



Universidade Federal De São Carlos  
Centro De Ciências Exatas E De Tecnologia  
**Programa De Pós-Graduação Em Biotecnologia**



**EFEITO DA LUZ DE LED BRANCA, VERMELHA, AZUL E VERDE EM  
PARÂMETROS DA FISIOLÓGIA DA CIANOBACTÉRIA *APHANOCAPSA  
HOLSATICA*: TAXA DE CRESCIMENTO, PRODUÇÃO DE BIOMOLÉCULAS E  
BIOFIXAÇÃO DO CO<sub>2</sub>**

**Amanda Ellen Viana Lima**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE EM BIOTECNOLOGIA do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de São Carlos.

***Orientador:***

Prof.<sup>a</sup>. Dra. Ana Teresa Lombardi

**Bolsista CAPES**

São Carlos – SP  
2022

Amanda Ellen Viana Lima

**EFEITO DA LUZ DE LED BRANCA, VERMELHA, AZUL E VERDE EM  
PARÂMETROS DA FISIOLOGIA DA CIANOBACTÉRIA *APHANOCAPSA*  
*HOLSATICA*: TAXA DE CRESCIMENTO, PRODUÇÃO DE BIOMOLÉCULAS E  
BIOFIXAÇÃO DO CO<sub>2</sub>**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE EM BIOTECNOLOGIA do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de São Carlos.

***Orientador:***

Prof.<sup>a</sup>. Dra. Ana Teresa Lombardi

São Carlos – SP  
2022

## AGRADECIMENTOS

Este trabalho só foi possível de ser realizado devido o auxílio de uma grande rede de apoio; tentarei listar algumas destas pessoas aqui.

Primeiramente agradeço ao imenso carinho e incentivo da minha família para que eu me arriscasse em novas experiências. Agradeço especialmente a minha irmã que me escutou, ajudando nos momentos de cobrança; e a minha mãe que me encorajou e confortou sempre que possível. Elas são minhas parceiras de risadas e de orgulho mútuo, obrigada por estarem comigo nessa etapa. Ao meu pai o agradecimento por ter sido um exemplo de pesquisador e que me aconselhou desde o início do mestrado a não me cobrar tanto, não que eu realmente tenha seguido o conselho, mas foi bom tê-lo recebido. Agradeço meus companheiros de longa data Cath e Cé que me incentivaram e apoiaram meu voo mesmo que fosse para longe deles, reforçando sempre que tinham orgulho do que quer que eu estivesse invetando no sudeste do país. Agradeço também a minha querida amiga Renata, uma cientista inspiradora, que com muito ânimo e assertividade me inspirou a continuar a fazer o que eu amo, além de ter sido uma irmã, uma conselheira e uma maravilhosa companhia para aprendizados.

Gostaria de agradecer a professora Ana Lombardi pela oportunidade de compor a equipe do Lalgas e também pelo apoio durante a reta final do mestrado. As amigades que fiz no Laboratório de Biotecnologia de Algas formaram um importante pilar para concluir os experimentos, além de sanarem questionamentos quanto aos estudos e vivência acadêmica. Nesse grupo gostaria de destacar a Jaqueline Carmo da Silva (Jaque), que me recebeu no laboratório, orientou e acompanhou de perto todo o processo de experimentos, análises e escrita com muita paciência e bom humor. Uma mãe científica que incentiva, não apenas seus orientados informais mas, todos a alcançar grandes voos, e tornou-se uma amiga muito querida dentro e fora do ambiente de trabalho. Agradeço também a companhia e conversas com o Douglas; a parceria nos trabalhos de disciplinas do Lucas. Obrigada a todos pela companhia e troca de experiências. Vocês tornaram a minha estrada mais florida.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – 88887.495799/2020-00 e da FAPESP (Processo 2018/07988-5).



<b>LISTA DE FIGURAS</b>	<b>PÁGINA</b>
<b>Figura 1.</b> Imagem de microscopia de uma cultura de <i>Aphanocapsa holsatica</i> . Fonte: Atlas de cianobactérias e microalgas de águas continentais brasileiras. Publicação eletrônica, Instituto de Botânica, Núcleo de Pesquisa em Ficologia, 2012.	10
<b>Figura 2.</b> Picos de absorvância característicos de pigmentos encontrados em microalgas dentro do espectro de luz visível. Modificado de <www.circuitbread.com>. Acesso: 22 de outubro de 2021	12
<b>Figura 3.</b> Foto do sistema utilizado para a iluminação das culturas, a fim de reduzir o caminho percorrido pela luz dentro do cultivo.	17
<b>Figura 4.</b> Curva de crescimento da cianobactéria <i>Aphanocapsa holsatica</i> (CCIBt 3053) segundo a (A) biomassa seca (mg/L) e (B) concentração de clorofila a in vivo (mg/L) em função do tempo experimental.	23
<b>Figura 5.</b> Biomassa seca às 72h de cultivo, metade da fase exponencial. Letras destacam a diferença estatística dentre os tratamentos com luz de LED branca, vermelha, verde e azul. As barras de erro indicam o desvio padrão (n = 3).	24
<b>Figura 6.</b> Biomoléculas na biomassa de <i>Aphanocapsa holsatica</i> (CCIBt 3053) apresentadas como porcentagem do total de biomassa seca. (A) proteínas totais, (B) carboidratos totais, (C) lipídios totais para as diferentes cores de cultivo. Letras destacam a diferença estatística dentre os tratamentos. As barras de erro indicam o desvio padrão (n = 3).	26
<b>Figura 7.</b> Espectro de varredura de 400 a 700 nm do extrato da biomassa seca da <i>Aphanocapsa holsatica</i> (CCIBt 3053) em DMSO, para cada tratamento representados pelas cores respectivas utilizadas na iluminação do cultivo. Os comprimentos de onda de cada pico estão numericamente expostos sob os mesmos.	30
<b>Figura 8.</b> Pigmentos presentes em <i>A. holsatica</i> (CCIBt 3053) exposta a diferentes cores de luz. As cores das barras representam as cores de luz de LED às quais as células foram expostas. Letras maiúsculas destacam a diferença estatística dentre os tratamentos. As cores no gráfico de barras representam as cores de luz de LED às quais as células foram expostas. As barras de erro indicam o desvio padrão (n = 3).	31
<b>Figura 9.</b> Curvas rápidas de luz de <i>Aphanocapsa holsatica</i> (CCIBt 3053) representadas como rETR (taxa de transporte de elétron relativa) em	32

função da intensidade de radiação fotossinteticamente ativa (PAR) em culturas mantidas sob diferentes condições de cultivo. As cores das linhas representam as cores de luz de LED às quais as células foram expostas.

**Figura 10.** (A) Rendimento quântico máximo e (B) Rendimento quântico efetivo obtidos em 72 h de cultivo da *Aphanocapsa holsatica* (CCIBt 3053) nos diferentes tratamentos. Letras destacam a diferença estatística dentre os tratamentos e as cores dos gráficos de barras representam as cores de luz de LED às quais as células foram expostas. As barras de erro indicam o desvio padrão ( $n = 3$ ). 34

**Figura 11.** As cores de luz debaixo da água (a) marinha, (b) continental com turbidez intermediária e (c) lagos extremamente turvos. O aumento da turbidez desloca o espectro em direção a luz vermelha. Fonte: STOMP, MAAYKE. (2008). Colourful Coexistence: A New Solution to the Plankton Paradox. 36

<b>LISTA DE TABELAS</b>	<b>PÁGINA</b>
<b>Tabela 1.</b> Parâmetros de fluorescência e equações utilizadas para o estudo da fotossíntese.	19
<b>Tabela 2.</b> Valores taxa de crescimento nos cultivos de <i>Aphanocapsa holsatica</i> (CCIBt 3053) sob diferentes cores de luz, tendo como base a biomassa seca e concentração de clorofila a.	24
<b>Tabela 3.</b> Razão Proteína/Carboidrato da <i>Aphanocapsa holsatica</i> (CCIBt 3053), <i>Cyanobium sp.</i> LEGE 06113 e <i>A. platensis</i> SAG 21.99 em diferentes tratamentos com cores de luz.	29
<b>Tabela 4.</b> Taxa de transporte de elétrons máxima (ETR), alfa e Ek para os cultivos de <i>Aphanocapsa holsatica</i> (CCIBt 3053) nos tratamentos utilizando luz de LED branco, vermelho, azul e verde.	33

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CCIBt	Culture Collection at the Institute of Botany
CO <sub>2</sub>	Gás carbônico
DMSO	Dimetilsulfóxido
ETR	Taxa de transferência de elétrons
rETR	Taxa relativa de transferência eletrônica
ETR <sub>max</sub>	Máxima taxa de transferência de elétrons
F <sub>o</sub>	Fluorescência mínima (células aclimatadas ao escuro)
F <sub>m</sub>	Fluorescência máxima
F <sub>v</sub> /F <sub>m</sub>	Rendimento quântico efetivo
NPQ	Decaimento não fotoquímico, relacionado à dissipação por calor
PAR	Radiação fotossinteticamente ativa ( <i>Photosynthetically Active Radiation</i> )
PAM	Pulsos de amplitude modulada
PBS	Ficobiliproteínas
PSI	Fotossistema 1
PSII	Fotossistema 2
SOX	Lâmpada de sódio de baixa pressão
q <sub>P</sub>	Decaimento fotoquímico
q <sub>N</sub>	Decaimento não-fotoquímico



## Resumo

As cianobactérias são seres procariontes unicelulares que despertam interesse como potenciais produtoras de biomoléculas de valor comercial, juntamente com a biofixação de CO<sub>2</sub>. A biomassa de cianobactérias, bem como algumas biomoléculas (como proteínas, óleos e pigmentos) e extratos, já são comercializados. Atualmente, empresas e governos têm adotado iniciativas de redução dos impactos do aquecimento global, destacando ainda mais esses organismos fotossintetizantes de aplicação industrial, combinando ecologia e desenvolvimento. Assim a identificação de novas cepas de potencial biotecnológico e sua elucidação fisiológica para estabelecer condições de cultivo que sejam favoráveis para a produção de biomolécula concomitantemente com altas taxas de biofixação de CO<sub>2</sub>, são pilares importantes para tais iniciativas. O uso de diferentes cores de luz tem sido apontado como uma estratégia para o aumento da taxa de crescimento e do acúmulo de biomoléculas, baseando-se na alteração da fotossíntese e conseqüentemente do metabolismo como um todo. Este trabalho analisou efeitos da luz vermelha, verde, azul e branca na fotossíntese, produção de biomoléculas e no crescimento populacional da cianobactéria *Aphanocapsa holsatica* (CCIBt 3053). Com esta abordagem fisiológica, analisamos a concentração de proteínas, carboidratos, lipídeos e pigmentos (clorofila *a*, carotenoides e ficocianina) além de acompanhar parâmetros de fotossíntese utilizando o equipamento Phyto-PAM II. Os resultados mostraram que a luz branca foi a melhor para acúmulo de biomassa, com  $287,11 \pm 17,13$  mg/L ao fim das 96 h de experimento. A luz verde induziu aumento de 3 vezes na concentração de proteínas por biomassa seca (63,78%), além de aumentar a concentração de clorofila *a* por biomassa seca sem reduzir a concentração de carotenoides. A luz azul possibilitou identificar as maiores taxas de transferência de elétrons assim como maior rendimento fotossintético efetivo. Identificarmos que luzes de maior energia melhoraram parâmetros de saúde da *A. holsatica* (CCIBt 3053), aumentado o rendimento fotossintético e a concentração de proteínas. A cepa não apresentou aclimatação cromática. Esta pesquisa é uma contribuição ao conhecimento sobre a fisiologia de cianobactérias que pode ser aplicada à biotecnologia relacionada aos organismos procariontes com fotossíntese oxigênica.

Palavras-chave: Cianobactéria, *Aphanocapsa holsatica*, Fotossíntese, Luz de LED monocromática, Otimização, Fisiologia.

## Abstract

Cyanobacteria is unicellular prokaryotic group of microorganisms that is receiving attention as a commercial producer of biomolecules through the ability to biofix CO<sub>2</sub>. This match in ecology and industry is being encouraged by companies and governments to reduce the impacts of global warming. Highlighting even more these photosynthetic organisms with industrial application and their commercialized biomolecules, such as proteins, biomass and pigments. Thus, the identification of new strains with biotechnological potential and their physiological elucidation are very important. To identify cultivation conditions that are favorable to produce biomolecule concomitantly with high rates of CO<sub>2</sub> biofixation is important for the implementation of such ecological initiatives. The use of different colors of light modifies photosynthesis and, consequently, the metabolism. Therefore, it can be applied as a strategy to increase microorganisms growth rate and the accumulation of biomolecules. This work aimed to analyze the effects of red, green, blue and white lights on photosynthesis, biomolecule production and population growth of the cyanobacterium *Aphanocapsa holsatica* (CCIBt 3053). In a physiological perspective, we analyzed the total concentration of proteins, carbohydrates, lipids and pigments (chlorophyll *a*, total carotenoids and phycocyanin). In addition, we monitored photosynthesis parameters using the Phyto-PAM II equipment. The results showed that white light is the best for biomass accumulation, with  $287.11 \pm 17.13$  mg/L at the end of the experiment (96 h). Green light induced a 3-fold increase in protein concentration per dry biomass (63.78%), in addition to increasing the concentration of chlorophyll *a* without reducing the carotenoids concentration. Blue light cells culture was identified with the highest electron transfer rates as well as the highest effective photosynthetic yield. Furthermore, we conclude lower energy lights improved health parameters of *A. holsatica* (CCIBt 3053) by increasing the photosynthetic yield and protein concentration. The strain did not show chromatic acclimatization. This research is a contribution to the physiology of a cyanobacteria that can be applied to biotechnology related to photosynthesizing prokaryotic organisms.

