



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências

EMILY RAPHAELY SOUZA DOS SANTOS

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO EXTRATO BRUTO DA
MACROALGA *U. lactuca* Linnaeus NO
ORGANISMO-MODELO *C. elegans* (Maupas, 1900)**

Recife
2025

EMILY RAPHAELY SOUZA DOS SANTOS

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO EXTRATO BRUTO DA
MACROALGA *U. lactuca* Linnaeus NO ORGANISMO-MODELO *C.
elegans* (Maupas, 1900)**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação em
Biomedicina da Universidade Federal de
Pernambuco, como pré-requisito para a
obtenção do título de Bacharel em
Biomedicina.

Orientadora: Priscila Gubert
Coorientador: Nykon Craveiro

Recife
2025

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Santos, Emily Raphaely Souza dos.

Avaliação da toxicidade do extrato bruto da macroalga *U. lactuca* Linnaeus no organismo-modelo *C. elegans* (Maupas, 1900) / Emily Raphaely Souza dos Santos. - Recife, 2025.

51 p. : il., tab.

Orientador(a): Priscila Gubert

Coorientador(a): Nykon Jefferson de Albuquerque Craveiro

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Biomedicina, 2025.

Inclui referências.

1. Toxicologia. 2. Bioprospecção. 3. Experimentação alternativa. I. Gubert, Priscila. (Orientação). II. Craveiro, Nykon Jefferson de Albuquerque. (Coorientação). IV. Título.

570 CDD (22.ed.)

EMILY RAPHAELY SOUZA DOS SANTOS

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO EXTRATO BRUTO DA
MACROALGA *U. lactuca* Linnaeus NO ORGANISMO-MODELO *C.
elegans* (Maupas, 1900)**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação
em Biomedicina da Universidade
Federal de Pernambuco, como
pré-requisito para a obtenção do título
de Bacharel em Biomedicina.

Aprovada em: 11/12/2025

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Priscila Gubert
Universidade Federal de Pernambuco / Instituto Keizo Asami

Coorientador: Dr^a. Nykon Jefferson de Albuquerque Craveiro
Universidade Federal de Pernambuco / Departamento de Oceanografia

Me. João Victor Ritinto da Rocha
Universidade Federal de Pernambuco / Área acadêmica de Medicina Tropical

Me. Vitor Ricardo de Souza
Universidade Federal de Pernambuco / Departamento de Oceanografia

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família por todo o suporte: minha mãe Elaine, minha avó Maria, meu irmão Rafael, minha prima Mariane e minha tia Cristiane. À minha cachorrinha, Mel, que mesmo sem saber foi um pilar essencial neste período.

Aos amigos preciosos que UFPE me trouxe: Maria Gabriele, Luan, João Gabriel, Jediel, Alícia, Kleyverson, João Guilherme e Maria Júlia. Sem vocês nada disso seria possível.

À pessoa que primeiro me acolheu em Recife e na Biomedicina, Beatriz, por ser a melhor companhia e colega de apartamento possível. À minha parceira Isadora Bandeira por todo o companheirismo e suporte.

À minha melhor amiga desde sempre, Mylena, por todo o apoio e por sempre se fazer presente mesmo com a distância e correrias da vida.

À minha psicóloga Jéssika pelo fortalecimento emocional ao longo dessa jornada.

À minha querida coordenadora do curso de Biomedicina, Mariana Donato, por todo o apoio durante a minha graduação e na reta final dela.

Ao projeto Caravana da Ciência por despertar meu amor pela extensão.

À toda a equipe do Laboratório Unimed Recife por todo o conhecimento transmitido e contribuição para o meu desenvolvimento profissional.

Aos meus colegas do Laboratório de Neuroimunogenética do iLIKA por todo o conhecimento e risadas trocados ao longo de todo esse tempo: Emily, Conrado, Ricardo, Kátia, Katarine, Gabriel, Artur, Pedro e Alexandre.

À toda equipe que tornou este trabalho possível: meu coorientador Nykon Craveiro, pesquisadores José Souto e Fauston Fred pela expertise, meus colegas de laboratório Jocelin e Paloma que compartilharam este projeto comigo e minha orientadora Priscila Gubert.

À Universidade Federal de Pernambuco e à Pró-Reitoria para Assuntos Estudantis por efetivamente tornar esse sonho possível.

Ao Instituto Keizo Asami (iLIKA) pela estrutura para a realização deste trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) pelo financiamento deste trabalho.

"Hold on tight, this ride is a wild one"

All Time Low

SANTOS, Emily Raphaely Souza dos. **AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO EXTRATO BRUTO DA MACROALGA *U. lactuca* Linnaeus NO ORGANISMO-MODELO *C. elegans* (Maupas, 1900)**. 2025. 51 páginas. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2025.

RESUMO

As macroalgas marinhas têm sido estudadas devido ao seu grande potencial biotecnológico. Dentre as macroalgas distribuídas pela costa pernambucana, destaca-se a *U. lactuca*, que apresenta diversas propriedades bioativas *in vitro* e *in vivo*. O nematoide de vida livre *C. elegans* é um modelo experimental alternativo amplamente utilizado em diversos ensaios de toxicidade, constituindo-se, portanto, um modelo adequado para a avaliação dos possíveis efeitos tóxicos da *U. lactuca*. Dessa maneira, o objetivo do trabalho foi analisar a toxicidade do extrato bruto da macroalga em diferentes concentrações (10, 25, 50, 100 e 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Foram executados protocolos padronizados na literatura para a avaliação toxicológica: taxas de sobrevivência e desenvolvimento larval, análise de batimentos faríngeos, ciclos de defecação, avaliação do comportamento locomotor (motilidade), análise do tamanho corporal e impactos no comportamento reprodutivo (ensaio de ovo-produção). A análise estatística foi realizada via *GraphPad Prism* utilizando ANOVA *two-way* para a análise das taxas de desenvolvimento e ANOVA *one-way* para os demais ensaios; foi aplicado o teste *post-hoc* de Bonferroni. Para todas as análises foi considerado o nível de significância de 5% ($p < 0,05$). Os resultados obtidos mostraram que o extrato bruto de *U. lactuca* foi capaz de induzir toxicidade no desenvolvimento dos animais na maior concentração testada (250 $\mu\text{g mL}^{-1}$), porém não exerceu efeitos tóxicos significativos em *C. elegans* nas demais concentrações, validando seu uso para aplicações biológicas em doses seguras.

Palavras-chave: Toxicidade. Macroalga marinha. Modelo alternativo. Nematóide. Bioprospecção.

SANTOS, Emily Raphaely Souza. **Toxicological assessment of dry crude extract of the macroalgae *U. lactuca* Linnaeus in the experimental model *C. elegans* (Maupas, 1900).** 2025. 51 pages. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2025.

ABSTRACT

Marine seaweed has been studied due to its notorious biotechnological potential. Among the macroalgae distributed throughout the state of Pernambuco, Brazil coast, *U. lactuca* is highlighted as it has already shown many bioactive properties *in vitro* and *in vivo*. The free-living roundworm *C. elegans* is an alternative experimental model widely used in various toxicity assays, being a good model for prospecting of *U. lactuca* possible toxic effects. In this manner, this paper aims to analyze the toxicity of *U. lactuca* dry crude extract in different concentrations (10, 25, 50, 100 e 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Pre-established assays in literature for toxicity assessment were performed: survival and larval development rate, pharyngeal pumping analysis, defecation cycles, locomotive behavior (motility), body length measurements and impacts on worm's reproduction (egg production). Statistical analysis was performed using *GraphPad Prism*, employing two-factor ANOVA for the analysis of development rates and single-factor ANOVA for the other tests; the Bonferroni post-hoc test was applied. A significance level of 5% ($p < 0.05$) was considered for all analyses. Obtained results showed that *U. lactuca* dry crude extract induced certain developmental toxicity in the higher concentration tested (250 $\mu\text{g mL}^{-1}$). However, it did not cause significant toxic effects in *C. elegans* exposed to the other concentrations, validating its use for biotechnological applications in safe doses.

Key words: Toxicity. Seaweed. Alternative model. Nematode. Bioprospecting.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - <i>U. lactuca</i> : vista ampliada e vista em seu habitat natural	4
Figura 2 - Anatomia do <i>C. elegans</i>	12
Figura 3 - Ciclo de vida do <i>C. elegans</i>	14
Figura 4 - Diluição dos extratos de <i>U. lactuca</i>	18
Figura 5 - Exposição do <i>C. elegans</i> ao extrato bruto de <i>U. lactuca</i>	18
Figura 6 - Ensaio de toxicidade realizados	19
Figura 7 - Taxas de sobrevivência ao longo do ciclo de vida de <i>C. elegans</i>	22
Figura 8 - Desenvolvimento larval ao longo do ciclo de vida de <i>C. elegans</i>	23
Figura 9 - Ensaio de batimentos faríngeos	25
Figura 10 - Análise de ciclos de defecação	26
Figura 11 - Ensaio de motilidade	27
Figura 12 - Tamanho corporal	29
Figura 13 - Ensaio de ovo-produção	30

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMPK	Adenosina monofosfato quinase
ANOVA	Análise de Variância
BOD	<i>Biochemical demand oxygen</i>
Cas9	Proteína associada ao CRISPR 9
CAT	Catalase
CGC	Centro de Genética de C.
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CRISPR	<i>Clustered regularly interspaced short palindromic repeats</i>
DART	<i>Developmental and reproductive toxicity</i>
DHE	Dihidroetídio
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DNC	<i>Dorsal nerve cord</i>
DPPH	2,2-Difenil-1-picril-hidrazila
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
GC-MS	<i>Gas chromatography-mass spectrometry</i>
GFP	<i>Green fluorescent protein</i>
HDL	<i>High density lipoprotein</i>
HPLC	<i>High performance liquid chromatography</i>
IC50	Concentração Inibitória para 50% da população
IFN- γ	Interferon- γ
IL	Interleucina
INSR	Receptor de insulina
JAK	Janus quinase
JNK	c-Jun N-terminal quinase
LC50	Concentração letal para 50% da população
LDL	<i>Low density lipoprotein</i>
LPS	Lipopolissacarídeos
MDR	Multirresistentes
MEC	Matriz extracelular
MET	Microscopia eletrônica de transmissão

MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à meticilina
NGM	<i>Nematode growth medium</i>
OGMs	Organismos Geneticamente Modificados
ORAC	<i>Oxygen Radical Absorbance Capacity</i>
PMD	Programa motor de defecação
SOD	Superóxido dismutase
STAT	<i>Signal transducer and activator of transcription</i>
TAC	<i>Total Antioxidant Capacity</i>
TGF- β	Fator de Crescimento Transformador- β
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral- α
ULEA	Acetato de etila de <i>U. lactuca</i>
ULP	Polissacarídeo de <i>U. lactuca</i>
VNC	<i>Ventral nerve cord</i>
wAAT	<i>worm adult activity test</i>
wDAT	<i>worm development activity test</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1 <i>U. lactuca</i>	14
2.1.1 Caracterização de <i>U. lactuca</i>	14
2.1.2 Composição da <i>U. lactuca</i>	15
2.1.3 Potencial biotecnológico da macroalga e aplicações	16
2.2 <i>C. elegans</i> como um modelo experimental alternativo	22
2.2.1 A biologia do <i>C. elegans</i>	22
2.2.2 A utilização do <i>C. elegans</i> em ensaios de toxicidade	25
3 OBJETIVOS	27
3.1 Objetivo Geral	27
3.1 Objetivos Específicos	27
4 METODOLOGIA	28
4.1 Manutenção dos nematoides	28
4.2 Obtenção do extrato bruto de <i>U. lactuca</i>	28
4.4 Ensaios de toxicidade	30
4.4.1 Sobrevivência e desenvolvimento larval	30
4.4.2 Comportamento alimentar (Batimento faríngeo)	31
4.4.3 Ciclos de defecação	31
4.4.4 Movimentos corporais (<i>body bends</i>)	31
4.4.5 Tamanho do corpo	31
4.5 Análise estatística	32
4.6 Comitê/Comissão de ética	32
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
5.1 Efeitos da <i>U. lactuca</i> nas taxas de sobrevivência e desenvolvimento dos nematoides	32
5.2 Efeitos da <i>U. lactuca</i> nos parâmetros fisiológicos, comportamentais, morfométricos e reprodutivos de <i>C. elegans</i>	35

5.2.1 Comportamento alimentar	35
5.2.2 Ciclos de defecação	36
5.2.3 Ensaio de motilidade	38
5.2.4 Tamanho corporal	39
6 CONCLUSÃO	41
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43

1 INTRODUÇÃO

A macroalga verde *Ulva lactuca* Linnaeus, comumente conhecida como alface-do-mar, é pertencente ao filo *Chlorophyta* e é reconhecida como um recurso marinho cosmopolita de significativa importância ecológica e econômica (Pereira, 2016). Sua aplicação tradicional nas indústrias alimentícia e farmacêutica é bem documentada, destacando-se como fonte de nutrientes e compostos de interesse (Lomartire; Marques; Gonçalves, 2021)

O potencial biotecnológico da *U. lactuca* é atribuído principalmente aos seus metabólitos secundários bioativos, incluindo polissacarídeos, lipídeos e pigmentos com atividades farmacológicas promissoras. Esse potencial é amplificado por características intrínsecas da alga, como sua alta taxa de crescimento, capacidade de adaptação a diversos ambientes e facilidade de cultivo em larga escala, o que a torna um insumo sustentável e viável.

Apesar do crescente interesse em suas propriedades, a literatura científica carece de investigações abrangentes e padronizadas sobre os seus possíveis efeitos tóxicos. Com isso, a avaliação de segurança toxicológica é uma etapa fundamental no desenvolvimento de qualquer produto de origem natural. Neste contexto, o nematoide *Caenorhabditis elegans* (Maupas, 1900) consolida-se como um modelo experimental robusto e ético para prospecção toxicológica inicial (Brenner, 1974). As vantagens do seu uso incluem o pequeno tamanho corporal, a transparência, um ciclo de vida curto e bem elucidado, e a facilidade de manutenção em laboratório, tornando-o uma ferramenta poderosa para diversos ensaios (Leung et al., 2008).

