

AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DA CIANOBACTÉRIA *CYLINDROSPERMOPSIS RACIBORSKII* E SUAS IMPLICAÇÕES PARA ESTUDOS ECOLÓGICOS

Michele Alice da Silva^{1*}, Marcela Aparecida Campos Neves Miranda², Anderson Freitas Vilela³, Ronaldo Leal Carneiro⁴, Maria Carolina S. Soares⁵

¹Graduanda do curso Ciências Biológicas, UFJF. ²Mestre em Ecologia, UFJF. ³Graduando do curso Ciências Biológicas, UFJF. ⁴Pesquisador da Faculdade de Ciências Farmacêuticas do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, USP. ⁵Professora do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, UFJF. *e-mail: micheleasbio@mail.com

Resumo: Florações de cianobactérias são eventos cada vez mais comuns no mundo, especialmente devido aos processos de eutrofização dos corpos d'água. Além disto, espera-se que essas florações sejam mais frequentes e intensas em um cenário de mudanças climáticas globais. Embora vários fatores sejam conhecidos como promotores (nutrientes, luz, temperatura) dessas florações, diferenças entre cepas de uma mesma espécie, fazem com que ocorram diferentes respostas às alterações do ambiente. Desta forma, respostas populacionais em dados de campo parecem ser confusas e de difícil interpretação. O objetivo do presente trabalho foi analisar a ecofisiologia de uma cepa de *Cylindrospermopsis raciborskii* (CYRF -01), através de parâmetros como variações na densidade celular, densidade ótica carbono, clorofila-a, ciatoxinas, pigmentos e morfologia ao longo do seu crescimento. Foi encontrada uma forte relação entre os dados de densidade celular e clorofila-a, assim como, entre os dados de densidade celular e densidade ótica, que permitiu através das formas de regressão, estimar a densidade celular. As toxinas produzidas pela cepa (CYRF-01) foram identificadas como saxitoxinas, neosaxitoxinas e decarbamoil saxitoxinas. A caracterização e compreensão das características de crescimento de diferentes cepas nos permite avaliar de forma mais precisa o efeito das diversas alterações ambientais nesses organismos e as possíveis respostas populacionais e seus efeitos nos ecossistemas aquáticos.

Palavras chaves: cianotoxinas, crescimento, ecofisiologia, eutrofização

Introdução

O crescente aumento da eutrofização nos ambientes aquáticos favorece a formação de florações de cianobactérias. Essas florações se caracterizam pelo crescimento excessivo desses micro-organismos nos corpos d'água, causando uma série de prejuízos como: mortandade de peixes, perda da qualidade da água, morte de animais domésticos e risco a saúde humana (Carmichael et al. 2001). Muitas dessas cianobactérias são capazes de produzir metabólitos secundários que podem afetar diretamente a biota aquática, como as cionotoxinas (Chorus, 2001).

As cianobactérias possuem vários mecanismos que as possibilitam tolerar condições adversas do meio como: a incidência de raios ultravioletas, concentrações elevadas de metais pesados, baixas concentrações de oxigênio, baixas e altas temperaturas (Whitton & Potts 2000). Embora vários fatores sejam conhecidos como promotores (nutrientes, luz, temperatura) dessas florações, diferenças entre cepas de uma mesma espécie, fazem com que ocorram diferentes respostas às alterações do ambiente. Desta forma, respostas populacionais em dados de campo parecem ser confusas e de difícil interpretação.

Cylindrospermopsis raciborskii (ordem Nostocales) é uma cianobactéria filamentosa, potencialmente tóxica e formadora de florações. Esta espécie apresenta uma alta plasticidade e um grande potencial invasivo o que garante sua expansão em diferentes regiões do globo. Esse sucesso está relacionado à capacidade de se deslocarem na coluna d'água, tolerar baixas intensidades luminosas, capacidade de estocar fósforo e fixar nitrogênio (Padisák 1997). Cepas da mesma espécie de cianobactérias apresentam características genéticas distintas (Neilan et al. 2008), o que interfere diretamente nas respostas ambientais, bem como na produção de toxinas. Desta forma o objetivo do presente trabalho foi analisar a ecofisiologia de uma cepa de *Cylindrospermopsis raciborskii* (CYRF -01), através de parâmetros como variações na densidade celular, densidade ótica carbono, clorofila-a, ciatoxinas, pigmentos e morfologia ao longo do seu crescimento.

Material e Métodos

Foi utilizada a cepa CYRF-01 da cianobactéria *C. raciborskii*, isolada do Reservatório do Funil/RJ. O experimento foi realizado em cultivo tipo “batch”, em meio ASM-1 (Gorhan et al, 1964), pH \approx 8,0, 25°C, 35 μmol de fótons. $\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ fotoperíodo de 12 horas, nas mesmas condições que esta cepa é mantida no banco de cultivo do LEA-UFJF. O crescimento foi avaliado ao longo de 15 dias. Amostras para avaliação da densidade ótica e clorofila-a foram retiradas diariamente e a cada três dias para a quantificação da densidade celular, pigmentos, cianotoxinas e carbono.

