

# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 20/02/2026.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP

CENTRO DE AQUICULTURA

**MEIO DE CULTURA MISTO DE MACRÓFITAS  
NO CULTIVO DE *Messastrum gracile***

**Lívia Clara Colla**

Jaboticabal, São Paulo

2024

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP**  
**CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP**

**MEIO DE CULTURA MISTO DE MACRÓFITAS NO  
CULTIVO DE *Messastrum gracile***

**Livia Clara Colla**

**Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Lúcia Helena Sipaúba-Tavares**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP – CAUNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre.

Jaboticabal, São Paulo  
2024

C697m Colla, Livia Clara  
Meio de cultura misto de macrófitas no cultivo de *Messastrum gracile* / Livia Clara Colla. -- Jaboticabal, 2024  
48 p. : tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP),  
Centro de Aquicultura da Unesp, Jaboticabal  
Orientadora: Lúcia Helena Sipaúba Tavares

1. Extrato de macrófita misto. 2. Biomassa. 3. *Messastrum gracile*.  
4. Microalga. 5. Macrófita. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do  
Universidade Estadual Paulista (UNESP), Centro de Aquicultura da Unesp, Jaboticabal.

Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: MEIO DE CULTURA MISTO DE MACRÓFITAS NO CULTIVO DE  
*Messastrum gracile*

AUTORA: LÍVIA CLARA COLLA


ORIENTADORA: LÚCIA HELENA SIPAÚBA TAVARES

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Ciências, pela Comissão Examinadora:

  
Profa. Dra. LÚCIA HELENA SIPAÚBA TAVARES (Participação Presencial)  
Laboratório de Limnologia / Centro de Aquicultura da Unesp, CAUNESP, Jaboticabal-SP

  
Prof. Dr. CLAUDENIR ACINCANI FRANCO (Participação Virtual)  
/ Fatec, Jaboticabal-SP

Prof. Dr. RODRIGO NEY MILLAN (Participação Virtual)  
Departamento de Ciências Exatas / Universidade do Estado de Minas Gerais (UEMG), Frutal-MG

Documento assinado digitalmente  
 RODRIGO NEY MILLAN  
Data: 21/02/2024 07:56:28-0300  
Verifique em <https://validar.br.gov.br>

Jaboticabal, 20 de fevereiro de 2024

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por sua bondade em me encaminhar até aqui e por ter mostrado que os caminhos que segui eram exatamente o que eu precisava para cada ensinamento e crescimento pessoal, e que de todas as vezes que duvidei, ele me mostrou que a confiança no processo é essencial.

Agradeço a minha orientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Lúcia Helena Sipaúba Tavares a qual sou eternamente grata pelas suas lições valiosas, tanto dentro como fora do laboratório. Gostaria de expressar minha profunda gratidão por todo o apoio e orientação que a senhora me proporcionou ao longo do meu mestrado. Foram ações fundamentais para o meu crescimento acadêmico e pessoal durante este período.

Agradeço aqueles que passaram pelo laboratório durante esta trajetória e contribuíram com o meu trabalho. Aos meus fiéis escudeiros, Tutu e Iago, por toda ajuda durante os experimentos, conversa jogada fora e risadas, à Mayara que sempre ofereceu apoio e palavras que eram necessárias, além das risadas que eram a melhor parte, e as colegas de pesquisa que se tornaram amigas, Débora e Juliane. Obrigada Ju, por toda sua ajuda, conversas sobre a vida e por toda sua amizade, você emana luz e é genuinamente boa, pessoas como você são raridade. Obrigada Débora, você foi companheira de experimento, pegar carrapato e atolar o carro, tão parecida comigo que até irrita, mais ainda quando tínhamos nossos momentos “tico e teco”. Agradeço também os “vizinhos” de laboratório, Mag e Thalys, vou sentir falta das horas de análises que ficamos cansados, mas que mesmo assim saíamos rindo. Obrigada a todos por tudo.

Agradeço a minha família, que foi rede de apoio em muitos momentos difíceis, minha mãe que se mostrou orgulhosa sempre, minha tia que sempre me apoiou, a minha irmã que acompanhou de perto toda minha trajetória e foi meu porto seguro em muitas horas, e ao meu namorado Olavo, que mesmo antes de se tornar namorado, já fazia parte de tudo, e hoje é minha fonte de inspiração e incentivo.