Diante deste cenário, o presente trabalho visa descrever a toxicidade do extrato bruto de *U. lactuca* no modelo experimental alternativo *C. elegans*. Através desta abordagem, busca-se gerar dados científicos fundamentais para validar o uso seguro desta macroalga em futuras aplicações biotecnológicas e industriais.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 *U. lactuca*

2.1.1 Caracterização de *U. lactuca*

A *U. lactuca* é uma macroalga verde pertencente à divisão *Chlorophyta*, descrita por Linnaeus no Mar Báltico no século XVII, sendo a espécie-tipo (holótipo) do gênero *U.* (Hayden et al., 2003; Mantri et al., 2020). Conhecida popularmente como alface-do-mar (*sea lettuce*), ela recebe o epíteto específico "*lactuca*" devido à sua marcante semelhança visual com a alface (Roleda et al., 2021) (Figura 1a). Esta macroalga é amplamente estudada por sua dualidade, sendo tanto uma fonte de "problemas" (devido às marés verdes, que promovem alta mortalidade de animais após crescimentos em massa) quanto de "riquezas potenciais" (por seus metabólitos entes valiosos) (Dominguez; Loret, 2019). *U. lactuca* possui uma distribuição notavelmente cosmopolita, sendo uma das espécies marinhas mais amplamente distribuídas no planeta. Sua presença está documentada em todo o mundo, abrangendo o Oceano Atlântico e o Indo-Pacífico, e em zonas climáticas que variam de tropicais a polares (Peter et al., 2024). A alga coloniza uma vasta gama de habitats, incluindo ambientes marinhos e estuarinos. Por ser uma espécie eurialina, tolera amplas variações de salinidade (Allen et al., 2013; Bews et al., 2021). Sua distribuição global, inclusive no litoral brasileiro (Figura 1b), é frequentemente associada a ambientes eutrofizados, o que a torna um bioindicador de poluição (Areco; Salomone; Afonso, 2021).

As espécies do gênero *U.* de maneira geral são conhecidas por serem oportunistas, com alta resiliência à temperatura, além de possuírem propriedades fotossintéticas e morfológicas que lhes permitem crescer rapidamente e se espalhar, sendo frequentemente associadas à formação de florações massivas (*algal blooms*) (Carpenter, 1990; Whitehouse; Lapointe, 2015). Estas características das macroalgas do gênero *U.* pode ser um aliado nas aplicações biotecnológicas, dado que seu crescimento em ambientes controlados seria favorecido pelo seu rápido ciclo de vida.

Figura 1 - *U. lactuca*: vista ampliada e vista em seu habitat natural

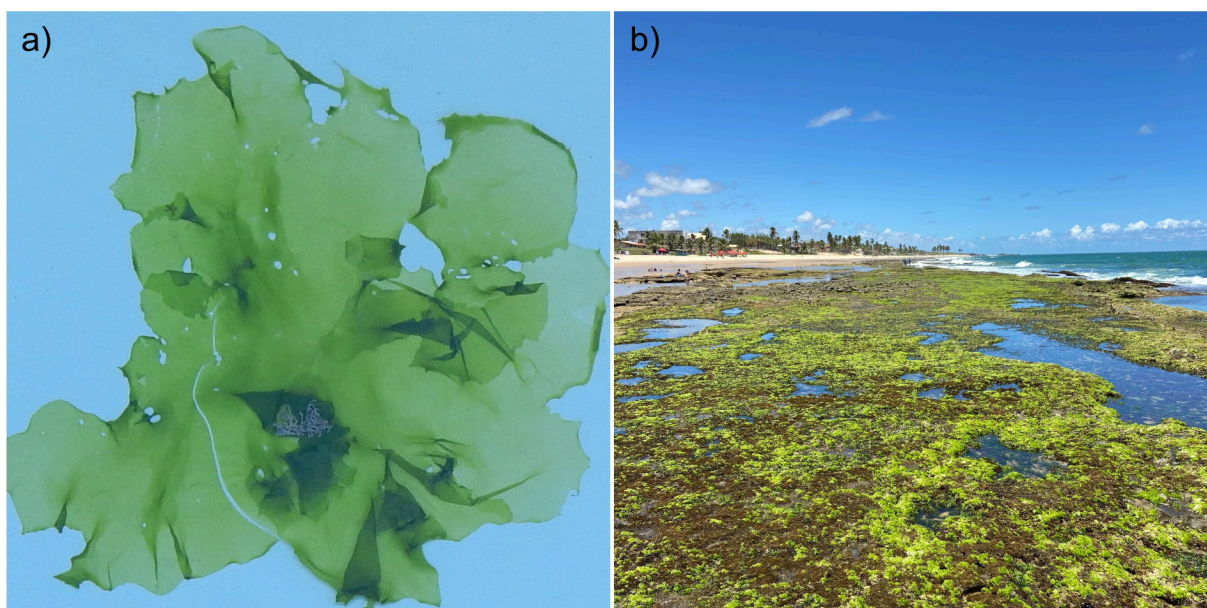


Imagem ampliada da estrutura de *U. lactuca*. Fonte: Autora (2025) (a); Bancos de *U. lactuca* (estruturas em verde) na praia de Enseada dos Corais, Cabo de Santo Agostinho, Pernambuco. Fonte: Davy Bérqamo (2025).

2.1.2 Composição da *U. lactuca*

A bioatividade da *U. lactuca* está intrinsecamente ligada à sua rica e variada composição química, que inclui saponinas, triterpenoides, esteróides, taninos, alcaloides, flavonoides e compostos fenólicos (Wang, 2025). O teor de compostos fenólicos e flavonoides varia significativamente conforme o método de extração (Ouahabi et al., 2024a). A análise por cromatografia líquida de alta performance (HPLC, do inglês *high performance liquid chromatography*) mostra a presença de diversos compostos fenólicos prevalentes, como ácido sinápico, naringina, rutina, quercetina, ácido cinâmico, ácido salicílico, apigenina, flavona e flavanona. A análise do conteúdo de ácidos graxos por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC-MS, do inglês *gas chromatography-mass spectrometry*) mostram que o ácido palmítico, o ácido eicosenoico e o ácido linoleico foram os ácidos graxos insaturados mais abundantes (Ouahabi, 2024). Os polissacarídeos de *U. lactuca* (ULP), conhecidos como U.n, são de interesse especial em estudos para aplicações na saúde, possuindo diversas propriedades bioativas (Qiu, 2025). Além disso, a

U.pirona, um análogo de benzocromeno ligado a pirona, foi isolada do extrato orgânico da macroalga, sendo um agente anti-inflamatório recentemente descrito (Chakraborty, 2022).

Com relação à macroalgas encontradas na costa brasileira, especificamente no estado de Pernambuco, um estudo realizado por (Craveiro et al., 2025) mostrou que *U. lactuca* é composta majoritariamente de carboidratos, como é esperado das macroalgas. Comparada a outras espécies encontradas no mesmo ambiente (*Padina gymnospora*, *Palisada perforata* e *Gelidiella acerosa*), o estudo evidencia que *U. lactuca* foi a que apresentou uma menor concentração dos metabólitos neofitadieno, fitol e ácido palmítico, ao passo que foi a única dentre estas que possuía o metabólito fitona, um precursor dos β -carotenos (Welsch; Li, 2022); a presença deste composto pode estar associada à hidrólise da clorofila e/ou ser um subproduto do fitol (Aladić et al., 2022; Rontani et al., 2003).

2.1.3 Potencial biotecnológico da macroalga e aplicações

Como mencionado anteriormente, as macroalgas marinhas representam um vasto grupo de organismos aquáticos reconhecidos pela sua riqueza em fitoquímicos e são amplamente envolvidas em diversas aplicações biotecnológicas (Lomartire; Gonçalves, 2022). Sendo produtoras primárias globais e recursos sustentáveis, as algas marinhas são tidas como “máquinas biológicas” capazes de produzir materiais nutricionais e bioativos valiosos para o benefício humano (Ashkenazi et al., 2025). Espécies pertencentes ao filo *Chlorophyta*, com destaque para a *U. lactuca*, são particularmente valiosas para as indústrias alimentícia, cosmética, farmacêutica e nutracêutica (Lomartire; Marques; Gonçalves, 2021). Os polissacarídeos extraídos das algas, como ágar, carragenina, alginato, fucoidana, laminarina e U.n, já são empregados na indústria farmacêutica com o objetivo de substituir compostos sintéticos por compostos de origem natural. Além disso, polissacarídeos derivados de algas, como alginato e fucoidana, laminarina e porfirana, exibem efeitos prebióticos por modularem a microbiota intestinal (Yu; Yoshikuni, 2025; Patel et al., 2021).

O gênero *U.* possui distribuição mundial e é conhecido por ser oportunista, com alta resiliência à temperatura, o que lhe permite crescer rapidamente e se espalhar, sendo frequentemente associado à formação de florações massivas (*algal*

blooms). O potencial de tais florações é imenso, pois resultam em alta produção de biomassa, considerada uma fonte economicamente benéfica para a fabricação em larga escala de bioprodutos. (Rosic; Thornber, 2023; Puppín-Gonçalves et al., 2024)

O potencial biotecnológico da *U. lactuca* ainda estende-se à nanotecnologia verde e à produção de bioenergia, com a biomassa de *U. lactuca* podendo ser utilizada na biossíntese de celulose e na subsequente fabricação de nanocelulose (El-Sheekh et al., 2023). Adicionalmente, a biomassa de *U. lactuca* é um substrato para a síntese verde de nanopartículas metálicas (Dogmaz; Cavas, 2023a). Essas nanopartículas biogênicas têm sido aplicadas com sucesso na degradação fotocatalítica de pesticidas, como a cipermetrina, alcançando alta eficiência de degradação (91,2%) e demonstrando a capacidade de reutilização, o que realça seu potencial para o manejo ambiental sustentável (Arulsoosairaj; Kanagaraj Muthu-Pandian; Sengottayan, 2024). Outra aplicação industrial sustentável é a fabricação de nanopartículas de negro de fumo a partir de *U. lactuca* por meio de processos otimizados de hidrólise, carbonização e pirólise. O negro de fumo é amplamente utilizado na indústria automobilística tanto na produção de pneus e pigmentos quanto no campo eletrônico na produção de baterias, células combustíveis, supercapacitores, dentre outros (Sun et al., 2023). O negro de fumo derivado de *U. lactuca* possui um desempenho comparável ou superior ao negro de fumo comercial, se apresentando como uma alternativa sustentável frente àquele produzido a base de derivados de petróleo (Elmaghraby et al., 2024).

No campo da bioenergia, a biomassa residual de *U. lactuca* foi investigada como matéria-prima para a produção de bioetanol através de processos de hidrólise e fermentação utilizando *Saccharomyces cerevisiae*. A análise técnico-econômica da produção de bioetanol a partir de *U. lactuca* demonstrou viabilidade, destacando a importância de utilizar biomassa residual para desenvolver sistemas econômicos e ambientalmente sustentáveis (Gengiah et al., 2023). Além disso, a biomassa gerada por florações de *U. lactuca* foi proposta como uma solução alternativa para a produção de bio-hidrogênio via síntese verde de nanopartículas de prata, contribuindo para a redução das emissões de carbono (Dogmaz; Cavas, 2023b)

2.1.4 Propriedades bioativas

U. lactuca demonstra uma ampla gama de atividades biológicas, muitas das quais são influenciadas pelo solvente de extração e pela concentração. Dentre essas atividades, destacam-se os estudos que observaram a associação entre a exposição de modelos *in vivo* ou *in vitro* com atividades anti-inflamatória, antimicrobiana, anti-hiperglicemiante e antitumoral.

As propriedades anti-inflamatórias dos extratos de *U. lactuca* são atribuídas em parte aos polissacarídeos sulfatados presentes nas algas (Margret; Kumaresan; Ravikumar, 2009). Dentre estas propriedades anti-inflamatórias, pode ser citada a modulação de citocinas por meio de extratos aquosos e etanólicos de *U. lactuca*, que demonstraram capacidade de inibir a inflamação mediada por lipopolissacarídeo (LPS) *in vitro*, além de apresentar efeitos cicatrizantes promissores *in vivo* (Wang; Huang; Tai, 2025). Essa ação se manifesta pela supressão da produção de citocinas Th1 pró-inflamatórias, como o Fator de Necrose Tumoral- α (TNF- α) e o Interferon- γ (IFN- γ). Simultaneamente, os extratos aumentaram a expressão de citocinas Th2, como o Fator de Crescimento Transformador- β 1 (TGF- β 1) e a Interleucina 10 (IL-10), que possuem um papel resolutivo na inflamação. Corroborando com este estudo, extratos mistos contendo *U. lactuca* exibiram propriedades imunomoduladoras em macrófagos alveolares suínos (PAMs) estimulados por LPS, resultando em uma regulação negativa significativa de IL-1 β e TNF- α , e uma tendência de aumento no TGF- β (Frazzini et al., 2025).

Estudos recentes demonstraram que esta macroalga possui uma potente atividade antibacteriana *in vitro* (Kumaravelu et al., 2024; Rima et al., 2022). Dentre os diferentes extratos já avaliados, o extrato de acetato de etila de *U. lactuca* (ULEA) se destaca por exibir uma a maior atividade antibacteriana contra patógenos clinicamente relevantes, como *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* (Kumaravelu et al., 2024). No contexto de patógenos multirresistentes (MDR), o extrato metanólico de *U. lactuca* mostrou-se promissor contra isolados de *Klebsiella pneumoniae*, com um diâmetro de zona de inibição de 14,04 mm e uma Concentração Inibitória Mínima (CIM) de 1,25 mg.ml⁻¹ suficiente para prevenir o crescimento bacteriano visível (El-Sayed; El-Sheekh; Makhlof, 2023). Além disso, o extrato de *U. lactuca* é considerado potencialmente útil no combate a

infecções em feridas causadas por *Staphylococcus aureus* resistente à metilicina (MRSA), um patógeno que apresenta baixas taxas de recuperação devido à ineficácia de muitos antibióticos convencionais (Ardita et al., 2021). Esta capacidade é atribuída à presença de metabólitos secundários na alga, como alcalóides, triterpenoides, esteróides, saponinas, taninos, flavonoides e compostos fenólicos, que atuam tanto como agentes antibacterianos (taninos e alcalóides) quanto anti-inflamatórios (Guo et al., 2018; Wang et al., 2018).

Uma análise feita a partir de macroalgas retiradas da praia de Enseada dos Corais, Cabo de Santo Agostinho, PE demonstrou que o extrato bruto de *U. lactuca* exibiu alta atividade antifúngica contra as leveduras *Candida glabrata* e *Cryptococcus neoformans*, embora neste estudo em específico não tenha tido atividade antibacteriana (Craveiro, 2023)

Outro aspecto acerca do potencial antimicrobiano de *U. lactuca* é sua capacidade de atuar em sinergia com antibióticos existentes. Estudos indicaram que a combinação do extrato metanólico de *U. lactuca* com gentamicina pode alcançar o sinergismo máximo contra *K. pneumoniae*. O mecanismo de ação dessa combinação foi visualizado por microscopia eletrônica de transmissão (MET), mostrando que o tratamento conjunto pode causar deteriorações morfológicas graves nas células bacterianas, como desintegração das camadas da membrana, células rompidas e vazamento citoplasmático, resultando numa redução significativa no tamanho da célula (El-Sayed; El-Sheekh; Makhlof, 2023). Contra *P. aeruginosa*, o ULEA também demonstrou um promissor efeito sinérgico com a tobramicina, reforçando a ideia de que a macroalga pode ser usada para aumentar a eficácia dos tratamentos antibióticos (Rima et al., 2022)

A atividade antibiofilme é outra propriedade de destaque observada nos estudos de Rima et al., 2022, visto que a formação de biofilmes é um mecanismo crucial de resistência em microrganismos patogênicos (Huemer et al., 2020). O ULEA e o extrato de ciclo-hexano de *U. lactuca* foram identificados como fontes promissoras de agentes antibiofilme, demonstrando a capacidade de inibir a formação de biofilmes e até mesmo erradicar biofilmes maduros de *P. aeruginosa*. Análises microscópicas sugeriram que esses extratos ativos exercem um mecanismo de ação distinto no biofilme.

