



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
UNIDADE ACADÊMICA DE SERRA TALHADA
BACHARELADO EM ENGENHARIA DE PESCA

FLÁVIA KLEITYANE DA SILVA SANTOS

CULTIVO DE DINOFLAGELADO *Durusdinium glynnii* LAJEUNESSE et al., (2018)
EM DIFERENTES SALINIDADES

Serra Talhada - PE
2023

FLÁVIA KLEITYANE DA SILVA SANTOS

**CULTIVO DE DINOFLAGELADO *Durusdinium glynnii* LAJEUNESSE et al., (2018)
EM DIFERENTES SALINIDADES**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Engenharia de Pesca da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Serra Talhada, como requisito obrigatório para obtenção do título de Engenheira de Pesca.

Orientador: Prof. Dr. Nivaldo Ferreira do Nascimento

Coorientadora: Dra. Jéssika Lima de Abreu

Serra Talhada - PE

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S586Sant Santos, Flávia Kleityane da Silva

osc Cultivo de dinoflagelados *Durusdinium glynnii* Lajeunesse et al., (2018) em diferentes salinidades / Flávia Kleityane da Silva Santos. - 2023.

33 f.: il.

Orientador: Nivaldo Ferreira do Nascimento.

Coorientadora: Jessika Lima de Abreu.

Inclui referências e apêndice(s).

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Bacharelado em Engenharia de Pesca, Serra Talhada, 2023.

1. Microalga. 2. Cultivo. 3. Salinidade. 4. Crescimento. I. Nascimento, Nivaldo Ferreira do, orient. II. Abreu, Jessika Lima de, coorient. III. Título

CDD 639



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
UNIDADE ACADÊMICA DE SERRA TALHADA
CURSO DE GRADUAÇÃO BACHARELADO EM ENGENHARIA DE PESCA

O parecer da banca examinadora da defesa de Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação de Bacharelado em Engenharia de Pesca.

Título: CULTIVO DE DINOFLAGELADO *Durusdinium glynni* LAJEUNESSE et al., (2018) EM DIFERENTES SALINIDADES.

Orientador: Prof. Dr. Nivaldo Ferreira do Nascimento.

A banca examinadora composta pelos membros abaixo, sob a presidência do primeiro, considera a discente Flávia Kleityane Da Silva Santos, do curso de Engenharia de Pesca, da Universidade Federal Rural de Pernambuco da Unidade Acadêmica de Serra Talhada, como aprovado.

Serra Talhada, 25 de Abril de 2023.

Banca examinadora

Prof. Dr. Nivaldo Ferreira do Nascimento
Unidade Acadêmica de Serra Talhada, UFRPE.

Prof. Dr. Ugo Lima Silva
Unidade Acadêmica de Serra Talhada, UFRPE.

Prof. Dra. Cleonice Cristina Hilbig.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, Francisco e Zuleide os maiores responsáveis pela minha formação como ser humano, por sempre me incentivarem a não desistir dos meus objetivos, aos meus grandes amigos Evelyn e Wilson, que sempre me ajudaram a superar as dificuldades da minha trajetória acadêmica, à professora Dra. Jéssika e Dr. Carlos Yure, que nessa reta final, fizeram a diferença das formas mais amáveis, e por me ensinarem coisas que eu achei que nunca conseguiria compreender.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela minha vida, e por me permitir ultrapassar todos os obstáculos encontrados ao longo da realização deste sonho.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Serra Talhada.

Ao Professor Alfredo, por ter aberto as portas do laboratório (LAPAVI), e ter me recebido de braços abertos.

Aos Laboratórios de Produção de Alimento Vivo e Laboratório de Maricultura Sustentável (LAPAVI_LAMARSU) pelas contribuições nessa última etapa da minha jornada acadêmica.

Ao meu supervisor, Dr. Carlos Yure Barbosa de Oliveira, pela paciência ao longo desses 50 dias, por todos os ensinamentos e companheirismo.

À minha coorientadora Dra. Jéssika Lima de Abreu, pelo apoio técnico prestado durante todo o desenvolvimento da pesquisa. Obrigada, por me manter motivada durante o processo.

Aos meus colegas graduandos e doutores de laboratório, Bruna, Maria, Julia, Priscilla Lêdo, Emily, Jaci, Lucas, Salomão, Ezéchiél, Pedro, Barbara, Daivyd, Rildo, Elizabeth e Priscilla Celes, que de forma direta e indireta, contribuíram com meu aprendizado durante meu período de estágio.

Aos professores, Ugo Lima Silva, Elton José de França, José Carlos Pacheco, Dario Rocha Falcon, Dráusio Pinheiro Veras, Diogo Martins Nunes, Francisco Marcante Santana, Luciana Sandra Matos, Juliana Maria Aderaldo Vidal Campello, Juliana Ferreira Santos, Danielli Matias de Macedo Dantas, Renata Akemi Shinozaki Mendes e Girlene Fábria Segundo Viana, pelas correções e ensinamentos que me permitiram apresentar um melhor desempenho no meu processo de formação profissional ao longo do curso.

Às minhas colegas de residência, Aleide, Jacy, Fabiana e Vitoria, pelas grandes aventuras.

À minha companheira de estágio Gilmara, a master chefe. Por ter topado fazer o estágio junto comigo, e pela troca de conhecimento diário.

À banca examinadora pela contribuição.

