

<https://eventos.utfpr.edu.br//sicite/sicite2019>

Avaliação da atividade inibitória dos extratos da *Alternanthera philoxeroides* (Mart.) Griseb sobre a *Microcystis aeruginosa* Kützing

Evaluation of the inhibitory activity of *Alternanthera philoxeroides* (Mart.) Griseb extracts on *Microcystis aeruginosa* Kützing

RESUMO

Marcos Antonio Severino
marcos.severino.tpa@gmail.com
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil

Gabrielle Domanski Zaleski
dgabrielle@gmail.com
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil

Nataly Raissa Garcia Mazurkiewicz
natalyrgm@gmail.com
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil

Thomaz Aurélio Pagioro
thomazap@gmail.com
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, Brasil

O objetivo da presente pesquisa foi a avaliação da atividade inibitória dos extratos da macrófita aquática *Alternanthera philoxeroides* sobre a cianobactéria *Microcystis aeruginosa*. A coleta da macrófita foi realizada no Reservatório do Iraí, localizado na Região Metropolitana de Curitiba, capital do estado do Paraná. Foi utilizada água purificada em sistema de osmose reversa e solução hidrometanólica 50% como líquidos extratores. Para a realização dos testes de inibição foram avaliadas as seguintes concentrações dos extratos diluído em meio ASM-1: 0,01; 10; 100 mg L⁻¹ e solução com o cultivo sem o extrato (controle). Os extratos foram adicionados nos cultivos de *M. aeruginosa* quando a concentração atingiu a fase exponencial (10⁶ cel mL⁻¹) em meio ASM-1. Foram 9 dias de experimento. Através da contagem celular na câmara de Neubauer foram identificados os efeitos dos extratos no crescimento celular. Os efeitos sobre o potencial fotossintético serão avaliados por dosagem do teor de clorofila-a após o período de 9 dias do experimento. Os testes possuíam o objetivo de demonstrar o potencial dos extratos da *A. philoxeroides* na inibição de *M. aeruginosa*. Os resultados demonstram o potencial dos extratos para a inibição de *M. aeruginosa* visto que houve redução do crescimento celular, evidenciando o potencial alelopático e de aplicação da espécie com uso ecológico para restauração em ambientes aquáticos.

PALAVRAS-CHAVE: Atividade Inibitória. Extratos. Macrófita Aquática. Cianobactéria.

ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the inhibitory activity of *Alternanthera philoxeroides* aquatic macrophyte extracts on *Microcystis aeruginosa* cyanobacteria. The macrophyte was collected at the Iraí Reservoir, located in the metropolitan region of Curitiba, capital of the state of Paraná. Purified water in reverse osmosis system and 50% hydromethanolic solution were used as extracting liquids. To perform the inhibition tests, the following concentrations of the extracts diluted in ASM-1 medium were evaluated: 0.01; 10; 100 mg L⁻¹ and solution with cultivation without extract (control). The extracts were added to the *M. aeruginosa* cultures when the concentration reached the exponential phase (10⁶ cel mL⁻¹) in ASM-1 medium. There

Recebido: 19 ago. 2019.

Aprovado: 01 out. 2019.

Direito autoral: Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



were 9 days of experiment. Through cell counting in the Neubauer chamber, the effects of extracts on cell growth were identified. The effects on photosynthetic potential were evaluated by measuring the chlorophyll-a content after 9 days of experiment. These tests aimed to demonstrate the potential of *A. philoxeroides* extracts in the inhibition of *M. aeruginosa*. The results demonstrate the potential of the extracts for the inhibition of *M. aeruginosa* as there was a reduction in cell growth, showing the allelopathic and application potential of the species with ecological use for restoration in aquatic environments.

KEYWORDS: Inhibitory Activity. Extracts. Aquatic macrophyte. Cyanobacteria.

INTRODUÇÃO

As florações de cianobactérias tóxicas estão se tornando um processo frequente em diversos corpos de água em todo o mundo (MISHRA e MISHRA, 2014). Este evento torna-se prejudicial para a saúde humana principalmente em recursos hídricos utilizados para o abastecimento público. Os processos de tratamento de água convencionais não são efetivos para a remoção de cianotoxinas (BRASIL, 2003).

A *Microcystis aeruginosa* é uma das espécies de cianobactérias mais estudadas devido a produção da microcistina. Quando ingerida pode causar desde gastroenterites até insuficiência hepática em casos de exposição aguda.