Além do mais, *U. lactuca* também possui um potencial antidiabético significativo, explorado através da inibição de enzimas digestivas, da modulação de

vias metabólicas e da regulação da microbiota intestinal (Chen et al., 2022). A principal propriedade hipoglicemiante observada *in vitro* reside na capacidade dos extratos de *U. lactuca* de inibir a α -amilase e a α -glucosidase, enzimas cruciais para a digestão de carboidratos, auxiliando no controle da hiperglicemia pós-prandial (Oliveira et al., 2021). O extrato metanólico destacou-se como o inibidor mais potente dessas enzimas, apresentando eficácia estatisticamente similar à do medicamento Acarbose. Além disso, ULEA exibiu a maior inibição da α -glucosidase, com um valor de IC₅₀ de 45.59 g.mL⁻¹. A atividade biológica mais profunda está associada aos polissacarídeos de *U. lactuca*. Em modelos de camundongos com diabetes tipo 2 associada ao envelhecimento, os ULP demonstraram um efeito anti-hiperglicêmico e antienvelhecimento, aliviando a doença ao melhorar a tolerância à insulina, aumentar a atividade de enzimas antioxidantes como SOD e CAT e reduzir os níveis de glicose no sangue. Este mecanismo envolve a regulação da expressão genética, com o ULP promovendo a expressão de INSR (receptor de insulina) e AMPK, e inibindo JNK, JAK, STAT3, p16 e p38, melhorando a disfunção do metabolismo da glicose (Ruan et al., 2023). Adicionalmente ao controle glicêmico, os ULP têm sido estudados por sua ação em comorbidades, como a obesidade e a dislipidemia. Os ULP foram capazes de inibir enzimas do metabolismo e absorção de lipídios, resultando na melhoria do perfil lipídico em ratos diabéticos, com redução de colesterol de baixa densidade (LDL, do inglês *low density lipoprotein*) e triglicerídeos, e aumento de colesterol de alta densidade (HDL, do inglês *high density lipoprotein*) (BelHadj et al., 2013)

Modelos de *docking molecular* confirmaram que fitoquímicos presentes na macroalga interagem com a α -amilase pancreática humana e a α -glucosidase, apesar de outras algas como *Sargassum cristaefolium* e *Tricleocarpa cylindrica* mostrarem um potencial anti-hiperglicêmico mais significativo (Ouahabi et al., 2024b)

Os extratos de *U. lactuca* apresentaram significativo potencial antitumoral e quimiopreventivo em diversas investigações, atuando por meio de mecanismos que envolvem a modulação da microbiota intestinal, o combate ao estresse oxidativo e a regulação de vias de apoptose. Extratos aquosos de *U. lactuca* já foram identificados como fontes promissoras de compostos, principalmente polissacarídeos sulfatados, que exibem atividades antitumorais (Ahmed; Hamdy; Alshehri, 2022).

Uma das neoplasias mais estudadas com relação ao extrato da alga é o carcinoma hepatocelular, no qual os ULP têm mostrado capacidade de suprimir o

crescimento tumoral. Em modelos de camundongos portadores de tumor, a administração de ULP aliviou o crescimento do tumor ao modular a composição da microbiota intestinal e de metabólitos (Qiu et al., 2023)

Em um estudo mais detalhado sobre o efeito dos ULP no carcinoma hepatocelular (Qiu et al., 2025), verificou-se que os ULP suprimem a proliferação celular ao modular a via miR-542-3p, levando à desregulação de SLC35F678. SLC35F6 é uma proteína que está super expressa no carcinoma hepatocelular e está associada a um prognóstico desfavorável, e ULP atuam aumentando a expressão de miR-542-3p, o que, por sua vez, inibe a expressão de SLC35F6 e aumenta significativamente os níveis da proteína TP53 (proteína pró-apoptótica). Essa regulação por meio do eixo miR-542-3p/SLC35F6/TP53 é um fator regulatório chave na supressão da progressão do carcinoma hepatocelular.

Além disso, os ULP demonstram um potencial sinérgico em tratamentos quimioterápicos; quando combinados com o 5-fluorouracil, potencializam a inibição das células tumorais e atenuam os danos causados pelo estresse oxidativo induzido pela quimioterapia. Essa combinação age inibindo a secreção de colágeno pela regulação negativa da expressão de SERPINH1, prejudicando assim a deposição da matriz extracelular (MEC) e, conseqüentemente, suprimindo a invasão e migração de células tumorais (Liao et al., 2025).

O potencial quimiopreventivo dos polissacarídeos de *U. lactuca* também foi evidenciado contra a carcinogênese mamária em ratas. Nesses modelos, os ULP preveniram alterações histopatológicas deletérias, como adenoma cístico papilar e hiperplasia do revestimento epitelial ductal (Abd-elrahman et al., 2017). O mecanismo preventivo é atribuído à capacidade extrato de aumentar a apoptose (pela elevação da proteína pró-apoptótica p53 e diminuição da anti-apoptótica bcl2), suprimir o estresse oxidativo e a inflamação, além de reforçar o sistema de defesa antioxidante. Em resumo, os ULP são reconhecidos como potenciais agentes naturais que, tanto isoladamente quanto em combinação com fármacos, podem modular o ambiente celular e molecular do tumor para suprimir a proliferação e progressão de diferentes tipos de câncer, como o carcinoma hepatocelular e a carcinogênese mamária.

As propriedades antioxidantes dos extratos de *U. lactuca* também foram extensivamente avaliadas *in vitro* através de ensaios químicos padronizados, como: 1) a atividade de sequestro de radicais livres DPPH

(2,2-Difenil-1-picril-hidrazila), 2) o ensaio de poder redutor, 3) a capacidade antioxidante total (TAC, do inglês *Total Antioxidant Capacity*), 4) a atividade de sequestro de radicais livres e 5) a capacidade de absorbância de oxigênio radical (ORAC, do inglês *Oxygen Radical Absorbance Capacity*) (Ismail et al., 2020; Mohapatra et al., 2016; Wang et al., 2024a; Yi et al., 2022). A quantificação e aplicação da capacidade antioxidante de *U. lactuca* revelam o seu potencial como aditivo bioativo, com diferentes solventes resultando em variações na eficácia. Além dos extratos fenólicos, os ULPs também tiveram suas atividades antioxidantes investigadas, embora, em comparação com polissacarídeos de outras algas, os filmes de ULPs tenham demonstrado uma atividade antioxidante inferior. No contexto de embalagens ativas de alimentos, o pó de *U. lactuca* foi incorporado em filmes compósitos à base de quitosana, em que a atividade antioxidante melhorou de forma dependente da concentração de ULP, conforme evidenciado pela alta capacidade de sequestro de radicais livres (Wang et al., 2024b). Essas descobertas posicionam os extratos de *U. lactuca* como potenciais ingredientes para aditivos em rações (devido aos seus efeitos antioxidantes e antibacterianos) (Hejna et al., 2024) e para o desenvolvimento de formulações farmacêuticas e nutraceuticas, aproveitando a sua capacidade de mitigar o estresse oxidativo.

2.2 *C. elegans* como um modelo experimental alternativo

2.2.1 A biologia do *C. elegans*

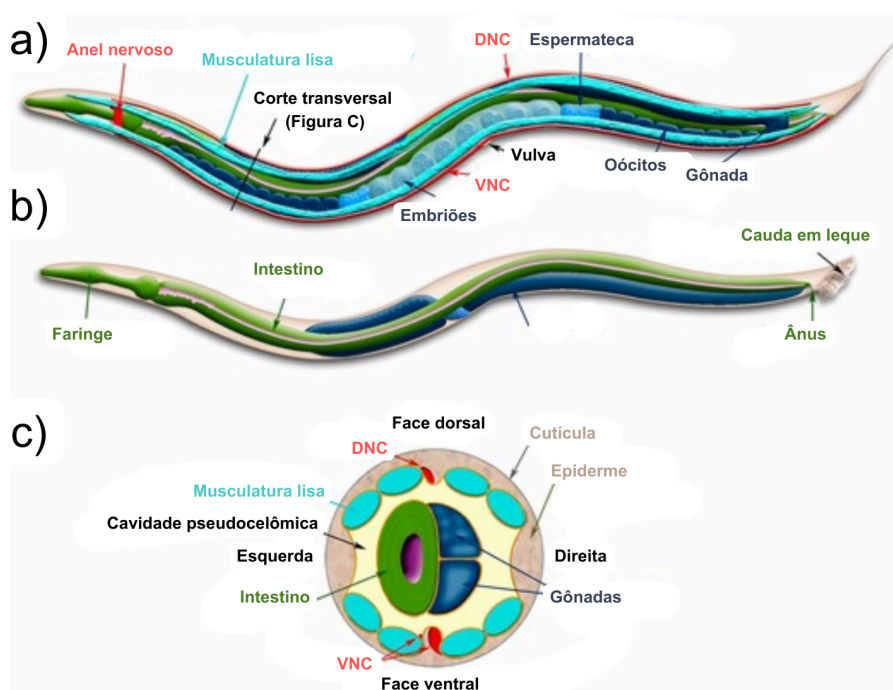
C. elegans é um organismo modelo amplamente utilizado na pesquisa científica, sendo um nematóide de vida livre que foi estabelecido há pouco mais de 50 anos por Sydney Brenner para desvendar questões fundamentais da biologia do desenvolvimento e neurobiologia (Brenner, 1974). Biologicamente, *C. elegans* possui várias características que o tornam um bom modelo experimental, a começar pelo seu pequeno tamanho (medindo aproximadamente 1 mm quando adulto grávido) e o seu corpo transparente, que permite a visualização direta do interior do nematoide, como embriões e oócitos em desenvolvimento no útero (Corsi; Wightman; Chalfie, 2015) (Figura 2).

A transparência também auxilia na visualização da expressão de moléculas marcadas com repórteres fluorescentes (como o GFP, do inglês *green fluorescent protein*) em animais transgênicos (Chalfie et al., 1994). O ciclo de vida do *C. elegans*

é rápido, passando tipicamente por quatro estágios larvais (L1 a L4) até o adulto reprodutivo em cerca de 3 dias (a 20 °C), com uma vida útil (*lifespan*) de aproximadamente três semanas (Ma et al., 2018) (Figura 3).

Este verme é predominantemente hermafrodita e autofecundante, embora uma pequena percentagem (~0,1%) seja composta por machos (Emmons, 2014). Em adultos, os dois sexos podem ser distinguidos pela maior circunferência corporal e cauda mais arredondada do hermafrodita (Figura 2a), enquanto os machos são mais delgados e possuem a cauda mais fina e em leque (Figura 2b).

Figura 2 - Anatomia do *C. elegans*



Adaptado de Altun; Hall, 2009; Corsi; Wightman; Chalfie, 2015b

Principais características anômicas de um animal hermafrodita (a) e macho (b) vistos lateralmente.

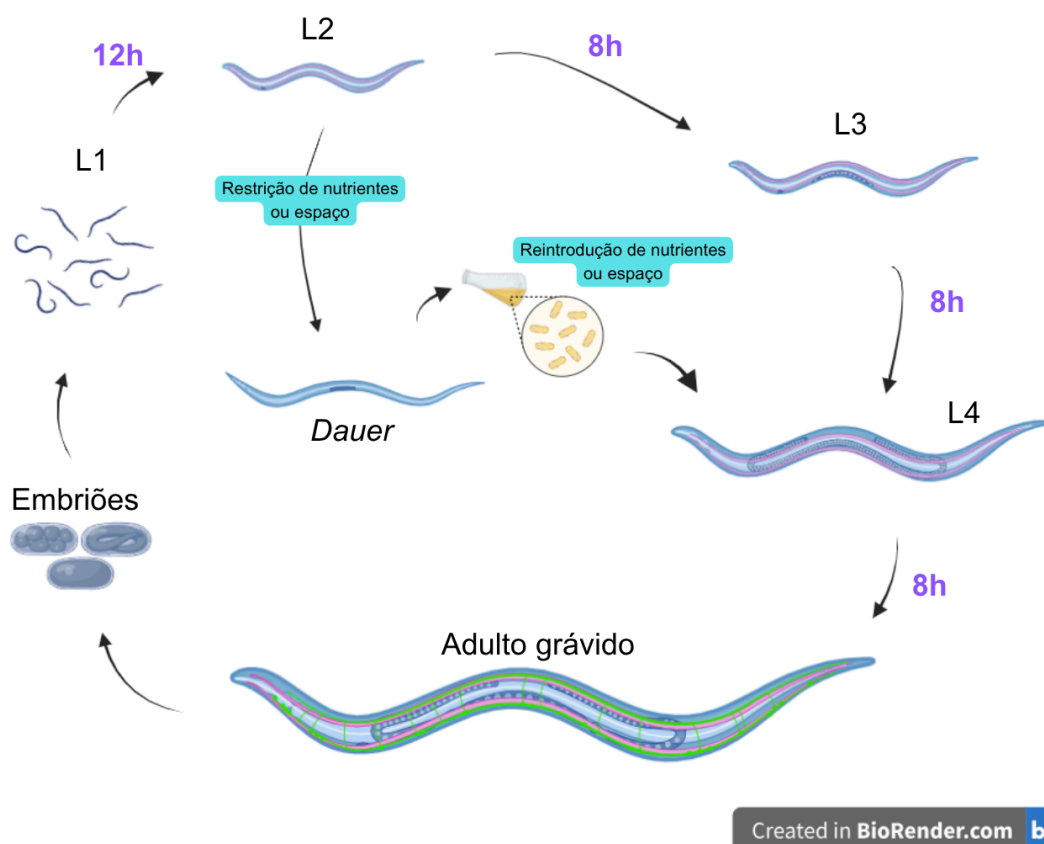
O cordão nervoso dorsal (DNC, *dorsal nerve cord*) e o cordão nervoso ventral (VNC, *ventral nerve cord*) se estendem ao longo do corpo do animal a partir do anel nervoso. Dois dos quatro quadrantes da musculatura lisa da parede do corpo são mostrados (a). Na figura 2b o sistema nervoso e os músculos estão omitidos, permitindo a visualização da faringe e do intestino, além da cauda em leque que é característica do nematoide macho (b). O corte transversal da região anterior do *C. elegans* hermafrodita mostra os quatro quadrantes de musculatura lisa envolvidos pela epiderme e cutícula, com o intestino e gônadas na cavidade pseudocelômica.

