# Uso de Microalgas como Bioestimuladoras da Germinação de Sementes

# Use of Microalgae as Biostimulators of Seed Germination

Barbara Araújo<sup>a</sup>; Wesley Machado<sup>a</sup>; Luiz Rodrigo Ito Morioka<sup>b</sup>; Mayara Mari Murata<sup>a</sup>; Josemeyre Bonifacio da Silva Marques<sup>a</sup>; Hélio Hiroshi Suguimoto<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Unopar, Curso de Agronomia. PR, Brasil.

bUniversidade Anhanguera de São Paulo, Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Biotecnologia e Inovação em Saúde. SP, Brasil.

\*E-mail: josemeyre.marques@kroton.com.br

#### Resumo

As microalgas possuem diversas aplicações biotecnológicas e dentro da agricultura podem ser utilizadas como biofertilizantes, bioestimuladoras da germinação de semente, biopesticidas e bioinsetisidas. Para estudar experimentalmente o uso da microalga *Chlorella sorokiniana* na germinação de sementes, é necessário obter informações na literatura sobre as metodologias de aplicação de microalgas em experimentos de campo que visem este processo. O presente trabalho teve como objetivo coletar informações por meio de uma revisão de literatura, sobre as metodologias e formas de aplicação das microalgas na germinação de sementes. O trabalho de revisão foi realizado na base de dados do Google Acadêmico com os seguintes termos de busca avançada: \*seeds germination and biostimulant agent and *Chlorella* microalgae\* -wastewater, nos anos de 2018 a 2022. Foram encontrados 164 artigos científicos dentro da temática estudada e foram selecionados somente aqueles trabalhos que apresentavam em suas metodologias as informações sobre a aplicação de microalgas em experimentos de campo e germinação de sementes, totalizando 5 artigos. As microalgas comprovadamente apresentam efeitos positivos na germinação de sementes de feijão, agrião, beterraba, tomate e pepino. Contudo é evidente a necessidade de se investir em pesquisas que considerem as diferentes variáveis nesta ação bioestimuladora, como espécies de microalgas, tipo de extratos (cultura inteira, sobrenadante, biomassa seca ou úmida), extração dos compostos bioativos da microalga, além de quantidade e método de aplicação.

Palavras-chave: Chlorella sorokiniana. Agricultura Sustentável. Compostos Bioativos. Métodos de Extração.

## Abstract

Microalgae have several biotechnological applications and in agriculture it can be used as biofertilizers, seed germination biostimulators, biopesticides and bioinsecticides. In order to study the use of microalgae Chlorella sorokiniana in seed germination, it is necessary to obtain information in the literature regarding methodologies for applying microalgae in field experiments. The present work aimed to collect information through a literature review, on methodologies and forms of microalgae application in seed germination. The review was carried out at Google Scholar database using the keywords: \*seeds germination and biostimulant agent and Chlorella microalgae\*-wastewater, from 2018 to 2022. 164 scientific articles were found but only studies that presented information about microalgae application in field experiments and seed germination were selected, totalizing 5 articles. Microalgae showed positive effects on germination of beans, watercress, beetroot, tomato and cucumber seeds. However, it is evident the need to invest in research that considers different variables in biostimulating action, such as microalgae species, type of extracts (whole culture, supernatant, dry or wet biomass), extraction of bioactive compounds, in addition to quantity and application method.

Keywords: Chlorella sorokiniana. Sustainable Agriculture. Bioactive Compounds. Extraction Methods.

### 1 Introdução

O grande desafio da agricultura moderna e sustentável é a produção de alimentos que seja capaz de suprir a demanda da população mundial e ao mesmo tempo contribuir para o desenvolvimento de um meio ambiente mais saudável. Dentro deste pensamento, várias pesquisas têm considerado os bioestimuladores como ferramentas promissoras para uma agricultura com alta produtividade, qualidade e conservação ambiental (COLLA; ROUPHAEL, 2020).

