

A petri dish containing a bacterial culture medium with numerous colonies of varying sizes and colors, including white, yellow, orange, and dark brown. A black rectangular box with a white border is overlaid on the center of the dish, containing text. The letter 'F' is visible on the right side of the dish, near the bottom of the text box.

Aula Prática

- Preparo de meio de cultivo
- Influência da temperatura no crescimento de microrganismos

PREPARO DE MEIO DE CULTIVO

PRECAUÇÕES DURANTE AS REPICAGENS

- 1) Local de trabalho (balcão, câmara asséptica)
deve ser limpo com álcool 70 %
 - 2) Passar álcool nas mãos
 - 3) Trabalhar na zona estéril do bico de bunsen /
lamparina
 - 4) Nunca abrir totalmente as placas de Petri
 - 5) Manter tubos de ensaio inclinados ($\pm 45^\circ$)
-

Exercício

BDA (Batata-Dextrose-Ágar)

- Caldo de batata ----- 100ml
(200g de batata/1L água)
- Dextrose (glicose) ----- 1,5g
- Ágar ----- 1,5g

- Colocar em Erlenmeyer e fechar com tampão de algodão
- Cobrir o bocal do Erlenmeyer com jornal e anotar o número do balcão e turma
- Colocar na autoclave para esterilizar
- Após esterilização, verter para 3 placas (em câmara asséptica)