RESUMO

Microalgas são seres fotossintetizantes ubíquos em sistemas aquáticos, envolvendo enorme diversidade de formas e funções ecológicas, sendo também aproveitadas em atividades econômicas. De forma geral, apresentam elevadas taxas de crescimento, condição que proporciona alta produção de biomassa em intervalos de tempo curtos. Os dinoflagelados, junto com as diatomáceas, compõem o grupo dos principais produtores primários do fitoplâncton marinho. A maioria dos dinoflagelados são unicelulares, alguns formam cadeias, apresentam assimetria morfológica e dois flagelos distintos. Podem ser móveis ou imóveis, bênticas, planctônicas, simbioses ou parasitas. Dinoflagelados, em particular as espécies oceânicas, são relativamente difíceis de cultivar em condições laboratoriais, mas são extremamente importantes para estudos ecológicos e fisiológicos, entre os quais destacam-se os relacionados à presença e/ou produção de toxinas. O presente estudo avaliou as características de crescimento do *Durisdinium glynnii*. A cepa do dinoflagelado endossimbionte *D. glynnii*, registrada sob número BMK 211, foi doada pelo Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo (IO USP). Os experimentos foram conduzidos de maneira a avaliar o crescimento do dinoflagelado (*Durisdinium glynnii*) em diferentes salinidades. Foram avaliadas as salinidades 0, 10, 20, 30 e 40 PSU. Pode-se observar que a diminuição progressiva da salinidade resultou na diminuição gradual do rendimento final celular e da taxa específica máxima de crescimento. Com isso conclui-se que, o dinoflagelado *D. glynnii*, apresenta um bom crescimento a partir da salinidade 20 PSU.

Palavras-chave: Microalga, Cultivo, Salinidade, Crescimento.

ABSTRACT

Microalgae are ubiquitous photosynthetic beings in aquatic systems, involving a huge diversity of ecological forms and functions, and are also used in economic activities. In general, they present high growth rates, a condition that provides high biomass production in short time intervals. Dinoflagellates, along with diatoms, make up the group of the main primary producers of marine phytoplankton. Most dinoflagellates are unicellular, some form chains, have morphological asymmetry and have two distinct flagella. They can be mobile or immobile, benthic, planktonic, symbionts or parasites. Dinoflagellates, in particular oceanic species, are relatively difficult to cultivate in laboratory conditions, but are extremely important for ecological and physiological studies, among which those related to the presence and/or production of toxins stand out. The present study evaluated the growth characteristics of *Durusdinium glynnii*. The strain of the endosymbiont dinoflagellate *D. glynnii*, registered under number BMK 211, was donated by the Oceanographic Institute of the University of São Paulo (IO USP). The experiments were conducted in order to evaluate the growth of the dinoflagellate (*Durusdinium glynnii*) in different salinities. The salinities 0, 10, 20, 30 and 40 PSU were evaluated. It can be seen that the progressive decrease in salinity resulted in a gradual decrease in the final cell yield and the maximum specific growth rate. With this, it is concluded that the dinoflagellate *D. glynnii* presents a good growth from salinity 20 PSU.

Keywords: Microalgae, Cultivation, Salinity, Growth.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Tanques de cultivos de microalgas em tipo raceway Fonte: Coplin, (2012)
..... 16
- Figura 2** - Lagoa circular para cultivo de microalgas Fonte: Borowitzka, (2005)
..... 17
- Figura 3** - Representação dos principais sistemas fechados para cultivos de microalgas
Fonte: Pereira, (2014)
..... 18
- Figura 4** - Exemplo de um fotobiorreator tubular utilizado em cultivos em massa de microalgas
Fonte: Coplin, (2012)
..... 18
- Figura 5** - Tubos de ensaio de 50 mL de volume total com tampa rosqueável Fonte: Oliveira. C.Y.B 24
- Figura 6** - Crescimento fotoautotrófico de *Durusdinium glynnii* a $22 \pm 1^\circ\text{C}$, sob irradiância de $150\mu\text{mol fótons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ em meio f/2 contendo diferentes salinidades. Cada curva representa a média de um experimento independente e as barras representam os desvios padrão para células. Os inóculos foram constituídos por células crescidas na salinidade de 30 PSU
..... 28

LISTA DE QUADRO

Quadro 1 - Funções dos principais nutrientes presentes nos meios de cultivos de microalgas	19
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição do meio F/2 Guillard modificado utilizado para a cultura do <i>Durusdinium glynnii</i>	25
Tabela 2 - Parâmetros de crescimento de <i>Durusdinium glynnii</i> cultivados em diferentes salinidades	29

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1 Cultivo de microalga	15
2.2 Dinoflagelados	19
3. OBJETIVO	22
3.1 Objetivo geral	22
3.2 Objetivo específico	22
4. MATERIAIS E MÉTODOS	23
4.1.1 Delineamento Experimental	23
4.1.2 Condições Experimentais	23
4.1.3 Cepa do Dinoflagelado	24
4.1.4 Análise de Crescimento do dinoflagelado	25
4.1.5 Análise Estatística	26
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	30
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31

1. INTRODUÇÃO

A aquicultura apresenta um papel significativo como produtora de alimentos, com importância que vai muito além, pois a mesma colabora para diminuição da pobreza (FAO, 2016). Alguns incentivos internacionais para esta atividade aumentam a cada dia, no entanto o Brasil tem algumas dificuldades no setor da aquicultura, na última década com relação às políticas governamentais, com surgimento, extinção e ressurgimento de ministérios e secretarias ligadas à atividade, com tudo o setor privado investe no potencial existente (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA PISCICULTURA, 2020). O potencial do território nacional é ofuscado por interferências de políticas públicas que interrompem o avanço se comparado a outros países e transfere sua relevância para segundo plano. A falta de dados atualizados da atividade é um reflexo da descontinuidade e uma das consequências é a divulgação das produções estimadas pela FAO – ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA ALIMENTAÇÃO E AGRICULTURA (FAO, 2020).

No Brasil, a aquicultura está cada vez mais fazendo parte do cotidiano de muitos trabalhadores rurais e pescadores. Uma de suas características mais marcantes é a possibilidade de produção em pequenas áreas (SANTOS, 2009). Essa característica, se bem utilizada, faz da aquicultura uma ferramenta potencial para o desenvolvimento social. Com programas específicos voltados para pessoas carentes e apoiados por governos e comunidades, a aquicultura pode ser uma ferramenta valiosa para o desenvolvimento social e econômico.

De acordo com Routledge et. al., (2022), a aquicultura pode ser dividida de acordo com o sistema de produção em criação de peixes (Piscicultura), Moluscos (Malacocultura), Crustáceos (Carcinicultura) e Algas (Algicultura). A aquicultura tem alguns benefícios que vão além da produção do pescado como alimento (ROUTLEDGE et. al., 2022).

