

OBSERVAÇÃO MICROSCÓPICA DE FUNGOS - MICROCULTIVO

Disciplina: Microbiologia Geral e Aplicada
Prof. Dr. André Rodrigues

Prática 14

- **Objetivos**

- a) Caracterizar fungos filamentosos e leveduras utilizando critérios morfológicos.
- b) Verificar a importância da técnica de microcultivo na caracterização dos fungos.

- **Considerações**

Os fungos são micro-organismos bastante diversos e estima-se que existam aproximadamente 1.500.000 espécies no planeta. Atualmente, os fungos são caracterizados por técnicas moleculares (sequenciamento de DNA), bem como a utilização de características morfológicas para a determinação de espécies. Assim, caracterização morfológica dos fungos é uma ferramenta indispensável para o estudo dos fungos e ampliar o conhecimento taxonômico desse grupo pouco estudado pelos taxonomistas.

Apesar de existirem algumas técnicas para identificar fungos utilizando a morfologia, a técnica de microcultivo (ou cultivo em lâmina) é empregada por alguns taxonomistas de fungos. Esta técnica consiste na preparação de culturas de fungos em lâminas de microscopia para observação direta em microscópio de campo claro. O microcultivo permite na íntegra o estudo das estruturas de reprodução (tanto sexuadas quanto assexuadas) da maioria dos fungos; facilitando a observação das principais características utilizadas para identificar tais micro-organismos. Vários protocolos foram estabelecidos para tal técnica. A seguir apresento aquele que é comumente utilizado.

- **Procedimento**

1- Preparo das lâminas

- a) O grupo irá receber quatro placas estéreis contendo cada: (i) um tubo em “U” e (ii) uma lâmina de microscopia sobre tubo em “U” (Figura 1).
- b) Anotar nas placas de Petri os respectivos códigos das culturas de fungos que o grupo irá trabalhar. Será utilizada apenas uma placa por fungo.
- c) Em seguida, com auxílio de uma espátula flambada, cortar um quadrado de aproximadamente 1 cm² do meio Corn meal Agar (ágar fubá) e depositar o bloco de ágar sobre a lâmina. Realizar todo o procedimento próximo a chama do bico de Bunsen.

2- Transferência dos fungos

- a) Com auxílio de uma agulha de inoculação (no caso de fungos filamentosos), flambar a agulha e tocar na superfície da colônia do fungo.
- b) Em seguida, tocar a agulha nos quatro cantos do bloco de ágar; flambar a agulha.
- c) No caso das leveduras, com auxílio da alça de transferência, tocar a colônia e riscar suavemente duas vezes o bloco de ágar.

d) Tanto para as leveduras quanto para os fungos filamentosos, após inocular o material no bloco, flambar a pinça e retirar uma lamínula estéril de dentro do recipiente apropriado e dispor suavemente a lamínula sobre o bloco de ágar.

e) Flambar novamente a pinça e retirar algodão umedecido do Becker fornecido. Remova o excesso de água do algodão pressionando o mesmo contra a parede do Becker.

f) Colocar o algodão no interior da placa de Petri de modo a não tocar a lâmina ou a superfície da lamínula.

3- Incubação e resultado esperado

a) Após o grupo preparar todas as placas, estas deverão ser embrulhadas em saco plástico e incubá-las à 25º C durante sete dias, no escuro (BOD).

b) Após o período de incubação, espera-se que os fungos utilizem os nutrientes contidos no meio e cresçam formando as estruturas de reprodução sobre a superfície da lâmina e da lamínula.

• Referências

ALCÂNTARA, F.; CUNHA, M. A.; ALMEIDA, M. A. **Microbiologia: práticas laboratoriais**. 2ª ed. Aveiro: Universidade de Aveiro, 2001. 297 p.

NEDER, R. N. **Microbiologia: manual de laboratório**. Editora Nobel: São Paulo, 2000. 144p.

RIBEIRO, M. C.; SOARES, M. M. S. R. **Microbiologia Prática: roteiro e manual**. Editora Atheneu: São Paulo, 2000. 112p.

• Apêndice

Corn meal Agar (ou ágar fubá)

Extrato de fubá.....2g

Agar15g

Água destilada.....1000mL

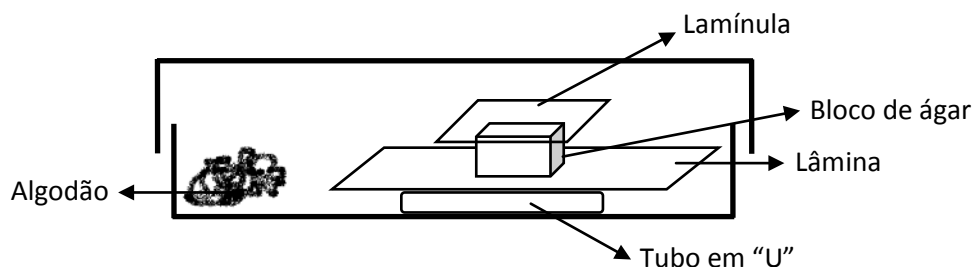


Figura 1. Esquema geral do microcultivo