

# RESULTADOS DE EXERCÍCIOS DE AULAS ANTERIORES

Postulado de Koch: inoculação de vírus

Meio de cultura BDA e esterilização



## Resultado da inoculação de vírus em abobrinha

folhas de abobrinha  
c/ vírus



macerar o tecido foliar em tampão



polvilhar carborundo nas  
folhas das plantas sadias de  
abobrinha



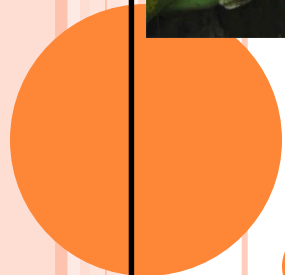
molhar algodão na suspensão  
e passar sobre a folhas  
**(inoculação por  
microferimentos)**



lavar a folha  
com água



colocar a  
planta em  
condições  
adequadas



# Exercício: meio de cultura e esterilização

## BDA (Batata-Dextrose-Ágar)

- Batata -----200 g/L
- Dextrose (glicose) ----- 20 g/L
- Ágar ----- 15 g/L

meio complexo e  
não seletivo

- Pesar 1,2 g de BDA
- Colocar em Erlenmeyer (30 mL H<sub>2</sub>O) e fechar com tampão de algodão
- Cobrir o bocal do Erlenmeyer com jornal/papel e anotar o número do balcão e turma
- Colocar na autoclave para esterilizar
- Após esterilização, verter em 2 placas/bancada (câmara asséptica ou bancada)

# CONTROLE DE MICROORGANISMOS



# TERMINOLOGIA

- **Sepsia** refere-se a contaminação microbiana
- **Assepsia** é a ausência de contaminação significativa
- **Biocida/germicida**: Mata microrganismos
- **Bacteriostático**: Inibe, não mata, microrganismos

**Tabela 7.1 Terminologia relacionada ao controle do crescimento microbiano**

	<b>Definição</b>	<b>Comentários</b>
<b>Esterilização</b>	Destruição ou remoção de todas as formas de vida microbiana, incluindo os endosporos, possivelmente com exceção dos príons.	Normalmente realizada com vapor sob pressão ou um gás esterilizante, como o óxido de etileno.
<b>Esterilização comercial</b>	Tratamento de calor suficiente para matar os endosporos de <i>Clostridium botulinum</i> em alimentos enlatados.	Os endosporos mais resistentes de bactérias termófilas podem sobreviver, mas não irão germinar e crescer sob condições normais de armazenamento.
<b>Desinfecção</b>	Destruição de patógenos na forma vegetativa.	Pode fazer uso de métodos físicos ou químicos.
<b>Antissepsia</b>	Destruição de patógenos na forma vegetativa em tecidos vivos.	O tratamento é quase sempre por antimicrobianos químicos.
<b>Degerminação</b>	Remoção de micro-organismos de uma área limitada, como a pele ao redor do local da aplicação de uma injeção.	Basicamente uma remoção mecânica feita com algodão embebido em álcool.
<b>Sanitização</b>	Tratamento destinado a reduzir as contagens microbianas nos utensílios alimentares a níveis seguros de saúde pública.	Pode ser feita por meio de lavagem em altas temperaturas ou imersão em um desinfetante químico.

# AGENTES MICROBIOCIDAS OU MICROBIOSTÁTICOS

➔ **Físicos:** Temperatura – calor úmido, seco, incineração  
Filtração  
Radiação – UV, ionizantes  
Pressão Osmótica