Em resposta a condições ambientais desfavoráveis, como a superpopulação ou a escassez de alimentos, as larvas podem entrar num estágio alternativo de

desenvolvimento, conhecido como *dauer*, no qual se tornam resistentes ao estresse e podem sobreviver por vários meses antes de regressar ao ciclo de vida normal quando as condições melhoram (Golden; Riddle, 1984; Pandey et al., 2021). O hermafrodita adulto possui um destino celular fixo e invariante, composto por 959 células somáticas pós-mitóticas. Destas, uma grande parte é dedicada ao sistema nervoso, que inclui 302 neurônios e 56 células gliais, ligadas por cerca de 7600 sinapses (Taylor et al., 2021; Zhang; Yan, 2022). Este sistema utiliza neurotransmissores conservados como dopamina, GABA, acetilcolina e glutamato, cujas interações são análogas às encontradas nos mamíferos (Brownlee; Fairweather, 1999; Naranjo-Galindo et al., 2022).

O genoma do *C.elegans* foi completamente sequenciado em 1998, revelando que cerca de 70% dos seus 19.000 genes têm homólogos em humanos, fator crucial para o seu papel como modelo de pesquisa. Devido ao conhecimento amplamente estabelecido do seu genoma e relativa facilidade de edição gênica em comparação com outros organismos, são produzidos Organismos Geneticamente Modificados (OGMs) via CRISPR/Cas9 que expressem ou que tenham *knock out* de moléculas de interesse (Nance; Frøkjær-Jensen, 2019; Praitis; Maduro, 2011). Os fatos mencionados e a profunda conservação de vias moleculares tornaram-no importante para a pesquisa que abrange desde as funções celulares básicas até a compreensão de algumas doenças humanas. *C. elegans* tem emergido também como um modelo poderoso para a epigenética ambiental, toxicologia e pesquisa de genes subjacentes a traços quantitativos, consolidando a sua posição como uma plataforma versátil para a ciência moderna. As vantagens experimentais do nematoide em comparação com outros modelos em pesquisa e suas similaridades com os processos celulares e moleculares de outros animais tornaram o *C. elegans* um excelente organismo para estudar a biologia geral e a saúde humana.

Figura 3 - Ciclo de vida do *C. elegans*



Adaptado de (Corsi; Wightman; Chalfie, 2015). Feito com [Biorender.com](https://www.biorender.com).

Os animais aumentam de tamanho ao longo dos estágios larvais. Em aproximadamente 12 horas, os vermes L1 evoluem para L2. Após cerca de 8h, os vermes em L2 evoluem para L3, e da mesma forma de L3 para L4. Os animais hermafroditas iniciam o desenvolvimento da vulva em L4, e 8h após chegam ao último estágio do ciclo de vida: adultos grávidos. Os adultos grávidos então realizam a ovoposição e os ovos eclodem em larvas L1, reiniciando o ciclo.

2.2.2 A utilização do *C. elegans* em ensaios de toxicidade

O *C. elegans* é utilizado como uma poderosa plataforma para avaliação de toxicidade, especialmente de poluentes ambientais e nanomateriais, funcionando como uma ponte essencial entre testes *in vitro* e estudos *in vivo* em mamíferos (Yao; Zhang; Tang, 2022). Nos ensaios de toxicidade, diversos parâmetros são avaliados, refletindo a saúde do organismo como um todo. A taxa de sobrevivência e a longevidade (*lifespan*) são medidas cruciais de toxicidade aguda e crônica, frequentemente empregadas em estudos de exposição prolongada (Cornwell;

Samuelson, 2020; McDonough; Guo; Guo, 2021). O crescimento e o desenvolvimento, analisados ao longo do tempo de desenvolvimento pós-embrionário e do tamanho corporal, são parâmetros sensíveis para avaliar os efeitos tóxicos (Duran-Izquierdo et al., 2022; Filina et al., 2022). A toxicidade reprodutiva (DART, do inglês *Developmental and Reproductive Toxicity*) é particularmente bem estudada, sendo mensurada principalmente pela contagem de prole (*brood size*), mas também pela avaliação de apoptose de células germinativas e pelo surgimento de fenótipos como *Bag of Worms* (Kim; Moon; An, 2018; Kwah; Jaramillo-Lambert, 2023; Yang et al., 2018). Ensaio multigeracionais ou transgeracionais são empregados para rastrear a herança da toxicidade em gerações não expostas, investigando mecanismos como mutações genômicas e alterações epigenéticas, como a metilação de histonas (Wamucho; Heffley; Tsyusko, 2020).

C. elegans também se mostra um modelo ideal para estudos de neurotoxicidade, pois, apesar de possuir um sistema nervoso relativamente simples em comparação com animais vertebrados, pode trazer muitas respostas para problemas humanos. A função neuronal é testada através de ensaios comportamentais de locomoção, como a medição da frequência de movimentos da cabeça (*head thrashes*) e das curvas corporais (*body bends*), ou a velocidade de rastejamento, que podem ser rastreadas usando sistemas automatizados como o wDAT e wAAT (do inglês *worm development activity test* e *worm adult activity test*, respectivamente) (Camacho et al., 2024; Zheng; Chen; Aschner, 2022). Ensaio mais específicos, como a resposta de redução da velocidade basal (*basal slowing response*) ou o teste de esquia ao etanol, são utilizados para avaliar a função de neurônios dopaminérgicos (Cooper et al., 2017; Liang; Zhao, 2024)

Em um nível mecanístico, os ensaios se concentram na resposta celular ao estresse. O estresse oxidativo é o mecanismo de toxicidade mais comum, sendo monitorado pelo acúmulo de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs), que pode ser quantificado por corantes sensíveis (como DHE) ou por cepas transgênicas fluorescentes que ativam a expressão de GFP em resposta ao estresse (e.g., CL2166 ou VP596, que relatam a expressão de *gst-4* ou *skn-1*) (Camacho et al., 2024; Naranjo-Galindo et al., 2022). A resistência do organismo é avaliada por ensaios de estresse abiótico, como exposição a altas temperaturas (estresse térmico), alta salinidade (estresse osmótico) ou agentes oxidantes químicos, como o

Paraquat (Cooper et al., 2017; Marsova et al., 2020). O dano oxidativo cumulativo também pode ser avaliado pela medição da carbonilação proteica e acúmulo de lipofuscina (Hu et al., 2021). Técnicas como metabolômica e análise de expressão gênica (multi-ômicas) são cruciais para delinear o modo de ação tóxico em um nível molecular, identificando perturbações no metabolismo de aminoácidos, distúrbios de membranas, dano ao DNA e disfunção mitocondrial (Hastings et al., 2019; Kim et al., 2019; Wang et al., 2022);

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Caracterizar a toxicidade de extratos brutos de *Ulva lactuca* através de um modelo experimental com *C. elegans*.

3.1 Objetivos Específicos

- Avaliar a toxicidade do extrato por meio da taxa de sobrevivência dos nematoides ao longo do seu ciclo de vida;
- Investigar os efeitos em parâmetros fisiológicos através dos ciclos de defecação, batimentos faríngeos e desenvolvimento larval;
- Avaliar possíveis alterações comportamentais por meio da análise dos movimentos corporais;
- Determinar efeitos do extrato na reprodução do verme através da contagem de ovos dos vermes gravídicos (ovo-produção);
- Correlacionar a concentração do extrato com os efeitos observados a fim de estabelecer relações de dose-resposta;

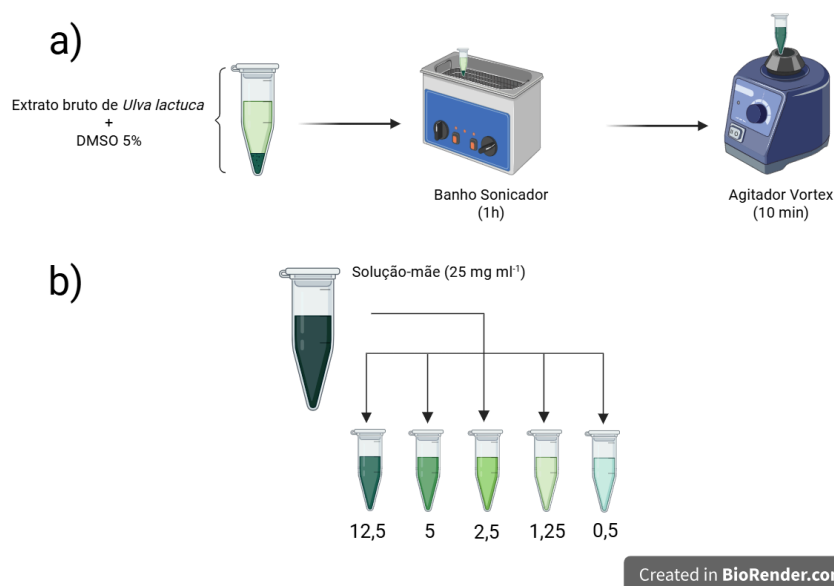
4 METODOLOGIA

4.1 Manutenção dos nematoides

Os vermes selvagens (N2, Bristol) obtidos no Centro de Genética C. (CGC) foram mantidos em condição padrão em incubadora BOD (do inglês, *biochemical demand oxygen*), a 20°C no Instituto Keizo Asami (iLIKA - UFPE). As placas de cultivo (placas de Petri) contêm o meio NGM (do inglês, *nematode growth medium*), composto por ágar bacteriológico, peptona, NaCl, tampão KPO_4 , $MgSO_4$, $CaCl_2$, colesterol e estreptomicina. Ademais, as placas são semeadas com bactéria *Escherichia coli* OP50, utilizada como fonte alimentar do *C. elegans*. Os animais no primeiro estágio larval (L1) serão obtidos através do método de sincronização (Porta-de-la-Riva et al, 2012), no qual nematoides grávidos são lisados por meio de uma solução de *bleaching* ($NaClO$ 2%, $NaOH$ e água destilada) a fim de obter os ovos, que serão deixados por 12h em tampão M9 (KH_2PO_4 , Na_2HPO_4 , $NaCl$ e H_2O) para eclodirem as larvas. Posteriormente, as placas de cultivo contendo os vermes foram colocadas em incubadora BOD durante todo o período do experimento.

4.2 Obtenção do extrato bruto de *U. lactuca*

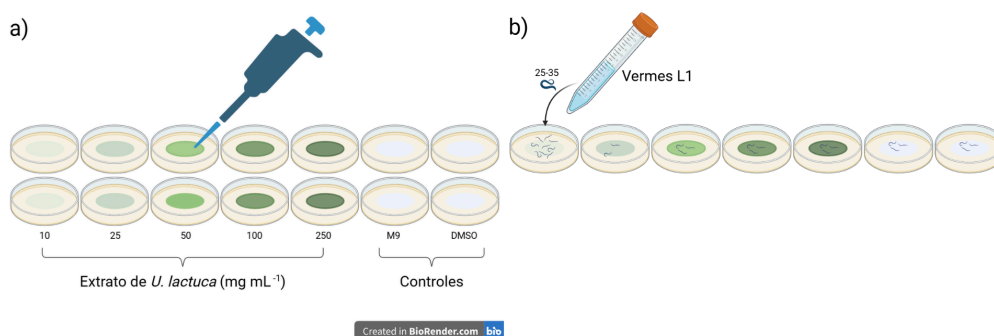
Amostras da macroalga foram coletadas da praia de Enseada dos Corais, na cidade de Cabo de Santo Agostinho, Pernambuco (08°19'09.6' S, 034°56'53.7' O), localizada no nordeste do Brasil (De Vasconcelos et al, 2016). As algas foram coletadas aleatoriamente, lavadas com a água do mar e guardadas em recipientes com gelo para conservação durante o transporte até o laboratório. No laboratório, foram lavadas em água corrente e deixadas para secar em temperatura ambiente, e então moídas até se obter um pó. A partir do pó, os extratos foram obtidos com uma solução de 2:1 de diclorometano e metanol por 72 horas. Passado este período, os extratos foram filtrados e o solvente removido por evaporação sob as condições de 40°C e pressão reduzida em um evaporador rotativo (Craveiro et al, 2025). Depois desse processo, os extratos foram solubilizados em dimetilsulfóxido (DMSO) a 5% para a obtenção das concentrações iniciais desejadas para os ensaios *in vivo* (Figura 4). As amostras diluídas em DMSO 5% foram mantidas refrigeradas entre -2°C e -8°C e protegidas da luz a fim de evitar a fotodegradação.

Figura 4 - Diluição dos extratos de *U. lactuca*

Representação esquemática da solubilização dos extratos brutos de *U. lactuca* para obtenção da solução-mãe (a) e diluição dos extratos para a obtenção das diferentes concentrações iniciais utilizadas para se obter as concentrações finais dos ensaios (b).

4.3 Exposição do *C. elegans* ao extrato de *U. lactuca*

Diferentes concentrações iniciais (0.5, 1.25, 2.5, 5 e 12.5 mg mL⁻¹) foram pipetadas em placas de cultivo contendo 3 mL de meio NGM e semeadas com *E. coli* OP50, a fim de se obter concentrações finais de 10, 25, 50, 100 e 250 µg mL⁻¹ (considera-se que a concentração inicial é diluída nos 3 mL de meio de cultura quando o composto é disposto nas placas).

