

Isolamento de duas espécies de microalgas da região de Manaus para manutenção de um banco de cultivo no laboratório de plâncton (CPBA/INPA)

Irislane de Oliveira NASCIMENTO¹; Edinaldo Nelson dos SANTOS-SILVA²

¹Bolsista PIBIC/CNPq/INPA; ²Orientador CPBA/INPA.

1. Introdução

As microalgas compreendem uma série de organismos distintos, alguns de natureza microbial e com capacidade de produzir oxigênio através da fotossíntese. São organismos unicelulares ou colônias multicelulares. Dentro da definição de microalgas incluem-se tanto organismos procarióticos (algas azuis, agora chamadas de cianobactérias) como organismos eucarióticos (algas verdes, vermelhas, diatomáceas, dinoflagelados) (Pinnotti e Segato, 1991).

As microalgas são motivo de grande interesse em pesquisas devido ao relevante potencial em recursos a serem aproveitados (Martins *et al.*, 2008). Em virtude disso, muitos estudos têm sido feitos com objetivo de utilizar algas como alimento para o zooplâncton, que por sua vez pode servir de alimento para larvas e alevinos de peixes (Diaz, 1994; Sipaúba-Tavares e Rocha, 1983; Sipaúba-Tavares e Rocha, 2001; Macedo e Pinto-Coelho, 2000).

A experiência de pesquisadores e estudantes em estabelecer cultivos de organismos zooplânctônicos (algas e microcrustáceos) em laboratório tem esbarrado em algumas dificuldades, quer de ordem de adequação da estrutura física quer da manutenção dos cultivos propriamente ditos, pois ainda são necessários mais estudos voltados para a produção controlada de fitoplâncton de água doce utilizando-se de espécies locais com fácil obtenção de inóculos (Sipaúba-Tavares, 2001). O desenvolvimento do fitoplâncton depende das condições físicas e químicas do meio, principalmente em relação aos nutrientes. Dentre eles, pode-se citar o carbono, o nitrogênio, o fósforo, a sílica, o magnésio, o potássio e o cálcio (Sipaúba-Tavares, 2001).

Verifica-se que a iniciativa mais estratégica para a consolidação destes estudos em laboratório é dominar todos os procedimentos envolvidos na atividade de cultivar zooplâncton, principalmente os relacionados ao suprimento de alimento em quantidade, qualidade e de fácil acessibilidade.

O objetivo deste trabalho foi isolar duas espécies de algas da fitoflora local para manter cepas dessas espécies em laboratório para futuros estudos sobre a biologia desses organismos ou para servirem de alimento para outros organismos, por exemplo, na larvicultura de peixes regionais como o matrinxã (*Brycon amazonicus*).

2. Material e Métodos

Os experimentos de isolamento e cultivo foram feitos no Laboratório de Plâncton da Coordenação de Pesquisas em Biologia Aquática do INPA. Foram realizadas várias coletas de fitoplâncton nos tanques de piscicultura da Coordenação de Pesquisas em Aqüicultura (CPAQ/INPA) com o objetivo inicial de verificar quais espécies de microalgas ocorriam nos tanques e selecionar espécies apropriadas para o cultivo em laboratório. A coleta foi feita com uma rede de fitoplâncton com malha de 20µm de abertura. Mediu-se a temperatura e o pH da água do tanque de piscicultura com uma Sonda Multiparâmetros YSI, tendo-se obtido os valores 31 °C e 7,9 respectivamente.

O material coletado foi colocado em garrações de 5L e posteriormente levado ao Laboratório de Plâncton (CPBA/INPA) para retirada de partículas maiores através da filtração com uma peneira com malha de 300µm de abertura. Em seguida foi retirada uma gota do material filtrado e colocada em erlenmeyers de 150 ml, 250 ml e também em tubos de ensaio com água destilada e meio de cultura N:P:K nas proporções de 20g:5g:20g, respectivamente.

O meio de cultura foi preparado utilizando-se uma balança analítica para pesar cada elemento químico utilizado. Após a pesagem, os elementos químicos foram misturados e colocados em água destilada e levados para dissolução em um agitador magnético por 30min. Em seguida a solução foi esterilizada em uma autoclave vertical a uma temperatura de 120 °C por 20 minutos.

