

ISOLAMENTO, CULTIVO E TOXICIDADE DE CIANOBACTÉRIAS PARA BIOPROSPECÇÃO

Letícia Silva Andrade

Jaewon Yoon, Dr. Samuel Cavalcante do Amaral, Márcio Barczynszyn Weiss

Prof^a Dr^a Camila Manoel Crnkovic

Faculdade de Ciências Farmacêuticas/Universidade de São Paulo

leticia.silv.andradee@usp.br

Objetivos

As cianobactérias possuem grande diversidade de metabólitos secundários com potencial uso farmacêutico. O presente projeto teve como objetivo o isolamento e classificação taxonômica de 13 linhagens de cianobactérias brasileiras. Realizaram-se também bioensaios de toxicidade contra *Artemia salina* utilizando extrato e frações de cianobactérias.

Métodos e Procedimentos

O isolamento de linhagens a partir de coletas ambientais em diferentes regiões do Brasil envolveu plaqueamentos, em duplicata, em meios BG-11 e BG-0. Elas foram armazenadas a 23°C sob irradiância de 30 μmol fótons $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ em fotoperíodo de 12-12h claro-escuro¹⁻². Ao observar o crescimento de colônias, o isolamento foi prosseguido por aspiração com pipetas capilares por meio da transferência seriada de um filamento com o auxílio de um estereoscópio, sendo movido para um tubo de ensaio contendo meio BG-0 ou BG-11, em duplicata. O mesmo foi armazenado sob as mesmas condições dos plaqueamentos¹⁻². Após o crescimento das cianobactérias nos tubos e a verificação em microscópio óptico de que o cultivo era unialgal, foi realizada a análise das características morfológicas e

classificação taxonômica das linhagens segundo a classificação polifásica de Komárek³.

Os bioensaios de toxicidade contra *A. salina* foram realizados baseado na metodologia de Yoon *et al.*, 2025⁴. Extratos orgânicos e suas frações de 4 cianobactérias brasileiras obtidas no laboratório foram testadas a 100 $\mu\text{g/mL}$. Após 24h de incubação a 30°C, alíquotas de 99 μL contendo 15 náuplios foram transferidos para poços contendo 1 μL da amostra teste, em uma placa de 96 poços, juntamente com controle positivo ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 200 $\mu\text{g/mL}$) e negativo (DMSO 1%). Os testes foram realizados em triplicata. Após 20 horas de incubação na ausência de luz, realizou-se a contagem dos náuplios mortos em cada poço e foi calculada a mortalidade para cada amostra. Consideraram-se tóxicas as amostras com mortalidade acima de 50%⁴.

Resultados

Foram obtidos 13 cultivos unialgais, classificados em nível de família com base em suas características morfológicas (**Tabela 1 e Figura 1**). Elas foram integradas à Coleção de Cianobactérias da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (CFCF), mantida pelo laboratório de Biotecnologia de Produtos Naturais

Microbianos (Lab Azul), para futuros estudos de bioprospecção. Os bioensaios realizados com os extratos e frações de linhagens dos gêneros *Nostoc* e *Dolichospermum* e família *Nostocales* não apresentaram toxicidade.

Tabela 1 - Linhagens Isoladas

Código de cepa	Classificação taxonômica	Local de origem
CFCF 10.031	Nostocales, Tolypothrichaceae	Pernambuco, PE
CFCF 10.032	Oscillatoriales, Oscillatoriaceae	São Paulo, SP
CFCF 10.033	Nostocales, Rivulariaceae	São Paulo, SP
CFCF 10.034	Oscillatoriales, Phormidiaceae	São Paulo, SP
CFCF 10.035	Nostocales, Rivulariaceae	São Paulo, SP
CFCF 10.036	Nostocales, Godleyaceae	São Paulo, SP
CFCF 10.037	Oscillatoriales, Oscillatoriaceae	São Paulo, SP
CFCF 10.038	Oscillatoriales, Oscillatoriaceae	Pernambuco, PE
CFCF 10.039	Oscillatoriales, Pseudonabaenaceae	Pernambuco, PE
CFCF 10.040	Nostocales, Rivulariaceae	São Paulo, SP
CFCF 10.041	Oscillatoriales, Pseudonabaenaceae	Pernambuco, PE
CFCF 10.042	Nostocales, Scytonemataceae	São Paulo, SP
CFCF 10.043	Nostocales, Tolypothrichaceae	São Paulo, SP

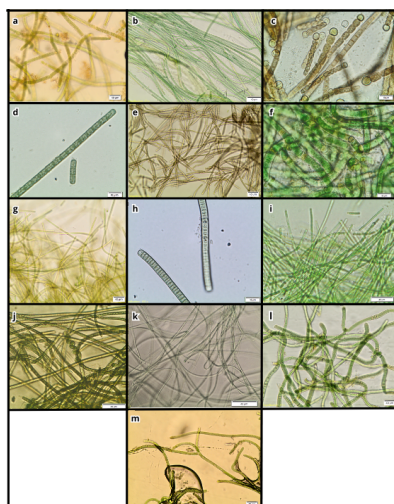


Figura 1 – A: CFCF 10.031; B: CFCF 10.032; C: CFCF 10.033; D: CFCF 10.034; E: CFCF 10.035; F: CFCF 10.036; G: CFCF 10.037; H: CFCF 10.038; I: CFCF 10.039; J: CFCF 10.040; K: CFCF 10.041; L: CFCF 10.042; M: CFCF 10.043. Escalas=10 µm ou 40 µm.

Conclusões

Neste projeto foram isoladas 13 linhagens de cianobactérias brasileiras das famílias *Nostocales* e *Oscillatoriales*, algo importante na preservação da biodiversidade e na utilização para a bioprospecção de novos produtos naturais bioativos. Além disso, os dados obtidos dos bioensaios contra *A. salina* indicam a ausência de citotoxicidade preliminar nas amostras testadas.

Agradecimentos

Os integrantes agradecem ao Programa Unificado de Bolsas (PUB) da USP, à PRIP (Edital 001/2023), à CAPES e à FAPESP (processos no. 2022/02872-4 e 2024/02692-1).

Referências

- (1) Acreman, J. Algae and Cyanobacteria: Isolation, Culture and Long-Term Maintenance. J. Ind. Microbiol. 1994, 13 (3), 193–194.
- (2) Algal Culturing Techniques; Andersen, R. A., Ed.; Elsevier/Academic Press: Burlington, Mass., 2005.
- (3) Komárek, J.; Kaštovský, J.; Mareš, J.; Johansen, J. R. Taxonomic Classification of Cyanoprokaryotes (Cyanobacterial Genera) 2014, Using a Polyphasic Approach. Preslia 2014, 86 (4), 295–335.
- (4) Y, Jaewon, *et al.* Screening Natural Products against Artemia Salina. 2025.