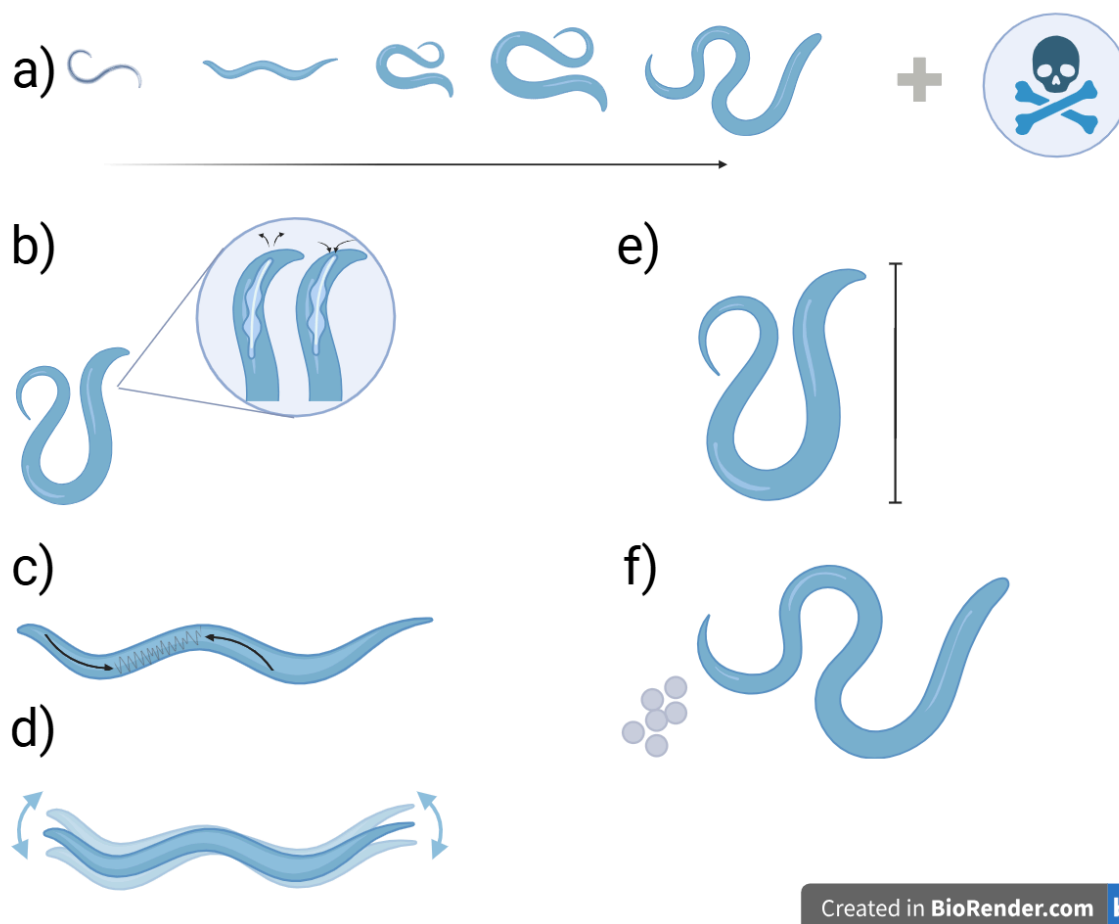
Figura 5 - Exposição do *C. elegans* ao extrato bruto de *U. lactuca*

Representação esquemática da disposição dos extratos nas placas (a) e exposição dos vermes em L1 nas placas tratadas (b).

4.4 Ensaios de toxicidade

Os parâmetros analisados permitem, através de sua análise individual e conjunta, a determinação do perfil de toxicidade de compostos.

Figura 6 - Ensaios de toxicidade realizados



Fonte: Autora (2025). Criado com BioRender.com.

Representação esquemática dos ensaios de toxicidade realizados em *C. elegans*. Desenvolvimento larval e taxa de sobrevivência ao longo do ciclo de vida (a), batimentos faríngeos (b), ciclos de defecação (c), motilidade (d), tamanho corporal (e) e ovo-produção (f).

4.4.1 Sobrevivência e desenvolvimento larval

Contagem dos nematoides vivos e mortos e contagem dos estágios larvais L1, L2, L3, L4 e adultos grávidos nos períodos de 0, 24, 48 e 72 horas após a exposição, com a finalidade de observar os impactos do extrato na mortalidade e desenvolvimento dos animais (Figura 6a) (Park; Jung; Lee, 2017).

4.4.2 Comportamento alimentar (Batimento faríngeo)

A avaliação do batimento faríngeo indica o comportamento alimentar dos nematoides quando expostos ao extrato. A contagem foi realizada individualmente três vezes para cada 10 vermes por 10 segundos, e a média de batimentos a cada 10 segundos foi normalizada para batimentos por minuto (Figura 6b) (Rodríguez-Palero et al., 2018; Shanmugam; Kapahi, 2024)

4.4.3 Ciclos de defecação

A análise do ciclo de defecação é realizada por meio da contagem do tempo entre uma defecação e a próxima. Um ciclo normal tende a durar cerca de 50 segundos entre uma defecação e outra. As análises foram realizadas em triplicata (Figura 6c) (Riddle et al, 1997).

4.4.4 Movimentos corporais (*body bends*)

A avaliação da movimentação corporal dos nematódeos é importante para determinar como a exposição ao extrato pode comprometer sua locomoção (Wang; O'Rourke; Ruvkun, 2008). A contagem dos movimentos corporais foi realizada por meio da percepção visual das viradas de cabeça (*head thrashes*), nas quais duas *head thrashes* correspondem a um *body bend*. Foram contados movimentos corporais dos vermes a cada 20 segundos, e então normalizados para movimentos por minuto (Figura 6d).

4.4.5 Tamanho do corpo

O ensaio de medição do tamanho corporal dos animais foi realizado para avaliar o impacto da exposição no desenvolvimento corporal (Figura 6e). As medições serão realizadas em nematódeos no estágio L4 a partir de imagens obtidas com a câmera de microscópio HAYEAR 8MP USB3.0 CMOS, utilizando o software ImageJ (National Institutes of Health - NIH) (Mörck; Pilon, 2006)

4.4.6 Ovo-produção

O ensaio de ovo-produção foi realizado a fim de contabilizar a quantidade de ovos produzida por verme. O procedimento foi feito com os animais adultos grávidos (72 horas de desenvolvimento), que tem sua cutícula lisada pela solução de

bleaching para a liberação dos ovos. Este processo facilita a contagem dos ovos presentes no útero dos vermes (Figura 6f) (Gubert et al., 2013).

4.5 Análise estatística

A análise estatística e a elaboração dos gráficos foram realizadas no *software GraphPad Prism* versão 10.2. Para comparar os efeitos dos extratos, foi utilizado ANOVA (Análise de Variância) *one-way* e *two-way*, seguida do teste *post-hoc* de Bonferroni, considerando-se o nível de confiança de 95% ($p < 0,05$).

4.6 Comitê/Comissão de ética

Os estudos no invertebrado *C. elegans* dispensam a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

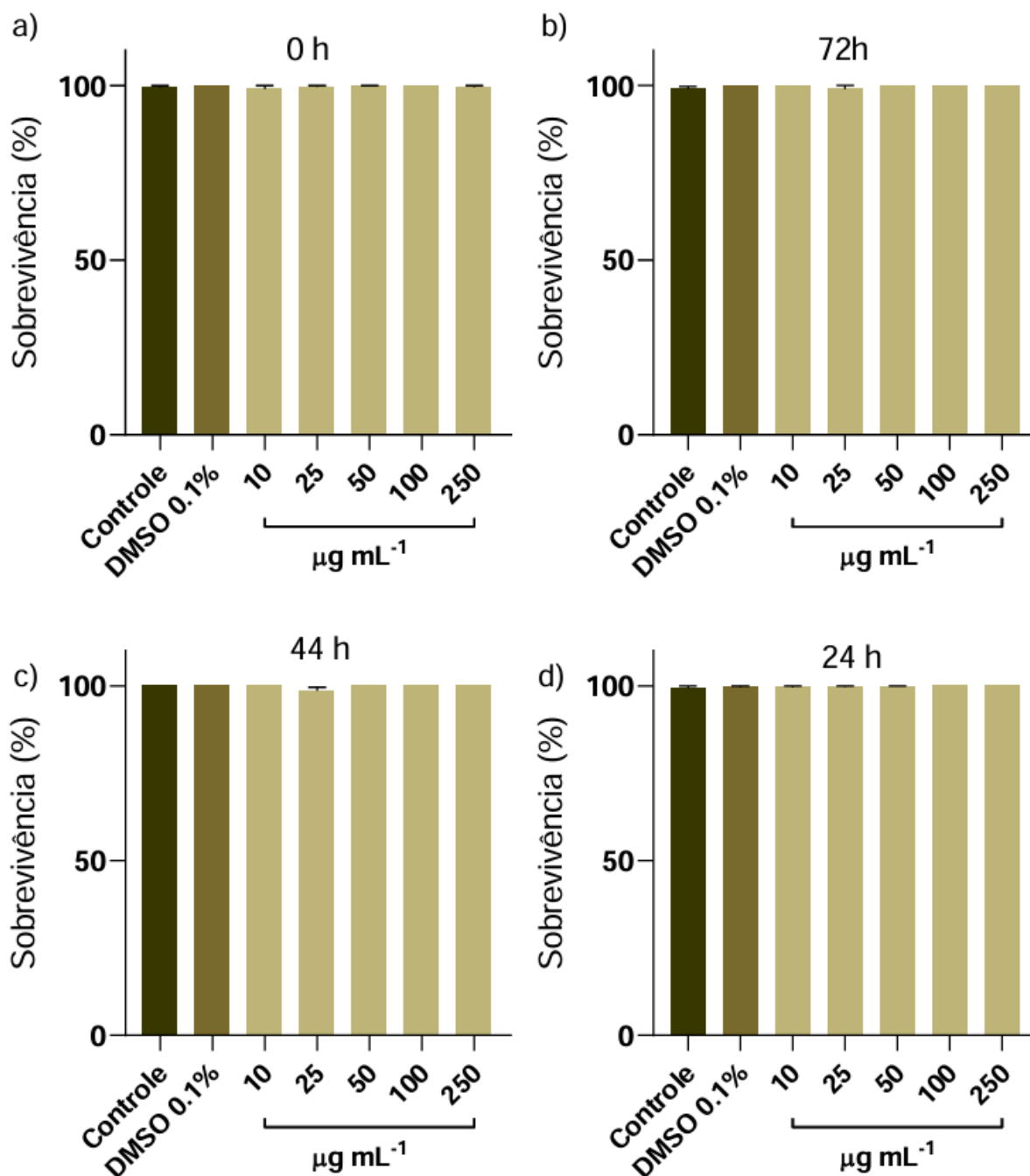
5.1 Efeitos da *U. lactuca* nas taxas de sobrevivência e desenvolvimento dos nematoides

Para investigar os impactos do extrato da macroalga na sobrevivência e desenvolvimento, foram observadas as taxas de sobrevivência ao longo de uma semana, a fim de avaliar os efeitos em todos os estágios larvais de *C. elegans*.

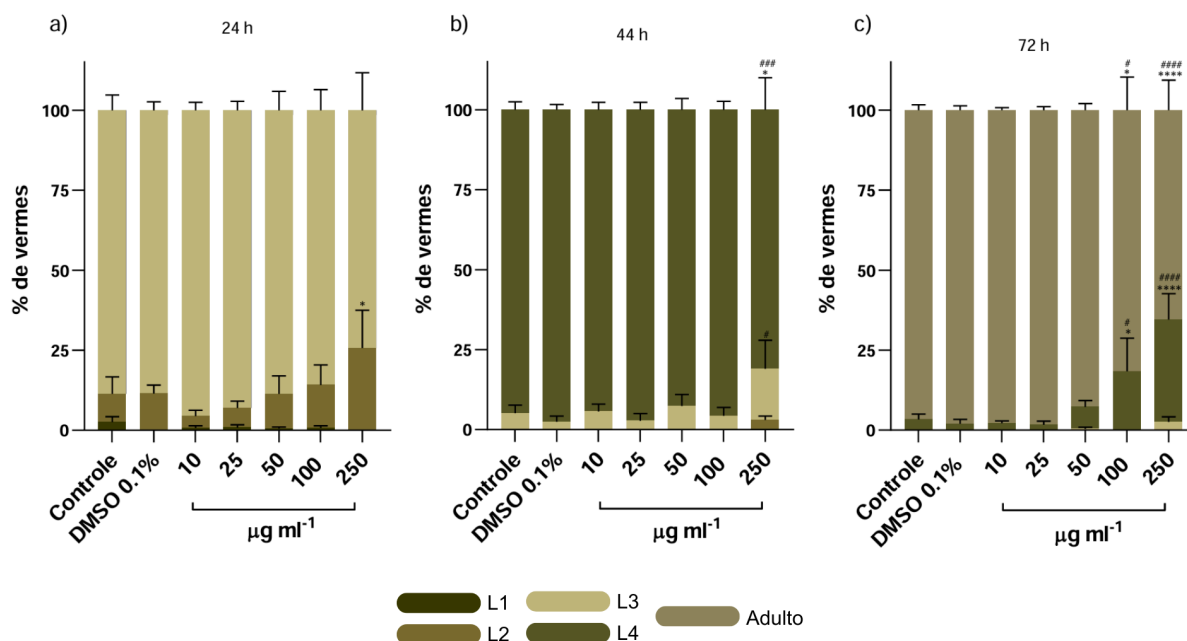
Os gráficos (Figura 7) demonstram que a exposição ao extrato ao longo do tempo não revelou significância estatística em relação aos controles utilizados. Os ensaios de sobrevivência são a porta de entrada para a triagem da toxicidade de compostos e moléculas em *C. elegans*, sendo importantes para a escolha de uma concentração segura e para a determinação da concentração letal para 50% da população (LC50) de compostos tóxicos (Hunt, 2017; Park; Jung; Lee, 2017).

Para avaliar os efeitos do extrato a longo prazo, foi realizado um ensaio para a quantificação de animais em cada estágio larval por dia (Figura 8). O esperado é que em 24 horas os vermes estejam, em sua maioria, no estágio larval L3 e alguns em L2. Em 48h, espera-se que a maioria esteja em L4 e em 72h espera-se que a grande maioria esteja no estágio de adulto grávido.

Figura 7 - Taxas de sobrevivência ao longo do ciclo de vida de *C. elegans*



Percentual de sobrevivência dos vermes imediatamente após a exposição (a), 24 horas após a exposição (b), 44 horas após a exposição (c) e 72 horas após a exposição (d). Os dados estão representados com o erro padrão como medida de dispersão. A significância estatística foi determinada por ANOVA de fator único seguida do teste *post-hoc* de Bonferroni.

Figura 8 - Desenvolvimento larval ao longo do ciclo de vida de *C. elegans*

Distribuição dos vermes ao longo dos estágios de desenvolvimento (L1, L2 e L3) 24 horas após a exposição (a), 44 horas após a exposição (L2, L3 e L4) (b) e 72 horas após a exposição (L3, L4 e adulto) (c). Os dados estão representados com o erro padrão como medida de dispersão. # representa a significância estatística em relação ao DMSO 0,1% e * representa a significância estatística em relação ao controle. A significância estatística foi determinada por ANOVA de dois fatores seguida do teste *post-hoc* de Bonferroni. * $p < 0,05$, *** $p < 0,001$, e **** $p < 0,0001$; # $p < 0,05$, ### $p < 0,001$, e #### $p < 0,0001$.

Os dados apresentados demonstram que 24 horas após a exposição (Figura 8a), houve um atraso significativo ($p = 0,0497$), que é demonstrado pela quantidade aumentada de vermes em L2 com relação ao controle na concentração de 250 µg mL⁻¹. Passadas 44 horas da exposição (Figura 8b), observa-se um atraso no desenvolvimento que se dá pela quantidade reduzida de vermes em L4 e aumento na quantidade de animais em L3 na concentração de 250 µg mL⁻¹. A significância estatística observada em L3 se deu em relação ao DMSO 0,1% ($p = 0,0143$), enquanto em L4 observou-se diferença estatística tanto em relação ao controle ($p = 0,0101$) quanto em relação ao DMSO 0,1% ($p = 0,0008$). Com 72 horas passadas da exposição (Figura 8c), é possível notar que ambas as concentrações de 100 e 250 µg mL⁻¹ induziram o atraso no desenvolvimento. Na concentração de 100 µg mL⁻¹, o

aumento significativo na quantidade de animais em L4 com relação ao controle e ao DMSO 0,1% ($p = 0,0421$ e $p = 0,0163$, respectivamente) reflete na redução na quantidade de vermes adultos com relação ao controle e ao DMSO 0,1% ($p = 0,420$ e $p = 0,0163$, respectivamente). De maneira semelhante, porém com um maior impacto no desenvolvimento larval, a concentração de $250 \mu\text{g mL}^{-1}$ induziu o maior atraso no desenvolvimento dos vermes em L4 ($p < 0,0001$ com relação ao controle e com relação ao DMSO 0,1%) e consequentemente uma diminuição no percentual de animais adultos em relação ao controle e ao DMSO 0,1% ($p < 0,0001$ para ambos).