As culturas de microalgas foram colocadas em uma câmara de criação com temperatura de ± 30 °C, luminosidade constante com intensidade de 2720 lux e sem aeração. Este procedimento foi feito para permitir que a cultura de algas se multiplicasse para isolar a espécie de alga desejada. A solução estoque do meio de cultura foi mantida em incubadora com temperatura, luminosidade e aeração controladas (Rippka, 1988).

A cada dia foi retirado uma amostra de cada frasco para observar se o número de células estava aumentando e assim poder isolar as espécies. O primeiro método aplicado foi o de Subculturas Repetidas (Guerrero III e Villegas, 1982 *apud* Sipaúba-Tavares e Rocha, 2001) (Figura 1). O método consiste em retirar uma gota do fitoplâncton coletado e colocar em vários erlenmeyers ou tubos de 50 a 100 ml contendo meio de cultura. Estes são incubados com controle de temperatura e intensidade de luz.

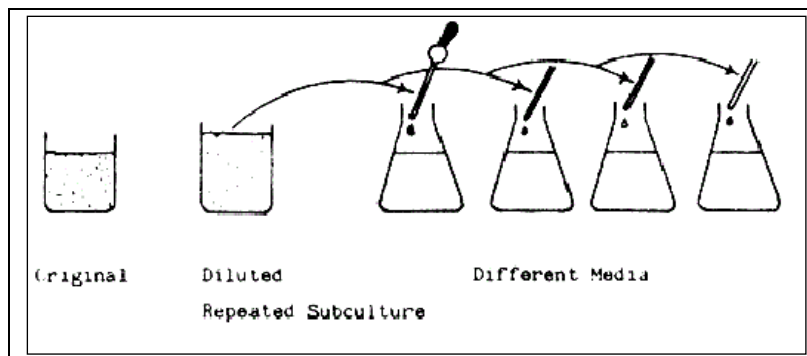


Figura 1. Esquema do método de subculturas repetidas. (Guerrero III & Villegas, 1982)

O segundo método utilizado para isolamento foi o do ágar em placa (Guerrero III & Villegas, 1982). Após uma semana, realizou-se o processo de isolamento das espécies. Esta técnica consiste em preparar o ágar cultura de algas na concentração de 1,5%. Em seguida, o ágar é colocado em 1000 mL de água destilada, aquecido, para que seja dissolvido, e esterilizado em autoclave a 120°C por 15 minutos. Em seguida, colocado em placas de petri, até que ocorra a solidificação após o esfriamento. Uma gota da água contendo o fitoplâncton é colocada na placa, espalhada sobre a superfície do meio com alça de platina. Incubaram-se as placas no laboratório de plâncton em uma câmara de criação sem fotoperíodo com temperatura de ± 30 °C.

3. Resultados e Discussão

Durante o processo de isolamento observou-se a frequência dos gêneros *Chlorella* (Trebouxiophyceae, Chlorellales); *Chlorococcum* (Chlorophyceae, Chlorococcales), *Desmodesmus* (Chlorophyceae, Chlorococcales) *Scenedesmus* (Chlorophyceae, Chlorococcales).

Foram isoladas três espécies de microalgas, uma do gênero *Chlorella*, *Scenedesmus* e *Desmodesmus*. A identificação taxonômica dessas espécies ainda será confirmada.

As microalgas foram mantidas em câmara de criação sob condições de temperatura e luminosidade controladas (Figura 3).

As cepas dessas espécies de microalgas estão sendo mantidas no laboratório de Plâncton (CPBA/INPA).

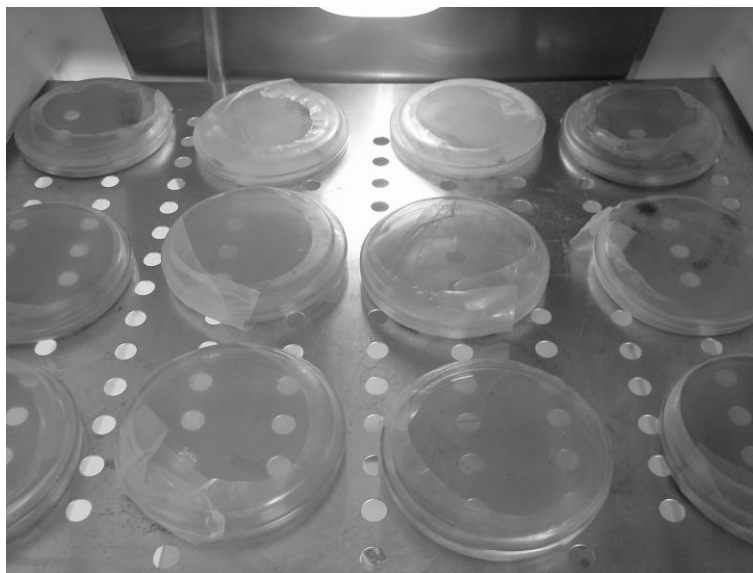


Figura 2. Cultivo em meio sólido – método de isolamento em placa. Foto: Nascimento, I. O.

