

EFEITO COMPARATIVO DA EXPOSIÇÃO AO SELÊNIO E CÁDMIO PARA MICROALGA *Raphidocelis subcapitata*

Ingrid Lins Noé; Ana Elizabeth Gering Pautz; Daniel Macêdo de Assis; Jéssica Dutra Ferreira, Cristiane dos Santos Vergílio

Universidade Federal do Espírito Santo – campus Alegre, Alto Universitário, s/nº – Guararema, 29500-000 – Alegre – ES, Brasil, ingridlinoe@gmail.com; elisapautz2004@gmail.com; macedodeassisdaniel@gmail.com; jessicadutra017@gmail.com; cristiane.vergilio@ufes.br

Resumo

O cádmio (Cd) é um metal tóxico e não-essencial, enquanto o selênio (Se) é um metalóide importante em processos biológicos. Dessa forma, no presente estudo foi analisada a toxicidade isolada dos metais Se e Cd em diferentes concentrações para alga *Raphidocelis subcapitata*. Ensaios de toxicidade foram realizados com Se e Cd de acordo com a metodologia da ABNT NBR 12648:2018. A exposição ao Se induziu um aumento no percentual algáceo na C1 (10 µg/L), e manutenção número de algas em C2 (50 µg/L) e C3 (250 µg/L). Enquanto que o Cd não apresentou toxicidade após a exposição a C1 (1 µg/L), mas induziu significativa redução do percentual algáceo após a exposição a C2 (5 µg/L) e C3 (25 µg/L). O presente estudo demonstra a tolerância das algas à exposição ao Se e Cd, sendo os efeitos do Cd mais nocivos à sobrevivência das algas. A tolerância à exposição a metais essenciais e não essenciais observada na alga *R. subcapitata* pode ser aplicada em futuros trabalhos de biorremediação ambiental.

Palavras-chave: Alga, Cd, *Chlorophyta*, Metais, Se

Área do Conhecimento: Ciências Biológicas - Ecologia

Introdução

O ambiente aquático apresenta uma grande abundância de elementos, alguns em maiores concentrações e outros em menores, variando suas quantidades e suas funções. Entre os elementos, existem os essenciais como o selênio (Se), zinco (Zn), ferro (Fe), manganês (Mn) e cobalto (Co), que participam de processos fisiológicos, e os não essenciais, como cádmio (Cd), chumbo (Pb) e mercúrio (Hg), que mesmo em baixas quantidades, podem representar uma ameaça, pois não possuem função biológica, sendo potencialmente tóxicos. Particularmente, o Se é um metalóide que tem importância em processos fisiológicos e bioquímicos, no entanto, em altas concentrações o Se pode se tornar tóxico (ZWOLAK, 2020). Enquanto que o Cd possui grande toxicidade e capacidade de bioacumulação, além de não ser biodegradável, sendo extremamente prejudicial a toda cadeia trófica (Jamers *et al.*, 2013).

Com o aumento da poluição, os ecossistemas aquáticos são cada vez mais o destino final de possíveis elementos potencialmente tóxicos, vindo principalmente de atividades industriais e agrícolas (Calixto *et al.*, 2017). Esse rejeito liberado pode possuir potencial de toxicidade para a biota local. As algas são seres de grande importância ecológica, por serem produtoras primárias. Essas são capazes de transformar a energia solar em energia química, pela fotossíntese, produzindo grande volume de biomassa que servirá de alimento para várias cadeias tróficas (Reis *et al.*, 2019).

Os ensaios com algas são importantes para demonstrar os efeitos do aumento da concentração de poluentes nomeio, monitorando os efeitos, a bioacumulação e os efeitos gradativos dentro de cadeias alimentares (SALLES, 2018). A microalga *Raphidocelis subcapitata* é considerada um excelente modelo biológico, pois possui vantagens como o ciclo de vida rápido, alta sensibilidade a substâncias tóxicas e a facilidade de cultivo (Machado *et al.*, 2015).

Considerando que as algas possuem uma tolerância à exposição aos metais e a distinta toxicidade dos metais essenciais e não essenciais, o presente estudo visa avaliar o efeito da exposição isolada ao metal essencial Se e ao metal não-essencial Cd no crescimento da microalga *Raphidocelis subcapitata*.

