTH, K. J.; SREE, K. S.; BOG, M. The role of starch in the growth of *Lemna minor* L. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 118, p. 431-438, 2017^c. Acesso em: 22 jan. 2025
- BATTACHARYYA, D. *et al.* Seaweed extracts as biostimulants in horticulture. **Scientia Horticulturae**, v. 196, p. 39-48, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.012>. Acesso em: 15 jan. 2025.
- BLUNDEN, G. *et al.* Betaines and tertiary sulphonium compounds from 62 species of marine algae. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 20, n. 4, p. 373-388, 1992. DOI: [https://doi.org/10.1016/0305-1978\(92\)90050-N](https://doi.org/10.1016/0305-1978(92)90050-N). Acesso em: 22 jan. 2025.
- BOG, M. *et al.* A taxonomic revision of the section *Lemna Uninervae* (Lemnaceae). **Taxon**, v. 69, n. 1, p. 56-66, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1002/tax.12188>. Acesso em: 25 jan. 2025.
- BRAIN, R. A. *et al.* Aquatic plants exposed to pharmaceuticals: effects and risks. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 180, p. 67-115, 2004. DOI: https://doi.org/10.1007/978-0-387-71724-1_3. Acesso em: 10 jan. 2025.
- BRASIL. Decreto nº 4.954, de 14 de janeiro de 2004. Aprova o Regulamento da Lei nº 6.894, de 16 de dezembro de 1980, que dispõe sobre a inspeção e fiscalização da produção e do comércio de fertilizantes, corretivos, inoculantes, ou biofertilizantes, remineralizadores e substratos para plantas destinados à agricultura. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, 15 jan. 2004. Redação dada pelo Decreto nº 8.384, de 2014.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 5, de 10 de março de 2016. Estabelece as regras sobre definições, classificação, especificações e garantias, tolerâncias, registro, embalagem e rotulagem dos bioestimulantes para uso na agricultura, na forma desta Instrução Normativa e do seu Anexo. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 11 mar. 2016.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Instrução Normativa nº 61, de 08 de julho de 2020**. Estabelece as regras

sobre definições, exigências, especificações, tolerâncias, registro, garantias, embalagem e rotulagem dos fertilizantes orgânicos e dos biofertilizantes, destinados à agricultura. Brasília, DF: MAPA, 2020.

BROWN, P.; SAA, S. Biostimulants in agriculture. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 671, 2015. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00671>. Acesso em: 5 fev. 2025

BULGARI, R.; FRANZONI, G.; FERRANTE, A. Biostimulants application in horticultural crops under abiotic stress conditions. **Agronomy**, v. 9, n. 6, p. 306, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/agronomy9060306>. Acesso em: 6 fev. 2025

CALVO, P.; NELSON, L.; KLOEPPER, J. W. Agricultural uses of plant biostimulants. **Plant and Soil**, v. 383, n. 1-2, p. 3-41, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11104-014-2131-8>. Acesso em: 15 jan. 2025

CARDOSO, L. H. D.; DOERRIER, C.; GNAIGER, E. Magnesium Green for fluorometric measurement of ATP production does not interfere with mitochondrial respiration. **Bioenergetics Communications**, 2021. DOI: <https://doi.org/10.26124/bec:2021-0001>. Acesso em: 25 jan. 2025

CESCHIN, S. *et al.* *Lemna minor* as a bioindicator of water quality: ecotoxicological screening. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 192, n. 4, p. 1-12, 2020^a. Acesso em: 10 fev. 2025.

CESCHIN, S.; CRESCENZI, M.; IANNELLI, M. A. Phytoremediation potential of the duckweeds *Lemna minuta* and *Lemna minor* to remove nutrients from treated waters. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, p. 15806-15814, 2020^b. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08045-3>. Acesso em: 10 fev. 2025.

