

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Escola de Veterinária
Programa de Pós-graduação em Zootecnia

Larissa Gabriele Abreu Martins

**EFEITO AGUDO DO EXTRATO DE MACROALGA (*Kappaphycus alvarezii*),
EM JUVENIS DE GUPPY (*Poecilia reticulata*)**

Belo Horizonte
2025

Larissa Gabriele Abreu Martins

**EFEITO AGUDO DO EXTRATO DE MACROALGA (*Kappaphycus alvarezii*),
EM JUVENIS DE GUPPY (*Poecilia reticulata*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Zootecnia.

Área de concentração:

Produção Animal/Aquacultura

Prof. Orientador: Dr. Kleber Campos Miranda Filho.

Coorientador: Dr. Guilherme Campos Tavares

Belo Horizonte

2025

M386e Martins, Larissa Gabriele Abreu, 1997 -
Efeito agudo do extrato de macroalga (*Kappaphycus alvarezii*) em Juvenis de Guppy (*Poecilia reticulata*) / Larissa Gabriele Abreu Martins.- 2025.
57f: il.

Orientador: Kleber Campos Miranda Filho

Coorientador: Guilherme Campos Tavares

Dissertação (Mestrado) apresentada à Escola de Medicina Veterinária da UFMG, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

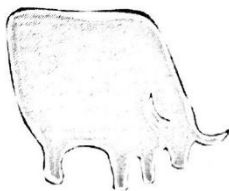
Área de Concentração: Produção Animal aquicultura.

Bibliografias: f. 55 – 57.

1. Água - Toxicologia - Teses - 2. Aquicultura - Teses - 3. Desenvolvimento sustentável - Teses - 4. Histopatologia Veterinária - Teses - I. Miranda Filho, Kleber Campos - II. Tavares, Guilherme Campos - III. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária - IV. Título.

CDD – 630

Bibliotecária responsável Cristiane Patrícia Gomes CRB 2569
Biblioteca da Escola de Veterinária, UFMG.



Escola de Veterinária
UFMG

ESCOLA DE VETERINÁRIA DA UFMG
COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA
Av. Antônio Carlos 6627 - CP 567 - CEP 30123-970 - Belo Horizonte- MG
TELEFONE (31)-3409-2173

www.vet.ufmg.br/academicos/pos-graduacao
E-mail: cpzootec@vet.ufmg.br

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DA ALUNA LARISSA GABRIELE ABREU MARTINS

As 09 horas do dia 28 de julho de 2025, reuniu-se a Comissão Examinadora de dissertação, aprovada ad referendum no dia 25/07/2025, para julgar, em exame final, a defesa da dissertação intitulada:

EFEITO AGUDO DO EXTRATO DE MACROALGA
(FARFAPHYCUS ALVAREZII) EM JUVENIS DE GURPY
(POECILIA PETICULATA).

_____, como requisito final para a obtenção do Grau de Mestre em Zootecnia, área de concentração Produção Animal.

Abriendo a sessão, o Presidente da Comissão, Prof. Kleber Campos Miranda Filho, após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares da Defesa de dissertação, passou a palavra ao (a) candidato (a), para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa do candidato (a). Logo após, a Comissão se reuniu, sem a presença do candidato e do público, para julgamento da dissertação, tendo sido atribuídas as seguintes indicações:

	Aprovada	Reprovada
Prof.(a)/Dr.(a) <u>KLEBER CAMPOS MIRANDA FILHO</u>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prof.(a)/Dr.(a) <u>DANIELA CHERUIM M. HOYOS</u>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prof.(a)/Dr.(a) <u>GEAN PAULO ANDRADE REIS</u>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Pelas indicações, o (a) candidato (a) foi considerado (a): Aprovado (a)



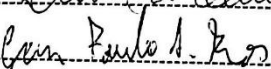
Reprovado (a)

Para concluir o Mestrado, o(a) candidato(a) deverá enviar a versão final da dissertação ao repositório da UFMG acatando, se houver, as modificações sugeridas pela banca, e a comprovação de submissão de pelo menos um artigo científico em periódico recomendado pelo Colegiado dos Cursos. Para tanto terá o prazo máximo de 60 dias a contar da data defesa.

O resultado final, foi comunicado publicamente ao (a) candidato (a) pelo Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, o Presidente encerrou a reunião e lavrou a presente ata, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora e encaminhada juntamente com uma cópia da dissertação apresentada para defesa.

Belo Horizonte, 28 de julho de 2025.

Assinatura dos membros da banca:

 _____ KLEBER
 _____ DANIELA
 _____ GEAN

DEDICATÓRIA

Aos meus pais pela base firme que me deram, pelo amor incondicional e por sempre acreditarem em mim, mesmo quando eu duvidei. Obrigada por cada sacrifício silencioso, por cada palavra de incentivo e por me ensinarem, com o exemplo, o valor do esforço, da honestidade e da persistência. Nada disso seria possível sem vocês.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus, por ter sustentado minha caminhada até aqui. Em cada momento de dúvida, de cansaço e de medo, foi Ele quem me fortaleceu, renovou minha fé e guiou meus passos.

Agradeço aos meus pais, Simone e Mauro, pelo amor incondicional, pelo exemplo de força, honestidade e dedicação. Obrigada por acreditarem em mim e por serem meu alicerce em todas as fases da vida.

Às minhas avós, Geralda e Inhá, por todo o carinho, conselhos e orações que me acompanharam mesmo à distância. O amor de vocês é uma bênção em minha vida.

À minha irmã, Jéssica Martins, e ao Vinícius Tadeu, pelo apoio constante, pelas palavras de incentivo e por estarem sempre ao meu lado, torcendo pelo meu crescimento.

Ao meu namorado, Luiz Marques, meu companheiro de vida e de jornada, meu apoio em todos os momentos — especialmente nos mais difíceis. Você esteve presente em cada fase desse processo, me ouvindo, me acolhendo, me incentivando e me lembrando do meu valor quando eu mesma esquecia. Sua paciência, carinho e força me ajudaram a continuar mesmo quando tudo parecia pesado demais.

Aos meus amigos e amigas que estiveram comigo ao longo desse processo, em especial àqueles que participaram diretamente do experimento: Mikaelly Ferreira, que me deu suporte em todas as etapas das análises e me ajudou com dedicação e paciência na longa e trabalhosa parte das lâminas histológicas, sem seu apoio, dedicação e parceria, nada disso seria possível; Maria Clara Braga e Pedro Alves, por todo apoio no início do experimento e por dividirem comigo longas noites no laboratório — sem vocês, eu não teria conseguido.

Agradeço à Dra. Érika Alvarenga pelo apoio essencial na condução das análises histológicas, auxílio nas análises estatísticas e na elaboração dos gráficos que compõem este trabalho. Sua colaboração foi fundamental para a construção e a qualidade desta pesquisa.

Ao meu orientador, Kleber Miranda, pela orientação, confiança e disponibilidade ao longo deste trabalho. E ao meu coorientador, Guilherme Campos, pelo suporte técnico, pelas sugestões valiosas e por acreditar no projeto desde o início.

A todos que, de alguma forma, contribuíram com essa conquista, meu sincero e profundo agradecimento. Sou imensamente grata por cada palavra, gesto e presença. Em especial, agradeço ao Diego, à Mari e ao Gus, que, mesmo à distância, tiveram papel fundamental nos meus dias, ajudando-me a manter o foco nos meus objetivos e sonhos. Agradeço também à Marcela, Ana Clara, Michel, Elisa e Duda, que tornaram meus dias mais leves e significativos dentro da faculdade, com amizade, companheirismo e apoio nos momentos mais desafiadores.

EPIGRAFE

“Porque sou eu que conheço os planos que tenho para vocês”, diz o Senhor, “planos de fazê-los prosperar e não de lhes causar dano, planos de dar-lhes esperança e um futuro.” - Jeremias 29:11

RESUMO

O trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos toxicológicos agudos do extrato bruto da macroalga *Kappaphycus alvarezii* em juvenis de *Poecilia reticulata* (guppy), por meio de testes de toxicidade, análise histológica e monitoramento dos parâmetros físico-químicos da água. Foram testadas cinco concentrações do extrato (4%, 6%, 8%, 10% e 12%) e um grupo controle, com 20 animais por tratamento (10 por repetição), expostos por 96 horas. A CL_{50} foi estimada para 24, 48, 72 e 96 horas, sendo a CL_{50-96h} de 4,17% (IC: 3,54–4,90%). A sobrevivência foi analisada por curvas de Kaplan-Meier com correção de Bonferroni, revelando diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos. Foram observadas lesões histológicas progressivas nas brânquias (edema, fusão lamelar, hipertrofia) e no fígado (vacuolização, necrose, desorganização celular), especialmente a partir da concentração de 6%. Os resultados indicam que o extrato de *K. alvarezii* pode apresentar efeitos tóxicos mesmo em concentrações relativamente baixas, ressaltando a importância de avaliações específicas antes de sua aplicação em sistemas aquícolas. Este estudo contribui com informações relevantes para o uso sustentável de macroalgas marinhas como insumos funcionais na piscicultura ornamental e em sistemas de produção mais ecológicos.

Palavras-chave: Toxicologia aquática; histopatologia; aquicultura sustentável.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the acute toxicological effects of the crude extract of the macroalga *Kappaphycus alvarezii* on juveniles of *Poecilia reticulata* (guppy), through toxicity tests, histological analysis, and monitoring of the water's physicochemical parameters. Five extract concentrations (4%, 6%, 8%, 10%, and 12%) and a control group were tested, with 20 animals per treatment (10 per replicate), exposed for 96 hours. The LC₅₀ was estimated for 24, 48, 72, and 96 hours, with the LC₅₀-96h determined at 4.17% (CI: 3.54–4.90%). Survival was analyzed using Kaplan-Meier curves with Bonferroni correction, revealing statistically significant differences between treatments. Progressive histological lesions were observed in the gills (edema, lamellar fusion, hypertrophy) and liver (vacuolization, necrosis, cellular disorganization), especially from the 6% concentration onward. The results indicate that *K. alvarezii* extract can present toxic effects even at relatively low concentrations, highlighting the importance of species-specific evaluations before its application in aquaculture systems. This study provides relevant information for the sustainable use of marine macroalgae as functional inputs in ornamental fish farming and in more ecological production systems.

Keywords: Aquatic toxicology; histopathology; sustainable aquaculture.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Imagens da macroalga *Kappaphycus alvarezii* evidenciando variações na coloração e na forma de cultivo.
- Figura 2** – Coleta e preparo do extrato da macroalga *K. alvarezii*.
- Figura 3** – Processo de coleta e preparação do extrato de macroalgas.
- Figura 4** – Curvas de sobrevivência (Kaplan-Meier) de *P. reticulata* expostos por 96h ao extrato.
- Figura 5** – Número de lesões branquiais em *P. reticulata*.
- Figura 6** – Fotomicrografias das brânquias de *P. reticulata* (aumento de 40x).
- Figura 7** – Grau de lesão hepática em *P. reticulata* após 96h.
- Figura 8** – Fotomicrografias (40x) do fígado de *P. reticulata*.
- Figura 9** – Semelhança das lesões branquiais em guppies e *Liza aurata*.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores médios (\pm DP) dos parâmetros de qualidade da água para cada concentração.

Tabela 2 – Valores de CL_{50} , intervalo de confiança (IC 95%) e nível de segurança.

Tabela 3 – Classificação dos níveis de toxicidade aguda com base nos valores de CL_{50} .

LISTA DE ABREVIATURAS

CL₅₀ – Concentração Letal Mediana

OD – Oxigênio Dissolvido

DP – Desvio Padrão

ANOVA – Análise de Variância

CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais

OECD – Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico

H&E – Hematoxilina e Eosina

TSKM – Trimmed Spearman-Kärber Method

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
1.1	Objetivo Geral	15
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	15
2.1	Histórico Global, Classificação e Importância Econômica	15
2.2	Espécies Similares e Considerações Taxonômicas.....	17
2.3	Cultivo e Desenvolvimento da Produção no Brasil.....	18
2.4	Aplicações no Brasil e Potencial Biotecnológico	19
2.5	Toxicidade de Extrato Vegetais	19
2.6	Guppy (<i>Poecilia reticulata</i>) como organismo-teste em toxicologia aquática	21
2.7	Métodos de Toxicologia	22
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	23
3.1	Aspectos éticos e regulamentares	23
3.2	Coleta e preparo dos extratos da macroalga <i>Kappaphycus alvarezii</i>	23
3.3	Cultivo de <i>Poecilia reticulata</i> em laboratório	25
3.4	Teste toxicológico agudo	26
3.5	Estudo histológico	27
3.6	Análise estatística	28
4	RESULTADOS	29
4.1	Sobrevivência e CL ₅₀	29
4.2	Análise de Lesões Branquiais	31
4.3	Análise de grau de lesões hepáticas	35
5	DISCUSSÃO	37
6	CONCLUSÃO.....	44
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	44
	APÊNDICE	49

1 INTRODUÇÃO

A crescente demanda por compostos bioativos de origem natural tem impulsionado pesquisas envolvendo macroalgas marinhas, devido ao seu potencial farmacológico, ecológico e industrial. Entre essas macroalgas, a alga vermelha *Kappaphycus alvarezii* destaca-se por ser uma das principais fontes de carragenanas, polissacarídeos sulfatados amplamente utilizados como estabilizantes e espessantes nas indústrias alimentícia, cosmética e farmacêutica (KUMAR et al., 2015).

Além das carragenanas, *K. alvarezii* é rica em compostos bioativos, como flavonoides, taninos, compostos fenólicos e alcaloides, que conferem à alga propriedades antioxidantes, antimicrobianas e anti-inflamatórias (DAS et al., 2023). Essas características tornam a alga uma candidata promissora para o desenvolvimento de produtos naturais e sustentáveis.

Devido a suas características, o extrato de *K. alvarezii* tem sido estudado como alternativa em protocolos de controle de ectoparasitas em peixes ornamentais, por isso é fundamental o desenvolvimento de estudos que avaliem seus possíveis efeitos tóxicos em espécies de água doce, visando garantir a segurança e a viabilidade de sua aplicação em sistemas de produção.

O guppy (*Poecilia reticulata*), um peixe de água doce amplamente utilizado em estudos ecotoxicológicos, tem sido empregado para investigar os efeitos de diversas substâncias, incluindo herbicidas e pesticidas, demonstrando alterações histopatológicas significativas nas brânquias e outros tecidos (ROCHA et al., 2015).

Pesquisas anteriores demonstraram que *P. reticulata* apresentou alterações histopatológicas em tecidos como brânquias e fígado após exposição a substâncias químicas, incluindo metais pesados e extratos vegetais (OLIVEIRA, 2023). Essas alterações incluem edema epitelial, descolamento do epitélio lamelar e hiperplasia, que são indicativos de estresse osmótico e toxicidade (ROCHA et al., 2015).