Keywords: Cyanobacteria, *Aphanocapsa holsatica*, Photosynthesis, Monochromatic LED light, Optimization, Physiology.

## Sumário

1. Introdução.....	9
<b>1.1 <i>Cianobactérias e bioprodutos</i></b> .....	9
<b>1.2 <i>Fotossíntese</i></b> .....	11
<b>2. Justificativas</b> .....	15
<b>3.1 Objetivos Específicos</b> .....	16
<b>4. Materiais e Métodos</b> .....	17
Aphanocapsa holsatica (CCIBt 3053).....	17
Condições de Cultivo.....	17
Monitoramento do cultivo.....	18
Curva de rápida de luz.....	19
Determinações de biomoléculas.....	20
Pigmentos.....	21
<b><i>Análise dos dados</i></b> .....	21
Resultados e Discussão.....	22
5.1. Capítulo 1. Efeito de diferentes cores de luz na produção de biomoléculas em Aphanocapsa holsatica (CCIBt 3053).....	22
5.2 Capítulo 2. Efeito de diferentes cores de luz na fotossíntese em Aphanocapsa holsatica.....	32
6. Conclusão.....	38
7. Bibliografia.....	39



## 1. Introdução

### 1.1 *Cianobactérias e bioprodutos*

As cianobactérias são seres procariotos, que estão presentes no ecossistema desde os primórdios do surgimento da vida. Elas atuaram na mudança dos gases atmosféricos, aumentando a concentração de oxigênio atmosférico, devido à capacidade de realizar fotossíntese oxigênica. As cianobactérias possuem clorofila *a* e pigmentos acessórios, como carotenoides e ficobilissomos que possibilitam otimizar o processo de fotossíntese captando diversos comprimentos de onda (MASOJÍDEK; TORZILLO; KOBLÍZEK, 2013).

Os pigmentos produzidos pelas cianobactérias podem ser utilizados na indústria alimentícia, cosmética e farmacêutica, a exemplo: a ficocianina e os betacaroteno (BELLOU et al., 2014; LIU et al., 2020; SCHIPPER et al., 2020). O cultivo de cianobactérias também é fonte de proteínas e carboidratos que podem ser utilizados na alimentação humana ou animal, sem competir por terras agricultáveis para a produção ou mesmo necessitar pesticidas (BENEDETTI et al., 2018; GROSSMANN; HINRICHS; WEISS, 2019; RAJVANSHI et al., 2019).

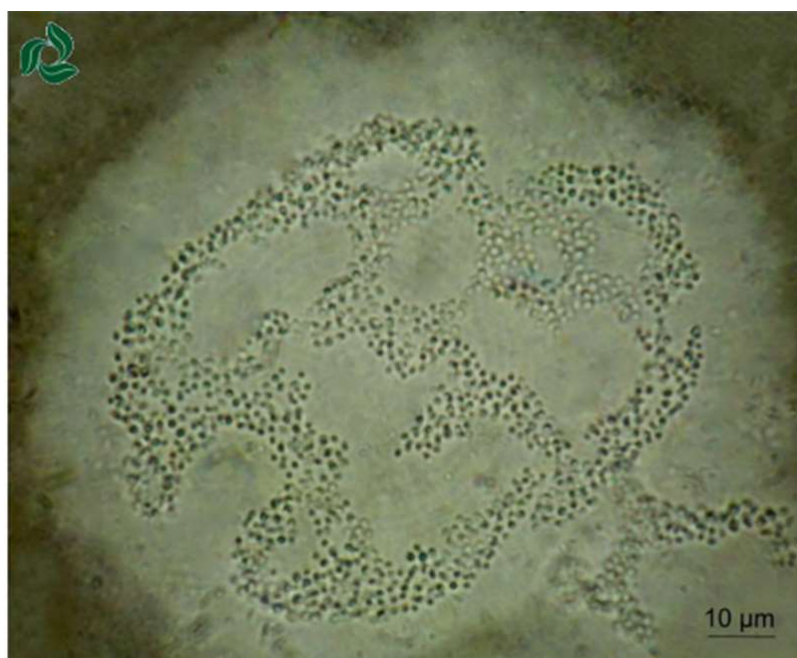
Além disso, algumas espécies de cianobactérias já foram destacadas na aplicação como biofertilizantes, tanto pela capacidade de fixar nitrogênio, produzir fitormônios, e por tornar biodisponível fosfato e micronutrientes (PRASANNA et al., 2010; RONGA et al., 2019; VAISHAMPAYAN et al., 2001). Há também aplicações voltadas para a produção biocombustíveis como hidrogênio e biodiesel (BRASIL; SILVA; SIQUEIRA, 2017; RAHMAN et al., 2017; RAJNEESH et al., 2017; SETTA et al., 2014). As cianobactérias também despertam interesse para biorremediação, tanto para redução de metais em efluentes como também para o tratamento de águas residuais ricas em carbono orgânico, degradação de corantes artificiais e biofixação de gás carbônico (EL-SHEEKH; ABOU-EL-SOUOD; EL ASRAG, 2018; KAVAMURA; ESPOSITO, 2010; KUMAR et al., 2015; PRASANNA et al., 2007; SCHIPPER et al., 2019; UPENDAR et al., 2018).

Cianobactérias são seres unicelulares e possuem plasticidade fisiológica, portanto respondem mais rápido a mudanças no ambiente do que plantas (ANDERSEN et al., 2013). Essa capacidade possibilita o estudo de alterações no metabolismo sob condições adversas em curtos períodos. Por serem microrganismos fotossintetizantes, a

intensidade e comprimentos de luz podem afetar a resposta metabólica (ANDERSEN et al., 2013; PRASANNA et al., 2007).

A *Aphanocapsa holsatica* (CCIBt 3053) é uma cianobactéria planctônica encontrada entre 1,5 e 2,0 m de profundidade em águas continentais. Comumente presente dentre as espécies de florescimento e identificada em diversos estados do Brasil. *A. holsatica* forma colônias de células densamente agregadas em mucilagem hialina, como mostra a Figura 1 (MICHALAK; CHOJNACKA, 2018; SANT'ANNA et al. 2012).

**Figura 1.** Imagem de microscopia de uma cultura de *Aphanocapsa holsatica*. Fonte: Atlas de cianobactérias e microalgas de águas continentais brasileiras. Publicação eletrônica, Instituto de Botânica, Núcleo de Pesquisa em Ficologia, 2012.



Há estudos da década de 70 que buscaram elucidar a fotossíntese e o processamento de glicose da *Aphanocapsa sp.* (PELROY; BASSHAM, 1973; PELROY; KIRK; BASSHAM, 1976). Zhang e colaboradores (2019) analisaram duas cepas deste gênero e identificaram a presença de clorofila *f*, apoficocianina e ficocianina em ambas. Apenas uma das cepas modificou a concentração de ficobiliproteínas na presença de infravermelho. Porém, são poucos os estudos envolvendo a espécie *Aphanocapsa holsatica* e não há artigos que explorem os potenciais biotecnológicos deste microrganismo.

Atualmente a busca por microrganismos de alto desempenho na fixação de CO<sub>2</sub> tornou-se um tema relevante, frente as crescentes preocupações de reduzir ou até zerar

emissões de carbono (LIU et al., 2020; SCHUURMANS et al., 2015; UPENDAR et al., 2018). Há equipamentos capazes de sequestrar o carbono atmosférico e comprimi-lo, podendo ser enterrado com líquidos para que não escape novamente para a atmosfera (CARRINGTON, 2021; ZANON, 2020). O diferencial do uso dos microrganismos é que além de reduzir o gás carbônico atmosférico, a partir da fotossíntese, produzem biomoléculas que podem ser comercializadas com esse carbono sequestrado (LIU et al., 2020; VENKATA MOHAN et al., 2016).

No ano de 2020, haviam 4 empresas utilizando microalgas para comercializar a biofixação de CO<sub>2</sub>, além de vender os bioprodutos gerados durante o cultivo como óleos, proteínas e biomassa (LIU et al., 2020). Uma das empresas é Pond Technologies que comercializa ficocianina, produzida por cianobactéria, e utilizada na indústria como corante alimentício, antioxidante, anti-inflamatório, entre outras aplicações farmacológicas (LEVINE; FLEURENCE, 2018; LIU et al., 2020). Outro pigmento presente nas cianobactérias é a classe dos carotenoides, que possuem propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e aplicações de potencial anticâncer, sendo utilizados nas indústrias cosmética, nutracêutica e farmacêutica (BARSANTI; GUALTIERI, 2014; BIANCHINI et al., 2006). Em relação a comercialização de cianobactérias, a *Arthrospira spp.* é destaque; mantendo seu mercado crescente mesmo após décadas (ANDERSEN et al., 2013; GRIFFITHS et al., 2016).

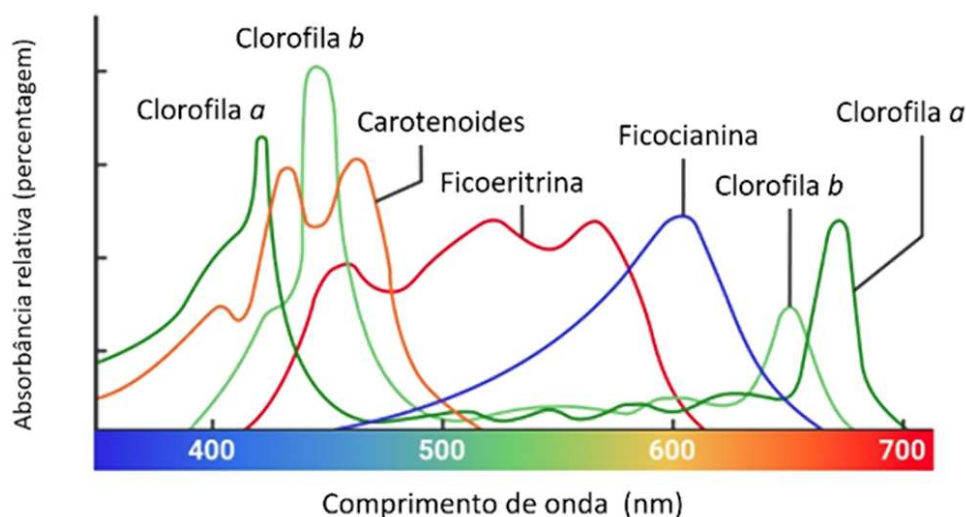
## **1.2 Fotossíntese**

A fotossíntese é uma reação que acontece mediante a presença de luz. Nessa reação, a clorofila direciona a energia luminosa para movimentação de elétrons e assim a fixação de carbono inorgânico pode ocorrer formando moléculas energéticas como ATP, NADPH e glicose. A parte inicial da fotossíntese ocorre no complexo de captação de luz (em inglês *Light Harvesting complex*), no fotossistema 1(PSI) e no fotossistema 2 (PSII). A diferença principalmente entre os fotossistemas é o comprimento de onda de excitação da molécula de clorofila *a*, 720 e 680 nm, respectivamente. Essas clorofilas são encontradas em pares e referidas como P720 e P680.

Além da clorofila outros pigmentos atuam na captação e direcionamento da luz. Na Figura 2 é possível observar picos de absorção luminosa de alguns pigmentos, em função dos comprimentos de onda no espectro visível assim como suas cores correspondentes. Importante ressaltar que as cianobactérias não possuem clorofila *b*,

porém todos os seres fotossintetizantes autotróficos possuem clorofila *a* (ANDERSEN et al., 2013).

**Figura 2.** *Picos de absorbância característicos de pigmentos encontrados em microalgas dentro do espectro de luz visível. Modificado de <www.circuitbread.com>. Acesso 22 de outubro de 2021*



A clorofila *a* é o pigmento que se encontra no centro reacional dos fotossistemas, possui cor esverdeada e absorve luz nos comprimentos 450-475 nm (na cor azul), e próximo a 630-675 nm (vermelho) como observamos na Figura 2 (ANDERSEN et al., 2013). Variações na cadeia lateral clorofila *a* configuram as moléculas de clorofila *b*, *c*, *d*, e *f*, alcançando outros comprimentos de onda no espectro visível e ultravioleta (GAN; BRYANT, 2015). Nas cianobactérias já foram identificados diferentes tipos de clorofila como a *d* e *f* (ZHANG et al., 2019).

Outro grupo de pigmentos presente são os carotenoides que além de atuarem na captação de luz, e também protegem espécies reativas de oxigênio. Esse é grupo de pigmentos acessório amarelo-alaranjado têm picos de absorbância entre 400 e 550 nm (ANDERSEN et al., 2013). As cianobactérias e algas vermelhas, para além desses dois grupos de pigmentos, também possuem ficobilinas, que absorvem luzes azul-esverdeada, verde, amarela e laranja (comprimentos de onda entre 500 e 650 nm). Esses pigmentos podem apresentar-se na forma complexada com proteínas chamadas ficobilissomos (PBS) que se localizam anexas ao fotossistema protegendo, captando e direcionando energia luminosa (ANDERSEN et al., 2013; GUTU; KEHOE, 2012).