Autoclave – equipamento para esterilização

➤ Calor Úmido Sob Pressão



Autoclave



Cesta interna da autoclave



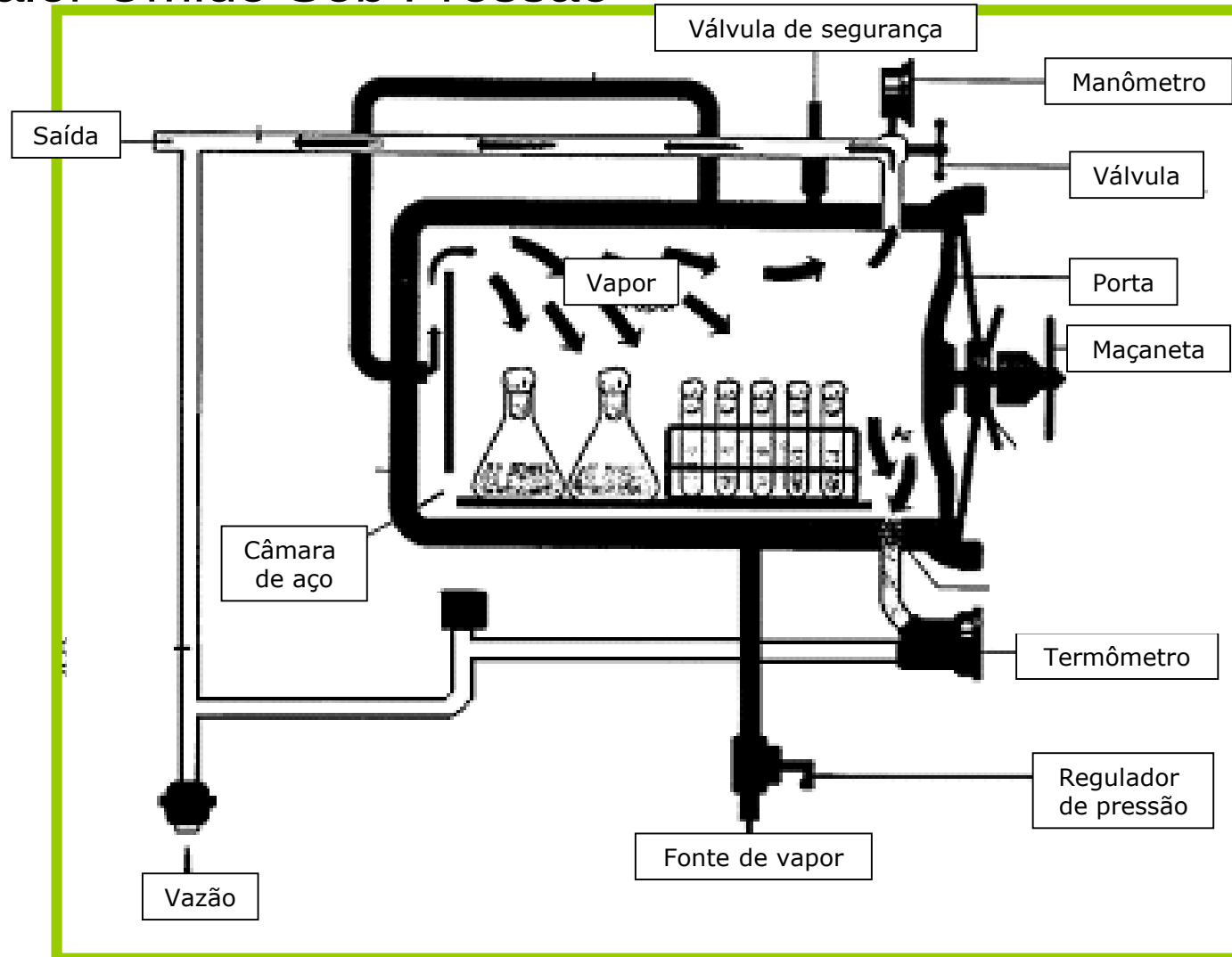
**Válvula de exaustão e
manômetro**



**Resistência coberta por água e
suporte da cesta**

Funcionamento da autoclave

➤ Calor Úmido Sob Pressão



1. Modelos de autoclaves

➤ Calor Úmido Sob Pressão



Câmara Asséptica ou Fluxo Laminar



- Equipada com lâmpada germicida (Luz UV ~260nm)
 - Danifica moléculas de DNA, formando dímeros de pirimidinas
 - Pouca penetração (baixa energia)

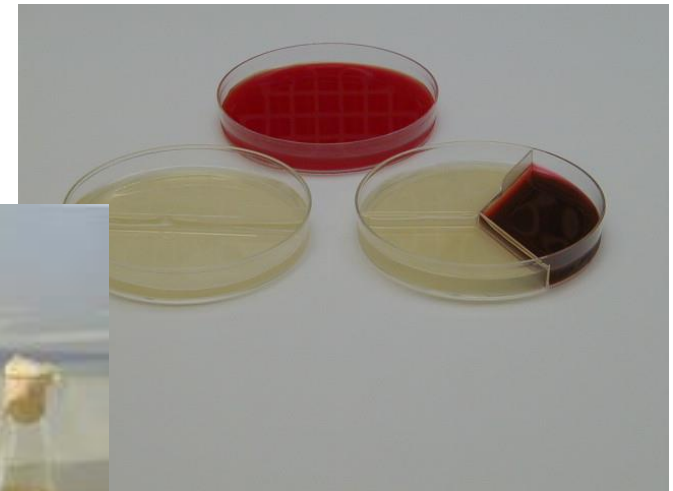
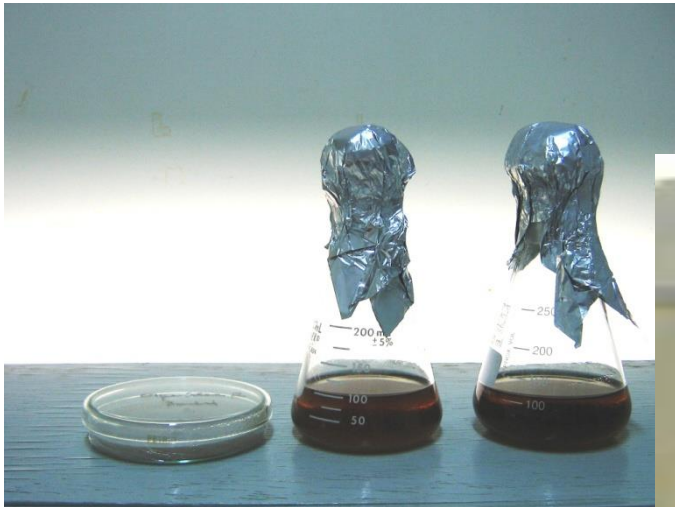
Câmara Asséptica ou Fluxo Laminar



Conceito

Meio de Cultivo:

- Preparado nutritivo que propicia condições para o desenvolvimento de microrganismos
- Utilizado no estudo de características morfológicas / fisiológicas dos microrganismos



Requerimentos para um meio adequado

- **Umidade**
- **Carbono**
- **Nitrogênio**
- **Minerais**
- **Vitaminas**
 - **pH**
 - **Oxigênio**
- **Estabilidade (esterilização)**

Classificação de Meios de Cultivo

1. Quanto à consistência

2. Quanto à composição

3. Quanto à seletividade

Classificação de Meios de Cultivo

1. Quanto à consistência

- Meios líquidos
- Meios sólidos

Classificação de Meios de Cultivo

1. Quanto à consistência

- Meios líquidos
- Meios sólidos (solidificados):