Agradeço ao Caunesp, que em muitos momentos foi um lugar para refletir e ser grata.

Agradeço a cada um que de alguma forma contribuiu para que este trabalho fosse realizado, e que foi de suma importância para chegar até este momento.

## APOIO FINANCEIRO

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001.

## Sumário

<b>RESUMO</b>	<b>viii</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>ix</b>
<b>INDICE DE FIGURAS</b>	<b>x</b>
<b>INDICE DE TABELAS</b>	<b>xi</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>3</b>
2.1 Importância da macrófita	3
2.2 Microalga estudada	5
2.3 Aspectos gerais do cultivo da microalga	7
2.4 Escolha das macrófitas como meio de cultura	11
2.5 Procedimento da coleta da alga e preparação de cultivo da <i>Messastrum gracile</i>	15
<b>3. OBJETIVOS</b>	<b>18</b>
<b>4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>18</b>
<b>5. ARTIGO</b>	<b>28</b>
5.1 Resumo	29
5.2 Summary	30
5.3 Introdução	31
<b>6. Material e métodos</b>	<b>32</b>
6.1 Planejamento experimental	32
6.2 Meios de cultura	34
6.3 Crescimento da microalga, parâmetros dos meios de cultura e composição bioquímica	34
6.4 Análise estatística dos dados	35
6.5 Composição de meios de cultura de macrófitas	36
<b>7. Resultados</b>	<b>36</b>
7.1 Condições de cultivo, meios de cultura e crescimento da microalga	36
7.2 Proteína e lipídio	39
7.3 Nutrientes dos meios de cultura misto de macrófitas	41
<b>8. Discussão</b>	<b>42</b>
<b>9. Conclusão</b>	<b>45</b>
<b>10. Referências</b>	<b>45</b>

## RESUMO

As diversas formas de aplicação e desenvolvimento das microalgas destacam-se e chamam atenção para atuação de pesquisas e inserção na área comercial e industrial. A biomassa extraída a partir desses microrganismos é fonte de matéria prima para diversos produtos, como suplemento na alimentação humana, insumos farmacêuticos, fonte de alimentação animal, produtos cosméticos, produção de bioenergia, biocombustíveis, além de sua utilização na agricultura e entre muitos outros produtos. O meio de cultura desempenha papel fundamental na multiplicação e desenvolvimento adequado das microalgas. Com o custo elevado do meio de cultura, nos últimos anos ocorreu um crescimento do uso alternativo de elementos que permitam o desenvolvimento das microalgas, e, nesse contexto, destaca-se as macrófitas aquáticas cuja biomassa é rica em nutrientes essenciais. Melhorar a aplicação de plantas aquáticas como meio de cultura pode reduzir significativamente os custos de produção, abrindo caminho para novas biotecnologias. As macrófitas na manutenção e equilíbrio do ambiente aquático, contribuem nas transformações físicas, químicas e processos biológicos. O meio de cultura de macrófitas para as microalgas Chlorophyceae contendo biomassa de plantas aquáticas e NPK, pode servir de importante fonte alternativa por apresentar concentrações elevadas de nutrientes essenciais para a microalga. Nesse estudo, foi avaliado o crescimento da microalga *Messastrum gracile* em quatro meios de cultura mistos compostos por diferentes combinações de macrófitas aquáticas. O principal objetivo foi identificar qual desses meios proporciona melhor rendimento no crescimento da microalga. Os resultados demonstraram que os meios de cultura mistos contendo *Lemna minor*, *Eichhornia crassipes* e *Eichhornia azurea* (L+C+A) e o meio de *Eichhornia crassipes* e *Lemna minor* (C+L), destacaram-se como os mais eficientes. Apresentaram benefícios notáveis, como um rápido crescimento da biomassa e teores significativamente mais elevados de proteína e lipídios. Além disso, os meios L+C+A e C+L demonstraram maior capacidade de absorção de nitrogênio e fósforo, dois elementos essenciais na produção de mais de 40% de proteínas e entre 5 e 9% de lipídios. Esses resultados enfatizam a importância de desenvolver protocolos inovadores para meios de cultura alternativos no cultivo de microalgas, visando alcançar maior biomassa e a produção de subprodutos de interesse industrial.

