



## TITLE: ISOLAMENTO E CRESCIMENTO DE MICROALGA AMAZÔNICA: ALIADAS NA REDUÇÃO DE CO<sub>2</sub> E CONTROLE DE ARBOVIROSES

**Research team:** Maria Geovanna Moura da Silva<sup>1</sup>, Geovana Pereira Silva<sup>1</sup>, Gabriele Campos Borges<sup>1</sup>, Ághata Maia Farias<sup>1</sup>, Itamara Rabelo<sup>2</sup>, José Ribamar Soares Pereira<sup>2</sup>, Luane Gabrielle Ramalho Queiroz<sup>3</sup>, Lucas Eduardo Marinho Mendes<sup>3</sup>, Igor Roberlando Alves dos Santos<sup>3</sup>, Wildysson Borel Barros<sup>3</sup>, Admis Abreu Correa<sup>4</sup>, Aline Bessa Veloso<sup>5</sup>, Adilson Matheus Borges Machado<sup>6</sup>, Joel Artur Rodrigues Dias<sup>6</sup>, Mikele Candida Sousa de Sant'Anna<sup>6</sup>, Hilton Costa Louzeiro<sup>6</sup> and Yllana Ferreira Marinho<sup>6</sup>

- 1 – Estudantes do Ensino Básico, Instituto Educacional de Pinheiro (IEP), Maranhão, Brasil.;
- 2 – Professores, Instituto Educacional de Pinheiro (IEP), Maranhão, Brasil.;
- 3 – Estudantes de graduação em Engenharia de pesca, Universidade Federal do Maranhão (UFMA), Maranhão, Brasil.;
- 4 – Pesquisador técnico, Universidade Federal do Maranhão (UFMA), Maranhão, Brasil.;
- 5 – Coordenadora de Desenvolvimento de Competências e Tecnologia, Agência Espacial Brasileira (AEB), Brasil.;
- 6 – Professores, Universidade Federal do Maranhão (UFMA), Maranhão, Brasil.;

### ABSTRACT

A crescente preocupação com as mudanças climáticas globais impulsionou a busca por soluções sustentáveis para reduzir as emissões de CO<sub>2</sub> e combater doenças transmitidas por vetores, como as arboviroses. Neste contexto, este estudo concentrou-se no isolamento e crescimento de uma microalga amazônica, visando explorar seu potencial na redução de CO<sub>2</sub> e controle de arboviroses. Além disso, a pesquisa investigou sua eficácia como possível larvicida e remediadora de gases do efeito estufa. Utilizando dados do protocolo Mosquito Habitat Mapper e do protocolo de nuvens do programa GLOBE no município de Pinheiro (Maranhão, Brasil), foram identificados padrões climáticos favoráveis à proliferação do mosquito, prevenindo períodos de maior risco de incidência de arboviroses. O estudo iniciou-se com a seleção e caracterização taxonômica da microalga, seguida pela avaliação de seu crescimento e produção de biomassa em condições de cultivo. Observou-se que a *Chlorella vulgaris* apresentou um rápido tempo de duplicação de menos de um dia e uma taxa de crescimento significativa de 1,05 Div.dia<sup>-1</sup>, alcançando uma alta densidade celular máxima em meio BBM. A análise da

biomassa revelou valores promissores para concentrações de proteína bruta, potencial antioxidante e ésteres metílicos de ácidos graxos, sugerindo um potencial larvicida natural contra mosquitos, incluindo o *Aedes aegypti*, vetor de arboviroses como dengue, chikungunya e Zika. As observações climáticas realizadas no Maranhão, entre abril de 2023 e março de 2024, mostraram uma associação entre o aumento de casos de arboviroses e o período chuvoso, destacando a importância do Mosquito Habitat Mapper na prevenção de futuras epidemias. Os resultados indicam que as microalgas, como a *Chlorella vulgaris*, possuem um potencial significativo como aliadas na redução de CO<sub>2</sub> e controle de arboviroses, oferecendo uma abordagem sustentável e eficaz para enfrentar desafios ambientais e de saúde pública. Este estudo destaca a relevância de explorar novas estratégias baseadas na biodiversidade amazônica para lidar com problemas globais emergentes, como as mudanças climáticas e as doenças transmitidas por vetores.

**Keywords:** microalgae biomass; cultivation; natural larvicides; greenhouse gas mitigation

## RESEARCH QUESTIONS

1. Qual é o potencial de crescimento e produção de biomassa de uma nova cepa de microalga isolada da Amazônia Legal em condições de cultivo?
2. Essa microalga possui propriedades larvicidas contra mosquitos, especialmente o *Aedes aegypti*, vetor de arboviroses como dengue, chikungunya e Zika?
3. A microalga tem capacidade de mitigar os gases do efeito estufa, especialmente o CO<sub>2</sub>, através de sua fotossíntese e incorporação de carbono em biomassa?
4. Quais são os padrões climáticos favoráveis à proliferação do mosquito *Aedes aegypti* no município de Pinheiro, Maranhão, Brasil, e como esses padrões podem ser utilizados para prever períodos de maior risco de incidência de arboviroses?

## INTRODUCTION

A definição da ONU sobre mudança climática global abrange a alteração da temperatura e dos padrões climáticos em longo prazo, independentemente de sua origem (UNITED NATIONS, 2022). Desde o século XIX, a temperatura média global da superfície aumentou em 1,07 °C, com uma média de 1,59 °C em terra, devido principalmente ao aumento das emissões de gases do efeito estufa resultantes das atividades humanas, como queima de combustíveis fósseis, desmatamento e mudanças no uso da terra e da água (FILHO *et al.*, 2019;

INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE, 2023).

