

NOVA TÉCNICA DE MONTAGEM DE COLÔNIAS PERMANENTES DE FUNGOS EM PLACAS DE PETRI ⁽¹⁾

A NEW MOUNTING TECHNIC OF PERMANENT GIANT COLONIES OF FUNGI IN PETRI DISHES

HASSIB ASHCAR ⁽²⁾

S U M M A R Y

The author presents the results obtained with the use of a new mounting technic of permanent giant colonies of fungi in Petri dishes. This technic provides an easy and economical way in preparing a museum of fungi useful for both demonstrative and teaching purposes.

INTRODUÇÃO

A grande variedade de caracteres macroscópicos e de estruturas microscópicas dos fungos se destaca, sem dúvida, entre as maiores dificuldades encontradas pelos que iniciam o estudo de micologia. Este estudo, entretanto, pode ser consideravelmente facilitado desde que se disponha de uma coleção de colônias gigantes permanentes e, também, de lâminas de estruturas microscópicas das espécies de fungos de maior interesse.

Para o preparo de lâminas permanentes para o estudo dos caracteres microscópicos dos fungos, já é bem conhecida a técnica de Rivalier & Seydel.

No entanto, com relação ao estudo dos caracteres macroscópicos dos fungos, embora muitos autores recomendem o preparo de colônias gigantes, não encontramos referência a qualquer técnica de fixação e conservação de tais colônias em caracter permanente. Por esse motivo fizemos uma série de ensaios, no sentido de obter uma coleção de colônias gigantes permanentes de fungos de modo a possibilitar, a qualquer momento, a observação dos seus caracteres macroscópicos.

MATERIAL E MÉTODO

Os nossos primeiros ensaios foram feitos em 1950, ocasião em que usamos frascos de

Kolle para o preparo de colônias gigantes permanentes das seguintes espécies de fungos: *Trichophyton gypseum*, *Trichophyton granulosum*, *Trichophyton ferrugineum*, *Achorium gallinae* e *Sporotrichum schenckii*. A técnica usada foi a seguinte:

Transferiu, com fio de platina, pequena porção de cultura de estoque para o centro de um frasco de Kolle com camada delgada (± 3 milímetros) de agar Sabouraud glicosado. Incubar à temperatura ambiente durante 30 dias. Conservar o frasco deitado, com o meio para o lado de cima, e aspergir pela parede inferior 2 ml de formol a 40%. Deixar, durante 48 horas, que os vapores de formol fixem a cultura. Retirar o excesso do fixador com pipeta de Pasteur. Vedar, com lacre comum, o frasco tamponado com chumaço de algodão revestido de gaze.

Empregando a técnica referida, foram também preparadas, em ocasiões diferentes, colônias gigantes das seguintes espécies de fungos; em 1955, *Candida albicans* em fase rugosa, *Pullularia pullulans*, *Paecilomyces sp*, *Geotrichum sp* e, em 1965, *Epidermophyton floccosum*, *Nocardia brasiliensis*, *Sporotrichum schenckii* e *Hormodendrum sp*. A observação dessas colônias, durante vários anos, mostrou-nos que a montagem, segundo a téc-

(1) Realizado na Seção de Micologia do Instituto Adolfo Lutz.

(2) Do Instituto Adolfo Lutz e do Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.

nica acima descrita, apresenta certos inconvenientes, tais como, dificuldade de manuseio dos frascos de Kolle e ocorrência eventual de roturas no lacre de vedação. Esses inconvenientes nos levaram a modificar essa técnica de montagem. As principais modificações introduzidas foram: a) preparo das colônias gigantes em placas de Petri; b) vedação por colagem da tampa com o fundo da placa com adesivo Araldite. Passaremos a descrever a nova técnica.