As algas são organismos que vivem no solo ou na água (doce ou salgada). Podem ser unicelulares ou pluricelulares, macro ou microscópicas, fotossintéticas e sem embriões ou tecidos especiais. Muitos tipos de algas podem ser convertidos em bioenergia, alimentos e outros produtos comercialmente valiosos, têm baixo impacto no meio ambiente e contribuem para o sequestro de carbono (VIANA, 2021). As microalgas são microrganismos fotossintéticos presentes no ambiente aquático,

responsáveis por grande parte da produção de O₂ e processamento de CO₂. Cultivadas em meios adequados, algumas microalgas podem dobrar a biomassa por dia, produzir matéria seca com mais de 50% de proteína e produzir de 30 a 50 g.m⁻². d⁻¹ em peso seco (RADMANN, 2011).

O cultivo de microalgas é importante porque a produção de biomassa é rica em produtos de alto valor. A biomassa produzida tem diversas aplicações, como a utilização para alimentação humana e animal, com alto teor de proteínas e carboidratos, pode ser utilizada como fertilizante, além da produção de pigmentos e lipídios, para a produção de biocombustíveis (COELHO et. al., 2020).

Como qualquer outro organismo, o ambiente intracelular das microalgas reage às mudanças no ambiente. Portanto, alterar as condições de cultivo, ou seja, a presença ou ausência de determinados nutrientes, estimula a biossíntese de compostos provenientes de antioxidantes naturais, alguns de grande valor comercial (RADMANN, 2011).

Os dinoflagelados são um grupo de microalgas unicelulares. Seu nome vem da palavra grega dino, que significa virar, e do latim flagellum, que significa chicote. Esse grupo existe há 1,6 bilhão de anos e durante esse período evoluiu e sobreviveu a grandes extinções. Tem a capacidade de produzir toxinas que, em níveis elevados, podem causar a morte dos organismos no meio aquático e no homem devido ao consumo de moluscos contaminados, por outro lado, os cientistas têm conseguido encontrar aplicações médicas para estas toxinas (DELGADO DEL VILLAR; ALONSO RODRÍGUEZ e JIMÉNEZ GUTIÉRREZ, 2021).

Os dinoflagelados, principalmente as espécies marinhas, são relativamente difíceis de crescer em condições laboratoriais, mas são muito importantes para estudos ecológicos e fisiológicos, entre os quais estão aqueles relacionados à presença e/ou produção de toxinas. Um dos fatores importantes para a organização das culturas em condições de laboratório é o conhecimento de estudos fisiológicos como as taxas de crescimento e os fatores que afetam (GUIMARÃES E RÖRIG, 2004).

Diante do exposto, o presente estudo teve por objetivo avaliar os parâmetros de crescimento do dinoflagelado *Durusdinium glynnii* cultivado em diferentes

salinidades, e determinar a salinidade mínima para o cultivo do dinoflagelado *D. glynnii*.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 CULTIVO DE MICROALGAS

Em um cultivo de dinoflagelados, ou qualquer outra microalga, podem ser verificadas quatro fases de crescimento: (1) fase lag, onde, num intervalo variável de tempo logo após a inoculação, não se detecta crescimento significativo, consistindo num tipo de fase de adaptação da célula ao novo ambiente; (2) fase exponencial de crescimento, que representa um crescimento balanceado e saudável; (3) fase estacionária, que consiste na estagnação de crescimento por início de situação estressante das concentrações de nutrientes ou outros requisitos necessários ao crescimento saudável e; (4) fase de senescência, na qual se constata crescimento negativo (mortalidade) por estresse prolongado nas condições fundamentais ao crescimento saudável (GUIMARÃES E RÖRIG, 2004).

Na atualidade as pesquisas sobre microalgas têm como objetivos, produção de alimentos naturais tanto para humanos quanto para animais, além de produtos farmacêuticos (SILVA, 2019).

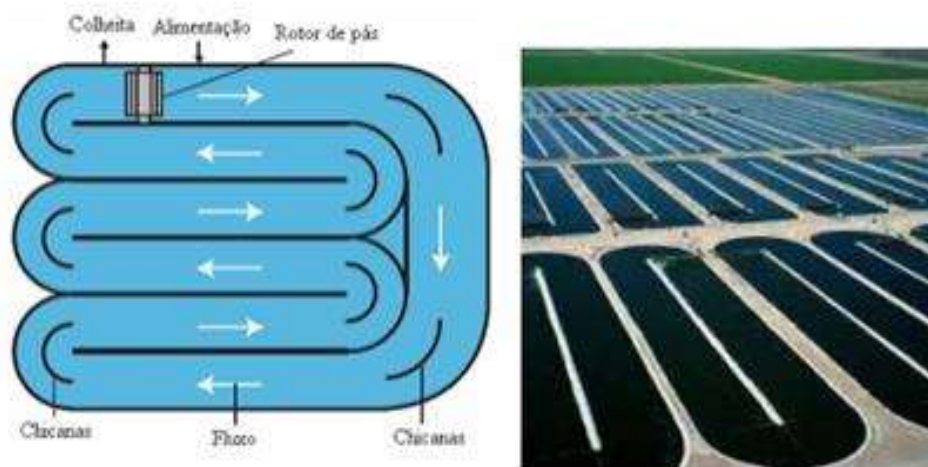
As microalgas utilizam CO₂ presente na água, e através de uma fonte luminosa produzem compostos orgânicos. A consequência disso é a produção de bioativos e compostos nutricionais como carotenoides, proteínas, carboidratos, lipídios, ácidos graxos e antioxidantes naturais. Além disso, a biomassa produzida no sistema de cultivo de microalgas pode ser destinada para ração animal e suporte para a produção de biocombustíveis, produção de águas residuais e biorremediação (ALVES, 2021).