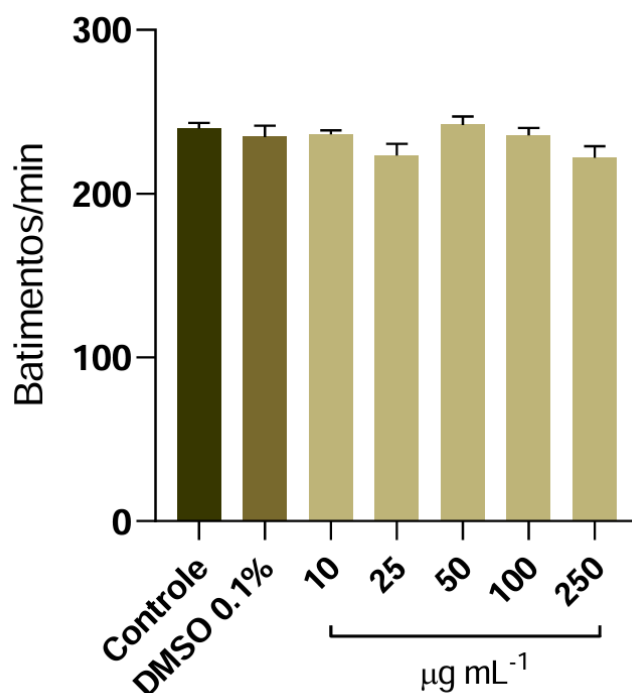
É possível perceber que os efeitos da exposição ao extrato de *U. lactuca* no desenvolvimento larval são cumulativos ao longo do tempo, vide as maiores significâncias estatísticas com 72 horas de exposição (Figura 8c), o que pode indicar uma possível toxicidade do composto numa exposição a longo prazo. Observa-se também que as maiores concentrações (100 e $250 \mu\text{g mL}^{-1}$) foram capazes de atrasar o desenvolvimento, ao passo que as demais concentrações (10 , 25 e $50 \mu\text{g mL}^{-1}$) não demonstraram diferença significativa em nenhum dos dias observados.

5.2 Efeitos da *U. lactuca* nos parâmetros fisiológicos, comportamentais, morfométricos e reprodutivos de *C. elegans*

5.2.1 Comportamento alimentar

Os nematoides se alimentam através da sua faringe, e sua alimentação depende da ação de seus músculos faríngeos; os batimentos faríngeos ocorrem devido a ciclos de contração e relaxamento destes músculos, que podem ser medidos para determinar o ritmo no qual o animal está se alimentando (Raizen, 2012). A faringe é coordenada pelo sistema nervoso através de uma rede de 20 neurônios de 14 tipos diferentes que são dependentes do sistema nervoso extra-faríngeo e coordenam todas as sinapses dos músculos faríngeos (Trojanowski; Raizen; Fang-Yen, 2016). Além disso, é conhecido que o sistema colinérgico modula a atividade dos músculos faríngeos para controlar os ciclos de contração e relaxamento que permitem a entrada da comida (You et al., 2006).

Sendo assim, a análise dos batimentos faríngeos é crucial para o entendimento do comportamento alimentar de *C. elegans* e como alguns compostos ou condições ambientais podem alterá-lo.

Figura 9 - Ensaio de batimentos faríngeos

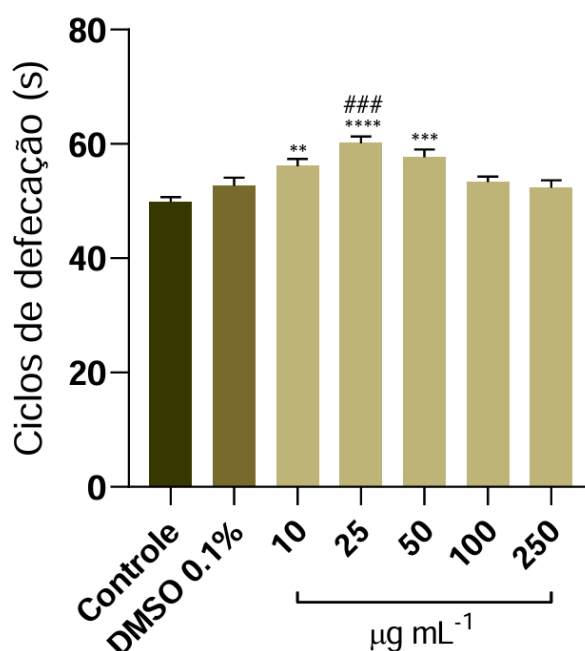
Contagem de batimentos faríngeos normalizada em minutos de vermes expostos a diferentes concentrações do extrato bruto de *U. lactuca*. Os dados estão representados com o erro padrão como medida de dispersão e a significância estatística foi determinada por ANOVA de fator único seguida do teste *post-hoc* de Bonferroni.

A contagem de batimentos faríngeos demonstrou que a exposição de *C. elegans* ao extrato de *U. lactuca* não promoveu alterações relevantes, isto é, não alterou o comportamento alimentar dos vermes em nenhuma das concentrações testadas no período (44 horas após a exposição) e estágio larval (L4) analisado (Figura 9). Como mencionado, os batimentos faríngeos são coordenados por um complexo que envolve a função neuromuscular da faringe, o sistema colinérgico e outros neurotransmissores. Desta forma, alterações neste parâmetro fisiológico podem fornecer valiosas informações acerca do funcionamento destes sistemas, tal qual a ausência de alterações, como mostra a figura 9, pode indicar que os mecanismos que regulam os músculos faríngeos estão saudáveis em *C. elegans*.

5.2.2 Ciclos de defecação

O ciclo de defecação é o padrão motor rítmico mais bem estudado em *C. elegans*. Na presença de alimento, o Programa Motor de Defecação (PMD) é composto por uma sucessão de contrações corporais e expulsões, que são rigorosamente repetidas aproximadamente a cada 50 segundos (Dal Santo et al., 1999; Iwasaki, 1997). Os mecanismos que regulam o PMD e sua periodicidade são, em suma, ondas de Ca^{2+} nas células intestinais que desempenham um papel importante no estímulo inicial do ciclo de defecação (Teramoto; Iwasaki, 2006).

Figura 10 - Análise de ciclos de defecação



Tempo médio entre defecações (ciclos de defecação), representada em segundos, dos vermes expostos a diferentes concentrações do extrato de *U. lactuca*. Os dados estão representados com o erro padrão como medida de dispersão. # representa a significância estatística em relação ao DMSO 0,1% e * representa a significância estatística em relação ao controle. A significância estatística foi determinada por ANOVA de fator único seguida do teste *post-hoc* de Bonferroni. ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, e **** $p < 0,0001$; ### $p < 0,001$.

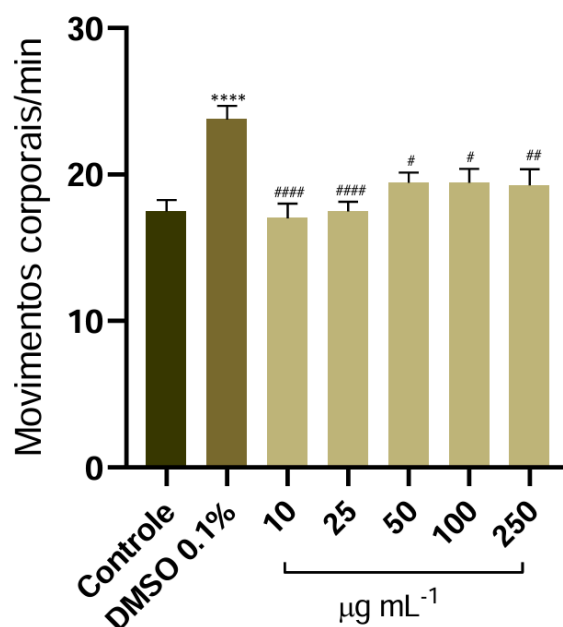
O gráfico da figura 10 mostra uma diferença estatística na concentração de 10 µg mL⁻¹ ($p = 0,0083$) com relação ao controle. Na concentração de 25 µg mL⁻¹, observa-se a maior diferença tanto com relação ao controle quanto com relação ao DMSO 0,1% ($p < 0,0001$ e $p = 0,0005$, respectivamente). A concentração de 50 µg mL⁻¹ também apresentou uma diferença significativa com relação ao controle ($p = 0,0002$). O aumento no tempo do ciclo de defecação observado nos resultados

demonstrados indica que há um espaçamento de tempo maior entre uma defecação e outra, isto é, nas concentrações de 10, 25 e 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ os animais demoraram mais entre uma defecação e outra com relação aos controles. Isso implica que aquilo que está sendo ingerido demora mais tempo no organismo do animal. Hipotetiza-se que nas maiores concentrações pode não ter havido uma ingestão tão eficiente do composto pelos vermes devido à dificuldade de ingerir o extrato em alta concentração, explicando o fato das maiores concentrações (100 e 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$) não terem promovido esse aumento de tempo entre uma defecação e outra.

5.2.3 Ensaio de motilidade

A análise da motilidade de *C. elegans* é uma ferramenta importante para verificar, de maneira quantitativa, o movimento corporal dos vermes (Sawin; Ranganathan; Horvitz, 2000). A locomoção requer uma atividade motora coordenada através do corpo do animal (Hallinen et al., 2021; Kim; Park; Lee, 2023).

Figura 11 - Ensaio de motilidade



Contagem de movimentos corporais normalizada em minutos de vermes expostos a diferentes concentrações do extrato bruto de *U. lactuca*. Os dados estão representados com o erro padrão como medida de dispersão. A significância estatística foi determinada por ANOVA de fator único seguida do teste *post-hoc* de Bonferroni. # representa a significância estatística em relação ao DMSO 0,1% e *

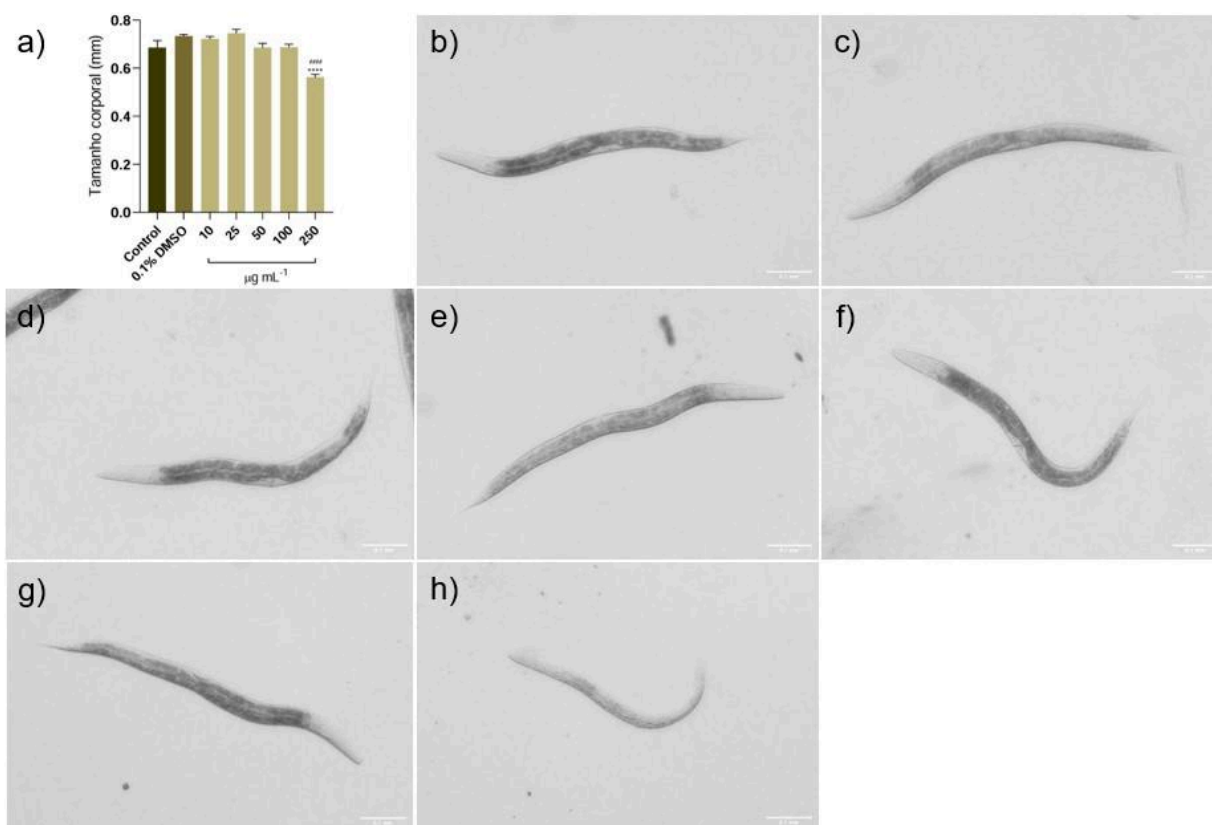
representa a significância estatística em relação ao controle. **** $p < 0,0001$; # $p < 0,05$, ## $p < 0,01$
$p < 0,001$.

O gráfico da figura 11 mostra a quantificação dos movimentos corporais normalizados em minutos. O grupo exposto ao DMSO 0,1% mostrou um aumento significativo na motilidade com relação ao controle ($p < 0,0001$). Devido ao significativo aumento no grupo DMSO 0,1%, todos os grupos tratados com o extrato bruto de *U. lactuca* apresentaram significância estatística com relação ao DMSO 0,1% (10 e 25 $\mu\text{g mL}^{-1}$: $p < 0,0001$; 50 e 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$: $p = 0,0134$; 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$: $p = 0,0088$). Hipotetiza-se que o extrato bruto de *U. lactuca* possa ter tido algum tipo de atividade protetora com relação ao aumento de motilidade promovido pelo DMSO 0,1%.

5.2.4 Tamanho corporal

O tamanho corporal de *C. elegans* serve como um parâmetro morfométrico indicativo do seu estado fisiológico, refletindo alterações na integridade dos tecidos que o constituem, equilíbrio metabólico e estado geral de saúde ao longo do ciclo de vida. Observa-se um aumento progressivo e controlado no tamanho corporal do animal ao longo de seu desenvolvimento, em condições fisiológicas. No entanto, alterações no tamanho do verme precedem ou são concomitantes a outros sinais de atraso, como alterações no *lifespan* e nas taxas de desenvolvimento larval (Lee et al., 2016; Zeidan et al., 2025).

