



AVALIAÇÃO EXPERIMENTAL DO POTENCIAL USO DE COMPOSIÇÕES FORMADORAS DE FILMES SUPERFICIAIS PARA O CONTROLE DE FLORAÇÕES DE *MICROCYSTIS AERUGINOSA*

M. D. Passerini¹

J.G. Tundisi²; M. Gugliotti³; W.A.C. Chiba¹

1 - Universidade Federal de São Carlos - Rodovia Washington Luís, km 235, SP - 310 São Carlos/SP, CEP 13565 - 905, 2 - Instituto Internacional de Ecologia - Rua Bento Carlos, n^o 750, São Carlos/SP, CEP 13560 - 660 - Fone (55) (16) 3362 - 5400 3 - Lótus Química Ambiental - R. Dr. Rafael Correia, n^o 185, São Paulo/SP, CEP 05043 - 050, Fone (55) (11) 9158 - 5178 (mari_duo@yahoo.com.br) Fone (55) (16) 9704 - 2352

INTRODUÇÃO

O fitoplâncton de muitos ecossistemas aquáticos é dominado por uma grande colônia de espécies de cianobactérias. (Jones, 1994; Pizzolon *et al.*, 1999). Sob condições físicas e químicas favoráveis, especialmente em águas ricas em nutrientes e expostas à luz solar, as comunidades fitoplanctônicas podem se multiplicar e atingir altas densidades, uma condição normalmente referida como “bloom” (Lahti, 1997; Chorus e Bartram, 1999) ou floração de água (Branco, 1986), e caracterizada pela formação de camadas de algas na superfície da água (Nacional Rivers Authority, 1990). A produção de uma concentração persistente e alta de biomassa está intimamente ligada a eutrofização (Reynolds, 1991), que ocorre devido ao enriquecimento natural ou artificial das águas por nutrientes, especialmente nitrogênio e fósforo (Wetzel, 1975; Margaleff, 1976; Cetesb, 2001), porém é o sistema como um todo que determina a evolução e o resultado final deste processo (Smith *et al.*, 1987).

O “bloom” de cianobactérias provoca diversos efeitos negativos no ecossistema, como a redução da transparência da água, a diminuição da biodiversidade, o aumento da biomassa e da produção primária do fitoplâncton e a diminuição do oxigênio dissolvido, o que pode resultar em grande mortalidade de peixes. As florações podem também conferir odor e gosto desagradáveis à água (Tundisi, 1986; 2005; Reynolds, 1991), prejudicar atividades como lazer, pesca e navegação (Hayes e Burch, 1989; Persson, 1980) e ainda encarecer os processos de tratamento de água. Além disso, certas espécies de cianobactérias produzem uma ou mais substâncias tóxicas aos outros organismos (Feuillade, 1992), incluindo os seres humanos (Lawton e Codd, 1991), as quais são conhecidas como cianotoxinas e cujos efeitos podem ser hepatotóxicos, neurotóxicos, dermatotóxicos ou até mesmo levar à inibição geral da síntese protéica (Serôdio,

2001).

Uma das espécies de cianobactérias mais cosmopolitas e bem sucedidas é a *Microcystis aeruginosa*, que é a mais comum no Brasil. Esta espécie pode formar densas camadas superficiais de colônias agregadas contendo grande quantidade de células globosas circundadas por uma matriz gelatinosa, e pode sintetizar hepatotoxinas letais para humanos e animais (Carmichael 1994, Codd 1995, Falconer 1999, Jochimsen *et al.*, 1998, Pouria *et al.*, 1998). O grande impacto negativo desta e de outras espécies de cianobactérias no meio ambiente e na saúde humana tem impulsionado investigações sobre métodos de tratamento que minimizem os efeitos de cianotoxinas provenientes das fontes de água (Harada *et al.*, 1994). Ao mesmo tempo, a implantação de rotinas de monitoração de cianotoxinas em água bruta e nas várias fases de seu tratamento para abastecimento público assim como o desenvolvimento de métodos preventivos e/ou de combate às florações são necessários para conservar a qualidade das reservas hídricas e controlar de forma mais adequada seu uso (Ferreira *et al.*, 2002).

