

## Produção e avaliação de meios de cultura alternativos para estudo e ensino de microbiologia

### Production and evaluation of alternative culture media for the study and teaching of microbiology

Beatriz Cristina Oliveira Dias <sup>(1)</sup>

Thiago Martins de Carvalho <sup>(2)</sup>

Hellen Cristina Pinheiro Santos <sup>(2)</sup>

Adele Megam Mascitelli Salustiano Silva <sup>(2)</sup>

Sandro Eugenio Pereira Gazzinelli <sup>(3)</sup>

**Resumo.** As atividades práticas em Microbiologia são fundamentais para o desenvolvimento dos estudantes. Durante os últimos anos, o incremento de procedimentos laboratoriais na área microbiológica e biotecnológica elevou os preços de materiais como vidrarias, meios de cultura, equipamentos e outros. Isso tem dificultado a aquisição de materiais e a manutenção de laboratórios de Microbiologia em instituições de ensino, inviabilizando o aprendizado prático. Portanto, faz-se necessário a utilização de meios e materiais alternativos na elaboração e realização de aulas práticas laboratoriais de Microbiologia. Neste sentido, foram selecionados e avaliados três meios de cultura alternativos que apresentam como fonte de nutrientes em sua composição, produtos de baixo custo e fácil obtenção. Meios de cultura contendo farelo de aveia, gema de ovo de galinha e leite integral de vaca foram produzidos e, em seguida, solidificados acrescentando-se ágar-ágar. Meios de cultura contendo ágar nutriente e BDA foram produzidos e mantidos como controle. Erlenmeyers contendo os meios de cultura foram vedados e, juntamente com as placas de Petri que receberam estes meios, esterilizados em autoclave a 1 atm/120°C durante 15 minutos. Para exposição dos meios de cultura a microrganismos, as placas de Petri contendo esses meios foram mantidas destampadas por 15 minutos. Em seguida, os meios de cultura permaneceram por sete dias em estufa a 32°C. Após o período de incubação, foi realizada avaliação qualitativa e quantitativa do número de colônias de bactérias e fungos que se desenvolveram em cada meio avaliado no 3º e no 7º dia após o início da incubação. Observou-se, em todos os meios de cultura alternativos avaliados, o crescimento de colônias de fungos e bactérias. Colônias de fungos desenvolveram-se de forma satisfatória em meios contendo aveia e leite integral de vaca, enquanto colônias de bactérias em meios contendo leite integral de vaca.

**Palavras-chave:** Microbiologia; aulas práticas; meios de cultura; bactérias; fungos.

**Abstract.** Practical activities in Microbiology are essential for students' development. In the last few years, laboratorial procedure increase in microbiological and biotechnological fields has raised material prices, such as glassware, culture media, equipment and so forth. That has been a problem for purchasing materials and keeping microbiology laboratories within teaching institutions, thus making practical learning more difficult. It is necessary, then, to use alternative media and materials to configure and realize laboratory practical classes in microbiology. So, three alternative culture media were chosen and assessed; these contained cheap and easy-to-find products as nutrients. Culture media with oat bran, chicken egg yolk, and cow whole milk were produced and, further, solidified with Agar-agar. Culture media with nutrient Agar and BDA were produced and kept under control. Erlenmeyers with these culture media were sealed and, along with the Petri plates containing such media, sterilized in autoclave (1 atm/120°C during 15 minutes). To expose culture media to microorganisms, Petri plates with such media were kept lidless for 15 minutes. In the sequence, culture media remained for seven days inside a heater (32°C). After the incubation period, we assessed qualitatively and quantitatively bacterial and fungal colonies that developed in each medium (3<sup>rd</sup> and 7<sup>th</sup> days after incubation). Bacteria and fungi grew in all assessed alternative culture media. Fungal colonies developed satisfactorily in media with oat and whole milk, whereas bacterial colonies developed well in media with cow whole milk.

**Keywords:** Microbiology; practical classes; culture media; bacteria; fungi.

<sup>(1)</sup> Licencianda em Ciências Biológicas do IFSP campus São Roque e bolsista do PIBIT/CNPq/IFSP. Correspondência: Rod. Prof. Quintino de Lima, 2.100, São Roque, SP; e-mail; [biiahdias@hotmail.com](mailto:biiahdias@hotmail.com)

<sup>(2)</sup> Licenciandos em Ciências Biológicas do IFSP campus São Roque.