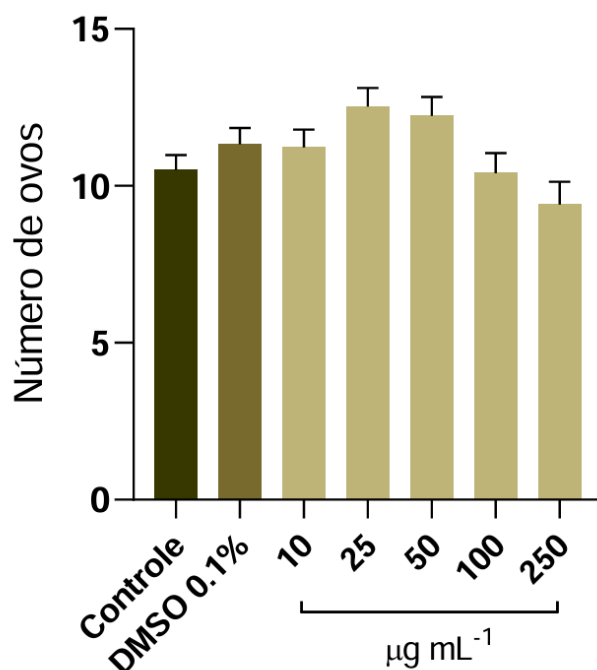
A análise do tamanho corporal de animais expostos às diferentes concentrações do extrato bruto de *U. lactuca* mostrou que na maior concentração testada (250 $\mu\text{g mL}^{-1}$) houve uma redução do tamanho corporal dos animais em L4 com relação ao controle e o DMSO 0,1% ($p < 0,0001$, para ambos) (Figura 12h). Este resultado está em concordância com os resultados de desenvolvimento larval (Figura 8), no qual há um atraso no desenvolvimento dos vermes que foram expostos à concentração de 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Figura 12 - Tamanho corporal

Quantificação do tamanho corporal de animais no estágio L4 expostos às diferentes concentrações do extrato de *U. lactuca* (a). Imagens representativas de um animal de cada grupo (b, c, d, e, f, g e h). Animal exposto ao controle (b); DMSO 0,1 % (c); 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (d); 25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (e); 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (f); 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (g) e 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (h). Imagens de microscopia óptica no aumento de 10x. As barras de escala medem 0,1 mm. Os dados estão representados com o erro padrão como medida de dispersão e a significância estatística foi determinada por ANOVA de fator único seguida do teste *post-hoc* de Bonferroni. **** $p < 0,0001$; ##### $p < 0,0001$.

5.2.5 Ensaio de ovo-produção

Os *C. elegans* hermafroditas são auto fecundantes, produzindo primeiro o esperma, que é estocado na espermateca, e só então os oócitos que serão fecundados. Os hermafroditas acumulam os ovos fertilizados no útero; um animal adulto acumula, em média, de 10 a 15 ovos. Sendo assim, o ensaio de ovo-produção permite a análise do número de ovos presentes no útero do animal adulto (Schafer, 2005).

Figura 13 - Ensaio de ovo-produção

Número de ovos contados de vermes grávidos expostos a diferentes concentrações do extrato bruto de *U. lactuca*. Os dados estão representados com o erro padrão como medida de dispersão e a significância estatística foi determinada por ANOVA de fator único seguida do teste *post-hoc* de Bonferroni.

O ensaio de ovo-produção permitiu a observação do número de ovos produzidos pelos animais grávidos em cada uma das concentrações testadas e nos controles (Figura 13). É possível perceber que não houve diferença estatística na quantidade de ovos entre os grupos. Portanto, considerando o parâmetro analisado, o extrato bruto de *U. lactuca* não induziu toxicidade reprodutiva nos animais.

6 CONCLUSÃO

Os ensaios de toxicidade com o nematoide *C. elegans* demonstraram que o perfil de toxicidade do extrato bruto de *U. lactuca* foi nulo, isto é, os estudos no invertebrado comprovaram que o extrato não exerce toxicidade relevante em concentrações seguras. Estudos futuros são recomendados para a verificação dos efeitos do extrato a nível molecular nos nematoides, tanto a fim de identificar

possíveis traços de toxicidade em biomoléculas quanto a fim de avaliar mecanismos de ação pelos quais o extrato exerce seus potenciais bioativos.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABD-ELRAHMAN, Gamal Eldein et al. U. lactuca polysaccharides prevent Wistar rat breast carcinogenesis through the augmentation of apoptosis, enhancement of antioxidant defense system, and suppression of inflammation. *Breast Cancer: Targets and Therapy*, v. Volume 9, p. 67–83, fev. 2017.

AHMED, Essam M.; HAMDY, Abdelhamid A.; ALSHEHRI, Bandar M. Bioprospection of Antiviral and Antitumor Compounds from Some Marine Algae from Egyptian Shores. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, v. 22, n. 9, p. 1813–1825, maio 2022.

ALADIĆ, Krunoslav et al. Chemical profiles of less-volatile organic compounds from the Adriatic Sea macroalgae obtained by supercritical CO₂ extraction. *Croatian journal of food science and technology*, v. 14, n. 2, p. 224–234, 15 dez. 2022.

ALLEN, E. et al. The potential of algae blooms to produce renewable gaseous fuel. *Waste Management*, v. 33, n. 11, p. 2425–2433, nov. 2013.

ALTUN, Z. F.; HALL, D. H. Introduction. In *WormAtlas*. 2009.

ARDITA, Nadya Fianny et al. Potential antimicrobial properties of the U. lactuca extract against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*-infected wounds: A review. *Veterinary World*, v. 14, n. 5, p. 1116–1123, maio 2021.

ARECO, María M.; SALOMONE, Vanesa N.; AFONSO, María Dos Santos. U. lactuca: A bioindicator for anthropogenic contamination and its environmental remediation capacity. *Marine Environmental Research*, v. 171, p. 105468, out. 2021.

ARULSOOSAIRAJ, Deva-Andrews; KANAGARAJ MUTHU-PANDIAN, Chanthini; SENGOTTAYAN, Senthil-Nathan. Phycogenic nanoparticles efficiently catalyse pesticide degradation through a novel metabolic pathway utilizing solar light. *Chemosphere*, v. 369, p. 143877, dez. 2024.

ASHKENAZI, Doron Yehoshua et al. Seaweeds of the Israeli Mediterranean Sea: Nutritional and Biotechnological Potential Through Seasonal and Species Variation. *Marine Drugs*, v. 23, n. 8, p. 320, 4 ago. 2025.

BELHADJ, Sahla et al. Inhibitory activities of U. lactuca polysaccharides on digestive enzymes related to diabetes and obesity. *Archives of Physiology and Biochemistry*, v. 119, n. 2, p. 81–87, maio 2013.

BEWS, Emily et al. Effects of salinity and nutrients on metabolism and growth of U. lactuca: Implications for bioremediation of coastal watersheds. *Marine Pollution Bulletin*, v. 166, p. 112199, maio 2021.

BEZERRA, Iverson Conrado et al. Synthesis and Physicochemical Stability of a Copaiba Balsam Oil (Copaifera sp.) Nanoemulsion and Prospecting of Toxicological

Effects on the Nematode *C. elegans*. ACS Omega, v. 9, n. 37, p. 39100–39118, 17 set. 2024.

BRENNER, S. THE GENETICS OF CAENORHABDITIS ELEGANS. Genetics, v. 77, n. 1, p. 71–94, 1 maio 1974.

BROWNLEE, David J. A.; FAIRWEATHER, Ian. Exploring the neurotransmitter labyrinth in nematodes. Trends in Neurosciences, v. 22, n. 1, p. 16–24, jan. 1999.

CAMACHO, Jessica A. et al. Assessment of the effects of cannabidiol and a CBD-rich hemp extract in *C. elegans*. Frontiers in Toxicology, v. 6, p. 1469341, 1 out. 2024.

CARPENTER, Robert C. COMPETITION AMONG MARINE MACROALGAE: A PHYSIOLOGICAL PERSPECTIVE. Journal of Phycology, v. 26, n. 1, p. 6–12, mar. 1990.

CHALFIE, Martin et al. Green Fluorescent Protein as a Marker for Gene Expression. Science, v. 263, n. 5148, p. 802–805, 11 fev. 1994.

CHEN, Yihan et al. Hypoglycaemic and anti-ageing activities of green alga *U. lactuca* polysaccharide via gut microbiota in ageing-associated diabetic mice. International Journal of Biological Macromolecules, v. 212, p. 97–110, jul. 2022.

COOPER, Jason F. et al. Activation of the mitochondrial unfolded protein response promotes longevity and dopamine neuron survival in Parkinson's disease models. Scientific Reports, v. 7, n. 1, p. 16441, 27 nov. 2017.

CORNWELL, Adam B.; SAMUELSON, Andrew V. Analysis of Lifespan in *C. elegans*: Low- and High-Throughput Approaches. In: CURRAN, Sean P. (Org.). Aging. Methods in Molecular Biology. New York, NY: Springer US, 2020. v. 2144 p. 7–27.

CORSI, Ann K.; WIGHTMAN, Bruce; CHALFIE, Martin. A Transparent Window into Biology: A Primer on *C. elegans*. Genetics, v. 200, n. 2, p. 387–407, 1 jun. 2015.

CRAVEIRO, Nykon. Macrofauna do fital: quais características das macroalgas controlam a comunidade macrobêntica associada? Doutorado—Departamento de Oceanografia: Universidade Federal de Pernambuco, 2023.

CRAVEIRO, Nykon et al. Chemical Compounds from Seaweeds on the Tropical Coast of Brazil. Journal of the Brazilian Chemical Society, 2025.

DAL SANTO, Paola et al. The Inositol Trisphosphate Receptor Regulates a 50-Second Behavioral Rhythm in *C. elegans*. Cell, v. 98, n. 6, p. 757–767, set. 1999.

DE VASCONCELOS, Edson Regis Tavares Pessoa Pinho et al. Padrão espacial da comunidade de macroalgas de mesolitoral em ambiente recifal do nordeste brasileiro. Tropical Oceanography, v. 41, n. 1–2, 30 nov. 2016.

DOGMAZ, Sema; CAVAS, Levent. Biohydrogen production via green silver nanoparticles synthesized through biomass of *U. lactuca* bloom. Bioresource Technology, v. 379, p. 129028, jul. 2023a.

DOGMAZ, Sema; CAVAS, Levent. Biohydrogen production via green silver nanoparticles synthesized through biomass of *U. lactuca* bloom. *Bioresource Technology*, v. 379, p. 129028, jul. 2023b.

DOMINGUEZ, Herminia; LORET, Erwann P. *U. lactuca*, A Source of Troubles and Potential Riches. *Marine Drugs*, v. 17, n. 6, p. 357, 14 jun. 2019.

DURAN-IZQUIERDO, Margareth et al. Hydroalcoholic extract of *Haematoxylum brasiletto* protects *C. elegans* from cadmium-induced toxicity. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, v. 22, n. 1, p. 184, dez. 2022.

ELMAGHRABY, Nehad A. et al. Fabrication of carbon black nanoparticles from green algae and sugarcane bagasse. *Scientific Reports*, v. 14, n. 1, p. 5542, 6 mar. 2024.

EL-SAYED, Abeer I. M.; EL-SHEEKH, Mostafa M.; MAKHLOF, Mofida E. M. Synergistic antibacterial effects of *U. lactuca* methanolic extract alone and in combination with different antibiotics on multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolate. *BMC microbiology*, v. 23, n. 1, p. 106, 18 abr. 2023.

EL-SHEEKH, Mostafa M. et al. Biosynthesis of cellulose from *U. lactuca*, manufacture of nanocellulose and its application as antimicrobial polymer. *Scientific Reports*, v. 13, n. 1, p. 10188, 22 jun. 2023.

EMMONS, Scott W. The development of sexual dimorphism: studies of the *C. elegans* male. *WIREs Developmental Biology*, v. 3, n. 4, p. 239–262, jul. 2014.

FILINA, Olga et al. Temporal scaling in *C. elegans* larval development. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 119, n. 11, p. e2123110119, 15 mar. 2022.

FRAZZINI, Sara et al. Seaweed-derived mixed extracts exhibit immunomodulatory properties on porcine alveolar macrophages. *Veterinary Journal (London, England: 1997)*, v. 312, p. 106358, ago. 2025.

GENGIAH, Kalavathy et al. Process and technoeconomic analysis of bioethanol production from residual biomass of marine macroalgae *U. lactuca*. *Science of The Total Environment*, v. 868, p. 161661, abr. 2023.

GOLDEN, James W.; RIDDLE, Donald L. The *C. elegans* dauer larva: Developmental effects of pheromone, food, and temperature. *Developmental Biology*, v. 102, n. 2, p. 368–378, abr. 1984.

GUBERT, Priscila et al. Behavioral and Metabolic Effects of the Atypical Antipsychotic Ziprasidone on the Nematode *C. elegans*. *PLoS ONE*, v. 8, n. 9, p. e74780, 19 set. 2013.

GUO, Zhao-Yu et al. Antibacterial Effects of Leaf Extract of *Nandina domestica* and the Underlined Mechanism. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 2018, n. 1, p. 8298151, jan. 2018.

HALLINEN, Kelsey M. et al. Decoding locomotion from population neural activity in moving *C. elegans*. *eLife*, v. 10, p. e66135, 29 jul. 2021.

HASTINGS, Janna et al. Multi-Omics and Genome-Scale Modeling Reveal a Metabolic Shift During *C. elegans* Aging. *Frontiers in Molecular Biosciences*, v. 6, p. 2, 6 fev. 2019.

HAYDEN, Hillary S. et al. Linnaeus was right all along: *U.* and *Enteromorpha* are not distinct genera. *European Journal of Phycology*, v. 38, n. 3, p. 277–294, ago. 2003.

HEJNA, Monika et al. Assessment of the antibacterial and antioxidant activities of seaweed-derived extracts. *Scientific Reports*, v. 14, n. 1, p. 21044, 9 set. 2024.

HU, Qian et al. Antioxidant capacity of flavonoids from *Folium Artemisiae Argyi* and the molecular mechanism in *C. elegans*. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 279, p. 114398, out. 2021.

HUEMER, Markus et al. Antibiotic resistance and persistence-Implications for human health and treatment perspectives. *EMBO reports*, v. 21, n. 12, p. e51034, 3 dez. 2020.

HUNT, Piper Reid. The *C. elegans* model in toxicity testing. *Journal of Applied Toxicology*, v. 37, n. 1, p. 50–59, jan. 2017.