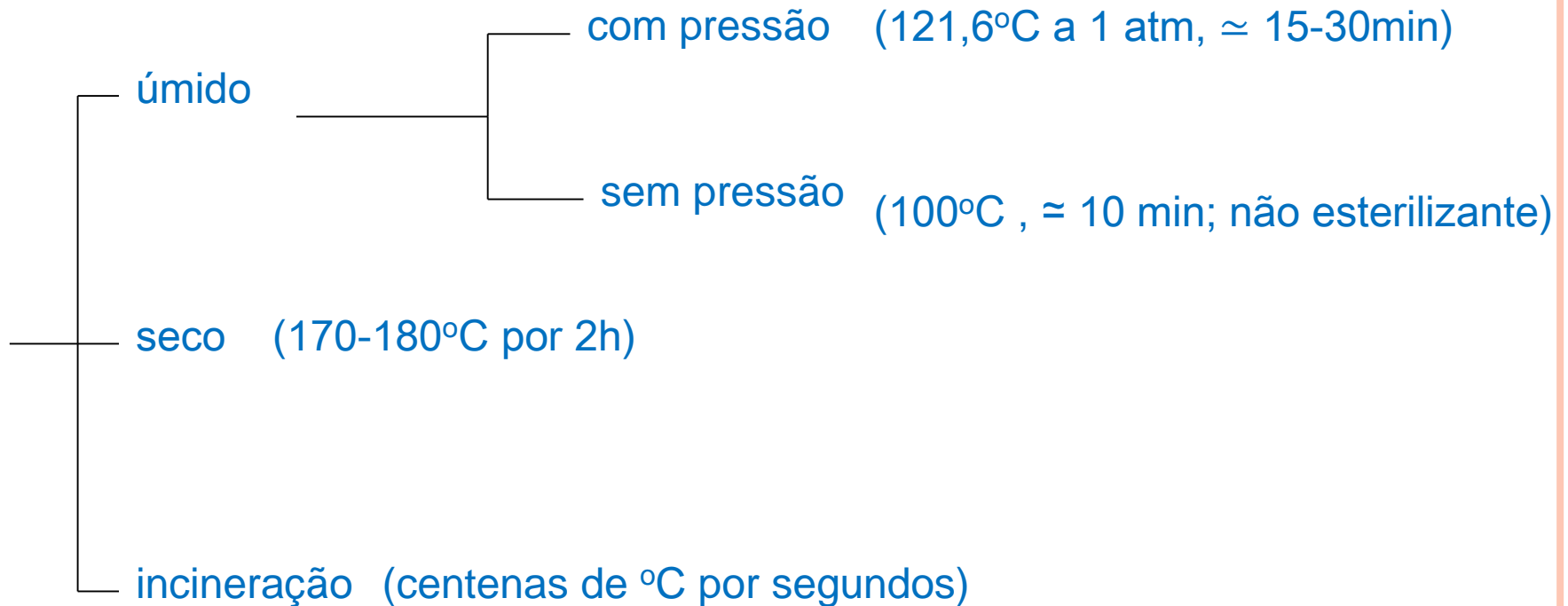
**Químicos:** Antissépticos, desinfetantes  
Antibióticos, Fungicidas, Viricidas

**Biológicos:** Antagonistas (antibiose)  
Competidores  
Predadores  
Parasitas



# Temperatura

## Temperatura elevada – denaturação de proteínas



Baixa temperatura  
(microbiostático!)