Ágar (agente solidificante)

- Difícil decomposição
- Polissacarídeo complexo
- Extraído de algas marinhas
- Ponto de fusão: 85 – 100°C
- Ponto de solidificação: 35 – 50°C
- 1 a 2 % no meio de cultivo



Classificação de Meios de Cultivo

1. Quanto à consistência

- Meios líquidos
- Meios sólidos

2. Quanto à composição

- Meios complexos
- Meios semi-sintéticos
- Meios sintéticos

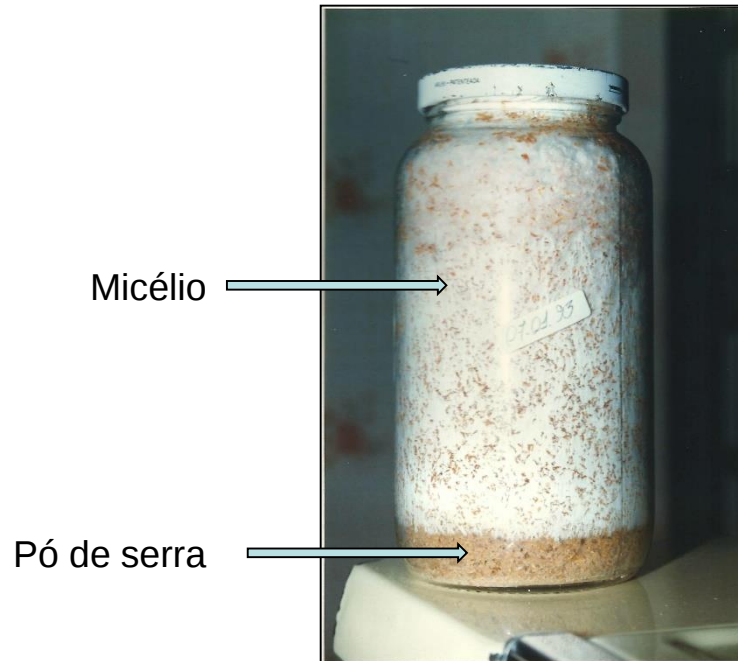
Classificação de Meios de Cultivo

2. Quanto à composição

- Meios complexos:

Composição química complexa e desconhecida

Ex.: Meio com sementes / pó de serra / etc



Produção de
inóculo de Shiitake
em meio com pó
de serra e farelo
de arroz

Classificação de Meios de Cultivo

2. Quanto à composição

- Meios complexos:

Composição química complexa e desconhecida

Ex.: Meio com sementes / pó de serra / etc

- Meios semi-sintéticos:

Composição química parcialmente conhecida

Ex.: Meio BDA (Batata – Dextrose – Ágar)

BDA

- Caldo de batata ----- 100ml

(200g de batata/1L água)

- Dextrose (glicose) ----- 1,5g

- Ágar ----- 1,5g

Classificação de Meios de Cultivo

2. Quanto à composição

- Meios sintéticos:

Composição química e concentração dos constituintes conhecida

Ex.: Meio de cultivo para *Escherichia coli*

- Glicose -----	15,0 g
- $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ -----	1,0 g
- KCl -----	0,2 g
- MgSO_4 -----	0,2 g
- Ágar -----	10,0 g
- Água destilada -----	1000ml
- pH entre 6,8 – 7,8	

