

## AVALIAÇÃO DE MEIOS DE CULTURA PARA FUNGOS COM DIFERENTES TIPOS DE AÇÚCARES

Gilson Tavares de Lima<sup>1</sup>, Franklin Barbosa<sup>2</sup>, Matheusa Fernanda M. S. Barro<sup>2</sup>, Phabula Saylla Aires<sup>2</sup>, Sédna Heiffy Cardoso<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Docente do Curso técnico subsequente de Análises Clínicas – IFTO. e-mail: gilsontavares@ifto.edu.br

<sup>2</sup> Alunos do Curso técnico subsequente de Análises Clínicas

**Resumo:** Os meios de cultura têm como finalidade o cultivo artificial de diversos micro-organismos. Existem meios de cultivo específicos para fungos, tendo como finalidade semeadura em meio sólido ou líquido. O objetivo deste estudo é testar meios de cultura para fungos com diferentes tipos de açúcares em substituição a dextrose comumente encontrada em meio comercial. Obteve-se o cultivo primário dos fungos a partir da inoculação do meio de cultura de Ágar Batata em diferentes ambientes do Instituto Federal do Tocantins, campus de Araguaína. Foi observado o crescimento de várias colônias no meio de cultivo primário. Uma colônia isolada foi selecionada do cultivo primário e feita uma suspensão de fungos em salina. Uma alíquota da suspensão foi retirada utilizando uma alça de platina tipo anel e inoculada pela técnica de esgotamento por estrias nos meios de cultura com diferentes tipos de açúcares no caso: mel, açúcar branco comercial e melado de cana de açúcar. Observou um maior crescimento no meio com melado, o açúcar branco foi o que teve menor crescimento e o mel apresentou crescimento intermediário.

**Palavras-chave:** meio de cultura, mel, melado de cana-de-açúcar, açúcar, técnica de esgotamento

### 1. INTRODUÇÃO

Os meios de cultura têm como finalidade o cultivo artificial de diversos micro-organismos. Esses meios possuem nutrientes e condições físico-químicas que são indispensáveis ao seu crescimento. As necessidades nutritivas estão ligadas a fontes de energias (micro-organismos que usam a energia luminosa ou de compostos químicos inorgânicos e também compostos orgânicos) e de material que seja plástico, como fonte de carbono, além de nitrogênio e íons inorgânicos essenciais para suprir suas necessidades nutritivas (RIBEIRO, 2011). O ágar Sabouraud meio com nutrientes que favorece o crescimento de diversos fungos leveduriformes e filamentosos, é bastante utilizado tendo como composição dextrose, peptona e água. Outro meio é o Ágar nutriente, sendo um meio relativamente simples, e também de fácil preparação, muito usado nos procedimentos em laboratório de Microbiologia (RIBEIRO, 2011).

Os fungos constituem um grande grupo de seres vivos que podem ser encontrados em quase todos os nichos ecológicos. As exigências nutritivas dos fungos são semelhantes às das bactérias quimiorganotróficas: precisam de uma fonte de carbono, além de nitrogênio, água, sais minerais e fatores de crescimento. Sendo a maioria dos fungos mesófila, temperatura entre 25 a 30° C (RIBEIRO, 2015). O objetivo deste estudo foi analisar o crescimento fúngico em meios de cultura com diferentes tipos de açúcares como: açúcar branco, mel e melado de cana-de-açúcar adicionado em Ágar caldo de batata.

### 2. MATERIAL E MÉTODOS

O Cultivo primário dos fungos foi realizado a partir da inoculação dos meios de cultura ágar batata com amostras oriundas de diferentes ambientes do Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia do Tocantins – IFTO *Campus* Araguaína.

Para produção do meio de cultura, utilizou-se caldo de batata. A composição do meio de cultura primário está descrita na tabela abaixo e é satisfatória para produzir 500 ml de meio de cultura.