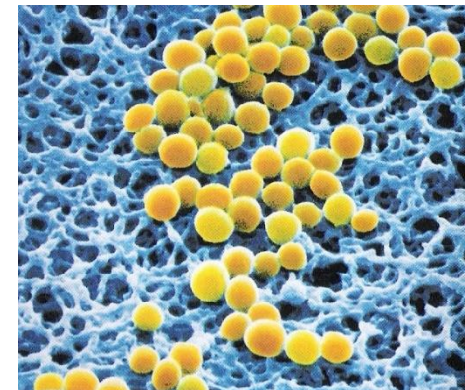
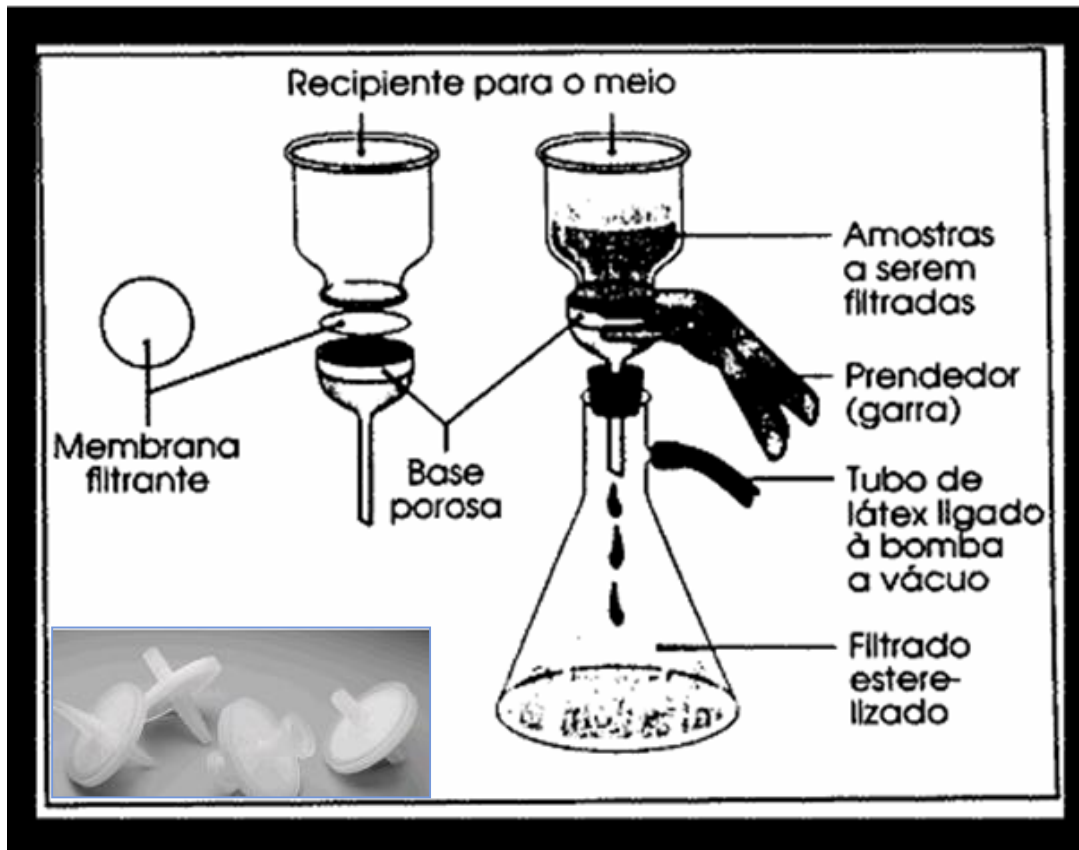
Congelamento - temp. < 0°C  
Nitrogênio líquido - temp < -196°C