Para obter sucesso no cultivo de microalgas é importante ficar atento a vários fatores, como os biológicos, químicos e físicos. Os fatores biológicos estão relacionados às próprias taxas metabólicas da espécie que está sendo produzidas. Já os fatores físico-químicos são considerados os mais importantes, tais como: luminosidades, pH, temperatura, salinidade e nutrientes (ALVES, 2021).

Cultivos em sistemas abertos (Raceways, Tanques e Lagoas), possibilitam uma elevada chance de contaminação, biomassa fotoautotrófica e apresenta uma baixa eficiência fotossintética que pode resultar em baixo rendimento. Por outro lado, os custos operacionais destes sistemas são bem mais reduzidos comparados aos sistemas fechados. Em sistemas fechados (Fotobiorreatores), dispõe de inúmeras vantagens, em termos ambientais, tais como a redução local de emissão de carbono e azoto. Destacando também que o nível de produção de biomassa é bem superior nestes sistemas. No entanto, tem como desvantagem seu elevado custo (SILVA, 2019).

Raceway: Geralmente são empregados nos cultivos comerciais. A boa capacidade de mistura desse tipo é ocasionada pela presença de pás circulares, bombas ou defletores para um bom espalhamento de nutrientes, gases e de células, ocasionando um bom crescimento microalgal (Figura 1).

Figura 1 – Tanques de cultivos de microalgas em tipo raceway



Fonte: National research council, (2012)

Circulares: Podendo ou não receber algum tipo de sistema de aeração, são os mais utilizados, são também chamados de lagoas. Nesse sistema há uma troca direta de gases com a atmosfera, havendo assim uma evaporação do líquido, além de um equilíbrio na temperatura do sistema (Figura 2).

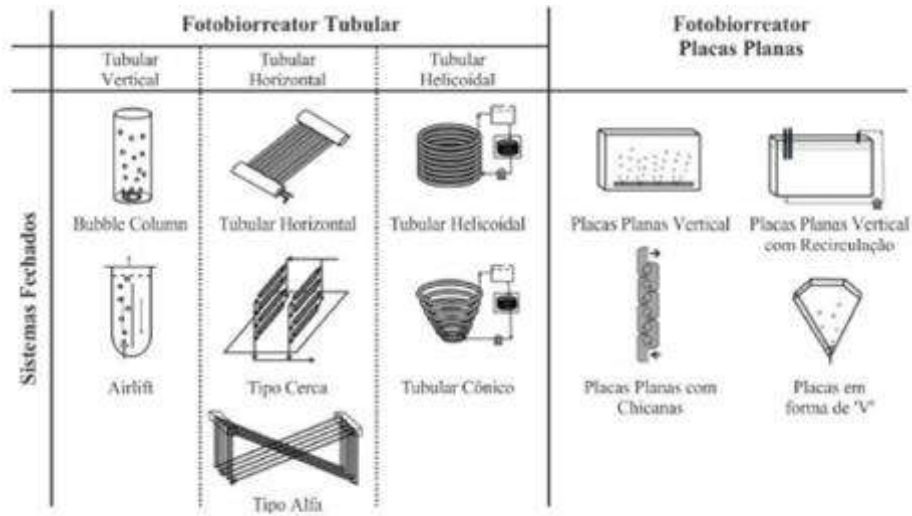
Figura 2- Lagoa circular para cultivo de microalgas



Fonte: Borowitzka, (2013)

Sistemas fechados: Fotobiorreatores, possuem fonte de luz e a possibilidade de serem confeccionados nos mais diversos formatos: em placa, tubular, cônico, coluna de bolhas, tanques com agitação e agitação pneumática (ALVES, 2021). De acordo com Alves (2021), cada fotobiorreator tem suas particularidades e como qualquer outro sistema tem suas vantagens e desvantagens. Esse sistema é menos propenso a contaminação e capaz de produzir biomassa em grande escala, comparado ao sistema aberto. São menos propensos a contaminação, apresentam maior produtividade de biomassa em relação aos sistemas abertos e melhor fusão dos gases, porém apresentam elevados custos de construção. A Figura 3 apresenta alguns dos principais sistemas fechados para o cultivo de microalgas.

Figura 3 – Representação dos principais sistemas fechados para cultivos de microalgas



Fonte: Pereira, (2014)

Por ser de fácil controle em relação a sistemas abertos, é possível realizar uma produção em larga escala utilizando esses equipamentos já que o risco de contaminação é bem menor. Graças a seus vários formatos geométricos, o uso da luz pode ser usado de forma estratégica para que seja possível uma rica produção de biomassa. A figura 4 a seguir exemplifica um modelo de fotobiorreator tubular para o cultivo em massa de microalgas.

Figura 4 – Exemplo de um fotobiorreator tubular utilizado em cultivos em massa de microalgas



Fonte: National research council, (2012)

Segundo Alves (2021), as microalgas possuem necessidades específicas, ou seja, para cada microalga precisa de um meio de cultivo diferente. O quadro 1 abaixo, resume os elementos que constituem os nutrientes mais importante para as células da microalga. Outros elementos também são essenciais para o desenvolvimento de algumas espécies de microalgas que são os metais como ferro, magnésio, cobalto e cobre (ALVES, 2021).

Quadro 1- Funções dos principais nutrientes presentes nos meios de cultivos de microalgas

Nutriente	Principais fontes	Função	Faixa de concentração
Fonte de carbono	CO ₂ , HCO ₃ ⁻ , CO ₃ ²⁻	Fornecer C à célula	1-16,8 g.L ⁻¹
Fonte de nitrogênio	NO ₃ ⁻ , Ureia, AA, N ₂	Fornecer N à célula	0,01-2,5 g.L ⁻¹
Fósforo	PO ₄ ³⁻ , hidrofosfato	Fornecer P às reações e células	0,01-0,5 g.L ⁻¹
Enxofre	SO ₄ ²⁻	Fornecer S a reações e proteínas	0,001-1,0 g.L ⁻¹
Sais Inorgânicos	K, Ca, Na, Mg	Manter a estrutura e atividade celular	0,1-1000 mg.L ⁻¹
Oligoelementos	Fe, Zn, Mn, Pb, Cd	Co-fatores enzimáticos	0,01-10 mg.L ⁻¹
Vitaminas	B, C, E	Auxiliar na divisão celular	0,01-1000 mg.L ⁻¹

Fonte: Adaptado de Zeng et al. (2011).