A redução do descarte de nutrientes em corpos d'água é o método óbvio para prevenir o surgimento de florações de cianobactérias, enquanto que sua remediação é feita principalmente por meio da aplicação de produtos químicos. Além da possibilidade de se utilizar biocidas comuns, sabe-se que alguns surfactantes também podem apresentar ação sobre certas espécies de cianobactérias. Por exemplo, foi demonstrado que a dosagem de 50 ppm de dodecil sulfato de sódio (SDS) inibiu a fixação de nitrogênio e o crescimento de cianobactérias do gênero *Gloeocapsa*, sendo este último efeito também observado na presença de 500 ppm de oleato de sorbitana etoxilado (Tzm - Calgan e Atay - Gneyman, 1994). Foi verificado também que SDS, na concentração de 10mg/ml, causou alterações estruturais em organelas celulares de *Anabaena cylindrica*, levando à morte das células (Popova e Kemp, 2007). Entretanto, os surfac-

tantes sintéticos normalmente usados nesses estudos são altamente tóxicos (Ostroumov, 2006), além de serem solúveis e formarem espumas, o que torna inviável sua aplicação em lagos. Por outro lado, uma vez que as florações se desenvolvem na superfície da água, é importante verificar se outros surfactantes, insolúveis e de natureza química diferente, também apresentam algum efeito sobre as cianobactérias quando espalhados na forma de um filme sobre a água.

OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivos estudar a floração e o desenvolvimento da cianobactéria *Microcystis aeruginosa* quando exposta a diferentes concentrações de composições formadas por surfactantes insolúveis. O estudo envolveu as seguintes atividades: (a) montagem de uma sala com as condições adequadas para o cultivo de *M. aeruginosa*; (b) monitoração do crescimento de *M. aeruginosa* em meio de cultura controlado, com iluminação e temperatura controladas; (c) monitoração do crescimento das culturas após a aplicação de diferentes concentrações de composições formadoras de filmes superficiais.

MATERIAL E MÉTODOS

Cepas e Amostras Estudadas

Os testes em laboratório utilizaram cepas de *Microcystis aeruginosa*. Para o cultivo da alga foram utilizadas terrinas redondas idênticas de 1,9L, cada uma com aproximadamente 1.250mL de meio de cultura e 5mL de uma cultura de *M. aeruginosa*. As culturas foram mantidas em sala com temperatura controlada de 21 + - 2°C e fotoperíodos de 12/12h luz/escuro.

Foram testadas as seguintes amostras: (A) amostra líquida formada por óleo de amêndoas comercial (mistura de ácidos graxos), (B) amostra sólida, na forma de pó (Mesh 65), contendo 20% em peso de surfactantes não - iônicos insolúveis e o restante de um veículo (CaCO₃), e (C) amostra de controle, formada apenas pelo veículo. As amostras foram escolhidas levando em conta critérios como baixa toxicidade e baixo impacto ambiental, baixa solubilidade em água e capacidade de se espalhar espontaneamente sobre sua superfície, e disponibilidade no mercado. A amostra A foi adicionada de 3 em 3 dias nos volumes de 25 µL, 50 µL, 75 µL e 100 µL, enquanto que as amostras B e C foram adicionadas de 2 em 2 dias em quantidades de 25mg, 50mg, 75mg e 100mg. A menor frequência de adição da amostra A foi devido ao seu maior tempo de permanência.

As colônias foram cultivadas por períodos de cerca de 30 dias. Diariamente, pequenas amostras das culturas foram retiradas para que fossem feitas a análise de clorofila - a (Nush, 1980) e a contagem de células em microscópio invertido (Utermöhl, 1958). Os dados foram utilizados para a construção da curva de crescimento, verificando assim o desenvolvimento das cianobactérias na presença de diferentes amostras e dosagens.

Meio de Cultura-ASM - 1

Composição do meio ASM - 1 (Gorham *et al.*, 1964), modificado por Reynolds e Jaworski (1978).

RESULTADOS

As culturas sofreram alterações em seu desenvolvimento após aplicação das amostras, que não afetaram o crescimento das cianobactérias na fase inicial, mas aceleraram a morte das células (senescência).

A concentração de clorofila foi usada como indicador de crescimento das cianobactérias: quanto menor a concentração de clorofila, menor a proliferação das cianobactérias. Neste trabalho, foi possível visualizar a diminuição da concentração de clorofila também pela alteração da cor das culturas. Com a morte das algas, a clorofila presente se degradou em feofitina, tornando a coloração da cultura amarelada.