Segundo Campbell e colaboradores (1998), após a absorção da energia pelos pigmentos nos fotossistemas, há 4 possíveis direcionamentos:

- a. reação fotoquímica;



- b. dissipação em forma de calor (quenching não-fotoquímico);
- c. transferência da excitação para o pigmento adjacente e
- d. emissão de fluorescência, de menor energia do que a absorvida

Graças ao pioneirismo de Engelmann em 1883 sabe-se que a qualidade de luz pode influenciar a fotossíntese e metabolismo de cianobactérias. Seu trabalho demonstrou que a cianobactéria do gênero *Oscillatoria* produzia altos níveis de oxigênio nas luzes azul, vermelha e laranja (Engelmann 1883, apud LUIMSTRA et al., 2018). Uma das maneiras que a qualidade da luz influencia a fotossíntese é a aclimação cromática, que consiste na modulação de seus pigmentos para melhor performance da fotossíntese (GUTU; KEHOE, 2012; PAGELS et al., 2020). Podemos delimitar 4 grupos quanto à aclimação cromática:

- a. Espécies que não alteram ficocianinas ou ficoeritrinas em resposta a mudança de cores de luz;
- b. Espécies com ficoeritrina mais alta na luz verde que na luz vermelha, enquanto a ficocianina não altera com as condições luminosas;
- c. Espécies que além de terem a ficoeritrina mais alta na luz verde que na luz vermelha, acumulam mais ficocianina nessas condições;
- d. Sob efeito de luz azul e verde há alteração na razão entre ficoeritrina e ficourobilina.

Além da modulação das moléculas das cianobactérias, a qualidade da luz pode modificar suas comunidades quanto a abundância de espécies, ao nível de agregação e a conformação (ENOMOTO; IKEUCHI, 2020; MARKOU, 2014; XU et al., 2021). A manipulação metabólica envolvendo a luz é um tema de interesse quando focamos na conciliação da taxa de fotossíntese e as aplicações biotecnológicas (GOVINDJEE et al., 2014; GUTU; KEHOE, 2012; MOORE et al., 2020; PARK; DINH, 2019; TOYOSHIMA; TOYA; SHIMIZU, 2020).

O rendimento da fotossíntese é uma forma de mensurar a eficiência do organismo para a fixação do gás carbônico para a produção de oxigênio com a condição que lhe é fornecida. Podemos mensurar esse rendimento utilizando pulsos de amplitude modulada (PAM), baseando-se na fluorescência de resposta da clorofila *a*. Equações matemáticas permitem utilizar o valor de fluorescência obtido, para calcular: taxa de transporte de elétrons, fixação teórica de carbono, rendimento quântico efetivo e

direcionamento da energia para a fotossíntese (qP), calor (NPQ) ou fluorescência (qN) entre outros parâmetros (NAPOLÉON; CLAQUIN, 2012; SCHREIBER et al., 1995).

O rendimento fotossintético é calculado através da fluorescência da clorofila *a* do PSII. Em cianobactérias esse valor é em média, 0,4; no entanto em plantas vasculares e microalgas verdes é entre 0,7 e 0,8 (SCHUURMANS et al., 2015). Os baixos valores obtidos para cianobactérias devem-se à fluorescência de base gerada pelo PSI e pelo complexo de ficobilissomos que interferem aumentando a fluorescência mínima ( $F_0$ ), gerando assim uma taxa não real da produção primária em cianobactérias (CAMPBELL et al., 1998). Outro motivo para a detecção de rendimentos baixos é devido ao fluxo de elétrons da respiração e fotossíntese ocorrerem no mesmo compartimento celular, impossibilitando que o fotossistema fique totalmente reduzido (SCHUURMANS et al., 2015, GOVINDJEE et al., 2014). É desconhecido o quanto a variação numérica do rendimento da fotossíntese reflete na condição saudável do organismo, não podendo comparar o rendimento entre espécies, apenas comparando o estado fisiológico da mesma cepa (SCHUURMANS et al., 2015).

A aplicação de microrganismos fotossintetizantes para a geração de produtos com demanda comercial, une desenvolvimento e ecologia. A pesquisa por novas cepas e elucidação fisiológica destas frente a otimizações de cultivo são bases para o desenvolvimento de novas biotecnologias. Este trabalho busca caracterizar fisiologicamente a cepa selvagem *Aphanocapsa holsatica* (CCIBt 3053) sob tratamento de diferentes cores de diodos de emissores de luz (LED) e assim identificar uma condição de cultivo que direcione o metabolismo para produção de biomoléculas de valor industrial juntamente com manutenção ou melhoramento na taxa de fotossíntese.

## 2. Justificativas

A utilização de *vida* nessas tecnologias vem no processo de aprimoramento de produção. Nesse trabalho, buscamos estudar a fisiologia de um microrganismo que, não apenas, pode mitigar um efeito ambiental negativo, como também pode gerar produtos de valor agregado que contribuem para a qualidade de vida dos indivíduos.

O estudo fisiológico é uma ferramenta para encontrarmos cepas capazes de realizar fotossíntese eficientemente assim como a produção de biomoléculas (LIU et al., 2020; VENKATA MOHAN et al., 2016). Além disso, é fundamental identificar condições de cultivo que promovam maiores fixações de carbono juntamente com a produção de moléculas de valor biotecnológico.

Resumidamente, a utilização de cianobactérias para mitigar o efeito estufa, para além de sequestrar CO<sub>2</sub> atmosférico, também transforma esse carbono em biomoléculas com valor agregado que podem ser comercializadas. Essas moléculas podem ser pigmentos, proteínas, óleos e biomassa (LIU et al., 2020; SCHIPPER et al., 2019). Essa geração de bioprodutos de valor comercial também auxilia para a redução do custo de operação geral (LIU et al., 2020; RAJESH et al., 2020; RAJNEESH et al., 2017). Além de serem consideradas “fábricas verdes” com menos agressoras para o meio ambiente. (LIU et al., 2020)

Este trabalho buscou compreender a resposta fisiológica da cepa de cianobactéria *Aphanocapsa holsatica* (CCIBt 3053) frente a exposição monocromáticas das luzes de LED branco, vermelho, azul e verde. Temos como finalidade identificar o tratamento que possa direcionar aumento da produção de biomoléculas de valor industrial juntamente com manutenção ou melhoramento na taxa de fotossíntese.

### **3. Objetivo Geral**

Analisar parâmetros de crescimento (taxa de crescimento, processo fotossintético, clorofila *a*) e produção de biomoléculas e pigmentos em cultivo da cianobactéria *Aphanocapsa holsatica* (CCIBt 3053) sob luz branca, vermelha, azul e verde.

#### **3.1 Objetivos Específicos**

- a) Analisar concentração de clorofila *a*, carotenoides e ficocianina sob diferentes condições de qualidade de luz no cultivo;
- b) Analisar efeitos na taxa de crescimento e fotossíntese da *Aphanocapsa holsatica* (CCIBt 3053) em cultivo exposta à luz de LED branca, vermelha, azul e verde;
- c) Caracterizar a biomassa quanto à composição bioquímica;

#### 4. Materiais e Métodos

##### *Aphanocapsa holsatica* (CCIBt 3053)

*Aphanocapsa holsatica* (CCIBt 3053) foi fornecida pela Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Célia L. Sant'anna (Instituto de Botânica, Secretaria do Meio Ambiente, São Paulo, Brasil) proveniente da antiga coleção *Culture Collection at the Institute of Botany* (CCIBt).

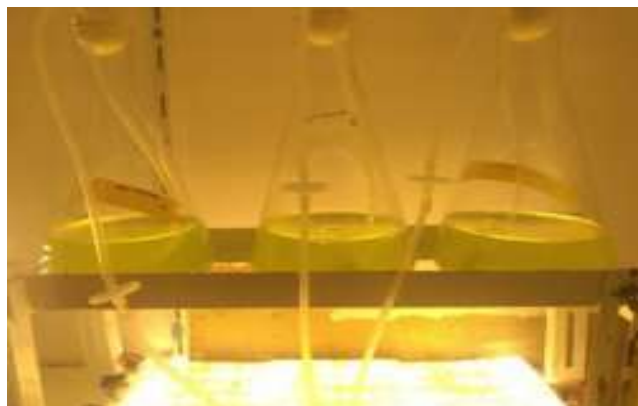
##### *Condições de Cultivo*

Utilizou-se o meio de cultura BG-11 (RIPPKA et al., 1979) e temperatura  $25 \pm 1$  °C. O fotoperíodo foi de 12 h claro e 12 h escuro e intensidade de luz  $180 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , intensidade \u00f3tima de cultivo estabelecida para essa cepa de *Aphanocapsa holsatica* mediante dados obtidos a partir da curva r\u00e1pida de luz.

A ilumina\u00e7\u00e3o dos cultivos foi realizada no sentido vertical (de baixo para cima), como mostrado na Figura 3, com o intuito de reduzir o caminho \u00f3ptico da luz dentro do cultivo e assim reduzir o auto sombreamento das c\u00e9lulas do cultivo.

Foram utilizados quatro tratamentos com luz de LED: branco, azul, verde e vermelho, nos padr\u00f5es comerciais. Os tratamentos foram isolados fisicamente a fim de garantir que apenas a luz emitida pelas lâmpadas de LED selecionadas fosse presente no ambiente.

**Figura 3.** Foto do sistema utilizado para a ilumina\u00e7\u00e3o das culturas, a fim de reduzir o caminho percorrido pela luz dentro do cultivo.



### ***Monitoramento do cultivo***

O monitoramento do experimento foi feito de acordo com o que segue:

**Fluorescência da Clorofila *a in vivo*:** utilizou-se o Fluorômetro Turner a 680 e 730 nm. A cultura foi previamente aclimatada no escuro e então mensurado o sinal de fluorescência em unidades relativas, esse valor é comparado a uma curva de calibração realizada com os parâmetros concentração de clorofila *a* (mg/L) extraída de *Chlorella sorokiniana* e intensidade de fluorescência. Desse modo, obtemos a equivalência entre intensidade de fluorescência e concentração do pigmento fotossintético.

**Biomassa seca:** uma alíquota conhecida do cultivo foi filtrada utilizando filtros de acetado de celulose (poro 0,22 µm) previamente pesados. Os filtros foram secos até massa constante e depois usados para filtrar a cultura; então contendo biomassa algal, os filtros foram secos em estufa (38 °C por 48 horas). A diferença entre o peso dos filtros com biomassa e dos filtros sem biomassa equivale à biomassa algal seca referente aos dias de análise.

**Cálculo da taxa de crescimento:** baseou-se nas medições gravimétricas e de mg de clorofila *a in vivo* por litro de cultivo. As taxas de crescimento foram identificadas para cada réplica utilizando regressão linear das curvas de crescimento em escala logarítmica. A análise foi realizada utilizando-se o software IgorPro 6.0.5 (WaveMetrics, EUA) e o tratamento estatístico por meio do software GraphPad Prism (versão 6 para Windows).

### ***Estudos da fotossíntese***

A cultura foi aclimatada no escuro por vinte minutos para a determinação da fluorescência mínima ( $F_0$ ), aplicando-se fluorimetria de amplitude de pulso modulada (PAM), por meio do equipamento PhytoPAM II. Após esta medida, a alíquota da cultura foi exposta a um pulso de luz (700 ms, 2.000 µmol fótons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) para medir a fluorescência máxima ( $F_m$ ). Em seguida a amostra foi submetida à intensidade luminosa utilizada durante o cultivo para medir o rendimento quântico efetivo ( $F_v/F_m$ ). Essas medidas foram feitas quando o cultivo atingiu 72 horas, correspondente ao meio da curva exponencial de crescimento. As relações dispostas na Tabela 1 foram usadas para o estudo da fotossíntese nos cultivos.

Tabela 1. Parâmetros de fluorescência e equações utilizadas para o estudo da fotossíntese.

Significado	Equação
Rendimento quântico fotoquímico máximo de PS II	$\frac{F_v}{F_m} = \frac{F_m - F_o}{F_m}$
Rendimento quântico efetivo	$\frac{(F'_m - F'_o)}{F'_m}$
Fluorescência mínima efetiva	$F'_o = \frac{1}{\frac{1}{F_o} - \frac{1}{F_m} + \frac{1}{F'_m}}$
Fluorescência de decaimento não fotoquímico	$NPQ = \frac{F_m}{F'_m} - 1$
Coefficiente de decaimento fotoquímico	$q_P = \frac{F'_m - F'_s}{F'_m - F'_o}$
Coefficiente de decaimento de fluorescência	$q_N = 1 - \frac{F'_m - F'_o}{F_m - F_o}$

Fonte: Modificado de Principles of Operation Phytoplankton Analyzer PHYTO-PAM-II (HEINZ WALZ GMBH, 2016)

### **Curva de rápida de luz**

As curvas rápidas de luz foram feitas em amostras de cultura em 72 h de cultivo utilizando o equipamento Phyto-PAM II (Heinz-Walz, Alemanha). O aparelho emite radiação fotossinteticamente ativa (PAR) em pulsos de intensidades crescentes no intervalo de 0 a 1728  $\mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$  a cada 20 segundos sobre a alíquota do cultivo, identificando a taxa relativa de transferência eletrônica (rETR). Mediante esses

dados foi determinada a intensidade luminosa saturante ( $E_k$ ), utilizada para os cultivos subsequentes.

### ***Determinações de biomoléculas***

Todas as biomoléculas foram determinadas em 72 h de cultivo, metade da fase exponencial de crescimento. Após coletadas, as amostras foram centrifugadas (1500 rpm por 10 minutos), e o *pellet* mantido a  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  até o momento da análise, como descrito a seguir:

**Carboidratos totais:** para carboidratos foi utilizado o método espectrofotométrico descrito por Albasmeh, Berhe e Ghezzehei (2013), que consiste na reação da biomassa algal e ácido sulfúrico concentrado, na proporção 1:3 mL. Foi utilizado 30 mL de cultivo, o qual após centrifugado, 1 mL do sobrenadante foi adicionado ao *pellet* de biomassa e o restante do líquido foi descartado. Adicionamos o ácido sulfúrico e a solução reacional foi agitada em vórtex. A solução reagiu por 10 minutos e foi resfriada em gelo por dois minutos antes de ser analisada no espectrofotômetro a 315 nm.