2.2 DINOFLAGELADOS

A sua importância no meio aquático reside no fato de serem os principais produtores. Podem ser simbiotes fotossintéticos e produzir toxinas, outras fazem parte de recifes de corais. Também são descritas aquelas responsáveis por processos bioluminescentes e também proliferação de algas (HERRERA HERRERA, 2021).

De acordo com Persich e Garcia (2010), dentre os tipos de espécies que produzem toxinas, destaca-se o dinoflagelado *Alexandrium tamarense*, cuja presença, até poucos anos atrás, era apenas na região norte do mundo. O dinoflagelado *A. tamarense* é uma das espécies mais poderosas produtoras de saxitoxinas, responsáveis por uma doença conhecida como PSP (paralisação tóxica por moluscos), essas toxinas bloqueiam o canal de sódio, causando, em casos extremos, paralisia respiratória em humanos, mamíferos marinhos, aves e peixes.

As florações dos dinoflagelados dar-se através das altas temperaturas e águas calmas, principalmente na coluna de água estratificada propicia a locomoção das células. Como consequência dessas florações, se tem uma redução de nutrientes inorgânicos dissolvidos na coluna da água. Acontece com frequência no verão e em regiões de alta latitude e durante todo o ano em regiões oceânicas tropicais favorecendo as espécies com capacidade autotrófica. As florações podem ocasionar intoxicação alimentar humana, e o envenenamento paralisante por molusco (ISLABÃO, 2015). Pinheiro (2022), salienta que os dinoflagelados são responsáveis pelo fenômeno conhecido como “Marés Vermelhas” que é resultado do crescimento anormal de sua população que altera a cor de boa parte do oceano, e causando morte de organismos que se alimentam do dinoflagelado.

É frequente entre os dinoflagelados a produção de toxinas, contudo como sua quantidade na água é pequena, o efeito não é sentido na maior parte do tempo. Quanto a sua importância ecológica dar-se por principais produção de matéria prima, que são responsáveis pelo fornecimento de oxigênio (PINHEIRO, 2022).

Segundo Jannuzzi (2023), a família *Symbiodinium* é datada do meio da era mesozoica, no período jurássico aproximadamente 160 milhões de anos atrás. É a família de dinoflagelados mais conhecidas (Endossimbiontes), tendo suas espécies

denominadas zooxantelas. As células Symbiodiniacea podem ser encontradas em forma de cistos vegetativo marrom/amarelado capaz de ficar em simbiose com diversos invertebrados marinhos, moluscos, esponjas e cnidários. O sucesso evolucionário atribuído aos ecossistemas recifais está associado a simbiose entre os corais e as zooxantelas. As principais contribuições desta microalga para os corais dar-se pela aquisição dos nutrientes inorgânicos, aumento das taxas de calcificação e a fotoautotrofia com o meio de nutrição. Vale salientar que, a plasticidade fenotípica entre os clados de *Symbiodinium* faz com que a simbiose seja um meio mais resistente a mudanças dos parâmetros ambientais. Trabalhar com organismos modelos é trabalhar com parte da natureza que eles representam. Entender como os organismos se comportam as mudanças de parâmetros ambientais é de suma importância para entender como outros organismos que interagem ou dependem deles irão se comportar e assim por diante. Exemplo: Utilizar o *Durisdinium glynnii* para entender como se dar a acumulação dos compostos de petróleo cru nas células. A princípio de elucidar como a transferência dos compostos para o nível trófico superior por meio da alimentação.

3. OBJETIVO

3.1 OBJETIVO GERAL

- Avaliar o crescimento do dinoflagelado (*Durusdinium glynnii*) em diferentes salinidades.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar os parâmetros de crescimento do dinoflagelado *D. glynnii* cultivado em diferentes salinidades;
- Determinar a salinidade mínima para o cultivo do dinoflagelado *D. glynnii*.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, contando com 5 tratamentos e 4 repetições cada, totalizando 20 unidades experimentais. Foi utilizada água do mar com salinidade de 40 PSU (Escala Prática de Salinidade estabelecida em 1978 pela UNESCO, mede a salinidade em uma escala de 0 a 42). Foram escolhidas as salinidades 0, 10, 20, 30 e 40 PSU, distribuídas em intervalos de 10 PSU. Foram obtidas mediante diferentes proporções de diluição da água do mar com água destilada. Essas salinidades foram previamente escolhidas objetivando a redução à menor salinidade possível com o intuito de propiciar o cultivo do dinoflagelado em água doce ou de baixa salinidade.

4.1.2 CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS

O experimento foi realizado em tubos de ensaio de 50 mL de volume total com tampa rosqueável. O inóculo inicial foi constituído por células em fase exponencial, provenientes de um cultivo em meio f/2 Guillard adaptado para a espécie utilizada com salinidade de 30 PSU.

Os tubos foram acondicionados em uma estante, mantidos em sala com temperatura do ar controlada a 22 ± 1 °C, e submetidos a uma irradiância de $150 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ sob fotoper\u00edodo cont\u00ednuo de vinte e quatro horas (24) (Figura 5). Os tubos foram agitados duas vezes ao dia 09:00 e \u00e0s 15:00 horas a fim de homogeneizar e evitar a sedimenta\u00e7\u00e3o das c\u00e9lulas.

Figura 5. Tubos de ensaio de 50 mL de volume total com tampa rosqueável.



Fonte: Oliveira. C.Y.B.

4.1.3 CEPA DO DINOFLAGELADO

A cepa do dinoflagelado endossimbionte *D. glynnii*, registrada sob número BMK 211, foi doada pelo Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo (IO USP). A cepa foi mantida em água do mar, previamente filtrada (0,45 μm), esterilizada (121 $^{\circ}\text{C}$ por 21 min) e enriquecida com meio F/2 (Tabela 1) em salinidade de 30 PSU. A cepa é mantida em sala com temperatura controlada

(22 ± 1 °C), sob iluminação contínua ($150 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e transferidas para um novo meio de cultura a cada quinze dias.

