



SENSIBILIDADE DAS MICROALGAS *Desmodesmus communis* E *Pediastrum boryanum* AO HERBICIDA ROUNDUP TRANSORB® MENSURADA POR DOIS MÉTODOS DE VIABILIDADE CELULAR

Daniéli Saul da Luz- Universidade Federal do Rio Grande, Programa de Pós-graduação em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais, RS;

Daniele Lima-Universidade Federal do Rio Grande, Graduação em Tecnologia em Toxicologia Ambiental, RS.

Danilo Giroldo- Universidade Federal do Rio Grande, Programa de Pós-graduação em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais, RS. Marta Marques de Souza- Universidade Federal do Rio Grande, Programa de Pós-

graduação em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais, RS. Camila de Martinez Gaspar Martins-

Universidade Federal do Rio Grande, Programa de Pós-graduação em Biologia de Ambientes Aquáticos Continentais, RS.

INTRODUÇÃO

: As microalgas constituem a base da cadeia trófica em ambientes aquáticos e quaisquer alterações na estrutura de suas comunidades podem causar graves implicações para os ecossistemas em geral (Campanella *et al.*, 2000). O uso indiscriminado de herbicidas utilizados na agricultura são um dos principais causadores de perturbações nas comunidades de microalgas. Dentre eles, está o glifosato que é mundialmente utilizado em diversas culturas através de formulações comerciais, como é o caso do Roundup Transorb®. O glifosato pode provocar o rompimento dos cloroplastos, membranas e paredes celulares de algas, além de agir sobre os processos bioquímicos, levando à alterações na fotossíntese e respiração destes organismos (Pérez *et al.*, 2007). Sabe-se que as microalgas apresentam diferentes sensibilidades aos agrotóxicos (Kasai & Hatakeyama, 1993; Mohr *et al.*, 2008) e para avaliar isso, muitos trabalhos levam em conta apenas o crescimento da cultura frente à exposição ao agrotóxico, sem considerar a viabilidade das células (e.g. Ma *et al.*, 2002; Tsui & Chu, 2003). Entende-se como viabilidade celular a proporção entre células metabolicamente ativas e não ativas em uma dada cultura. De fato, testes de viabilidade celular são comuns em estudos com células animais (e.g. FRESHNEY, 2010), mas tais métodos tem sido pouco utilizados em estudos toxicológicos com algas (e.g. Li & Song, 2007; Mariazette & Meysman, 2012).

OBJETIVOS

Avaliar a sensibilidade das microalgas verdes *Desmodesmus communis* e *Pediastrum boryanum* ao herbicida Roundup Transorb® utilizando dois métodos de viabilidade celular: MTT e Vermelho Neutro, comumente utilizadas para células animais e analisar comparativamente a aplicação dos métodos propostos em microalgas.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram testadas as técnicas MTT e Vermelho Neutro (VN), sendo que a primeira avalia a atividade mitocondrial da célula e a segunda a integridade dos lisossomos em células animais. Entretanto, em células vegetais e algais o VN acumula-se no citoplasma (Mariazette & Meysman, 2012). As microalgas testadas foram *Desmodesmus communis* e *Pediastrum boryanum* (Chlorophyceae, Chlorococcales). As cepas foram obtidas a partir de amostras planctônicas coletadas em lagoas e lagos subtropicais localizadas entre as cidades de Rio Grande e Santa Vitória do Palmar, na região do extremo sul do Brasil. As microalgas foram expostas a diferentes concentrações de glifosato

(1, 5, 10 e 50 g.L⁻¹) na sua formulação Roundup Transorb® por 24 h em condições semelhantes à do cultivo (23° C, 14L:10E e meio WC/2). As concentrações de exposição foram escolhidas com base no teste de toxicidade feito para a alga verde *Selenastrum capricornutum* (Tsui & Chu, 2003). Os resultados foram analisados estaticamente através de ANOVA one-way e teste a posteriori de Tukey ($\alpha = 0,05$).