A partir da construção de gráficos de regressão linear, foram obtidas curvas de crescimento das colônias através da contagem dos indivíduos, com base no número de células por mililitro ($\times 10^3$) em função dos dias de cultivo. Na cultura controle, mesmo ao final do experimento, o crescimento continuou exponencial, enquanto que nas culturas com adição das amostras A e B a queda do crescimento foi evidente. Esses valores foram melhores observados nas concentrações de 100 µL e 100 µg das amostras A e B, respectivamente, nas quais a diminuição na produção de clorofila foi mais acentuada. A amostra C apresentou o menor efeito sobre as cianobactérias.

CONCLUSÃO

Os resultados mostraram que, nas condições testadas, filmes superficiais de surfactantes insolúveis podem afetar significativamente florações de *M. aeruginosa*. O método utilizado é simples, e em princípio pode ser aplicado em grande escala no caso do tratamento de um lago. Considerando a crescente preocupação com as reservas hídricas do planeta, o alto impacto sócio - econômico provocado por florações de cianobactérias e o fato de medidas preventivas serem mais economicamente viáveis do que medidas corretivas, espera-se que este trabalho possa evoluir no sentido de desenvolver uma inovação tecnológica com alto potencial comercial. Para isso, novos estudos sobre os possíveis mecanismos de ação dos surfactantes e testes de campo serão necessários para a melhor compreensão do fenômeno e para comprovar a real eficácia do método em condições reais.

(Este trabalho foi financiado pela FAPESP)

REFERÊNCIAS

- Branco, S. M. **Hidrobiologia Aplicada à Engenharia Sanitária-Água**, 1986. 3ª ed. 616pp, São Paulo, CETESB/ASCETESB
- Carmichael, W.W. 1994. The Toxins of Cyanobacteria. **Sc. Amer.**, January, pp 64 - 70.
- CETESB (2001). **Relatório de Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo 2000**: CETESB, 2v.i L; (séries relatórios/ CETESB).
- Chorus, I.; Bartram, J. **Toxic Cyanobacteria in Water-a Guide to Their Public Health, Consequences, Mon-**

