**METODOLOGIAS PARA AVALIAR A VIABILIDADE DA MICROALGA *Pediastrum boryanum***

**DA SILVA, Daniele Gomes**

**DA LUZ, Daniéli Saul**

**SOUZA, Marta Marques**

**MARTINS, Camila**

**danielegdasilva@hotmail.com**

**Evento: Congresso de Iniciação Científica**

**Área do conhecimento: Toxicologia**

**Palavras-chave** Viabilidade celular, microalga, técnicas

1 INTRODUÇÃO

A análise de viabilidade celular envolve a utilização de ferramentas que qualificam e/ou quantificam células “vivas”, ou seja, células metabolicamente ativas em uma cultura (ROGERO et al., 2000). A viabilidade celular é, portanto, uma maneira de medir o efeito tóxico de um poluente e, por isso a importância de analisá-la. Existem diferentes técnicas que avaliam a viabilidade celular; neste estudo testamos duas delas: MTT e Vermelho Neutro. As técnicas foram aplicadas nas microalgas dulcícolas *Pediastrum boryanum* expostas ao Roundup Transorb®, um herbicida a base de glifosato amplamente utilizado na rizicultura predominante na região sul do Brasil (EMBRAPA, 2005). De fato, a técnica de MTT mede a viabilidade celular com base no dano induzido nas mitocôndrias. O princípio deste método é a avaliação da atividade de desidrogenases mitocondriais, quantificadas pela redução do MTT (um sal de coloração amarela solúvel em água) à formazan (cristais de coloração púrpura, insolúveis em água) (LI & SONG, 2007). Por outro lado, a técnica de Vermelho Neutro, mede a viabilidade celular com base na atividade lisossomal. Células viáveis e com seu lisossomo funcionando, retém o Vermelho Neutro dentro destas estruturas (TRIGLIA et al.,1991). No caso de algas, aparentemente o Vermelho Neutro é retido no citoplasma, mas este fato não muda o resultado final que a técnica apresenta (MARIAZETCHE & MEYSMAN, 2012). Tendo em vista o exposto, o objetivo do estudo foi testar a possibilidade de se utilizar as técnicas MTT e Vermelho Neutro para medir viabilidade celular em algas e fazer um estudo comparativo no sentido se indicar uma destas técnicas como a mais apropriada.

2 MATERIAIS E MÉTODOS (ou PROCEDIMENTO METODOLÓGICO)

 A cepa da microalga testada *Pediastrum boryanum* foi obtida a partir de amostras planctônicas na região do extremo sul do Brasil. As microalgas (nº aproximado de células) foram exposta por 24 h à diferentes concentrações de Roundup Transorb®, calculadas a partir do conteúdo de glifosato (1, 5, 10 e 50 g/L de glifosato), princípio ativo do herbicida, em condições semelhantes à do cultivo (meio de cultura WC, 23o C e fotoperíodo de 14L:10E). As concentrações de exposição foram escolhidas com base no teste de toxicidade feito para a alga verde *Selenastrum capricornutum* (TSUI & CHU, 2003) com glifosato. Um grupo controle (sem adição de herbicida no meio) foi mantido por todo o experimento. Após o período de exposição, as algas foram submetidas aos testes de MTT e Verrmelho Neutro (VN). Os resultados foram analisados estaticamente através de ANOVA one-way e teste *a posteriori* de Tukey (α = 0,05).

3 RESULTADOS e DISCUSSÃO

 No teste de VN, *P. boryanum* apresentou uma queda significante de aproximadamente 25 % na sua viabilidade quando exposta à concentração de 10 g/L de glifosato em relação ao seu respectivo controle. Já para o método do MTT, detectou-se uma queda significativa na viabilidade celular desta mesma alga em todos os tratamentos em comparação ao controle. Esta redução variou entre 80 a 85 % e não foi significativamente diferente entre os tratamentos.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Como esperado, foi observado um efeito significativo do herbicida Roundup Transorb® sobre a viabilidade algal, confirmando sua ação altamente tóxica a este tipo de organismo. No que se refere às técnicas, a de MTT mostrou-se mais sensível do que a técnica de VN tendo em vista que a queda na viabilidade celular foi mais pronunciada. Sendo assim, a técnica de MTT seria mais indicada para a análise de viabilidade celular em *P. boryanum* .

REFERÊNCIAS

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária- EMBRAPA. Sistemas de Produção, 3: Cultivo do Arroz irrigado no Brasil, 2005. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Arroz/ArrozIrrigadoBrasil/index.htm>. Acesso em 12/02/2013.

LI, J.; SONG, L. Applicability of the MTT assay for measuring viability of cyanobacteria and algae, specifically for Microcystis aeruginosa (Chroococcales, Cyanobacteria). Phycologia, v. 46, p. 593–599, 2007.

MARIAZETSCHE, E.; MEYSMAN, F.J.R. Dead or alive? Viability assessment of micro and mesoplankton. Journal of Plankton Research, v. 34, p. 493–509, 2012.

ROGERO, S.O.; HIGA, O.Z.; SAIKI, M.; CORREA, O.V.; COSTA, I. Toxicology in Vitro, v. 14, n. 6, p. 497-504, 2000.

TRIGLIA, D.; BRAA, S.S.; YONAN, C.; NAUGHTON, G.K. In vitro toxicity of various classes of test agents using the neutral red assay on a human three-dimensional physiologic skin model. In Vitro Cell & Developmental Biology, v. 27A, p. 239–244, 1991.

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