**Proteínas totais:** para proteínas utilizou-se a metodologia descrita por Slocombe *et al.* (2013) modificado. Resumidamente, para a extração foram coletados 20 mL de amostras do cultivo. Ao *pellet* foi adicionado 200  $\mu\text{L}$  de ácido trichloroacético (TCA) e incubando por 15 minutos a  $90\text{ }^\circ\text{C}$ . Após a amostra atingir a temperatura ambiente, acrescentou-se 250  $\mu\text{L}$  de água destilada, e após homogeneização, a solução foi centrifugada e o sobrenadante descartado, o *pellet* foi acrescido de 500  $\mu\text{L}$  da solução Lowry D e incubado por 60 minutos a  $80\text{ }^\circ\text{C}$ . Em seguida, centrifugou-se novamente e 50  $\mu\text{L}$  do sobrenadante foi coletado para a quantificação. A leitura foi realizada em espectrofotômetro (EPOCH) a 600 nm de comprimento de onda. Os dados adquiridos foram comparados a uma curva padrão para quantificar a concentração proteica em mg/mL.

**Lipídios totais:** para lipídios totais, filtrou-se 100 mL do cultivo utilizando filtro de fibra de vidro de poros de 0,7  $\mu\text{m}$  previamente calcinado a  $400\text{ }^\circ\text{C}$ . Em seguida o filtro foi colocado em um frasco de Teflon® contendo 4 mL de clorofórmio e 2 mL de metanol e macerado utilizando bastão de vidro conforme a metodologia Parrish (1999) e Lombardi (1990). Em seguida a amostra foi sonicada durante 5 minutos, sob



resfriamento, e posteriormente centrifugada a 3000 rpm a 0 °C por 5 minutos. Utilizando uma pipeta Pasteur o sobrenadante foi reservado, e a biomassa precipitada submetida ao processo de extração mais 2 vezes, adicionando 4 mL de clorofórmio. Os extratos finais foram reunidos e posteriormente concentrados utilizando um evaporador rotativo (IKA). Todos os materiais e equipamentos que tiverem contato com a amostra foram previamente esterilizados utilizando uma mufla e limpos 3 vezes com metanol e 3 vezes com clorofórmio. Para o cálculo de percentual de lipídeos na biomassa foi utilizado as equações (1) e (2) descritas abaixo, onde uma alíquota de 400 µL do extrato foi seco em cadinho e posteriormente pesado.

$$\text{Peso do extrato de lipídios} = \frac{(\text{volume extrato concentrado}) \cdot (\text{peso do cadinho})}{\text{volume adicionado no cadinho}} \quad (1)$$

$$\% \text{ Lipídios} = \frac{(\text{Peso do extrato de lipídios}) \times 100}{\text{biomassa seca do volume filtrado}} \quad (2)$$

### ***Pigmentos***

Os carotenoides totais e clorofila *a* foram extraídos e determinados de acordo com metodologia descrita por Wellburn (1994), expressos em µg/ mL, utilizando o solvente DMSO. Foram coletadas 10 mL do cultivo foram coletados e centrifufados para a subseqüente resuspensão em DMSO para análise no espectrofotômetro.

A análise da ficocianina seguiu o protocolo descrito por Yéprémian (2017). Utilizamos 15 mL de meio de cultivo, coletados diariamente durante o experimento. A amostra foi centrifugada e ressuspensa em tampão salino com pH entre 7,4 e 7,5. Após 16 horas de reação a temperatura de 4 °C, é realizada a leitura das amostras nos comprimentos de onda 620 e 650 nm.

### ***Análise dos dados***

O *software* GraphPad Prism (versão 6 para Windows) foi usado para elaboração dos gráficos e para a análise estatísticas utilizando ANOVA ONE WAY e Teste de Tukey. As representações gráficas referentes a fotossíntese serão feitas no programa IgorPro 6.0.5 (WaveMetrics, EUA).

## Resultados e Discussão

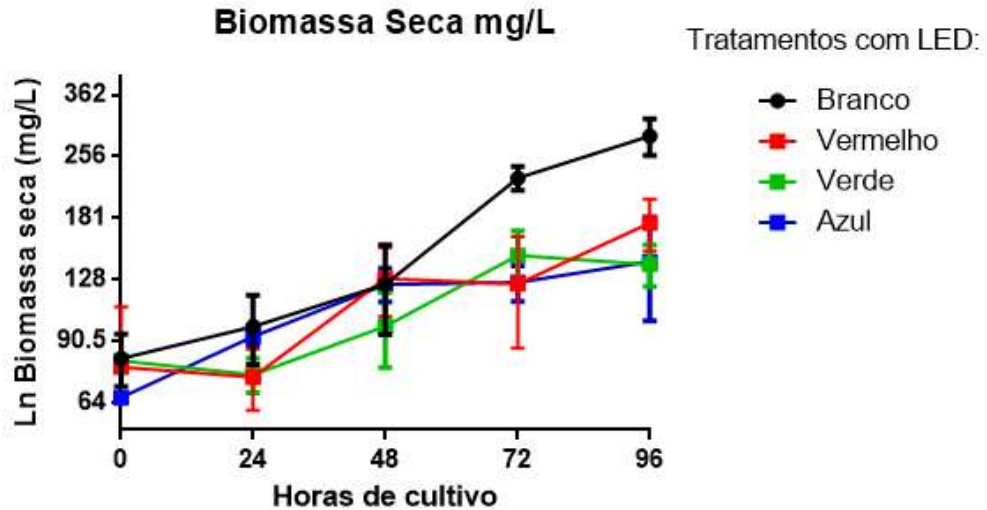
### ***5.1. Capítulo 1. Efeito de diferentes cores de luz na produção de biomoléculas em *Aphanocapsa holsatica* (CCIBt 3053)***

As diferentes cores de luz influenciaram o crescimento e o quantidade de biomassa de *Aphanocapsa holsatica* (CCIBt 3053). Na Figura 4A podemos observar que nas luzes de LED vermelho, azul e verde, *A. holsatica* (CCIBt 3053) apresentou fase lag, resultando em um menor acúmulo de biomassa no final do experimento.

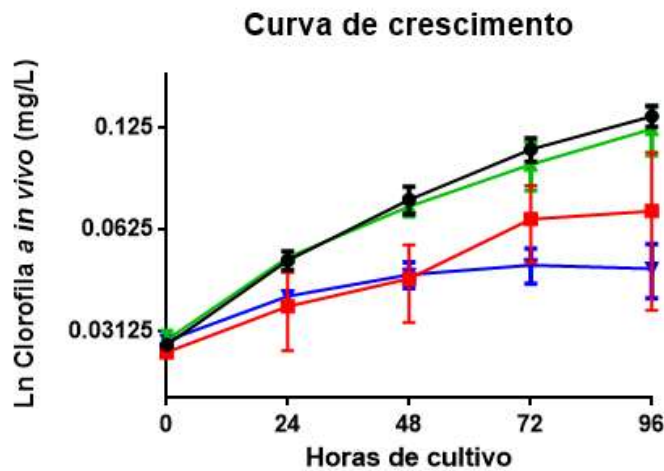
A Figura 4B mostra a curva de crescimento com base em clorofila *a* (mg/L) em função do tempo experimental. Observamos que o LED branco e verde foram os melhores para o crescimento em relação às luzes vermelha e azul, sendo estatisticamente iguais (ANOVA,  $p > 0,05$ ). O valor de clorofila *a* quando *A. holsatica* (CCIBt 3053) foi exposta a luz branca foi 1,9 vezes maior do que o identificado na luz azul.

**Figura 4.** Curva de crescimento da cianobactéria *Aphanocapsa holsatica* (CCIBt 3053) segundo a (A) biomassa seca (mg/L) e (B) concentração de clorofila a in vivo (mg/L) em função do tempo experimental.

(A)

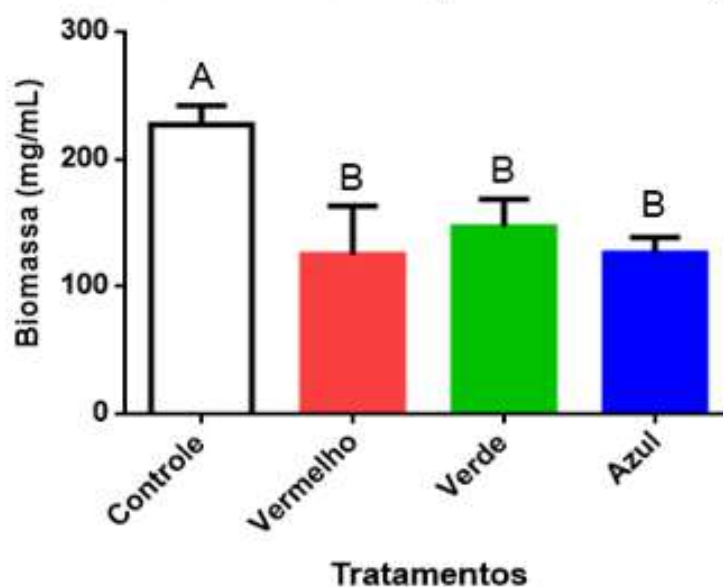


(B)



Na Figura 5 é possível visualizar que a luz branca viabilizou um acúmulo de biomassa seca. Esse aumento foi de 70% comparado com o valor médio nos demais tratamentos, atingindo a concentração de  $226,8 \pm 15$  mg/L. Essa diferença de biomassa pode estar relacionada a fase *lag* observada nas culturas irradiadas nas cores vermelho, verde e azul, possível de ser visualizada na Figura 4A.

**Figura 5.** Biomassa seca às 72h de cultivo, metade da fase exponencial. Letras destacam a diferença estatística dentre os tratamentos com luz de LED branca, vermelha, verde e azul. As barras de erro indicam o desvio padrão (n = 3).



A Tabela 2 mostra que as taxas de crescimento, segundo a biomassa seca e clorofila *a in vivo*. As taxas de crescimento considerando a biomassa seca foram estatisticamente iguais (ANOVA,  $p > 0,05$ ), entre os tratamentos. E assim, concluímos que as luzes não afetaram o aumento de biomassa da *Aphanocapsa holsatica* (CCIBt 3053) e que a diferença de biomassa ao final do experimento é devido a fase *lag* gerada pelos tratamentos. As luzes branca e verde destacaram-se obtendo as maiores taxas de crescimento segundo a medição por concentração de clorofila *a*, concordando com o gráfico de crescimento disposto na Figura 4B que as mostra com maiores concentrações desse pigmento.

**Tabela 2.** Valores taxa de crescimento nos cultivos de *Aphanocapsa holsatica* (CCIBt 3053) sob diferentes cores de luz, tendo como base a biomassa seca e concentração de clorofila *a*.

Tratamento	Taxa de Crescimento (d <sup>-1</sup> )	
	Biomassa Seca	Clorofila <i>a in vivo</i>
<b>Branco</b>	0,36 ± 0,04 <sup>A</sup>	0,49 ± 0,03 <sup>A</sup>
<b>Vermelho</b>	0,58 ± 0,18 <sup>A</sup>	0,30 ± 0,03 <sup>BC</sup>
<b>Verde</b>	0,33 ± 0,12 <sup>A</sup>	0,39 ± 0,07 <sup>AB</sup>
<b>Azul</b>	0,32 ± 0,05 <sup>A</sup>	0,24 ± 0,05 <sup>C</sup>

Os valores das taxas são maiores aos observados por Zhang *et al.* (2019), utilizando cepas do gênero *Aphanocapsa sp.* CCNUM3 e CCNUW2, que obtiveram taxa de  $0,16 \text{ d}^{-1}$  na luz branca. O aumento na taxa de crescimento em comparação a literatura pode ter sido influenciado pela forma de iluminação do cultivo, visto que utilizamos a iluminação de baixo para cima, reduzindo o caminho óptico e o auto sombreamento do cultivo.