Tabela 1 – Composição do meio de Cultura primário

Reagentes	Quantidade em g/ml
(1) Batata inglesa	200 g
(2) Água	1000 ml
(3) Açúcar Branco	20 g
(4) Ágar-ágar	20 g

No preparo do caldo de batata foram utilizados 200 g de batata tipo Inglesa e 1000 ml de água potável. As batatas foram cortadas em cubos pequenos e colocadas em uma panela de pressão, com 1 litro de água, deixando cozinhar por 1 hora. Depois de atingir o tempo estipulado, foi retirado do fogo deixando sair toda pressão e resfriar naturalmente, até o ponto de manipulação segura, em seguida filtrada com auxílio de gaze. Após esse processo o caldo filtrado foi colocado em um frasco de vidro, esterilizado. Em seguida pesou-se 20g de ágar-ágar e 20 g de açúcar branco comercial tipo cristal adicionado ao caldo de batata, em seguida, colocado dentro da panela de pressão para ser esterilizado por 25 minutos. Após o tempo de espera para resfriar o caldo, este foi transferido para 3 placas de Petri. Esperou-se o tempo de solidificação. Para inoculação das placas estas foram expostas por 10 segundos frente ao fluxo de ar dos aparelhos de ar condicionado nos seguintes ambientes: Biblioteca, sala de aula 2 e Laboratório II de Informática. Logo, as placas foram protegidas com papel filme e acondicionadas em temperatura ambiente por 10 dias as placas foram observadas diariamente onde se observou o crescimento de várias colônias de fungo.

As placas foram abertas, com auxílio de chama da lamparina entre quem estava manipulando as placas, nestas placas observou-se o crescimento dos fungos em diferentes colônias. Algumas colônias foram retiradas dos meios de cultura primário, com auxílio da Alça de anel e posto diretamente em 5 tubos de ensaio de 20 mL contendo 10 ml de solução salina, sendo colocado em cada tubo um tipo de colônia e posteriormente fechado com gaze, em seguida, levado ao agitador tipo Vortex para homogeneização. O preparo dos meios de cultura teste ou secundário deu-se início com a pesagem dos reagentes, onde as proporções dos reagentes foram recalculadas para adequar o volume para 10 mL de meio de cultura pronto. Utilizou-se o mesmo procedimento do meio primário exceto pela adição do substituto da dextrose. Em seguida foi feita a pesagem dos demais reagentes, sendo 0,2 g de açúcar branco, 0,2 g de Mel, 0,2 g de Melado e 0,2 g de ágar. Em seguida utilizou tubos enumerados de 1 a 3 em cada tubo de ensaio foi adicionado um ingrediente substituindo a dextrose, sendo no Tubo 1 adicionado açúcar branco 0,2 g, Tubo 2 mel 0,2 g e Tubo 3 melado 0,2 g foi adicionado em cada tubo 10 ml de caldo de batata com auxílio da pipeta volumétrica e 0,2 g de ágar-ágar. A composição dos tubos com os meios de cultura está representada na Tabela 2

Tabela 2 – Composição dos meios de Cultura/Teste com volume ajustado para 10 ml

Item /Meio	(Tubo 1) Açúcar	(Tubo 2) mel	(Tubo 3) melado
(1) Caldo de Batata Inglesa	10 ml	10 ml	10 ml
(2) Açúcar Branco	0,2 g		
(3) Mel		0,2 g	
(4) Melado			0,2 g
(5) Ágar-ágar	0,2 g	0,2 g	0,2 g

Os tubos foram agitados novamente no Vortex até formação de mistura homogênea em seguida colocados em forno micro-ondas em séries de 10 segundos até obter-se uma melhor

dissolução do ágar. Em seguida colocaram-se os tubos em estantes metálicas juntamente com as placas de Petri, todo o conjunto foi esterilizado por 25 minutos. Depois de passado o tempo de esterilização os meios foram adicionados nas placas de Petri e aguardado o tempo de solidificação dos meios. No dia seguinte foi escolhido um dos 5 tubos de ensaio com suspensão de colônia de fungos e inoculadas para novas placas de Petri pela técnica de esgotamento por estrias as placas foram identificadas quanto ao tipo de açúcar, após a inoculação, as placas foram envolvidas por um filme de Policloreto de Vinil - PVC e acondicionadas em temperatura ambiente e observadas diariamente.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi realizado o isolamento do meio de cultura de ágar batata com substituição da dextrose para cultivos de fungos em Placa de Petri, sendo observado o seu crescimento em período de 3 dias. Observou-se um maior crescimento no meio com melado, esse crescimento pode ser justificado, o melado de cana-de-açúcar pode ser utilizado como fonte de vários nutrientes, entre eles açúcar, vitaminas e íons metálicos inorgânicos Prakash *et al* 2004 *apud* RIBEIRO. A composição rica do melado pode ter potencializado o crescimento fúngico. O meio com açúcar foi o que teve crescimento intermediário, isso pode ter ocorrido por interferências de produtos utilizados no processo de fabricação do açúcar comum. Com objetivo de melhorar as técnicas dos processos de clarificação do caldo de cana destinado à produção do açúcar branco, foram desenvolvidos diferentes métodos (CRUZ, 2015). Entretanto, poucos foram eficazes e os que são usados atualmente nas usinas de açúcar deixam como resíduos sais de enxofre, que são prejudiciais à saúde, como é o método da sulfitação, que produz o  $SO^2$ , o agente principal de clarificação. O mel apresentou crescimento menor isso pode ter ocorrido devido ao fato do mel ter ao mesmo tempo micronutrientes e propriedades inibidoras do crescimento de fungos. O crescimento dos fundos pode ser observado abaixo.