Os bioestimuladores são compostos biológicos ativos capazes de atuar no todo ou em partes da planta, e que incluem substâncias e/ou moléculas, microrganismos, rizobactérias promotoras de crescimento de plantas,

elementos traços, enzimas, reguladores de crescimento de plantas, bem como extratos de plantas e algas (EUROPEAN UNION REGULATIONS, 2019). De acordo com Kaporee et al. (2021), os bioestimuladores de microalgas apresentam efeitos positivos no crescimento e desenvolvimento da planta, contudo sua implementação comercial ainda é pequena devido à falta de pesquisa e custo de produção. Os autores González-Pérez et al. (2022) foram ainda mais a fundo e concluíram que é necessário examinar minuciosamente o efeito dos bioestimulantes das microalgas na germinação, crescimento de brotos e raízes, floração e frutificação

As microalgas apresentam diversas aplicações biotecnológicas (RIZWAN *et al.*, 2018) e como bioestimuladoras impulsionam a síntese de clorofila e

carotenoides, apresentam substâncias promotoras de crescimento, como auxinas, citocininas, betaínas, giberelinas, aminoácidos que atuam no crescimento e rendimento das culturas, e polissacarídeos, que melhoram o crescimento da planta como um todo. A aplicação das microalgas como bioestimulante na agricultura é realizada adicionando sua biomassa (seca ou úmida) ou obtendo seus extratos aquosos a serem aplicados (GONZÁLEZ-PÉREZ et al., 2022). Também, é possível extrair os compostos bioativos ligados às células das microalgas para aplicação como bioestimulantes.

O Centro de Pesquisa de Alimentos da Unopar-Pitágoras em Londrina-Paraná, tem realizado o cultivo da microalga *Chlorella sorokiniana* em soro de queijo visando a produção da enzima β-galactosidase (ALBA *et al.*, 2021; BOSSO *et al.*, 2019). Atualmente, em parceria com o Curso de Agronomia, o grupo de pesquisa está estudando o efeito desta microalga como bioestimuladora na germinação de sementes. Para isto, é necessário compreender os diversos métodos de aplicação bem como a forma e a quantidade aplicada de microalgas em sementes. Portanto, o presente trabalho teve como objetivo coletar informações, através de uma revisão de literatura, sobre as metodologias de aplicação de microalgas em experimentos de campo que visem a germinação de sementes.

### 2 Desenvolvimento

## 2.1 Metodologia

O trabalho de revisão foi realizado na base de dados do Google Acadêmico com os seguintes termos de busca avançada: \*seeds germination and biostimulant agent and *Chlorella* microalgae\* -wastewater, nos anos de 2018 a 2022. Foram encontrados 164 artigos científicos dentro da temática estudada. Contudo, foram selecionados somente trabalhos originais que apresentavam em suas metodologias informações sobre a aplicação de microalgas em experimentos de campo e germinação de sementes, totalizando 5 artigos científicos. Artigos de revisão foram excluídos desta análise. No Quadro 1 é apresentado os dados gerais dos trabalhos selecionados.

Quadro 1 - Dados gerais dos trabalhos selecionados

Título do trabalho	Espécie de Microalga	Cultura agrícola	Referencia
Biostimulant effect of seaweed extracts applied on beans ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	Osmundaria obtusiloba e Sargassum vulgare	Feijão	Machado <i>et al</i> . (2018).
Microalgal biostimulants and biofertilisers in crop productions.	Arthrospira platensis, Chlorella vulgaris, Isochrysis galbana, Nannochloropsis gaditana (=Microchloropsis gaditana), Porphyridium cruentum (=P. purpureum), Scenedesmus acuminatus (=Tetradesmus lagerheimii) e Tetraselmis suecica, isolated	Agrião	Ronga <i>et al</i> . (2019).
Effect of <i>Chlorella vulgaris</i> as a biofertilizer on germination of tomato and cucumber seeds.	Chlorella vulgaris	Tomate e Pepino	Bumandalai e Tserennadmid (2019).
Effect of microalgal extracts from <i>Chlorella vulgaris</i> and <i>Scenedesmus quadricauda</i> on germination of <i>Beta vulgaris</i> seeds.		Beterraba	Puglisi <i>et al.</i> (2020).
	Scenedesmus acuminatus e produto comercial AMPEP (Acadian Marine Plant Extract Powder) derivado da macroalga Ascophyllum nodosum	Feijão	Santos <i>et al.</i> (2021)

Fonte: Dados da pesquisa.