Considerando que a macroalga utilizada tem origem marinha e que o processo de extração pode não eliminar completamente os sais minerais presentes, é plausível que o extrato tenha contribuído para um aumento local da salinidade, desencadeando tais alterações. Estudos com outras espécies, como peixe Guarú (*Poecilia vivipara*) e Pacu (*Piaractus mesopotamicus*), também relatam respostas semelhantes em brânquias frente à salinidade elevada ou à exposição a extratos vegetais, corroborando os achados do presente trabalho (NOGUEIRA e SANTOS, 2019).

Ressalta-se então a necessidade de estudos que avaliem os possíveis efeitos toxicológicos da exposição de peixes ornamentais ao extrato de *K. alvarezii*, possibilitando a padronização e definição de doses seguras. Contribuindo para o desenvolvimento de futuros protocolos de uso deste produto como alternativa no controle sanitário de peixes.

1.1 Objetivo Geral

O objetivo desta pesquisa foi avaliar a tolerância de juvenis de *P. reticulata* ao extrato da macroalga *K. alvarezii*, determinando a concentração letal mediana - CL₅₀ em 96 horas e investigando os efeitos histopatológicos nos órgãos dos peixes expostos. Espera-se, assim, compreender melhor o impacto potencial dos compostos bioativos presentes na macroalga sobre organismos aquáticos de água doce.

1.2 Objetivos Específicos

- Definir as concentrações adequadas do extrato de *K. alvarezii* para a realização dos testes de toxicidade aguda;
- Estimar a CL₅₀ em 96 horas utilizando métodos estatísticos apropriados;
- Avaliar os efeitos histopatológicos nos tecidos das brânquias e fígado dos juvenis de *P. reticulata* expostos ao extrato;
- Analisar a relação entre os efeitos tóxicos observados e as variáveis físico-químicas do meio ambiente experimental.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Histórico Global, Classificação e Importância Econômica

A espécie *K. alvarezii* é atualmente considerada a quinta macroalga mais cultivada no mundo, consolidando-se como um dos pilares da aquicultura marinha global. O início do cultivo comercial da espécie remonta à década de 1970, nas Filipinas, onde práticas de cultivo foram inicialmente desenvolvidas visando à produção de carragenana, um hidrocolóide de alto valor econômico. Desde então, o cultivo expandiu-se para, pelo menos, 23 países, incluindo nove localizados na Ásia, quatro na África Oriental, quatro estados insulares do Pacífico e seis na América Latina e Caribe, demonstrando sua notável adaptabilidade a diferentes condições ambientais e sua crescente importância econômica para as comunidades costeiras envolvidas (NUNES et al., 2025).

Taxonomicamente, a macroalga *K. alvarezii* pertence ao Filo Rhodophyta, Ordem Gigartinales, sendo comumente conhecida como alga vermelha (MARO e KAALE, 2025). A espécie apresenta plasticidade morfológica, podendo ser facilmente confundida com outras macroalgas semelhantes, já que sua aparência varia conforme as condições ambientais. Seu talo é cilíndrico, de superfície lisa, com coloração que pode ir do verde-claro ao verde-oliva ou marrom-avermelhado (WINDARTO et al., 2025).

Existem diferentes cepas da espécie, incluindo variedades verdes, vermelhas e marrons, com variações em sua composição bioquímica de acordo com a linhagem, técnicas de cultivo e as condições ambientais. No Brasil, a caracterização de cepas verdes e vermelhas tem sido estudada em regiões tropicais, como São Paulo, e subtropicais, como Santa Catarina (AMADOR et al., 2025). A Figura 1 ilustra as variações morfológicas e cromáticas da macroalga *K. alvarezii*, além de apresentar uma das formas de cultivo utilizadas, com imagens registradas no Instituto de Pesca, em Ubatuba - SP.

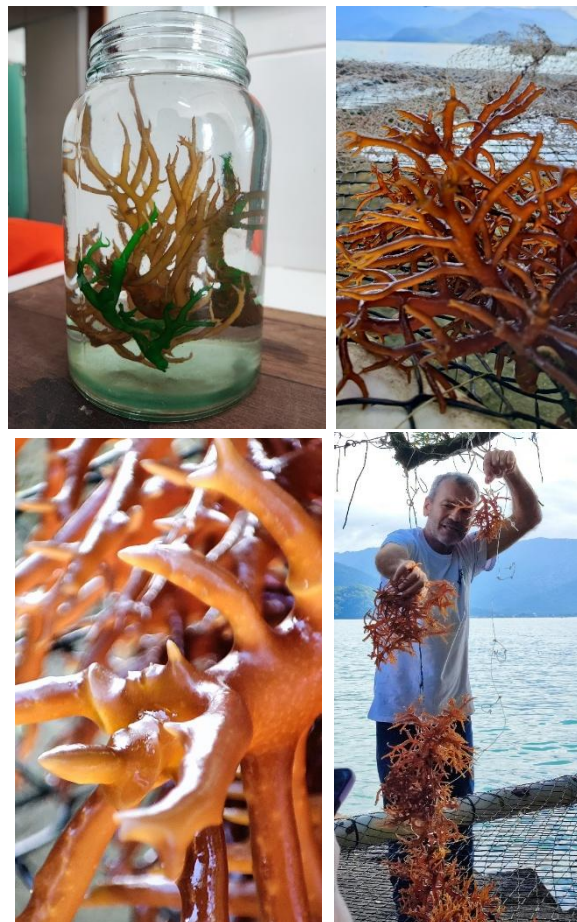


Figura 1. Imagens da macroalga *Kappaphycus alvarezii* evidenciando variações na coloração e na forma de cultivo. Fotografias de arquivo pessoal, realizadas no Instituto de Pesca, Ubatuba - SP.

O cultivo de *K. alvarezii* foi autorizado no Brasil a partir de 2020, nos estados de São Paulo, Santa Catarina e Rio de Janeiro. A domesticação da linhagem marrom tetrasporofítica ocorre desde 1995–1996 na Fazenda Marinha Experimental do Instituto de Pesca, em Ubatuba (SP) (AMADOR et al., 2025).

No estado de Santa Catarina, o cultivo da espécie possui caráter comercial. Além de seu crescimento rápido, *K. alvarezii* apresenta alta capacidade de regeneração vegetativa, facilitando sua propagação em substratos como corais ou outras superfícies submersas (WINDARTO et al., 2025).

A ampla disseminação geográfica do cultivo de *K. alvarezii* reflete não apenas o seu potencial biotecnológico, mas também a sua viabilidade como uma alternativa de renda sustentável em diversas regiões tropicais e subtropicais do globo. Tal expansão é atribuída à facilidade de propagação vegetativa, à resistência da alga a patógenos e à rápida taxa de crescimento sob condições ambientais favoráveis, tornando-a uma candidata ideal para projetos de maricultura em pequena e larga escala (NUNES et al., 2025).

A principal aplicação industrial de *K. alvarezii* é a extração de carragenana, um hidrocolóide polissacarídeo sulfatado de ampla utilização industrial como agente espessante, gelificante e estabilizante. Este composto é especialmente valorizado pelas indústrias alimentícia (em produtos como laticínios, carnes processadas e alimentos à base de plantas), farmacêutica (como excipiente em medicamentos) e cosmética (em cremes e loções), dada sua capacidade de formar géis estáveis em diferentes condições físico-químicas (NGWAEROBO et al., 2025; NUNES et al., 2025).

Em 2022, a produção global estimada de *K. alvarezii* alcançou aproximadamente 1,8 milhão de toneladas, refletindo a crescente demanda por carragenana em múltiplos setores industriais (NUNES et al., 2025). Além da carragenana, compostos bioativos presentes na alga vêm sendo estudados por suas propriedades antitumorais, antidiabéticas, anti-inflamatórias e neuroprotetoras, o que reforça seu potencial terapêutico e funcional (WINDARTO et al., 2025).

A biomassa da alga também tem sido explorada em outras frentes inovadoras, como na formulação de biofertilizantes e bioestimulantes agrícolas, bem como na produção de biofilmes biodegradáveis, bioetanol e nanomateriais, ampliando ainda mais o escopo de sua utilização em tecnologias sustentáveis (NGWAEROBO et al., 2025).

2.2 Espécies Similares e Considerações Taxonômicas

Inicialmente classificada como *Eucheuma cottonii*, a macroalga *K. alvarezii*, até hoje apresenta desafios quanto à sua distinção de outras espécies morfológicamente semelhantes,

como *Eucheuma denticulatum* (NUNES et al., 2025; SUBAKTI et al., 2025). Ambas pertencem à mesma Ordem e são cultivadas comercialmente, com destaque para regiões da Tanzânia (MARO e KAALE, 2025) e do Sudeste Asiático (BOA VENTURA et al., 2025).

Juntas, as espécies do gênero *Kappaphycus* e a macroalga *E. denticulatum* respondem por cerca de 11 milhões de toneladas da produção global de macroalgas, representando aproximadamente 33,6% da produção total de algas cultivadas mundialmente (NUNES et al., 2025). Contudo, no Brasil, apenas o cultivo de *K. alvarezii* encontra-se regulamentado e autorizado, com base nas diretrizes estabelecidas por normativas ambientais e sanitárias nacionais (SUBAKTI et al., 2025).

2.3 Cultivo e Desenvolvimento da Produção no Brasil

O cultivo experimental de *K. alvarezii* no Brasil iniciou-se entre 1995 e 1996, quando a linhagem marrom, foi introduzida na Baía de Ubatuba, litoral norte do estado de São Paulo, por meio da Fazenda Marinha Experimental do Instituto de Pesca de São Paulo. No entanto, a autorização oficial para a prática de cultivo comercial foi concedida apenas em 2020 (como relatado anteriormente), abrangendo os estados de São Paulo, Santa Catarina e Rio de Janeiro (NUNES et al., 2025).

As condições climáticas do Brasil, caracterizadas por clima tropical e subtropical, com temperaturas da água variando entre 25 e 30°C, salinidade média de 28 a 35 g/L e ampla disponibilidade de áreas costeiras adequadas para o cultivo de macroalgas, diferem consideravelmente das regiões tradicionalmente produtoras da espécie, como Filipinas, Indonésia e China. Por essa razão, são necessários estudos detalhados para compreender a composição química e o comportamento fisiológico da alga em ambientes brasileiros, de modo a adaptar as práticas de cultivo e otimizar o desempenho produtivo das linhagens utilizadas (NUNES et al., 2025).

A produção nacional de *K. alvarezii* tem se concentrado principalmente em Ubatuba (São Paulo) e Florianópolis (Santa Catarina), regiões que oferecem infraestrutura adequada para a maricultura e condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento da espécie (NUNES et al., 2025). Há também registros de iniciativas de cultivo em menor escala no estado do Rio de Janeiro (SOUZA et al., 2025).

Em estudos realizados por NUNES (2025), foram comparadas amostras coletadas nas regiões de São Paulo e Santa Catarina e as mesmas revelaram diferenças significativas na composição bioquímica da biomassa. As amostras de Santa Catarina apresentaram teores mais elevados de compostos fenólicos, flavonoides, carotenoides e carboidratos totais, além de maior

rendimento na extração de carragenana. Por outro lado, as amostras oriundas de São Paulo evidenciaram maior concentração de macro e micronutrientes, além de poliaminas e ácidos graxos (NUNES et al., 2025). Tais variações demonstram que fatores ambientais, como temperatura, salinidade, regime de luz e método de cultivo, influenciam diretamente o metabolismo da alga e, conseqüentemente, sua composição bioquímica.

Além das variações ambientais, destaca-se também a importância de se considerar os diferentes morfotipos da alga - como os de coloração verde e vermelha - e suas origens geográficas no processo de seleção de linhagens destinadas à indústria, visando otimizar tanto o rendimento quanto a qualidade dos produtos derivados (NUNES e DUTRA et al., 2025).

2.4 Aplicações no Brasil e Potencial Biotecnológico

No Brasil, a produção atual de *K. alvarezii*, especialmente na região Sul, tem sido voltada prioritariamente para a fabricação do Biostimulante Líquido de *Kappaphycus* (KLB), um produto obtido a partir da moagem e prensagem da biomassa fresca da macroalga. O KLB tem despertado crescente interesse no setor agrícola devido à sua eficácia como bioestimulante natural, promovendo o crescimento vegetal de forma sustentável e reduzindo a necessidade de fertilizantes químicos (NUNES et al., 2025).

Embora não seja indicado um único responsável pelo desenvolvimento do produto no Brasil, a produção atual de *K. alvarezii* na região Sul do país é mencionada como sendo quase totalmente voltada para a produção comercial de KLB. Há registros da utilização de KLB comercial, produzido por uma empresa localizada em Florianópolis, Santa Catarina, Brasil, como material em experimentos (BOA VENTURA et al., 2025).

O mercado global de bioprodutos derivados de fontes renováveis está em constante expansão, o que posiciona o Brasil como um potencial produtor estratégico de *K. alvarezii*, com capacidade para abastecer tanto a demanda interna quanto os mercados internacionais. A utilização sustentável da alga pode representar uma alternativa economicamente viável para comunidades litorâneas, promovendo inclusão socioeconômica, conservação ambiental e o avanço de tecnologias limpas (BOA VENTURA et al., 2025).

2.5 Toxicidade de Extrato Vegetais

A diversidade e complexidade dos compostos bioativos das macroalgas torna-as candidatas promissoras para o desenvolvimento de novos fármacos e produtos naturais. Conforme já descrito, as macroalgas marinhas são fontes ricas de compostos bioativos com potencial farmacológico, nutracêutico e industrial, no entanto, esses organismos também

produzem uma variedade de metabólitos secundários, incluindo polissacarídeos, polifenóis, carotenoides, esteróis e alcaloides, que desempenham papéis cruciais na defesa contra predadores, patógenos e estresses ambientais (SOUZA et al., 2018).

Embora os extratos vegetais sejam frequentemente considerados alternativas ambientalmente amigáveis aos produtos sintéticos, estudos têm demonstrado que eles podem apresentar toxicidade significativa para organismos aquáticos. A toxicidade varia conforme a composição química do extrato, a concentração utilizada e a sensibilidade das espécies expostas (COSTA et al., 2021). Diversos compostos bioativos, como saponinas, taninos, alcaloides e flavonoides, estão entre os principais responsáveis por esses efeitos adversos.