**Palavras-chave:** *Messastrum gracile*; *Eichhornia crassipes*, *E. azurea* e *Lemna minor*; biomassa; Extrato de macrófita misto; crescimento.

## ABSTRACT

### **Macrophyte mixed culture medium in the cultivation of *Messastrum gracile***

The various applications and development of microalgae stand out and draw attention to research and integration into the commercial and industrial sectors. The biomass extracted from these microorganisms serves as a raw material for various products, such as supplements in human nutrition, pharmaceutical inputs, animal feed, cosmetic products, bioenergy production, biofuels, and their use in agriculture, among many other applications. The culture medium plays a crucial role in the proper multiplication and development of microalgae. Given the high cost of the culture medium, there has been a growth in the alternative use of elements that enable the development of microalgae. In this context, aquatic macrophytes, whose biomass is rich in essential nutrients, stand out. Improving the application of aquatic plants as a culture medium can significantly reduce production costs, paving the way for new biotechnologies. Aquatic macrophytes contribute to the maintenance and balance of the aquatic environment, participating in physical, chemical, and biological processes. The culture medium of macrophytes for Chlorophyceae microalgae containing biomass of aquatic plants and NPK can serve as an important alternative source due to its high concentrations of essential nutrients for microalgae. In this study, the growth of the microalga *Messastrum gracile* was evaluated in four mixed culture media composed of different combinations of aquatic macrophytes. The main objective was to identify which of these media provided the best yield in microalga growth. The results showed that the mixed culture media containing *Lemna minor*, *Eichhornia crassipes*, and *Eichhornia azurea* (L+C+A) and the medium of *Eichhornia crassipes* and *Lemna minor* (C+L) stood out as the most efficient. They demonstrated notable benefits, such as rapid biomass growth and significantly higher levels of protein and lipids. Additionally, the L+C+A and C+L media showed a higher capacity to absorb nitrogen and phosphorus, two essential elements in the production of over 40% of proteins and between 5 and 9% of lipids. These results emphasize the importance of developing innovative protocols for alternative culture media in microalgae cultivation, aiming to achieve higher biomass and the production of industrially relevant by-products.

**Keywords:** *Messastrum gracile*; *Eichhornia crassipes*, *E. azurea* and *Lemna minor*; biomass; mixed macrophyte extract; growth

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Microalga <i>Messastrum gracile</i> em lente de aumento de 50X; Mensuração do tamanho e diâmetro da microalga.....	06
<b>Figura 2</b> - Metabolismo algal.....	09
<b>Figura 3</b> - Macrófita <i>Eichhornia crassipes</i> .....	12
<b>Figura 4</b> - <i>Eichhornia azurea</i> .....	13
<b>Figura 5</b> - <i>Lemna minor</i> .....	14
<b>Figura 6</b> -Diferentes etapas no procedimento do cultivo utilizado em laboratório para o crescimento de <i>M. gracile</i> em meios mistos de macrófita : (A) Microalgas em tubos de ensaio proveniente de cepário específico; (B) Preparação dos meios de cultura em 2 L; (C) Esterilização do meio de cultura em autoclave em 2 L; (D) Erlenmeyers com microalga e meio de cultura em câmara de assepsia; (E) Cultivo de <i>M. gracile</i> em volume em meio misto de macrófita.....	16
<b>Figura 7</b> - Procedimentos para obtenção da biomassa algal.....	17
<b>Figura 8</b> - Confeção do meio de cultura de macrófita.....	17
<b>Figura 9</b> - Diagrama esquemático do preparo da microalga <i>Messastrum gracile</i> em volume de 2L, para o cultivo em meio misto de macrófita onde: (A) Manutenção da cepa 10 mL em meio CHU12; (B) Cultivo inicial em 2L somente em meio NPK (20:5:20); (C) Cultivo em meio NPK em volume de 2 L; (D) Frascos experimentais nas diferentes associações de macrófitas como meio de cultura, onde: L+C+A = <i>Lemna minor</i> + <i>Eichhornia crassipes</i> + <i>E. azurea</i> ; A+C= <i>Eichhornia azurea</i> + <i>E. crassipes</i> ; C+L = <i>Eichhornia crassipes</i> + <i>Lemna minor</i> ; A+L = <i>E. azurea</i> + <i>Lemna minor</i> .....	33
<b>Figura 10</b> - Curva de crescimento da microalga <i>Messastrum gracile</i> em meio de cultura misto de macrófita onde: L+C+A = <i>L. minor</i> + <i>E. crassipes</i> + <i>E. azurea</i> ; A+C= <i>E. azurea</i> + <i>E. crassipes</i> ; C+L = <i>E. crassipes</i> + <i>L. minor</i> ; A+L = <i>E. azurea</i> + <i>L. minor</i> .....	37
<b>Figura 11</b> - Conteúdo de fósforo total (TP) e nitrogênio inorgânico total (TIN) ( $\text{mgL}^{-1}$ ) do meio de cultura no cultivo da microalga <i>Messastrum gracile</i> nos dias de coleta.....	40
<b>Figura 12</b> - Conteúdo de proteína e lipídio (% de biomassa seca) da microalga <i>Messastrum gracile</i> , nos dias de coleta.....	41

