



## Parte I - Técnicas de sementeira - Sementeira por esgotamento em meios sólidos

### 1. INTRODUÇÃO

O isolamento consiste na obtenção de uma cultura pura (colônias isoladas de um único microrganismo) separando-o de outros que se encontram no mesmo material. Para isolar uma cultura, são utilizadas técnicas de sementeira que são o método pelo qual se transfere inóculos microbiológicos de um meio de cultura ou material a ser analisado para outro meio de cultura. A técnica de sementeira por esgotamento é uma das mais utilizadas quando se quer isolar culturas puras em amostras com culturas mistas, formando colônias isoladas e possibilitando a identificação dos microrganismos que cresceram nesse meio. Para garantir que apenas o microrganismo desejado seja semeado, são utilizadas as técnicas assépticas, que são procedimentos que devem ser adotados visando a não contaminação de materiais, meios e culturas.

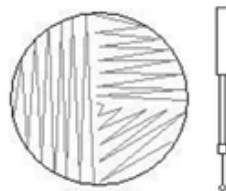
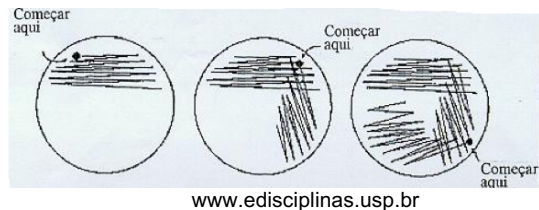
### 2. OBJETIVOS

1) Executar as técnicas de assepsia e de sementeira de microrganismos em meios sólidos.

- 1.1. Transferência de uma cultura microbiana em placa de Petri (meio sólido) para outra placa de Petri (meio sólido)
- 1.2. Isolamento de colônias por estrias múltiplas em placa de Petri
- 1.3. Sementeira por esgotamento em meios sólidos

### 3. PROCEDIMENTO

- Fazer a desinfecção da área de trabalho e higienização das mãos.
- Esterilizar a alça de repicagem. Sempre aqueça da base para a ponta, evitando a formação de aerossóis.
- Com a alça esterilizada e resfriada, tocar levemente **uma colônia** em meio sólido na placa de petri que contém diferentes microrganismos, garantindo que somente um determinado microorganismo desejado seja inoculado. Trabalhar sempre na área de segurança (uma área de aproximadamente 10 cm ao redor da chama).
- Inocular a cultura **em outra placa de Petri, estéril**, fazendo estrias múltiplas. Estriar em metade da placa, com movimentos de zig-zag. Quando atingir a metade, girar a placa 90° e estriar até a metade (1/4 da placa), girar mais 90° e estriar o meio restante. Cuidado para não perfurar o meio e não voltar a alça sobre a estria.
- Esterilizar a alça depois das inoculações, evitando a contaminação de outros materiais.
- Inverter a placa, identificar a na borda da base, e incubar a 37 °C por 24h.



## Parte II - Macromorfologia de microrganismos

### 1. Introdução

Os aspectos macroscópicos de uma colônia são um conjunto de características subjetivas e de expressão fenotípica, que podem ser úteis para identificação prévia ou informações complementares de outras técnicas. O cultivo em meios sólidos permite a análise desses aspectos. O ágar nutriente é um meio de cultura amplamente utilizado para crescimento microbiano. Relativamente simples e de fácil preparação, é composto por extrato de carne, peptona e ágar. Para o preparo, é preciso pesar, hidratar os componentes, fundir, esterilizar e distribuir (ainda quente) para se solidificarem no recipiente (placa). Bactérias, leveduras e fungos têm bom crescimento neste meio, que pode ser conservado por até 3 meses em temperaturas baixas e tem cor opaca transparente. Após crescimento, podem ser observados os aspectos macroscópicos das colônias e serem feitos cultivo, conservação, repicagem, isolamento e identificação dos microrganismos, macro ou microscopicamente, sendo necessárias técnicas adicionais. As colônias de microrganismos apresentam diferentes formatos, texturas e cores. É possível diferenciar as colônias de leveduras das colônias de fungos filamentosos, pois as leveduras apresentam aspecto úmido e pastoso, enquanto que os fungos filamentosos apresentam aspecto seco. As leveduras apresentam colônias cremosas, geralmente arredondadas ou ovaladas, de coloração e aspecto variados. Os fungos filamentosos apresentam colônias com bordas, textura e relevo variáveis, podendo ser cotonosas, aveludadas, rasteiras ou aéreas, com as mais variadas cores e bordas regulares ou irregulares. As colônias de bactérias são geralmente arredondadas, podem ter ou não coloração, serem opacas ou brilhantes. Em geral, quando cultivadas em meio sólido, apresentam colônias que não permitem distinção. Por esta razão, os bacteriologistas empregam meios de cultura diferenciais, que permitem o desenvolvimento de colônias bacterianas coloridas e, assim, por simples observação visual é possível uma parcial identificação prévia da bactéria.

### 2. Objetivos

Analisar macroscopicamente as colônias e descrever as características macromorfológicas dos microrganismos.

### 3. Procedimento

Realizar o exame macroscópico das colônias.

Observar a tabela de descrição de aspectos macroscópicos de colônias.

Anotar os aspectos observados na tabela de resultados.

Descrição de aspectos macroscópicos de colônias

---

**BORDAS**

Limitadas ou irregulares. Na periferia das colônias, podem ser observados muitos desenhos, que vão desde morfologias bem delimitadas até achados de projeções irregulares, que lembram franjas.

---

**CRESCIMENTO**

Rasteiro ou aéreo, com presença ou não de protuberância central.

---

**TEXTURA**

Algodonosas ou cotonosas (aspecto de algodão), furfuráceas (lembram substância farinácea espalhada), penugentas (lembram penugem de aves), arenosas (assemelham-se a areia de praia), veludas/velutíneas (aspecto de tecido aveludado), granulosas/pulverulentas (esfarelam-se facilmente), glabras/céreas (aspecto de cera ou manteiga).

---

**RELEVO**

Cerebriformes (cheias de altos e baixos, fazendo circunvoluções lembrando cérebro); rugosas (variação da cerebriforme, com pregas topográficas menos evidentes); apiculadas ou umbilicadas (apresentam uma saliência na parte central); crateriformes (aprofundam no meio semelhante a uma cratera); planas (sem sulcos ou rugosidades).

---

**PIGMENTAÇÃO**

Existe grande variação de cores de pigmentos, que vão desde verde, passando pelo amarelo, vermelho e castanho, até o preto. A pigmentação não é uma característica constante numa espécie, podendo variar conforme o meio de cultura. É possível observar se é opaca ou brilhante.

---

**Adaptado da apostila de aulas práticas de Renata C. F. Souto e Alessandra M. Cardoso**

---

## 4. Resultados

Identificação da placa	
Número de colônias	
Número de morfotipos	
Textura	
Relevo	
Pigmentação	
Tamanho	
Bordas	
Outras características/Observações	