Uma das possibilidades de controle as cianobactérias é a utilização de macrófitas aquáticas, devido a sua capacidade de liberar aleloquímicos (substâncias liberadas por algumas espécies vegetais que afetam o crescimento de outras espécies) na água, podendo ser uma defesa estratégica contra outros organismos fotossintéticos que competem por luz e nutrientes, como epifítion e fitoplâncton (GROSS et al, 2007).

A espécie utilizada para estudo sobre os efeitos crescimento da *Microcystis Aeruginosa* no estudo é a *Alternanthera philoxeroides*, macrófita anfíbia, com alta plasticidade fenotípica e originária da América do Sul. É alvo de inúmeras pesquisas a fim de detectar suas propriedades medicinais, inclusive a de controle de organismos patogênicos. Sua ocorrência registrada em todas as regiões do Brasil inclusive nos reservatórios Passaúna, Piraquara I, Piraquara II e Iraí, todos responsáveis pelo abastecimento de água na cidade de Curitiba.

METODOLOGIA

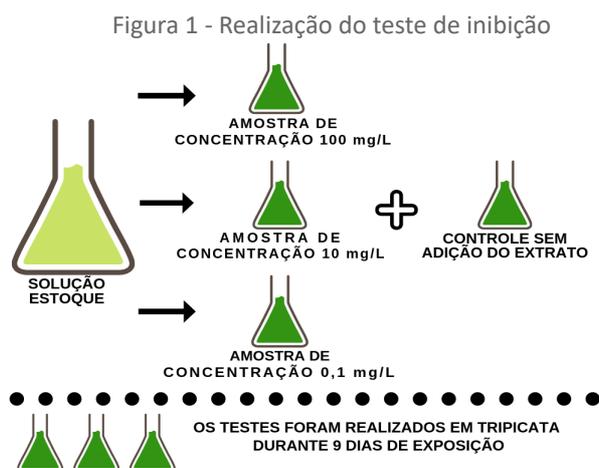
A cianobactéria *Microcystis aeruginosa*, (cepa BB005) foi cultivada em meio ASM-1 otimizado, em uma sala com condições de: 12h claro – 12h escuro, temperatura de 22°C a 25°C, pH 7,4 e intensidade luminosa de 2150 lux.

Inicialmente coletou-se a *Alternanthera philoxeroides* no Reservatório do Iraí, localizado na Região Metropolitana de Curitiba, capital do estado do Paraná. Após a coleta, as plantas foram levadas para o laboratório de

limnologia da UTFPR, sede ECOVILLE. Em seguida as plantas foram lavadas, secas em estufa, trituradas e peneiradas para a homogeneização.

Para a produção dos extratos vegetais foi utilizada água purificada em sistema de osmose reversa e solução hidrometanólica 50% como líquidos extratores. Inicialmente, 20 gramas do pó da amostra vegetal triturada foram adicionados em 100 mL de cada líquido extrator e o material foi submetido a ciclos de ultrassom, e filtrada com o filtro qualitativo. Posteriormente ao processo de extração, o extrato alcoólico foi rotaevaporado, e ambos os extratos foram liofilizados e armazenados sob proteção de luz e refrigerados.

Para a realização dos testes de inibição foram avaliados os extratos diluídos em meio ASM-1 preparados a partir de uma solução estoque nas seguintes concentrações: 0,01; 10; 100 mg L⁻¹ e solução com o cultivo sem o extrato (controle). Os extratos foram adicionados em frascos erlenmeyer contendo 100 ml de cultivo de *M. aeruginosa* em fase exponencial (10⁶ cel mL⁻¹) em meio ASM-1, conforme Figura 1. O experimento teve 9 dias duração, com nas mesmas condições de luz e temperatura da *M. aeruginosa* cultivada no laboratório.



Fonte: Autoria própria (2019)

Durante o teste, através da contagem celular realizada a cada 48 horas na câmara de Neubauer, foram identificados os efeitos dos extratos no crescimento celular. A taxa de inibição foi calculada, de acordo com a Equação 1, proposta por (CHENG et. al., 2008):

$$TI = [1 - (N/N_0)] \cdot 100 \quad (1)$$

Sendo:

TI = Taxa de inibição;

N = concentração celular (em células mL⁻¹) no recipiente teste, 9 dias após a exposição do extrato;

N₀ = concentração celular (em células mL⁻¹) no recipiente controle, 9 dias de cultivo.

Os efeitos sobre o potencial fotossintético serão avaliados por dosagem do teor de clorofila-a, de acordo com a Equação 2 proposta pelo método (LICHTENTHALER e WELLBURN, 1983) ao final do experimento.

