

## MANUTENÇÃO E REATIVAÇÃO DE LINHAGENS DE MICRORGANISMOS PADRÕES

Elisabete Hiromi Hashimoto

Janice Ruschel

Bruna Regina Rocha

Thayna Oliveira

Maria Laura Silva Galdino

Suzan Roberta Tombini Venturella

Muitos estudos na área de microbiologia requerem cepas de microrganismos padrão. Os microrganismos padrões devem apresentar pureza, livre de contaminações e expressar suas características fisiológicas, morfológicas e bioquímicas durante todas as etapas do desenvolvimento das pesquisas. Há diversas estratégias para manutenção de cepas padrões. As cepas usualmente são armazenadas em meios de cultura sob refrigeração, com ou sem redução de seus processos metabólicos, como a adição de glicerol visando redução da respiração celular. Uma forma comum é a repicagem constante, no entanto, esse processo pode levar a redução da expressão gênica, devido as mutações naturais. Este trabalho tem como objetivo apresentar diversas metodologias e suas etapas na descontaminação de linhagens de bactérias e padrões de bolores micotoxigênicos. As cepas padrões consistiram das bactéria *Sphingosinicella microcystinivorans* B9, reconhecidamente como capaz de degradar microcistina, e as cepas *Brevibacterium* FR 22 e FR 13 ; as linhagens fúngicas consistiram de *Aspergillus flavus* UEL, *A. flavus* NRRL 3251, reconhecidos como produtores de aflatoxinas, *A. ochraceus* A152, reconhecido pela produção de ocratoxina, *Fusarium verticillioides* 103F, reconhecido pela produção de fumonisina, *F. graminearum* IAPAR reconhecido pela produção de desoxinivalenol e *Penicillium. expansum* 02, reconhecido como produtor de patulina. Todas as cepas estavam armazenadas sob refrigeração, inicialmente foram as cepas foram repicadas nos meios de cultura igual ao qual foram repicadas agar sakurai para bactérias e agar batata dextrose para os bolores em temperaturas de 28 e 25 oC, por 3-5 dias respectivamente. Algumas cepas estavam há 6 meses armazenadas nestes meios. Na primeira etapa, apenas *A. ochraceus* se desenvolveu bem nesta primeira etapa, enquanto as demais linhagens não cresceram. Assim, foi realizada a diluição em Tween 80 0,1% para dispersão das células e micélios, seguido de cultivo em caldo infusão cérebro de boi (BHI) em temperatura adequada, 25oC para bolores e 28oC para bactérias, com agitação em shaker a 120 rpm, por 7 dias. Após a turvação do meio e desenvolvimento de micélios, recorreu-se a diluição seriada de 10<sup>-1</sup> a

---

10-10 em tween 80, 0,1%, seguida de inóculo em agar BHI e agar sakurai para bactérias e agar coco e agar batata dextrose acidificada para os bolores. A primeira etapa teve como objetivo a recuperação do máximo de células viáveis a segunda etapa teve como objetivo a descontaminação e seleção de colônias puras. Após o período observou-se crescimento em todas as placas com colônias características de cada cepa. Em seguida, pretende-se realizar a cultura monoespórica para os bolores e avaliação da produção de toxinas em meios específicos, com extração e análise de toxinas. Para as linhagens de bactérias serão realizadas estas de biodegradação de toxinas (cianotoxinas e micotoxinas). Embora exaustiva e de longa duração estas etapas são fundamentais para garantir a precisão dos resultados de pesquisa.

**Palavras-chave:** Purificação; Linhagens; Microrganismos.

---