

UTILIZAÇÃO E PADRONIZAÇÃO DE TÉCNICA DE RESPIROMETRIA MICROBIANA PARA AVALIAÇÃO DE RISCO AMBIENTAL: UMA ABORDAGEM MICROBIOLÓGICA PARA ESTUDOS EM ECOTOXICOLOGIA

Julio Alberto Alegre Stelzer¹, Raquel Fontoura Freiry², Sueli Teresinha Van Der Sand¹ e Alexandre Arenzon¹ (orient.)

¹Centro de Ecologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS;

²Universidade do Vale do Rio dos Sinos; jaastelzer@gmail.com; alex@ufrgs.br

O crescimento acelerado da população mundial vem aumentando a preocupação com as problemáticas ambientais. Novas técnicas vem sendo propostas com o objetivo de analisar a qualidade dos ecossistemas e avaliar possíveis impactos causados por determinadas substâncias quando em contato com o meio ambiente. Neste cenário, os ensaios ecotoxicológicos com microrganismos vem surgindo como aliados em situações onde a tomada de decisões rápidas se vê necessária, já que apresentam um tempo de resposta menor que os ensaios convencionais. Análises respirométricas com o microrganismo *Pseudomonas putida* foram realizadas utilizando o equipamento Baroximeter®. Um total de 242 ensaios respirométricos foi realizado com água destilada estéril em dois equipamentos no intervalo de 11 dias para avaliar a repetibilidade e a confiabilidade da resposta dada pelo equipamento. Foram utilizados cultivos de *P. putida* crescidos em meio LB em quatro fases fisiológicas distintas (ápice de fase exponencial, final de fase exponencial/início de fase estacionária, estacionária inicial e estacionária tardia) para avaliação da melhor fase para padronização metodológica. Para as análises respirométricas, os cultivos foram concentrados (5×10^{10} - 1×10^{11} UFC/mL) e tiveram 300µL aliquoteados em eppendorfs de 2 ml para estocagem em geladeira a 4°C até o momento de uso. Para a avaliação respirométrica cada alíquota foi ambientada a 24°C por 30 min e ressuspendida em 1mL de água destilada seguido de leitura imediatamente no Baroximeter®. A viabilidade do cultivo microbiano foi avaliada diariamente, ao longo de 11 dias, por plaqueamento em gota até o final dos experimentos. Como resultados, foram observadas diferenças entre a média de leitura respirométrica entre os dois equipamentos e uma variabilidade aleatória na janela de resultados obtidos. Não foi observada modificação nas taxas respiratórias ao longo dos 11 dias analisados assim como mortalidade em 3 dos 4 cultivos. Por outro lado foi observada a necessidade de um grande número de repetições nas medições respirométricas para que houvesse homogeneidade na variação dos resultados. Ainda que em condições experimentais similares, o aparelho não se mostrou confiável mediante a metodologia proposta e estudos mais aprofundados ainda serão necessários para que se possa refiná-la junto ao aparelho permitindo assim seu uso eficaz.