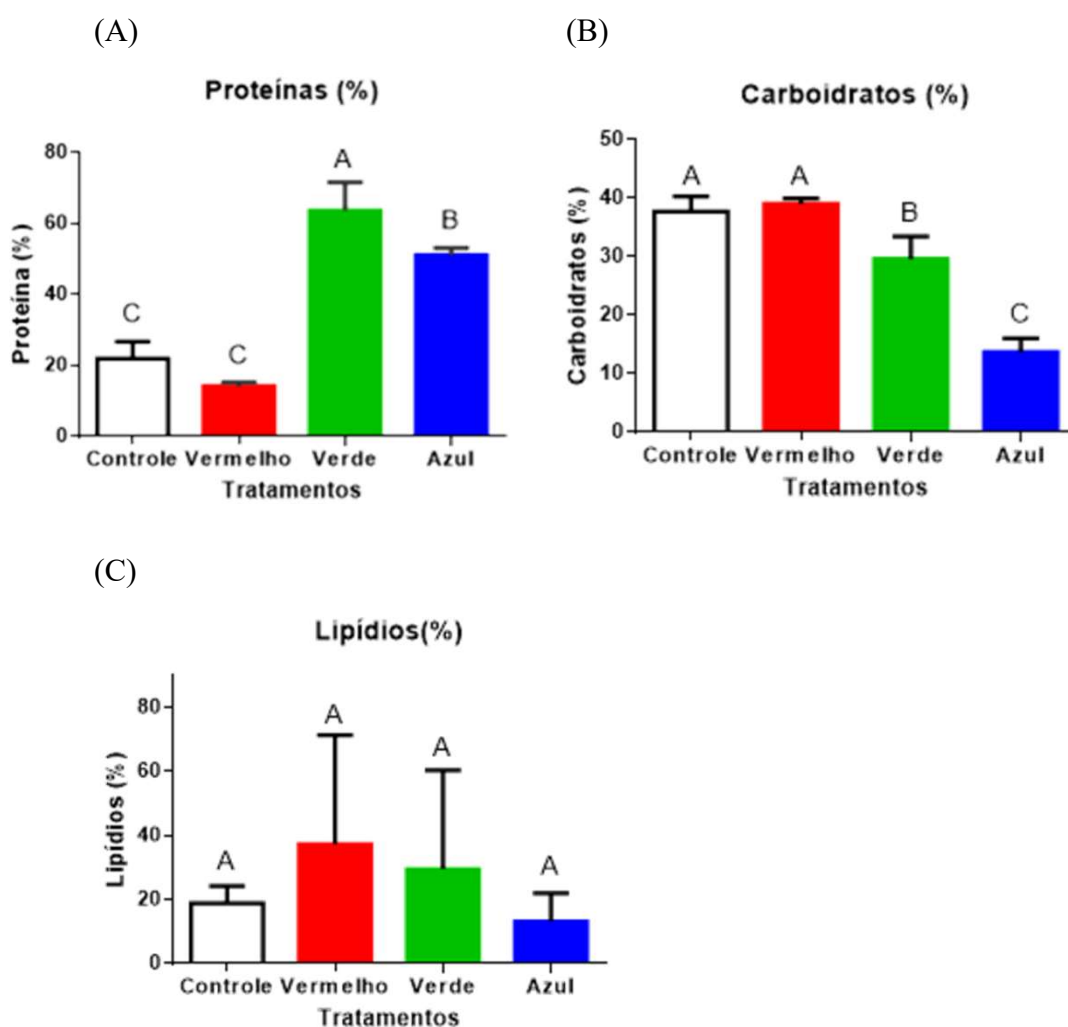
Tan *et al.* (2020) acompanharam o crescimento da cianobactéria *Microcystis aeruginosa*, sob luzes vermelha, branca e azul, e observaram que a luz vermelha proporcionou a maior taxa de crescimento. Os autores também mostraram que na luz azul a *M. aeruginosa* obteve menos de 50% do valor final obtido utilizando a luz vermelha. Markou (2014) analisando a cianobactéria *Arthrospira (Spirulina) platensis* identificou que a luz azul e verde foram as luzes mais prejudiciais para o crescimento e as luzes rosa e vermelha foram as que mais favoreceram o aumento de biomassa. Luimstra e colaboradores (2018) também identificaram que a luz azul foi mais prejudicial ao crescimento do que a luz vermelha, para a cianobactéria *Synechocystis sp.* PCC 6803. Com base na literatura era esperado que a luz vermelha favorecesse o crescimento e aumento de biomassa seca da cianobactéria *Aphanocapsa holsatica* (CCIBt 3053), no entanto não foram os resultados que obtivemos.

Estudo de Barnett e colaboradores (2017) identificaram que a luz de LED vermelho proporcionou o melhor crescimento para *C. vulgaris* e *Leptolyngbya sp.* e sugeriu que este fenômeno fosse devido ao pico de luz vermelha estivesse próximo ao pico de absorbância da clorofila *a*. Assim, a luz vermelha seria a ideal para o crescimento, enquanto luzes como azul e verde causariam atraso na fotossíntese e consequentemente redução na taxa de crescimento. Desta forma, nesse trabalho destacamos a luz azul como a que obteve menor produtividade de biomassa e taxa de crescimento de *A. holsatica* (CCIBt 3053).

Em relação a composição bioquímica, na Figura 6 reportamos a concentração de proteínas, carboidratos e lipídios totais pra as diferentes cores de cultivo. A cor da luz do cultivo mostrou influenciar o acúmulo percentual de proteínas por biomassa seca. A luz verde proporcionou o maior percentual de proteínas totais,  $63,78 \pm 4,59\%$ , estatisticamente diferente (ANOVA,  $p < 0,05$ ) e acima dos demais tratamentos como mostra a Figura 6A. Na luz branca *A. holsatica* (CCIBt 3053) apresentou  $21,99 \pm 2,78\%$

de proteínas totais, enquanto o tratamento com luz vermelha obteve  $14,25 \pm 0,61\%$ . A luz verde proporcionou um acúmulo de proteínas 4,5 vezes maior que o encontrado no tratamento com luz vermelha (Fig. 6A).

**Figura 6.** Biomoléculas na biomassa de *Aphanocapsa holsatica* (CCIBt 3053) apresentadas como porcentagem do total de biomassa seca. (A) proteínas totais, (B) carboidratos totais, (C) lipídios totais para as diferentes cores de cultivo. Letras destacam a diferença estatística dentre os tratamentos. As cores no gráfico de barras representam as cores de luz de LED às quais as células foram expostas. As barras de erro indicam o desvio padrão ( $n = 3$ ).



Markou (2014) identificou que a luz branca favoreceu o acúmulo de proteínas na *A. (Spirulina) platensis* sendo  $50,1 \pm 5,5\%$  da biomassa seca, e com luz verde  $49,8 \pm 4,8\%$ . A microalga *Chlorella vulgaris* é comercializada atualmente como produto nutracêutico, dentre os motivos, devido a alta concentração proteica que é entre 51 e 58% da biomassa seca (GROSSMANN; HINRICHS; WEISS, 2019). A *Aphanocapsa*

*holsatica* (CCIBt 3053) obteve valores superiores aos supracitados, no tratamento com luz verde.

Estudo de Jahn e colaboradores (2018) identificou que frente a diferentes condições luminosas quando havia aumento na concentração de proteínas durante o crescimento de cianobactérias era majoritariamente devido aumento de proteínas de manutenção, regulação e ribossomos. As proteínas do fotossistema e complexos proteicos de proteção a luz, mantinham-se constantes mesmo com o aumento da intensidade luminosa. Assim, as proteínas que foram expressas nos cultivos com luz verde e azul, provavelmente, são para a manutenção do metabolismo e não do fotossistema.

As luzes alteraram no acúmulo percentual de carboidratos totais por biomassa seca, como observamos na Figura 6B. Os dados obtidos do grupo utilizando luz vermelha e luz branca foram estatisticamente iguais (ANOVA,  $p > 0,05$ ),  $39,06 \pm 0,52\%$  e  $37,71 \pm 1,50\%$ , respectivamente. A luz azul proporcionou menor concentração de carboidratos, metade do valor encontrado no grupo exposto a luz branca, com  $13,72 \pm 1,36\%$  ( $p < 0,05$ ).

Pagels e colaboradores (2020a) estudaram biomoléculas da cianobactéria *Cyanobium sp.* sob suplementação com luzes coloridas. Esse experimento mostrou que a luz verde proporcionou o maior percentual de carboidratos por biomassa seca ( $17,3 \pm 1,1\%$ ), comparado às demais luzes analisadas por eles (lâmpadas de vapor de sódio nas cores verde, vermelho, azul, branco e ultravioleta). No entanto, Markou (2014) destacou que a luz azul como a que proporcionou maior acúmulo de carboidratos. Ambos os trabalhos destoam dos dados obtidos nesse estudo, o qual demonstrou que as luzes vermelha e branca proporcionaram maior acúmulo de carboidratos.

Patel e colaboradores (2018) avaliaram sete cianobactérias (*Synechocystis* PCC 6803, *Synechococcus* PCC 7942, *Nostoc muscorum*, *Oscillatoria sp.*, *Anabaena cylindrica*, *Lyngbya sp.* e *Phormidium sp.*) para a produção de biomassa de alta qualidade. Este estudo apresentou valores de carboidratos entre 9,8 e 32,1%, sendo o maior valor identificado na *Nostoc muscorum*, sem manipulação bioquímica. Tal informação possibilita inferir que *Aphanocapsa holsatica* (CCIBt 3053) é uma potencial fonte de carboidratos, dado que identificamos valores acima dos avaliados nas sete cianobactérias do estudo, obtendo 39,59% de carboidratos no cultivo com luz branca.

O percentual de lipídeos por biomassa não sofreu alteração dentre os tratamentos, exposto na Figura 6C. Os tratamentos utilizando luz vermelha e verde

apresentaram os percentuais mais altos,  $37,35 \pm 19,69\%$  e  $29,55 \pm 17,85\%$ , respectivamente. As réplicas cultivadas em luz branca tinham  $18,93 \pm 3,13\%$  da biomassa seca composto por lipídios, e o tratamento com luz azul obteve  $13,25 \pm 5,11\%$ . No entanto, as médias foram estatisticamente iguais ( $P < 0,05$ ).

A cianobactéria *Synechocystis sp.*, da mesma família que a *Aphanocapsa holsatica*, foi identificada com 13% de lipídios na composição da biomassa seca, abaixo dos 18% de lipídeos identificados nesse estudo, e foi a maior detecção dentre outras sete cianobactérias, que incluem a *Nostoc muscorum* e a *Synechococcus* PCC 7942 (PATEL et al., 2018). Markou (2014) obteve aumento da concentração lipídica da *A. platensis* utilizando luz azul, compondo 6% da biomassa, enquanto o controle tinha 5% para este bioproduto. Já para a cepa de *Cyanobium sp.* a luz vermelha favoreceu o acúmulo percentual de óleos, com  $9,7 \pm 0,2\%$ , seguido pela luz verde e controle,  $8,6 \pm 0,6$  e  $7,7 \pm 0,5\%$ , respectivamente (PAGELS et al., 2020).



**Tabela 3.** Razão Proteína/Carboidrato da *Aphanocapsa holsatica* (CCIBt 3053), *Cyanobium* sp. LEGE 06113 e *A. platensis* SAG 21.99 em diferentes tratamentos com cores de luz.

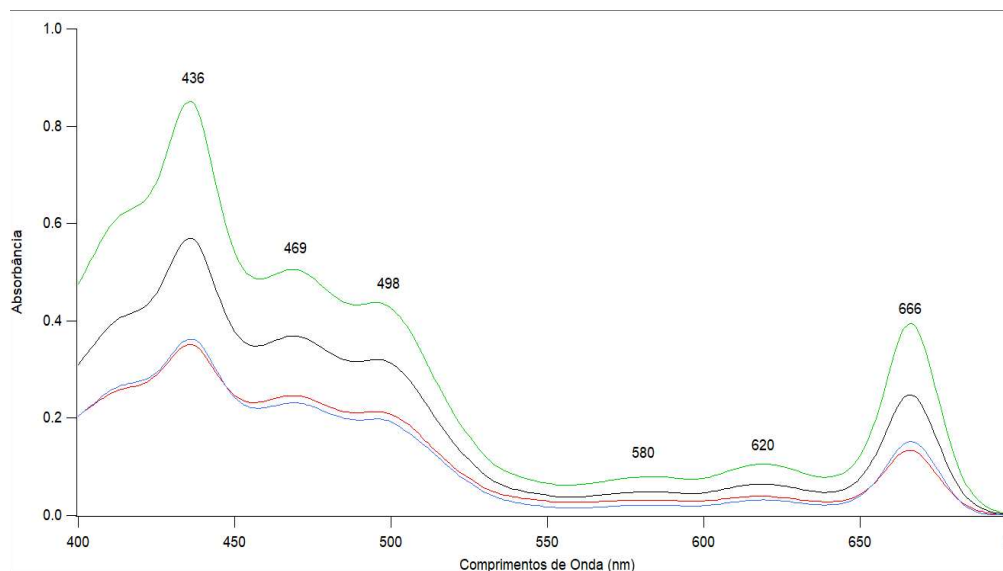
Espécie	Iluminação	Razão Proteína/Carboidrato	Referência
<b><i>A. holsatica</i> (CCIBt 3053)</b>	LED Branco	0,583	Neste estudo
	LED Vermelho	0,364	
	LED Verde	2,152	
	LED Azul	3,728	
<b><i>Cyanobium</i> sp. LEGE 06113</b>	SOX	1,607	PAGELS et al. (2020)
	SOX+Vermelho	2,262	
	SOX+Verde	1,017	
	SOX+Azul	1,341	
<b><i>A. platensis</i> SAG 21.99</b>	LED Branco	5,693	MARKOU (2014)
	LED Vermelho	3,982	
	LED Verde	4,743	
	LED Azul	3,725	
	LED Rosa	4,772	
	LED Amarelo	4,50	

Ganf e colaboradores (1986) identificaram que a razão proteína/carboidratos é um indicativo de saúde para microalgas, analisada sob situação de estresse nutricional. Esta razão sofria um decréscimo em tratamentos com baixas concentrações de nitrogênio. As razões proteína/carboidratos obtidas neste estudo e dados de dois outros estudos com cianobactérias e manipulação utilizando luzes coloridas está reportada na

Tabela 3. Obtivemos para as luzes branca e vermelha as menores razões, enquanto nas luzes verde e azul as maiores.

As maiores razões de proteína/carboidratos observadas nas luzes verde e azul, luzes nas quais obtivemos os maiores valores para rendimento fotossintético efetivo, que será discutido mais detalhadamente no capítulo 2. O trabalho de Markou (2014) indicou mudanças mais sutis na razão de proteínas/carboidratos e obtiveram melhor valor no cultivo com luz branca (5,693) e menor razão utilizando a luz azul (3,725). Já o estudo de Pagels e colaboradores (2020) obteve melhor razão utilizando a luz vermelha. Segundo Kilham e colaboradores (1997) a razão proteínas/carboidratos menores que 1,0 indicam que as células estão sob condição de estresse. Podemos inferir que a luz branca nem sempre é a melhor luz para manutenção das cianobactérias saudáveis, uma vez que nessa condição a razão foi menor que 1,0, assim como foi observado na luz vermelha.