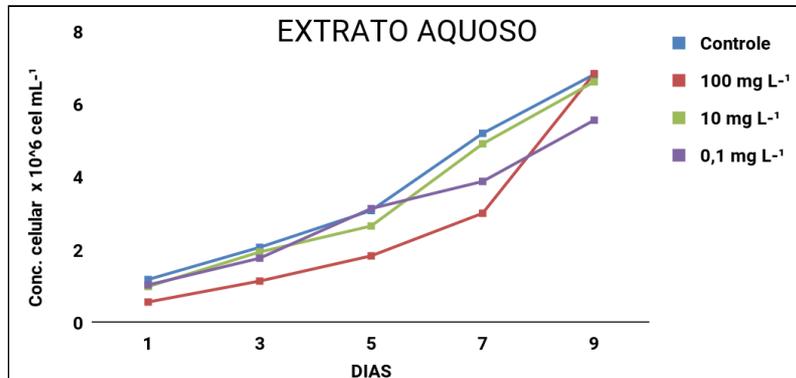
$$\text{Clorofila-a (mg L}^{-1}\text{)} = 12,21.(A663) - 2,81.(A646) \quad (2)$$

Os testes possuíram o objetivo de demonstrar o potencial dos extratos da *A. philoxeroides* na inibição de *M. aeruginosa*, avaliando os efeitos sobre o crescimento celular.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

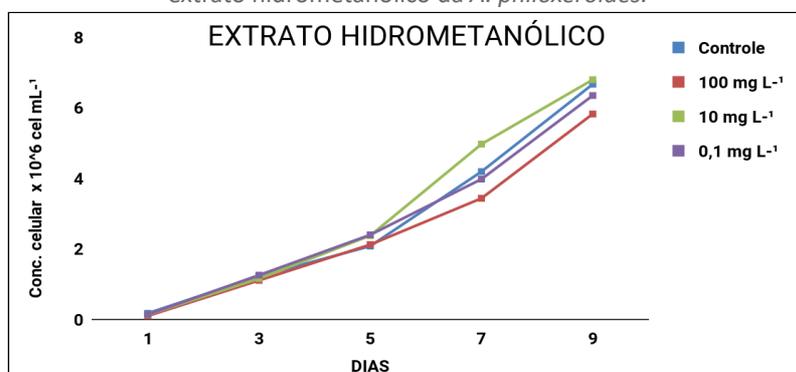
Ao avaliar os extratos obtidos da espécie *A. philoxeroides* foi possível verificar, através das medidas obtidas nos testes de inibição, que o crescimento celular foi reduzido moderadamente em todas as amostras do extrato aquoso, chegando em até 17,9% de inibição na concentração de 0,1 mg L⁻¹ do extrato. Já no extrato hidrometanólico com taxas de inibição de até 12,8% comparado ao controle. Apenas a concentração de 10 mg L⁻¹ do extrato hidrometanólico apresentou um crescimento maior comparado ao controle, conforme demonstrado nas Figuras 2 a 4.

Figura 2 - Curva de Crescimento da *M. aeruginosa* em dias no teste de inibição com o extrato aquoso da *A. philoxeroides*



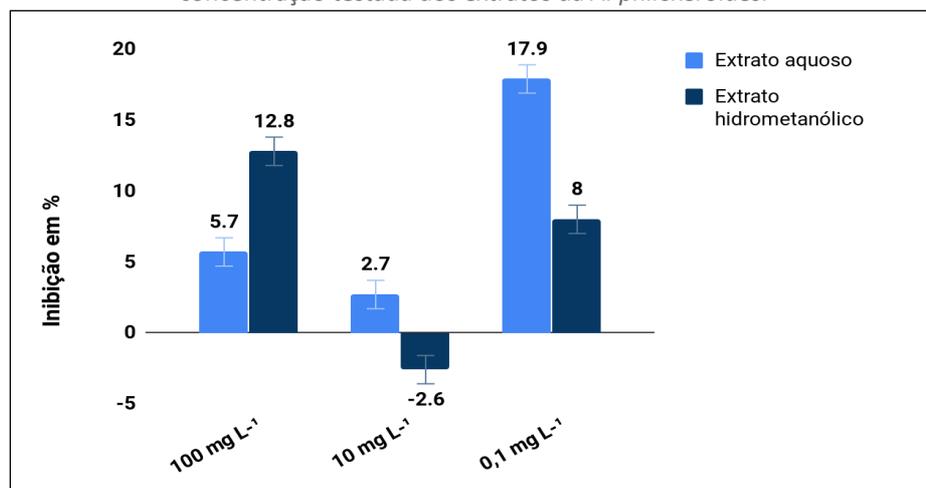
Fonte: Autoria própria (2019)

Figura 3 - Curva de Crescimento da *M. aeruginosa* em dias no teste de inibição com o extrato hidrometanólico da *A. philoxeroides*.