## 2.2 Resultados e discussão

Na agricultura, as microalgas apresentam diversos efeitos potenciais (ALVAREZ et al., 2021). No solo, pode melhorar as características físicas, como a estrutura e retenção de água; como biofertilizantes, ajudam no crescimento das plantas aumentando o fornecimento e disponibilidade de nutrientes (RONGA et al., 2019). A consequência direta da aplicação das microalgas na agricultura, é o aumento da produtividade. Além disso, há evidências de que as microalgas agem como biopesticidas e agentes de biocontrole (VIEIRA COSTA et al., 2019).

As microalgas contém macronutrientes como nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K); fitormônios como auxinas,

citocininas, betaínas; aminoácidos; vitaminas; poliaminas; e polissacarídeos provenientes de seu metabolismo primário e, compostos derivados do metabolismo secundário que juntos controlam a divisão celular, alongamento do caule, indução do complexo de respostas defensivas durante a patogênese, iniciam a germinação de sementes, desenvolvimento da lâmina foliar, retardo da senescência, indução do crescimento e do alongamento, diferenciação de elementos do floema, dominância apical, tropismos, e formação de raízes (RONGA et al., 2019; COLLA; ROUPHAEL, 2020; GONZÁLEZ-PÉREZ et al., 2022).

Os extratos brutos, os extratos hidrolisados e a biomassa (seca ou úmida), todos derivados do cultivo da microalga,

podem ser utilizados como bioestimulante da germinação de sementes (GONZÁLEZ-PÉREZ et al., 2022). A biomassa pode ser separada do meio de cultivo pelas técnicas de floculação, flotação, centrifugação e filtração (MORAIS JUNIOR et al., 2020). Já a hidrólise do extrato, utilizada para liberar os compostos bioativos que normalmente estão presos a parede celular ou ligados a outras estruturas da célula, pode ser realizada por meio da sonicação, tratamento enzimático ou tratamento ácido (STIRK et al., 2020).

É importante enfatizar, que poucos artigos foram selecionados, pois a maioria não continha informações sobre as metodologias de aplicação de microalgas em experimentos de campo e germinação de sementes. Grande parte dos artigos científicos dentro da temática de estudo, são revisões de literatura. Kaporee et al. (2021) descreveram que apesar dos bioestimuladores de microalgas apresentarem efeitos comprovados no crescimento e desenvolvimento da planta, sua implementação comercial ainda é pequena devido à falta de pesquisa e custo de produção. Outra indicação de que poucos trabalhos foram publicados sobre aplicação das microalgas como bioestimuladoras na agricultura foi o estudo realizado por Murata et al. (2021). Devido à falta de artigos publicados nesta área, os autores conduziram uma pesquisa focada nos pedidos de patentes que usavam microalgas na agricultura. A primeira patente foi depositada em 1982 no Japão com o uso da microalga Chlorella como promotora de crescimento vegetal (NAOHIKO, 1982). Na mesma década, estudos semelhantes foram conduzidos sobre o efeito de microalgas na germinação de sementes e amadurecimento de frutos (MAEDA, 1984; HISHIMUNA et al., 1989). Durante 15 anos, nenhum estudo foi publicado, somente a partir de 2015, que o número de pedidos de patentes apresentou aumento acentuado, sendo a maioria voltados para a produção de biocombustíveis (MURATA et al., 2021). Apenas duas patentes foram concedidas no uso de microalgas como biofertilizante e promotor de crescimento (CHENG et al. 2017; MÓGOR et al. 2019)

Dentre os trabalhos selecionados neste artigo técnico, Machado et al. (2018) avaliaram o efeito bioestimulante das macroalgas Sargassum vulgare e Osmundaria obtusiloba na germinação e no desenvolvimento inicial vegetativo de plântulas de feijão Phaseolus vulgaris L. Para o experimento de germinação, a biomassa obtida do cultivo das macroalgas na concentração de 500 g L<sup>-1</sup> foi extraída por meio da adição de 1 L de água destilada a 60 °C por 45 min a 500 g de massa seca que posteriormente, foi filtrada e armazenada a 4 °C. Em seguida, foram preparadas diluições de 25 %, 50 % e controle. O ensaio foi conduzido com 140 sementes de feijão em caixas Gerbox transparentes mantidas em incubadoras com fotoperíodo de 12 horas na temperatura de 25 °C, por 15 dias. A porcentagem (%) de germinação não apresentou diferença entre os tratamentos sendo de 88% para o extrato com a macroalga Sargassum vulgare, 81 % para Osmundaria obtusiloba e 85 % para o controle. Segundo os autores, os resultados encontrados são conflitantes com os obtidos por outros autores em anos anteriores e que as respostas das plantas podem variar, pois dependem de inúmeros fatores como tratamento ou não das sementes, irrigação ou aspersão das sementes, dosagem e frequência de aplicação.