Os mecanismos de toxicidade incluem estresse oxidativo, danos ao DNA, alterações enzimáticas e efeitos comportamentais. Por exemplo, taninos presentes em extratos de *Terminalia catappa* provocaram alterações na atividade das enzimas antioxidantes e aumento de peroxidação lipídica em tilápias (*Oreochromis niloticus*) (SANTOS et al., 2019). Extratos de sementes de *Azadirachta indica* (neem), ricos em limonoides, demonstraram efeitos letais e subletais em camarões *Penaeus vannamei*, associados a distúrbios metabólicos e mortalidade (PÁDUA et al., 2020). Em invertebrados, alcaloides isolados de extratos de plantas medicinais foram relacionados a alterações comportamentais e redução na taxa de filtração em moluscos bivalves (FERREIRA et al., 2022).

Além de vegetais superiores, alguns estudos com macroalgas também apontaram potenciais efeitos adversos. Extratos de *Sargassum* spp. e *Ulva* spp. demonstraram atividade antiparasitária, porém induziram alterações histológicas em tecidos hepáticos e branquiais de peixes expostos a concentrações elevadas (KUMAR et al., 2021). No caso da macroalga *Kappaphycus alvarezii*, extratos brutos apresentaram atividade antioxidante significativa, mas também evidenciaram toxicidade aguda em bioensaios com *Daphnia magna* e larvas de peixes ornamentais (OLIVEIRA et al., 2023).

Dessa forma, a avaliação da toxicidade de extratos vegetais é crucial para garantir a segurança dos organismos de acordo com a sua aplicação. Para exemplificar, no uso de extratos com o objetivo de conter ectoparasitas em organismos aquáticos, testes toxicológicos padronizados são essenciais para identificar riscos potenciais e estabelecer limites seguros de uso (COSTA et al., 2021).

2.6 Guppy (*Poecilia reticulata*) como organismo-teste em toxicologia aquática

Poecilia reticulata, popularmente conhecida como lebiste ou guppy, é uma espécie de peixe vivíparo pertencente à Família Poeciliidae, que reúne cerca de 216 espécies, inserida na Ordem Cyprinodontiformes. Classificado como um peixe eurihalino secundário de água doce, o guppy apresenta ampla distribuição natural em ambientes dulcícolas e estuarinos, desde os Estados Unidos até a Argentina (FERREIRA et al., 2018; LARSSON et al., 2019; NEVES et al., 2019).

Originalmente nativa dessas regiões, a espécie foi introduzida em diversos países ao redor do mundo, principalmente em função de sua popularidade no aquarismo ornamental, sendo considerada uma das espécies de peixes ornamentais mais produzidas e comercializadas globalmente, ao lado de outras da mesma família, como *Xiphophorus hellerii*, *Xiphophorus maculatus* e *Poecilia sphenops* (NEVES et al., 2019). A disseminação do guppy também se deve ao seu uso em laboratórios de pesquisa no mundo ocidental, no Japão e no Brasil, onde, por exemplo, *P. reticulata* já foi escolhida como espécie padrão para bioensaios de toxicologia.

A utilização do guppy como organismo-teste está consolidada em protocolos e diretrizes internacionais de toxicologia, incluindo aquelas estabelecidas pela Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD, 1982) e pela Comunidade Econômica Europeia (EEC, 1992). Tais diretrizes validam sua eficácia tanto em ensaios de toxicidade aguda quanto crônica, legitimando sua adoção como modelo padrão em avaliações de risco ambiental (CASTRO et al., 2004; KOLAROVA et al., 2021).

O sucesso do guppy na aquicultura ornamental e na pesquisa científica como organismo-teste está diretamente relacionado a uma série de atributos biológicos favoráveis (CASTRO et al., 2004; FERREIRA et al., 2018; ZHENG et al., 2018):

- Pequeno porte: machos com 2,5–3,5 cm e fêmeas com 3,5–5,5 cm;
- Facilidade de manejo e reprodução em cativeiro;
- Ciclo de vida curto, atingindo a maturidade sexual em cerca de três meses;
- Reprodução contínua durante todo o ano, elevada taxa de natalidade;
- Dimorfismo sexual evidente, facilitando a diferenciação entre sexos;
- Ampla distribuição geográfica em águas doces tropicais, o que amplia sua relevância para estudos realizados em ambientes tropicais, onde há carência de dados ecotoxicológicos contextualizados.

Tais atributos tornam a espécie especialmente indicada para estudos de biologia do desenvolvimento, toxicologia, ecotoxicologia e biomonitoramento, com vantagens como baixo

custo e sensibilidade a contaminantes, além de tolerância a ambientes impactados por poluição orgânica. Ainda, há registros de que diferentes linhagens de guppy apresentam tolerância variável à salinidade, o que permite sua adaptação inclusive a ambientes marinhos, sendo sugerido o cultivo em salinidades entre 15 e 20 g/L para manutenção de estoques de organismos-teste em bioensaios com amostras estuarinas (NEVES et al., 2019).

A consolidação do guppy como organismo-teste em toxicologia aquática é respaldada por sua inclusão em normas internacionais, por sua versatilidade experimental e pela variedade de aplicações que abrange desde testes clássicos de toxicidade aguda até estratégias inovadoras de biomonitoramento e diagnóstico molecular.

2.7 Métodos de Toxicologia

A toxicologia é essencial para avaliar os impactos da poluição em ambientes aquáticos, identificando precocemente danos causados por poluentes em organismos como os peixes, que são altamente sensíveis a essas alterações. Permite o uso de biomarcadores para monitorar a toxicidade e auxilia no desenvolvimento de sistemas eficazes de controle ambiental. Além disso, garante a segurança e padronização de bioprodutos, como os derivados de macroalgas, assegurando seu uso responsável na indústria (AMADOR et al., 2025).

A toxicologia aquática emprega uma variedade de métodos para avaliar os efeitos de substâncias químicas em organismos aquáticos. Os testes podem ser classificados em agudos, que avaliam efeitos letais em curto prazo, e crônicos, que consideram exposições subletais prolongadas. Além disso, abordagens como a análise de biomarcadores permitem a detecção de alterações bioquímicas e fisiológicas fruto da exposição aguda ou crônica (FERREIRA e SOUSA, 2024).

A escolha do método depende dos objetivos do estudo, das características da substância testada e das espécies envolvidas. A padronização dos protocolos é fundamental para garantir a reprodutibilidade e comparabilidade dos resultados (FERREIRA e SOUSA, 2024).

A Concentração Letal Mediana (CL_{50}) é uma medida amplamente utilizada na toxicologia para determinar a concentração de uma substância que causa a morte de 50% dos organismos testados em um determinado período de exposição. Esse parâmetro fornece uma estimativa da toxicidade aguda de compostos físico-químicos e auxilia na comparação entre diferentes estressores (PEREIRA, 2024).

A determinação da CL_{50} envolve a exposição de grupos de organismos a diferentes concentrações da substância e a observação das taxas de mortalidade. Os dados obtidos são

analisados estatisticamente, frequentemente utilizando a análise de Probitos, para estimar a CL_{50} (PEREIRA, 2024).

Essa compreensão é essencial para a avaliação de riscos ambientais e também para o estabelecimento de limites seguros de exposição a substâncias químicas em cativeiro.

O estudo histológico é fundamental como ferramenta em pesquisas toxicológicas aplicadas à aquicultura e ao monitoramento ambiental, pois permite avaliar a saúde dos organismos aquáticos e, conseqüentemente, a do ecossistema em que estão inseridos. Essa abordagem possibilita a detecção precoce de alterações qualitativas e quantitativas nos tecidos, antes mesmo do surgimento de sinais clínicos severos ou letais (PEREIRA et al., 2014).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Aspectos éticos e regulamentares

Todos os procedimentos realizados com os animais obedeceram às diretrizes da Lei nº 11.794/2008 (Lei Arouca) e do Decreto nº 6.899/2009, que regulamentam o uso científico de animais no Brasil. O projeto experimental foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Minas Gerais (CEUA/UFMG), protocolo nº 74/2024.

As condições de manejo e experimentação buscaram minimizar o sofrimento dos animais, com monitoramento constante e procedimentos de eutanásia realizados em casos necessários para evitar dor prolongada.

3.2 Coleta e preparo dos extratos da macroalga *Kappaphycus alvarezii*

Todo o processo desde a coleta até a obtenção do extrato de *K. alvarezii* podem ser observados nas figuras 2 e 3. A coleta das amostras da macroalga *K. alvarezii* foi realizada no Instituto de Pesca localizado em Ubatuba, São Paulo, uma região reconhecida pela qualidade das suas áreas de cultivo marinho e pela expertise em manejo de macroalgas. As algas foram coletadas manualmente, procedimento realizado por pesquisadores especializados para minimizar danos físicos aos tecidos, uma prática importante para preservar os compostos bioativos presentes.

O local de coleta caracteriza-se por possuir condições ambientais controladas que favorecem a biomassa e a qualidade da macroalga, incluindo parâmetros de salinidade, temperatura e incidência solar adequados para o cultivo da espécie. A coleta manual foi feita preferencialmente durante a maré baixa, facilitando o acesso e a remoção das algas sem comprometer o substrato e evitando contaminações cruzadas.

Após a coleta, as macroalgas foram transportadas em recipientes refrigerados até o laboratório para o processamento imediato. Em seguida, as amostras foram lavadas com água doce potável, com o objetivo de remover impurezas como areia, sal, organismos epífitos e resíduos orgânicos aderidos. Essa etapa é fundamental para garantir a pureza do extrato e evitar interferências nas análises posteriores.

O preparo do extrato iniciou-se com a trituração das algas utilizando um liquidificador industrial, equipamento escolhido pela sua capacidade de processar grandes volumes e facilitar a liberação dos polissacarídeos e outros compostos bioativos. A trituração foi realizada até a obtenção de uma pasta homogênea, condição necessária para otimizar a extração dos compostos de interesse.

Posteriormente, a mistura triturada foi submetida à filtração utilizando filtros de pano de algodão, técnica tradicional que possibilita a remoção eficiente de resíduos sólidos e fibras grosseiras, resultando em um extrato líquido mais puro e adequado para as etapas seguintes. Este método é preferível a filtros sintéticos para evitar a contaminação química.

O extrato obtido foi acondicionado em recipientes plásticos e mantidos em refrigeração até a realização dos testes toxicológicos. A opção pelo extrato líquido deve-se à intenção de avaliar a toxicidade do material na sua forma mais próxima ao uso potencial, diferentemente da carragenina precipitada com álcool, procedimento comum em estudos industriais.

É importante ressaltar que, apesar de estudos envolvendo carragenina isolada utilizarem etapas de precipitação com etanol ou isopropanol para purificação, neste experimento optou-se por utilizar exclusivamente o extrato líquido para preservar a complexidade natural da matriz da macroalga.



Figura 2. Coleta e preparo do extrato da Macroalga *K. alvarezii*. Arquivo pessoal

Processo de Coleta e Preparação de Algas



Figura 3. Processo de coleta e preparação do extrato de macroalgas

3.3 Cultivo de *Poecilia reticulata* em laboratório

Os juvenis de *P. reticulata* (guppy), utilizados como organismos-teste, foram adquiridos de um criatório comercial em Muriaé, Minas Gerais, Brasil. Os peixes passaram por um período de quarentena de 15 dias em ambiente controlado para garantir a saúde e aclimação aos parâmetros laboratoriais.

Durante a quarentena, os animais foram mantidos em tanques com água acondicionada para simular as condições naturais, com monitoramento diária temperatura (entre 25 e 27°C), pH (7,0 a 7,5) e oxigênio dissolvido (> 6 mg/L). O sistema de aeração foi mantido durante todo o experimento, utilizando bombas de ar para aquários, conectadas a mangueiras de silicone e pedras porosas difusoras, que garantiram a oxigenação adequada dos recipientes experimentais. A renovação parcial da água foi realizada a cada dois dias, com o objetivo de manter a qualidade da água dentro dos parâmetros ideais. Os meios foram preparados previamente em béqueres, de acordo com cada tratamento: nos grupos experimentais, foi adicionada a diluição do extrato de *K. alvarezii* nas concentrações previamente estabelecidas, enquanto os aquários controle receberam apenas água sem adição do extrato. Posteriormente, os meios foram transferidos para os aquários. As medições de qualidade da água foram realizadas com auxílio de um medidor

portátil de pH/Condutividade/TDS (HI98129, HANNA) e de um oxímetro (Modelo 550A, YSI).

A alimentação dos peixes consistiu em ração comercial específica para peixes ornamentais (Nutriflakes), fornecida duas vezes ao dia até 24 horas antes do início dos testes. Esse manejo visou garantir que os animais estivessem em condições fisiológicas adequadas para o experimento, além de evitar possíveis interferências alimentares durante a exposição aos extratos no teste toxicológico.

Os peixes foram selecionados considerando o peso médio corporal (0,3763 g) e apenas machos foram utilizados para padronização da amostra e evitar variabilidade causada por diferenças sexuais, que podem influenciar na sensibilidade ao extrato. A biometria foi realizada previamente utilizando balança analítica de alta precisão e medidores de comprimento padronizados.

3.4 Teste toxicológico agudo

O teste toxicológico agudo foi conduzido no laboratório de qualidade de água, no LAQUA, UFMG, com base nas diretrizes da Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE, 2019 – Guideline 203) e conforme a norma brasileira ABNT NBR 15088:2011, que trata da avaliação da toxicidade aguda de substâncias químicas solúveis em água em peixes. O período de exposição foi de 96 horas, considerado adequado para a avaliação de efeitos agudos em organismos aquáticos.

As concentrações testadas foram estabelecidas com base em um teste toxicológico agudo preliminar, conduzido conforme a referida norma da ABNT, o qual permitiu identificar a faixa de concentração letal necessária para a realização do teste definitivo de toxicidade aguda.

A partir do teste preliminar, os grupos experimentais foram definidos como 4, 6, 8, 10 e 12% do extrato líquido da macroalga, além do controle contendo apenas água do sistema.

No início do experimento, os animais ($n = 10$) foram distribuídos em 12 béqueres de vidro de um litro, com grupos experimentais definidos pelas concentrações de extrato (controle, 4%, 6%, 8%, 10% e 12%), em duplicata, totalizando 120 peixes.

Durante as 96 horas de exposição no teste de toxicidade aguda, os peixes não foram alimentados, conforme recomendado pela norma NBR 15088, a fim de evitar interferências metabólicas e a degradação da qualidade da água por resíduos nitrogenados. A renovação total

dos meios foi realizada diariamente, caracterizando um teste semi-estático, garantindo condições estáveis e controladas de exposição ao longo do experimento.

A mortalidade dos animais foi monitorada a cada 30 minutos, com observações frequentes, permitindo o registro detalhado do tempo de exposição até o óbito, informação fundamental para a análise cinética da toxicidade. O monitoramento também foi empregado para a identificação de sinais clínicos de toxicidade e retirada imediata dos indivíduos mortos. A confirmação da morte foi realizada mediante ausência de movimento respiratório e resposta a estímulos mecânicos utilizando um bastão de vidro, procedimento padrão para garantir a precisão no registro dos dados.