**Figura 7.** Espectro de varredura de 400 a 700 nm do extrato da biomassa seca da *Aphanocapsa holsatica* (CCIBt 3053) em DMSO, para cada tratamento representados pelas cores respectivas utilizadas na iluminação do cultivo. Os comprimentos de onda de cada pico estão numericamente expostos sob os mesmos.



O espectro de absorvância da Figura 7 mostra a diferença de altura dos picos dentre os tratamentos, cada pico representa um composto absorvendo a luz que foi emitida. A diferença de altura entre os picos representa a quantidade em que a molécula reativa se encontra presente, quanto mais alto maior a concentração. Os espectros da

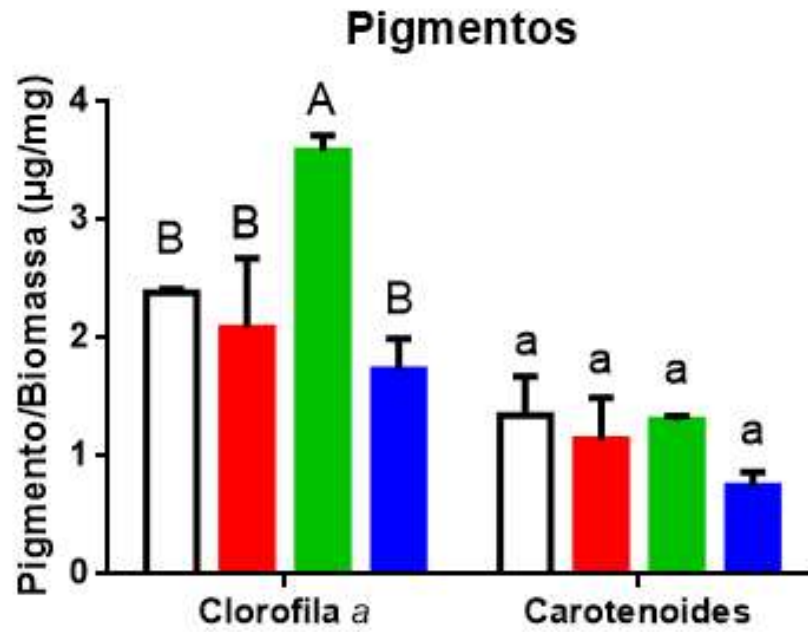
Figura 7 não possuem diferença no perfil, uma vez que apresentam picos nos mesmos comprimentos de onda independentemente da cor de luz durante o cultivo. O tratamento com luz de LED verde possibilitou o maior acúmulo de pigmentos por volume de cultivo, visto que possui o pico mais alto dentre os tratamentos.

O pico de absorvância característico de um pigmento pode sofrer um pequeno deslocamento dependendo do solvente utilizado e temperatura ambiente. Os picos em 470 nm e 665 nm correspondem a clorofila *a*, quando o solvente é DMSO (WELLBURN, 1994). Temos os picos em 469 nm e 666 nm que provavelmente são picos deslocados de clorofila *a*.

A ficocianina tem seu pico de absorvância em 620 nm, e pelo espectro exposto podemos verificar que não há um pico expressivo para este pigmento. O pigmento ficocianina não foi detectado quantitativamente na *Aphanocapsa holsatica* (CCIBt 3053) em nenhum dos tratamentos, por este motivo apenas clorofila *a* e carotenoides são reportados na Figura 8. Para os demais picos não foi possível determinar quais eram os pigmentos. O espectro de varredura não é indicado para a determinação de classes de carotenoides e por esta razão não vamos discorrer sobre esse grupo de pigmentos.

Ao fazermos um paralelo entre o espectro de absorvância na Figura 7 e a concentração de pigmentos por biomassa na Figura 8, percebemos que não houve diferença significativa entres os tratamentos quanto aos pigmentos, exceto clorofila *a* no tratamento com luz verde. Nesse experimento, *Aphanocapsa holsatica* (CCIBt 3053) não demonstrou capacidade de aclimatação cromática, uma vez que não houve mudança no perfil de absorvância ou nos pigmentos por biomassa seca.

**Figura 8.** Pigmentos presentes em *A. holsatica* (CCIBt 3053) exposta a diferentes cores de luz. As cores das barras representam as cores de luz de LED às quais as células foram expostas. Letras maiúsculas destacam a diferença estatística dentre os tratamentos. As cores no gráfico de barras representam as cores de luz de LED às quais as células foram expostas. As barras de erro indicam o desvio padrão ( $n = 3$ ).



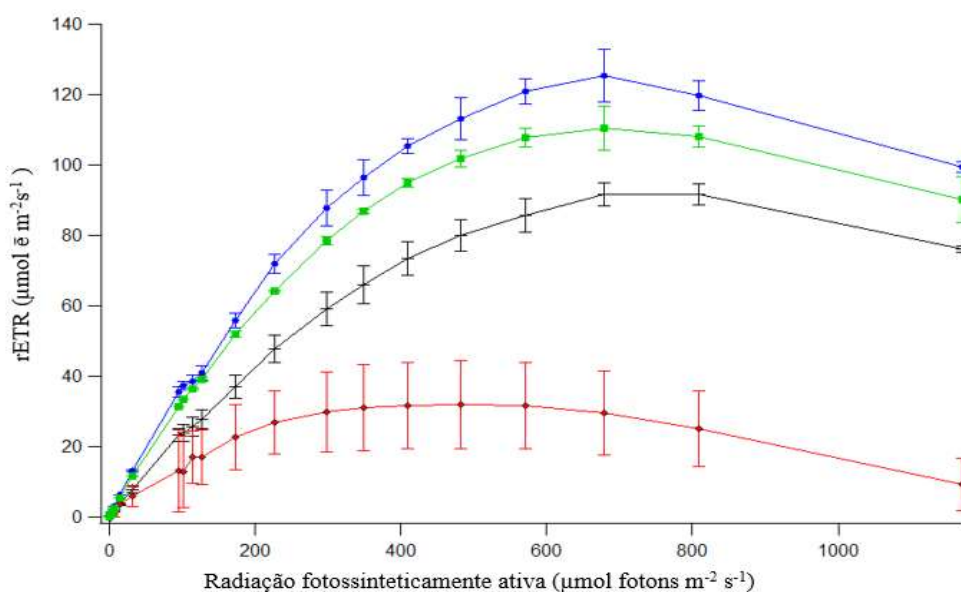
As luzes verde e branca proporcionaram acúmulo de clorofila *a* na razão de  $3,58 \pm 0,13$  e  $2,38 \pm 0,03$  µg/mg de biomassa seca, respectivamente. O trabalho de Barnett e colaboradores (2017) sugeriu que devido a luz verde ser refletida pela coloração esverdeada das microalgas, assim tendo menor taxas de absorção dessa coloração nas células, a resposta metabólica seria aumentar a concentração de clorofila *a* para capturar a mesma quantidade de energia. Tanto no trabalho de Barnett e colaboradores (2017) quanto no de Park e Dihn (2019) a luz verde favoreceu o acúmulo de clorofila *a* no cultivo, assim como identificado para *Aphanocapsa holsatica* (CCIBt 3053).

Quanto a razão de carotenoides, a concentração dentre os tratamentos não foi significativamente diferente ( $p > 0,05$ ), na luz branca detectamos razão  $1,34 \pm 0,33$  µg/mg de biomassa. A luz vermelha é frequentemente destacada como o comprimento de onda que estimula a produção de carotenoides (PAGELS; VASCONCELOS; GUEDES, 2021). No entanto, a *A. holsatica* (CCIBt 3053) não apresentou aclimatação cromática, mantendo a concentração de carotenoides por biomassa seca nas condições testadas.

## 5.2 Capítulo 2. Efeito de diferentes cores de luz na fotossíntese em *Aphanocapsa holsatica*

As curvas rápidas de luz da cianobactéria *Aphanocapsa holsatica* (CCIBt 3053) sofreram variação conforme a cor da luz usada para o cultivo. Esse parâmetro nos permite avaliar a resposta do organismo a diferentes intensidades luminosas e sua aclimação, com base na taxa de transferência de elétrons (ETR) dentro do fotossistema.

**Figura 9.** Curvas rápidas de luz de *Aphanocapsa holsatica* (CCIBt 3053) representadas como rETR (taxa de transporte de elétron relativa) em função da intensidade de radiação fotossinteticamente ativa (PAR) em culturas mantidas sob diferentes condições de cultivo. As cores das linhas representam as cores de luz de LED às quais as células foram expostas.



Quanto maior a inclinação no início do gráfico (alfa), maior é a eficiência na captura da luz. Além disso podemos identificar a máxima energia que o fotossistema consegue gerir antes da fotoinibição ( $\text{ETR}_{\text{max}}$ ). A curva rápida do tratamento utilizando luz vermelha atinge o platô antes dos demais tratamentos, indicando que a *Aphanocapsa holsatica* (CCIBt 3053) possui maior sensibilidade a esta cor e tem dificuldade de aclimatar-se para variações de intensidade luminosa. Esta resposta pode ser devido a luz vermelha ter o comprimento de onda próximo do comprimento de

excitação da clorofila *a*, assim intensidades maiores causariam danos a fotossíntese por excesso de energia que não conseguiu ser dissipada de forma eficiente.

Os tratamentos com luz verde e azul proporcionaram identificar taxas de transporte de elétrons acima da identificada no tratamento com luz branca. Assim podemos inferir que as cores azul e verde favoreceram a fotossíntese, por possibilitarem uma ETR mais alta que as demais e com a mesma intensidade luminosa. A taxa ETR está relacionada aos elétrons que passam pelo fotossistema II, a fixação de CO<sub>2</sub> e liberação de oxigênio. No entanto esta relação não é fixa ou linear, pois em cianobactérias o fotossistema não é isolado do restante do metabolismo por membranas, acarretando em troca de elétrons entre o sistema de respiração, movimento cíclico de elétrons no fotossistema e interação com proteínas de transferência (SUGGETT; PRÁŠIL; BOROWITZKA, 2010).

*Tabela 4. Parâmetros da curva de luz. Taxa de transporte de elétrons máxima (ETR,  $\mu\text{mol elétrons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), alfa ( $\mu\text{mol elétrons} / \mu\text{mol fótons}$ ) e  $E_k$  ( $\mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) para os cultivos de *Aphanocapsa holsatica* (CCIBt 3053) nos tratamentos utilizando luz de LED branco, vermelho, azul e verde.*

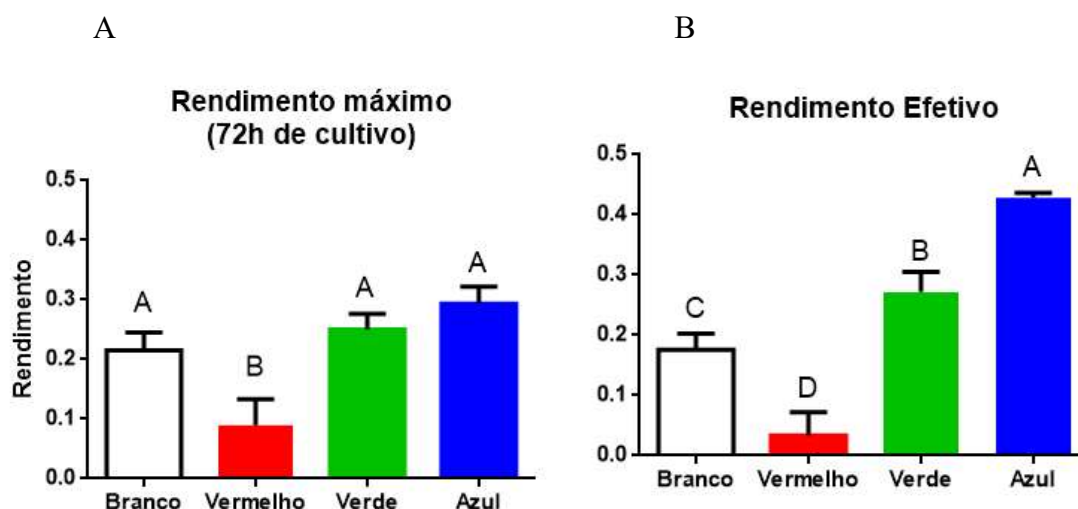
Tratamentos	ETR máxima	Alfa	$E_k$
Branco	88,8 ± 8,9	0,28 ± 0,04	309,5 ± 14,1
Vermelho	27,2 ± 10,2	0,14 ± 0,05	187,93 ± 1,6
Azul	120,0 ± 4,1	0,43 ± 0,02	273,8 ± 6,6
Verde	95,8 ± 20,8	0,37 ± 0,05	258,2 ± 26,5

O valor da ETR<sub>max</sub> mensura o limite de energia que o fotossistema suporta antes de ocorrer a inibição da fotossíntese, e o  $E_k$  é a irradiação mínima saturante antes de ocorrer a fotoinibição (RALPH; GADEMANN, 2005). Os valores dos parâmetros alfa,  $E_k$  e ETR<sub>max</sub> foram diferentes em cada tratamento, como observamos na Tabela 4. Obtivemos um aumento de 4 vezes na ETR<sub>max</sub> quando a luz de cultivo foi a azul. Os maiores valores de ETR<sub>max</sub> foram nos cultivos azul e verde e isto pode estar relacionado ao aumento na produção de proteínas observado. Assim também o cultivo irradiado sob luz vermelha obteve a menor ETR<sub>max</sub> e menor concentração de proteínas por biomassa seca.