Preparar placas de Petri com agar Sabouraud glicosado com a espessura de ± 3 milímetros. As placas devem ser de vidro resistente e bem transparente. Com fio de platina, retirar pequena porção de cultura jovem do fungo e semear no centro da placa para obter uma única colônia gigante. Para se preparar duas ou três colônias gigantes numa mesma placa, deve-se fazer as semeaduras correspondentes em pontos equidistantes do centro do meio de cultura. Incubar até desenvolvimento completo das colônias, observando-se as condições de temperatura e de tempo de cultivo adequados para cada espécie. Fixar as colônias gigantes por meio de vapôres de formol da seguinte maneira: colocar as placas em posição invertida, ficando a cultura para o lado de cima; aspergir 1 ml de formol puro a 40% no interior de cada tampa, selar as placas com fita adesiva e deixar em fixação durante 48 horas. Retirar a fita adesiva e substituir as tampas das placas com restos de fixador por tampas de outras placas iguais e estéreis.

Passar adesivo Araldite somente nas bordas livres dos fundos das placas, colar as respectivas tampas e deixar o adesivo secar durante 2 a 3 dias. Vedar os espaços livres, resultantes da sobreposição das tampas com os respectivos fundos, com cêra constituída da seguinte mistura: parafina 40%, cêra de carnaúba 25%, cêra de abelhas 25% e breu 10%.

Com essa nova técnica foram preparadas, em 1969, colônias gigantes de numerosas espécies de fungos patogênicos e de saprófitas, incluindo-se entre elas: *Trichophyton tonsurans*, *Microsporium canis*, *Histoplasma capsulatum*, *Sporotrichum schenckii*, *Candida albicans*, *Trichosporon beigeli*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus*, *Penicillium notatum*, *Hormodendrum sp.* e *Rhodotorula mucilaginosa*.

RESULTADOS

Colônias gigantes em frascos de Kolle

A observação, durante o período de 1950 a 1971, das colônias gigantes montadas em frascos de Kolle nos quais o lacre de vedação se manteve íntegro, mostrou que se conservaram os caracteres morfológicos tanto da superfície como do reverso das colônias. Nos frascos em que houve rotura do lacre, o meio de cultura ficou dessecado e escuro, e as colônias apresentaram alterações no aspecto.

Em certos casos foram observadas alterações de tonalidade de cor da colônia ou do pigmento elaborado e difundido no meio de cultura. Assim, a superfície da colônia de *Penicillium notatum* mudou de verde-azul para verde-cinza, e, a colônia de *Microsporium canis* mostrou esmaecimento da pigmentação amarela observada no reverso.

Colônias gigantes em placas de Petri

A observação, durante dois anos (1969-1971), das colônias gigantes permanentes preparadas em placas de Petri, mostrou sempre conservação de todos os caracteres morfológicos das colônias.

No entanto, com relação à cor das colônias e dos pigmentos difundidos no meio de cultura, foram também observadas, após algum tempo, as alterações de tonalidades já referidas para os frascos de Kolle. Com a colônia de *Rhodotorula mucilaginosa*, de cor avermelhada peculiar, houve total descoloração durante a fixação pelo vapôres de formol.

A Fig. 1, placa montada com Araldite há dois anos, mostra conservação dos caracteres morfológicos e da cor da superfície de colônia gigante de *Aspergillus niger*. A Fig. 2 mostra o reverso da mesma colônia.

DISCUSSÃO

Os dois tipos de montagem já referidos são de fácil execução. No entanto, o uso de placas de Petri apresenta, a nosso ver, as seguintes vantagens, sobre os frascos de Kolle: a) manuseio mais simples, permitindo, com maior facilidade o exame da superfície e do reverso das colônias; b) necessidade de menos espaço, simplificando o alojamento e

