

## DESEMPENHO de *Messastrum gracile* (CHOLOROPHICEAE) SUBMETIDA À DIFERENTES CICLOS DE LUZ EM MEIOS DE CULTURA COMERCIAL E ALTERNATIVOS

Maria Julia Gonçalves Breda<sup>1</sup>

MSc. Mayara Galatti Tedesque<sup>2</sup>

Profa. Dra. Lúcia Helena Sipaúba-Tavares<sup>3</sup>

### Sistemas de produção sustentável

#### *Resumo*

Fatores que afetam o crescimento de microalgas são os meios de cultura e a luz uma vez que, as microalgas necessitam de energia luminosa e nutrientes para seu crescimento. O objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento de *Messastrum gracile* em dois diferentes ciclos de luz, durante 24h:0h (claro) e 12h:12h (luz/escuro) por 15 dias consecutivos. Cultivada em dois meios de cultura diferentes (CHU<sub>12</sub>) comercial e outro alternativo de extrato de macrófita, (*Eichhornia crassipes* - ME). Foram avaliados o crescimento, parâmetros físico-químicos dos meios de cultura, clorofila-*a* e biomassa. Para o cultivo de *Messastrum gracile* o meio de ME em condições 24h:0h apresentou os melhores resultados para esta microalga com densidade celular  $166 \times 10^5 \text{ cel mL}^{-1}$  no 14º dia de cultivo, taxa específica de crescimento e o tempo de duplicação foram melhores para ME em 24h:0h ( $k = 0,5$  e  $TD = 2,04$ ) e o maior teor de clorofila-*a* com  $0,9 \pm 0,7 \text{ mg L}^{-1}$ . O cultivo de *Messastrum gracile* foi afetado pelo fotoperíodo e pelos meios de cultura e mais uma vez o meio de macrófita se apresentou mais eficaz que o meio comercial, com isso ocorre uma redução de custo pois as plantas aquáticas são encontradas facilmente na região e diminui e diminui o impacto dessas plantas no meio ambiente.

**Palavras-chave:** *Eichhornia crassipes*; CHU<sub>12</sub>; microalga; Luminosidade.

<sup>1</sup> Maria Julia Gonçalves Breda. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus Jaboticabal - CAUNESP, maria.breda@unesp.br.

<sup>2</sup> MSc. Mayara Galatti Tedesque. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus Jaboticabal - CAUNESP, mayaragalatti@hotmail.com.

<sup>3</sup> Profa. Dra. Lúcia Helena Sipaúba-Tavares Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus Jaboticabal - CAUNESP, lucia.sipauba@unesp.br.

## INTRODUÇÃO

A utilização de microalgas vem aumentando cada dia mais, muitos alimentos que consumimos possui um componente a base de alga como ágar, corantes, amidos, e componentes de grande importância como a astaxantina um carotenoide produzido pelas algas que atua no sistema imunológico complementando a vitamina A. Porém com o aumento da procura da biomassa algal, a produção foi intensificada em função da demanda com isso, o uso de meios de cultura foram intensificados e evidenciando o elevado custo de produção em função do meio utilizado. Neste enfoque, os meios alternativos orgânicos e inorgânicos têm crescido na tentativa de produzir elevada biomassa com valor nutricional adequado e baixo custo de produção. Assim, o uso de macrófitas que são plantas aquáticas que retiram da água os nutrientes essenciais para o seu desenvolvimento, vem se tornando um meio de cultura com respostas satisfatórias, além de contribuir com a retirada dessas plantas que de acordo com local em que se desenvolvem são consideradas verdadeiras pragas (SIPAÚBA-TAVARES et al 2009; 2018). O meio de macrófita vem sendo muito utilizado para o cultivo de diferentes microalgas, *Scenedesmus acuminatus* (KRETTLE et al., 2021), *Messastrum gracile* (SIPAÚBA-TAVARES et al., 2009) e *Haematococcus pluvialis* (SIPAÚBA-TAVARES et al., 2015). Sabendo que o meio alternativo apresenta grande eficácia na produção, a luz é fundamental em seu crescimento, agindo como a principal fonte de energia por induzir a atividade enzimática e influenciar a síntese proteica (BERTOLDI et al., 2008). A fonte luminosa afeta a taxa de crescimento celular, tendo efeito diferente sob as espécies de microalgas. Sabendo que diferentes fotos períodos podem afetar a produção de microalgas o objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento de *M. gracile* em dois diferentes ciclos de luz, sendo com 24h:0h (claro) e 12h:12h (luz/escuro) por 15 dias consecutivos.