# FILTRAÇÃO

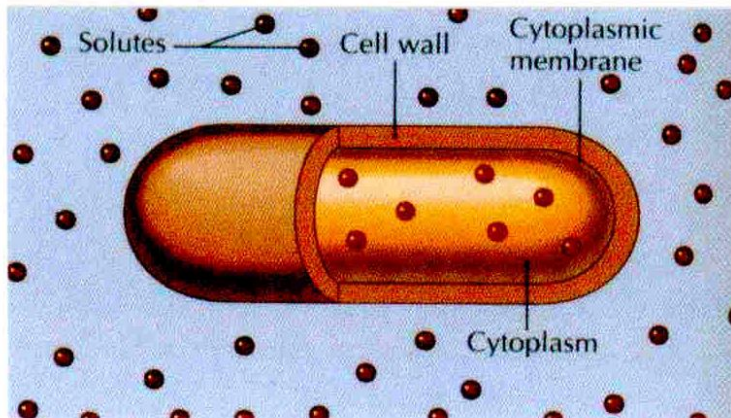
Doméstico

Milipore - Soluções e gases termolábeis

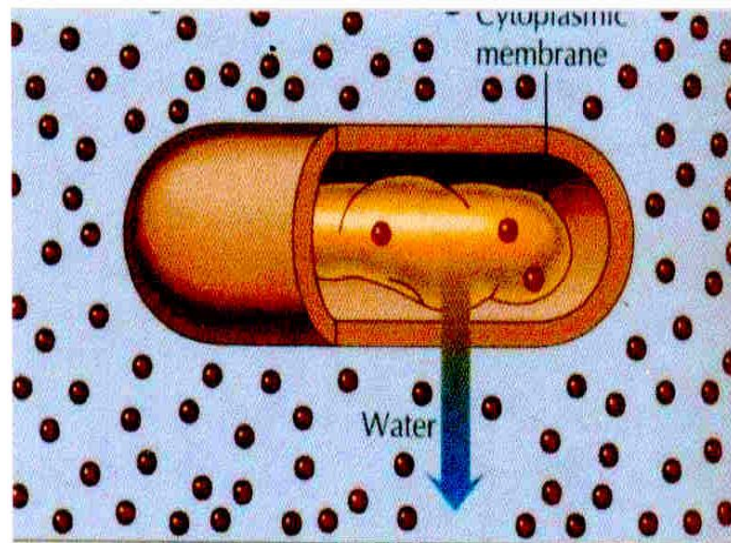




# PRESSÃO OSMÓTICA



Meio isotônico



Meio hipertônico

Sal



Açúcar

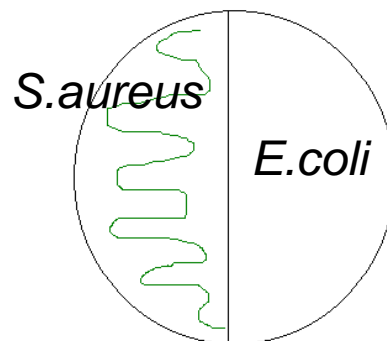


# PRESSÃO OSMÓTICA

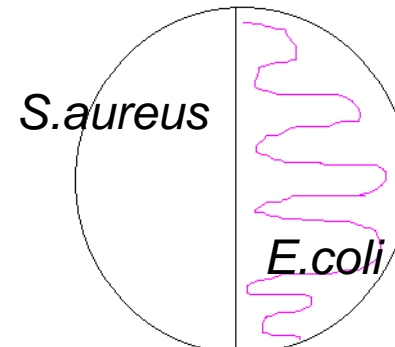
Alguns microrganismos podem viver em concentrações elevadas de sal. Esses microrganismos são chamados de **halófilos**.

Outros podem viver em concentrações elevadas de açúcar e são os **sacarófilos**.

Como regra geral, concentrações de 10-15% de sal e 50-70% de açúcar inibem o crescimento de grande maioria dos microrganismos.



Meio de cultivo  
contendo NaCl



Meio de cultivo  
contendo Glicose



# RADIAÇÃO

## Ionizante ou não-ionizante

Raios gama e X  
0,5 a 40 nm  
Alto poder de penetração  
Desloca e- produz íons  
Danifica DNA



Luz U.V.  $\sim$ 200 nm  
Baixa penetração  
Absorvida por bases DNA  
Purina e pirimidina



**FIGURE 12.16** Ultraviolet light irradiates a thin layer of water, killing harmful organisms. (Flip Chalfant/The Image Bank/Getty)

# AGENTES MICROBIOCIDAS OU MICROBIOSTÁTICOS

**Físicos:** Temperatura – calor úmido, seco, incineração  
Filtração  
Radiação – UV, ionizantes, sonicação  
Pressão Osmótica

 **Químicos:** Antissépticos, desinfetantes  
Antibióticos, Fungicidas, Viricidas

**Biológicos:** Antagonistas (antibiose)  
Competidores  
Predadores  
Parasitas



# Principais grupos de agentes antisépticos e desinfetantes

**Álcoois** – denaturam proteínas e dissolvem lipídios da membrana

**Compostos clorados** – poderoso agente oxidante (inativação proteínas e outras substâncias)



Exemplos: Hipocloritos  
 $\text{Ca}(\text{OCl}_2)$  e  $\text{NaOCl}$   
1% - higiene pessoal  
5-12% - desinfetantes

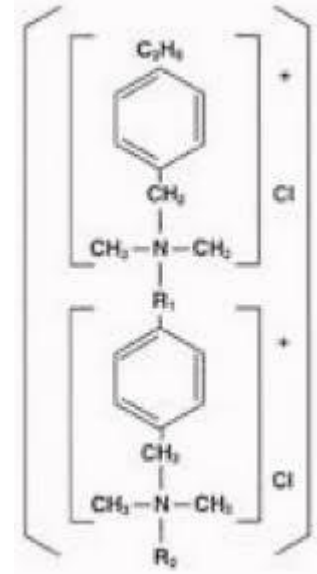
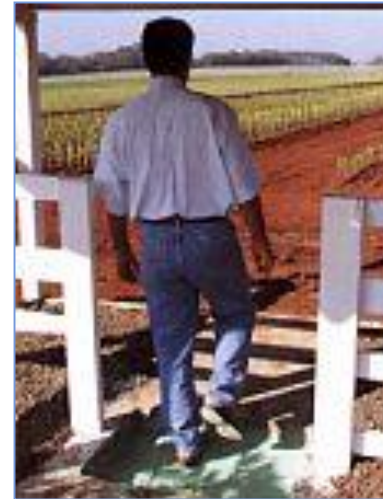
**Detergentes** – afetam permeabilidade da membrana celular