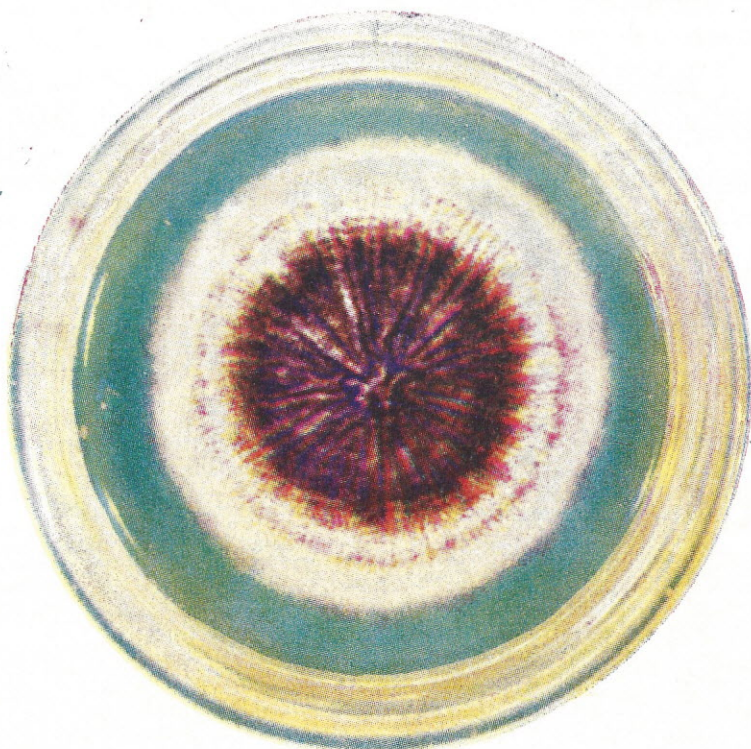


Fig. 1 — Superfície da colônia gigante permanente de *Aspergillus niger* em placa de Petri (tamanho natural)

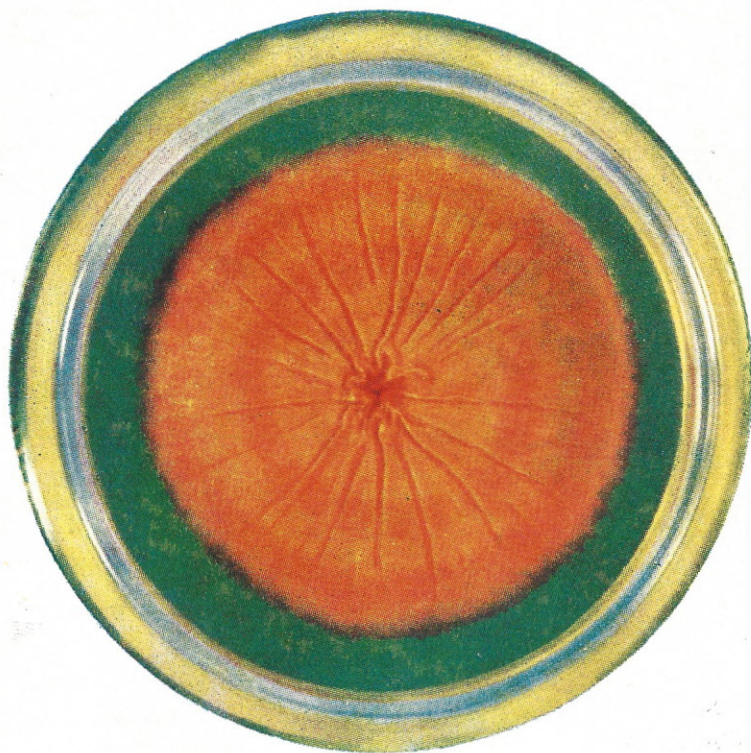


Fig. 2 — Reverso da mesma colônia.

transporte; c) obtenção mais fácil no comércio, com menor custo; d) maior resistência; e) melhor estética.

CONCLUSÕES

1. As placas de Petri, de vidro resistente e bem transparente, são recomendáveis à montagem de colônias gigantes permanentes de fungos.
2. O adesivo Araldite é satisfatório para a colagem e vedação de placas de Petri.
3. A fixação pelos vapores de formol conserva os caracteres morfológicos das colônias gigantes de fungos.
4. As causas de alterações de tonalidade de cor das colônias de certas espécies de

fungos, assim como dos pigmentos por eles elaborados não foram por nós determinadas.

RESUMO

O autor apresenta os resultados obtidos na montagem de colônias gigantes permanentes de fungos, com o emprêgo de técnica original. Por essa técnica pode-se preparar, de modo fácil e econômico, material permanente para fins demonstrativos e didáticos.

Agradecimentos — Desejamos consignar nossos agradecimentos ao Sr. Januário José Delle Cave pela valiosa colaboração na parte técnica deste trabalho.

Recebido para publicação em 15 de julho de 1971.