## METODOLOGIA

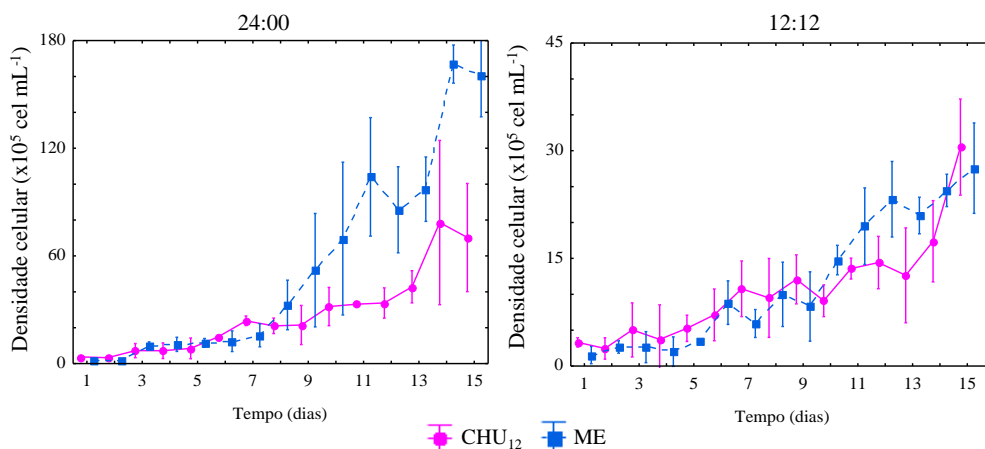
A microalga *Messastrum gracile* (CCMA-UFSCar 5) foi cultivada em dois meios de cultura, um comercial CHU<sub>12</sub> e outro alternativo de extrato de macrófita (*Eichhornia crassipes* – ME) de acordo com a metodologia proposta por Sipaúba-Tavares et al. (2009). A microalga *Messastrum gracile* foi cultivada a  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  sob iluminação de lâmpadas de

led, com intensidade de  $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e oxigênio a  $6 \pm 2 \text{ mg L}^{-1}$ . Duas condições de luminosidades foram utilizadas: 24h:0h (luz constante) e 12h:12h (luz/escuro), para testar os efeitos dos ciclos de luz. Para avaliação do desenvolvimento da microalga foram mensurados o crescimento diário, biomassa, taxa específica de crescimento  $k$  (divisão por dia), tempo de duplicação (GUILLARD, 1973). Para o cálculo da biomassa da microalga um filtro de fibra de vidro GF/C 0,7mm foi lavado, seco em uma estufa a  $60^\circ\text{C}$  e após a secagem foi pesado para obter o peso inicial, após este processo 10 ml do cultivo foi filtrado e posteriormente levado a estufa para secagem, após este processo o demais foram pesados, para o cálculo utilizou-se o peso inicial (PI) e o peso final (PF) disposto na fórmula:  $\text{PF} - \text{PI} * 1000 / 10$ , os dados foram expressos em  $\text{g L}^{-1}$ . Os parâmetros físicos e químicos dos meios de cultura foram amostrados a cada cinco dias (1 - 5 - 10 - 15). A temperatura, pH, oxigênio dissolvido e condutividade foram avaliados com sonda multi-parâmetros YSI 556MPS. A clorofila-*a* foi determinada pela metodologia de NUSH (1980).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O crescimento de *Messastrum gracile* apresentou diferenças nos diferentes cultivos analisados. Para o fotoperíodo no ciclo de 24h:0h o meio de ME apresentou a maior densidade celular  $166 \times 10^5 \text{ cels mL}^{-1}$  no 14º dia de cultivo, o meio comercial  $\text{CHU}_{12}$  apresentou uma densidade celular bem menor com  $79 \times 10^5 \text{ cel. mL}^{-1}$  (Figura 1). No fotoperíodo o ciclo 12h:12h os dois meios de cultura não apresentaram uma densidade celular maior que  $40 \times 10^5 \text{ cels mL}^{-1}$ , sendo  $34 \times 10^5 \text{ cels mL}^{-1}$  no meio comercial  $\text{CHU}_{12}$  no 14º dia e  $28 \times 10^5 \text{ cels mL}^{-1}$  no 15º dia de cultivo para o meio ME (Figura 1). A qualidade nutricional e a densidade celular, são afetadas diretamente pelo tipo e qualidade do meio de cultura durante a produção da microalga (BROWN et al., 1997). A taxa específica de crescimento e o tempo de duplicação foram melhores para ME no ciclo 24h:0h ( $k= 0,5$  e  $\text{TD}= 2,04$ ), o meio  $\text{CHU}_{12}$  no ciclo 12h:12h apresentou a menor taxa de crescimento com  $k=0,24$  e conseqüentemente o maior tempo de duplicação com  $\text{TD}= 4,16$ . A biomassa algal foi mais elevada para o ciclo 24h:0h, no meio comercial foi obtido  $0,65 \text{ gL}^{-1}$  e no meio de ME  $0,7 \text{ gL}^{-1}$ , no ciclo 12h:12h os dois meios apresentaram os mesmos teores de biomassa com  $0,5 \text{ gL}^{-1}$  (Tabela 1). Quando aumenta ou reduz a disponibilidade luminosa estes microrganismos fotossintetizantes podem apresentar diferentes mecanismos e estratégias

