



MANUTENÇÃO EM CULTIVO DA CIANOBACTÉRIA *MICROCYSTIS NOVACEKII* E AVALIAÇÃO DE SUA SENSIBILIDADE AO PESTICIDA METILPARATION.

Fioravante, I.A.

Teodoro, T.S.; Barbosa, F. A. R.; Magalhães, S.M.S.

1 - Laboratório de Saúde Pública / Água, Departamento de Farmácia Social, Faculdade de Farmácia / 2 - Laboratório de Limnologia, Departamento de Biologia Geral, Instituto de Ciências Biológicas-Universidade Federal de Minas Gerais-Avenida Antônio Carlos nº 6627-Campus Pampulha-Belo Horizonte-MG - 31270 - 090; Laboratório de Saúde Pública / Água, Departamento de Farmácia Social, Faculdade de Farmácia / Laboratório de Limnologia, Departamento de Biologia Geral, Instituto de Ciências Biológicas-Universidade Federal de Minas Gerais-Avenida Antônio Carlos nº 6627-Campus Pampulha-Belo Horizonte-MG - 31270 - 090; e - mail:fioravanteaisabela@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

O processo de industrialização, o aumento populacional e a demanda por alimentos e bens de consumo tem contribuído para a degradação das condições ambientais, principalmente no que se refere às águas superficiais. Os efeitos deletérios dos pesticidas sobre os organismos aquáticos particularmente sobre os produtores primários são preocupantes, uma vez que podem comprometer o equilíbrio desse ecossistema. Ensaio de toxicidade são métodos utilizados na detecção e avaliação da capacidade inerente de um agente em produzir efeitos deletérios nos organismos vivos. Ensaio de sensibilidade tem como objetivo verificar a qualidade das culturas de organismos a serem submetidas a ensaios de toxicidade. O metilparation(O,O - dimetil - O - nitrofenilfosfotionato) pertence a classe dos organofosforados, usado como inseticidas na agricultura. Seu mecanismo de ação consiste em inibir a acetilcolinesterase com conseqüente acumulação de acetilcolina nas terminações nervosas, responsável pela sua alta toxicidade.

OBJETIVOS

Este estudo teve como objetivo avaliar a toxicidade do pesticida metilparation para a cianobactéria *Microcystis novacekii* por meio do monitoramento do crescimento celular e manter o cultivo em laboratório da cianobactéria *Microcystis novacekii*, isolada do Parque Estadual do Rio Doce/MG.

MATERIAL E MÉTODOS

Manutenção da cultura - mãe.

A cultura de *M. novacekii*, isolada da lago Dom Helvécio no PERD (Parque Estadual do Rio Doce - MG) é man-

tida pelo laboratório de Limnologia do Departamento de Biologia Geral/ Instituto de Ciências Biológicas/ Universidade Federal de Minas Gerais. O meio utilizado para cultivo da *Microcystis novacekii* é o meio líquido WC. (Guillard & Lorenzen, 1972). O cultivo é mantido sob temperatura controlada a 25 (±2)⁰C em câmara de germinação (FANEM mod. 347 - CDG Microprocessada) sob irradiância de 98 mmoles.m - 2.s1 e 12 horas de fotoperíodo.

Metilparation

A solução estoque de metiparation foi preparada pela diluição em metanol de 40.00mg do produto purificado, completando - se o volume para 10.00mL, obtendo - se uma concentração final de 4.00g/L.

Contagem celular

A curva de crescimento da cianobactéria foi monitorada pela contagem microscópica das células e pela densidade ótica no comprimento de onda 680 nm. Para contagem das células foram retiradas amostras do meio de cultura (2.00 ml), após homogeneização, as amostras foram adicionadas de 3 gotas de solução de Lugol, para fixação das célula e para hidrólise alcalina da mucilagem foram adicionados 1,0 ml de solução de NaOH 0,1 mol/L e aquecimento em banho - maria a 80⁰C por 5 minutos.

Após a digestão da mucilagem, as amostras foram submetidas à agitação mecânica em Vortex por 1 minuto e contadas por meio de microscopia ótica em câmaras de Fuchs - Rosental.