Metodologia

O selênio (Se) foi administrado isoladamente nas concentrações de 10 µg/L (Se1), 50 µg/L (Se2) e 250 µg/L (Se3), enquanto o cádmio (Cd) foi testado nas concentrações de 1 µg/L (Cd1), 5 µg/L (Cd 2)

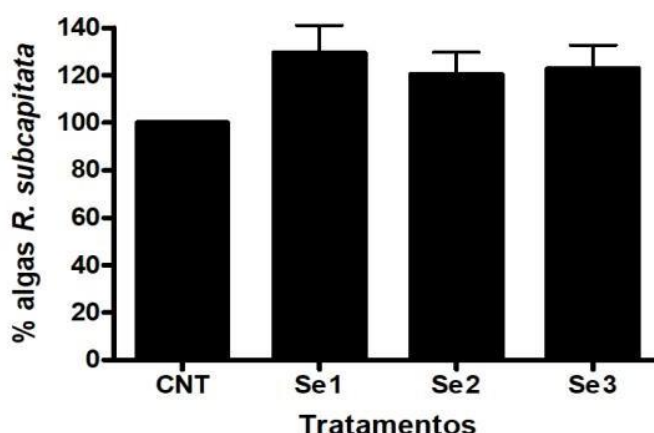
e 25 $\mu\text{g/L}$ (Cd3). As menores concentrações de Cd e Se foram estabelecidas com base no valor máximo permitido para águas de classe 1 (CONAMA, 2005). A partir dessas concentrações iniciais foi efetuado um aumento gradual de 5x, para avaliação dos efeitos em doses mais elevadas. Para o preparo das soluções-teste de cada um dos metais, foi preparada uma solução estoque (100 mg/L) em água ultra-pura. Aliquotas da solução-estoque foram retiradas para o preparo das soluções-teste em meio Oligo (utilizado na manutenção das algas).

A espécie de alga *Raphidocelis subcapitata* foi obtida no Laboratório de Ecotoxicologia, da Universidade Federal do Espírito Santo, campus Alegre, a cultura inicial da alga foi cedida pela Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB). A manutenção da alga e os ensaios de toxicidade foram realizados de acordo com a metodologia proposta pela ABNT NBR 12648:2018. No controle foi adicionado apenas o meio LC Oligo, enquanto nos tratamentos foram adicionadas as soluções teste de Cd ou Se. Para cada tratamento foram preparadas 10 réplicas. Após a distribuição das soluções nos tubos de ensaio, uma alíquota de 1×10^5 células/mL da solução de algas dulcícolas (*Raphidocelis subcapitata*) foi adicionada, permanecendo pelo período de exposição de 96 h, à temperatura de 27°C, em incubadora BOD, com luz contínua. Os tubos foram agitados diariamente para evitar a decantação das microalgas. No início e ao final do tempo de exposição foi realizada a medição dos parâmetros finais (oxigênio dissolvido, pH e condutividade elétrica, posteriormente as algas foram fixadas com formol tamponado a 10% e contadas em um microscópio óptico utilizando uma câmara de Neubauer, com uma ampliação de 40x, além da aferição da absorbância no comprimento de onda de 750 nm com o espectrofotômetro. O número de células contadas foi convertido em percentual de células vivas em relação ao grupo controle. Todos os dados quantitativos foram comparados através de Análise de Variância (One-Way ANOVA), seguida pelo teste de comparações múltiplas de Tukey, sendo considerada uma margem de erro de 5%. Os cálculos e os gráficos foram realizados com a utilização do software Graphpad Prism.

Resultados

A exposição ao Se não induziu efeitos tóxicos nas algas expostas, sendo observado inclusive um crescimento maior em relação ao controle (dados não significativos) (Figura 1). As espécies de *Chlorophyta* unicelulares de água doce, conforme a *Raphidocelis subcapitata* utilizada no presente estudo, são amplamente distribuídas em ecossistemas aquáticos contaminados por Se na América do Norte (Bogstie *et al.*, 2024). Com isso, é reconhecido que as algas verdes possuem uma tolerância ao Se. Nesse sentido, a faixa de concentração utilizada no presente estudo não foi suficiente para indução de efeito tóxico (inibição do crescimento celular).