CHAKRABARTI, R. *et al.* Mass Production of *Lemna minor* and Its Amino Acid and Fatty Acid Profiles. **Frontiers in Chemistry**, v. 6, art. 479, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00479>. Acesso em: 17 jun. 2025

COLLA, G. *et al.* Protein hydrolysates as biostimulants in horticulture. **Scientia Horticulturae**, v. 196, p. 22-29, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.08.037>. Acesso em: 23 fev. 2025

COLLA, G.; ROUPHAEL, Y. Biostimulant application in horticulture: challenges and perspectives. **Scientia Horticulturae**, v. 237, p. 223-231, 2017. Acesso em: 23 fev. 2025.

CRAIGIE, J. S. Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. **Journal of Applied Phycology**, v. 23, n. 3, p. 371-393, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10811-010-9560-4>. Acesso em: 6 fev. 2025

DEOLU-AJAYI, A. O. *et al.* The power of seaweeds as plant biostimulants to boost crop production under abiotic stress. **Plant & Cell Environment**, v. 45, n. 9, p. 2537-2553, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1111/pce.14391>. Acesso em: 7 mar. 2025

DU JARDIN, P. Plant biostimulants: definition, concept, main categories and regulation. **Scientia Horticulturae**, v. 196, p. 3-14, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.021>. Acesso em: 6 fev. 2025

EL BOUKHARI, M. E. M. *et al.* Trends in seaweed extract based biostimulants: manufacturing process and bioactive compounds. **Plants**, v. 9, n. 3, p. 359, 2020.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Ecological effects test guidelines: aquatic plant toxicity test using *Lemna* spp.** Washington: EPA, 2023.

- FAN, D. *et al.* A commercial extract of brown macroalga (*Ascophyllum nodosum*) affects yield and the nutritional quality of spinach in vitro. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 44, n. 13, p. 1873-1884, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1080/00103624.2013.790404>. Acesso em: 23 fev. 2025.
- FRANCESCHINI, I. M. *et al.* **Algas**: uma abordagem filogenética, taxonômica e ecológica. Porto Alegre: Artmed, 2010.
- GODOY, A. A. *et al.* Sodium chloride as a reference substance for the three growth endpoints used in the *Lemna minor* L. (1753) test. **Revista Ambiente & Água**, v. 12, p. 8-16, 2017. DOI: <https://doi.org/10.4136/ambi-agua.1986>. Acesso em: 30 jul. 2025.
- HAFFNER, O. *et al.* *Lemna minor* bioassay evaluation using computer image analysis. **Water**, v. 12, n. 8, p. 2207, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/w12082207>. Acesso em: 6 fev. 2025
- HERNÁNDEZ-HERRERA, R. M. *et al.* Effect of liquid seaweed extracts on growth of tomato seedlings (*Solanum lycopersicum* L.). **Journal of Applied Phycology**, v. 26, n. 1, p. 619-628, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0078-4>. Acesso em: 7 mar. 2025
- HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. The water-culture method for growing plants without soil. **California Agricultural Experiment Station Circular**, v. 347, n. 2, p. 1-32, 1950.
- INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 4979:2023**: water quality - aquatic toxicity test based on root growth in *Lemna minor*. Geneva: ISO, 2023. Disponível em: <https://www.iso.org/standard/80751.html>. Acesso em: 30 jul. 2025.
- INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO/DIS 20079**: water quality - determination of the toxic effect of water constituents and wastewater on duckweed (*Lemna minor*) - duckweed growth inhibition test. Geneva: ISO, 2004.
- KASSAMBARA, A. **Factoextra**: extract and visualize the results of multivariate data analyses. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2017. R package version 1.0.5. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=factoextra>. Acesso em 2 jul: 2025.
- KHAN, W. *et al.* Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 28, n. 4, p. 386-399, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00344-009-9103-x>. Acesso em: 30 jul. 2025.
- LAHIVE, E. *et al.* Interlaboratory validation of toxicity testing using the duckweed *Lemna minor* root-regrowth test. **Environmental Science and Technology**, v. 56, n. 2, p. 1052-1062, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/biology11010037>. Acesso em: 22 mai. 2025.
- LAHIVE, E.; O'HALLORAN, J.; JANSEN, M. A. Frond development gradients are a determinant for the impact of zinc exposure in *Lemna minor*. **Aquatic Toxicology**, v. 104, n. 3-4, p. 245-254, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2012.04.003>. Acesso em: 22 mai. 2025.
- LEGENDRE, P.; LEGENDRE, L. **Numerical ecology**. 3. ed. Amsterdam: Elsevier, 2012. 1006 p. (Developments in Environmental Modelling, v. 24).
- MACHADO, L. P. *et al.* Multitrophic aquaculture helps to integrate youth in family farms? Brazil. In: VAN UFFELEN, A. *et al.* (org.). **Creating resilient livelihoods for youth in small-scale food production**: a collection of projects to support young people in