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Composição de nutrientes ( $\text{mg l}^{-1}$ ) em diferentes meios de cultura: LM = <i>Lemna minor</i> ; EC = <i>Eichhornia crassipes</i> ; EA = <i>Eichhornia azurea</i> .....	15
<b>Tabela 2</b> - Médias e desvio padrão das variáveis biológicas da microalga <i>Messastrum gracile</i> . Médias em cada linha seguidas da mesma letra não são significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ), ANOVA (teste) entre os meios de cultura e os dias de crescimento.....	38
<b>Tabela 3</b> - Médias e desvio padrão das variáveis abióticas do meio de cultura. Médias em cada linha seguidas da mesma letra não são significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ), ANOVA (teste) entre os meios de cultura e os dias de crescimento.....	39
<b>Tabela 4</b> - Composição dos nutrientes ( $\text{g L}^{-1}$ ) nos meios de cultura mistos de macrófitas....	42

## 1. INTRODUÇÃO

As microalgas são organismos tanto de ambientes aquáticos, quanto de ambiente terrestre úmidos, são fontes versáteis de diversos bioprodutos, e representam uma alternativa de âmbito mundial para utilização como matéria-prima. Elas são capazes de produzir biomassa, lipídios e proteínas, que por sua vez podem ser usados na geração de energia, alimentos funcionais, fármacos, cosméticos, tintas, biocombustíveis e muito mais (CHEN et al., 2018; FERNÁNDEZ et al., 2021).

As microalgas verdes fazem parte da classe das Chlorophyceae, com presença de clorofila-a e clorofila-b que são responsáveis pela fotossíntese desses microrganismos. A microalga *Messastrum gracile* faz parte desse grupo de microalgas, com rica composição em produtos de interesse industrial, como proteínas, lipídios, pigmentos e polissacarídeos, além de ser comumente utilizada como modelo de divisão celular e crescimento algal (KOBAYASHI; ITO, 1977; KILHAM et al., 1997; DO NASCIMENTO et al., 2013).

O fornecimento dos nutrientes essenciais para a microalga são a base para alcançar uma produção elevada de biomassa, sendo eles compostos nitrogenados, fósforo, carbono e enxofre, além de metais como ferro, cobalto, níquel, molibdênio e selênio (CARVALHO et al., 2006). Em alguns casos, a adição de componentes adicionais, como vitaminas do tipo B<sub>12</sub>, B<sub>1</sub>, biotina, vitamina C e E, são necessárias para auxiliar na divisão celular das microalgas (SIPAÚBA-TAVARES; ROCHA, 2001; TAIZ; ZEIGER, 2004).

Esses nutrientes são ofertados através do meio de cultura, que é um dos principais fatores que influenciam o crescimento das microalgas. O meio de cultura é composto por substâncias químicas que fornecem os nutrientes essenciais para o cultivo, podendo estimular ou inibir o crescimento das microalgas, afetando assim a composição química das células e a produção de outros compostos, incorporando os nutrientes à sua biomassa (IMAMOGLU et al., 2007; SIPAÚBA-TAVARES et al., 2011).