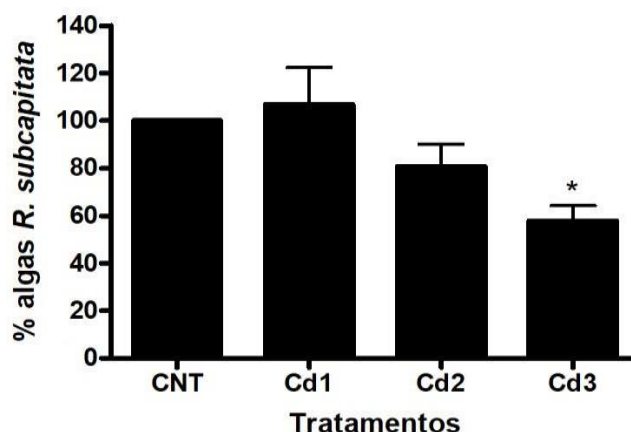
Figura 1: Percentual das algas *Raphidocelis subcapitata* expostas ao Se nas concentrações 10 $\mu\text{g/L}$ (Se1), 50 $\mu\text{g/L}$ (Se2) e 250 $\mu\text{g/L}$ (Se3).



Fonte: Os Autores (2024).

Em relação ao Cd, a exposição às concentrações 1 µg/L (Cd1) e 5 µg/L (Cd2) não induziram efeito tóxico. Enquanto que a exposição a 25 µg/L (Cd3) induziu uma redução significativa no percentual algáceo (Figura 2).

Figura 2: Percentual das algas *Raphidocelis subcapitata* expostas ao Cd nas concentrações 1 µg/L (Cd1), 5 µg/L (Cd2) e 25 µg/L (Cd3).



Fonte: Os Autores (2024).

Discussão

Os resultados deste estudo demonstram uma tolerância da alga verde *Raphidocelis subcapitata* às concentrações de selênio (Se) testadas, corroborando estudos prévios que indicam que algumas espécies de *Chlorophyta* possuem mecanismos adaptativos que lhes permite sobreviver em ambientes contaminados por Se (ZHAO *et al*, 2019). O crescimento celular observado nas amostras expostas ao Se pode ser interpretado como um indicativo de que o Se, nas concentrações avaliadas, além de não exercer toxicidade, pode ter desempenhado um papel estimulante no metabolismo das algas, possivelmente atuando em processos bioquímicos essenciais. Com isso, futuros trabalhos abordando essa perspectiva são necessários.

Por outro lado, os efeitos do cádmio (Cd) foram mais pronunciados, especialmente nas concentrações mais elevadas, com uma significativa mortalidade celular registrada em Cd3 (25 µg/L). Esse resultado está alinhado com a literatura que documenta a alta toxicidade do Cd para organismos aquáticos, devido à sua capacidade de bioacumulação e interferência em processos celulares críticos, como a fotossíntese e a divisão celular (Felix, 2014). Por ser um metal não essencial, o Cd tem o potencial de inibir o crescimento, diminuir a eficiência da fotossíntese e causar modificações tanto na atividade enzimática quanto nos processos metabólicos (Augusto *et al*, 2014). Enquanto o Se, por ser essencial protege muitas algas contra danos oxidativos, mas o limiar para o seu efeito não foi atingido no presente estudo, sendo assim para uma análise mais detalhada é fundamental que haja uma testagem de uma maior faixa de concentração de Se, pois ele pode proporcionar efeitos inibitórios ou estimulantes. A função do Se é mediada principalmente por selenoproteínas (SUN *et al.*, 2014).

Conclusão

Os resultados deste estudo mostram as diferentes respostas da microalga *Raphidocelis subcapitata* aos metais Se e Cd. O Se, um metalóide essencial, além de não apresentou toxicidade (inibição algácea), mesmo em altas concentrações. Uma tolerância também foi observada após a exposição às concentrações mais baixas do metal não essencial Cd, enquanto que a inibição do crescimento algáceo foi observado na concentração mais alta. As diferenças observadas entre a resposta ao Se e ao Cd reforçam a importância de distinguir entre metais essenciais e não essenciais na avaliação dos impactos ambientais.

Este estudo abre caminho para futuras investigações, como uma análise mais detalhada, investigando diferentes faixas de concentrações de ambos os metais, para melhor entendimento dos efeitos inibitórios e de tolerância. Visto que a tolerância à exposição a metais essenciais e não essenciais observada na alga *R. subcapitata* pode ser aplicada em futuros trabalhos de biorremediação ambiental.