As mudanças climáticas afetam a saúde humana (MORA *et al.*, 2022), com o aumento da queima de combustíveis fósseis resultando na destruição da camada de ozônio e exposição à radiação ultravioleta, associada a mais casos de câncer de pele, cataratas e problemas de visão (SHI, 2018). Eventos climáticos extremos, como tornados, inundações ou ondas de frio, podem prejudicar infraestruturas locais, afetando o saneamento e o acesso à água potável, levando a doenças transmissíveis (FILHO *et al.*, 2019).

As inundações repentinas podem contaminar o abastecimento de água, causando surtos de doenças transmitidas pela água, como cólera, diarreia ou hepatite A (MORA *et al.*, 2022). Eventos extremos de calor e inundações também facilitam a propagação de doenças transmitidas por vetores artrópodes, como mosquitos, moscas e pulgas (LAMY *et al.*, 2023).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), as doenças transmitidas por vetores são responsáveis por cerca de 700.000 mortes por ano, representando uma proporção significativa da carga global de doenças (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2014). Os mosquitos são eficientes vetores de doenças, e embora algumas doenças, como malária (*Anopheles* sp.) e filariose (*Culex* sp.), estejam sob controle ou em declínio, outras, como dengue, chikungunya e Zika, estão em ascensão (PAIXÃO; TEIXEIRA; RODRIGUES, 2018). No Brasil, a dengue é um problema crescente, especialmente em áreas antes não afetadas, como regiões mais ao sul, de maior altitude e remotas da Amazônia, devido a mudanças ambientais e urbanização (LESSA *et al.*, 2023; LOWE *et al.*, 2021).

No estado do Maranhão (MA), pertencente à Amazônia Legal do Brasil, a dengue é endêmica, com surtos frequentes e alta incidência em áreas específicas (COSTA *et al.*, 2018). Em 2023, o boletim epidemiológico de arboviroses do Ministério da Saúde destacou um aumento nos casos de dengue, chikungunya e Zika (BRASIL; SAÚDE; AMBIENTE, 2023), especialmente no município de Pinheiro, onde casos confirmados dessas doenças apontam para a presença do mosquito *Aedes aegypti*, além de condições socioeconômicas precárias e falta de saneamento básico, evidenciando a necessidade de intensificar ações de prevenção e controle (SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE DO MARANHÃO, 2022).

O aumento da resistência química em populações de mosquitos tem gerado a necessidade urgente de métodos alternativos e produtos para erradicá-los (SILVÉRIO *et al.*, 2020). Nesse sentido, as microalgas, um grupo diverso de microrganismos fotossintéticos, surgem como uma alternativa promissora e sustentável para o controle de mosquitos, além de contribuir para a descarbonização mitigando as mudanças climáticas (CAVALCANTI *et al.*, 2021; MUTANDA *et al.*, 2020). Com capacidade de crescimento via fotossíntese, as microalgas

capturam 50% do peso seco em CO<sub>2</sub> (LI *et al.*, 2023). As microalgas canalizam esse carbono para a produção de biomassa rica em compostos ativos (carotenóides, glicoproteínas e ácidos graxos) com potencial larvicida contra mosquitos (CAVALCANTI *et al.*, 2021; SIGAMANI *et al.*, 2020).

Para explorar esse potencial, nosso estudo teve como objetivo isolar e caracterizar taxonomicamente uma nova cepa de microalga proveniente da Amazônia Legal, avaliando sua capacidade de crescimento e produção de biomassa em condições de cultivo. Além disso, pretendemos investigar seu potencial como possível larvicida e remediadora de gases do efeito estufa. Adicionalmente, utilizaremos dados do protocolo Mosquito Habitat Mapper sobre a presença de mosquitos e do protocolo de nuvens do programa GLOBE no município de Pinheiro (Maranhão, Brasil) para identificar padrões climáticos favoráveis à proliferação do mosquito e prever períodos de maior risco de incidência de arboviroses.

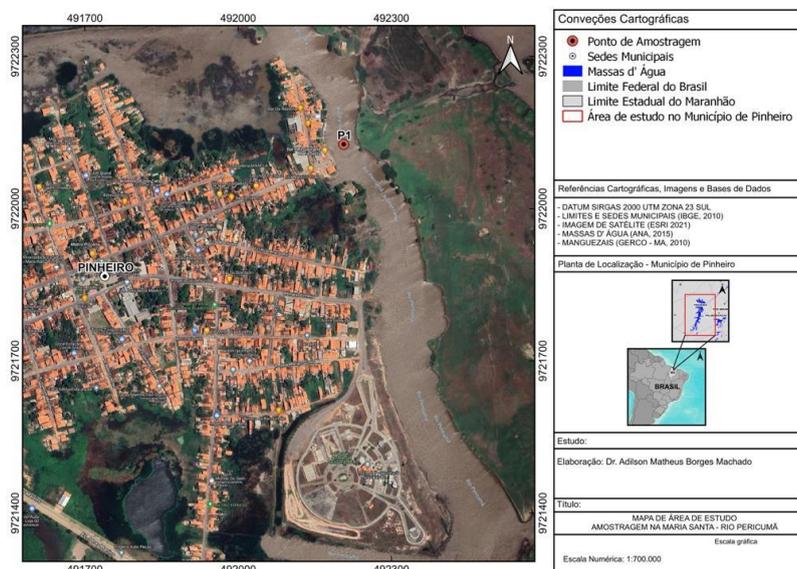
## **MATERIALS AND METHODS**

O projeto foi realizado em colaboração entre a Universidade Federal do Maranhão (UFMA) e o Instituto Educacional de Pinheiro (IEP), em Pinheiro, Maranhão, Brasil. Ele utiliza a plataforma GLOBE (Global Learning and Observations to Benefit the Environment) para explorar as mudanças climáticas e o impacto dos mosquitos na saúde na região de Pinheiro. Além disso, propõe ações para mitigar esses impactos, como o cultivo da microalga. A parceria entre o IEP e a UFMA facilita a implementação do programa, fornecendo recursos materiais e científicos para a escola e o conhecimento acadêmico dos pesquisadores e professores universitários para auxiliar no planejamento e desenvolvimento das atividades dos alunos e professores do ensino básico do IEP.

