

CONSOLIDAÇÃO, MANUTENÇÃO E AMPLIAÇÃO DO BANCO DE MICROALGAS VIVAS NO LABORATÓRIO DE PLÂNCTON

Raize Castro MENDES¹; Edinaldo Nelson dos SANTOS SILVA²

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

1. Introdução

Microalgas são organismos fotossintetizantes com reprodução sexuada ou assexuada, presentes nos sistemas aquáticos, com hábitos planctônicos ou bentônicos. As microalgas planctônicas podem se apresentar como células isoladas, agrupadas formando colônias, ou encadeadas sob a forma de segmentos lineares de células. Em todos os casos, porém, ocorre pouca ou nenhuma diferenciação das funções ou especialização das células (Lourenço, 2006). O cultivo de microalgas é praticado há cerca de 140 anos, acompanhando o progresso das Ciências Ambientais, da Fisiologia e da Microbiologia (Lourenço, 2006). Requer a coleta de organismos em seu habitat para o isolamento da espécie que se pretende cultivar, em meios líquidos ou sólidos com a adição de nutrientes. Cultivar microalgas é importante na biotecnologia, pois a produção de óleo encontrado nesses organismos é superior as demais biomassas utilizadas hoje na produção de biodiesel, isso porque além de se tratar de um processo de energia limpa, as algas absorvem o CO₂ da atmosfera e liberam O₂, onde não há necessidade de desmatamento e queimadas nas áreas florestais (Melo & Pekelman, 2010). Também podem ser utilizadas no tratamento de esgotos, ambientes eutróficos e poluídos em função da sua eficiente absorção de nitrogênio, fósforo e potássio. (Sipaúba-Tavares & Rocha, 2001). As microalgas constituem a base da cadeia alimentar, e proporcionam energia em forma de alimento para organismos zooplânctônicos, importantes como alimento vivo para larvas e alevinos de peixes. Um dos principais problemas no cultivo de microalgas é o custo de reagentes químicos necessários para a preparação dos meios de cultura (Sipaúba-Tavares & Rocha, 2001). A busca de formas para baratear estes custos torna-se um objetivo importante. Hardy & Castro (2000), utilizando o nutriente NPK e o CHU₁₂, conseguiram cultivar as espécies *Scenedesmus quadricauda*, *Ankistrodesmus gracilis* e *Pediastrum duplex*, e puderam verificar pela concentração de clorofila-a e pelo carbono orgânico qualidades nutricionais dessas algas e sua utilidade no cultivo de zooplâncton. O presente estudo tem como objetivo ampliar o atual banco de espécies de algas vivas existente no laboratório de plâncton, para suprir a demanda atual deste laboratório como alimento para microcrustáceos zooplânctônicos.

2. Material e Métodos

As amostras foram coletadas no período de Agosto a Novembro de 2011 e de Janeiro a Maio de 2012, no Lago Amazônico localizado no INPA, CAMPUS 1 e, nos tanques de piscicultura da estação de Aquicultura do INPA-V8 CAMPUS 2, ambos na cidade de Manaus-Am. As microalgas foram coletadas utilizando-se uma rede de plâncton de 20 µm de malha através de arrastos horizontais e verticais na coluna d'água. As amostras foram filtradas e concentradas em frascos de polietileno de 100 ml, levadas ao laboratório de Plâncton do INPA para o isolamento das microalgas. Os meios de cultura utilizados foram ágar (meio sólido), CHU₁₀ e o N:P:K (nitrogênio, fósforo e potássio), este último pesado na proporção 20:05:20 em uma balança de precisão Gehaka, após pesagem, os compostos foram misturados e colocados em um Erlenmeyer de 1 litro com água destilada e levados para dissolução das partículas em um agitador magnético por 30 min. O meio CHU₁₀ foi preparado diluindo-se 123mg em 1 litro de água destilada aquecida a 50 °C para facilitar a dissolução completa do meio. O meio ágar preparado diluindo-se 16.87g em 1 litro de água destilada. Todos os meios foram esterilizados em autoclave (Phoenix) em 15 libras de pressão e 121 °C por 20 minutos, após resfriamento os meios foram armazenados em geladeira e protegidos da luz. Para o isolamento uma alíquota da amostra coletada foi semeada em meio sólido ágar em uma placa de petri esterilizada, estocada na incubadora. Após sete dias o isolamento das microalgas foi realizado com o auxílio de micropipeta esterilizada, para retirada da microalga que melhor se desenvolveu nesse meio. Ao se localizar em uma lâmina o espécime desejado, esta foi retirada com o auxílio de uma micropipeta esterilizada e colocada em um Erlenmeyer de 250 ml contendo meio de cultura líquido CHU₁₀ e, em outro Erlenmeyer de 250 ml contendo meio de cultura líquido N:P:K. Em seguida cada Erlenmeyer foi levado para uma câmara incubadora (ELETROLAB) com temperatura 29°C, duração do fotoperíodo 12 horas de claro e 12 horas de escuro, e aeração constante. Os cultivos foram acompanhados diariamente na incubadora, no sentido de estabelecer a fase estacionária do crescimento, período adequado para se fazer repicagens na obtenção de cepas a serem armazenadas e mantidas no laboratório. Diariamente uma alíquota de 1ml foi retirada de cada Erlenmeyer e colocada em uma câmara de Newbauer, para contagem de células em microscópio óptico composto, com aumento de 100 vezes. Este procedimento foi repetido durante 15 dias em 2 Erlenmeyer para cada uma das duas espécies analisadas. De acordo com os resultados foram elaboradas curvas de crescimento para se determinar o início da fase estacionária. Desses cultivos foram retirados 10 inóculos com cepas de cada espécie que está sendo mantidas em tubos de ensaio por meio de cultura líquido e sólido.

