

COLEÇÃO DE CULTURAS DE MICROORGANISMOS DE INTERESSE BIOTECNOLÓGICO E DIDÁTICO

Ficha técnica

Coordenadora

Profa. Eliana Rodrigues*

*Pesquisadores***

Prof. Armando Luís Serra

Profa. Margarida Pereira Fonseca

Prof. Edson Costa

*Assistentes de pesquisa (estudantes)****

Adriani Ramos Silva

Alexandre Domingues

Andreia Cruz

Elaine Cristina Bedolo

Rosecler da Rocha Tomé

Rui Luiz Pereira

*Mestre e doutoranda em Biologia pela Universidade Estadual de São Paulo – UNESP. Coordenadora do curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário Nove de Julho.

**Os professores Luís Serra e Margarida Fonseca são mestres em Biologia e Botânica e doutorandos nas mesmas áreas pela Universidade de São Paulo – USP. O professor Edson Costa é dentista e mestre pela UNG.

***Os alunos relacionados são graduandos do curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário Nove de Julho.

Introdução

O crescimento acelerado da população mundial acentua a preocupação em relação à produção de alimentos, novos medicamentos, energia e conservação do meio ambiente. Neste sentido, a Biotecnologia apresenta grande contribuição, já que permite o desenvolvimento de novas e modernas técnicas (Lopes e Guilherme, 1994). Nestas técnicas, a utilização de microorganismos é constante e serve aos mais diversos fins, como na fixação de nitrogênio, no controle biológico de pragas, na degradação de resíduos no meio ambiente, nas fermentações, no desenvolvimento de novos medicamentos e técnicas de diagnóstico, entre outros.

Assim, a exploração dos recursos naturais, realizada com a aplicação de técnicas biotecnológicas que utilizam microorganismos, permite a utilização de áreas consideradas inicialmente inaproveitáveis e o aumento da produtividade com sustentabilidade em áreas já exploradas, além de contribuir para o desenvolvimento de uma agricultura menos dependente de práticas que impliquem alto custo energético.

Além disso, a aplicação dos microorganismos nas indústrias (alimentícia,

química, farmacêutica etc.) permite processos mais eficientes e com melhor aproveitamento da matéria-prima. Isto permite a redução de custos, além de contribuir para um menor consumo energético e para a conservação ambiental.

As vantagens apresentadas na aplicação de técnicas biotecnológicas que utilizam microorganismos propiciaram o reconhecimento da importância das coleções de culturas de microorganismos, bem como o aumento da demanda desse material por parte de universidades, institutos de pesquisa e empresas (Fundação André Tosello, 1990).

Em uma coleção de culturas deve-se preservar, manter e distribuir linhagens de microorganismos com suas características originais, o que viabiliza sua utilização a curto, médio e longo prazo e o fornecimento deste material para o desenvolvimento de técnicas e métodos em Biotecnologia. Para tanto, é necessário um estudo sobre a biologia dos microorganismos, bem como testes sobre os melhores métodos de preservação. Os resultados desse tipo de pesquisa podem ser catalogados juntamente com a coleção de culturas, podendo assim ser consultados para pesquisas posteriores sobre a aplicação biotecnológica dos microorganismos e permitir intercâmbio entre Universidades e Institutos de Pesquisa, além de oferecer material para aulas práticas de diversas disciplinas.

Por isso, o projeto se justifica por duas razões fundamentais:

1) o aumento da demanda por tecnologia envolvendo a aplicação de microorganismos com finalidades de produção agrícola e industrial, o que envolve o estudo dos processos de fixação de nitrogênio, controle biológico de pragas, degradação de resíduos, processo de fermentação (produção de alimentos) e produção de fármacos;

2) a possibilidade de aplicação dos conhecimentos obtidos na formação técnico-profissional e no processo educacional, nas áreas de Microbiologia, Patologia Clínica, Infectologia, Biotecnologia, Engenharia Genética, Ecologia, Botânica e Zoologia, uma vez que a manutenção de culturas pode preservar, manter e distribuir linhagens de microorganismos com suas características originais.