A produção de microalgas envolve altos custos, sendo o meio de cultura comercial uma das principais despesas (BAUMGÄRTNER, 2011). A busca por meios de cultura alternativos surge como uma maneira de reduzir os custos de produção e fornecer os nutrientes necessários para o crescimento das microalgas. Exemplos incluem o uso de fertilizantes agrícolas, como o NPK, e meios compostos por extrato de macrófitas, que têm sido desenvolvidos para cultivos de microalgas (SIPAÚBA-TAVARES et al., 2009; 2015; 2018).

A utilização de macrófitas aquáticas como base para a confecção de meio de cultura para o cultivo de microalgas se destaca devido à sua riqueza natural em nutrientes essenciais,

como nitrogênio, fósforo e potássio, fundamentais para o crescimento das microalgas (SIPAÚBA-TAVARES et al., 2009, 2014). Esse enriquecimento nutricional oferece uma alternativa econômica em comparação com meios de cultura comerciais, resultando em concentrações mais elevadas de proteínas, carotenoides e clorofilas nas microalgas, tornando-as valiosas para a alimentação e biotecnologia (LOURENÇO, 2006; SIPAÚBA-TAVARES et al., 2009).

O uso de macrófitas para fabricação de meios de cultura é uma abordagem ecológica, uma vez que aproveita plantas aquáticas abundantemente disponíveis, muitas vezes consideradas resíduos ou até mesmo pragas em sistemas de aquicultura (SIPAÚBA-TAVARES et al., 2011, 2015, 2017). Dessa forma, o uso para produção de meios de cultura promove a reciclagem de resíduos orgânicos naturais e contribui para a gestão eficiente de nutrientes em ecossistemas aquáticos, reduzindo assim o problema crítico da eutrofização (SIPAÚBA-TAVARES et al., 2014).

Na natureza, as macrófitas assimilam nutrientes para o seu crescimento, enquanto suas raízes quando são flutuantes, servem como abrigo e fonte de alimento para microrganismos, e quando são fixas essa função passa a ser da sua biomassa aparente na água. Elas liberam carboidratos, açúcares, aminoácidos, enzimas e outros compostos, e ainda contribuem para a melhoria da qualidade da água em ecossistemas aquáticos, atuando como filtros naturais que removem nutrientes em excesso e reduzem a poluição da água (SIPAÚBA-TAVARES et al., 2011, 2015). As macrófitas também podem absorver metais pesados e óleos, melhorando substancialmente a qualidade da água (POMPÊO, 2008; SOOD et al., 2012; KASTRATOVIC et al., 2018).

Estudos recentes (SIPAÚBA-TAVARES et al., 2017; 2019; 2022) demonstraram que o cultivo de microalgas em meios compostos por extrato de macrófitas apresentam vantagens significativas em relação aos meios tradicionais, mostrando resultados notáveis em termos de qualidade e eficiência do cultivo, destacando-se como uma alternativa promissora, embora as tecnologias para produção de microalgas estejam em constante evolução. Nestes estudos, os resultados com os meios alternativos com macrófitas e NPK em relação a crescimento e biomassa foram similares aos meios de cultura comerciais como CHU<sub>12</sub> e WC.

O Laboratório de Limnologia e Produção de Plâncton desenvolveu um protocolo para o uso de macrófitas como meio de cultura, e por meio de vários estudos envolvendo microalgas da classe Chlorophyceae, identificou três plantas aquáticas que se destacaram: *Eichhornia crassipes* (C), *Eichhornia azurea* (A) e *Lemna minor* (L), comprovando que essa

biotecnologia pode ser aplicada no cultivo da microalga *Messastrum gracile*. Até o presente momento, as pesquisas envolvendo a produção de meios de cultura alternativos com base em macrófitas consistia no uso de apenas uma espécie de planta aquática. Este trabalho visa utilizar uma mistura de extratos de macrófitas, formando um meio misto, que pode contribuir com a manipulação dos nutrientes presentes em cada planta e auxiliar no desenvolvimento da microalga.