**Metais pesados** (prata e cobre) – inativam proteínas





# Sais quaternários de amônio



# Aplicação de fungicidas



# AGENTES MICROBIOCIDAS OU MICROBIOSTÁTICOS

**Físicos:** Temperatura – calor úmido, seco, incineração  
Filtração  
Radiação – UV, ionizantes, sonicação  
Pressão Osmótica

**Químicos:** Antissépticos, desinfetantes  
Antibióticos, Fungicidas, Viricidas

 **Biológicos:** Parasitas  
Antibiose  
Competidores  
Predadores





# PARASITISMO

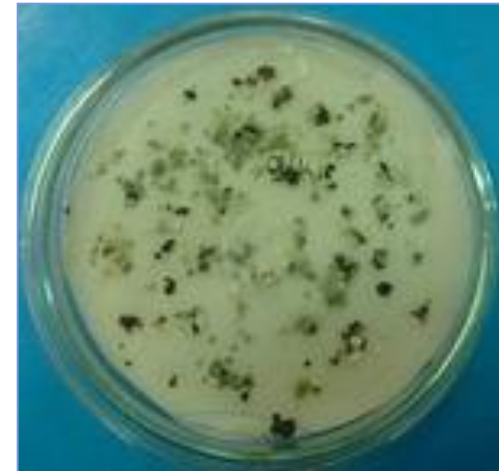
“Microrganismo estabelece relações com seu hospedeiro e se nutre de suas estruturas vegetativas e/ou reprodutivas”



Controle biológico de *Rhizoctonia solani* pelo fungo *Trichoderma harzianum*



*Trichoderma* sp. envolvendo hifas de *Rhizopus* sp



*Sclerotinia sclerotiorum* colonizada por *Trichoderma* sp.



# PREDAÇÃO

“Interação entre dois organismos,  
na qual um se alimenta do outro (ingestão)”

Ex: nematóides se  
alimentam de  
bactérias no solo



# COMPETIÇÃO

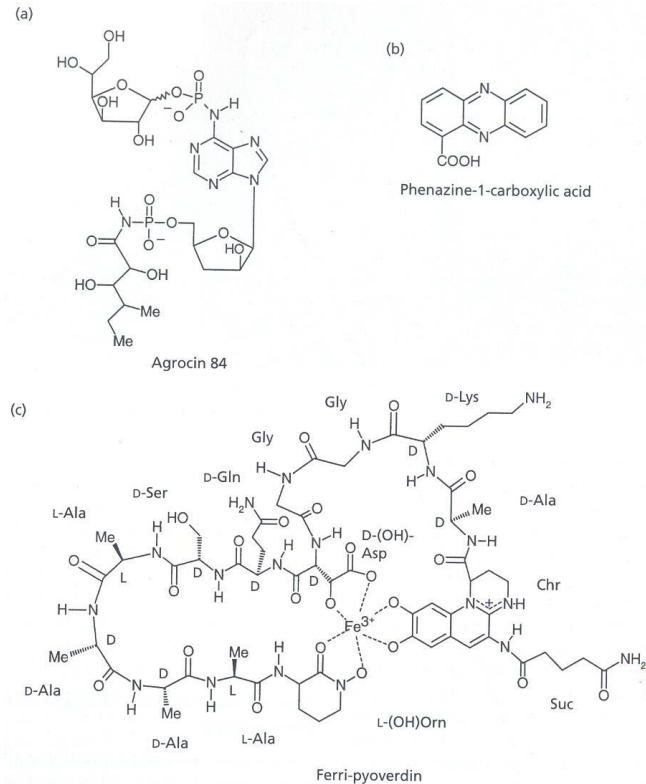
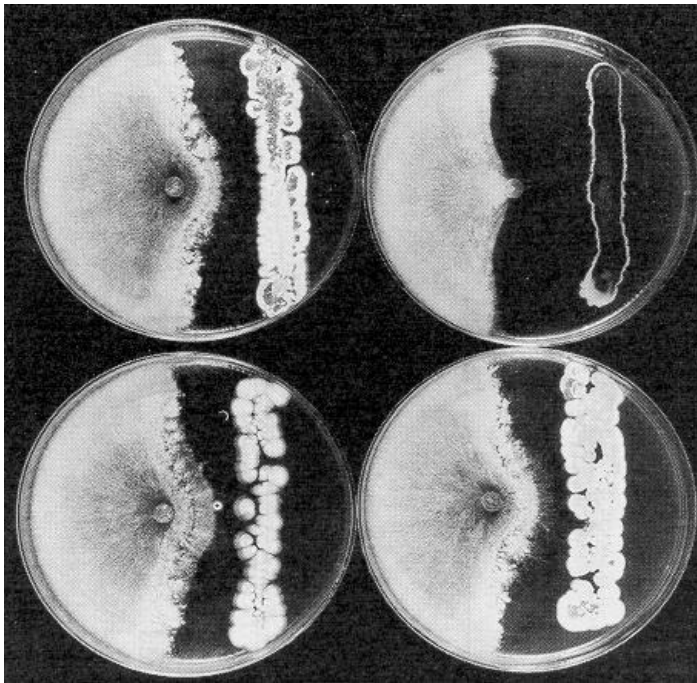
“Interação entre dois ou mais  
organismos que concorrem pelos  
mesmos fatores do ambiente -  
alimentos, espaço, oxigênio...”