Classificação de Meios de Cultivo

1. Quanto à consistência

- Meios líquidos
- Meios sólidos

2. Quanto à composição

- Meios complexos
- Meios semi-sintéticos
- Meios sintéticos

3. Quanto à seletividade

- Meios não seletivos
- Meios seletivos
- Meios diferenciais

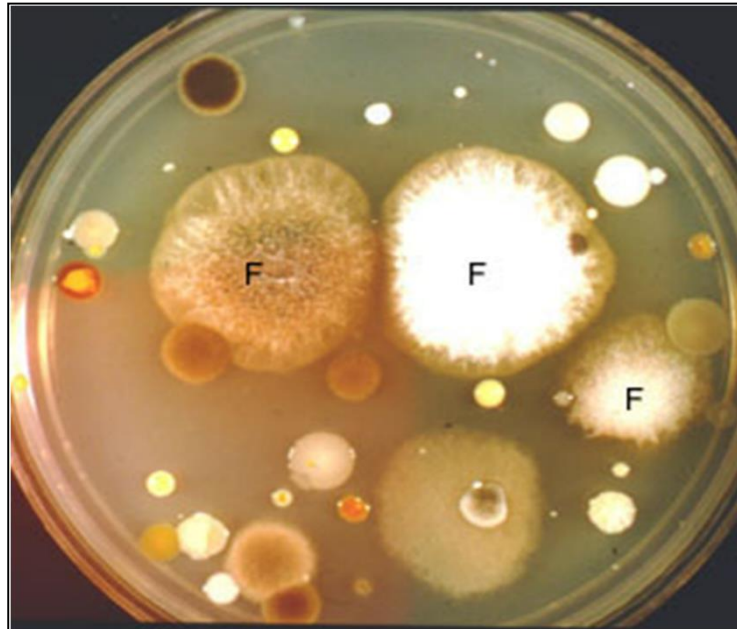
Classificação de Meios de Cultivo

3. Quanto à seletividade

- Meios não seletivos:

Desenvolvimento de ampla gama de microrganismos

Ex.: BDA



Classificação de Meios de Cultivo

3. Quanto à seletividade

- Meios não seletivos:

Desenvolvimento de ampla gama de microrganismos

Ex.: BDA

- Meios seletivos:

Desenvolvimento de determinado microrganismo

Ex.: Cristal violeta → impede crescimento de
bactérias Gram +

Meio Agar MacConkey



Classificação de Meios de Cultivo

3. Quanto à seletividade

- Meios não seletivos:

Desenvolvimento de ampla gama de microrganismos

Ex.: BDA

- Meios seletivos:

Desenvolvimento de determinado microrganismo

Ex.: Cristal violeta → impede crescimento de
bactérias Gram +

- Meios diferenciais:

Coloca em evidência propriedades úteis à identificação

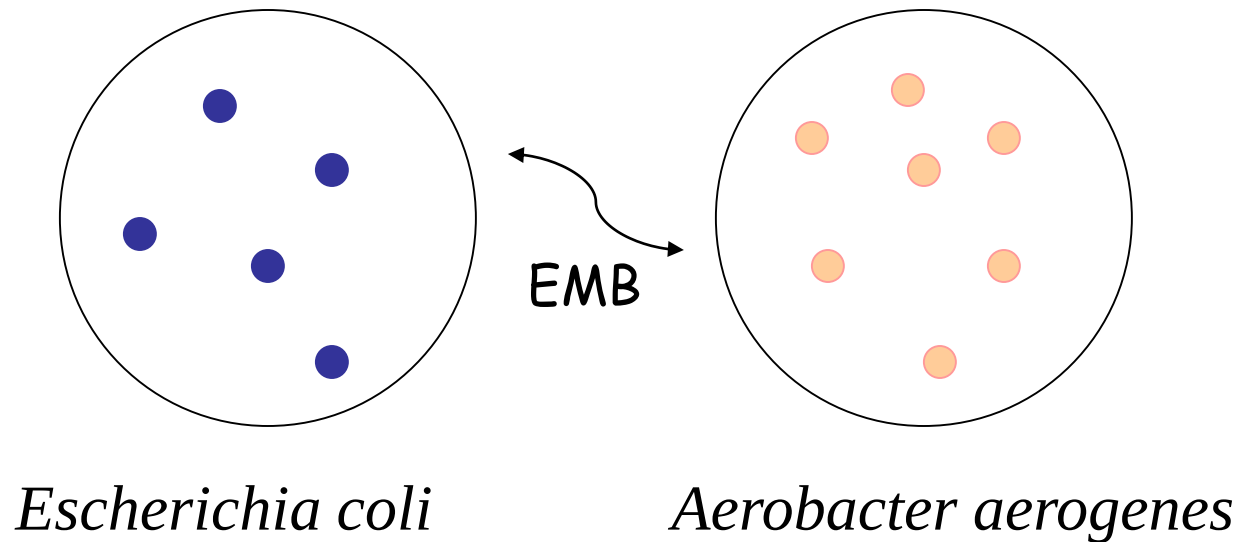
Ex.: Ágar – eosina – azul de metileno

E. coli → colônia pequena / negra

A. aerogenes → colônia grande / cinza escura

Meio Diferencial

Meio **diferencial**: Eosina azul de metileno (EMB)



Meio diferencial: análise microbiológica da água (*E.coli* em meio EMB)