achieving sustainable and resilient livelihoods and food security. Roma: FAO, 2022. v. 1, p. 1-84.

MACKINNON, S. L.; CRAFT, C. Analysis of seaweed betaines using LC-MS-MS. *In*: STENGEL, D.; CONNAN, S. (ed.). **Natural products from marine algae**: methods in molecular biology. New York: Humana Press, 2015. v. 1308, p. 281-294. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2684-8_17. Acesso em: 10 abr. 2025.

MALEC, S.; CHOJNACKA, A.; TYSZKIEWICZ, K. Phytoremediation potential of *Lemna minor* L. in removing heavy metals from municipal wastewater. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 1, p. 1017-1026, 2020.

MAMEDE, M. C. J. P. **Seaweed polysaccharides in agriculture**. 2023. 111 f. Dissertação (Mestrado em Biologia) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2023.

MANCUSO, S. *et al.* Marine bioactive substances (IPA extract) improve foliar ion uptake and water stress tolerance in potted *Vitis vinifera* plants. **Advances in Horticultural Science**, v. 20, n. 2, p. 156-161, 2006.

MARKETS AND MARKETS. **Biostimulants Market, Global Industry Size Forecast**. Pune: Markets and Markets, 2025. Disponível em: <https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/biostimulant-market-1081.html>. Acesso em: 15 jun. 2025.

MARTINEZ, E. S.; RODRIGUEZ, L. P.; SILVA, A. M. Standardized parameters for aquatic plant bioassays: growth, physiological and biochemical endpoints. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 30, n. 15, p. 43250-43267, 2023.

MAZUR, Robert *et al.* The use of computer image analysis in a *Lemna minor* L. bioassay. **Hydrobiologia**, v. 812, n. 1, p. 193-201, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10750-016-2972-7>. Acesso em: 10 abr. 2025.

MICHEL, A. *et al.* Dose-response relationships between herbicides with different modes of action and growth of *Lemna paucicostata*: an improved ecotoxicological method. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 23, n. 4, p. 1074-1079, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1897/03-256>. Acesso em: 10 abr. 2025.

MKANDAWIRE, M.; TEIXEIRA DA SILVA, J. A.; DUDEL, E. G. The *Lemna* bioassay: contemporary issues as the most standardized plant bioassay for aquatic ecotoxicology. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 44, n. 2, p. 154-197, 2014. DOI: <https://doi.org.ez87.periodicos.capes.gov.br/10.1080/10643389.2012.710451>. Acesso em: 15 abr. 2025.

MORDOR INTELLIGENCE. **Biofertilizers Market**: growth, trends, COVID-19 impact, and forecasts (2022-2027). [S. l.]: Mordor Intelligence, 2022. Disponível em: <https://www.marketresearch.com/Mordor-Intelligence-LLP-v4018/Global-Biological-Seed-Treatment-Growth-31853638/>. Acesso em: 22 mai. 2025.

MUGHUNTH, R. J. *et al.* A review of the potential of seaweed extract as a biostimulant to enhance growth and mitigate stress in horticultural crops. **Scientia Horticulturae**, v. 336, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2024.113312>. Acesso em: 10 abr. 2025.