Ronga et al. (2019) avaliaram o efeito dos extratos microalgas Arthrospira platensis, Chlorella vulgaris, Isochrysis galbana, Nannochloropsis gaditana (=Microchloropsis gaditana), Porphyridium (=P. purpureum), Scenedesmus acuminatus (=Tetradesmus lagerheimii) e Tetraselmis suecica na germinação de sementes de agrião (Lepidium sativum L.). Para isso, 4 mL de cada extrato de microalga (50 mg de biomassa seca em 1 L de água destilada) e o controle foram adicionados em Placas de Petri contendo papel filtro Whatman e 3 repetições de 15 sementes cada, foram preparadas nas placas e as mesmas foram incubadas por 36 h a 25 °C em câmara de aquecimento. A porcentagem de germinação (%) variou de 52,99 % para a microalga A. platensis a 90,56 % para a T. suecica. Os autores descreveram vários pontos a serem estudados para entender melhor como e quando os extratos de microalgas podem ser usados na cultura para melhorar a sustentabilidade agrícola. Entre os pontos listados estão a composição bioquímica da microalga, o estágio fenológico da cultura que pode influenciar o momento e a quantidade de microalga aplicada como bioestimuladora de germinação.

Bumandalai e Tserennadmid (2019) estudaram o efeito da microalga Chlorella vulgaris na germinação de sementes de tomate e pepino e o potencial de aplicação da microalga como biofertilizante para melhorar o rendimento e a produtividade. As sementes, após serem esterilizadas com hipoclorito de sódio a 30 % e lavadas com água destilada, foram colocadas em Placas de Petri contendo meio de cultura esterilizado, como controle e suspensão da cultura pura de algas coletadas nos seguintes dias: 3°, 6°, 9° e 12° dia. As Placas de Petri foram mantidas em termostato a temperatura de  $18 \pm 2$ °C sob o regime de luz de 8:16 claro e escuro por uma semana. Ao final do experimento, os autores concluíram que a suspensão de C. vulgaris, coletadas no 3°, 6°, 9° e 12° dia de cultivo e nas concentrações de 0,06; 0,12; 0,17 e 0,25 g de biomassa seca L-1, podem melhorar as germinações de sementes de tomate e pepino. Já as suspensões de microalgas de 0,17 e 0,25 g L-1 podem melhorar o comprimento da raiz e da parte aérea de tomate e sementes de pepino, respectivamente.

Puglisi et al. (2020) utilizaram a biomassa liofilizada das microalgas *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus quadricauda* em diferentes concentrações para avaliar o desempenho de germinação de sementes de beterraba (*Beta vulgaris*). Soluções estoque das microalgas foram preparadas, e as células das microalgas foram coletadas e centrifugadas a 5000 rpm por 15 min e os pellets finais obtidos de cada biomassa foram adicionados ao metanol para lisar a parede celular e obter os extratos intracelulares. Após centrifugação e evaporação do solvente orgânico, os extratos foram liofilizados e coletados

com água destilada para obter a solução estoque do extrato de microalgas. Em todas as análises de dados, os autores observaram um efeito significativo (p<0,01) da concentração do extrato de microalgas em todas as variáveis de germinação de plântulas de beterraba. Da mesma forma, em todas as concentrações de extrato de microalgas, as interações foram significativas (p<0,01) para todos os índices paramétricos de germinação. Os autores ainda descreveram que os tratamentos exerceram efeitos diferentes sobre a porcentagem (%) de germinação e que estão estritamente relacionados com a espécie da microalga bem como as concentrações dos extratos. Os autores concluíram que os extratos a base de microalgas podem melhorar o processo de germinação de sementes de beterraba sendo que os extratos de C. vulgaris especialmente melhoraram todos os cálculos de índices de germinação, as características das raízes, bem como o vigor das plântulas, promovendo aquisição adicional de nutrientes e crescimento da planta.