Durante as atividades do projeto e as visitas à escola IEP, todos os alunos do oitavo ano (aproximadamente 90) participaram, com apoio constante dos estudantes da UFMA. Alguns alunos não possuíam celulares devido à situação econômica de suas famílias, o que dificultava a realização das coletas. Para resolver esse problema, a equipe da UFMA dividiu os alunos em vários grupos e emprestou seus aparelhos. Também incentivamos os alunos que possuíam celulares a compartilharem com seus colegas, garantindo a participação de todos e fornecendo-lhes o conhecimento necessário sobre o aplicativo GLOBE. No entanto, a inscrição dos alunos do IEP neste projeto no International Virtual Science Symposium foi limitada aos que tinham celulares e podiam realizar coletas com mais frequência, após a autorização dos pais mediante assinatura do NASA Media Release for Parent and Minor.

## Coleta, identificação e isolamento da microalga

A microalga investigada neste estudo foi coletada no rio Pericumã, localizado no município de Pinheiro, na Baixada Maranhense, estado do Maranhão, pertencente à Amazônia Legal (Figura 1).



**Fig. 1.** Mapa do local de coleta no rio Pericumã, município de Pinheiro, localizado na Baixada Maranhense, estado do Maranhão.

As amostras de fitoplâncton foram obtidas com três arrastos horizontais de 3 minutos e 3 metros, usando uma rede de plâncton de 25  $\mu$ m de malha. Durante a coleta, pH, temperatura, condutividade e oxigênio dissolvido foram medidos com um multiparâmetro (Ak88 Akso) para replicar as condições ambientais no laboratório. As amostras foram acondicionadas em frascos plásticos estéreis e transportadas em caixas térmicas para o Laboratório de Biotecnologia de Microalgas da Amazônia Maranhense (L'ALGAM), do curso de Engenharia de pesca, UFMA – Campus Pinheiro, onde foram triadas e iniciadas as etapas de isolamento.

A espécie de microalga foi isolada usando diluições sucessivas, inoculação e purificação em meio sólido, seguindo os métodos de Andersen e Kawachi (ANDERSEN; KAWACHI, 2005) e de Singh et al. (SINGH *et al.*, 2015). Foi aplicada uma cultura de enriquecimento para estimular o crescimento do fitoplâncton. Após o enriquecimento, a microalga foi identificada com base na morfologia celular, utilizando bibliografia especializada (BICUDO; MENEZES, 2006). Alíquotas de 1 mL foram distribuídas em tubos de 9 mL contendo água autoclavada e meio Bold's Basal BBM (BOLD, 1949), com nutrientes ajustados em níveis mais baixos (1:20) para evitar estresse nas espécies. A

espécie foi isolada e purificada em meio sólido com ágar e antibióticos, transferida para culturas líquidas e mantida em meio BBM sob condições específicas: temperatura de  $23 \pm 1$  °C, pH 7, fotoperíodo integral, aeração constante e irradiância de  $60 \mu\text{mol f\u00f3tons/m}^2/\text{s}$  (l\u00e2mpadas LED).

### **Cultivo da microalga e avalia\u00e7\u00e3o do crescimento em laborat\u00f3rio**

A microalga foi cultivada em frascos Erlenmeyer com 2 L de meio de cultura Bold's Basal (BBM) (BOLD, 1949). O meio foi preparado com \u00e1gua doce esterilizada. As unidades experimentais foram inoculadas com uma densidade celular inicial de  $10 \times 10^4$  c\u00e9lulas.  $\text{mL}^{-1}$ , a uma temperatura de  $24 \pm 1$  °C, com aera\u00e7\u00e3o cont\u00ednua e irradi\u00e2ncia de  $60 \text{ f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ .

Amostras celulares foram coletadas a cada 24h para avaliar o crescimento, contadas com um microsc\u00f3pio \u00f3ptico (40x) e uma c\u00e2mara de Neubauer. A concentra\u00e7\u00e3o de biomassa e sua produtividade foram determinadas pela absorv\u00eancia da suspens\u00e3o celular a 680 nm, usando um espectrofot\u00f4metro (U.V vis. 190-1020), conforme descrito por Yadav et al. (YADAV *et al.*, 2023). Para determinar a densidade celular m\u00e1xima (DCM), tempo de duplica\u00e7\u00e3o ( $T_d$ ) e taxa espec\u00edfica de crescimento ( $\mu$ ), foram aplicadas equa\u00e7\u00f5es espec\u00edficas: Tempo de duplica\u00e7\u00e3o  $T_d = \frac{0,6931}{\mu}$ ; Taxa espec\u00edfica de crescimento  $\mu = \frac{\ln X_2 - \ln X_1}{t_2 - t_1}$

Onde:  $\mu$  = taxa de crescimento ( $\text{d}^{-1}$ );  $X_1$  = densidade celular inicial;  $X_2$  = densidade celular final;  $(T_2 - T_1)$  = intervalo de tempo em dias do in\u00edcio at\u00e9 o final do cultivo;  $\ln$  = logaritmo de  $X_2$  e  $X_1$ .