A avaliação do crescimento de *C. raciborskii* foi realizada diariamente através da fluorescência da clorofila-a, utilizando um PHYTO-PAM (Heins Walz GmbH, Alemanha), a densidade ótica foi estimada através da absorvância em 750 nm (A750), utilizando um espectrofotômetro Beckman-Cuchilla DU-640. Com auxílio de um microscópio Olympus BX41, aumento de 40X e ocular com escala micrométrica, a densidade celular foi estimada, em câmara de Neubauer, e foram analisadas morfologia, tricomas e células de *C. raciborskii*. Para análises de carbono das culturas, as amostras secas foram queimadas a 1000 °C em fluxo constante de O₂ gasoso ultra-puro. O método utilizado consiste na conversão de todas as formas de carbono presentes na amostra em carbono inorgânico (CO₂), através da combustão total da amostra por um Boat Sampler. Para a determinação das toxinas e dos pigmentos as amostras foram filtradas, em filtro 0,7 μm , 25mm, congeladas e posteriormente analisadas por Cromatografia Líquida de Alta Precisão (HPLC).

Resultados e discussão

O crescimento da cepa CYRF-01 de *C. raciborskii* baseada na clorofila-a está mostrado na Figura 1. O crescimento exponencial ocorreu do 3º ao 9º dia ($R^2 = 0,97$), a taxa de crescimento exponencial foi de $0,41 \pm 0,04 \text{ d}^{-1}$ e o crescimento total foi de $0,28 \pm 0,02 \text{ d}^{-1}$. A partir do 10º dia ocorreu uma estabilização do crescimento, que se manteve até o 15º dia. Não foi observada nenhuma alteração morfológica, uma vez que a cepa estava aclimatada as mesmas condições do experimento. Foi encontrada uma forte relação entre os dados de densidade celular e clorofila-a $R^2 = 0,95$ assim como, entre os dados de densidade celular e densidade ótica $R^2 = 0,85$. Esta forte relação permitiu que através das formas de regressão por medidas rápidas, como clorofila-a por fluorescência e densidade ótica, estimar a densidade celular, cuja avaliação é mais demorada e trabalhosa. A análise de toxinas demonstrou que essa cepa é produtora de saxitoxinas: saxitoxina (STX), neo-saxitoxinas (Neo-STX) e decarbamoil saxitoxina (dc-STX).

A caracterização e compreensão das características de crescimento de diferentes cepas nos permite avaliar de forma mais precisa o efeito das diversas alterações ambientais nesses organismos e as possíveis respostas populacionais e seus efeitos nos ecossistemas aquáticos.

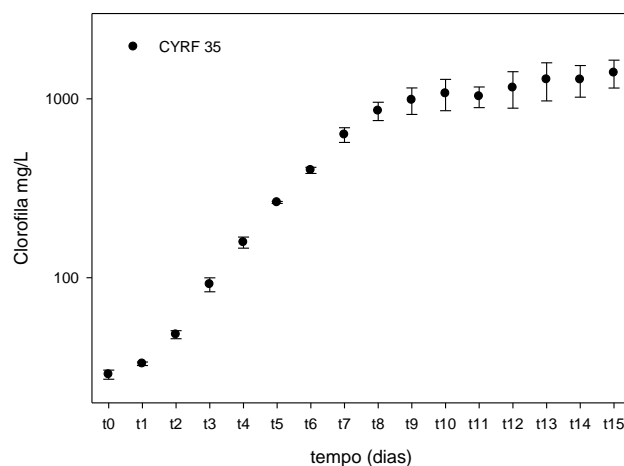


Fig1. Curva de crescimento da cepa CYRF-01 baseada na clorofila ao longo de 15 dias.

Referências bibliográficas

- BITTENCOURT-Oliveira, M.C; Oliveira, M.C.; Bolch, C.J.S. (2001). Genetic variability of some Brazilian strains of *Microcystis aeruginosa* complex (Cyanophyceae/Cyanobacteria) using the nucleotide sequence analysis of the intergenic spacer and flanking regions from *cpcBA*-phycocyanin operon. *J. Phycol.* 37(5): (inpress).
- CARMICHAEL, W.W.; Azevedo, S. M. F. O.; Molica, R. J. R.; Jochimsen, E. M.; Iau, S.; Rinehart, K. L.; Shaw, G. R.; Eaglesham, G. K. Human fatalities from cyanobacteria: chemical and biological evidence for cyanotoxins. *Environmental Health Perspectives*, n. 109, p. 663-668, 2001.
- CHORUS, I. (ed.). *Cyanotoxins: Occurrence, Causes, Consequences*. Berlin: Springer Verlag, 2001.
- GORHAM, P. R., Mclachlan, J. Hammer, U. T.; Dim, W. K., 1964. "Isolation and culture of toxic strains of *Anabaena flosaquae* (Lingb.)". *Mitteilungen der Internationalen Vereinigung für Theoretische and Angewandte Limnologie*, v. 15, pp. 769-780.
- NEILAN, B. A. et al. Chapter 17: The genetics and genomics of cyanobacterial toxicity. *Cyanobacterial Harmful Algal Blooms: State of the Science and Research Needs*, v. 619, n. p. 417-452, 2008.
- PADISÁK, J. 1997. "Cylindrospermopsis raciborskii (Woloszynska) Seenaya et Subba Raju, na expanding, highly adaptative cyanobacterium: worldwide distribution and review of its ecology". *archiv für Hydrobiologie*, v. 107, p. 563-593.
- WHITTON, B. A. & Potts, M. [Eds.] 2000. *The Ecology of Cyanobacteria: Their Diversity in Time and Space*. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, The Netherlands, 669 pp.