

Estabelecimento do Cultivo de microalgas no Campus Itajaí⁽¹⁾.

Thiago Pereira Alves⁽²⁾; Thatiana de Oliveira Pinto⁽³⁾; Gabriel Moreira⁽⁴⁾; Letícia Baratieri⁽⁵⁾; Kleber do Santos⁽⁶⁾.

Resumo Expandido

⁽¹⁾ Trabalho executado com recursos do Edital Universal de Pesquisa nº 12/2013/PROPII.

⁽²⁾ Professor e pesquisador; Instituto Federal de Santa Catarina; Itajaí/SC; Rua Tijucas, 55 – centro (thiago.alves@ifsc.edu.br); ⁽³⁾ Técnico de Laboratório; Instituto Federal de Santa Catarina; Itajaí/SC; Rua Tijucas, 55 – centro (thatiana.oliveira@ifsc.edu.br); Instituição (nome por extenso); ⁽⁴⁾ Aluno; Instituto Federal de Santa Catarina; Itajaí/SC; Rua Tijucas, 55 – centro (gabrielcerqueiramoreira@gmail.com); ⁽⁵⁾ Aluno; Instituto Federal de Santa Catarina; Itajaí/SC; Rua Tijucas, 55 – centro (lzbaratieri@gmail.com); ⁽⁶⁾ Professor substituto; Instituto Federal de Santa Catarina; Gaspar/SC; (santoskrs@gmail.com).

RESUMO: O termo microalgas abrange um amplo grupo de organismos predominantemente autotróficos, unicelulares, solitários ou formadores de colônias, com habito de vida planctônico e/ou bentônico. Diversos organismos aquáticos dependem das microalgas como alimento nos estágios iniciais de vida. Estes organismos também contribuem na oxigenação da água e na ciclagem dos nutrientes nos diferentes reservatórios aquáticos. Na aquicultura o cultivo de microalgas desempenha um importante papel na nutrição das fases iniciais dos organismos cultivados. O estabelecimento de um cultivo de microalgas possibilita uma ampla gama de finalidades de uso. Uma vez isolada uma cepa, esta pode ser mantida por diversos ciclos populacionais até que seja necessário massificar ou elevar a biomassa para sua aplicação. Diversos trabalhos, tanto acadêmicos quanto de pesquisa e extensão, dependem do aporte de microalgas. Os organismos foram coletados, isolados e cultivados em meio de cultura f/2-Gillard. Foram isoladas e mantidas com êxito três cepas de diferentes organismos fitoplanctônicos com potencial utilidade na aquicultura, sendo uma diatomácea, um dinoflagelado planctônico e um dinoflagelado bentônico. Complementar às atividades de isolamento e manutenção das cepas de microalgas, foi elaborado uma série de procedimentos operacionais padrão (POP) com a finalidade de organizar e normatizar as atividades e rotinas operacionais de manutenção das cepas e elaboração de meios de cultura e esterilização de materiais utilizados no manejo das cepas e manutenção dos cultivos. As cepas encontram-se nas dependências do LANF, Campus Itajaí – IF-SC, e estão à disposição da comunidade institucional para quaisquer uso. Os POPs, foram agrupados em um único documento, compondo assim um documento técnico denominado de Manual de Cultivo de Microalgas.

Palavra Chave: Fitoplâncton; Cepas; Aquicultura.

INTRODUÇÃO

O termo microalgas abrange um amplo grupo de organismos predominantemente autotróficos, unicelulares, solitários ou formadores de colônias, com habito de vida planctônico e/ou bentônico denominados de fitoplâncton (SMAYDA, 1997; ZINGONE; OKSFELDT ENEVOLDSEN, 2000). As microalgas são a base do sistema trófico aquático e contribuem na oxigenação da água e na ciclagem dos nutrientes nos diferentes reservatórios aquáticos, diversos organismos aquáticos dependem das microalgas como alimento nos estágios iniciais de vida (PA, 2003).

Na aquicultura o cultivo de microalgas desempenha um importante papel na larvicultura e na nutrição das fases iniciais dos organismos cultivados (PA,

2003). No processo reprodutivo de peixes e camarões, necessita-se de diferentes grupos de fitoplâncton (com diferentes tamanhos e características nutricionais), ao longo do ciclo de crescimento. Moluscos bivalves são organismos filtradores que se alimentam de organismos e partículas orgânicas suspensas na água, sendo o fitoplâncton a principal fonte de alimento para esta classe de organismos. O estabelecimento de um cultivo de microalgas possibilita uma ampla gama de finalidades de uso. Uma vez isolada uma cepa, esta pode ser mantida por diversos ciclos populacionais até que seja necessário massificar ou elevar a biomassa para sua aplicação.