RESULTADOS

O teste de VN só demonstrou efeito em *P. boryanum*, que apresentou uma queda de aproximadamente 25 % na sua viabilidade na concentração de 10 g.L⁻¹ de glifosato quando comparada ao seu respectivo controle. Por outro lado, o método do MTT, detectou queda significativa na viabilidade celular de *P. boryanum* em todos os tratamentos em relação ao controle. Esta redução variou entre 80 a 85 % e não foi significativamente diferente entre os tratamentos. Já uma queda significativa de 50 % na viabilidade de *D. communis* foi observada nas concentrações acima de 5 g.L⁻¹ de glifosato quando comparadas ao controle e à concentração de exposição de 1 g.L⁻¹ utilizando-se o método do MTT. A microalga *P. boryanum* se mostrou mais sensível que *D. communis* ao herbicida Roundup Transorb® e a metodologia do MTT mais apropriada para medir a viabilidade celular das espécies.

DISCUSSÃO

Corroborando com Kasai & Hatakeyama (1993), detectamos variações na sensibilidade das algas ao herbicida Roundup Transorb®. De acordo com estes autores essas diferenças se devem às características das células, como estrutura e espessura da parede celular e diferenças na atividade metabólica. Sabe-se que a parede celular do gênero *Desmodesmus* é mais complexa que a do *Pediastrum* (BARSANTI & GUALTIERI, 2006), e provavelmente essa característica esteja interferindo na incorporação do contaminante pela alga, resultando em uma maior resistência da *D. communis* ao herbicida. Com relação aos métodos de viabilidade, constatou-se que o MTT é mais sensível e adequado que o VN para essas algas, pois através dele evidenciamos citotoxicidade em concentrações não tóxicas pela análise do VN. Além disso, devemos considerar que as técnicas detectam toxicidade celular por vias diferentes, o que pode interferir na sensibilidade das mesmas.

CONCLUSÃO

A técnica de MTT mostrou-se mais sensível do que a técnica de Vermelho Neutro e, portanto, seria mais indicada para a análise de viabilidade celular em algas. Além disso, a microalga *P. boryanum* é mais sensível ao herbicida Roundup Transorb® do que *D. communis*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- : BARSANTI, L. & GUALTIERI, P., 2006. Algae: anatomy, biochemistry and biotechnology. CRC press/Taylor & Francis Group. Boca Raton, FL. 301 p.
- CAMPANELLA, L., CUBADDA, F., SAMMARTINO, P., SAONCELLA, A., 2000. An algal biosensor for the monitoring of water toxicity in estuarine environments. Water Research 35: 69–76.
- FRESHNEY, R.I., 2010. Culture of animal cells: a manual of basic technique and specialized applications. Wiley-Blackwell, 6ª ed. Nova Jérsei
- KASAI, F. & HATAKEYAMA, S., 1993. Herbicide susceptibility in two green algae, *Chlorella vulgaris* and *Selenastrum capricornutum*. Chemosphere 27: 899-904
- LI, J. & SONG, L., 2007. Applicability of the MTT assay for measuring viability of cyanobacteria and algae, specifically for *Microcystis aeruginosa* (Chroococcales, Cyanobacteria). Phycologia 46: 593–599

MA, J., XU, L., WANG, S., ZHENG, R., JIN, S., HUANG, S., HUANG, Y., 2002. Toxicity of 40 herbicides to the green alga *Chlorella vulgaris*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 51: 128-132.

MARIAZETSCHKE, E. & MEYSMAN, F. J. R., 2012. Dead or alive? Viability assessment of micro and mesoplankton. *Journal of Plankton Research* 34: 493–509

MOHR, S., FEIBICKE, M., BERGHAHN, R., SCHMIEDICHE, R., SCHMIDT, R., 2008. Response of plankton communities in freshwater pond and stream mesocosms to the herbicide metazachlor. *Environmental Pollution* 152: 530-542

PÉREZ, G. L.; TORREMORELL, A.; MUGNI, H., RODRIGUEZ, P., SOLANGE VERA, M., DO NASCIMENTO, M., ALLENDE, L., BUSTINGORRY, J., ESCARAY, R., FERRARO, M., IZAGUIRRE, I., PIZARRO, H., BONETTO, DONALD, C., MORRIS, P., ZAGARESE, H., 2007. Effects of the herbicide roundup on freshwater microbial communities: a mesocosm study. *Ecological Applications* 17: 2310–2322

TSUI, M. T. K. & CHU, L.M., 2003. Aquatic toxicity of glyphosate-based formulations: comparison between different organisms and the effects of environmental factors. *Chemosphere* 52: 1189-1197