### **Composi\u00e7\u00e3o bioqu\u00edmica da biomassa da microalga**

Ap\u00f3s o cultivo, a microalga foi centrifugada e liofilizada para an\u00e1lises de prote\u00ednas, \u00e1cidos graxos e atividades antioxidantes. Para determinar as prote\u00ednas totais, 5 mg de amostras liofilizadas foram hidrolisados com NaOH 1N a 100 °C por 1 hora. Ap\u00f3s centrifuga\u00e7\u00e3o, o extrato alcalino foi transferido e misturado com solu\u00e7\u00f5es de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  2% e  $\text{CuSO}_4$  5% (LOWRY et al., 1951). Ap\u00f3s 10 minutos, o reativo de Folin foi adicionado e a leitura foi feita em 750 nm. Para o teor de \u00e9steres met\u00edlicos de \u00e1cidos graxos, a t\u00e9cnica de Bligh e Dyer (1959) foi usada, analisada por cromatografia gasosa (GC-FID). Para a atividade antioxidante, a biomassa foi dissolvida em etanol (10%), sonificada por 10 minutos em ultrassom, e, em seguida, centrifugada para obter o extrato sobrenadante. A an\u00e1lise da atividade antioxidante foi realizada utilizando a metodologia de DPPH.

## Uso do protocolo Mosquito Habitat Mapper e Clouds para identificar padrões climáticos favoráveis à proliferação de mosquito

Estudantes e professores da UFMA, em colaboração com docentes do IEP, organizaram oficinas e elaboraram protocolos para monitorar mosquitos e nuvens, com a participação dos alunos do IEP. Nas oficinas, foram ministradas palestras para explicar como baixar e utilizar o aplicativo GLOBE, diferenciar as larvas dos mosquitos dos gêneros *Culex*, *Anopheles* e *Aedes*, e desenvolver armadilhas com garrafa PET para auxiliar na coleta dos mosquitos (Figuras 2 - 7).





**Figuras 2-7.** Oficinas sobre como baixar e utilizar o aplicativo GLOBE, fazer armadilhas de mosquitos com garrafas PET e identificação utilizando lupas de larvas dos gêneros *Culex*, *Aedes* e *Anopheles*.

\* As imagens dos estudantes foram distorcidas para proteger os direitos de imagem daqueles cujos pais não assinaram o NASA Media Release for Parent and Minor.

No monitoramento de mosquitos, foram realizadas práticas no pátio da escola com os alunos do IEP, onde receberam orientações dos da UFMA para distinguir larvas de mosquitos, identificar criadouros e utilizar o aplicativo para inserir os dados coletados, além de espalhar as armadilhas realizadas na oficina pela escola. Posteriormente, receberam lupas para acoplar à câmera de seus celulares e utilizaram o Mosquito Habitat Mapper para coletar dados na escola, bem como aplicaram as armadilhas e coletaram dados em suas residências, registrando informações sobre os habitats dos mosquitos, como tipo, tamanho e presença de larvas. Os dados foram enviados por meio do aplicativo. No protocolo Nuvens do GLOBE Observer, os alunos do IEP observaram o céu e registraram informações sobre as nuvens, incluindo tipo e cobertura, utilizando o aplicativo (Figuras 8-10). Durante todo o projeto, os alunos contaram com apoio constante dos estudantes da UFMA.



**Figuras 8-10.** Os estudantes da UFMA aplicando o protocolo Clouds junto com os alunos do IEP.

## **RESULTS AND DISCUSSION**

### **Identificação e isolamento da microalga**

O presente estudo resultou na seleção e isolamento da microalga pertencente ao gênero *Chlorella vulgaris*, classificada no Filo Chlorophyta, Classe Trebouxiophyceae, Ordem Chlorellales e Família Chlorellaceae. Essa espécie, registrada e isolada durante a

pesquisa, também foi identificada em outras regiões, sendo amplamente comum em ambientes como reservatórios, rios, lagos e lagoas de água doce no Brasil (BICUDO; MENEZES, 2006). Esta espécie, caracterizada por células esféricas de 2–10  $\mu\text{m}$  de diâmetro, compartilha estrutura semelhante às plantas, com citoplasma contendo água, proteínas e minerais, além de organelas como mitocôndrias, núcleo, vacúolos, cloroplasto e complexo de Golgi (SAFI *et al.*, 2014). Durante o estresse de nitrogênio, glóbulos lipídicos se acumulam no citoplasma e no cloroplasto. A reprodução é assexuada, por autosporeação, onde uma célula-mãe produz quatro células-filhas dentro de sua parede celular, que são liberadas após a maturação (SAFI *et al.*, 2014).

### Cultivo da microalga e avaliação do crescimento em laboratório

Durante o cultivo da microalga, observou-se um intervalo de tempo de menos de um dia para duplicação ( $0,66 \text{ dias div}^{-1}$ ) e uma taxa de crescimento de  $1,05 \text{ Div.dia}^{-1}$ . No quinto dia, no meio BBM, foi registrada a maior densidade celular máxima, alcançando  $1,880 \times 10^4 \text{ cél.mL}^{-1}$  (Tabela 1).