# ANTIBIOSE

“Interação entre organismos, na qual um ou mais metabólitos produzidos pelo antagonista tem efeito negativo sobre o outro microrganismo, resultando na inibição do crescimento.”

**Antibiose** entre bactérias isoladas do solo e *Rhizoctonia solani*

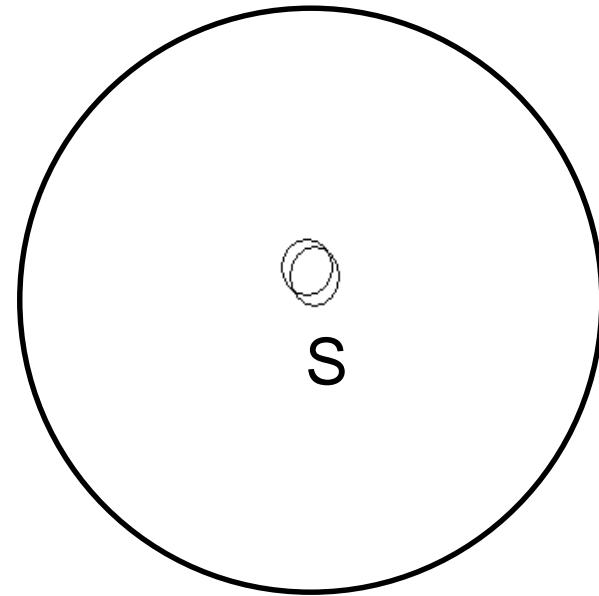
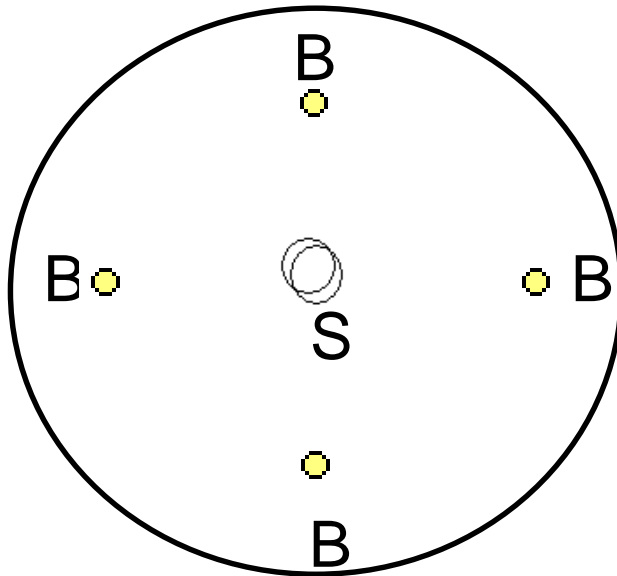