Este projeto tem por objetivo estudar métodos para o desenvolvimento de uma coleção de culturas de microorganismos de interesse biotecnológico em diversas áreas: agricultura, pecuária, produção de alimentos e fármacos, controle de poluição, biodeterioração etc. Também pretende-se desenvolver tecnologia de cultivo de microorganismos, incluindo bactérias, fungos, protistas heterotróficos (de vida livre e parasitas) e autotróficos com fins de pesquisa em Biotecnologia e

para utilização didática.

Como desdobramentos deste projeto espera-se proporcionar treinamento técnico e capacitação profissional, viabilizando a integração ensino-pesquisa-extensão, além de oferecer estímulo à Iniciação Científica dos acadêmicos.

O estudo de microorganismos do ponto de vista molecular vem se tornando uma fonte importante de conhecimentos nas áreas de Microbiologia e Biologia Molecular, com aplicações que variam desde a produção de alimentos, passando pela descoberta de novos compostos químicos produzidos por microorganismos e que possam ser sintetizados em laboratório, até a terapia genética.

Entendemos ser importante a participação ativa no processo de obtenção de conhecimento e não apenas a sua reprodução em sala de aula. É necessário tomar a iniciativa com vistas à aquisição de independência tecnológica, caso contrário corremos o risco de continuar importando conhecimento e tecnologia.

Por isso, acreditamos que o primeiro passo para a obtenção de conhecimentos e de tecnologia seja a criação e a manutenção de culturas de microorganismos, pois assim teremos um ponto de partida para o aprendizado das técnicas e métodos envolvidos, para a transmissão do conhecimento adquirido e para o intercâmbio com outras instituições de ensino e pesquisa e até mesmo com a indústria, onde as possibilidades de aplicação poderão ser rapidamente testadas.

Metodologia

1. Coleta, isolamento e identificação

Foram coletados exemplares de microorganismos com duas finalidades: identificação e isolamento seguindo metodologia descrita pela *World Federation for Culture Collections* (1990). Os exemplares destinados à identificação serão preservados segundo metodologia específica, de acordo com o grupo ou espécie. Suas características anatômicas e moleculares foram descritas para a identificação. Após isso, foram catalogadas e guardadas amostras representativas, de maneira a constituir material de consulta para identificações e pesquisas posteriores.

Assim, para coleta de identificação dos fungos foi utilizada metodologia de Fidalgo & Bononi (1984), Largent (1977) e Largent *et al.* (1977). Para pro-

tozoários utilizou-se metodologia recomendada por Ruppert & Barnes (1996). Para bactérias adotou-se metodologia de Konneman *et al.* (1992).

O material destinado ao isolamento foi processado segundo metodologia específica e cultivado em meios de cultura adequados a cada tipo de microorganismo.

2. *Coleção de culturas*

Após identificação e isolamento, as culturas obtidas foram repicadas e conservadas.

Fungos e bactérias foram conservados em culturas puras, sob refrigeração, em ausência de luz.

Os microorganismos foram catalogados em fichas contendo todas as informações sobre a espécie (data e local da coleta, coletor, data de isolamento e repicagens, características da espécie, usos na biotecnologia).

Através de repicagens e avaliações periódicas, será avaliado o tempo de viabilidade das culturas.

O tempo total de execução previsto para o projeto foi de 18 meses, divididos nas fases descritas abaixo. Contudo, devido à reestruturação do Centro Universitário, o projeto foi interrompido, sendo cumprida apenas a primeira fase. As demais fases serão retomadas oportunamente.

Fase 1:

Levantamento bibliográfico – Coleta de material biológico – Testes-piloto – Isolamento e identificação – Catalogação – Treinamento do pessoal técnico.