para otimizar a taxa fotossintética. A fotoaclimação é um processo em que as microalgas modificam o conteúdo celular da clorofila-*a* e dos pigmentos fotossintetizantes para otimizar a fotossíntese (ANNING et al., 2000). A clorofila-*a* foi afetada pelos meios e pelos fotoperíodos, o meio de cultura ME no ciclo 24h:0h apresentou o maior teor com  $0,9 \pm 0,7$  mg L<sup>-1</sup>. Já para o meio CHU<sub>12</sub> no ciclo 24h:0h e no meio ME no ciclo 12h:0h apresentaram os menores teores com  $0,4$  mg L<sup>-1</sup> (Tabela 1).



**Figura 1:** Curva de crescimento da microalga *Messastrum gracile* nos diferentes meios de cultura nos dois ciclos de luz.

**Tabela 1:** Parâmetros do meio de cultura e da microalga nos meios de cultura em dois fotoperíodos estudados.

Meio de cultura	24:0 hs		12:12 hs	
	CHU <sub>12</sub>	ME	CHU <sub>12</sub>	ME
Cond <sup>1</sup>	737,3±33,5	400,3±36	613,8±15	496,9±14
pH	9,2±0,3	8,8±0,2	9,1±0,3	8,9±0,2
OD <sup>2</sup>	6±2,3	5,8±2,5	6,3±0,7	6,06±0,4
<b>Microalga</b>				
DMax <sup>3</sup>	79±18	166,9±4,3	34±3	28±2,5
k <sup>4</sup>	0,34	0,5	0,24	0,32
TD <sup>5</sup>	2,94	2,04	4,16	3,08
Biomassa <sup>6</sup>	0,65	0,7	0,5	0,5
Clorofila- <i>a</i> <sup>7</sup>	0,4±0,3	0,9±0,7	0,6±0,5	0,4±0,4

<sup>1</sup>Cond = condutividade  $\mu\text{S cm}^{-1}$ ; <sup>2</sup>OD = Oxigênio Dissolvidos:  $\text{mg L}^{-1}$ ; <sup>3</sup>DMax = Densidade Máxima;  $\times 10^5$  cel  $\text{mL}^{-1}$ ; <sup>4</sup>k = Taxa de Crescimento; <sup>5</sup>TD = Tempo de Duplicação; <sup>6</sup>Biomassa =  $\text{g L}^{-1}$ ; Clorofila-*a* =  $\text{mg L}^{-1}$ .