Antibióticos produzidos por antagonistas bacterianos



# EXERCÍCIO PRÁTICO 1: ANTIBIOSE

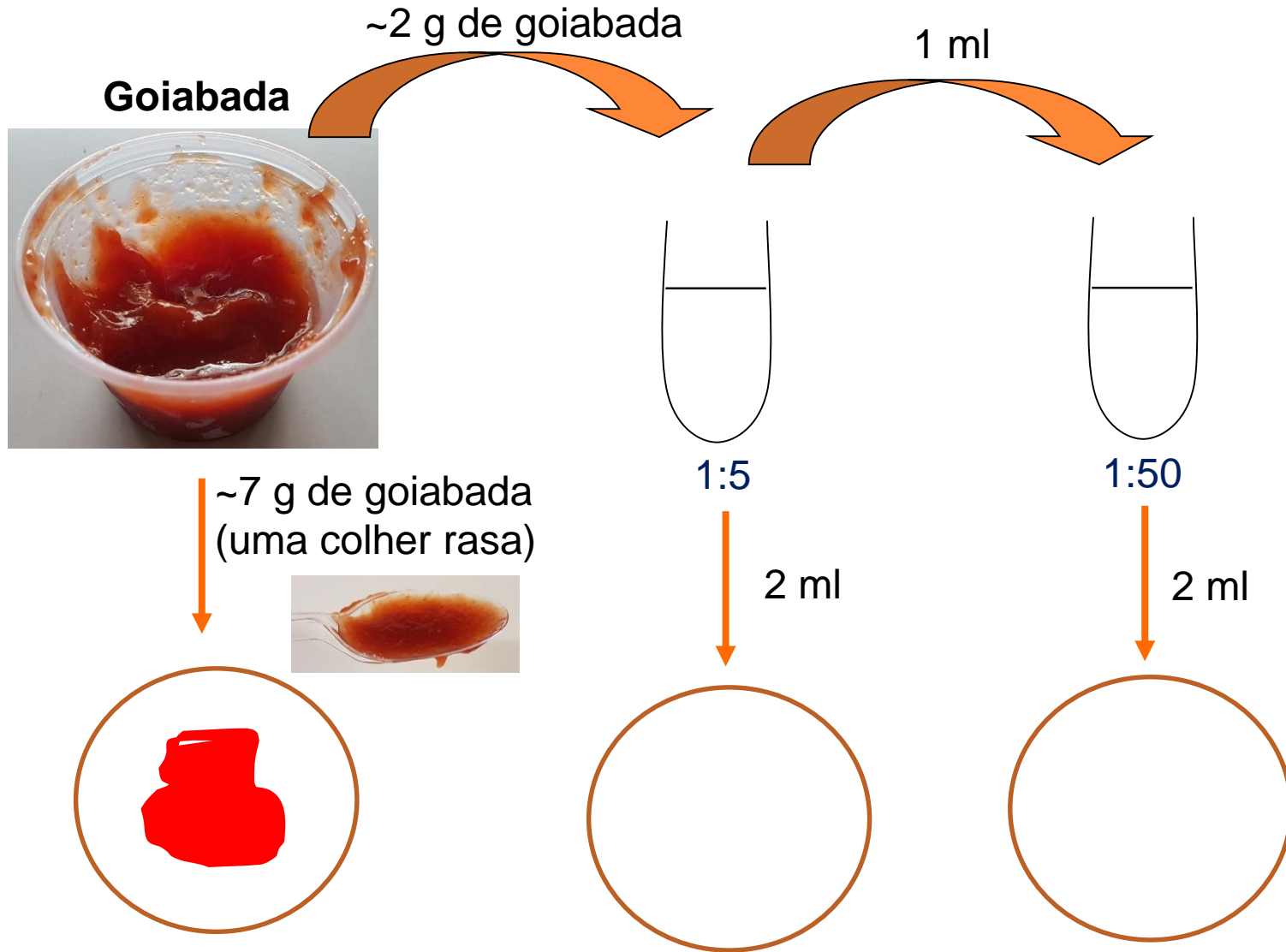
- *Bacillus* sp. (B)
- *Sclerotinia* sp.(S)
- Meio de cultura: BDA  
(batata dextrose ágar)



CONTROLE



# EXERCÍCIO PRÁTICO 2: PRESSÃO OSMÓTICA



3 placas de Petri/bancada



# EXERCÍCIO PRÁTICO 3: ANTIBIÓTICO

- *Saccharomyces cerevisiae*
- *Bacillus* sp (Gram +)
- BDA: duas placas por bancada
- Discos de papel de filtro
- Tubos de eppendorf com penicilina: 0,1 g/ml
- Alça de Drigalski

## PROCEDIMENTO:

- 1) Espalhar 1 ml de *S. cerevisiae* em uma placa.
- 2) Espalhar 1 ml de *Bacillus* em outra placa.
- 3) Mergulhar os discos na solução de penicilina
- 4) Colocar dois discos por placa com BDA
- 5) CONTROLE: uma placa com cada microrganismo por turma