**Tabela 1.** Valores médios dos parâmetros de crescimento da microalga *Chlorella vulgaris* no meio de cultura BBM

Parâmetros de crescimento da microalga				
$\mu$ (Div.dia <sup>-1</sup> )	TD (Dias.div <sup>-1</sup> )	DCM $\times 10^4 \text{cél.mL}^{-1}$	D.O 680nm	Biomassa Final g. L <sup>-1</sup> D.O <sub>680nm</sub>
$1,05 \pm 0,0$	$0,66 \pm 0,1$	$1,880 \pm 14,4$	1,378	$1,50 \pm 0,0$

\*Valores médio de 3 repetições  $\pm$  Desvio padrão. Taxa de crescimento ( $\mu$ ); tempo de duplicação (TD); Densidade celular máxima (DCM).

De acordo com Pandey *et al.* (PANDEY *et al.*, 2023), o cultivo ideal de microalgas requer um meio que forneça a quantidade mínima de nutrientes necessária para sustentar seu crescimento. Os meios de cultura podem variar na presença e concentração de macro e micronutrientes, como nitrogênio, fósforo, potássio e carbono. Diferentes relações carbono/nitrogênio podem influenciar o crescimento das microalgas, tornando a escolha do meio de cultura crucial para o sucesso do cultivo (MENEZES *et al.*, 2016; PANDEY *et al.*, 2023). No presente estudo, o meio BBM foi selecionado e demonstrou promover o crescimento da espécie.

Menezes et al. (MENEZES *et al.*, 2016) observaram resultados semelhantes em *Choricystis minor*, onde o meio BBM favoreceu o crescimento celular e a produção de biomassa, resultando em altas quantidades de clorofilas, proteínas e carotenoides. Esses achados são consistentes com os de Okomoda et al. (OKOMODA *et al.*, 2021), que encontraram maior densidade celular e biomassa em meio BBM comparado com outros meios, como COMBO e Bristol em *Ankistrodesmus falcatus*. Além disso, a composição bioquímica e de microelementos variou entre os meios, sendo mais favorável em BBM.

Com sua capacidade de crescimento rápido, as microalgas despontam como uma promissora solução para a descarbonização e a mitigação das emissões de CO<sub>2</sub>. Por meio da fotossíntese, essas microalgas capturam cerca de 50% do seu peso seco em CO<sub>2</sub>. Para cada 1 kg de biomassa produzida, requerem aproximadamente 1,78-1,83 kg de CO<sub>2</sub>. Com o potencial de gerar até 280 toneladas de biomassa por hectare, utilizando apenas 9% da energia solar disponível, as microalgas também capturam cerca de 513 toneladas de CO<sub>2</sub> (LI *et al.*, 2023). Essas características fazem das microalgas uma valiosa ferramenta para investigações climáticas, ajudando a reduzir o impacto das mudanças climáticas. O sequestro de carbono pelas microalgas representa uma abordagem sustentável para a redução global das emissões de CO<sub>2</sub>.

### Composição bioquímica da biomassa

Na Tabela 2, são apresentados os valores médios obtidos para a biomassa da microalga *Chlorella vulgaris* no meio BBM, referentes às concentrações de proteína bruta, potencial antioxidante e ésteres metílicos de ácidos graxos.

**Tabela 2.** Valores médios  $\pm$  desvio padrão das concentrações de proteínas, potencial antioxidante e ésteres metílicos de ácidos graxos da biomassa seca da microalga *C. vulgaris*.

Composição bioquímica				
Proteína (% biomassa seca)	Potencial antioxidante DPPH	Ésteres metílicos de ácidos graxos (% mg) C16:0 = ácido palmítico	Ésteres metílicos de ácidos graxos (% mg) C18:1 = ácido oleico	Ésteres metílicos de ácidos graxos (% mg) C18:0 = ácido esteárico
55,08 $\pm$ 1,35	67,32 $\pm$ 1,84	15,05 $\pm$ 0,04	18,82 $\pm$ 0,50	1,23 $\pm$ 0,02

No presente estudo, embora não tenhamos extraído e testado os extratos da biomassa da microalga em larvas de mosquitos, sua composição bioquímica sugere a possibilidade de obter um extrato com potencial larvicida natural, em que essa microalga possui propriedades

larvicidas contra mosquitos, especialmente o *Aedes aegypti*, vetor de arboviroses como dengue, chikungunya e Zika. Um estudo de Karthi et al. (KARTHI *et al.*, 2020) demonstrou a eficácia dos extratos de *Avicennia marina* contra larvas de mosquitos, especialmente o extrato de acetona, com uma concentração letal (CL<sub>50</sub>) variando entre 0,164 e 0,197 mg/ml para diferentes espécies de mosquitos. A análise GC-MS revelou a presença de compostos como ácido eicosanóico, cis-9-hexadecenal, ácido oleico e di-N-decilsulfona, ressaltando o potencial larvicida do extrato. Além disso, estudos conduzidos por Hassan et al. mostraram que os extratos das microalgas *Amphora coffeaeformis* e *Scenedesmus obliquus* foram eficazes como larvicidas contra o mosquito *Culex pipiens*. A LC<sub>50</sub> dos extratos de *A. coffeaeformis* e *S. obliquus* foi de 513,63 e 855,66 µg mL<sup>-1</sup>. Estudos toxicológicos indicaram que o extrato de *A. coffeaeformis* é não-tóxico para animais e ecologicamente amigável, sugerindo seu potencial como larvicida seguro e eco-amigável contra o mosquito *C. pipiens*.