<sup>(3)</sup> Professor adjunto do IFSP campus São Roque (orientador).

Recebido em: 15 ago. 2013

Aceito em: 25 ago. 2013

Publicado em: 30 abr. 2014

## 1 Introdução

Microbiologia é o ramo da biologia que estuda os microrganismos, incluindo eucariontes unicelulares e procariontes, como as bactérias, fungos e vírus (BARBOSA & BARBOSA, 2010) e, apesar de sua grande relevância, a microbiologia é muitas vezes negligenciada pelos professores. Uma das possíveis causas desse fenômeno refere-se às dificuldades para o desenvolvimento de estratégias de ensino-aprendizagem mais dinâmicas e atraentes para os estudantes (CASSANTI *et al.*, 2007).

CHINELLI *et al.* (2008) relatam que a experimentação faz parte de um conjunto de aspectos relativos ao processo de ensino-aprendizagem das ciências que alguns autores têm chamado de consenso construtivista na educação, compreendendo, ainda, a aprendizagem de conceitos, a resolução de problemas e a atitude em relação às ciências. Nesse cenário, faz-se necessário o desenvolvimento de estratégias didáticas que auxiliem o professor na árdua tarefa de estimular os estudantes ao conhecimento dos microrganismos e de todos os fenômenos a eles vinculados, bem como sua relação com nossa vida cotidiana (CASSANTI *et al.*, 2007).

O estabelecimento de vínculos entre os procedimentos de investigação científica e os processos de aprendizagem dos conhecimentos científicos pressupõe a realização de atividades didáticas que oportunizassem o estabelecimento de problemas de pesquisa, a

elaboração de hipóteses, o planejamento e a realização de experimentos, a análise de variáveis e a aplicação dos resultados obtidos a situações práticas (NASCIMENTO *et al.*, 2010).

Através de uma metodologia interessante, como o uso de materiais pedagógicos e a realização de experimentos, pode-se despertar no jovem esse espírito investigador capaz de querer buscar o conhecimento necessário ao seu crescimento intelectual. (PENTEADO & KOVALICZN, 2008)

Durante os últimos anos, o incremento de procedimentos laboratoriais na área microbiológica e biotecnológica elevou os preços de materiais como vidrarias, meios de cultura, equipamentos e outros. Isso tem dificultado a aquisição de materiais e a manutenção de laboratórios de microbiologia em instituições de ensino, inviabilizando o aprendizado prático. Portanto, faz-se necessário a descoberta e utilização de meios e materiais alternativos na elaboração e realização de aulas práticas laboratoriais de Microbiologia refletindo aspectos teóricos e que contemplam: atualidade, ética, responsabilidade socioambiental, criatividade, pesquisa, criticidade, autonomia e baixo custo (BARBOSA & BARBOSA, 2010).

Este artigo objetiva discutir a produção e a análise de meios de cultura alternativos contendo nutrientes de fácil obtenção e custo acessível.

## 2 Materiais e métodos

### 2.1 Preparação dos meios de cultura

Após a realização de levantamentos bibliográficos e experimentos iniciais, foram definidos os três meios de cultura alternativos que seriam avaliados, com seus nutrientes: a) gema de ovo de galinha; b) leite integral de vaca; c) farelo de aveia. Meios BDA e o ágar nutriente foram utilizados como controle, pois esses meios favorecem o satisfatório desenvolvimento de colônias de fungos e bactérias, respectivamente. Os meios de cultura sólidos foram preparados segundo protocolos específicos apresentados no Anexo I.

Erlenmeyers contendo os meios de cultura produzidos foram vedados, utilizando-se rolha de algodão cardado, e protegidos por folhas de jornal. As placas de Petri utilizadas para receber os meios de cultura também foram envolvidas por jornal; em seguida, toda a vidraria utilizada foi autoclavada a 1 atm/120°C durante 15 minutos.

Cada meio de cultura, ainda quente, foi distribuído por cinco placas de Petri identificadas e previamente esterilizadas, conforme descrito anteriormente. Para tanto, as tampas das placas foram ligeiramente levantadas, de modo a ficar destapado só o espaço necessá-

rio à colocação dos meios de cultura. Após as placas serem novamente tampadas, aguardou-se o tempo necessário para o líquido resfriar e solidificar.