3.Resultados e Discussão

Duas espécies foram isoladas *Scenedesmus quadricauda* e *Ankistrodesmus gracilis*:

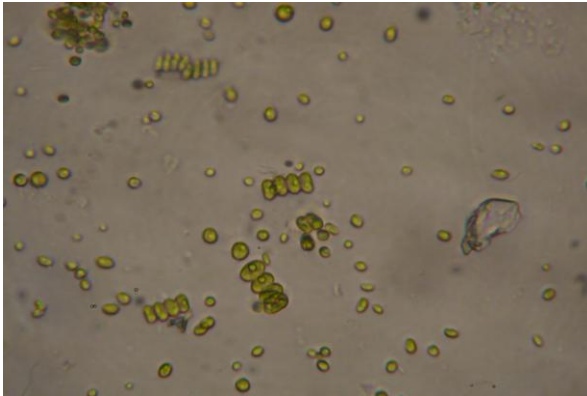


Fig.1) *S. quadricauda*. Foto: Vasquez (2012)

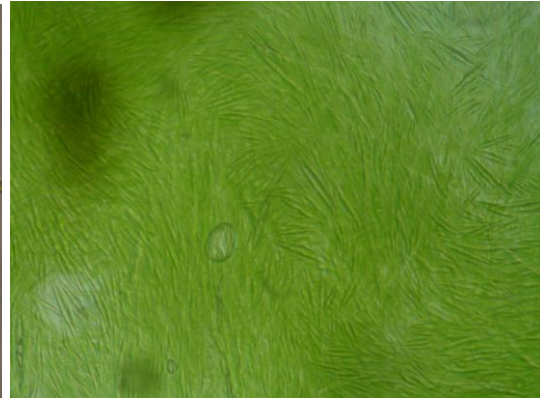
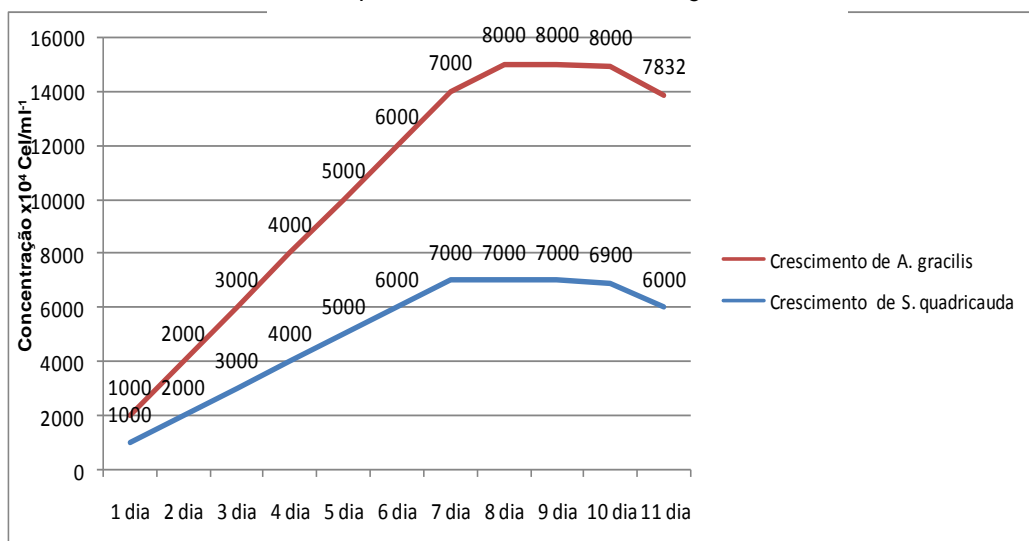