- itoring and Management.** 1999. 416pp. Great Britain, St Edmundsbury Press, Bury St Edmunds, Suffolk.
- Codd, G.A. 1995. Cyanobacterial Toxins: Occurrence, Properties and Biological Significance. **Wat. Sc. Tech.**, 32 (4): 149 - 156.
- Falconer, I.A 1999. An Overview of Problems Caused by Toxic Blue - Green Algae (Cyanobacteria) in Drinking and Recreation Water. In: LIU, D.L & DUTKA, B.J.(Eds), **Environ. Toxic.**, 14 (1): 5 - 12.
- Ferreira, F.M.B.; Góis, M^a.H.; Marques, C.; Rosas, A.; Kingwell, P. e SIMÕES, I.M.V. 2002. **Ocorrência de Cianobactérias em Três Praias Fluviais, Localizadas na Rede Hidrográfica da Bacia do Rio Tâmega-Praia Fluvial Aurora, Bitetos e Pontinha**-Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge-Laboratório de Microbiologia de Águas e Unidades de Biologia e Ecotoxicologia-Portugal.
- Feuillade, J. 1992. Lês toxines des cyanobactéries: revue de synthèse. **Revue des Sciences de l'Eau** 5: 489 - 508.
- Gorham, P.R.; Mclanchlan, J.; Hammer, U.T.; Kim, W.K.; (1964) Isolation and culture of toxic strains of *Anabaena flosaquae*, **Verhandlungen Internationales Vereinigung fur Limnologie**, 15, 769 - 78.
- Harada, K - i; Suzuki, M. e Watanabe, M. F. 1994. Structural analysis of cyanobacterial toxins. In: Codd, G. A.; Jeffries, T. M.; KEEVIL, C. W. e Potter, E. (editores). **Detection methods for cyanobacterial toxins**. Pp 24 - 33. UK, The Royal Society of Chemistry.
- Hayes, K. P. e Burch, M. D. 1989. Odorous compounds associated with algal blooms in South Australian waters. **Wat. Res.** 23: 115 - 121.
- Jochimsen, E.M., Carmichael, W.W., NA, J., Cardo, D.M., Cookson, S.T., Holmes, C.E.M., Antunes, M.B. de C., Filho, D.A de M., Lyra, T.M., Barreto, V.S.T., Azevedo, S.M.F.O. & Jarvis, W.R. 1998 Liver Failure and Death after Exposure to Microcystins at a Haemodialysis Center in Brazil. **News Engl. Jour. Med.**, 338 (13), 873 - 878.
- Jones, G.J. (ed.), Cyanobacterial Research in Austrália. **Aust. J. mar. Freshwat. Res.** 1994. 45:731 - 915.
- Lahti, K. Cyanobacterial hepatoxins and drinking water supplies-aspects of monitoring and potential health risks. **Monographs of the Boreal Environment Research**, 1997. 4: 40pp, Finnish Environment Institute, Helsinki, Finland.
- Lawton, L. A. e Codd, G. A. 1991. Cyanobacterial (blue - green algal) toxins and their significance in U.K. and European waters. **Journal of the Institution of Water and Environmental Management** 5: 460 - 465.
- Margalef, R. (1976). Limnología de los embalses españoles. **Dirección General de Obras Hidráulicas**, Dep. de Ecología de la Universidad de Barcelona. p. 423.
- NACIONAL RIVERS AUTHORITY, Toxic blue green algae. The report of the National Rivers Authority, 1990. led. **Water Quality Series** (2) 1990, 123pp. London.
- Nush, E. A. (1980). Comparison of different methods for chlorophyll and phaeopigment determination. **Arch Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol.**, v.14, p 14 - 36
- Ostroumov, S. A., Biological Effects of Surfactants, **CRC Press**, 2006, p.100.
- Persson, P. E. 1980. Muddy odours: a problem associated to extreme eutrophication. **Hydrobiologia**. 86: 161 - 164.
- Pizzolon, L.; Tracanna, B; Prósperi, C.; Guerreiro, J. M. Cyanobacterial blooms in Argentinean inland waters. **Lakes & Reservoirs**, 1999: 4:101 - 105.
- Popova Antonina; KEMP Richard, Effects of surfactants on the ultrastructural organization of the phytoplankton, *Chlamydomonas reinhardtii* and *Anabaena cylindrical*, **Fundamental and applied limnology**, 2007, vol. 169, no2, pp. 131 - 136.
- Pouria, S., Andrade, A., Barbosa, J., Cavalcanti, R.L., Barreto, V.T.S., Ward, C.J., Preiser, W., POON, G.K., Neild, G.H. & CODD, G.A. Fatal Microcystin Intoxication in Haemodialysis unit in Caruaru, Brazil. **The Lancet**. 1998. 352: 21 - 25.
- Reynolds, C.S. e Jaworski, G. H. M. Enumeration of natural Microcystis populations, **European Journal of Phycology**, v.13, September 1978 , p.269-277.
- Reynolds, C. S. Toxic blue - green algae: the problem in perspective. **Freshwat.** 1991. For. 1: 29 - 38.
- Serôdio, K. S. **Avaliação da Presença de Cianobactérias, suas Toxinas e outras Microalgas na Água Bruta da Albufeira dos Pequenos Libombo e na Estação de Tratamento e Elevação de Umbelúzi** Trabalho de Licenciatura. Faculdade de Ciências. Dep. De Ciênc. Biológ. 2001. p1 - 2.
- Smith, V. H.; Willén, E.; Karlsson, B., Predicting the summer peak biomass of four species of blue - green algae (Cyanophyta/Cyanobacteria) in Swedish lakes. **Wat. Res. Bull.** 1987. 23: 397 - 402.
- Tundisi, J. G.. Limnologia de represas artificiais. **Bol. De Hidráulica e Saneamento**, 1986. v. 11, p.1 - 46.
- Tundisi, J. G. **Água no século XXI: Enfrentando a escassez**. São Carlos. RIMA, iie. . 2005. p 248.
- S. R. D. Tzm - Calgan; N. Z. Atay - Gneyman, The effects of an anionic and a non - ionic surfactant on growth and nitrogen fixing ability of a cyanobacterium, *Gloeocapsa*, **Journal of Environmental Science and Health**, Part A, Volume 29, Issue 2 February 1994 , pages 355-369.
- Utermohl Toward the improvement of the quantitative phytoplankton method. **Mitteilungen - Internationale Vereinigung fur Theoretische und Angewandte Limnologie**, 1958, 9, 1 - 38.
- Wetzel, R. G. **Limnology**. 1975, W. B. Saunders. Philadelphia.