



SE UM BLOOM DE CIANOBACTÉRIAS TE BATESSE À PORTA?

CULTURAS LABORATORIAIS

Quando se pretende estudar um determinado organismo é por vezes necessário recolhê-lo do seu meio natural, trazê-lo para o laboratório e mantê-lo em condições laboratoriais que permitam o seu normal crescimento e reprodução. Estabelece-se assim uma cultura laboratorial.

A cultura de organismos em laboratório fornece condições privilegiadas para o estudo da biologia dos organismos, permite a obtenção de organismos em quantidade suficiente e em condições conhecidas para a realização de ensaios, permitindo ainda a repetição das experiências posteriormente.

A cultura laboratorial de espécies de cianobactérias permite a obtenção de material biológico em grande quantidade para posterior realização de estudos laboratoriais. Daí que o estudo destes organismos se inicie muitas vezes pelo isolamento das espécies. Para além disso, nos ensaios de toxicidade torna-se obrigatório o isolamento das espécies. A extracção e obtenção de toxinas em grandes quantidades obrigam também à cultura laboratorial.

ISOLAMENTO E CULTURA DE ESTIRPES FITOPLANCTÓNICAS

Após a colheita de amostras de água, no meio natural, é realizada uma sementeira em placas de petri contendo um meio nutritivo solidificado com agar. Nesse meio as algas irão crescer e formar colónias que depois são transferidas para novo meio sendo desta forma isoladas. Depois de isoladas e identificadas, as algas são colocadas em tubos, frascos ou erlenmeyers com o meio de cultura adequado. Para que as culturas unialgais se possam manter é apenas necessário transferir periodicamente parte dessas algas para novo tubo, processo designado de repicagem. A cultura é realizada em recipientes de maiores volumes como balões, sendo mantidas com arejamento e fotoperíodo controlado.

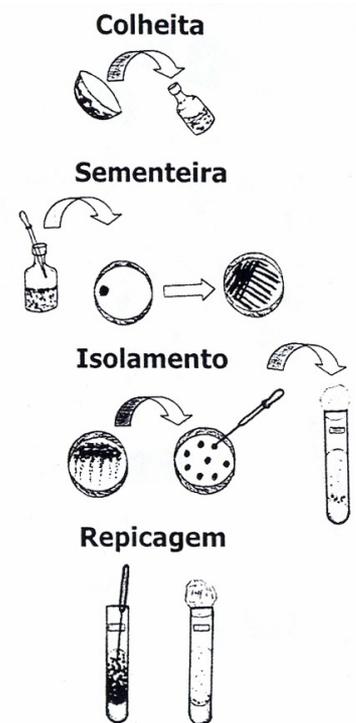


Figura 1. Nas culturas é por vezes necessário calcular a sua curva de crescimento ou quantificar a sua densidade.



SE UM BLOOM DE CIANOBACTÉRIAS TE BATESSE À PORTA?

Culturas celulares

A cultura de células e especificamente a cultura de microalgas tem como objectivo a obtenção de uma determinada biomassa para um determinado fim, que pode ser por exemplo a realização de testes de toxicidade. As algas são incubadas em meios nutritivos e em condições de temperatura e luminosidade controladas, até ser atingida a fase de crescimento pretendida.

Culturas stock

As culturas stock são pequenas culturas, geralmente de 100 ml, que são regularmente transferidas para meio nutritivo novo. Durante a transferência, uma pequena quantidade de cultura “velha” é colocada em cerca de 100 ml de meio novo. Estas culturas são utilizadas como inóculo para culturas em grande escala.

INÍCIO DAS CULTURAS A PARTIR DE CULTURAS STOCK

É fornecido um stock de *Microcystis aeruginosa* e de *Chlorella vulgaris*.

Dos 4 L de meio Z8 preparado retirar 1L para um erlenmeyer esterilizado ou, não sendo possível esterilizar, bem lavado. Nos 3 L de meio iniciar a cultura de *Microcystis aeruginosa*. No recipiente com 1L de meio fazer a cultura de *Chlorella vulgaris*.

Procedimento prático para a cultura

1. Limpar a bancada e acender as lamparinas (todos os procedimentos devem ser realizados em condições de esterilidade de forma a evitar contaminações).
2. Retirar um pequeno volume (1 ou 2 ml) da cultura stock de *Microcystis aeruginosa* para um tubo de vidro para quantificação. Fixar as células com 1 ou 2 gotas de lugol. Este procedimento tem como finalidade imobilizar as células e torná-las mais pesadas sendo mais rápida a sua sedimentação.
3. Determinar a concentração celular através da contagem de células na câmara de Neubauer.



SE UM BLOOM DE CIANOBACTÉRIAS TE BATESSE À PORTA?

4. Colocar o resto do volume do stock nos 3 L de meio e recalculer a nova concentração inicial.
5. Tapar o recipiente com uma rolha estéril de algodão cardado e gaze na qual foi introduzido um tubo para arejamento. Identificar o recipiente com a cianobactéria usada, o meio de cultura e a data.
6. Ligar os tubos de arejamento a bombas de arejamento de modo que a cultura fique a borbulhar.
7. Registrar a data de início da cultura, o volume do meio de cultura, a concentração inicial de microalgas, a temperatura, fotoperíodo e luminosidade (se possível).
8. Para a cultura de *Chlorella vulgaris* verter o conteúdo do stock em 1L de meio e proceder como nos passos 5 a 7.