Tabela 1. Composição do meio F/2 Guillard modificado utilizado para a cultura do *Durusdinium glynnii*.

Solução	Reagente	Solução Estoque (g/L)	Quantidade Por cultivo/L
Nitrato	NaNO ₃	75	1mL
Fosfato	NaH ₂ PO ₄ H ₂ O	5	1mL
Metais	-	-	1mL
Vitaminas	-	-	0,5mL

Fonte: Guillard, 1975

4.1.4 ANÁLISE DE CRESCIMENTO DO DINOFLAGELADO

Para a determinação da densidade celular ($\times 10^4$ células mL⁻¹), foram realizadas contagens diárias utilizando uma câmara de Neubauer e microscópio óptico (modelo BA300, Olympus®, Japão) com ampliação de 400 \times . Os dados médios diários de densidade celular das três réplicas foram obtidos pela curva de crescimento da espécie nas cinco diferentes salinidades. Os parâmetros densidade celular máxima (DCM), tempo de duplicação (TD) e taxa de crescimento (K) foram calculados, sendo: DCM o valor médio máximo de densidade celular obtido entre o primeiro e o último dia de cultivo; e o valor de K obtido pela Equação 1.

$$\text{Equação 1: } K = [3,322 (T_f - T_i)^{-1} \times (\text{Log } N_f - N_i)^{-1}]$$

onde: 3,322 = fator de conversão do logaritmo base 2 para base 10, (T_f-T_i) = intervalo de tempo em dia, N_i =densidade celular inicial e N_f = densidade celular final. Para TD, que representa o tempo gasto para a divisão de uma célula, a

equação 2 foi usada:

$$\text{Equação 2: } TD = 1/K$$

4.1.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram apresentados como média \pm desvio padrão. Foram aplicados os testes de normalidade (Shapiro-Wilk) e de homogeneidade (Cochran) e, como os dados eram normais e homogêneos, foi aplicado uma Análise de Variância (ANOVA), seguida do teste de Tukey para comparação de médias, para avaliar possíveis diferenças entre os parâmetros de crescimento. Para todas as análises citadas acima, foi considerado nível de significância de 5%. As curvas de crescimento de *D. glynnii* cultivado nas diferentes densidades também foram plotadas com o auxílio do programa GraphPad Prism.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi observado que o crescimento do *D. glynnii* diminuiu à medida que as salinidades foram reduzidas. Além disso, nas salinidades 0 e 10 PSU o crescimento nos primeiros dias foi menor quando comparado com os demais tratamentos, evidenciando a necessidade de uma aclimação prévia. As salinidades acima de 10 PSU obtiveram melhores crescimentos, e a fase exponencial foi iniciada no 4º dia de cultivo (Figura 6).

As salinidades 20, 30 e 40PSU tiveram sua fase estacionária iniciada a partir do 11º dia de cultivo, enquanto que as salinidades 0 e 10 PSU não apresentaram crescimento durante o período experimental. A figura 6 representa o crescimento de *D. glynnii* a 22 ± 1 °C, sob irradiância de $150 \mu\text{mol f\u00f3tons.m}^{-2}. \text{s}^{-1}$, em meio f/2, nas salinidades testadas.

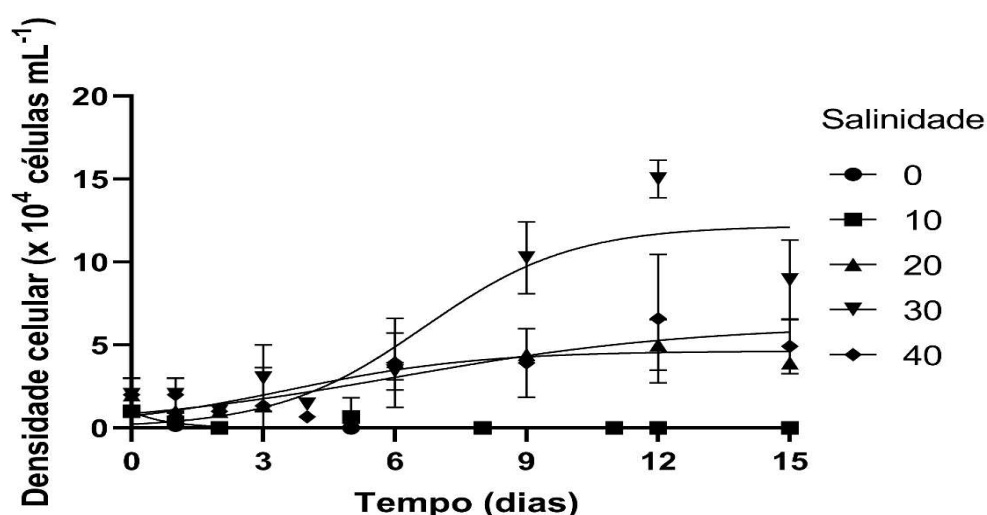
Persich e Garcia (2010), cultivaram a espécie *Alexandrium tamarense*, para testar a influência da temperatura, salinidade e luz. As salinidades utilizadas foram (31, 25, 18, 14, 12 e 5) obtidas mediante proporções de diluição da água do mar com água destilada e deionizada. As taxas de crescimento foram calculadas para as cepas sob diferentes condições de salinidade. Observou-se uma ampla faixa de valores da salinidade (14 e 32). No entanto, as maiores taxas de crescimento ocorreram nas maiores salinidades (26 e 32). Consideravelmente elevados e similares estatisticamente ocorreu nas salinidades 14 e 18. E a menor taxa de crescimento na salinidade 7, onde a salinidade de 5 não teve crescimento. Vale salientar que, para tratamento foi utilizada temperatura e irradiância diferentes.