ISMAIL, Gehan Ahmed et al. In vitro potential activity of some seaweeds as antioxidants and inhibitors of diabetic enzymes. *Food Science and Technology*, v. 40, n. 3, p. 681–691, set. 2020.

IWASAKI, K. Genetics in rhythm. *Trends in Genetics*, v. 13, n. 3, p. 111–115, mar. 1997.

KIM, Hyung Min et al. Metabolomics and phenotype assessment reveal cellular toxicity of triclosan in *C. elegans*. *Chemosphere*, v. 236, p. 124306, dez. 2019.

KIM, Jun Sung; PARK, Sang-Kyu; LEE, Haeshin. Sniffer worm, *C. elegans*, as a toxicity evaluation model organism with sensing and locomotion abilities. *PLOS ONE*, v. 18, n. 8, p. e0289493, 2 ago. 2023.

KIM, Shin Woong; MOON, Jongmin; AN, Youn-Joo. Matricidal hatching can induce multi-generational effects in nematode *C. elegans* after dietary exposure to nanoparticles. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 25, n. 36, p. 36394–36402, dez. 2018.

KUMARAVELU, Jayanthi et al. Biological characterization of marine algae and its potent in vitro antioxidant, antimicrobial and larvicidal activity: a focus on *U. lactuca* Linnaeus 1753: 1163. *3 Biotech*, v. 14, n. 11, p. 261, nov. 2024.

KWAH, Ji Kent; JARAMILLO-LAMBERT, Aimee. Measuring Embryonic Viability and Brood Size in *C. elegans*. *Journal of Visualized Experiments*, n. 192, p. 65064, 24 fev. 2023.

LEE, Yujin et al. Inverse correlation between longevity and developmental rate among wild *C. elegans* strains. *Aging*, v. 8, n. 5, p. 986–994, 10 maio 2016.

LEUNG, Maxwell C. K. et al. *C. elegans*: An Emerging Model in Biomedical and Environmental Toxicology. *Toxicological Sciences*, v. 106, n. 1, p. 5–28, nov. 2008.

LIANG, Qifei; ZHAO, Guangrong. The Effect of *glnA* Loss on the Physiological and Pathological Phenotype of Parkinson's Disease *C. elegans*. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, v. 38, n. 24, p. e25129, dez. 2024.

LIAO, Wei et al. Synergistic inhibition of hepatocarcinogenesis by green alga *U. lactuca* polysaccharide and 5-fluorouracil targeted SERPINH1. *Phytomedicine*, v. 148, p. 157266, nov. 2025.

LOMARTIRE, Silvia; GONÇALVES, Ana M. M. An Overview of Potential Seaweed-Derived Bioactive Compounds for Pharmaceutical Applications. *Marine Drugs*, v. 20, n. 2, p. 141, 15 fev. 2022.

LOMARTIRE, Silvia; MARQUES, João Carlos; GONÇALVES, Ana M. M. An Overview to the Health Benefits of Seaweeds Consumption. *Marine Drugs*, v. 19, n. 6, p. 341, 15 jun. 2021.

MA, Liang et al. *C. elegans* as a model system for target identification and drug screening against neurodegenerative diseases. *European Journal of Pharmacology*, v. 819, p. 169–180, jan. 2018.

MANTRI, Vaibhav A. et al. Concise review of green algal genus *U. Linnaeus*. *Journal of Applied Phycology*, v. 32, n. 5, p. 2725–2741, out. 2020.

MARGRET, R. Jothibai; KUMARESAN, S.; RAVIKUMAR, S. A preliminary study on the anti-inflammatory activity of methanol extract of *U. lactuca* in rat. *Journal of Environmental Biology*, v. 30, n. 5 Suppl, p. 899–902, set. 2009.

MARSOVA, Maria et al. Protective effects of *Lactobacillus fermentum* U-21 against paraquat-induced oxidative stress in *C. elegans* and mouse models. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 36, n. 7, p. 104, jul. 2020.

MCDONOUGH, Callie M.; GUO, Daniel J.; GUO, Tai L. Developmental toxicity of bisphenol S in *C. elegans* and NODEF mice. *NeuroToxicology*, v. 87, p. 156–166, dez. 2021.

MOHAPATRA, Lucy et al. Evaluation of the Antioxidant, Hypoglycaemic and Antidiabetic Activities of Some Seaweed Collected from the East Coast of India. *Biomedical and Pharmacology Journal*, v. 9, n. 1, p. 365–375, 30 abr. 2016.

MÖRCK, Catarina; PILON, Marc. *C. elegans* feeding defective mutants have shorter body lengths and increased autophagy. *BMC developmental biology*, v. 6, p. 39, 3 ago. 2006.

NANCE, Jeremy; FRØKJÆR-JENSEN, Christian. The *C. elegans* Transgenic Toolbox. *Genetics*, v. 212, n. 4, p. 959–990, 1 ago. 2019.

NARANJO-GALINDO, Francisco José et al. *C. elegans* as an Animal Model to Study the Intersection of DNA Repair, Aging and Neurodegeneration. *Frontiers in Aging*, v. 3, p. 916118, 22 jun. 2022.

OLIVEIRA, Letícia Gomes de et al. Efeitos dos inibidores de alfa-amilase e alfa-glicosidase no tratamento da obesidade: uma revisão integrativa / Effects of alpha-amylase and alpha-glycosidase inhibitors on obesity treatment: an integrative review. *Brazilian Journal of Health Review*, v. 4, n. 6, p. 26125–26141, 23 nov. 2021.

OUAHABI, Safae et al. Investigation into the Phytochemical Composition, Antioxidant Properties, and In-Vitro Anti-Diabetic Efficacy of *U. lactuca* Extracts. *Marine Drugs*, v. 22, n. 6, p. 240, 25 maio 2024a.

OUAHABI, Safae et al. Investigation into the Phytochemical Composition, Antioxidant Properties, and In-Vitro Anti-Diabetic Efficacy of *U. lactuca* Extracts. *Marine Drugs*, v. 22, n. 6, p. 240, 25 maio 2024b.

PANDEY, Pratima et al. Dauer Formation in *C. elegans* Is Modulated through AWC and ASI-Dependent Chemosensation. *eneuro*, v. 8, n. 2, p. ENEURO.0473-20.2021, mar. 2021.

PARK, Hae-Eun H.; JUNG, Yoonji; LEE, Seung-Jae V. Survival assays using *C. elegans*. *Molecules and Cells*, v. 40, n. 2, p. 90–99, fev. 2017.

PATEL, Anil Kumar et al. Emerging prospects of macro- and microalgae as prebiotic. *Microbial Cell Factories*, v. 20, n. 1, p. 112, dez. 2021.

PEREIRA, Leonel. *Edible Seaweeds of the World*. 0. ed. [S.l.]: CRC Press, 2016.

PETER, Nila Rekha et al. A comprehensive study on ecological insights of *U. lactuca* seaweed bloom in a lagoon along the southeast coast of India. *Ocean & Coastal Management*, v. 248, p. 106964, fev. 2024.

PRAITIS, Vida; MADURO, Morris F. Transgenesis in *C. elegans*. In: *Methods in Cell Biology*. [S.l.]: Elsevier, 2011. v. 106 p. 159–185.

PUPPIN-GONÇALVES, Carolina Teixeira et al. *U. lactuca* blooms through the eyes of fishers: Threats to vulnerable coastal communities. *Marine Pollution Bulletin*, v. 208, p. 117038, nov. 2024.

QIU, Yinghui et al. Suppression of hepatocellular carcinoma by *U. lactuca* ulvan via gut microbiota and metabolite interactions. *Journal of Advanced Research, Food and Drug Interaction with Gut Microbiota*. v. 52, p. 103–117, 1 out. 2023.

QIU, Yinghui et al. U.n derived from *U. lactuca* suppresses hepatocellular carcinoma cell proliferation through miR-542-3p-mediated downregulation of SLC35F6. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 308, p. 142252, maio 2025.

RAIZEN, David. Methods for measuring pharyngeal behaviors. *WormBook*, p. 1–13, 18 dez. 2012.

RIDDLE, Donald L. et al. Defecation Motor Program. In: *C. elegans* II. 2nd edition. [S.l.]: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1997.

RIMA, Maya et al. Seaweed Extracts: A Promising Source of Antibiofilm Agents with Distinct Mechanisms of Action against *Pseudomonas aeruginosa*. *Marine Drugs*, v. 20, n. 2, p. 92, 21 jan. 2022.

RODRÍGUEZ-PALERO, M^a Jesús et al. An automated method for the analysis of food intake behaviour in *C. elegans*. *Scientific Reports*, v. 8, n. 1, p. 3633, 26 fev. 2018.

ROLEDA, Michael Y. et al. Chemical profiling of the Arctic sea lettuce *U. lactuca* (Chlorophyta) mass-cultivated on land under controlled conditions for food applications. *Food Chemistry*, v. 341, p. 127999, mar. 2021.

RONTANI, Jean-François et al. Photochemical oxidation and autoxidation of chlorophyll phytyl side chain in senescent phytoplanktonic cells: Potential sources of several acyclic isoprenoid compounds in the marine environment. *Lipids*, v. 38, n. 3, p. 241–254, mar. 2003.

ROSIC, Nedeljka; THORNER, Carol. Biotechnological Potential of Macroalgae during Seasonal Blooms for Sustainable Production of UV-Absorbing Compounds. *Marine Drugs*, v. 21, n. 12, p. 633, 8 dez. 2023.

RUAN, Qiling et al. Regulatory mechanisms of the edible alga *U. lactuca* polysaccharide via modulation of gut microbiota in diabetic mice. *Food Chemistry*, v. 409, p. 135287, maio 2023.

SAWIN, Elizabeth R.; RANGANATHAN, Rajesh; HORVITZ, H. Robert. *C. elegans* Locomotory Rate Is Modulated by the Environment through a Dopaminergic Pathway and by Experience through a Serotonergic Pathway. *Neuron*, v. 26, n. 3, p. 619–631, jun. 2000.

SCHAFER, William. Egg-laying. *WormBook*, 2005.

SHANMUGAM, Muniesh Muthaiyan; KAPAH, Pankaj. Pharyngeal Pumping Assay for Quantifying Feeding Behavior in *C. elegans*. *Bio-Protocol*, v. 14, n. 18, p. e5073, 20 set. 2024.

SUN, Lei et al. Rational construction of hierarchical nanocomposites by growing dense polyaniline nanoarrays on carbon black-functionalized carbon nanofiber backbone for freestanding supercapacitor electrodes. *Journal of Energy Storage*, v. 61, p. 106738, 1 maio 2023.

TAYLOR, Seth R. et al. Molecular topography of an entire nervous system. *Cell*, v. 184, n. 16, p. 4329–4347.e23, ago. 2021.

TERAMOTO, Takayuki; IWASAKI, Kouichi. Intestinal calcium waves coordinate a behavioral motor program in *C. elegans*. *Cell Calcium*, v. 40, n. 3, p. 319–327, set. 2006.

TROJANOWSKI, Nicholas F.; RAIZEN, David M.; FANG-YEN, Christopher. Pharyngeal pumping in *C. elegans* depends on tonic and phasic signaling from the nervous system. *Scientific Reports*, v. 6, n. 1, p. 22940, 15 mar. 2016.

WAMUCHO, Anye; HEFFLEY, Allison; TSYUSKO, Olga V. Epigenetic effects induced by silver nanoparticles in *C. elegans* after multigenerational exposure. *Science of The Total Environment*, v. 725, p. 138523, jul. 2020.

WANG, Bin et al. Physicochemical characterization of bioactive polysaccharides from three seaweed and application of functional fruit packaging films. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 282, p. 136765, dez. 2024a.

WANG, Bin et al. Physicochemical characterization of bioactive polysaccharides from three seaweed and application of functional fruit packaging films. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 282, p. 136765, dez. 2024b.

WANG, Chien-Hsing; HUANG, Zih-Ting; TAI, Kuo-Feng. In vitro and in vivo evaluation of *U. lactuca* for wound healing. *PLOS ONE*, v. 20, n. 1, p. e0311037, 8 jan. 2025.

WANG, Meng C.; O'ROURKE, Eyleen J.; RUVKUN, Gary. Fat metabolism links germline stem cells and longevity in *C. elegans*. *Science (New York, N.Y.)*, v. 322, n. 5903, p. 957–960, 7 nov. 2008.

WANG, Mingying et al. Diterpenoid lead stevioside and its hydrolysis products steviol and isosteviol: Biological activity and structural modification. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 156, p. 885–906, 5 ago. 2018.

WANG, Yanan et al. Metabolomics reveals the impact of the saturation of dietary lipids on the aging and longevity of *C. elegans*. *Molecular Omics*, v. 18, n. 5, p. 430–438, 2022.

WELSCH, Ralf; LI, Li. Golden Rice—Lessons learned for inspiring future metabolic engineering strategies and synthetic biology solutions. In: *Methods in Enzymology*. [S.l.]: Elsevier, 2022. v. 671 p. 1–29.

WHITEHOUSE, Lisa N. A.; LAPOINTE, Brian E. Comparative ecophysiology of bloom-forming macroalgae in the Indian River Lagoon, Florida: *U. lactuca*, *Hypnea musciformis*, and *Gracilaria tikvahiae*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v. 471, p. 208–216, out. 2015.

YANG, Yaning et al. Effect of ionic strength on bioaccumulation and toxicity of silver nanoparticles in *C. elegans*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 165, p. 291–298, dez. 2018.

YAO, Yongshuai; ZHANG, Ting; TANG, Meng. A critical review of advances in reproductive toxicity of common nanomaterials to *C. elegans* and influencing factors. *Environmental Pollution*, v. 306, p. 119270, ago. 2022.

YI, Lingxiao et al. Inhibitory Effects of Polyphenols-Rich Components From Three Edible Seaweeds on Inflammation and Colon Cancer *in vitro*. *Frontiers in Nutrition*, v. 9, p. 856273, 13 maio 2022.

YOU, Young-jai et al. Starvation activates MAP kinase through the muscarinic acetylcholine pathway in *C. elegans* pharynx. *Cell Metabolism*, v. 3, n. 4, p. 237–245, abr. 2006.

YU, Sora; YOSHIKUNI, Yasuo. Biotechnological advances in algae-based foods: applications in nutrition and microbiome health. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 94, p. 103335, 1 ago. 2025.

ZEIDAN, Rola S. et al. Exploring age-related iron dysregulation: effects on longevity, body size, and behavior in *C. elegans*. *Experimental Gerontology*, v. 208, p. 112826, set. 2025.

ZHANG, Albert; YAN, Dong. *C. elegans* as a model to study glial development. *The FEBS Journal*, v. 289, n. 6, p. 1476–1485, mar. 2022.

ZHENG, Fuli; CHEN, Cheng; ASCHNER, Michael. Neurotoxicity Evaluation of Nanomaterials Using *C. elegans*: Survival, Locomotion Behaviors, and Oxidative Stress. *Current Protocols*, v. 2, n. 7, p. e496, jul. 2022.