Durante os cultivos se desenvolveram apenas espécies dos gêneros *Chlorella*, *Scenedesmus* e *Desmodesmus*.

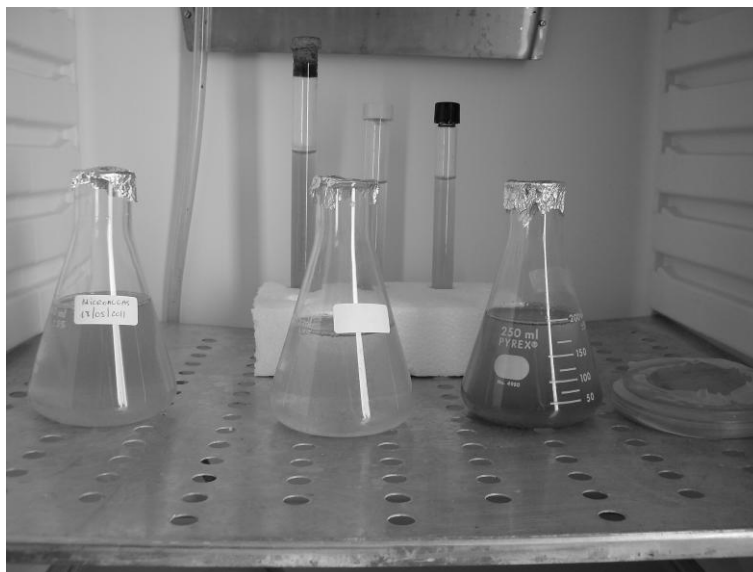


Figura 3. Cultivo de microalgas: *Chlorella* sp., *Scenedesmus* sp. e *Desmodesmus* sp. Foto: Nascimento, I. O.

4. Conclusão

Novos cultivos podem ser iniciados a partir das cepas isolando, adicionando inóculos a meios de cultivo líquido à base de NPK (20g:5g:20g) e repicados a cada 7 ou 8 dias.

É possível ampliar o banco de microalgas utilizando a metodologia empregada neste estudo, tendo como fonte de algas tanques de piscicultura da região.

5. Referências

Diaz, J. R. 1994. *História de vida de Moina micrura (Crustacea: Cladocera), alimentada com três espécies de algas, no laboratório*. Dissertação de Mestrado. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Fundação Universidade do Amazonas. 78p.

Macedo, C. F.; Pinto-Coelho, R. M. 2000. Efeito das algas *Ankistrodesmus gracilis* e *Scenedesmus quadricauda* no crescimento e no índice lipídico de *Daphnia laevis* e *Moina micrura*, *Acta Scientiarum*, 22(2): 397-401.

Martins, G.; Arruda, A. S.; Moraes, L.; Santana, F. B.; Costa, J. A. V.; 2008. Conhecimento sem fronteiras. XVII Congresso de Iniciação Científica. X Encontro de Pós-Graduação.

Pinotti, M. H. P.; Segato, R. 1991. Cianobactérias: importância econômica. *Semina*, 4:27-280.

Rippka, R. 1988. Isolation and purification of cyanobacteria. In: Packer L., Glazer, A. N. Ed. *Methods in enzymology*, Vol. 167. Berlin: Springer, 543p.

Sipaúba-Tavares, L. H.; Rocha, O. 1983. Cultivo em larga escala de organismos planctônicos para alimentação de larvas e alevinos de peixes: I - Algas clorofíceas. *Biotemas*, 6(1): 93- 106.

Sipaúba-Tavares, L. H.; Rocha, O. 2001. *Produção de plâncton (fitoplâncton e zooplâncton) para alimentação de organismos aquáticos*. São Carlos: FAPESP/RIMA.

Tavares, L. H. S. 1988. *Utilização do plâncton na alimentação de larvas e alevinos de peixes*. Tese de Doutorado. Universidade Federal de São Carlos. São Paulo. 191 p.