Os peixes que vieram a óbito durante o experimento foram imediatamente fixados em solução de Bouin, seguindo protocolos estabelecidos para análise histopatológica (LUNA, 1968).

Os parâmetros físico-químicos da água foram monitorados diariamente antes e após as trocas totais de água. As variáveis monitoradas incluíram pH, concentração de oxigênio dissolvido (mg/L), saturação de oxigênio (%), temperatura (°C), salinidade (g/L) e condutividade elétrica (mS/cm). Esse monitoramento rigoroso assegurou a estabilidade ambiental durante o período experimental, evitando interferências que pudessem comprometer a interpretação dos resultados.

3.5 Estudo histológico

Para avaliar os efeitos deletérios da exposição aguda ao extrato de macroalga, os peixes foram submetidos ao estudo histológico focado nos órgãos-alvo mais relevantes a toxicantes aquáticos, quais sejam, as brânquias e o fígado.

As etapas de processamento histológico seguiram o protocolo descrito por Luna (1968) e Prophet et al. (1992). Os indivíduos mortos durante o experimento foram fixados em solução de Bouin por 24 horas, procedimento que promove a preservação adequada dos tecidos durante o processamento. Após a fixação, os tecidos foram mantidos em álcool 70%. Na sequência, as amostras sofreram desidratação fracionada por álcoois, diafanização em xilol e foram incluídas em parafina. Cortes histológicos transversais com espessura média de 5 µm foram realizados utilizando micrótomo manual Accu-Cut® SRM 300 LT, garantindo a uniformidade e a qualidade das lâminas destinadas à análise microscópica. As lâminas confeccionadas foram coradas com hematoxilina e eosina (H&E), técnica histológica clássica amplamente utilizada para a identificação das estruturas celulares e avaliação de alterações patológicas nos tecidos.

A análise histopatológica contemplou a observação e quantificação de lesões, como hiperplasia, necrose, inflamação e alterações morfológicas nas brânquias, bem como a avaliação do grau de comprometimento hepático, incluindo degeneração celular e alterações estruturais.

Nas brânquias, foi realizada a contagem das lamelas comprometidas, bem como a observação do espessamento epitelial. As alterações hepáticas foram classificadas segundo o grau de intensidade - leve, moderado e severo - seguindo protocolos estabelecidos para estudos toxicológicos em peixes (HINTZ e RONIS, 2008; BRUNNER, 2011).

3.6 Análise estatística

Os dados de qualidade de água foram planilhados e analisados utilizando os softwares Infostat e Rstudio.

As CL_{50} , em relação aos tempos de exposição, foram estimadas empregando-se o aplicativo “Trimmed Spearman-Kärber” (TSKM).

Para a comparação dos parâmetros de qualidade da água entre os tratamentos foi realizada análise de variância (ANOVA) em delineamento inteiramente casualizado. Em casos de diferenças estatísticas significativas, foi aplicado o teste *a posteriori* de Tukey, com nível de significância de 5%, para identificação dos grupos que diferiram entre si.

A mortalidade cumulativa também foi analisada com o auxílio de gráficos de Kaplan-Meier e testes log-rank para comparação das curvas de sobrevivência entre os tratamentos.

A análise histológica teve caráter quali-quantitativo, com avaliações semiquantitativas das lesões observadas e análise descritiva dos achados, complementando as informações da toxicidade aguda.

Os dados referentes ao número de lesões branquiais e hepáticas foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis, seguido de comparações múltiplas pelo teste de Dunn com correção de Bonferroni para controlar o erro do tipo I devido ao número de comparações realizadas. O ajuste reduziu o nível de significância para $p < 0,0033$, considerando-se 15 comparações, a fim de evitar falsos positivos. Os resultados foram representados por boxplots gerados no software R.

As alterações histopatológicas foram avaliadas de forma diferenciada nas brânquias e no fígado. Nas brânquias, realizou-se a contagem do número de lamelas comprometidas, permitindo uma quantificação direta das alterações presentes. Já no fígado, as lesões foram classificadas em escores de intensidade para refletir o grau de comprometimento tecidual: “leve” indicou alterações discretas, com poucas áreas afetadas e danos de baixa intensidade; “moderado” indicou alterações mais evidentes, com maior extensão e intensidade; e “severo”

caracterizou lesões extensas, com comprometimento acentuado das estruturas celulares e presença de alterações patológicas significativas. Essa abordagem combinada possibilitou uma avaliação semiquantitativa confiável dos efeitos do extrato nos diferentes órgãos analisados.

4 RESULTADOS

4.1 Sobrevivência e CL₅₀

Durante o período de exposição dos juvenis de *P. reticulata* ao extrato de *K. alvarezii*, os parâmetros físico-químicos da água foram monitorados e apresentaram variações em função das concentrações do extrato. Observou-se uma tendência clara de aumento da salinidade e da condutividade elétrica com a elevação das concentrações, indicando a presença crescente de substâncias dissolvidas, possivelmente sais e compostos bioativos provenientes da macroalga. Esses aumentos foram mais expressivos nos tratamentos de 10% e 12%, atingindo respectivamente $4,94 \pm 1,48$ g/L para salinidade e $9,48 \pm 0,16$ mS/cm para condutividade (Tabela 1).

O pH apresentou uma leve acidificação progressiva com o aumento da concentração do extrato, variando de $7,75 \pm 0,16$ no controle a $6,83 \pm 0,01$ na concentração de 12%. O oxigênio dissolvido (OD) e a saturação permaneceram dentro de níveis considerados adequados para a espécie ao longo de todos os tratamentos, garantindo condições ambientais estáveis para a avaliação toxicológica. A temperatura manteve-se relativamente constante, com variações mínimas entre os tratamentos (Tabela 1).

Tabela 1. Valores médios (\pm desvio padrão) dos parâmetros de qualidade da água durante o período de sobrevivência dos juvenis de *Poecilia reticulata* expostos a diferentes concentrações do extrato de *Kappaphycus alvarezii*. As diferenças significativas entre as concentrações ($p < 0,05$) foram determinadas pelo teste de Dunn com correção de Bonferroni.

Parâmetro	Controle	4%	6%	8%	10%	12%
pH	7.89 ± 0.05	7.56 ± 0.28	7.56 ± 0.30	-	-	-
OD (mg/L)	6.29 ± 0.06	4.74 ± 1.36	5.29 ± 1.31	-	-	-
Saturação	81.15 ± 0.07	55.66 ± 21.94	59.77 ± 20.56	-	-	-
Temperatura (°C)	23.80 ± 0.28	23.51 ± 0.62	23.47 ± 0.73	-	-	-
Salinidade g/L	0.87 ± 0.00	2.16 ± 0.14	2.78 ± 0.14	-	-	-
Condut. (mS/cm)	1.74 ± 0.01	4.32 ± 0.29	5.59 ± 0.25	-	-	-

Com base na CL_{50} -96h foi possível estimar o nível de segurança do extrato de macroalga para juvenis de *P. reticulata*, aplicando o fator de aplicação 0,1, conforme procedimento padrão em toxicologia aquática (SPRAGUE, 1971). A CL_{50} diminuiu progressivamente com o tempo de exposição, de 5,71% após 24 horas até 4,17% após 96 horas, demonstrando aumento da toxicidade com o tempo (Tabela 2). O nível de segurança estimado foi de 0,42%, indicando que concentrações abaixo deste valor são consideradas seguras para a espécie nas condições do experimento. No entanto, preconizamos a realização de testes subletais para confirmação dos níveis seguros de exposição.

A análise estatística via teste log-rank com correção de Bonferroni ($p < 0,0033$) evidenciou diferenças significativas entre as curvas de sobrevivência dos grupos. O controle apresentou diferença significativa em relação a todas as concentrações testadas, assim como o tratamento 4% diferiu de todos os demais. O tratamento 6% também foi diferente das demais concentrações testadas, enquanto os tratamentos de 8% e 10% não apresentaram diferenças significativas entre si, mas diferiram da concentração de 12%.

Tabela 2. Valores de CL_{50} (%), intervalo de confiança (IC 95%) e nível de segurança (%) para juvenis de *Poecilia reticulata* expostos ao extrato de *Kappaphycus alvarezii* por até 96 horas. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,0033$) entre as concentrações pelo teste log-rank com correção de Bonferroni.

Tempo (h)	CL_{50} (%)	IC (95%) (%)	Nível de Segurança (%)	Diferença
24	5,71	5,22 – 6,25	-	a
48	5,29	4,89 – 5,73	-	b
72	4,31	3,77 – 4,92	-	c
96	4,17	3,54 – 4,90	0,42	d

Letras diferentes indicam diferenças estatísticas significativas entre os grupos, determinadas pelo teste log-rank com correção de Bonferroni ($p < 0,0033$). Valores que compartilham a mesma letra não diferem significativamente entre si.

A curva de Kaplan-Meier (Figura 3) ilustra a probabilidade de sobrevivência dos juvenis de *P. reticulata* ao longo de 96 horas de exposição a diferentes concentrações do extrato de *K. alvarezii* (controle, 4%, 6%, 8%, 10% e 12%).

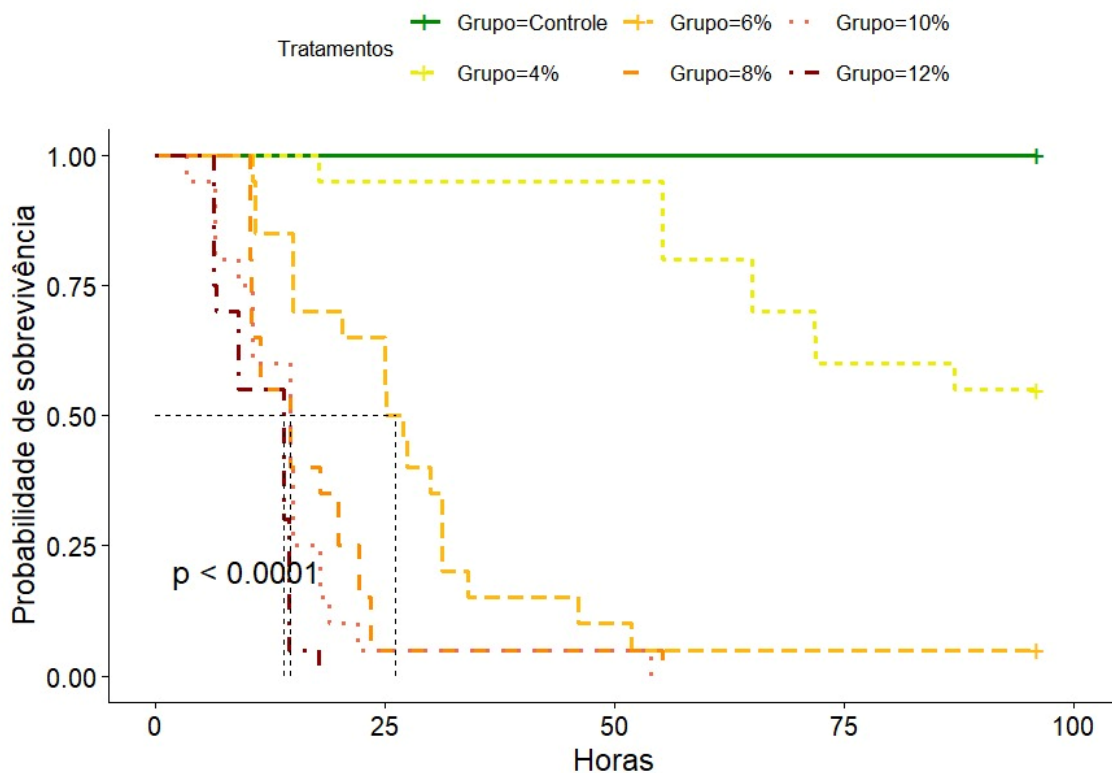


Figura 4. Curvas de sobrevivência (Kaplan-Meier) de *Poecilia reticulata* expostos por 96 horas a diferentes concentrações do extrato de *Kappaphycus alvarezii*. A análise estatística pelo teste log-rank com correção de Bonferroni revelou diferenças significativas entre os grupos ($p < 0,0001$)

O grupo controle apresentou 100% de sobrevivência durante todo o período experimental. Já o tratamento com 4% de extrato manteve uma taxa de sobrevivência de 55% ao final das 96 horas, com mortalidades ocorrendo de forma gradual ao longo do tempo. Na concentração de 6%, apenas um peixe sobreviveu até o final do experimento (5%), enquanto nas concentrações de 8%, 10% e 12% todos os animais vieram a óbito antes das 96 horas.

4.2 Análise de Lesões Branquiais

Foram observadas alterações histológicas progressivas nas brânquias de *P. reticulata* expostos ao extrato de *K. alvarezii*, caracterizadas principalmente por edema, fusão lamelar, hiperplasia e descolamento epitelial. Essas lesões tornaram-se mais frequentes e intensas a partir da concentração de 4% do extrato, estando associadas ao aumento da toxicidade. Para avaliar de forma quali-quantitativa esses efeitos, foi realizado estudo do número total de lesões histológicas identificadas por tratamento.

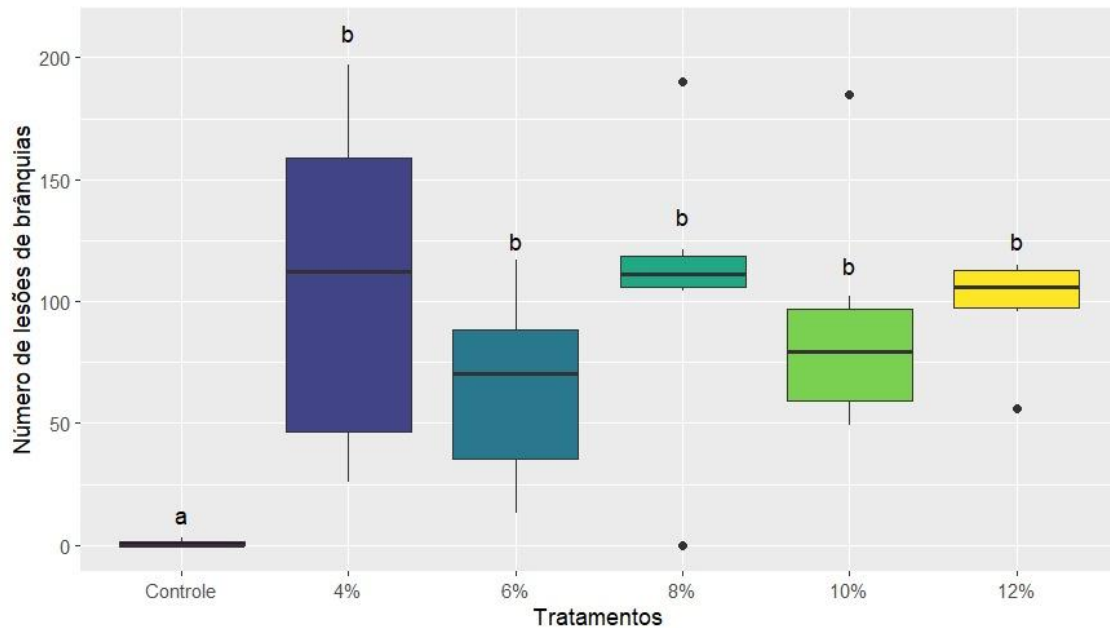


Figura 5. Número de lesões branquiais em *Poecilia reticulata* expostos a diferentes concentrações do extrato de *Kappaphycus alvarezii*. As letras acima das caixas indicam os agrupamentos estatísticos obtidos pelo teste de Dunn com correção de Bonferroni. Tratamentos identificados com letras diferentes apresentam diferença estatística significativa entre si ($p < 0,0033$).