### 2.2 Exposição aos microrganismos e incubação dos meios de cultura

As tampas das placas contendo os meios de cultura foram retiradas e mantidas abertas por 15 minutos, quando, então, foram simultaneamente fechadas.

Após a exposição aos microrganismos, as placas contendo os meios de cultura foram mantidas a 32°C em estufa bacteriológica por sete dias.

### 2.3 Avaliação do desenvolvimento de microrganismos nos meios de cultura produzidos

Foi realizada avaliação qualitativa e quantitativa do número de colônias de bactérias e fungos que se desenvolveram em cada meio avaliado no 3º e no 7º dia após o início da incubação dos meios de cultura.

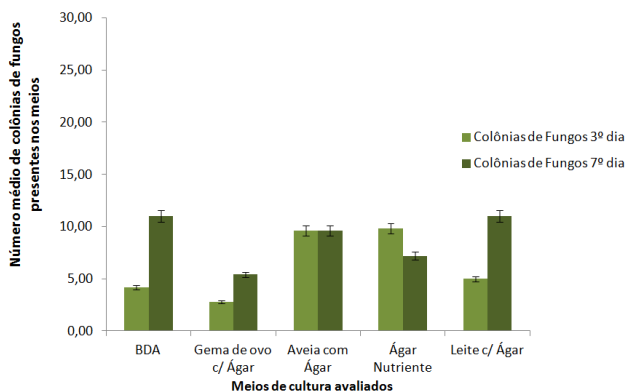
### 2.4 Análise estatística

Para avaliar o grau de significância estatística dos resultados obtidos, foi empregado o teste T de Student.

### 3 Resultados e discussão

#### 3.1 Avaliação do desenvolvimento de colônias de fungos nos meios de cultura

Verificou-se em todos os meios de cultura analisados a presença de colônias de fungos no 3º e no 7º dia após o início da incubação (Fig. 1). No 3º dia após o início da incubação dos meios de cultura, verificou-se um maior número de colônias de fungos nos meios contendo leite integral de vaca e aveia, sendo o número de colônias deste último significativamente maior ( $p = 0,0004$ ) quando comparado ao meio que apresentava BDA (grupo controle). O meio contendo aveia apresentou o desenvolvimento de colônias de fungos de forma relativamente uniforme nos dois períodos avaliados. O meio contendo leite integral de vaca apresentou no 7º dia após o início da incubação um aumento significativo ( $p = 0,0007$ ) no número de colônias de fungos quando comparado com este mesmo meio no 3º dia após o início da incubação.



**Figura 1** – Número médio de colônias de fungos presentes nos meios de cultura no 3º e 7º dia após o início da incubação.

Nos resultados do presente estudo, verificou-se um crescimento significativo de fungos no meio à base de aveia, sendo este crescimento provavelmente relacionado ao fato de que este cereal apresenta em sua constituição 68% de carboidratos. Segundo PEREIRA *et al.* (2006) e MATTOS *et al.* (1986), o crescimento micelial está diretamente relacionado à disponibilidade de carboidratos no meio onde o fungo está presente. Outro fator que favorece o desenvolvimento de colônias de fungos no meio contendo aveia é a presença de P, Fe, Na, Ca e vitaminas do complexo B neste alimento, nutrientes estes capazes de favorecer a proliferação de fungos (LAU *et al.*, 1999).

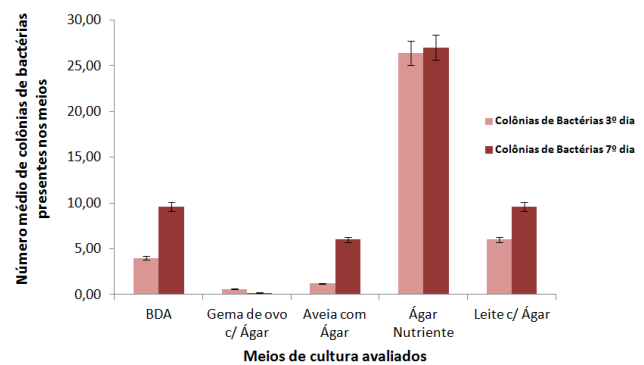
O fato de os meios em que se verificou maior número de colônias de fungos terem sido pouco coloni-

zados por populações bacterianas pode estar relacionado à grande capacidade de diversas espécies de fungos produzirem substâncias com propriedades antibióticas que dificultariam o desenvolvimento de bactérias próximas a estes (RAVEN, 2011).