Período: 6 meses

Nesta fase foi feito o levantamento bibliográfico, com a finalidade de reunir as principais obras de referência sobre os microorganismos; estruturação dos recursos e do laboratório; controle de qualidade dos equipamentos, meios de cultura, reagentes e materiais, de acordo com a *Commission on Laboratory Inspection and Accreditation of the College of American Pathologists*; coleta de material; isolamento e identificação do material coletado; testes-piloto para verificação do padrão de qualidade dos meios de cultura e técnicas de preservação; seleção das espécies de interesse para isolamento e identificação; montagem, catalogação e manutenção da coleção

de culturas; treinamento e embasamento científico para técnicos e alunos.

Fase 2:

Manutenção da coleção – Treinamento para os técnicos e pessoal acadêmico – Ampliação da coleção.

Período: 6 meses

A coleção deve sofrer manutenção constante e o treinamento deve ser expandido às novas turmas de alunos; as atividades previstas são: ampliação e catalogação das espécies de microorganismos; manutenção das culturas; treinamento para técnicos e alunos.

Fase 3:

Avaliação do treinamento dos acadêmicos e o estabelecimento de intercâmbio.

Período: 6 meses

Uma vez estruturada, a coleção de culturas será fonte de ensino, pesquisa e intercâmbio, desde que devidamente mantida; as atividades previstas são: ampliação, catalogação e manutenção da coleção de culturas; avaliação do treinamento acadêmico; desenvolvimento de um modelo para a criação de cursos de extensão universitária em Microbiologia, Patologia Clínica, Infectologia, Biotecnologia; criação de um modelo-padrão de monitoramento para a comunidade acadêmica.

Resultados preliminares

Foram coletados, isolados e preservados os seguintes organismos: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Streptococcus mutans*, *Escherichia coli*, *Proteus* sp, *Klebsiella* sp, *Scleroderma* sp, *Blefarisma* sp, *Stylomychia* sp, *Euplotes* sp. Existem outros exemplares preservados aguardando identificação.

Com os trabalhos realizados, foi possível oferecer aos orientandos os conhecimentos básicos sobre coleta, isolamento e preservação de microorganismos, bem como sobre preparo de meios de cultura e procedimentos para a manutenção de uma coleção de culturas. Assim, com esta etapa inicial do trabalho, foi possível reunir os elementos essenciais para o estabelecimento de uma coleção de culturas, que poderá ser totalmente desenvolvida em etapas futuras.

BIBLIOGRAFIA

- FIDALGO, O. & BONONI, V. L. R. *Técnicas de coleta, preservação e herborização de material botânico*. São Paulo, Instituto de Botânica. 1984. 62 p. Manual n. 4.
- FUNDAÇÃO ANDRÉ TOSELLO. *Coleções de culturas e seus serviços à Biotecnologia*. Campinas, SP: 1990. (mimeo)
- KONNEMAN, J. *Diagnóstico Microbiológico*. São Paulo, Ed. Interamericana. 1992.
- LARGENT, D. L. *How to identify mushrooms to genus I: macroscopic features*. Edinburgh, Mad River Press, 1977, 85 pp.
- LARGENT, D. L., JOHNSON, D. & WATLING, R. (consultant). *How to identify mushrooms to genus III: microscopic features*. Edinburgh, Mad River Press, 1977.
- LOPES, A. S. & GUILHERME, R. G. *Preservação ambiental e produção de alimentos*. Summa Phytopatologica, Jaguariúna, v. 20, n.1, p. 67-68, 1994.
- WORLD FEDERATION FOR CULTURE COLLECTIONS. *Guideline for the establishment and operation of collections of cultures of microorganisms*. Cambridge, UK, 1990.
- RUPPERT, E. E. & BARNES, R. D. *Invertebrates zoology*. 6th edition, International Edition, Saunders College Publishing, 1996. 1056 pp.