Em um estudo conduzido por Cavalcanti et al. (CAVALCANTI *et al.*, 2021), foi realizada a purificação e caracterização de uma lectina (proteína com atividade hemaglutinante) a partir de uma cepa da microalga *Chlorella vulgaris*. O extrato aquoso dessa microalga mostrou toxicidade para larvas do mosquito *Aedes aegypti*, inibindo a atividade de enzimas do tipo tripsina no intestino das larvas, o que sugere um mecanismo potencial de ação larvicida. Esses resultados destacam o potencial das microalgas, como a *C. vulgaris*, como fontes promissoras de biomateriais para controle de mosquitos vetores.

### **Uso do protocolo Mosquito Habitat Mapper e Clouds para identificar padrões climáticos favoráveis à proliferação de mosquito**

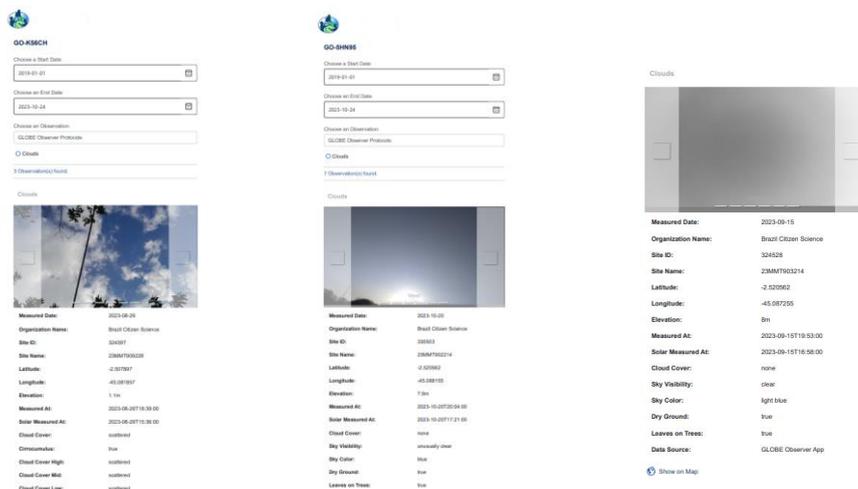
No período de abril de 2023 a março de 2024, as observações realizadas não identificaram a presença de mosquitos dos gêneros *Aedes* e *Anopheles*. No entanto, foram encontradas larvas de *Culex* sp. (Figura 11).



**Figura 11.** Identificação de mosquitos no aplicativo GLOBE observer.

Os casos de dengue no estado começam a ser registrados em janeiro deste ano, e houve um aumento significativo em fevereiro. Durante esse período, o estado registrou 1.643 casos prováveis de dengue, dos quais 573 foram confirmados. Além disso, foi registrado o primeiro caso de morte por dengue no ano de 2024, conforme relatado no Boletim Epidemiológico do Estado, disponível em <https://www.saude.ma.gov.br/wp-content/uploads/2024/03/Dados-de-arboviroses-%E2%80%93Sem.-Epidem.-09.pdf>.

Relativamente ao clima, no Maranhão, o período chuvoso ocorre de janeiro a junho, seguido pelo período de seca, que vai de junho a dezembro (Figuras 12-15).



organization_id	org_name	site_id	site_name	latitude	longitude	elevation	measured_on	sky conditions	data source	s
The GLOBE ID assigned to the school or organization. The name of the the name is selected by the reporting person as p:										
17459532	Brazil Citizen Science	325329	23MMT860200	-2.533225	-45.1		Projeto Globe UFMA IEP			
17459532	Brazil Citizen Science	325328	23MMT861200	-2.533225	-45.1		Projeto Globe UFMA IEP			
17459532	Brazil Citizen Science	324319	23MMT862200	-2.533225	-45.1		Projeto Globe UFMA IEP			
17459532	Brazil Citizen Science	324528	23MMT903214	-2.520562	-45.087255	8,0	2023-08-25	GLOBE Observer App	116-32	
17459532	Brazil Citizen Science	324528	23MMT903214	-2.520562	-45.087255	8,0	2023-08-25	GLOBE Observer App	116-32	
17459532	Brazil Citizen Science	324528	23MMT903214	-2.520562	-45.1		Projeto Globe UFMA IEP			
17459532	Brazil Citizen Science	324528	23MMT903214	-2.520562	-45.1		Projeto Globe UFMA IEP			
17459532	Brazil Citizen Science	324528	23MMT903214	-2.520562	-45.1		Projeto Globe UFMA IEP			
17459532	Brazil Citizen Science	324528	23MMT903214	-2.520562	-45.1		Projeto Globe UFMA IEP			
17459532	Brazil Citizen Science	326416	23MMT903215	-2.519658	-45.1		Projeto Globe UFMA IEP			
17459532	Brazil Citizen Science	324597	23MMT909228	-2.507897	-45.081857	1,1	2023-08-26	GLOBE Observer App	116-32	
17459532	Brazil Citizen Science	323546	23MMT923213	-2.521468	-45.1		Projeto Globe UFMA IEP			
17459532	Brazil Citizen Science	323546	23MMT923213	-2.521468	-45.1		Projeto Globe UFMA IEP			
14456036	Brazil GLOBE v-School	317973	23MMT862201	-2.532321	-45		Projeto Globe UFMA IEP			UFMA
14456036	Brazil GLOBE v-School	317973	23MMT862201	-2.532321	-45		Projeto Globe UFMA IEP			UFMA
14456036	Brazil GLOBE v-School	326420	23MMT903214	-2.520562	-45		Projeto Globe UFMA IEP			UFMA
14456036	Brazil GLOBE v-School	323548	23MMT919207	-2.526896	-45		Projeto Globe UFMA IEP			UFMA
78592365	UFMA - UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO	326885	2 Projeto Globe UFMA IEP							