O grupo controle apresentou valores significativamente inferiores a todos os tratamentos, com número médio de lesões próximo a zero. A partir da concentração de 4%, observou-se um aumento expressivo no número de lesões branquiais. No entanto, não houve diferença estatística significativa entre as concentrações testadas ($p > 0,0033$), conforme demonstrado tanto pelos valores de lesões individuais quanto pelo escore de lesão branquial aplicado, que considerou a gravidade e a extensão das alterações histológicas observadas.

Na Figura 5, os boxplots mostram a distribuição do número de lesões branquiais para cada tratamento, com a mediana representada pela linha central das caixas e os quartis nos limites superior e inferior. Os pontos isolados indicam valores considerados “outliers”.

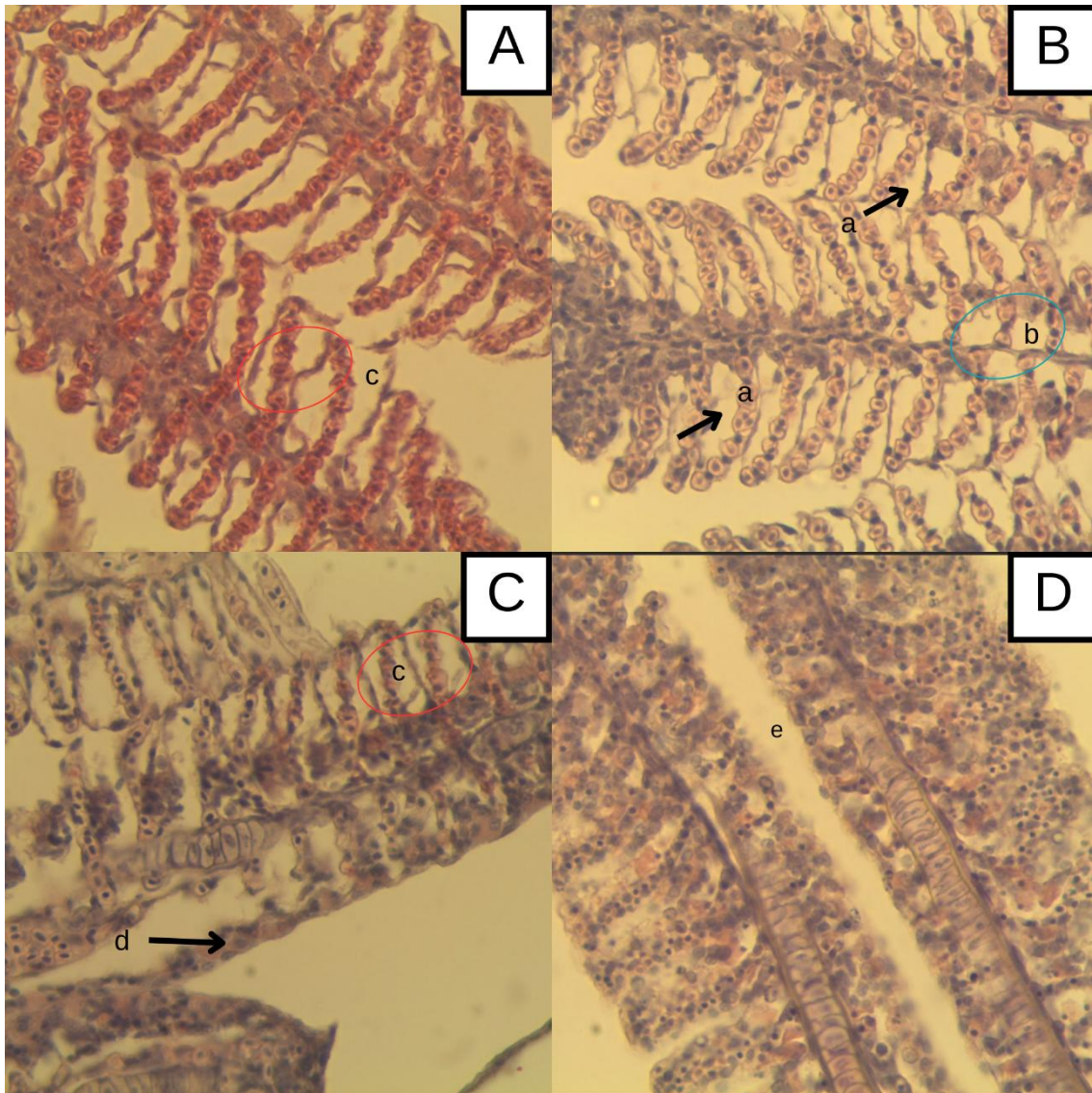


Figura 6. Fotomicrografias das brânquias de *Poecilia reticulata* expostos a diferentes concentrações do extrato de *Kappaphycus alvarezii* (aumento de 40x).

A Figura 6 apresenta imagens representativas das alterações histopatológicas observadas nas brânquias de *P. reticulata* expostos a diferentes concentrações do extrato de *K. alvarezii*.

Na imagem 6A, observa-se uma brânquia de um indivíduo exposto à concentração de 10% (14h 40' de exposição). A principal alteração evidenciada é o descolamento epitelial acentuado, marcado pela letra c, caracterizado por uma projeção do epitélio lamelar com aspecto visivelmente edemaciado. Essa alteração é sugestiva de acúmulo de fluido na matriz intercelular, possivelmente devido ao aumento da permeabilidade tecidual e à desorganização das junções celulares, indicando um quadro de edema severo.

A imagem 6B refere-se à brânquia de um animal da concentração de 6%. É possível identificar a fusão de lamelas secundárias (representada pela letra b), um processo que reduz a superfície de contato com o ambiente externo, funcionando como uma tentativa de proteção frente ao estresse. Também são visíveis áreas de deslocamento epitelial com edema, indicadas pelas setas com a letra a, sugerindo a retenção de fluido entre as camadas celulares - o que é compatível com acúmulo de água - e reforçando a presença de alterações relacionadas ao desequilíbrio osmótico.

Na imagem 6C, observa-se a brânquia pertencente a um indivíduo exposto à concentração de 12% do extrato, após 9 horas e 5 minutos de exposição. A alteração predominante é a hiperplasia de células epiteliais, indicada pela letra d, caracterizada pelo aumento no número de células, especialmente nas regiões basais, levando ao espessamento do epitélio. Essa alteração é uma resposta adaptativa comum em peixes submetidos a condições ambientais adversas, com o objetivo de reforçar a barreira protetora do tecido branquial frente ao estresse químico ou osmótico.

Além disso, é possível observar o descolamento do epitélio (letra c), um tipo de lesão que compromete a integridade do epitélio respiratório e pode afetar a eficiência das trocas gasosas.

Por fim, a imagem 6D mostra uma brânquia de animal também exposto à concentração de 12% do extrato, após 14 horas de exposição. A alteração mais evidente é a necrose generalizada do tecido branquial (letra e), observada pela perda da organização lamelar e destruição celular difusa, indicando um quadro irreversível de dano estrutural severo. Esse colapso celular é típico de situações em que o estresse tóxico ultrapassa os mecanismos de adaptação e defesa do organismo.

Além disso, observa-se hiperplasia de células epiteliais em regiões adjacentes às áreas necróticas, representando uma tentativa inicial de resposta adaptativa que, no entanto, foi insuficiente diante da intensidade do dano. A presença simultânea de hiperplasia e necrose sugere um processo contínuo e progressivo de lesão tecidual.

Essas alterações, observadas de forma distinta nas diferentes concentrações, refletem a intensidade do impacto do extrato sobre as estruturas branquiais e a complexidade das respostas fisiológicas dos peixes expostos, variando desde processos adaptativos (como fusão e hiperplasia) até danos irreversíveis (como necrose).

4.3 Análise de grau de lesões hepáticas

Foram observadas alterações hepáticas nos juvenis de *P. reticulata* expostos ao extrato de *K. alvarezii*, as quais variaram conforme a concentração testada. As lesões identificadas incluíram vacuolização citoplasmática, necrose e desorganização celular, ocorrendo de forma mais evidente nas concentrações mais elevadas. Para quantificar essas alterações, foi atribuído um escore de grau de lesão hepática de acordo com a intensidade observada, cujos resultados são apresentados na Figura 7.

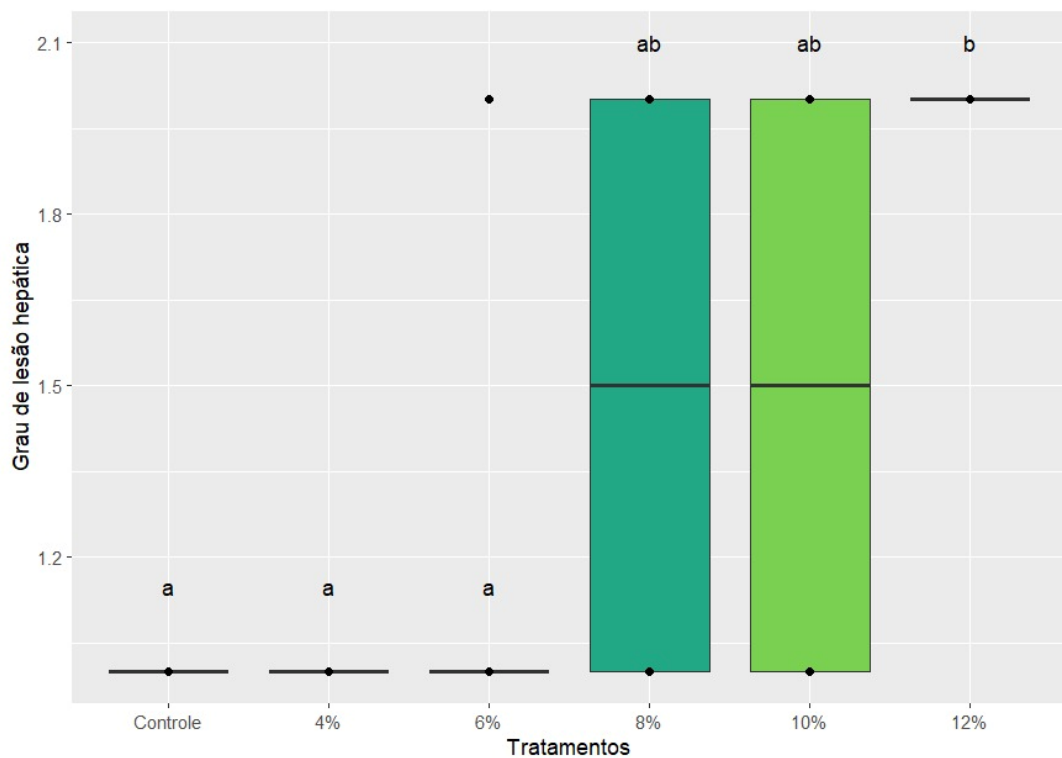


Figura 7. Grau de lesão hepática em *Poecilia reticulata* após exposição ao extrato de *Kappaphycus alvarezii* por 96 horas. As letras posicionadas acima das colunas indicam os agrupamentos estatísticos obtidos pelo teste de Dunn com correção de Bonferroni. Tratamentos que compartilham a mesma letra não diferem estatisticamente entre si, enquanto tratamentos com letras distintas apresentam diferença significativa.

A Figura 7 apresenta o grau de lesão hepática observado em juvenis de *P. reticulata* expostos a diferentes concentrações do extrato de *K. alvarezii* durante 96 horas. Os valores foram expressos por meio de escores histopatológicos, considerando a intensidade das alterações celulares hepáticas em cada grupo experimental.

Os grupos controle, 4% e 6% (letra a) apresentaram escores mínimos de lesão hepática, caracterizando alterações leves e estatisticamente semelhantes. As concentrações de 8% e 10% (letra ab) mostraram aumento nos escores médios, significativamente superior aos grupos controle, 4% e 6%, porém sem diferença entre si. Já o tratamento com 12% (letra b) apresentou o maior grau de lesão hepática, diferindo significativamente de todos os demais tratamentos, indicando maior severidade das alterações em concentrações mais elevadas do extrato.