- NARDI, Serenella *et al.* Plant biostimulants: physiological responses induced by protein hydrolyzed-based products and humic substances in plant metabolism. **Scientia Agricola**, v. 73, n. 1, p. 18-23, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1590/0103-9016-2015-0006>. Acesso em: 10 abr. 2025.
- NAUMANN, B. *et al.* Comparative evaluation of the *Lemna* and algae growth inhibition tests for the assessment of plant growth regulator herbicides. **Hydrobiologia**, v. 684, n. 1, p. 233-248, 2012.
- NAUMANN, B.; EBERIO, M.; APPENROTH, K. J. Growth rate-based dose-response relationships and EC-values of ten heavy metals using the duckweed growth inhibition test (ISO 20079) with *Lemna minor* L. clone St. **Journal of Plant Physiology**, v. 164, n. 12, p. 1656-1664, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2006.10.011>. Acesso em: 22 maio. 2025.
- OECD. **Test No. 221**: *Lemna* sp. growth inhibition test. Paris: OECD Publishing, 2006.
- OKSANEN, J. *et al.* **Vegan**: community ecology package. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2024. R package version 2.6-8. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>. Acesso em: 22 abr. 2025.
- PARK, J. *et al.* Ecotoxicity evaluation of sewage sludge using bioluminescent marine bacterium *Vibrio fischeri* and duckweed *Lemna minor*. **Environmental Engineering Science**, v. 30, n. 2, p. 93-100, 2013.
- R CORE TEAM. **R**: a language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2022.
- RADIĆ, S. *et al.* Ecotoxicological effects of aluminum and zinc on growth and antioxidants in *Lemna minor* L. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, n. 7, p. 1683-1689, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2009.10.014>. Acesso em: 10 abr. 2025.
- RADIC, S. *et al.* Physiological and biochemical responses of *Lemna minor* L. to various concentrations of copper and lead. **Chemosphere**, v. 119, p. 1374-1380, 2015.
- RAYIRATH, P. *et al.* The effect of *Ascophyllum nodosum* extract on the growth and stress tolerance of *Arabidopsis thaliana*. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 28, n. 4, p. 396-407, 2009.
- RAYORATH, P. *et al.* Rapid bioassays to evaluate the plant growth promoting activity of *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol. using a model plant, *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. **Journal of Applied Phycology**, v. 20, n. 4, p. 423-429, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10811-007-9280-6>. Acesso em: 15 jul. 2025
- ROUPHAEL, Y. *et al.* Synergistic biostimulatory action: designing the next generation of plant biostimulants for sustainable agriculture. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 1655, 2020^b. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01655>. Acesso em: 17 jun. 2025
- ROUPHAEL, Y.; COLLA, G. Biostimulants in agriculture. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 40, 2020^a. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00040>. Acesso em: 17 jun. 2025
- ROUPHAEL, Y.; COLLA, G. Synergistic biostimulatory action: designing the next generation of plant biostimulants for sustainable agriculture. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 2049, 2016. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01655>. Acesso em: 17 jun. 2025

SACCOMORI, N. L. **Bioestimulantes à base de extrato de algas marinhas na agricultura**: estado da arte e potencial de uso. 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biotecnologia) – Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Foz do Iguaçu, 2021.

SCHMIDT, A. *et al.* Short-term test for toxicogenomic analysis of ecotoxic modes of action in *Lemna minor*. **Environmental Science & Technology**, v. 56, n. 15, p. 10830-10840, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.est.2c01777>. Acesso em: 7 jul. 2025

SHARMA, H. S. S. *et al.* Biological effects of the extraction of bioactive compounds from brown seaweed *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 19, p. 4494-4503, 2014.

SHARMA, H. S. S. *et al.* Plant biostimulants: a review on the processing of macroalgae and use of extracts for crop management to reduce abiotic and biotic stresses. **Journal of Applied Phycology**, v. 26, p. 465-490, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0101-9>. Acesso em: 15 jul. 2025

SHUKLA, P. S. *et al.* *Ascophyllum nodosum*-based biostimulants: sustainable applications in agriculture for the stimulation of plant growth, stress tolerance, and disease management. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, p. 655, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00655>. Acesso em: 10 abr. 2025.