O grupo das diatomáceas possui o maior número de espécies entre as microalgas e são organismos eucariontes, unicelulares, predominantemente

fotossintéticos (ROUND et al., 1990). A principal característica do grupo é a parede celular inorgânica constituída de sílica, chamada de frústula. Com base na simetria, reconhecem-se dois morfo tipos de diatomáceas, as penadas que apresentam simetria bilateral e as cêntricas que apresentam simetria radial (LEE, 1989).

Os dinoflagelados, junto com as diatomáceas, compõem o grupo dos principais produtores primários do fitoplâncton marinho (LARA et al., 1996). A maioria dos dinoflagelados é unicelular, alguns formam cadeias, apresentam assimetria morfológica e dois flagelos distintos. Podem ser móveis ou imóveis, bênticas, planctônicas, simbioses ou parasitas (FENSOME et al., 1993; TAYLOR, 1987; STEIDINGER & TANGEN, 1997).

No Câmpus Itajaí/IF-SC, diversos trabalhos, tanto acadêmicos quanto de pesquisa e extensão, dependem do aporte de microalgas para obter êxito. O objetivo deste trabalho foi estabelecer o cultivo de microalgas de interesse aquícola no Campus Itajaí-IFSC, e elaborar procedimentos de isolamento, cultivo e manutenção das cepas de forma padronizada e rastreável.

METODOLOGIA

A coleta de água, para o isolamento dos organismos foi realizada por meio de uma rede de plâncton (malha 20 μm) e seu conteúdo acondicionado em frascos transportado dentro de caixas térmicas com baixa temperatura. No laboratório os organismos foram isolados em um microscópio ótico invertido marca BEL.

A partir da água do mar, filtrada e autoclavada, foi elaborado o meio de cultivo. Para os dinoflagelados foi utilizado o meio f/2-Guillard sem sílica e para as diatomáceas o meio utilizado foi o f/2-Guillard com sílica (GUILLARD; RYTHER, 1962; GUILLARD, 1975), conforme descrito na tabela 1:

Tabela 1 – descrição das soluções para elaboração do meio de cultura f/2-Guillard.

Soluções Estoques ¹ :	Solução de Metais:	Solução A: NaNO_3	Solução B: NaH_2PO_4	Solução C: Na_2SiO_3
Solução estoque 1 - $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0,1g;	Na_2EDTA : 0,436 g	NaNO_3 7,5 g	$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0,5 g	$\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 3,0 g
Solução estoque 2 - $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,2 g;	$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$: 0,315 g	H_2O destilada 100 ml	H_2O destilada 100 ml	H_2O destilada 100 ml
Solução estoque 3 -	Sol. estoque 1 - 0,1 ml			Solução Vitaminas
	Sol. estoque 2 - 0,1 ml			Tiamina 100 mg
	Sol. estoque 3 -			

$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,1 g;	- 0,1 ml			Biotina 0,5 mg
Solução estoque 4 - $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 1,8 g.	Sol. estoque 4 - 0,1 ml			Vitamina B12 0,5 mg
	H_2O destilada 100 ml			H_2O destilada 100 ml

¹ Para cada uma das soluções estoques os sais serão pesados e solubilizados separadamente em 100 ml de água destilada.

² f/2 = Sol. Metais + Sol. A + Sol. B

³ f/2 com Si = Sol. Metais + Sol. A + Sol. B + Sol. C

O isolamento utilizou materiais esterilizados e os procedimentos realizados em uma capela de fluxo laminar unidirecional vertical (marca Ideoxima, modelo BSTEC), a fim de evitar a contaminação da cultura a ser estabelecida. O processo de esterilização dos materiais foi realizado em uma autoclave, marca Phoenix Luferco modelo simples LS334-220.

O método de isolamento foi o da alça de pipetagem por capilaridade, sendo utilizado um micro tubo de vidro conectado a uma mangueira fina de borracha. Os organismos depois de capturados são lavados várias vezes no meio de cultura e depois transferidos para placas de polipropileno estéreis, contendo 12 ou 24 poços com meio de cultivo. As condições de temperatura e salinidade aplicadas foram de 19 e 25°C e a salinidade de 25 e 30 ‰. Para o cultivo, as microalgas foram inoculadas em triplicada, em erlenmeyers de 250 ml com 200 ml de meio específico. Nas incubadoras, foi utilizado o ciclo de foto período de 12:12 (luz:escuro), com irradiância 40-50 $\mu\text{mol.fótons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram isoladas, três diferentes cepas de microalgas, sendo uma diatomácea cêntrica (*A. glacialis*), um dinoflagelado planctônico *Prorocentrum minimum* e um dinoflagelado bentônico *Ostreopsis* sp. (Figura 1). Todas as três cepas isoladas estão disponíveis para quaisquer solicitações de uso por parte dos servidores e alunos do IF-SC.