Fonte: Autoria própria (2019)

Figura 4 - Taxa de inibição de crescimento da *M. aeruginosa* em cada concentração testada dos extratos da *A. philoxeroides*.



Fonte: Autoria própria (2019)

O estudo conduzido por Zuo *et al.* (2013) demonstram também a inibição do crescimento de *C. pyrenoidosa* e *M. aeruginosa*. Contudo, os autores ressaltam os fatores ambientais como efeitos algicidas na inibição. Wang *et al.* (2017) concluem que a *A. philoxeroides* possui alto grau de segurança ecológica e pode ser adotada no controle prático do florescimento de algas, pois pode efetivamente inibir o crescimento de *M. aeruginosa* sem aumentar a liberação de cianotoxinas e Zuo *et al.* (2012) expõem que a *A. philoxeroides* atua como importante ferramenta de combate as algas nocivas e encontraram relação significativa entre a taxa de supressão das algas testadas pela alelopátia de *A. philoxeroides*.

CONCLUSÃO

Os resultados demonstram o potencial dos extratos para a inibição de *M. aeruginosa* visto que houve redução do crescimento celular. Ainda existe a necessidade da análise dos teores de clorofila-a para relacionar os efeitos do potencial fotossintético com a taxa de crescimento celular e dos testes de viabilidade para avaliar o potencial algicida dos extratos, evidenciando, o potencial alelopático e de aplicação da espécie com uso ecológico para restauração em ambientes aquáticos.

AGRADECIMENTOS

À Fundação Araucária, CAPES, CNPQ pelo fomento da pesquisa; a UTFPR, ao LLIIEC - Laboratório de Limnologia, Ecologia e Cromatografia e LAMEAA - Laboratório Multiusuários de Equipamentos e Análises Ambientais pelo espaço e equipamentos cedidos.

REFERÊNCIAS

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE - FUNASA. **Cianobactérias tóxicas na água para consumo humano na saúde pública e processos de remoção em água para consumo.** Brasília, pg 25. 2003. Disponível em <http://www.cvs.saude.sp.gov.br/pdf/cianobacterias.pdf>.

CHENG, W.; CHANG, X.; DONG, H.; LI, D.; LIU, J.. **Allelopathic inhibitory effect of *Mryriophyllum aquaticum* (Vell.) Verdc. on *Microcystis aeruginosa* and its physiological mechanism.** *Acta Ecologica Sinica*, v.28, n.6, p.2595-2603, 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S187220320860061X?via%3Dihub>.

GROSS, E.M., HILT. S., LOMBARD, P., MULDERJI, G., **Searching for allelopathic effects of submerged macrophytes on phytoplankton - state of the art and open questions** *Hydrobiologia*, 584, pag 77-88. 2007. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10750-007-0591-z>.

MISHRA, S.; MISHRA, D.R. **A novel remote sensing algorithm to quantify phycocyanin in cyanobacterial algal blooms** *Environmental Research Letters*, v. 9, 114003 (9 p). doi:10.1088/1748-9326/9/11/114003. 2014. Disponível em: <https://pdfs.semanticscholar.org/e178/d468d4fc2f62dbdc140b42de51991695fd79.pdf>.

LICHTENTHALER, HARTMUT K.; WELLBURN, Alan R. **Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents.** V.11, p. 591-592 1983. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0176161711811922>

WANG, S.; WU, X.; WANG, Y.; LOU, W.; LU, Y. **Inhibitory effect of invasive aquatic plants on common algae bloom species and the underlying physiological mechanisms.** *Oceanologia et Limnologia Sinica/Hai Yang Yu Hu Chao*, v. 48, n. 4, p. 798-805, 2017.

ZUO, S. P.; WAN, K.; YING, L. J.; MA, S. M.; MEI, H. **Effects of environmental pollution on algal suppression of *Alternanthera philoxeroides* (Mart.) Griseb: Field and laboratory observations.** *Allelopathy Journal*, v. 32, n. 1, 2013.

ZUO, S. P. *et al.* **Effects of water quality characteristics on the algicidal property of *Alternanthera philoxeroides* (Mart.) Griseb. in an aquatic ecosystem.** *Biochemical systematics and ecology*, v. 43, p. 93-100, 2012.