A luz branca necessita de maiores níveis de irradiação para causar fotoinibição na *Aphanocapsa holsatica* (CCIBt 3053), assim como nos comprimentos de onda de maior nível energético como a luz azul. A luz azul mostrou-se mais fácil de ser capturada pela *A. holsatica* (CCIBt 3053), uma vez que obteve o maior valor de alfa dentre os tratamentos.

Park e Dinh (2019) analisaram a influência das luzes azul, verde e vermelha em *Arthrospira maxima* e a  $ETR_{max}$  seguiu a ordem crescente: vermelho, branco, verde e azul, assim como observado em *A. holsatica* (CCIBt 3053; Tabela 3). A cianobactéria *Cyanobium sp.*, analisada utilizando suplementação com lâmpadas a vapor, não obteve variação em parâmetros fotossintéticos, no entanto registrou mudanças na composição bioquímica (pigmentos, lipídios, carboidratos, fenóis, entre outras moléculas), exceto concentração de proteínas totais (PAGELS et al., 2020).

**Figura 10.** (A) Rendimento quântico máximo e (B) Rendimento quântico efetivo obtidos em 72 h de cultivo da *Aphanocapsa holsatica* (CCIBt 3053) nos diferentes tratamentos. Letras destacam a diferença estatística dentre os tratamentos e as cores dos gráficos de barras representam as cores de luz de LED às quais as células foram expostas. As barras de erro indicam o desvio padrão ( $n = 3$ ).



Os rendimentos quânticos máximo e efetivo foram afetados pela cor do LED do cultivo como observado na Figura 10. Esses parâmetros permitem mensurar a eficiência do processo de fotossíntese, quando adaptado ao escuro (rendimento quântico fotossintético máximo) e adaptado à luz de cultivo (rendimento quântico fotossintético efetivo). A comparação de rendimento entre espécies não é adequada, no entanto, quando analisamos uma mesma cepa podemos estabelecer o parâmetro de que quanto

maior o rendimento fotossintético melhor a saúde do indivíduo (SCHUURMANS et al., 2015).

A cor vermelha causou estresse na *A. holsatica* (CCIBt 3053), resultando em menores rendimentos quânticos máximo e efetivo em relação aos outros tratamentos ( $p < 0,05$ ), como mostra a Figura 10. Para os outros tratamentos, o rendimento quântico máximo não foi afetado. Na figura 10B temos o rendimento quântico efetivo, sendo maior valor obtido no tratamento com luz azul, 0,42 ( $p < 0,05$ ).

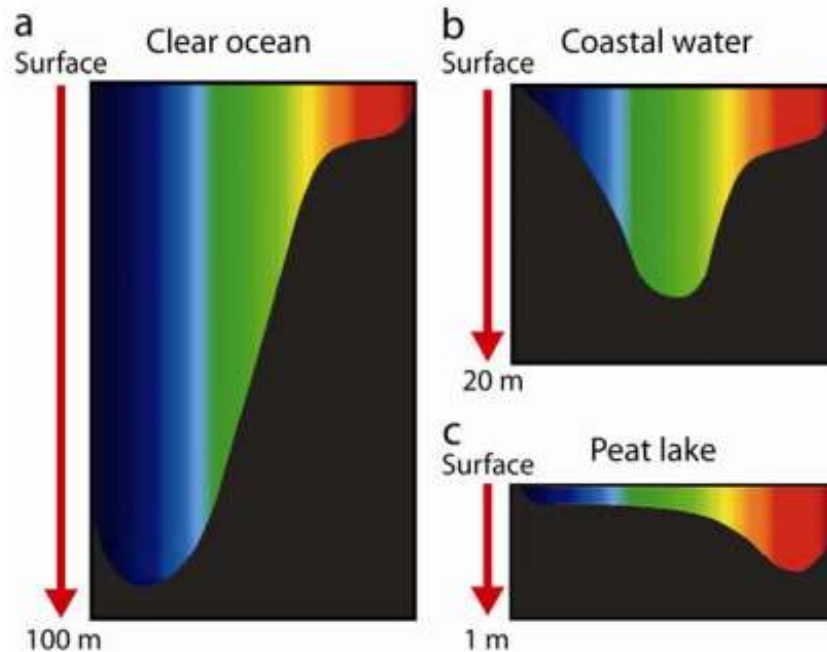
A fluorescência identificada na análise do rendimento efetivo para a luz azul foi superior ao valor identificado no rendimento quântico máximo. Mostrando que a luz utilizada para o cultivo foi mais eficiente para a fotossíntese do que a luz fotossinteticamente ativa (PAR) que é utilizada pelo equipamento, que não é monocromática. Utilizando os dados de rendimento efetivo como base de análise podemos mensurar a diferença entre os rendimentos dos tratamentos, uma vez que analisamos mediante a comprimento e intensidade semelhante a das luzes utilizadas no cultivo.

Os maiores rendimentos efetivos foram obtidos utilizando a luz verde e azul no cultivo e, foram nessas cores também que identificamos maiores razões proteína/carboidrato (Tabela 3), reforçando que estas cores não causaram estresse durante o cultivo de *A. holsatica* (CCIBt 3053), essas razões estão expostas na Tabela 3. Park e Dinh (2019) também obtiveram maiores rendimentos quântico efetivos utilizando as luzes verde e azul no cultivo da cianobactéria *Arthrospira máxima*, no entanto, as biomoléculas não foram analisadas.

O fato do fotossistema absorver o fóton não significa que a movimentação de elétrons será em favor da geração de moléculas energéticas, podendo ser encaminhado para outras reações ou para proteínas que compõem o processo de transporte de elétron (SCHUURMANS, et. al. 2015). No entanto, *A. holsatica* (CCIBt 3053) mostrou indicativos de que utilizou a energia absorvida para a produção de biomoléculas, em destaque as proteínas. A literatura mostra que a luz azul influencia mais o fotossistema I ao invés do fotossistema II, o que causa uma diminuição na síntese de ATP e aumento de NADPH (LUIMSTRA et al., 2018; TOYOSHIMA; TOYA; SHIMIZU, 2020).



**Figura 11.** As cores de luz debaixo da água (a) marinha, (b) continental com turbidez intermediária e (c) lagos extremamente turvos. O aumento da turbidez desloca o espectro em direção a luz vermelha. Fonte: STOMP, MAAYKE. (2008). *Colourful Coexistence: A New Solution to the Plankton Paradox.*



A espécie *Aphanocapsa holsatica* é comum em águas continentais em profundidade de aproximadamente 2 metros. Nesses ambientes aquáticos a penetração da luz na água é alterada pelas partículas e sais existentes no meio, como observamos na Figura 11. Quando temos um corpo d'água pobre em compostos orgânicos a luz consegue atingir profundidades maiores e com predominância da cor azul, comum em ambientes marinhos. Com o aumento de compostos orgânicos a cor azul passa a ser absorvida pela água e assim a cor que consegue alcançar o interior passa para verde, comum em águas continentais, e vermelhos, comum em corpos d'água em processo de eutrofização.

*Aphanocapsa holsatica* (CCIBt 3053) não demonstrou capacidade de modular os pigmentos frente as qualidades e intensidades de luz utilizadas neste estudo, assim supomos que manteve as suas características de adaptação do nicho onde foi coletada. Relacionando a forma de decomposição de luz dentro de águas continentais, sugerimos que a cepa está adaptada a águas pobres em compostos orgânicos, uma vez que mostrou melhores indicadores de saúde quando expostas às cores de luz azul e verde.

Também identificamos que a *Aphanocapsa holsatica* (CCIBt 3053) é uma potencial fonte de proteínas e carboidratos, no entanto mais testes não necessários quanto a segurança alimentar e assim direcionar para os seus produtos. Sugerimos que mais testes possam ser feitos no intuito de identificar os óleos produzidos pela *A. holsatica* (CCIBt 3053), assim como a medição quantitativa da biofixação de CO<sub>2</sub>.

## 6. Conclusão

A *Aphanocapsa holsatica* (CCIBt 3053) demonstrou potencial como fonte proteica e de óleos totais. Foi possível identificar que as luzes de LED branca, vermelha, azul e verde causaram alteração nas biomoléculas e pigmentos da *A. holsatica* (CCIBt 3053). As culturas expostas às luzes azul e verde obtiveram aumento de proteínas e maiores determinações de rendimento de fotossíntese. Os cultivos expostos a luz azul atingiram maiores taxas de transferência de elétrons (ETR), melhor eficiência de absorção de luz, melhor rendimento efetivo e a maior razão proteínas/carboidratos, evidenciando que a luz azul favoreceu o processo fotossintético de *A. holsatica*.

Utilizando luz de LED verde triplicamos a concentração de proteínas, aumentamos os rendimentos fotossintéticos, sem prejudicar a concentração de carotenoides e clorofila a. Baseando-nos nas informações de habitat da espécie *A. holsatica* sugerimos que condições de cultivo sejam semelhantes a fim de proporcionem melhores taxas de fotossíntese e concentração de proteínas.

A luz vermelha alterou o rendimento fotossintético, ETR e razão proteínas/carboidratos, resultando em valores mais baixos que os demais tratamentos, indicando possível estado de estresse. Não houve alteração na proporção de carotenoides ou taxa de crescimento biomassa d<sup>-1</sup> dentre os tratamentos. Não foi possível quantificar ficocianina na *A. holsatica* (CCIBt 3053), embora pelo espectro de absorvância seja possível identificar um pico baixo e característico desse pigmento.

Destacamos, que apesar da luz branca ser a principal cor para a cultivo e manutenção de cianobactérias e microalgas, nem sempre a luz branca é a melhor luz para manter a saúde fisiológica da microalga. Além disso, ressaltamos que as características do nicho onde a alga foi coletada devem ser relevantes para a análise completa do organismo e por vezes pode ser a melhor condição para um metabolismo saudável.

## 7. Bibliografia

ALBALASMEH, A. A.; BERHE, A. A.; GHEZZEHEI, T. A. A new method for rapid determination of carbohydrate and total carbon concentrations using UV spectrophotometry. **Carbohydrate Polymers**, [s. l.], v. 97, n. 2, p. 253–261, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.04.072>>

ANDERSEN, R. A.; LEE, Y.-K.; CHEN, W.; SHEN, H.; HAN, D.; LI, Y.; JONES, H. D. T.; TIMLIN, J. A.; HU, Q.; MASOJÍDEK, J.; TORZILLO, G.; KOBLÍZEK, M. **Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology**. Second ed. ed. New Delhi, India: John Wiley & Sons, Ltd, 2013.

BARNETT, J. Z.; FOY, J.; MALONE, R.; RUSCH, K. A.; GUTIERREZ-WING, M. T. Impact of light quality on a native Louisiana *Chlorella vulgaris*/Leptolyngbya sp. co-culture. **Engineering in Life Sciences**, [s. l.], v. 17, n. 6, p. 678–685, 2017.

BARSANTI, L.; GUALTIERI, P. **ALGAE ANATOMY, BIOCHEMISTRY, AND BIOTECHNOLOGY**. 2° ed. [s.l.] : CRC Press, 2014.

BELLOU, S.; BAESHEN, M. N.; ELAZZAZY, A. M.; AGGELI, D.; SAYEGH, F.; AGGELIS, G. Microalgal lipids biochemistry and biotechnological perspectives. **Biotechnology Advances**, [s. l.], v. 32, n. 8, p. 1476–1493, 2014.

BENEDETTI, M.; VECCHI, V.; BARERA, S.; DALL'OSTO, L. Biomass from microalgae: The potential of domestication towards sustainable biofactories. **Microbial Cell Factories**, [s. l.], v. 17, n. 1, p. 1–18, 2018.

BIANCHINI, R.; SILVANA, D.; MAURÍCIO, O.; MATOS, S.; ROSEANE, D. C. Microalgae , products and applications Microalgae , products and applications. [s. l.], n. December, 2006.

BRASIL, B. S. A. F.; SILVA, F. C. P.; SIQUEIRA, F. G. Microalgae biorefineries: The Brazilian scenario in perspective. **New Biotechnology**, [s. l.], v. 39, p. 90–98, 2017.

BUGGE, M. M.; HANSEN, T.; KLITKOU, A. What Is the Bioeconomy ? A Review of the Literature. **Sustainability**, [s. l.], v. 8, n. 691, p. 1–22, 2016.

CARRINGTON, D. Climate crisis: do we need millions of machines sucking CO2 from the air? | Carbon capture and storage (CCS) | The Guardian. 2021. Disponível em: <<https://www.theguardian.com/environment/2021/sep/24/climate-crisis-machines-sucking-co2-from-the-air>>. Acesso em: 3 dez. 2021.

EL-SHEEKH, M.; ABOU-EL-SOUOD, G.; EL ASRAG, H. Biodegradation of some dyes by the green Alga *Chlorella vulgaris* and the Cyanobacterium *Aphanocapsa elachista*. **Egyptian Journal of Botany**, [s. l.], v. 0, n. 0, p. 0–0, 2018.

ENOMOTO, G.; IKEUCHI, M. Blue-/Green-Light-Responsive Cyanobacteriochromes Are Cell Shade Sensors in Red-Light Replete Niches. **iScience**, [s. l.], v. 23, n. 3, p. 100936, 2020.

GAN, F.; BRYANT, D. A. Adaptive and acclimative responses of cyanobacteria to far-red light. **Environmental Microbiology**, [s. l.], v. 17, n. 10, p. 3450–3465, 2015.

GANF, G. G.; STONE, S. J. L.; OLIVER, R. L. Use of protein to carbohydrate ratios to analyse for nutrient deficiency in phytoplankton. **Marine and Freshwater Research**, [s. l.], v. 37, n. 2, p. 183–197, 1986.