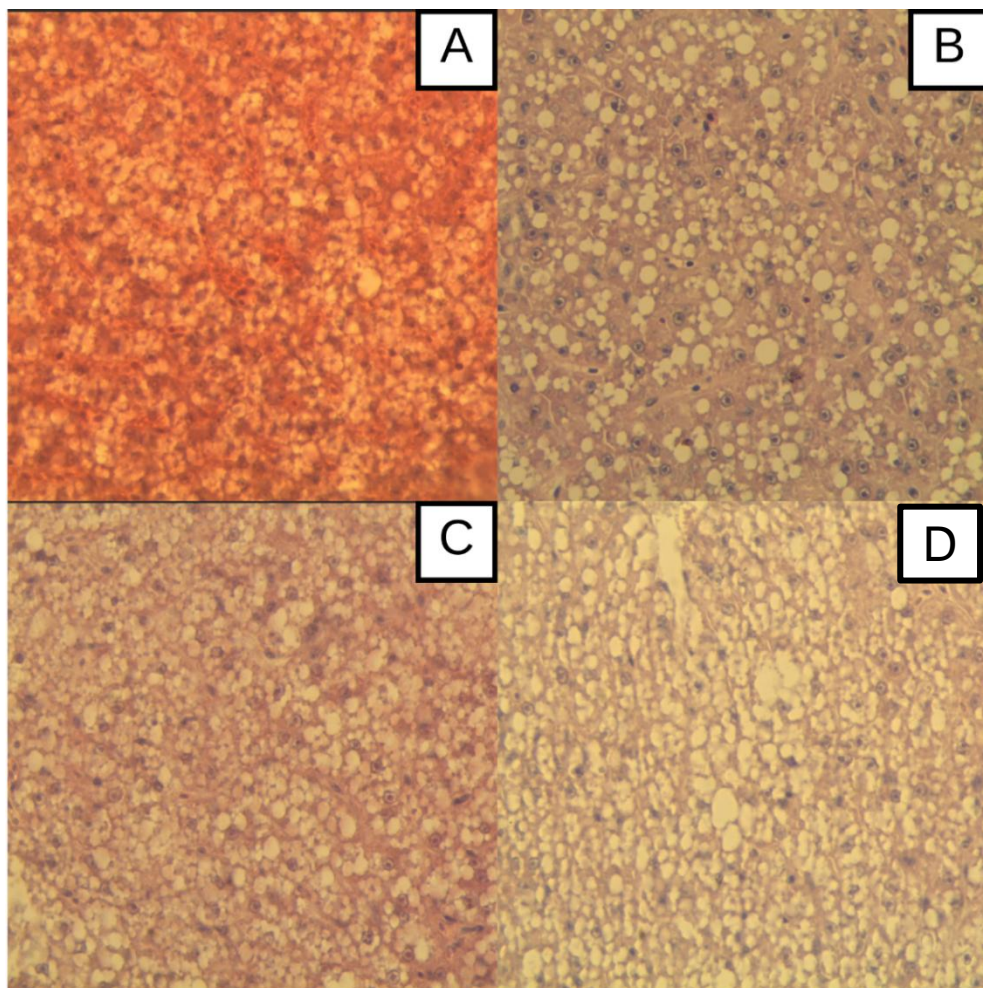


Figura 8. Fotomicrografias (aumento de 40x) do fígado de *Poecilia reticulata* após exposição ao extrato de *Kappaphycus alvarezii* por 96 horas.

A Figura 8 apresenta imagens de cortes histológicos do fígado de *P. reticulata* expostos a diferentes concentrações do extrato de *K. alvarezii*, evidenciando o aumento progressivo da esteatose hepática (acúmulo de lipídios) conforme o aumento da concentração do extrato.

Na imagem 8A, correspondente a um indivíduo do tratamento controle, não exposto ao extrato e mantido vivo durante todo o período experimental, observa-se um fígado com aspecto

preservado, apresentando pouca ou nenhuma presença de vacúolos lipídicos evidentes, compatível com o padrão histológico normal da espécie.

Na imagem 8B, referente a um animal do tratamento de 4%, também mantido vivo ao final do experimento, já é possível identificar sinais iniciais de esteatose, com presença discreta de vacúolos claros no citoplasma dos hepatócitos, indicando o início do acúmulo lipídico intracelular.

Na imagem 8C, observa-se o fígado de um peixe exposto à concentração de 10% de extrato. Nesse caso, a esteatose é visível, com áreas amplas de hepatócitos vacuolizados e acúmulo evidente de lipídios, sugerindo que o aumento da concentração do extrato potencializou o estresse hepático.

Já a imagem 8D apresenta o fígado de um indivíduo exposto à concentração de 12% de extrato. Nesta amostra, é evidente um quadro de esteatose severa e difusa, com presença generalizada de vacúolos lipídicos ocupando grande parte do citoplasma dos hepatócitos, o que indica acúmulo excessivo de gordura celular. Esse padrão histológico pode refletir um quadro avançado de disfunção metabólica hepática, relacionado tanto ao estresse químico quanto ao desequilíbrio fisiológico provocado pela exposição.

O conjunto das imagens evidencia uma relação dose-dependente entre o aumento da concentração do extrato de *K. alvarezii* e a intensidade da esteatose hepática nos guppies, apontando o fígado como um órgão-alvo sensível às alterações metabólicas induzidas durante o experimento.

5 DISCUSSÃO

A avaliação da toxicidade aguda do extrato de *K. alvarezii* em *P. reticulata* indicou uma concentração letal mediana - CL_{50} de aproximadamente 4,17% após 96 horas de exposição, com um nível de segurança estimado em 0,42%. A CL_{50} é um parâmetro crucial para a estimativa do potencial risco tóxico e para a definição de limites seguros para o uso prático de substâncias, sendo amplamente utilizada em estudos ecotoxicológicos (RAND e PETROCELLI, 1985). Com base nesse valor, o extrato pode ser classificado como tóxico para *P. reticulata*, uma vez que concentrações superiores a esse limiar representam risco significativo à sobrevivência dos organismos testados.

Dessa forma, recomenda-se que a aplicação do extrato seja realizada com cautela, observando-se rigorosamente a concentração, o tempo e a frequência de exposição, a fim de minimizar possíveis efeitos adversos (USEPA, 2002).

A seguir é apresentada a classificação dos níveis de toxicidade aguda em peixes, considerando valores de CL_{50} , conforme parâmetros estabelecidos na literatura (Tabela 3).

Tabela 3. Classificação dos níveis de toxicidade aguda com base em valores de CL_{50} para peixes.

Nível de Toxicidade	Faixa de CL_{50} (mg/L) ou %	Descrição
Extremamente tóxico	< 1 mg/L ou < 0,1%	Altamente letal, risco muito elevado
Muito tóxico	1-10 mg/L ou 0,1-1%	Toxicidade alta
Moderadamente tóxico	10-100 mg/L ou 1-10%	Toxicidade moderada
Pouco tóxico	100-1000 mg/L ou 10-100%	Toxicidade baixa
Não tóxico	> 1000 mg/L ou > 100%	Sem efeito tóxico relevante

*Valores adaptados para concentrações expressas em porcentagem, considerando as características do extrato.

Os valores obtidos estão dentro do intervalo esperado para extratos vegetais contendo compostos bioativos, conforme descrito em estudos similares, como Nunes et al. (2025), que trabalharam com extratos de macroalgas e diferentes espécies de peixes, tais como *P. reticulata*, *B. splendens* e *O. niloticus*. De acordo com Haydelba et al. (2020), a toxicidade pode variar significativamente dependendo da composição química do extrato, do método de preparo e da concentração dos compostos ativos.

Além disso, a toxicidade observada não pode ser explicada exclusivamente pela alteração dos parâmetros físico-químicos da água, como a elevação da salinidade. Apesar do aumento progressivo da salinidade observado nas concentrações mais elevadas do extrato, Ferreira et al. (2018) demonstraram que, em peixes ornamentais como *P. reticulata*, variações moderadas na salinidade não são suficientes para induzir efeitos tóxicos agudos, indicando que outros fatores devem ser responsáveis pelas alterações observadas. Essa conclusão é corroborada por estudos prévios realizados com espécies de interesse aquícola, como o pacamã *Lophiosilurus alexandri* e o curimatá *Prochilodus lineatus*, nos quais a exposição a extratos vegetais ou poluentes industriais resultou em lesões branquiais similares às detectadas neste trabalho, incluindo hiperplasia epitelial, fusão de lamelas, edema e desorganização tecidual (TRONCOSO et al., 2012; DOS SANTOS SILVA et al., 2018). Dessa forma, os compostos bioativos presentes em *K. alvarezii*, tais como fenóis, flavonoides, alcaloides, taninos e outros metabólitos secundários, devem ser considerados como os principais agentes causadores dos efeitos tóxicos observados,

atuando diretamente sobre as vias biológicas dos peixes e não apenas mediando alterações físico-químicas do ambiente (AMADOR et al., 2025).

Esses compostos são conhecidos por atuarem em múltiplas vias biológicas, podendo induzir estresse oxidativo, interferir em processos metabólicos e comprometer a integridade celular, conforme evidenciado por Amador et al. (2025). O aumento da produção de radicais livres pode levar à peroxidação lipídica da membrana celular, comprometendo a integridade das células branquiais e hepáticas, conforme evidenciado pelas lesões histopatológicas encontradas neste estudo. Em resposta ao estresse oxidativo, organismos aquáticos geralmente ativam sistemas antioxidantes endógenos, incluindo enzimas como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPx) (GOES et al., 2024). Alterações na atividade dessas enzimas podem servir como biomarcadores sensíveis da exposição a agentes tóxicos.

Estudos anteriores, como os de NUNES et al. (2025), demonstraram que a exposição a extratos de macroalgas pode provocar aumento na atividade dessas enzimas antioxidantes em peixes, como uma tentativa compensatória de neutralizar os danos celulares. Contudo, quando a produção de ERO excede a capacidade antioxidante, ocorre dano oxidativo irreversível, resultando em apoptose ou necrose celular.

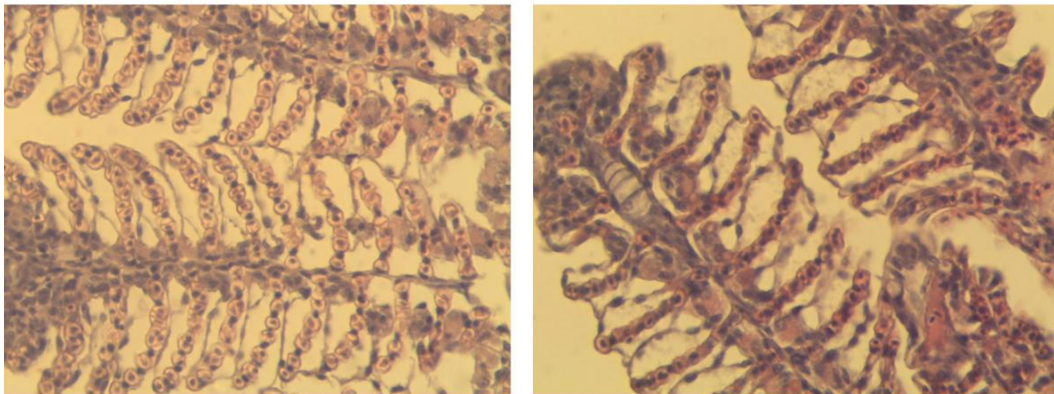
Além disso, há evidências de que os compostos bioativos presentes no extrato podem interferir na expressão gênica de proteínas envolvidas em processos metabólicos e de reparo celular, agravando os efeitos tóxicos observados em *P. reticulata* (AGRAWAL et al., 2024). A avaliação integrada desses mecanismos bioquímicos torna-se, portanto, essencial para compreender os efeitos subcelulares do extrato.

Essas alterações em nível molecular e bioquímico refletem-se nos órgãos vitais dos peixes, especialmente nas brânquias, que desempenham papel crucial na respiração, regulação osmótica e iônica, além da excreção de resíduos metabólicos, tornando-se extremamente sensíveis à exposição a agentes tóxicos aquáticos (PEREIRA et al., 2024). No presente estudo, as análises histopatológicas evidenciaram alterações como hiperplasia das células epiteliais, edema interlamelar, desorganização das lamelas branquiais e necrose focal, indicando comprometimento funcional que pode afetar processos respiratórios, a excreção e o equilíbrio iônico/osmótico dos indivíduos.

Essas alterações histopatológicas são frequentemente associadas à resposta adaptativa inicial do órgão para minimizar a absorção de xenobióticos e mitigar danos celulares, por meio do espessamento da camada epitelial (hiperplasia), que reduz a área de troca gasosa, embora tal mecanismo acarrete comprometimento funcional.

No presente trabalho, observou-se que as lesões branquiais em *P. reticulata* expostos ao extrato de *K. alvarezii* apresentaram padrão morfológico semelhante às descritas na tainha *Liza aurata* submetidos a salinidade elevada, conforme relatado por Shahriari Moghadam et al. (2013) (Figura 9). Em ambos os casos, as principais alterações incluem desorganização das lamelas, edema interlamelar e hiperplasia, indicando que tanto o aumento da salinidade quanto a exposição a compostos bioativos podem desencadear respostas histopatológicas convergentes nos peixes. Essa semelhança reforça a hipótese de que parte dos efeitos observados nos guppies possa estar associada não apenas aos compostos presentes no extrato, mas também à elevação progressiva dos níveis de salinidade resultante de sua aplicação. No entanto, considerando que a composição química do extrato de *K. alvarezii* contém substâncias potencialmente tóxicas além do efeito osmótico, os danos identificados devem ser compreendidos como resultado de um efeito combinado entre salinidade do meio e a constituição do extrato.

Histologia Branquial EFEITO AGUDO DO EXTRATO DE MACROALGA
(*Kappaphycus Alvarezii*), NAS FASES INICIAIS DE GUPPY (*Poecilia Reticulata*)



Histologia Branquial Salinity tolerance and gill histopathological alterations
in *Liza aurata* Risso, 1810 (Actinopterygii: Mugilidae) fry

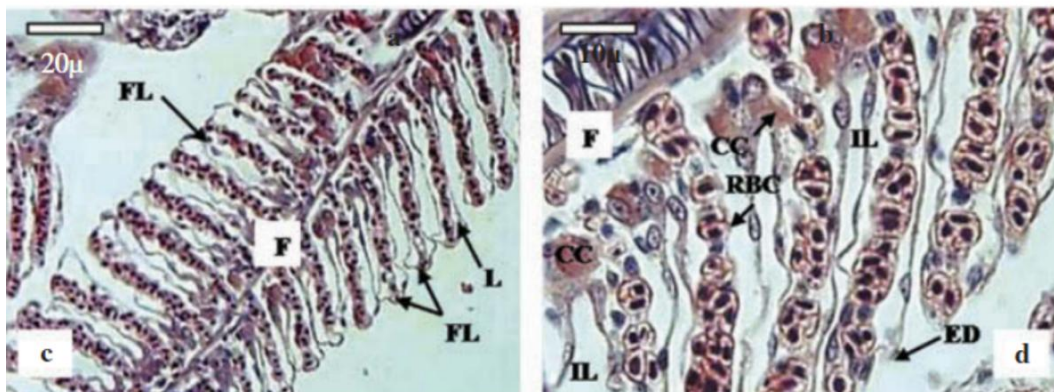


Figura 9. Semelhança das lesões branquiais em guppies expostos ao extrato de *K. alvarezii* e em *Liza aurata* submetidos a salinidade elevada.

Além disso, compostos bioativos presentes no extrato de *K. alvarezii*, como polifenóis e sulfatos, podem desencadear processos inflamatórios e reativos nas células branquiais, agravando as lesões. O dano oxidativo, mediado por radicais livres gerados durante o metabolismo dessas substâncias, pode causar rupturas na membrana celular e induzir apoptose, conforme descrito por Amador et al. (2025).

O estresse salino combinado à ação direta dos compostos bioativos presentes em *K. alvarezii*, reflete-se não apenas nas brânquias, mas também no fígado, órgão central no metabolismo e na detoxificação de xenobióticos. Nos peixes expostos ao extrato, o fígado apresentou alterações histopatológicas expressivas, sendo a mais evidente, o acúmulo acentuado de lipídios nos hepatócitos, evidenciado por intensa vacuolização citoplasmática, possivelmente associada a processos de estresse oxidativo e disfunção metabólica.