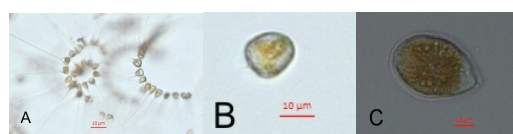


Figura 1: Microscopia óptica das cepas isoladas. A) *Asterionellopsis glacialis*; B) *Prorocentrum minimum*; C) *Ostreopsis* sp.

Durante o período de desenvolvimento do projeto, além do isolamento e manutenção das cepas, foi elaborado uma série de protocolos de Procedimentos Operacionais Padrão (POP). Os POPs, normatizam e permitem rastrear todo e qualquer procedimento operacional dentro do laboratório, bem como identificar os potenciais riscos e pontos críticos inseridos na rotina de operação. A implantação destes POPs contribuiu para que os laboratórios do Campus Itajaí/IF-SC, tenham um melhor aproveitamento dos recursos investidos, controle da quantidade de insumos utilizados e segurança operacional, pois permitem aos operadores, de quaisquer equipamentos ou procedimento, ter autonomia na tomada de decisão e esclarecimento de dúvidas durante a execução de seus trabalhos.

CONCLUSÕES

Foram isoladas e mantidas com êxito três cepas de diferentes organismos fitoplanctônicos com potencial utilidade na aquicultura, sendo uma diatomácea, um dinoflagelado planctônico e um dinoflagelado bentônico.

Complementar às atividades de isolamento e manutenção das cepas de microalgas, foi elaborado uma série de procedimentos operacionais padrão com a finalidade de organizar e normatizar as atividades e rotinas operacionais de manutenção das cepas e elaboração de meios de cultura e esterilização de materiais utilizados no manejo das cepas e manutenção dos cultivos.

As cepas encontram-se nas dependências do LANF, Campus Itajaí/IF-SC, e estão à disposição da comunidade institucional para quaisquer uso. Os POPs, foram agrupados em um único documento, compondo assim um documento técnico denominado de Manual de Cultivo de Microalgas.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a PROPPI/IF-SC por incentivar a pesquisa e o desenvolvimento tecnológico dentro da rede federal de ensino profissionalizante.

REFERÊNCIAS

FENSOME, R. A., F. J. R. TAYLOR, G. NORRIS, W. A. S. SARJEANT, D. I. WHARTON Y G. L. WILLIAMS. *A classification of fossil and living dinoflagellates*. 1993.

GUILLARD, R. R. L. Y J. H. RYTHER. Studies on the Marine Planktonic Diatoms. I *Cyclotella nana*

Husted and *Detonella cofervacea* (Cleve). *Can. J. Microbiol.*, 8: p. 229-39. 1962.

GUILLARD, R. L. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. En: W. L. Smith y M. H. Chanley (Eds.). *Culture of Marine Invertebrates Animals*. Plenum Publishing. New York. p. 29-60. 1975.

LARA, V. M. A., J. L. R. MORENO Y E. J. M. AMARO. *Fitoplancton*. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa. UAM. México. p. 227. 1996.

LEE, R. E. *Phycology*. 2. ed. Cambridge University Press: Cambridge. p. 645.1989.

PA, F. Nutrients, phytoplankton and harmful algal blooms in shrimp ponds: a review with special reference to the situation in the Gulf of California. v. 219, p. 317-336, 2003

PFIESTER, L.A. Y D. M. ANDERSON. Dinoflagellates reproduction, En: F.J.R. Taylor (Ed.). *The Biology of Dinoflagellates. Botanical Monographs*, 21. London, Blackwell. U.K. 611-648. 1987.

ROUND, F. E.; CRAWFORD, R. M.; MANN, D. G. In: *The Diatoms.*, p. 1-125, 1990.

SMAYDA, T. J. Harmful algal blooms: Their ecophysiology and general relevance to phytoplankton blooms in the sea. *Limnology and Oceanography*, v. 42, n. 5_part_2, p. 1137-1153, 1997.

STEIDINGER, K. Y K. TANGEN. Dinoflagellates. En: Thomas R.C. (Ed.) *Identifying Marine Diatoms and Dinoflagellates*. Academic Press, Inc., Harcourt B. and Company, San Diego, Ca. USA. pp 387-598. 1997.

TAYLOR, F. J. R. (Ed.). *The Biology of Dinoflagellates*. Botanical Monographs, London, Blackwell 21: 1-23. 1987.

ZINGONE, A.; OKSFELDT ENEVOLDSEN, H. The diversity of harmful algal blooms: a challenge for science and management. *Ocean & Coastal Management*, v. 43, n. 8-9, p. 725-748, jan. 2000.