Referências

AUGUSTO, A. S. *et al.* Bioacumulação de metais pesados em *Brassica juncea*: Relação de toxicidade com elementos essenciais. **Rev. Virtual Quim.**, DOI: 10.5935/1984-6835.20140080 v. 6, n. 5, p. 1221-1236, 2014. Disponível em: <https://rvq-sub.sbq.org.br/index.php/rvq/article/view/636>. Acesso em: 29 de agost. 2024

BOGSTIE, C. *et al.* A relação entre o conteúdo de proteína celular e o acúmulo de selênio em microalgas de água doce. **Integrated Environmental Assessment and Management**, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ieam.4946>. Acesso em: 28 de agost. 2024

CAMPOS, R. C. *et al.* Elementos- traço em águas subsuperficiais da Bacia de Campos. In: Falcão, A.P.C., Wagener, A.L.R., Carreira, R.S., editores. **Química ambiental: caracterização ambiental regional da Bacia de Campos, Atlântico Sudoeste**. Rio de Janeiro: Elsevier. Habitats, v. 6. p. 125-155. Elsevier eBooks, p. 125–155, 1 jan. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-85-352-7563-6.50013-2> Acesso em: 28 de agost. 2024

BRASIL, CONAMA. Resolução. 357, de 17 de março de 2005. Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA, v. 357, 2005. Disponível em: https://www.icmbio.gov.br/cepsul/images/stories/legislacao/Resolucao/2005/res_conama_357_2005_classificacao_corpos_agua_rtfcdl_altrd_res_393_2007_397_2008_410_2009_430_2011.pdf Acesso em: 29 de agost. 2024

FELIX, M.R.L. Análise do perfil metabólico e de parâmetros fisiológicos e ultraestruturais de *Pterocladia capillacea* (Rhodophyta, gelidiales) sob condições de estresse por cádmio e gradientes de salinidade. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas, Florianópolis, 2014. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/xmlui/handle/123456789/123286>. Acesso em: 30 de agost 2024.

JAMERS, A. *et al.* An omics based assessment of cadmium toxicity in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. **Aquatic Toxicology**, DOI: 10.1016/j.aquatox.2012.09.007. v. 126, p. 355–364, jan. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2012.09.007>. Acesso em: 30 de agost. 2024.

MACHADO, M.D.; LOPES, A.R.; SOARES, E.V. Responses of the alga *Pseudokirchneriella subcapitata* to long-term exposure to metal stress. **Journal of hazardous materials**.v. 296, p. 82-92, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304389415003040>. Acesso em: 30 de agost 2024.

REIS, L.L. Efeitos do cádmio e do cobalto no crescimento e em parâmetros bioquímicos e fotossintéticos da clorofícea *Raphidocelis subcapitata*. Dissertação (Pós-Graduação) - Ecologia e Recursos Naturais (PPGERN), Universidade Federal de São Carlos. 2019. Disponível em: <https://repositorio.ufscar.br/handle/ufscar/11039> . Acesso em: 29 de agos. 2024.

SALLES, R. C. Elementos Traço em Água e Sedimento na Bacia Hidrográfica do Rio Santa Maria da Vitória (ES). Tese (Doutorado em Química) - Centro de Ciências Exatas da Universidade Federal do Espírito Santo. 2018. Disponível em:

https://sappg.ufes.br/tese_drupal//tese_12267_Roberta%20Chechetto%20Salles.pdf Acesso em: 31 ago. 2024.

SUN, Xian *et al.* Selenium accumulation in unicellular green alga *Chlorella vulgaris* and its effects on antioxidant enzymes and content of photosynthetic pigments. **Plos One** 9(11): e112270. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112270>,. Acesso em: 31 de agos. 2024

ZHAO, Y. et al. Toxic effect and bioaccumulation of selenium in green alga *Chlorella pyrenoidosa*. **Journal of Applied Phycology**, DOI: 10.1007/s10811-018-1711-z v. 31, p. 1733-1742, 2019. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/330169779_Toxic_effect_and_bioaccumulation_of_selenium_in_green_alga_Chlorella_pyrenoidosa. Acesso em: 31 de agos. 2024

ZWOLAK, I. O papel do selênio na toxicidade do arsênio e do cádmio: Uma revisão atualizada da literatura científica. Pesquisa de elementos-traço biológicos. **Biol Trace Elem Res** v. 193, n. 1, p. 44–63, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12011-019-01691-w> . Acesso em: 31 de agos. 2024