Dos Santos et al. (2021) usando o extrato comercial AMPEP (Acadian Marine Plant Extract Powder), derivado da macroalga Ascophyllum nodosum (L.) Le Jol. e da microalga Scenedesmus acuminatus na concentração de 1,5 g L-1 avaliaram a germinação de sementes de feijão. As sementes de feijão BRS Estilo foram submetidas a dois tratamentos, sendo: T1 (embebição das sementes por um período de 5 horas nos extratos) e T2 (aplicações diretas dos extratos nas sementes a cada 48 horas), além do controle com água em cada tratamento. O ensaio de germinação foi conduzido em rolos de papel Germitest®, com três repetições de 25 sementes, totalizando 600 sementes. O experimento foi mantido em incubadoras B.O.D, fotoperíodo de 12 h e temperatura de 25 °C, seguindo delineamento inteiramente casualizado. A avaliação foi realizada diariamente durante 8 dias. Após a avaliação da porcentagem de germinação das sementes, os autores concluíram que extratos de microalgas apresentaram potencial bioestimulante em sementes de feijão BRS Estilo, entretanto, deve-se considerar os métodos de aplicação. Podese afirmar que o feijão não obteve uma boa resposta após ser submetido ao processo de embebição, quando comparado ao processo de aplicação dos extratos a cada 48 horas, apresentando um menor desempenho germinativo. Apesar da embebição ser um método menos eficiente, as sementes deste tratamento obtiveram melhores parâmetros germinativos do que o controle com água, sugerindo que mesmo em condição desfavorável há efeito benéfico dos extratos no processo germinativo.

Todos os trabalhos selecionados apresentaram resultados positivos quanto ao uso das microalgas como bioestimuladoras do processo de germinação. Não há indicação da melhor forma de uso dos extratos (biomassa seca ou úmida, extrato inteiro, ou extração dos compostos bioativos) sugerindo que uma avaliação mais precisa com estudos agronômicos, fisiológicos, químicos, bioquímicos e moleculares são necessários para compreender a indução das microalgas como

bioestimuladora da germinação de sementes, possibilitando conforme descreveram Ronga *et al.* (2019) a definição de protocolos precisos que possam auxiliar empresas e agricultores na produção e aplicação das microalgas.

### 3 Conclusão

As microalgas comprovadamente apresentam efeitos positivos na germinação de sementes, contudo é evidente a grande necessidade de se investir em pesquisas que considerem diferentes espécies de microalgas como bioestimuladoras além de estudos que avaliem a forma de aplicação dos seus extratos (cultura inteira, sobrenadante, biomassa seca ou úmida) ou mesmo a extração dos compostos bioativos, a quantidade e método de aplicação.

#### Referências

ALBA, C.F.; MORIOKA, L.R.I.; SUGUIMOTO, H.H. Potencial Biotecnológico da Microalga *Chlorella vulgaris* para a Produção de β-galactosidase. *Ensaios Ciênc.*, v.25, n.3, p.328-336, 2021. doi: 10.17921/1415-6938.2021v25n3p328-336.

ALVAREZ, A.L. *et al.* Microalgae, soil and plants: a critical review of microalgae as renewable resources for agriculture. *Algal Res.*, v.54, n.243, 2021. doi: 10.1016/j.algal.2021.102200.

BALASUBRAMANIAM, V. et al. Isolation of industrial important bioactive compounds from microalgae. *Molecules*, v.26, n.4, p.943, 2021.

BOSSO, A. *et al*. Soro de queijo para produção de β-Galactosidase. *Uniciencias*, v.23, n.1, p.31-37, 2019.

BUMANDALAI, O.; TSERENNADMID, R. Effect of *Chlorella vulgaris* as a biofertilizer on germination of tomato and cucumber seeds. *Int. J. Aquatic Biol.*, v.7, n.2, p.95-99, 2019.

CHENG, Y.H. *et al.* Soil improving composition and method for promoting plant growth which not only has a rapid and long-acting nitrogen supplementation, but also inhibits the occurrence of pests and diseases. *Taiwan Patent* TW106100901A, 2017. Disponivel em: https://worldwide.espacenet.com/patent/search?q=pn% 3DTW201824996A.