A condutividade foi elevada com os menores valores no meio de cultura ME, mantendo-se acima de  $400,3 \pm 36 \mu\text{S cm}^{-1}$  (ME, 24h:0h). O pH foi alcalino durante todo o experimento, acima de  $8,8 \pm 0,2$ . Em função da maior densidade ocorrer no período de maior intensidade de luz (24h:0h) resultou mais biomassa nos dois meios de cultura no ciclo onde ocorreu maior período de luz (Tabela 1). Quando há pouca luz, as microalgas tendem a aumentar a área de captação de luz de maneira mais eficiente possível e, quando a

intensidade de luz se torna supersaturada, é necessário proteger o organismo de um potencial dano foto-oxidativo (NYMARK et al., 2013).

## CONCLUSÕES

Por meio deste trabalho foi possível concluir que diferentes fotoperíodos podem afetar o crescimento das microalgas, e que o meio de cultura de ME com *Eichhornia crassipes* se apresentou mais promissor que o meio comercial CHU<sub>12</sub>, apresentando um desenvolvimento algal de maior qualidade. Assim, esse resíduo orgânico tão comum em aquicultura pode se tornar um meio de cultura de grande potencial, tornando-se um protocolo a ser adotado em microalgas sustentando o crescimento destes microrganismos.

## REFERÊNCIAS

- ANNING, T.; MACINTYRE, H.L.; PRATT, S.M.; SAMMES, P.J.; GIBB, S.; GEIDER, R.J. Photoacclimation in the marine diatom *Skeletonema costatum*. *Limnol. Oceanogr.*, v. 45, n. 8, p. 1807-1817, 2000.
- BERTOLDI, F.C.; SANT'ANNA, E.; OLIVEIRA, J.L.B. Revisão: Biotecnologia de Microalgas. B. CEPPA, Curitiba, vol. 26, n. 1, p. 9-20, 2008.
- BROWN, M.R.; JEFREY, S.W.; VOLKMAN, J.K.; DUNSTAN, G.A. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture*, v. 151, n. 1-4, p. 315-331, 1997.
- GUILLARD, R.R.L. Division rates. In: J. R. Stein (ed.), *Handbook of Phycological Methods. Culture Methods and Growth Measurements*, London: Cambridge University Press, p. 289-311. 1973.
- KRETTLE, R.H.; FERNANDES, V.O.; JÚNIOR, C.D. 2021. Crescimento de *Scenedesmus acuminatus* (Lagerheim) Chodat em meio de cultura à base de NPK e extrato de macrófitas aquáticas. [http://repositorio.ufes.br/bitstream/10/10024/1/tese\\_9369\\_crescimento20de%20Scenedesmus%20acuminatus.pdf](http://repositorio.ufes.br/bitstream/10/10024/1/tese_9369_crescimento20de%20Scenedesmus%20acuminatus.pdf)
- NUSCH, E. A. Comparison of different methods for chlorophyll and phaeopigment determination. *Arch. Hydrobiol. Beih. Stuttgart*, 14: 14-36. 1980.
- NYMARK, M.; VALLE, K.C.; HANCKE, K.; WINGE, P.; ANDRESEN, K.; JOHNSEN, G.; BONES, A.M.; BREMBU, T. Molecular and Photosynthetic Responses to Prolonged Darkness and Subsequent Acclimation to Reillumination in the Diatom *Phaeodactylum tricorutum*. *PLoS ONE*, v. 8, n. 3, p. 1-19, 2013.
- SIPAUBA-TAVARES, L.H.; IBARRA, L.C.C.; FIORESI, T.B. Cultivo de *Ankistrodesmus gracilis* (Reisch) Korsikov (Chlorophyta) em laboratório utilizando meio CHU<sub>12</sub> e de macrófita com NPK. *Boletim do Instituto de Pesca*, v. 35, n. 1, p. 111-118, 2009.
- SIPAUBA-TAVARES, L.H., BERCHIELLI-MORAIS, F.A., SCARDOELI-TRUZZI, B. Growth of *Haematococcus pluvialis* Flotow in alternative média. *Brazilian Journal of Biology*, 75, 796-803, 2015.
- SIPAUBA-TAVARES L.H.; FLORÊNCIO T.; TRUZZI B.S. Aquaculture biological waste as culture medium to cultivation of *Ankistrodesmus gracilis* (Reinsch) Korshikov. *Brazilian Journal of Biology*, vol. 78. 2018. p. 579-587.