Islabão (2015), testou variações bruscas de salinidade no crescimento de duas espécies de dinoflagelados *Prorocentrum micans* Ehrenberg e *Akashiwo sanguinea*. As salinidades usadas foram, 10, 15, 20, 25, 30 e 35. E foram aclimatadas em cada salinidade, com três transferências durante sua fase exponencial, por um mês. Avaliou a resposta sob mudanças abruptas de salinidade e a taxa de crescimento e referência obtida no teste de aclimação (*Salinidade 25 A. sanguinea; 30 P. micans*). Comparada com a taxa de crescimento resultante de outros tratamentos sem aclimação em salinidade (35) e baixa salinidade (25 e 20) para ambas espécies. Mantidas nas mesmas condições de temperatura e irradiância. A menor salinidade

testada no experimento foi diferente para ambas a espécies pois o crescimento e a capacidade de suporte da *P. micans* foram obtidas em salinidade de 15 com aclimação.

Os trabalhos citados acima, mostram que independente das espécies e objetivos dos trabalhos, com ou sem aclimação as salinidades inferiores a 20, sempre vai obter a menor taxa de crescimento, não muito diferente do obtido nesta pesquisa.

Figura 6- Crescimento fotoautotrófico de *Durusdinium glynnii* a $22 \pm 1^\circ\text{C}$, sob irradiância de $150 \mu\text{mol f\u00f3tons. m}^{-2}. \text{s}^{-1}$ em meio F/2 contendo diferentes salinidades. Cada curva representa a média de um experimento independente e as barras representam os desvios padrão para células. Os in\u00f3culos foram constitu\u00eddos por c\u00e9lulas crescidas na salinidade de 30 PSU



Avaliando os par\u00e2metros de crescimento do *D. glynnii*, observou-se que nas salinidades 0 e 10 PSU o c\u00e1lculo da K e o TD n\u00e3o foi poss\u00edvel, visto que a microalga n\u00e3o apresentou crescimento em ambos os tratamentos. J\u00e1 para os demais tratamentos, foi observado que n\u00e3o houve diferen\u00e7a estat\u00edstica para os par\u00e2metros avaliados.

Foi poss\u00edvel observar uma menor densidade celular m\u00e1xima nos tratamentos T0 e T10 PSU, por ser uma esp\u00e9cie de \u00e1gua salgada, a diminui\u00e7\u00e3o abrupta da salinidade afetou diretamente seu crescimento. Quanto a quantidade de c\u00e9lulas, o *D. glynnii*, apresentou menor n\u00famero de c\u00e9lulas nos tratamentos abaixo de 20 PSU.

Um fator relacionado à composição genética dos dinoflagelados é considerado o mais importante: sua própria condição genotípica de adaptação a novas condições de vida e culturas (GUIMARÃES E RÖRIG 2004).

Ao observar o tempo de duplicação, o T0 e T10 PSU apresentaram os menores valores quando comparados aos demais tratamentos. Todos os dados encontram-se sumarizados na tabela 2.

Tabela 2. Parâmetros de crescimento de *Durusdinium glynnii* cultivados em diferentes salinidades.

Parâmetro	Salinidade (PSU)				
	0	10	20	30	40
DCM ($\times 10^4$ células mL ⁻¹)	0,16 ± 0,29	0,33 ± 0,57	5,00 ± 1,52	15,00 ± 1,14	6,58 ± 3,87
K (dia ⁻¹)	-	-	0,21 ± 0,04	0,28 ± 0,07	0,23 ± 0,09
TD (dias)	-	-	4,92 ± 0,81	3,76 ± 0,89	4,95 ± 2,78
Dia			11	11	11

Densidade celular máxima (DCM), Taxa de crescimento específico (K), Tempo de duplicação (TD).

No caso do cultivo laboratorial, desenvolvido ao longo deste trabalho, a espécie (*D. glynnii*) foi cultivada em condições de luz e temperaturas constantes, submetendo-a a mesma a cinco salinidades diferentes. A salinidade ótima para cepa é aquela que gera a maior taxa de crescimento. Uma maior taxa de crescimento (μ) indica uma maior adaptabilidade à salinidade em que a mesma foi cultivada (GUIMARÃES E RÖRIG 2004).

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O dinoflagelado *Durusdinium glynnii* cresce em salinidades acima de 20 PSU apresentando melhor taxa de crescimento em 30 PSU. Em salinidades inferiores (0 e 10 PSU) o dinoflagelado apresentou crescimento reduzido devido à sua baixa capacidade fisiológica para manter os níveis normais de metabolismo.

A variação de salinidade no cultivo do dinoflagelado *Durusdinium glynnii* pode influenciar diretamente no seu crescimento. Entretanto, é possível sugerir que o dinoflagelado cultivado nas salinidades entre 20 e 40 PSU, vai obter maior densidade celular máxima.

Conclui-se que, com os resultados obtidos nessa pesquisa é possível cultivar o dinoflagelado *Durusdinium glynnii* em salinidade de 20 PSU.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, A. J. L. **O cultivo de microalgas e suas aplicações**: uma revisão de literatura. 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Química) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2021. Disponível em: <https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/123456789/26423>. Acesso em: 19 jun. 2023.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA PISCICULTURA. **Anuário Brasileiro da Piscicultura Peixe BR 2020**. São Paulo: Associação Brasileira da Piscicultura, 2020. Disponível em: <https://www.peixebr.com.br/anuario-2020>. Acesso em: 19 jun. 2023.

BOROWITZKA, M. A. High- value products from microalgae – their development and commercialisation. **Journal of Applied Phycology**, [S. l.], v. 25, p. 743-756, 2013. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10811-013-9983-9>. Acesso em: 19 jun. 2023.

COELHO, V. J. et al. Influência da Salinidade na Produção de Biomassa e de Lipídios Durante o Cultivo das Microalgas *Tetraselmis gracilis* e *Phaeodactylum tricornutum*. 2020. (ENSUS 2020 - VIII Encontro de Sustentabilidade em Projeto). Universidade do Sul de Santa Catarina. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/229582>. Acesso em: 28 jul. 2023.