GOVINDJEE; DEMMIG-ADAMS, B.; GARAB, G.; ADAMS III, W. W. **Non-Photochemical Quenching and Energy Dissipation in Plants, Algae and Cyanobacteria**. [s.l: s.n.]. v. 40

GRIFFITHS, M.; HARRISON, S. T. L.; SMIT, M.; MAHARAJH, D. Major Commercial Products from Micro- and Macroalgae. In: **Algae Biotechnology, Green Energy and Technology**. [s.l: s.n.]. p. 269–300.

GROSSMANN, L.; HINRICHS, J.; WEISS, J. Cultivation and downstream processing of microalgae and cyanobacteria to generate protein- based technofunctional food ingredients. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, [s. l.], v. 0, n. 0, p. 1–29, 2019.

GUTU, A.; KEHOE, D. M. Emerging perspectives on the mechanisms, regulation, and distribution of light color acclimation in cyanobacteria. **Molecular Plant**, [s. l.], v. 5, n. 1, p. 1–13, 2012.

HEINZ WALZ GMBH. **Phytoplankton Analyzer Phyto-PAM-II and PhytoWin-3 Software**. [s.l: s.n.].

KAVAMURA, V. N.; ESPOSITO, E. Biotechnological strategies applied to the decontamination of soils polluted with heavy metals. **Biotechnology Advances**, [s. l.], v. 28, n. 1, p. 61–69, 2010.

KILHAM, S. S.; KREGER, D. a.; GOULDEN, C. E.; LYNN, S. G. Effects of algal food quality on fecundity and population growth rates of *Daphnia*. **Freshwater Biology**, [s. l.], v. 38, p. 639–647, 1997.

KUMAR, K. S.; DAHMS, H.; WON, E.; LEE, J.; SHIN, K. Ecotoxicology and Environmental Safety Microalgae – A promising tool for heavy metal remediation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [s. l.], v. 113, p. 329–352, 2015.

LEVINE, I. A.; FLEURENCE, J. **Microalgae in health and disease prevention**. [s.l.] : Elsevier Inc., 2018.

LIU, Z.; WANG, K.; CHEN, Y.; TAN, T.; NIELSEN, J. Third-generation biorefineries as the means to produce fuels and chemicals from CO<sub>2</sub>. **Nature Catalysis**, [s. l.], v. 3, n. March, p. 274–288, 2020.

LUIJSTRA, V. M.; SCHUURMANS, J. M.; VERSCHOOR, A. M.; HELLINGWERF, K. J.; HUISMAN, J.; MATTHIJS, H. C. P. Blue light reduces photosynthetic efficiency of cyanobacteria through an imbalance between photosystems I and II. **Photosynthesis Research**, [s. l.], v. 138, n. 2, p. 177–189, 2018.

MARKOU, G. Effect of various colors of light-emitting diodes (LEDs) on the biomass composition of *Arthrospira platensis* cultivated in semi-continuous mode. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, [s. l.], v. 172, n. 5, p. 2758–2768, 2014.

MASOJÍDEK, J.; TORZILLO, G.; KOBLÍZEK, M. Photosynthesis in Microalgae. **Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology: Second Edition**, [s. l.], n. April, p. 21–36, 2013.

MICHALAK, I.; CHOJNACKA, K. Introduction: Toward Algae-Based Products. In: *Algae Biomass: Characteristics and Applications*. Murdoch, WA: Springer International Publishing, 2018. p. 20–28.

MOORE, K. A.; ALTUS, S.; TAY, J. W.; MEEHL, J. B.; JOHNSON, E. B.; BORTZ, D. M.; CAMERON, J. C. Mechanical regulation of photosynthesis in cyanobacteria. **Nature Microbiology**, [s. l.], v. 5, n. 5, p. 757–767, 2020.

PAGELS, F.; BONOMI-BARUFI, J.; VEGA, J.; ABDALA-DÍAZ, R.; VASCONCELOS, V.; GUEDES, A. C.; FIGUEROA, F. L. Light quality triggers biochemical modulation of *Cyanobium* sp.—photobiology as tool for biotechnological optimization. **Journal of Applied Phycology**, [s. l.], v. 32, n. 5, p. 2851–2861, 2020.

PAGELS, F.; VASCONCELOS, V.; GUEDES, A. C. Carotenoids from cyanobacteria: Biotechnological potential and optimization strategies. **Biomolecules**, [s. l.], v. 11, n. 5, 2021.

PARK, J.; DINH, T. B. Contrasting effects of monochromatic LED lighting on growth, pigments and photosynthesis in the commercially important cyanobacterium *Arthrospira maxima*. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 291, n. May, 2019.

PARRISH, C. C. Determination of Total Lipid, Lipid Classes, and Fatty Acids in Aquatic Samples. **Lipids in Freshwater Ecosystems**, [s. l.], p. 4–20, 1999.

PATEL, V. K.; SUNDARAM, S.; KUMAR, A.; ALOK, P. Characterization of Seven Species of Cyanobacteria for High-Quality Biomass Production. **Arabian Journal for Science and Engineering**, [s. l.], v. 43, n. 1, p. 109–121, 2018.

PELROY, R. A.; BASSHAM, J. A. Efficiency of energy conversion by aerobic glucose metabolism in *Aphanocapsa* 6714. **Journal of Bacteriology**, [s. l.], v. 115, n. 3, p. 937–942, 1973.

PELROY, R. A.; KIRK, M. R.; BASSHAM, J. A. Photosystem II regulation of macromolecule synthesis in the blue green alga *Aphanocapsa* 6714. **Journal of Bacteriology**, [s. l.], v. 128, n. 2, p. 623–632, 1976.

PLUMER, B.; FLAVELLE, C. **Empresas querem extrair gases do efeito estufa do ar. É uma aposta arriscada.** 2021.

PRASANNA, R.; SOOD, A.; JAISWAL, P.; NAYAK, S.; GUPTA, V.; CHAUDHARY, V.; JOSHI, M.; NATARAJAN, C. Rediscovering cyanobacteria as valuable sources of bioactive compounds (Review). **Applied Biochemistry and Microbiology**, [s. l.], v. 46, n. 2, p. 119–134, 2010.

PRASANNA, R.; SOOD, A.; SURESH, A.; NAYAK, S.; KAUSHIK, B. D. Potentials and applications of algal pigments in biology and industry. **Acta Botanica Hungarica**, [s. l.], v. 49, n. 1–2, p. 131–156, 2007.

RAHMAN, M. A.; AZIZ, M. A.; AL-KHULAI, R. A.; SAKIB, N.; ISLAM, M. Biodiesel production from microalgae *Spirulina maxima* by two step process: Optimization of process variable. **Journal of Radiation Research and Applied Sciences**, [s. l.], v. 10, n. 2, p. 140–147, 2017.

RAJESH, J.; WRITING, P.; KAVITHA, S.; GUNASEKARAN, M. Microalgae based biorefinery promoting circular bioeconomy- Techno economic and life-cycle analysis Corresponding Author : **Bioresource Technology**, [s. l.], p. 122822, 2020.

RAJNEESH; SINGH, S. P.; PATHAK, J.; SINHA, R. P. Cyanobacterial factories for the production of green energy and value-added products: An integrated approach for economic viability. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [s. l.], v. 69, n. February 2016, p. 578–595, 2017.

RAJVANSHI, M.; SAGARAM, U. S.; SUBHASH, G. V.; KRISHNA KUMAR, G. R.; KUMAR, C.; GOVINDACHARY, S.; DASGUPTA, S. Biomolecules from Microalgae for Commercial Applications. In: **Sustainable Downstream Processing of Microalgae for Industrial Application**. Boca Raton: Taylor & Francis, a CRC title, part of the Taylor & Francis imprint, a member of the Taylor & Francis Group, the academic division of T&F



Informa, plc, 2020.: CRC Press, 2019. p. 3–38.

RALPH, P. J.; GADEMANN, R. Rapid light curves: A powerful tool to assess photosynthetic activity. **Aquatic Botany**, [s. l.], v. 82, n. 3, p. 222–237, 2005.

RIPPKA, R.; DERUELLES, J.; WATERBURY, J. B.; HERDMAN, M.; STANIER, R. Y. Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. **Microbiology**, [s. l.], v. 111, n. 1, p. 1–61, 1979.

RONGA, D.; BIAZZI, E.; PARATI, K.; CARMINATI, D.; CARMINATI, E.; TAVA, A. Microalgal biostimulants and biofertilisers in crop productions. **Agronomy**, [s. l.], v. 9, n. 4, p. 1–22, 2019.

SANT'ANNA, C. L.; TUCCI, A.; AZEVEDO, M. T. P.; MELCHER, S. S.; WERNER, V. R.; MALONE, C. F. S.; ROSSINI, E. F.; JACINAVICIUS, F. R.; HENTSCHKE, G. S.; OSTI, J. A. S.; SANTOS, K. R. S.; W.A., G.-J.; ROSAL, C.; ADAME, G. **Atlas de cianobactérias e microalgas de águas continentais brasileiras**. [s.l.] : Publicação eletrônica, Instituto de Botânica, Núcleo de Pesquisa em Ficologia, 2012.

SCHIPPER, K.; AL MURAIKHI, M.; ALGHASAL, G. S. H. S.; SAADAoui, I.; BOUNNIT, T.; RASHEED, R.; DALGAMOUNI, T.; AL JABRI, H. M. S. J.; WIJFFELS, R. H.; BARBOSA, M. J. Potential of novel desert microalgae and cyanobacteria for commercial applications and CO<sub>2</sub> sequestration. **Journal of Applied Phycology**, [s. l.], v. 31, n. 4, p. 2231–2243, 2019.

SCHIPPER, K.; FORTUNATI, F.; OOSTLANDER, P. C.; AL MURAIKHI, M.; AL JABRI, H. M. S. J.; WIJFFELS, R. H.; BARBOSA, M. J. Production of phycocyanin by *Leptolyngbya* sp. in desert environments. **Algal Research**, [s. l.], v. 47, n. September 2019, p. 101875, 2020.

SCHUURMANS, R. M.; VAN ALPHEN, P.; SCHUURMANS, J. M.; MATTHIJS, H. C. P.; HELLINGWERF, K. J. Comparison of the photosynthetic yield of cyanobacteria and green algae: Different methods give different answers. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 10, n. 9, p. 1–17, 2015.

SETTA, B. R. S.; BARBARINO, E.; PASSOS, F. B.; LOURENÇO, S. O. An assessment of the usefulness of the cyanobacterium *Synechococcus subsalsus* as a source of biomass for biofuel production como fuente de biomasa para la producción de biocombustibles. [s. l.], v. 42, n. 2, p. 364–375, 2014.

SLOCOMBE, S. P.; ROSS, M.; THOMAS, N.; MCNEILL, S.; STANLEY, M. S. A rapid and general method for measurement of protein in micro-algal biomass. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 129, p. 51–57, 2013.

SUGGETT, D. J.; PRÁŠIL, O.; BOROWITZKA, M. A. **Chlorophyll a Fluorescence in Aquatic Sciences: Methods and Applications**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2010.

TAN, X.; ZHANG, D.; DUAN, Z.; PARAJULI, K.; HU, J. Effects of light color on interspecific competition between *Microcystis aeruginosa* and *Chlorella pyrenoidosa* in batch experiment. **Environmental Science and Pollution Research**, [s. l.], v. 27, n. 1, p. 344–352, 2020.

TOYOSHIMA, M.; TOYA, Y.; SHIMIZU, H. Flux balance analysis of cyanobacteria reveals selective use of photosynthetic electron transport components under different spectral light conditions. **Photosynthesis Research**, [s. l.], v. 143, n. 1, p. 31–43, 2020.

UPENDAR, G.; SINGH, S.; CHAKRABARTY, J.; CHANDRA GHANTA, K.; DUTTA, S.; DUTTA, A. Sequestration of carbon dioxide and production of biomolecules using cyanobacteria. **Journal of Environmental Management**, [s. l.], v. 218, p. 234–244, 2018.

VAISHAMPAYAN, A.; SINHA, R. P.; HADER, D. P.; DEY, T.; GUPTA, A. K.; BHAN, U.; RAO, A. L. The Botanical Review: Cyanobacteria Biofertilizers in Rice agriculture. **The Botanical Review**, [s. l.], v. 67, n. 4, p. 453–516, 2001.

VENKATA MOHAN, S.; MODESTRA, J. A.; AMULYA, K.; BUTTI, S. K.; VELVIZHI, G. A Circular Bioeconomy with Biobased Products from CO<sub>2</sub> Sequestration. **Trends in Biotechnology**, [s. l.], v. 34, n. 6, p. 506–519, 2016.

XU, L.; PAN, W.; YANG, G.; TANG, X.; MARTIN, R. M.; LIU, G.; ZHONG, C. Impact of light quality on freshwater phytoplankton community in outdoor mesocosms. [s. l.],

2021.

YÉPRÉMIAN, C.; CATHERINE, A.; BERNARD, C.; CONGESTRI, R.; ELERSEK, T.; PILKAITYTE, R. Phycoecyanin Extraction and Determination. **Handbook of Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxin Analysis**, [s. l.], p. 335–338, 2017.

ZANON, M. **As empresas e a neutralização das emissões - CEBDS**. 2020.

ZHANG, Z. C.; LI, Z. K.; YIN, Y. C.; LI, Y.; JIA, Y.; CHEN, M.; QIU, B. S. Widespread occurrence and unexpected diversity of red-shifted chlorophyll producing cyanobacteria in humid subtropical forest ecosystems. **Environmental Microbiology**, [s. l.], v. 21, n. 4, p. 1497–1510, 2019.