#### 3.2 Avaliação do desenvolvimento de colônias de bactérias nos meios de cultura

Observou-se, em todos os meios de cultura analisados, a presença de colônias de bactérias no 3º e no 7º dia de incubação (Fig. 2).

O meio contendo leite integral de vaca apresentou melhor desenvolvimento de colônias de bactérias quando comparado aos demais meios alternativos avaliados.



**Figura 2** – Número médio de colônias de bactérias presentes nos meios de cultura no 3º e 7º dia após o início da incubação.

Os meios contendo leite integral de vaca favoreceram a proliferação de colônias tanto de fungos quanto de bactérias. Estes resultados estão de acordo com estudos realizados por MORAES (2005) que ressaltam o fato de que o leite é um alimento favorável ao desenvolvimento de microrganismos, devido a sua riqueza em nutrientes, tanto em quantidade quanto em diversidade.

Os meios convencionais utilizados para proliferação de fungos e bactérias como o BDA e o ágar nutriente apresentam diversas propriedades químicas que sabidamente favorecem o desenvolvimento destes microrganismos, fato também verificado no presente estudo. Neste sentido, meios de cultura alternativos que apresentem resultados próximos dos obtidos, ao se utilizar estes meios convencionais, já representam opções simples e baratas para o desenvolvimento de estudos de Microbiologia em Instituições de Ensino.

#### 4 Considerações finais

Meios de cultura contendo aveia, leite integral de vaca ou gema de ovo de galinha podem ser utilizados como alternativa para o estudo de microrganismos.

Meio contendo aveia favorece maior crescimento de colônias de fungos e meio contendo leite integral de vaca, crescimento de colônias de bactérias.

#### Referências

- BARBOSA, F. H. F.; BARBOSA, L. P. J. P. Alternativas metodológicas em Microbiologia - viabilizando atividades práticas. *Revista de biologia e ciências da terra*, v. 10, n. 2, 2<sup>o</sup> Semestre 2010.
- CARNAÚBA, J. P.; SOBRAL, M. F.; AMORIM, E. P. R.; SILVA, J. C.; SANTOS, V. B.; FÉLIX, K. C. S. *Avaliação de diferentes meios de cultura na esporulação de Scytalidium lignicola*. S.l: s.ed., 2006.
- CASSANTI, A. C.; ARAUJO, E. E.; URSI, S. *Microbiologia Democrática: Estratégias de Ensino/aprendizagem e formação de professores*. S.l: s.ed., 2007.
- CHINELLI, M. V.; PEREIRA, G. R.; AGUIAR, L. E. V. Equipamentos interativos: uma contribuição dos centros e museus de ciências contemporâneos para a educação científica formal. *Rev. Bras. Ensino Fís.*, São Paulo, v. 30, n. 4, 2008.
- CRUZ, M. F. A.; PRESTES, A. M.; MACIEL, J. L. N. Esporulação e crescimento vegetativo de *Pyricularia grisea* em diferentes meios de cultura e regimes de luz. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 39, n. 5, ago. 2009.
- FELBER, A. C.; ORLANDELLI, R. C.; ALMEIDA, T. T.; PAMPHILE, J. A. Crescimento de dois fungos endofíticos isolados de *Vitis labrusca* L. (Vitaceae) em meio BDA e meio alternativo à base de abóbora. *Anais Eletrônicos*. VIII EPCC – Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar. CESUMAR (Centro Universitário de Maringá). Maringá, PR: Editora CESUMAR, s.d..
- FERRI, V. C.; CENTELLAS, A. Q.; HELBIG, V. E.; FORTE, G. R. L. Uso de ágar, amido e ácido indolbutírico no enraizamento *in vitro* do porta-enxerto de macieira MM 111. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 28, n. 4, p. 561-565, 1998.
- LAU, D.; GRIGOLETTI Jr, A. Crescimento de isolados de *Cylindrocladium spathulatum* da erva mate, de cinco regiões do estado do Paraná. *Boletim de Pesquisa Florestal*, Colombo, n. 38, p. 67-75, Jan./Jun. 1999.
- MATTOS, L.; AMES, T. *Botryodiplodia theobromae* afetando manzano. *Fitopatologia*, 21, p. 26-32, 1986.
- MORAES, C. R. *Qualidade bacteriológica de leite bovino de mistura, in natura e beneficiado, e detecção sorológica de brucelas em rebanhos da região metropolitana de Porto Alegre – RS*. Dissertação (Mestrado em microbiologia agrícola e do ambiente). Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.
- NASCIMENTO, F.; FERNANDES, H. L.; MENDONÇA, V. M. O ensino de ciências no Brasil: história, formação de professores e desafios atuais. *Revista HISTEDBR On-line*, Campinas, n. 39, p. 225-249, set. 2010.
- PENTEADO, R. M. R.; KOVALICZN, R. A. *Importância de materiais de laboratório para ensinar ciências*. Disponível em: <[www.diaadiaeducacao.pr.gov.br/portals/pde/arquivos/22-4.pdf](http://www.diaadiaeducacao.pr.gov.br/portals/pde/arquivos/22-4.pdf)>; acesso em: 13 ago. 2013.
- PEREIRA, A. L.; SILVA, G. S.; RIBEIRO, V. Q. Caracterização fisiológica, cultural e patogênica de diferentes isolados de *Lasiodiplodia theobromae*. *Fitopatol. Bras.*, 31(6), nov-dez. 2006.
- RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. *Biologia vegetal*. 7.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.
- REICHARDT, K. *A água em sistemas agrícolas*. São Paulo: Manole, 1987.