Esses achados são consistentes com pesquisas anteriores que demonstraram que substâncias tóxicas, incluindo extratos vegetais, podem causar dano hepático em peixes (DOS SANTOS SILVA et al., 2018; GOES et al., 2024). A vacuolização, por sua vez, pode refletir acúmulo lipídico ou edema celular decorrente da alteração do metabolismo hepático, enquanto a necrose indica morte celular e comprometimento funcional, demonstrando a sensibilidade do fígado frente a exposições combinadas de estresse ambiental e compostos bioativos.

O fígado responde à exposição a xenobióticos ativando enzimas de fase I e II para metabolizar e eliminar os compostos tóxicos, processo que pode gerar metabólitos reativos e espécies reativas de oxigênio, desencadeando estresse oxidativo e dano tecidual (TRONCOSO et al., 2012). O acúmulo desses efeitos pode levar à falência hepática em exposições prolongadas ou curtas em elevadas concentrações de xenobiótico.

Além disso, a toxicidade hepática pode comprometer funções essenciais, como a biossíntese proteica, a regulação do metabolismo lipídico e glicídico, além da imunomodulação, resultando em maior suscetibilidade a doenças e menor desempenho reprodutivo (PEREIRA et al., 2014). Nesse contexto, embora o presente estudo tenha se concentrado na avaliação da toxicidade aguda e nos efeitos histopatológicos do extrato de *K. alvarezii* em *P. reticulata*, torna-se pertinente considerar as possíveis implicações sobre o desempenho zootécnico dos animais expostos.

Ainda que a utilização do extrato tenha sido inicialmente destinada ao controle de ectoparasitas, e não à promoção de crescimento ou melhora produtiva, é evidente que alterações em órgãos-chave, como brânquias e fígado, podem comprometer diretamente funções fisiológicas essenciais, impactando negativamente a taxa de crescimento, a capacidade

reprodutiva, a sobrevivência e o bem-estar geral dos peixes ornamentais, mesmo na ausência de mortalidade imediata.

Apesar de não terem sido mensurados parâmetros zootécnicos neste trabalho, a presença de lesões histológicas em órgãos vitais sinaliza a necessidade de cautela na aplicação do extrato, mesmo em protocolos terapêuticos de curta duração, que geralmente variam entre 24 e 96 horas em estudos com macroalgas como *K. alvarezii* (POERSCH et al., 2007; NUNES et al., 2025). Essa preocupação é corroborada por estudos realizados com outras espécies de interesse aquícola, como a tilápia *O. niloticus* e a carpa *Cyprinus carpio*, expostas a extratos vegetais, nos quais a aplicação subletal de compostos bioativos resultou em alterações fisiológicas que comprometeram o desempenho produtivo, incluindo redução da taxa de crescimento e alterações reprodutivas (PEREIRA et al., 2014; DE PAULO et al., 2020).

Dessa forma, reforça-se a importância de estudos complementares voltados à avaliação da eficácia do extrato no controle de ectoparasitas, bem como à definição de protocolos de uso seguros, com concentrações adequadas e tempos de exposição que não comprometam a fisiologia e a produtividade dos animais, garantindo que o emprego de extratos naturais em cultivos ornamentais esteja alinhado aos princípios do bem-estar animal e da sustentabilidade na aquicultura. Nesse contexto, a determinação da CL_{50} e a caracterização das lesões histopatológicas tornam-se essenciais, permitindo a definição de níveis seguros para a utilização do extrato de *K. alvarezii* em ambientes de aquicultura, destacando seu potencial no controle de ectoparasitas e oferecendo uma alternativa promissora frente aos produtos químicos convencionais, que frequentemente apresentam maior toxicidade e impacto ambiental (AMADOR et al., 2025).

No que se refere ao nível de segurança, o mesmo deve ser rigorosamente estabelecido considerando a margem entre a concentração eficaz para controle parasitário e aquela que pode causar toxicidade aos peixes hospedeiros. A literatura aponta que concentrações subletais, abaixo da CL_{50} , podem oferecer essa janela de uso seguro (POERSCH et al., 2007).

Desta forma, recomenda-se a realização de estudos complementares de toxicidade crônica, bioacumulação e efeitos em organismos não-alvo, a fim de garantir a segurança e sustentabilidade do uso do extrato em atividades aquícolas.

No entanto, para validar a utilização do extrato de *K. alvarezii* como agente de controle de ectoparasitas, é necessário que sejam realizados testes específicos de eficácia contra os principais parasitas que acometem os peixes, como *Gyrodactylus* spp. e *Ichthyophthirius multifiliis*, buscando determinar concentrações ótimas que aliem eficácia antiparasitária à segurança fisiológica dos animais.

Mishra et al. (2023) e Nunes et al. (2025) demonstraram a existência de toxicidade aguda e alterações histopatológicas semelhantes em peixes ornamentais expostos a extratos de outras espécies de macroalgas, evidenciando um padrão comum de resposta biológica.

Nesse sentido, a composição química e a toxicidade dos extratos de *K. alvarezii* podem variar consideravelmente dependendo do método de extração empregado. A concentração e proporção dos compostos bioativos podem variar conforme o método de extração e as condições ambientais da macroalga coletada, influenciando diretamente os resultados toxicológicos. A variabilidade na composição química do extrato, decorrente de fatores como local de coleta, época do ano e método de extração, deve ser considerada para evitar variações na toxicidade e eficácia (AMADOR et al., 2025). Os referidos autores também atentam para a avaliação do uso desses extratos em termos ambientais, pois a liberação em sistemas aquáticos pode afetar organismos não-alvo, modificando comunidades biológicas e ecossistemas locais.

Técnicas como extração aquosa, hidroalcoólica, por Soxhlet ou com solventes orgânicos influenciam diretamente o perfil de metabólitos extraídos, alterando tanto a concentração quanto a natureza dos compostos bioativos presentes (GOPALAKRISHNAN et al., 2025). Estudos comparativos indicam que extratos hidroalcoólicos frequentemente apresentam maiores teores de compostos fenólicos e flavonoides, associados a um potencial tóxico mais elevado, enquanto extratos aquosos tendem a ser menos concentrados e, conseqüentemente, menos agressivos aos organismos-alvo (BOA VENTURA et al., 2025).

Adicionalmente, variáveis como tempo de extração, temperatura e proporção entre solvente e matéria-prima impactam diretamente a qualidade do extrato e seus efeitos biológicos (AMADOR et al., 2025), reforçando a importância da padronização para garantir reprodutibilidade e segurança na aplicação.

A presente discussão se justifica pela necessidade de reconhecer que, neste estudo, foi utilizado um extrato *in natura*, sem processos de purificação ou padronização, o que pode ter contribuído para a toxicidade observada. Assim, destaca-se a importância de, em pesquisas futuras, considerar a aplicação de extratos mais purificados e quimicamente caracterizados, capazes de garantir maior controle sobre a concentração dos compostos ativos, promovendo um melhor equilíbrio entre eficácia biocida e segurança para os organismos cultivados.

Desta feita, a padronização do método de extração e a caracterização detalhada da composição química do extrato não apenas asseguram a reprodutibilidade dos resultados e uma avaliação toxicológica mais precisa e confiável, mas também se tornam essenciais diante das implicações regulatórias e de políticas públicas associadas ao uso crescente de produtos naturais, como extratos de macroalgas, na aquicultura. Atualmente, a ausência de legislação

específica para esses compostos pode dificultar sua aprovação e comercialização, além de representar um desafio para garantir a segurança tanto da saúde animal quanto do meio ambiente (AMADOR et al., 2025).

Além disso, é fundamental promover a conscientização dos produtores e técnicos quanto ao uso responsável desses extratos, prevenindo riscos associados a doses inadequadas ou à aplicação indiscriminada. Nesse contexto, a integração entre ciência, políticas públicas e setor produtivo torna-se essencial para garantir o desenvolvimento sustentável e seguro do uso de extratos naturais na aquicultura, abrindo caminho para futuras investigações mais aprofundadas acerca da toxicidade do extrato de *K. alvarezii*.

6 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos, o extrato bruto de *K. alvarezii* apresentou toxicidade aguda significativa para juvenis de *P. reticulata*, com CL_{50-96h} estimada em 4,17% e mortalidade total a partir da concentração de 8%, demonstrando efeito dose-dependente e baixa tolerância dos peixes ao extrato algal. As análises histopatológicas indicaram alterações importantes em órgãos vitais, como brânquias e fígado, sugerindo comprometimento funcional e potencial impacto sistêmico mesmo em exposições de curta duração.

Com base nesses achados, recomenda-se que a aplicação do extrato em aquicultura ornamental seja realizada com parcimônia, com protocolos seguros e monitoramento rigoroso, de modo a minimizar efeitos adversos sobre os peixes.

Este trabalho visou contribuir de forma inédita para o conhecimento sobre a interação entre macroalgas marinhas e organismos dulcícolas ornamentais e evidencia que a utilização de *K. alvarezii* pode representar uma alternativa natural para o controle de ectoparasitas, reduzindo a dependência de produtos químicos sintéticos. Contudo, seu uso responsável exige a padronização do extrato, definição de tempos de exposição e integração entre toxicologia, biotecnologia e práticas de manejo, assegurando eficácia e segurança no ambiente produtivo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACHMAD, M.; ALIMUDDIN, A.; SUKENDA, S. Effect of *Stenotrophomonas maltophilia* bacteria and environmental factors on the thallus of red seaweed *Kappaphycus alvarezii*. *International Journal of Agriculture and Biology*, v. 34, n. 2, p. 1–9, 2025. DOI: <https://doi.org/10.17957/IJAB/15.2356>.
- AGRAWAL, I.; LEE, A. Q.; GONG, Z. Identifying universal fish biomarker genes in response to PCB126 exposure by comparative transcriptomic analyses. *Current Issues in Molecular Biology*, v. 46, n. 8, p. 7862–7876, 2024.

- AMADOR, S.; MARTINS, A.; MATIAS, M.; PEDROSA, R.; PINTEUS, S. Deep eutectic systems: a game changer for marine bioactives recovery. *Marine Drugs*, [S.l.]: Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), 2025.
- ANTÓNIO F. F.; JORGE V. F. C.; SOFIA G. S.; SANDRA M. M.; JOÃO C., PEDRO M.; ANTÓNIO F, F. Histopathological changes in liver and gill epithelium of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, exposed to waterborne copper. [S.l.: s.n.], [n.d.].
- ASHRAF, M. R.; BAKHAT, H. F.; SHAH, G.; ARSHAD, H.; MAHMOOD, Q.; SHAHID, N. Role of hydrophobicity in bio-accessibility of environmental pollutants among different organisms. *Polish Journal of Environmental Studies*, v. 29, n. 5, p. 3509–3516, 2020. DOI: <https://doi.org/10.15244/pjoes/111578>.
- BOA VENTURA, T. F.; ESPÍRITO SANTO, L. A.; SILVA, B. A.; SACRAMENTO NETO, B.; MORAES, C. M. de; BITTENCOURT, S. N. da S.; SILVA, F. Z. da; OLIVEIRA, E. R. R.; MARASCHIN, M.; HAYASHI, L.; SIMIONI, C. Liquid extract of *Kappaphycus alvarezii* enhances growth and metabolic responses in in vitro cultivated explants of this same species. *Journal of Applied Phycology*, v. 37, n 3, p. 2147–2156, 2025. DOI:10.1007/s10811-025-03484-2
- BRUNNER, B. A. *Histopathological techniques for aquatic toxicology studies*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 30, n. 2, p. 123–130, 2011.
- CASTRO, B. B.; SOBRAL, O.; GUILHERMINO, L.; RIBEIRO, R. An in situ bioassay integrating individual and biochemical responses using small fish species. *Ecotoxicology*, v. 13, n. 7, p. 667–681, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10646-003-4427-y>.
- DAS, D.; ARULKUMAR, A.; PARAMASIVAM, S.; LOPEZ-SANTAMARINA, A.; DEL CARMEN MONDRAGON, A.; MIRANDA LOPEZ, J. M. Phytochemical constituents, antimicrobial properties and bioactivity of marine red seaweed (*Kappaphycus alvarezii*) and seagrass (*Cymodocea serrulata*). *Foods*, v. 12, n. 14, p. 2811, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods12142811>.
- DE PAULO, D. V., MARIZ, C. F., DE MELO ALVES, M. K., ALVES, R. N., BATISTA, R. M., FILLMANN, G., & CARVALHO, P. S. M. Histological and behavioral toxicity of tributyltin in the tropical guppy *Poecilia vivipara*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 39, n. 10, p. 1953–1963, 2020. <https://doi.org/10.1002/etc.4808>
- DOS SANTOS SILVA, M.; DA COSTA, F.; LEME, F.; TAKATA, R.; COSTA, D.; MATTIOLI, C.; LUZ, R.; MIRANDA-FILHO, K. Biological responses of Neotropical freshwater fish *Lophiosilurus alexandri* exposed to ammonia and nitrite. *Science of the Total Environment*, v. 616–617, p. 1566–1575, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.157>.
- FERRAZ, C. A.; PASTORINHO, M. R.; PALMEIRA-DE-OLIVEIRA, A.; SOUSA, A. C. A. Ecotoxicity of plant extracts and essential oils: A review. *Environmental Pollution*, 292, 118319, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118319>
- FERREIRA, J. L.; LUVIZOTTO-SANTOS, R. Tolerância de *Poecilia* spp. à salinidade. *Boletim do Laboratório de Hidrobiologia*, v. 28, p. 23–30, 2018.
- FERREIRA, M. A.; SOUSA, J. R. Aquatic toxicology in freshwater: the multiple biomarker approach. Cham: Springer, 2024. Disponível em: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-031-56669-1>. Acesso em: 5 jun. 2025.
- FIGUEIREDO-FERNANDES, A. Histopathological changes in liver and gills of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to copper. *Environmental International*, v. 33, n. 3, p. 397–404, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2006.11.012>.
- GOES, V. C., BRAGA, E. DE S., & AZEVEDO, J. DE S. Histopathological Changes in Estuarine Catfish: A Temporal Approach in a Marine Protected Area. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 67, 2024. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2024230134>.