Ensaio de Toxicidade

As culturas - teste no quarto dia de crescimento foram adicionados volumes adequados da solução estoque do pesticida a fim de se obter a concentração final desejada dos pesticida de 50,0mg/l; 25,0mg/L; 12,5mg/L; 6,25mg/L; 3,125mg/L. As concentrações testadas, em progressão geométrica, foram escolhidas para que atendessem a faixa de 5 a 75% de inibição do crescimento da cianobactéria (OECD 201, 2006

). O experimento de toxicidade foi efetuado em triplicata seguindo os procedimentos :

Testes: Cianobactéria + meio WC + pesticida; Crescimento da cultura: cianobactéria + meio WC.

RESULTADOS

A contagem de células ao microscópio, embora um método simples e muito utilizado, tem a desvantagem de ser trabalhoso, demorado e apresentar grande variabilidade entre as contagens. Mediante o volume de experimentos, a seleção de um método mais prático e rápido é fundamental. A relação da absorvância da cultura em 680nm e o número de células se torna uma ferramenta importante de trabalho para a monitoração do crescimento celular.

Foi avaliada a correlação tanto na cultura sem os pesticidas quanto na presença dos mesmos, já que a exposição a esse composto poderiam interferir no espectro de absorção. A leitura em 680nm e a contagem por microscopia nas culturas (sem os pesticidas) demonstraram uma boa correlação.

As concentrações testados para o metilparation foram 50.00mg/L , 25.00mg/L , 12.50mg/L, 6.25mg/L e 3.125mg/L foram escolhidas de acordo com o protocolo (OECD 201,2006) que preconiza a utilização de cinco concentrações que permitam obter percentuais de 5 a 75% de inibição do crescimento da espécie microbiana. Em ensaios preliminares estas concentrações foram estabelecidas. A relação linear entre a % de inibição do crescimento e o logarítmico da concentração do pesticida foi observada no período de 72 horas.

Os processos adaptativos da espécie permitem a recuperação da tendência de crescimento, refletindo na redução da percentagem de Inibição de 42.43% no quinto dia para 3.64% no nono dia. Estes resultados indicam um grande potencial de adaptação da *M. novacekii* frente ao organofosforado metilparation.

Estes resultados são consistentes com o fato das cianobactérias serem organismos simples, e possuírem resistência a vários xenobióticos, o que pode ser observado pela explosão de crescimento de algas em ambientes aquáticos eutrofizados (Bloom de Cianobactérias). Outros

dados da literatura sugerem esta capacidade de adaptação e tolerância para outras espécies de microalgas na presença de pesticidas. (Giuseppe et.al, 2008, Mansy & Ebstesam, 2002; Riboo et. al, 2002).

CONCLUSÃO

A contaminação dos corpos d'água por pesticidas tem se tornado um problema ambiental. Atualmente as cianobactérias, têm demonstrado grande capacidade de adaptação em áreas impactadas e passaram a ser alvos de estudos.

As concentrações que inibem o crescimento da espécie em 50% (EC50 72h= 17.60mg/L e EC50 96h= 37.97 mg/L) são muito superiores às encontradas em ambientes aquáticos naturais. Demonstrando que a *M. novacekii* tem grande capacidade de tolerância a xenobióticos e pode ser um importante agente de para biorremediação de ambientes contaminados.

REFERÊNCIAS

- Alves P. J. O uso de agrotóxicos no Brasil : Controle Social e interesses corporativos. 1 ed. São Paulo : Annablume,2002,188p.
- Giuseppe Forlani , Mauro Pavan, Magdalena Gramek , Paweł Kafarski And Jacek Lipok. Biochemical Bases for a Widespread Tolerance of Cyanobacteria to the Phosphate Herbicide Glyphosate. *Plant Cell Physiol.* v.49, n.3, p. 443-456, 2008.
- Komárek, J.; Komárková, J. Review of the European *Microcystis* - morphospecies (Cyanoprokaryotes) from nature. *Czech Phycology*, v.2, p. 1 - 24, 2002.
- OECD. Organization for economic co - operation and development . Guidelines for the testing of chemicals. Number 201/2006. FreshWater Alga and Cyanobacterial, Growth Inhibition Test. Disponível em : <http://www.oecdbookshop.org/oecd/display.asp?K=5LMQCR2K7S-00591E1&m=1&dc=27&plang=en>
- Riboo, C., Gonzales,O.;Herrero,C.,CID,A. Physiological responses of freshwater