SARTORI, E. V.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G.; CRUZ, S. H.; GAZIOLA, S. A. Concentração de proteínas em gemas de ovos de poedeiras (*Gallus gallus*) nos diferentes ciclos de postura e sua interferência na disponibilidade do ferro. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 29 (3), p. 481-487, jul.-set. 2009.

VIANA, E. S.; SILVA, C. G.; CARVALHO, I. F.; DALLACORT, R. Avaliação de meios alternativos para Conidiogênese em fungos filamentosos, coletados em Tangará da Serra – MT. *Anais. 2ª Jornada científica da Unemat*, 2009.

#### ANEXO I: MATERIAIS E PROTOCOLOS PARA PRODUÇÃO DOS MEIOS DE CULTURA ALTERNATIVOS

##### Reagentes e soluções do meio de cultura contendo farelo de aveia

20g de Ágar; 50g de farelo de aveia; 1 litro de água destilada.

##### Reagentes e soluções do meio de cultura contendo gema de ovo de galinha

20g de Ágar; 10g de gema de ovo de galinha; 1 litro de água destilada.

##### Reagentes e soluções do meio de cultura contendo leite de vaca integral

20g de Ágar; 400 mL de leite de vaca integral; 600 mL de água destilada.

##### Vidrarias

10 Balões de Erlenmeyers de 500 mL; 25 Placas de Petri; 10 béqueres.

##### Outros materiais

5 Funis de plástico; 1 rolo de barbante; 5 Cubas de dissecação; 1 pacote de Algodão; Folhas de jornais; 1 Faca; 1 Tesoura; 5 canecões; 2 provetas; 5 colheres de metal.

##### Equipamentos e aparelhos

Fogão; Balança digital; Autoclave; Estufa.

##### - Protocolo experimental

Para cada meio de cultura, misturou-se o nutriente-base com a água destilada, sendo em seguida fervido por cinco minutos. Posteriormente, acrescentou-se Ágar, ferveu-se novamente por mais cinco minutos e a solução obtida foi retirada do fogo. As soluções foram filtradas e colocadas em frascos de Erlenmeyer para posterior esterilização.

#### Como citar este artigo científico

DIAS, B. C. O.; CARVALHO, T. M. de; SANTOS, H. C. P.; SILVA, A. M. M. S.; GAZZINELLI, S. E. P. Produção e avaliação de meios de cultura alternativos para estudo e ensino de microbiologia. *Scientia Vitae*, vol. 1, n. 4, ano 2, abr. 2014, p. 56-60. Disponível em: <[www.revistaifpsr.com/](http://www.revistaifpsr.com/)>; acesso em: \_\_/\_\_/\_\_.