- GOPALAKRISHNAN, V. A. K., MONDAL, S., BAGARIYA, M., TRIVEDI, K., PANDA, D., & GHOSH, A. Varied responses of TAU-1 and DBGV-5 varieties of black gram to *Kappaphycus alvarezii*-based biostimulant under uniform agro-climatic conditions. *Journal of Applied Phycology*, 2025. <https://doi.org/10.1007/s10811-024-03418-4>
- HAYDELBA, D. Composición química y biotoxicidad del alga roja *Kappaphycus alvarezii* Doty (Solieriaceae). *AquaTechnica: Revista Iberoamericana de serAcuicultura*, v. 2, n. 1, p. 31, 2020. DOI: <https://doi.org/10.33936/at.v2i1.2412>.
- HINTZ, C. S.; RONIS, M. J. J. Hepatic histopathology in fish toxicology: assessment and classification of lesions. *Journal of Aquatic Animal Health*, v. 20, n. 4, p. 342-355, 2008.
- KOLAROVA, J.; VELISEK, J.; SVOBODOVA, Z. Comparison of in vitro (fish cell line) and in vivo (fish and crustacean) acute toxicity tests in aquatic toxicology. *Veterinari Medicina*, v. 66, n. 8, p. 350–355, 2021. DOI: <https://doi.org/10.17221/161/2020-VETMED>.
- KUMAR, K. S.; GANESAN, K.; RAO, P. V. S. Seasonal variation in nutritional composition of *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty - an edible seaweed. *Journal of Food Science and Technology*, v. 52, n. 5, p. 2751–2760, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1372-0>.
- LARSSON, M.; HARWOOD, T.; LEWIS, R.; HIMAYA, S.; DOBLIN, M. Toxicological characterization of *Fukuyoa paulensis* (Dinophyceae) from temperate Australia. *Phycological Research*, v. 67, n. 1, p. 65–71, 2019.
- LUNA, L. G. *Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology*. 3. ed. New York: McGraw-Hill, 1968.
- MARTINS, A. S.; OLIVEIRA, D. Toxicological mechanisms of plant extracts in aquatic organisms: oxidative stress and behavioral effects. *Water, Air, & Soil Pollution*, v. 236, n. 4, 2025.
- MISHRA, P., Kiran, N. S., & Henry, D. E. Therapeutic potential of macroalgae and its beneficial health impacts in aquaculture. In *Algal Metabolites: Biotechnological, Commercial, and Industrial Applications*. Apple Academic Press, 2023. <https://doi.org/10.1201/9781003346081-13>
- MOGHADAM, M. S. Salinity tolerance and gill histopathological alterations in *Liza aurata* Risso, 1810 (Actinopterygii: Mugilidae) fry. *Italian Journal of Zoology*, v. 80, n. 4, p. 503–509, 2013.
- NEVES, L.; CIPRIANO, F.; FLORENZINI, J.; CIPRIANO, K.; GONÇALVES JÚNIOR, L.; NAKAYAMA, C.; LUZ, R.; MIRANDA FILHO, K. Effects of salinity on sexual maturity and reproduction of *Poecilia velifera*. *Aquaculture Research*, v. 50, n. 10, p. 2932–2937, 2019.
- NOGUEIRA, J. L. F.; SANTOS, R. L. Tolerância de *Poecilia* spp. à salinidade: uso em bioensaios com amostras salinizadas. *Boletim do Laboratório de Hidrobiologia*, v. 32, n. 1, p. 1–10, 2019. Disponível em: <https://periodicoeletronicos.ufma.br/index.php/blabohidro/article/view/7554>. Acesso em: 5 jun. 2025.
- NUNES, A.; DUTRA, F. DE S.; SANTOS, L. R. B.; MARTINS, C. P., SCHNEIDER, A. R., OLIVEIRA, E. R.; PEREIRA-VASQUES, M. S.; AZEVEDO, G. Z., OLIVEIRA, J. L. B.; GELLI, V. C.; SANTOS, A. A. DOS, MARASCHIN, M.; LIMA, G. P. P. A Biostimulant from *Kappaphycus alvarezii* Enhances the Growth and Development of Basil (*Ocimum basilicum* L.) Plants. *Horticulturae*, v. 11, n. 4, 2025a. <https://doi.org/10.3390/horticulturae11040424>
- NUNES, A.; GELLI, V. C.; AZEVEDO, G. Z.; DE SOUZA DUTRA, F.; SCHNEIDER, A. R., OLIVEIRA, E. R.; MONTEIRO, G. C.; DOS SANTOS, A. A.; MARASCHIN, M.; VIANELLO, F.; LIMA, G. P. P. Characterization of seaweed, aqueous extract, and residue from *Kappaphycus alvarezii* cultivated in Brazil for potential industrial

- applications. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 145, 107780, 2025b.
<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2025.107780>
- NUNES, A.; RILIEVO, G.; MAGRO, M.; MARASCHIN, M.; VIANELLO, F.; LIMA, G. P. P. Biotechnological Applications of Biogenic Nanomaterials from Red Seaweed: A Systematic Review (2014–2024). In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 26, Issue 9), 2025. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI).
<https://doi.org/10.3390/ijms26094275>
- OLIVEIRA, I. S. B. de. Efeitos histopatológicos de misturas de metais no fígado de *Poecilia reticulata* (Cyprinodontiformes: Poeciliidae). 2023. 26 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado Interdisciplinar em Ciência e Tecnologia do Mar) – Universidade Federal de São Paulo, Santos, 2023. Disponível em:
<https://repositorio.unifesp.br/handle/11600/69966>. Acesso em: 5 jun. 2025.
- PEREIRA, L. F. LC50 – Application of the biotic ligand model to predicting zinc toxicity to rainbow trout, fathead minnow, and *Daphnia magna*. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology & Pharmacology*, v. 133, n. 1–2, p. 271–285, set. 2002. DOI: 10.1016/S1532-0456(02)00106-0
- PROPHET, E. B. *Laboratory methods in histotechnology*. Washington, DC: Armed Forces Institute of Pathology, 1992.
- RAND, G. M.; PETROCELLI, S. R. *Fundamentals of Aquatic Toxicology: Methods and Applications*. Hemisphere Publishing Corporation, 1985.
- ROCHA, T. L. Proteomic and histopathological response in the gills of *Poecilia reticulata* exposed to glyphosate-based herbicide. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v. 40, n. 1, p. 175–186, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.etap.2015.06.015>.
- SANTOS, R. P.; FERREIRA, T. F. F.; SOBRAL, L. A. E.; SILVA, B. A.; SACRAMENTO NETO, B.; MORAES, C. M. de; BITTENCOURT, S. N. da S.; SILVA, F. Z. da; OLIVEIRA, E. R. R.; MARASCHIN, M.; HAYASHI, L.; SIMIONI, C. Influence of environmental factors and *Stenotrophomonas maltophilia* on thallus development of the red seaweed *Kappaphycus alvarezii*. *Journal of Applied Phycology*, 2025. DOI: 10.1007/s10811-025-03484-2.
- SHAHRIARI MOGHADAM, M.; ABTAHI, B.; MOSAFER KHORJESTAN, S.; BITAAB, M., M. Salinity tolerance and gill histopathological alterations in *Liza aurata* Risso, 1810 (Actinopterygii: Mugilidae) fry. *Italian Journal of Zoology*, v. 80, n. 4, p. 503–509, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1080/11250003.2013.853326>.
- SILVA, M. R.; PEREIRA, F. G. Bioactive compounds in *Kappaphycus alvarezii*: applications in food and pharmaceutical industries. *Marine Drugs*, v. 19, n. 8, p. 421, 2021.
- SOUZA, T. A.; FALKENBERG, M.; NAKANO, E.; ZAMBOTTI-VILLELA, L.; ZATELLI, G. A.; PHILIPPUS, A. C.; IMAMURA, K. B.; COSTA, L. F.; RIBEIRO, M. F.; SOUZA, T. A.; et al. Bioactive compounds against neglected diseases isolated from macroalgae: a review. *Journal of Applied Phycology*, v. 31, n. 2, p. 797–823, 2019.
- THÉPOT, V.; CAMPBELL, A. H.; RIMMER, M. A.; PAUL, N. A. Effects of a seaweed feed inclusion on different life stages of the mottled rabbitfish *Siganus fuscescens*. *Aquaculture Research*, v. 52, n. 12, p. 6626–6640, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1111/are.15533>.
- TRONCOSO, I. C.; CAZENAVE, J.; BACCHETTA, C.; BISTONI, M. A. Histopathological changes in the gills and liver of *Prochilodus lineatus* from the Salado River basin (Santa Fe, Argentina). *Fish Physiology and Biochemistry*, v. 38, n. 3, p. 693–702, 2012.
- UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). *Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms*. EPA-821-R-02-012, 2002.

- WANG, Y. Hepatotoxic effects and mechanisms of herbal medicine extracts in zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere*, v. 209, p. 103–111, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.05.152>.
- WINDARTO, S.; HERAWATI, V. E.; WIJAYA, Y. J.; INDRIATI, D. A.; RACHMASARI, Y.; ELFITASARI, T. Exploring the physicochemical properties and nutritional value of abundant seaweed species along the Jepara Coast, Indonesia. *Thalassas*, v. 41, n. 2, p. 82, jun. 2025. DOI: 10.1007/s41208-025-00846-y.
- ZHENG, M.; WANG, J.; ZHANG, Z.; MA, S.; RU, S. Development of homologous enzyme-linked immunosorbent assays to quantify two forms of vitellogenin in guppy (*Poecilia reticulata*). *Environmental Science and Pollution Research*, v. 25, n. 25, p. 25036–25044, 2018. DOI: 10.1007/s11356-018-2558-1.

APÊNDICE

Figura 1. Registro de horário e data de mortalidade dos indivíduos de *Poecilia reticulata* expostos ao extrato de *Kappaphycus alvarezii*.

Data e Hora de mortalidade										
Animais										
Concentrações	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Animal 4	Animal 5	Animal 6	Animal 7	Animal 8	Animal 9	Animal 10
Controle1	Vivo	Vivo	Vivo	Vivo	Vivo	Vivo	Vivo	Vivo	Vivo	Vivo
Controle2	Vivo	Vivo	Vivo	Vivo	Vivo	Vivo	Vivo	Vivo	Vivo	Vivo
4%(1)	17/10/2024 22:15	17/10/2024 22:15	18/10/2024 14:54	19/10/2024 06:00	Vivo	Vivo	Vivo	Vivo	Vivo	Vivo
4%(2)	16/10/2024 08:48	17/10/2024 22:15	18/10/2024 08:00	18/10/2024 08:00	18/10/2024 14:42	Vivo	Vivo	Vivo	Vivo	Vivo
6%(1)	16/10/2024 01:50	16/10/2024 01:50	16/10/2024 16:12	16/10/2024 18:02	16/10/2024 21:00	16/10/2024 22:15	17/10/2024 01:00	17/10/2024 12:59	17/10/2024 18:51	Vivo
6%(2)	16/10/2024 01:40	16/10/2024 06:00	16/10/2024 06:00	16/10/2024 06:00	16/10/2024 11:22	16/10/2024 16:02	16/10/2024 16:02	16/10/2024 18:28	16/10/2024 22:15	16/10/2024 22:15
8%(1)	16/10/2024 01:23	16/10/2024 01:23	16/10/2024 01:23	16/10/2024 01:23	16/10/2024 05:45	16/10/2024 05:45	16/10/2024 05:45	16/10/2024 08:58	16/10/2024 14:24	16/10/2024 14:24
8%(2)	16/10/2024 01:30	16/10/2024 01:30	16/10/2024 01:30	16/10/2024 02:30	16/10/2024 02:30	16/10/2024 10:55	16/10/2024 10:55	16/10/2024 13:11	16/10/2024 13:11	17/10/2024 22:15
10%(1)	15/10/2024 18:22	16/10/2024 01:35	16/10/2024 01:35	16/10/2024 01:35	16/10/2024 05:40	16/10/2024 05:40	16/10/2024 05:40	16/10/2024 05:40	16/10/2024 08:54	16/10/2024 08:54
10%(2)	15/10/2024 21:27	15/10/2024 21:27	15/10/2024 21:27	16/10/2024 00:04	16/10/2024 06:00	16/10/2024 06:00	16/10/2024 06:00	16/10/2024 09:57	16/10/2024 13:07	17/10/2024 21:00
12%(1)	15/10/2024 21:26	15/10/2024 21:26	15/10/2024 21:26	16/10/2024 00:05	16/10/2024 05:30	16/10/2024 05:30	16/10/2024 05:30	16/10/2024 05:30	16/10/2024 05:30	16/10/2024 08:45
12%(2)	15/10/2024 21:24	15/10/2024 21:24	15/10/2024 21:40	16/10/2024 00:02	16/10/2024 00:02	16/10/2024 05:00	16/10/2024 05:00	16/10/2024 05:00	16/10/2024 05:00	16/10/2024 05:00

Figura 2. Frequência de alterações histopatológicas observadas em brânquias de *Poecilia reticulata* expostos ao extrato de *Kappaphycus alvarezii*.

Tratamento	Unidade	Animal	Deslocamento epitelial	Necrose	Fusão Lamelar	Hipertrofia	Hiperplasia	Total
Controle	1	1	2					2
Controle	1	2						0
Controle	1	3						0
Controle	2	4	3					3
Controle	2	5						0
Controle	2	6						0
4%	1	7	161					161
4%	1	8	135		15		3	153
4%	1	9	161		36			197
4%	2	10	38					38
4%	2	11	71					71
4%	2	12			23		3	26
6%	1	13						0
6%	1	14	69					69
6%	1	15	24					24
6%	2	16	13					13
6%	2	17	117					117
6%	2	18	89		5			94
8%	1	19	102		1		8	111
8%	1	20	182		8			190
8%	1	21	121					121
8%	2	22	35		69			104
8%	2	23	71		36		4	111
8%	2	24						0
10%	1	25	179		6			185
10%	1	26	40		2		7	49
10%	1	27	78				4	82
10%	2	28	102					102
10%	2	29	73		4			77
10%	2	30	53					53
12%	1	31	94				8	102
12%	1	32	29		27			56
12%	1	33	82		32			114
12%	2	34	55		60			115
12%	2	35	107	1	2			110
12%	2	36	73		23			96

Figura 3. Frequência dos graus de alterações histopatológicas observadas no fígado de *Poecilia reticulata* expostos ao extrato de *Kappaphycus alvarezii*.

Tratamento	Unidade	Animal	Grau
Controle	1	1	1
Controle	1	2	1
Controle	1	3	1
Controle	2	4	1
Controle	2	5	1
Controle	2	6	1
4%	1	7	1
4%	1	8	1
4%	1	9	1
4%	2	10	1
4%	2	11	1
4%	2	12	1
6%	1	13	1
6%	1	14	1
6%	1	15	1
6%	2	16	1
6%	2	17	1
6%	2	18	2
8%	1	19	2
8%	1	20	2
8%	1	21	1
8%	2	22	2
8%	2	23	1
8%	2	24	1
10%	1	25	2
10%	1	26	2
10%	1	27	1
10%	2	28	1
10%	2	29	1
10%	2	30	2
12%	1	31	2
12%	1	32	2
12%	1	33	2
12%	2	34	2
12%	2	35	2
12%	2	36	2