## 9. Conclusão

O presente estudo ressalta a importância do desenvolvimento de novos protocolos para meios de cultura alternativos para cultivo de microalgas com finalidade de obter maior teor de biomassa e valor nutricional. O meio de cultura misto de macrófitas proporciona a possibilidade de gestão dos compostos que podem ser complementados com a junção das plantas, suprimindo a demanda necessária que a microalga possui. Dentre os diversos meios de cultura mistos avaliados, destacaram-se os meios de L+C+A e o C+L como mais eficientes, promovendo melhor rendimento no crescimento acelerado da *M. gracile*, apresentando benefícios nutricionais da biomassa significativos e maiores teores de proteína e lipídio. Os meios que apresentavam a planta *E. azurea* associado a uma segunda planta na composição causou a morte celular antecipada, provocando alterações nos parâmetros físico-químicos, este resultado ressalta a importância da seleção cuidadosa dos componentes do meio de cultura misto para evitar os efeitos adversos. Contudo, pode-se considerar que o meio de cultura misto com macrófita *E. crassipes* e *L. minor* é viável para o cultivo de microalgas com biomassa de alta qualidade.

## 10. Referências

- CHAI, W. S.; TAN, W. G.; MUNAWAROH, H. S. H.; GUPTA, V. K.; HO, S. H.; SHOW, P. L. Multifaceted roles of microalgae in the application of wastewater biotreatment: a review. *Environmental Pollution*, v. 269, p. 116236, 2021.
- CHEN, H.; WANG, Q. Microalgae-based green bio-manufacturing—how far from us. *Frontiers in Microbiology*, v. 13, p. 832097, 2022.
- GAO, F., YANG, Z. Y., ZHAO, Q. L., CHEN, D. Z., LI, C., LIU, M.; YANG, J.S.; LIU, J.Z.; GE Y.M.; CHEN, J. M. Mixotrophic cultivation of microalgae coupled with anaerobic hydrolysis for sustainable treatment of municipal wastewater in a hybrid system of anaerobic membrane bioreactor and membrane photobioreactor. *Bioresource Technology*, v. 337, p. 125457, 2021.
- GUILLARD, R.R.L. Division rates. In: STEIN, J. R. (Ed.). *Handbook of phycolgical methods: culture methods and growth measurements*, London: Cambridge University Press, p. 289-311, 1973.
- GHOSH, M.; SHARMA, N.; GERA, M.; KIM, N.; HUYNH, D.; ZHANG, J.; MIN, T.; QIU, R.; GAO, S.; LOPEZ, P. A.; OGDEN, K. L. Effects of pH on cell growth, lipid production and CO<sub>2</sub> addition of microalgae *Chlorella sorokiniana*. *Algal research*, v. 28, p. 192-199, 2017.
- GOLTERMAN H.L.; CLYMO R.S.; OHNSTAD, M.A.M. *Methods for physical and chemical analysis of fresh water*. Blackwell Scientific Publication, n.8, p.113, 1978.
- HASHEMIAN, M.; AHMADZADEH, H.; HOSSEINI, M.; LYON, S.; POURIANFAR, H. R. Production of microalgae-derived high-protein biomass to enhance food for animal feedstock and human consumption. In *Advanced bioprocessing for alternative fuels, biobased chemicals, and bioproducts*. Woodhead Publishing, p. 393-405, 2019.
- HILLEBRAND, H.; DÜRSELEN, C. D.; KIRSCHTEL, D.; POLLINGHER, U.; ZOHARY, T. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of phycology*, v. 35, n. 2, p. 403-424, 1999.
- KOROLEFF, F. Determination of nutrients. In Grassnof, K. (Ed.). *Methods of seawater analysis*, Verlag Chemie, 1976.
- MAPA, S. R. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Brasil) Cadeia Produtiva da Agroenergia. Brasília: IICA, MAPA, SPA, 2007.
- NUSCH, E.A. Of different methods for chlorophyll and phaeopigments determination. *Archiv für Hydrobiologie*, v. 14, n. 1, p. 14-36, 1980.