SITU BIOSCIENCES. **OECD 221 - Lemna species; growth inhibition test**. [S. l.]: Situ Biosciences, 2018. Disponível em: <https://www.situbiosciences.com/product/oecd-221-lemna-species-growth-inhibition-test/>. Acesso em: 15 jun. 2025.

SOUZA, J. M. C. *et al.* Physiological responses of the red algae *Gracilaria caudata* (Gracilariales) and *Laurencia catarinensis* (Ceramiales) following treatment with a commercial extract of the brown alga *Ascophyllum nodosum* (AMPEP). **Journal of Applied Phycology**, v. 31, n. 3, p. 1883-1888, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1683-z>. Acesso em: 10 abr. 2025.

SPANN, T. M.; LITTLE, H. A. Applications of a commercial extract of the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* increases drought tolerance in container-grown 'Hamlin' sweet orange nursery trees. **HortScience**, v. 46, n. 4, p. 577-582, 2011. DOI: <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.46.4.577>. Acesso em: 7 jul. 2025

STIRK, W. A. *et al.* Absciscic acid, gibberellins and brassinosteroids in Kelpak®, a commercial seaweed extract made from *Ecklonia maxima*. **Journal of Applied Phycology**, v. 26, p. 561-567, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0062-z>. Acesso em: 11 fev. 2025

TEIXEIRA, A. C. *et al.* Screening of plant extracts for bioactive compounds using aquatic plant bioassays. **Phytochemistry**, v. 198, p. 113-125, 2022.

TEIXEIRA, S. *et al.* Phytoremediation of pharmaceutical compounds from wastewater using *Lemna minor*: a review. **Journal of Environmental Management**, v. 276, p. 111326, 2020.

UTAMI, D. *et al.* Plant growth regulator responses in duckweed: screening for bioactive compounds. **Plant Growth Regulation**, v. 86, n. 1, p. 135-145, 2018.

VAN OOSTEN, M. J. *et al.* The role of biostimulants and bioeffectors as alleviators of abiotic stress in crop plants. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture**, v.

4, n. 1, p. 1-12, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40538-017-0089-5>. Acesso em: 7 jul. 2025

WANG, W.; FREEMARK, K. The use of *Lemna minor* in ecotoxicology: a review. **Environmental Pollution**, v. 159, n. 10, p. 2219-2234, 2011.

XU, L.; GEELLEN, D. Developing biostimulants from agro-food and industrial by-products. **Frontiers in Plant Science**, [S. l.], v. 9, p. 1567, 2018. DOI: 10.3389/fpls.2018.01567. Acesso em: 30 abr. 2025

YAKHIN, O. I. *et al.* Biostimulants in plant science: a global perspective. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 2049, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.02049>. Acesso em: 13 abr. 2025

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. 3. ed. Upper Saddle River: Simon; Schuster, 1996.

ZEZULKA, Š. *et al.* *Lemna* bioassay evaluation of perfluorinated compounds. **Chemosphere**, v. 93, n. 6, p. 1090-1096, 2013^a.

ZEZULKA, Š. *et al.* *Lemna minor* exposed to fluoranthene: growth, biochemical, physiological and histochemical changes. **Aquatic Toxicology**, v. 140-141, p. 37-47, 2013^b. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.05.011>. Acesso em: 13 mar. 2025

ZHAO, H. *et al.* Comprehensive evaluation and screening of *Lemna* species for treating domestic sewage. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 21, n. 16, p. 9700-9710, 2014. Acesso em: 22 mar. 2025

ZIEGLER, P.; SREE, K. S.; APPENROTH, K. J. Duckweeds for water remediation and toxicity testing. **Toxicological & Environmental Chemistry**, v. 98, n. 10, p. 1127-1154, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1080/02772248.2015.1094701>. Acesso em: 6 fev. 2025