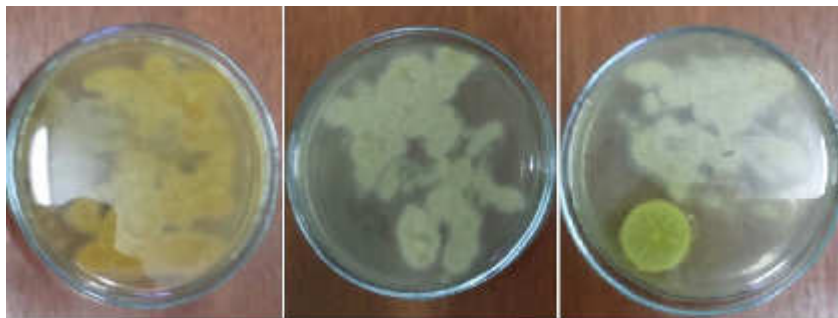


Figura 1 – Padrões de crescimento dos fungos no meio teste. Melado, Mel e Açúcar respectivamente da esquerda para direita.

### 6. CONCLUSÃO

Todos meios de cultura testados obtiveram resultados positivos para crescimento de fungos porém o meio que mais cresceu fungo foi o de melado, o de açúcar obteve crescimento intermediário, e o mel teve o menor crescimento. Portanto, é possível cultivar fungos com formulações variadas de substrato energético assim podendo ser substituída a dextrose para o crescimento dos fungos.

## REFERÊNCIAS

RIBEIRO Mariangela Cagnoni. **Microbiologia prática: aplicações de aprendizagem de microbiologia básica – bactérias, fungos e vírus**. 2º edição / autoras: Mariangela Cagnoni

RIBEIRO e Maria Magali Stelato. São Paulo: Editora Atheneu, 2011. **Isolamento de Fungos**. Disponível em: <[www.uefs.br/disciplinas/bio221/isolamento\\_de\\_fungos.rtf](http://www.uefs.br/disciplinas/bio221/isolamento_de_fungos.rtf)>. Acesso em: 21 de Maio de 2015.

CRUZ, Sandra Helena da. **Química do açúcar**. Disponível em:<[http://www.crq4.org.br/quimicaviva\\_acucar](http://www.crq4.org.br/quimicaviva_acucar)>. Acesso em 20 de Maio de 2015.

LOPES, Marina Filipa Paixão Domingos. Bioatividade Do Mel: **Actividade Antioxidante, Antimicrobiana E Composição Em Ácidos Orgânicos**. Disponível em:<[http://repositorio.ul.pt/bitstream/10451/8624/1/ulfc104148\\_tm\\_Marina\\_Lopes.pdf](http://repositorio.ul.pt/bitstream/10451/8624/1/ulfc104148_tm_Marina_Lopes.pdf)>. Acesso em: 21 de jun. de 2015

RIBEIRO, Juliana Martins et al. **Efeito do melado de cana-de-açúcar no desenvolvimento *in vitro* de bananeira (*Musa spp.*) cv. Maçã** Disponível em:<<http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:NucqArIzUP8J:www.scielo.br/pdf/rceres/v59n3/a01v59n3.pdf+&cd=2&hl=pt-BR&ct=clnk&gl=br>> Acesso em: 12 de Abr. de 2015.

SILVA, Robson Alves da *et al.* **Composição e propriedades terapêuticas do mel de abelha**. Disponível em:<<http://servbib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/view/120/133>> 2006.Acesso em: 12 de Abr. de 2015.