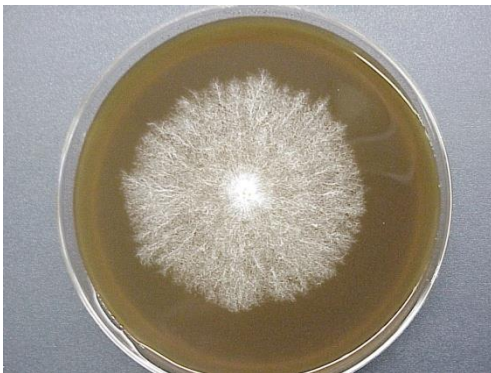
Crescimento

Bactérias

- Meio levemente alcalino / neutro (pH 7-8)
- Rico em proteínas



Fungos



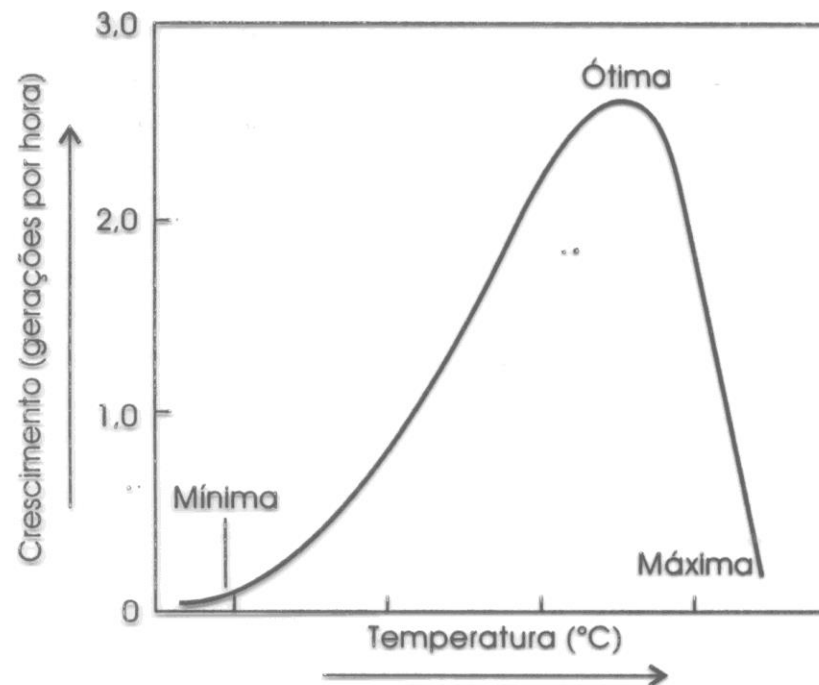
- Meio ligeiramente ácido (pH 5-6)
- Rico em carboidratos

Influência da temperatura
no
crescimento de microrganismos

Temperatura

- Grande influência no crescimento
- Temperaturas cardinais

Figura 6.1 Respostas típicas de crescimento de um microrganismo às temperaturas de incubação, mostrando as temperaturas mínima, ótima e máxima.



PRECAUÇÕES DURANTE AS REPICAGENS

- 1) Local de trabalho (balcão, câmara asséptica)
deve ser limpo com álcool 70 %
 - 2) Passar álcool nas mãos
 - 3) Trabalhar na zona estéril do bico de bunsen /
lamparina
 - 4) Nunca abrir totalmente as placas de Petri
 - 5) Manter tubos de ensaio inclinados ($\pm 45^\circ$)
-

Experimento:
Influência da temperatura

Fungo (*Sclerotinia sclerotiorum*)
mantido em meio sólido



Colocar discos de micélio
(0,5 cm Ø) no centro de 3 placas
(com meio BDA)



Incubar no escuro → 5, 20, 30 °C



Avaliar após 1-2 semanas

→ diâmetro da colônia fúngica

(Anotar temperatura/balcão/turma)

EXPERIMENTO: INFLUÊNCIA DA LUMINOSIDADE

Fungo (*Alternaria tenuis*) em meio sólido

Colocar discos de micélio no centro de 2 placas (meio BDA)

Embrulhar uma das placas com papel alumínio

Colocar ambas as placas sob fotoperíodo (luz UV próxima) → 20°C

Avaliar após 1 semana

→ Diâmetro da colônia fúngica

→ Número de esporos/campo

(adicionar 3mL de dH₂O, raspar com a alça de Drigalski e contar com objetiva de 10X)