- QIU, R., GAO, S., LOPEZ, P. A., & OGDEN, K. L. Effects of pH on cell growth, lipid production and CO<sub>2</sub> addition of microalgae *Chlorella sorokiniana*. *Algal research*, v. 28, p. 192-199, 2017.
- ROCHA, O.; DUNCAN, A. The relationship between cell carbon and cell volume in freshwater algal species used in zooplanktonic studies. *Journal of Plankton Research*, v. 7, n. 2, p. 279-294, 1985.
- SIPAÚBA-TAVARES, L.H.; IBARRA, L.C.; FIORESI, T.B. *Ankistrodesmus gracilis* (Reinsch) Korshikov (Chlorophyta) laboratory cultured in CHU12 and macrophyte with NPK media. *Boletim do Instituto de Pesca*, v. 35, n. 1, p. 111-118, 2009.
- SIPAUBA-TAVARES, L. H.; MILLAN, R. N.; DE ALMEIDA BERCHIELLI, F.; DE SOUZA BRAGA, F. M. Use of alternative media and different types of recipients in a laboratory culture of *Ankistrodesmus gracilis* (Reinsch) Korshikov (Chlorophyceae). *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, v. 33(3), p. 247-253, 2011.
- SIPAÚBA-TAVARES, L. H.; FLORÊNCIO, T.; SCARDOELI-TRUZZI, B. Aquaculture biological waste as culture medium to cultivation of *Ankistrodesmus gracilis* (Reinsch) Korshikov. *Brazilian Journal of Biology*, v. 78, p. 579-587, 2017.
- SIPAÚBA-TAVARES L.H., FLORÊNCIO T., TRUZZI B.S. Aquaculture biological waste as culture medium to cultivation of *Ankistrodesmus gracilis* (Reinsch) Korshikov. *Brazilian Journal of Biology*, v. 78, p. 579-587, 2018.
- SIPAÚBA-TAVARES, L. H.; SCARDOELI-TRUZZI, B.; FENERICK, D. C.; TEDESQUE, M. G. Comparison of photoautotrophic and mixotrophic cultivation of microalgae *Messastrum gracile* (Chlorophyceae) in alternative culture media. *Brazilian Journal of Biology*, v. 80, p. 914-920, 2019.
- SIPAÚBA-TAVARES, L. H., TEDESQUE, M. G., COLLA, L. C., MILLAN, R. N., & SCARDOELI-TRUZZI, B. Effect of untreated and pretreated sugarcane molasses on growth performance of *Haematococcus pluvialis* microalgae in inorganic fertilizer and macrophyte extract culture media. *Brazilian Journal of Biology*, v. 82, 2022.
- SOKAL, R.R., ROHLF F.J. *Biometry. The principles and practices on statistics in biological research*. W.H. Freeman and Company, San Francisco. p. 857, 1981.
- TEDESQUE, M. G.; SCARDOELI-TRUZZI, B.; SIPAÚBA-TAVARES, L. H. *Messastrum gracile* (Chlorophyceae) growth using sugarcane molasses-based macrophyte extract culture media. *Journal of Applied Phycology*, v. 33, n. 5, p. 2745-2754, 2021.
- TOSSAVAINEN, M.; LAHTI, K.; EDELMANN, M.; ESKOLA, R.; LAMPI, A. M.; PIIRONEN, V.; KORVONEN, P.; OJALA, A.; ROMANTSCHUK, M. Integrated

utilization of microalgae cultured in aquaculture wastewater: wastewater treatment and production of valuable fatty acids and tocopherols. *Journal of Applied Phycology*, v. 31, p. 1753-1763, 2019.

VOLLENWEIDER, R.A. A manual on the methods for measuring primary production in aquatic environments. Oxford Blackwell Scientific Publ., p. 225, 1974.

WANG, Y.; LIU, X.; LIU, Y.; WANG, D.; XU, Q.; LI, X.; YANG, Q.; WANG, Q.; NI, B.J.; CHEN, H. Enhancement of short-chain fatty acids production from microalgae by potassium ferrate addition: feasibility, mechanisms and implications. *Bioresource Technology*, p. 124266, 2020.

WOYDA-PLOSZCZYCA, A. M., & RYBAK, A. S. How can the commercial potential of microalgae from the *Dunaliella* genus be improved? The importance of nucleotide metabolism with a focus on nucleoside diphosphate kinase (NDPK). *Algal Research*, v. 60, p. 102474, 2021.