DELGADO DEL VILLAR, S. J; ALONSO RODRÍGUEZ, R; JIMÉNEZ GUTIÉRREZ, L. R. Las extraordinarias formas de vida de los dinoflagelados del Pacífico mexicano. **Revista Digital Universitaria**, [S. l.], v. 22, n. 4, 2021. Disponível em: <https://biblat.unam.mx/hevila/Revistadigitaluniversitaria/2021/vol22/no4/8.pdf>. Acesso em: 04 jul. 2023.

FAO. **Superação da fome e da pobreza rural**: iniciativas brasileiras. Brasília, DF: FAO, 2016. Disponível em: <http://www.fao.org/3/a-i5335o.pdf>. Acesso em: 19 jun. 2023.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture**: sustainability in Action. Rome: Food and Agriculture Organization. Rome: FAO, 2020. DOI 10.4060/ca9229en. Disponível em: <https://www.fao.org/3/ca9229en/online/ca9229en.html>. Acesso em: 21 jul. 2023.

GUILLARD, R. R. L. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. *In*: SMITH, W. L.; CHANLEY, M. H. (ed.). **Culture of marine invertebrate animals**. New York: Plenum Press, 1975. p. 29-60. Disponível em: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4615-8714-9_3. Acesso em: 17 jul. 2023.

GUIMARÃES, S. C. P.; RÖRIG, L. R. Efeito da salinidade no crescimento dos dinoflagelados *Prorocentrum micans* Ehrenberg e *Prorocentrum cf. obtusum* Ostefeld isolados da costa catarinense-Brasil. **Estudos de Biologia**, v. 26, n. 54, 2004.

HERRERA HERRERA, N. V. **Interacciones alelopáticas de dinoflagelados epibentónicos de los géneros Amphidinium y Coolia en condiciones de cultivo**. 2021. Tesis (Maestría en Manejo de Recursos Marinos) - Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, La Paz, México, 2021. Disponível em: <http://repositorio digital.inp.mx/handle/123456789/26442>. Acesso em:

04 jul. 2023.

ISLABÃO, C. A. **Dinoflagelados planctônicos do extremo sul do Brasil: identificação, distribuição e relação com fatores abióticos in situ e in vitro**. 2015. Tese (Doutorado em Oceanografia Biológica) - Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2015. Disponível em: <https://sistemas.furg.br/sistemas/sab/arquivos/bdtd/0000010872>. Acesso em: 04 jul. 2023.

JANNUZZI, L. G. S. Avaliação fisiológica da zooxantela *Durusdinium glynnii* à contaminação por petróleo cru. 2023. Trabalho de Conclusão de Curso (bacharelado em Oceanografia) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2023. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/49312>. Acesso em 04 jul. 2023.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Sustainable development of algal biofuels in the United States**. Washington, DC: The National Academies Press, 2012. Disponível em: <https://nap.nationalacademies.org/catalog/13437/sustainable-development-of-algal-biofuels-in-the-united-states>. Acesso em: 19 jun. 2023.

PEREIRA, D. A. **Controle da temperatura e irradiância em fotobiorreatores de placas planas para cultivo de microalgas**. 2014. Tese (Doutorado em Engenharia Industrial) - Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2014. Disponível em: <http://repositorio.ufba.br/ri/handle/ri/16986>. Acesso em: 04 jul. 2023.

PERSICH, G.; GARCIA, V. M. T. Influência da temperatura, salinidade e luz sobre o crescimento do dinoflagelado *Alexandrium tamarense* (dinoflagellata, dinophyceae) da plataforma continental adjacente ao estuário da Lagoa dos Patos. *Atlântica*, Rio Grande, v. 32, n. 1, p. 25-37, 2010. DOI 10.5088/atlantica.v32i1.1550. Disponível em: <https://repositorio.furg.br/handle/1/439>. Acesso em: 10 jul. 2023.

PINHEIRO, J. V. *et al.* Filo Dinoflagellata, 2022. In: EDITORA CIENTÍFICA DIGITAL (org.). **Open Science Research IV**. Guarujá, SP: Editora Científica Digital, 2022. E-book. p. 256-267. Disponível em: <https://downloads.editoracientifica.com.br/books/978-65-5360-141-3.pdf>. Acesso em: 19 jun. 2023.

RADMANN, E. M. **Cultivo de microalgas para produção de biossurfactantes**. 2011. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2011. Disponível em: <http://repositorio.furg.br/handle/1/6188>. Acesso em: 04 jul. 2023.

ROUTLEDGE, E. A. B. *et al.* A plataforma de tecnologia e inovação em aquicultura: uma contribuição para a década da ciência oceânica no Brasil. **Parcerias Estratégicas**, Brasília, DF, v. 27, n. 52, p. 61-76, jan./jun. 2022. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1145321/1/A-Plataforma-de-Tecnologia-e-Inovacao-em-aquicultura.pdf>. Acesso em: 21 jul. 2023.

SANTOS, C. Aquicultura e pesca: a mudança do modelo exploratório. In: TAVARES-DIAS, M. (org.). **Manejo e sanidade de peixes em cultivo**. Macapá: Embrapa Amapá, 2009. cap. 1, p. 13-32. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/353357>. Acesso em: 19 jun. 2023.

SILVA, F. M. P. R. T. **Utilização de substratos orgânicos, nomeadamente resíduos agroindustriais, para cultivo de microalgas**. 2019. Dissertação (Mestrado em

Engenharia Biológica) - Universidade do Minho, Braga, Portugal, 2019. Disponível em: <https://hdl.handle.net/1822/81058>. Acesso em: 04 jul. 2023.

VIANA, D. B. Estimativa do potencial produtivo de bioetanol e da captura de carbono de *Kappaphycus alvarezii* na costa brasileira. *In*: CONGRESSO NACIONAL DE ENGENHARIA DE PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS E VI WORKSHOP DE ENGENHARIA DE PETRÓLEO, 4., [on-line], 2021. **Anais eletrônicos** [...]. Campina Grande: Editora Realize, 2021. Disponível em: <https://editorarealize.com.br/artigo/visualizar/75339>. Acesso em: 19 jun. 2023.