EU Regulation of the European Parliament and of the council laying down rules on the making available on the market of EU fertilizing products and amending regulations (EC) No 1069/2009 and (EC) No 1107/2009 and repealing regulation (EC) No 2003/2003. 2019. Disponivel em: https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=OJ:L:2019:170:TOC. Acesso em: 10 mar. 2022.

GONZÁLEZ-PÉREZ, B.K. et al. Microalgae as biostimulants: a new approach in agriculture. *World J. Microb. Biotechnol.*, v.38, n.4, 2022. doi: 10.1007/s11274-021-03192-2

HISHINUMA, K. *et al.* Agent for promoting germination of artificial seed. *Japan Patent* JP1584189A, 25 Jan 1989. Disponível em: https://worldwide.espacenet.com/patent/search?q=pn%3DJP2684402B2

COSTA, J.A.V. *et al.* Potential of microalgae as biopesticides to contribute to sustainable agriculture and environmental development. *J. Environ. Scie. Health*, Part B, v. 54, n. 5, p. 366-375, 2019. doi: 10.1080/03601234.2019.1571366

KAPOREE, R.V.; WOOD, E.E.; LLEWELLYN, C.A. Algae biostimulants: a critical look at microalgal biostimulants for sustainable agricultural practices. *Biotechnol Adv.*, v.49, p.107754, 2021. doi: 10.1016/j.biotechadv.2021.107754.

MACHADO, L.P. et al. Biostimulant effect of seaweed extracts applied on beans (*Phaseolus vulgaris* L.). Rev. Cultura Agron., v.27, n.1, p.101-110, 2018.

MAEDA, N. Ripening inhibitor for plant. *Japan Patent* JP5544884A, 23 Mar 1984. Disponível em: https://worldwide.espacenet.com/patent/search?q=pn%3DJPH0521883B2

MORAIS JUNIOR, W. G. *et al.* Microalgae for biotechnological applications: Cultivation, harvesting and biomass processing. *Aquaculture*. v.538, p.735562, 2020.

MÓGOR, G. et al. Hidrólise enzimática da biomassa de microalga e obtenção de produto à base de aminoácidos livres para uso agrícola. Brazilian Patent 102019006567-2, 01 Abr 2019. Disponível em: http://www.inovacao.ufpr.br/portal/wpcontent/uploads/2020/10/Carta-Patente BR-102019006567-2.pdf

MURATA, M. M. *et al.* What do patents tell us about microalgae in agriculture?. *AMB Expr.*, v.11, p.1-12, 2021. doi: 10.1186/s13568-021-01315-4

NAOHIKO, M. Promotor for synthesizing plant hormone. Japan Patent JP6212282A, 14 Abr 1982. Disponível em: https://worldwide.espacenet.com/patent/search?q=pn%3DJPS58180404A

PUGLISI, I. et al. Effect of microalgal extracts from Chlorella

vulgaris and Scenedesmus quadricauda on germination of Beta vulgaris seeds. Plants, v.9, n.6, p.675, 2020.

PUGLISI, I. *et al.* Biostimulant activity of humic-like substances from agro-industrial waste on *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus quadricauda*. *Euro. J. Phycol.*, v.53, n.3, p.433-442, 2018.

RONGA, D. et al. Microalgal biostimulants and biofertilizers in crop productions. *Agronomy*, v.9, n.4, p.192, 2019.

COLLA, G.; ROUPHAEL, Y. Microalgae: new source of plant biostimulants. *Agronomy*, v.10, n.9, p.1240, 2020.

RENUKA, N. et al. PMicroalgae as multi-functional options in modern agriculture: current trends, prospects and challenges. Biotechnol. Adv., v. 36, n. 4, p. 1255-1273, 2018.

RIZWAN, M. et al. Exploring the potential of microalgae for new biotechnology applications and beyond: a review. Renew. Sustainable Energy Rev., v.92, p.394-404, 2018.

SANTOS, N. H. S. *et al.* Efeito do extrato de algas no desempenho germinativo e crescimento radicular em sementes de feijão BRS Estilo em resposta a diferentes métodos de aplicação. *Hoehnea*. v.48, 2021 doi: 10.1590/2236-8906-100/2020.

STIRK, W. A. *et al.* Effect of cell disruption methods on the extraction of bioactive metabolites from microalgal biomass. *J. Biotechnol.*, v.307, p.35-43, 2020.