

Criopreservação de microalgas de água-doce: influência da idade das culturas e avaliação de métodos

Lucas Segnini Tiberti^{1*}, Armando A. H. Vieira²

1. Estudante de Ciências Biológicas da UFSCar, São Carlos/SP; *lucas_tiberti@hotmail.com

2. Pesquisador do Lab. de Ficologia, Depto. de Botânica, UFSCar, São Carlos/SP

Palavras Chave: Criopreservação, Ficologia, Microbiologia

Introdução

Coleções de culturas de microrganismos têm importante papel de apoio a pesquisas em ciências biológicas. Dentre as principais formas de manutenção de culturas, está a criopreservação, cujo sucesso pode variar de acordo com os métodos empregados e as espécies estudadas.

Este trabalho teve como objetivos: (a) analisar a influência da idade das culturas (em fase exponencial e estacionária) no sucesso da criopreservação de microalgas, e (b) avaliar o sucesso de três protocolos de congelamento: imersão direta em N₂ líquido (ID), encapsulação-desidratação padrão (ED), e encapsulação-desidratação modificado (EDM, apenas com *loading solution*, sem dessecação).

Resultados e Discussão

Foram utilizadas duas espécies de *Ankistrodesmus* (Chlorophyceae: Selenastraceae), da Coleção de Culturas de Microalgas de Água Doce da UFSCar (WDCM 835). Os protocolos de criopreservação foram baseados em Day & Brand (2005), e são ilustrados na Figura 1.

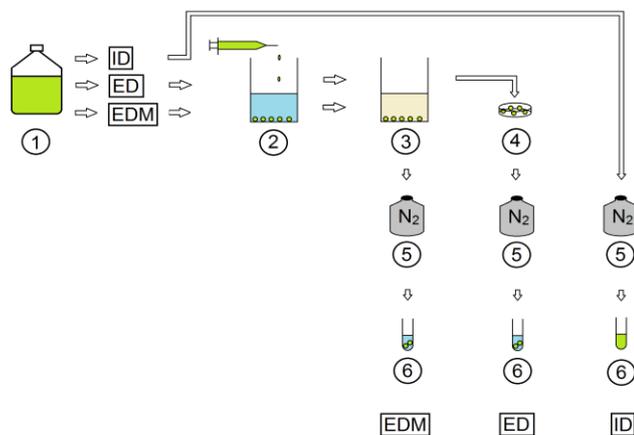


Figura 1. Esquema resumido dos métodos utilizados. 1: Pré-cultivo em meio WC. 2: Encapsulação com alginato de sódio e cloreto de cálcio. 3: Desidratação osmótica em solução de sacarose (0,5 M, 24 h, seguida de 0,75 M, 24 h), no escuro. 4: Desidratação evaporativa em fluxo laminar (1 h, conteúdo de água restante de 30%). 5: Congelamento em N₂. 6: Descongelamento e cultivo em meio WC por 3 semanas, seguidos de dissolução das cápsulas (quando presentes) com hexametáfosfato de sódio e medição de fluorescência de clorofila-a final (sendo a inicial após passo 1 para ID e após passo 2 para ED e EDM) para cálculo da taxa de crescimento (Levasseur et al., 1993).

Os resultados da recuperação das algas após os congelamentos são apresentados na Figura 2.

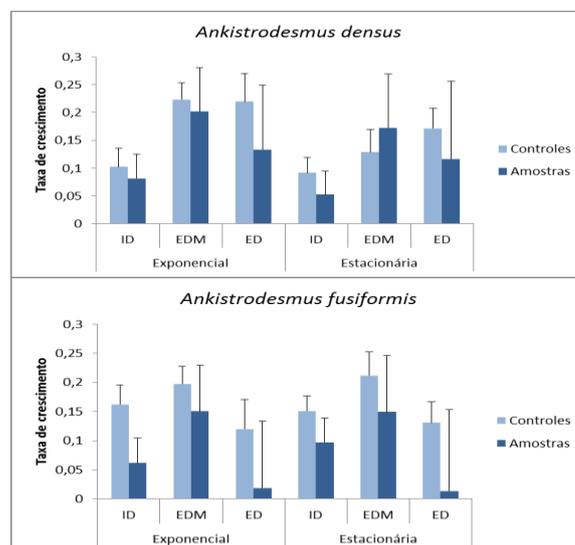


Figura 2. Taxas de crescimento μ de *A. densus* (UFSCar 128) e *A. fusiformis* (UFSCar 333) após congelamento, de acordo com a idade das culturas e com o protocolo empregado. Controles: sem congelamento.

Observa-se que a idade aparenta não ter influenciado no sucesso do congelamento, pois talvez não ocorram alterações bioquímicas significativas (como acúmulo de lipídios, ou aumento de insaturações dos lipídios de membrana) durante o crescimento das duas espécies.

O melhor desempenho de EDM em relação à ED contraria o observado em estudos com plantas (Sakai & Engelmann, 2007), o que torna sua utilização futura plausível. Além disso, o sucesso de ID indica a criotolerância das espécies estudadas.

Enfim, observa-se que, mesmo com espécies próximas, o sucesso da criopreservação foi diferente.

Conclusões

Experimentos futuros poderiam testar se EDM teria melhor sucesso que ED mesmo em espécies não-criotolerantes.

Agradecimentos

Agradeço à Fapesp pela bolsa concedida, e às doutorandas Leticia Tessarolli e Cilene Mori pelos auxílios no desenvolvimento deste trabalho.

Day, J.G. & Brand, J.J. (2005). Cryopreservation methods for maintaining cultures. In: Andersen, R.A. (ed.). *Algal Culturing Techniques*. Academic Press, New York, pp. 165-187.

Levasseur, M., Thompson, P.A. & Harrison, P.J. (1993). Physiological acclimation of marine phytoplankton to different nitrogen sources. *J. Phycol.* 29, 587-595.

Sakai, A., & Engelmann, F. (2007). Vitrification, encapsulation-vitrification and droplet-vitrification: a review. *CryoLetters*, 28(3), 151-172.