**Figuras 12-15.** Dados obtidos no aplicativo GLOBE observer Clouds.

Podemos observar a associação do aumento de casos de arboviroses com o período chuvoso (LESSA *et al.*, 2023). A dengue é uma doença que geralmente se manifesta durante períodos de chuvas intensas. No Brasil, fatores como condições precárias de moradia e renda, além da falta de serviços de saneamento adequados e de estudos específicos locais que mapeiem os criadouros e casos da doença, contribuem para o aumento da doença (LESSA *et al.*, 2023). Por conta disso, a ferramenta Mosquito Habitat Mapper pode ser uma solução eficaz para uma implantação rápida durante uma futura epidemia de doenças transmitidas por mosquitos, mesmo em comunidades de poucos recursos, onde outras ferramentas de vigilância de mosquitos não estão prontamente disponíveis.

## CONCLUSION

A pesquisa revela o potencial das microalgas, especialmente *Chlorella vulgaris*, na redução de CO<sub>2</sub> e controle de arboviroses, destacando sua rápida taxa de crescimento e presença de compostos bioativos com propriedades larvicidas contra mosquitos, incluindo o *Aedes aegypti*. A integração de dados climáticos permitiu uma compreensão mais profunda dos padrões associados à proliferação de mosquitos e incidência de arboviroses. Esses achados ressaltam a importância das microalgas como aliadas na luta contra mudanças climáticas e doenças transmitidas por vetores, sugerindo possíveis aplicações práticas.

## ACKNOWLEDGEMENTS

Agradecemos à Agência Espacial Brasileira pelo financiamento desta pesquisa à Universidade Federal do Maranhão. Expressamos nossa gratidão aos alunos e professores do Instituto Educacional de Pinheiro pelo empenho, parceria e dedicação demonstrados ao longo deste estudo. Também estendemos nossos agradecimentos aos alunos, pesquisadores e professores da Universidade Federal do Maranhão pela execução deste trabalho de pesquisa.

## REFERENCES

- ANDERSEN, R. A.; KAWACHI, M. Traditional Microalgae Isolation Techniques. *In: Algal Culturing Techniques*. [s.l.] Elsevier, 2005. p. 83–100.
- BICUDO, C. E. D. M.; MENEZES, M. **Gêneros de Algas de Águas Continentais do Brasil (chave para identificação e descrições)**. [s.l.: s.n.]502 p.
- BLIGH, E.; DYER W. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, v. 37, p.911-917, 1959.
- BOLD, H. C. The Morphology of *Chlamydomonas chlamydogama*, Sp. Nov. Author (s): Harold C. Bold Source: *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, Vol. 76, No. 2 (Mar. - Apr., 1949), pp. 101- Published by: Torrey Botanical Society Stable URL: <http://www.j. Bulletin of the Torrey Botanical Club>, v. 76, n. 2, p. 101–108, 1949.
- BRASIL; SAÚDE, M. da; AMBIENTE, S. de V. em S. e. Monitoramento das arboviroses urbanas: semanas epidemiológicas 1 a 35 de 2023. **Boletim Epidemiológico**, v. 54, n. 13, p. 1–24, 2023.
- CAVALCANTI, V. L. R.; BRANDÃO-COSTA, R. M. P.; PONTUAL, E. V.; DE ANDRADE, A. F.; ALVES, L. C.; PORTO, A. L. F.; BEZERRA, R. P. *Chlorella vulgaris* lectin kills *Aedes aegypti* larvae. **Algal Research**, v. 56, n. November 2020, 2021.
- COSTA, S. D. S. B., BRANCO, M. D. R. F. C., AQUINO JUNIOR, J., RODRIGUES, Z. M. R., QUEIROZ, R. C. D. S., ARAUJO, A. S., ... & SILVA, A. A. M. D. Spatial analysis of probable cases of dengue fever, chikungunya fever and zika virus infections in Maranhao State, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 60, p. 1–11, 2018. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rimtsp/a/qtsBbN5P7yzZ5dLmq5g7Qcq/?format=pdf&lang=en>.
- FILHO, W. L.; SCHEDAY, S.; BOENECKE, J.; GOGOI, A.; MAHARAJ, A.; KOROVU, S. Climate change, health and mosquito-borne diseases: Trends and implications to the pacific region. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 16, n. 24, 2019.
- INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE. **Climate Change 2021 – The Physical Science Basis**. [s.l.: s.n.]
- KARTHI, S.; VINOCHKUMAR, M.; KARTHIC, U.; MANIGANDAN, V.; SARAVANAN, R.; VASANTHA-SRINIVASAN, P.; KAMARAJ, C.; SHIVAKUMAR, M. S.; DE MANDAL, S.; VELUSAMY, A.; KRUTMUANG, P.; SENTHIL-NATHAN, S. Biological effects of *Avicennia marina* (Forssk.) vierh. extracts on physiological, biochemical, and antimicrobial activities against three challenging mosquito vectors and microbial pathogens. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 13, p. 15174–15187, 2020.
- LAMY, K.; TRAN, A.; PORTAFAIX, T.; LEROUX, M. D.; BALDET, T. Impact of regional

climate change on the mosquito vector *Aedes albopictus* in a tropical island environment: La Réunion. **Science of the Total Environment**, v. 875, n. February, p. 162484, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.162484>>.