Fig.2) *A.gracilis*. Foto: Vasquez (2012)

Scenedesmus quadricauda e *Ankistrodesmus gracilis* apresentaram um ótimo crescimento em ágar meio sólido, ambas não cresceram no meio líquido N:P:K (nitrogênio, fósforo e potássio), mas tiveram um ótimo crescimento no meio líquido CHU₁₀. Nesse meio, *S. quadricauda* apresentou curva de crescimento exponencial entre 5-6 dias e fase estacionária entre 7-9 dias e *A. gracilis* com curva de crescimento exponencial entre 6-7 dias e a fase estacionária entre 8-10 dias.

Tabela da curva de crescimento de *Scenedesmus quadricauda* e *Ankistrodesmus gracilis*



O fato das espécies não terem crescido com o nutriente N:P:K, pode está relacionado à preparação do meio, pois segundo Tavares, (1988) e; Fim, (1992) o N:P:K é considerado apropriado para o crescimento das algas. Hardy e Castro (2000) utilizaram os dois meios de cultura líquidos N:P:K e CHU₁₂ para o crescimento de *S. quadricauda* e verificaram que esta espécie cresceu bem em ambos os meios, apresentaram curvas de crescimento similares, com crescimento exponencial entre 5-7 dias e tendência de melhor crescimento no meio N:P:K, diferentemente dos resultados encontrados nesse trabalho. Díaz Castro (1994) cultivou *Scenedesmus quadricauda*, *Pediastrum duplex* e *Ankistrodesmus gracilis* no meio líquido N:P:K, com crescimento exponencial entre 5-6 dias para as três espécies e alimentou *Moina micrura* com as mesmas. Verificou também que essas espécies não formavam colônias dentro de erlenmeyers, encontrando sempre em fase reprodutiva, o que ocorreu neste trabalho na fase exponencial, depois se verificou a presença de colônias em *S. quadricauda*. Hardy e Castro (2000) também cultivaram essas três espécies para verificação de suas qualidades nutricionais, através da concentração de clorofila-a e carbono orgânico para alimentação de zooplâncton e, *Scenedesmus quadricauda* apresentou maior porcentagem de carbono, sendo considerada como alimento adequado para organismos filtradores.

4. Conclusão

A realização deste trabalho possibilitou a ampliação do banco de microalgas do laboratório de plâncton, estabelecendo cultivos monoespecíficos das duas espécies isoladas, suprimindo a demanda do laboratório que atualmente é alimentação de zooplâncton, mais especificamente, as microalgas estão servindo de alimento para *Diaphanosoma spinulosum*, que vem sendo cultivado no laboratório de plâncton do INPA.

5. Referências Bibliográficas

- Castro, J.G.D. 1994. *História de vida de Moina micrura (Crustacea:Cladocera) alimentada com três espécies de algas, no laboratório*. Dissertação de mestrado. Programa de Pós-Graduação em Biologia Tropical e Recursos Naturais (PPG-BTRN) do INPA/UFAM. 78p.
- Fim, J. D. I. 1992. *Influência da alimentação no ciclo de vida de Moina micrura (Crustacea: Cladocera) em viveiros de peixes*. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Biologia Tropical e Recursos Naturais do INPA/FUA. 145 p.
- Hardy e Castro. 2000. *Qualidade nutricional de três espécies de clorofíceas cultivadas em laboratório*. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Biologia Tropical e Recursos Naturais do INPA/FUA., p.39-48.
- Lourenço, Sergio O. 2006. *Cultivos de microalgas marinhas: Princípios e Aplicações*. Universidade Federal Fluminense, RJ, BRASIL. 588 p.
- Pekelman & Melo. 2010. *Perspectivas sobre o uso de microalgas como fonte de energia renovável e mitigação do dióxido de carbono*. Título de graduação/Universidade de Anhembi Morumbi, São Paulo. 60pp.
- Sipaúba-Tavares, L. H. e 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.