LESSA, C. L. S.; HODEL, K. V. S.; GONÇALVES, M. de S.; MACHADO, B. A. S. Dengue as a Disease Threatening Global Health: A Narrative Review Focusing on Latin America and Brazil. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v. 8, n. 5, 2023.

LI, S.; CHANG, H.; ZHANG, S.; HO, S. H. Production of sustainable biofuels from microalgae with CO<sub>2</sub> bio-sequestration and life cycle assessment. **Environmental Research**, v. 227, n. December 2022, p. 115730, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.115730>>.

LOWE, R.; LEE, S. A.; O'REILLY, K. M.; BRADY, O. J.; BASTOS, L.; CARRASCO-ESCOBAR, G.; DE CASTRO CATÃO, R.; COLÓN-GONZÁLEZ, F. J.; BARCELLOS, C.; CARVALHO, M. S.; BLANGIARDO, M.; RUE, H.; GASPARRINI, A. Combined effects of hydrometeorological hazards and urbanisation on dengue risk in Brazil: a spatiotemporal modelling study. **The Lancet Planetary Health**, v. 5, n. 4, p. e209–e219, 2021. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S2542-5196\(20\)30292-8](http://dx.doi.org/10.1016/S2542-5196(20)30292-8)>.

LOWRY, O. H. Measurement with the folin phenol reagent. **J Biol Chem.**, 193, 265-275, 1951

HASSAN, M. E. et al. Eco-friendly larvicide of *Amphora coffeaeformis* and *Scenedesmus obliquus* microalgae extracts against *Culex pipiens*. **Journal of Applied Phycology**, v. 33, p. 2683-2693, 2021.

MENEZES, R. S.; SOARES, A. T.; MARQUES JÚNIOR, J. G.; LOPES, R. G.; DA ARANTES, R. F.; DERNER, R. B.; FILHO, N. R. A. Culture medium influence on growth, fatty acid, and pigment composition of *Choricystis minor* var. *minor*: a suitable microalga for biodiesel production. **Journal of Applied Phycology**, v. 28, n. 5, p. 2679–2686, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s10811-016-0828-1>>.

MORA, C.; MCKENZIE, T.; GAW, I. M.; DEAN, J. M.; VON HAMMERSTEIN, H.; KNUDSON, T. A.; SETTER, R. O.; SMITH, C. Z.; WEBSTER, K. M.; PATZ, J. A.; FRANKLIN, E. C. Over half of known human pathogenic diseases can be aggravated by climate change. **Nature Climate Change**, v. 12, n. September, 2022.

MUTANDA, T.; NAIDOO, D.; BWAPWA, J. K.; ANANDRAJ, A. Biotechnological Applications of Microalgal Oleaginous Compounds: Current Trends on Microalgal Bioprocessing of Products. **Frontiers in Energy Research**, v. 8, n. December, p. 1–21, 2020.

OKOMODA, V. T.; ABDULRAHMAN, A. K.; KHATOON, H.; MITHUN, S.; OLADIMEJI, A. S.; ABOL-MUNAFI, A. B.; ALABI, K. I.; ALAMANJO, C. C.; ANUAR, H. Performance characteristics of *Ankistrodesmus falcatus* in different culture media and concentration. **Plants**, v. 10, n. 4, 2021.

PAIXÃO, E. S.; TEIXEIRA, M. G.; RODRIGUES, L. C. Zika, chikungunya and dengue: The causes and threats of new and reemerging arboviral diseases. **BMJ Global Health**, v. 3, 2018.

PANDEY, S.; NARAYANAN, I.; VINAYAGAM, R.; SELVARAJ, R.; VARADAVENKATESAN, T.; PUGAZHENDHI, A. A review on the effect of blue green 11 medium and its constituents on microalgal growth and lipid production. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 11, n. 3, p. 109984, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jece.2023.109984>>.

PRÖSCHOLD, T.; DARIENKO, T. The genus *Chlamydomonas*. *In: The Chlamydomonas Sourcebook*. [s.l.] Elsevier, 2023. p. 1–15.

SAFI, C.; ZEBIB, B.; MERAH, O.; PONTALIER, P. Y.; VACA-GARCIA, C. Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 35, p. 265–278, 2014.

SHI, Z. Impact of Climate Change on the Global Environment and Associated Human Health. **OALib**, v. 05, n. 10, p. 1–6, 2018.

SIGAMANI, S.; CHINNASAMY, R.; DHARMARAJ, R. K.; RAMAMURTHY, D.; DEVARAJAN, N.; NARAYANASAMY, M.; NATARAJAN, H. Larvicidal potency of the extracts from *Chlorella* sp. against *Aedes aegypti*. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 27, n. June, p. 101663, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101663>>.

SILVÉRIO, M. R. S.; ESPINDOLA, L. S.; LOPES, N. P.; VIEIRA, P. C. Plant natural products for the control of *Aedes aegypti*: The main vector of important arboviruses. **Molecules**, v. 25, n. 15, 2020.

SINGH, P.; GUPTA, S. K.; GULDHE, A.; RAWAT, I.; BUX, F. Microalgae Isolation and Basic Culturing Techniques. *In: Handbook of Marine Microalgae*. [s.l.] Elsevier, 2015. p. 43–54.

YADAV, K.; NIKALJE, G. C.; PRAMANIK, D.; SUPRASANNA, P.; RAI, M. P. Screening of the Most Effective Media for Bioprospecting Three Indigenous Freshwater Microalgae Species. **International Journal of Plant Biology**, v. 14, n. 3, p. 558–570, 2023.