



**COLEÇÃO DE CULTURAS DE MICRORGANISMOS MULTIFUNCIONAIS DA EMBRAPA  
CLIMA TEMPERADO: MÉTODOS DE PRESERVAÇÃO DE CULTURAS**

**Francine Vargas Ribeiro<sup>1</sup>; Caroline Hernke Thiel<sup>2</sup>; Bruna Macedo Almeida<sup>3</sup>; Morjana Luisa Pereira Facio<sup>4</sup>; Ane Gerber Crochemore<sup>5</sup>; Liane Aldrighi Galarz<sup>6</sup>; Maria Laura Turino Mattos<sup>7</sup>**

<sup>1</sup>Estudante do curso de Graduação em Biotecnologia, UFPel, bolsista da Embrapa. E-mail: fran\_vribeiro@hotmail.com.

<sup>2</sup>Estudante do curso de Graduação Engenharia Agrônômica, UFPel, bolsista de iniciação científica da FAPERGS.

<sup>3</sup>Estudante do curso de Graduação em Farmácia, UCPel, bolsista de iniciação científica do CNPq.

<sup>4</sup>Estudante do curso de Graduação em Química Ambiental, UCPel, bolsista da Embrapa.

<sup>5</sup>Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, UFPel, bolsista da CNPq.

<sup>6</sup>Química, Mestre, assistente da Embrapa Clima Temperado.

<sup>7</sup>Eng. Agrônomo, Doutor, pesquisador da Embrapa Clima Temperado.

A função básica de uma coleção de culturas é conservar microrganismos, não meramente mantê-los. A escolha da técnica de preservação de culturas é de grande importância para que suas características morfológicas, fisiológicas e genéticas sejam mantidas por longo-termo, diminuindo o crescimento e as atividades metabólicas. A Coleção de Culturas de Microrganismos Multifuncionais da Embrapa Clima Temperado (CCMMECT) possui um acervo de 682 acessos, incluindo bactérias (492) e fungos (190) que são prospectados para o uso agrícola e biotecnológico. Este trabalho teve como objetivo demonstrar como são realizados os métodos de preservação dos microrganismos empregados na CCMMECT. Os acessos estão preservados em dois métodos: bactérias (*Castellani* e liofilização); fungos (*Castellani* e solo seco). O método *Castellani* de preservação em água consiste na utilização de frascos criogênicos e/ou de penicilina contendo água destilada estéril (3 mL) onde uma alíquota de uma suspensão de células bacterianas ou um bloco de agar de crescimento fúngico são adicionados, armazenando-os em condições ambientais de laboratório ( $25 \pm 2$  °C). No método de liofilização, cujo princípio é a remoção da água por sublimação, uma alíquota de um crescimento bacteriano puro é suspensa em 1 mL de uma solução crioprotetora (sacarose 10% + peptona 5%). Após, 200 µL são transferidos, em cinco repetições, para ampolas, previamente identificadas com uma etiqueta interna, de 0,8 cm de diâmetro que são congeladas. Posteriormente, são conectadas a um liofilizador por 6h e fechadas com um maçarico. A preservação de fungos em solo seco é feita a partir de esporos que são transferidos para tubos de ensaio contendo 2 g de solo estéril, homogeneizados e congelados [freezer (-18 °C)]. A CCMMECT possui 298 bactérias liofilizadas, 469 bactérias e 188 fungos preservados em água e 105 fungos preservados em solo seco. A preservação de 100% dos acessos bacterianos e fúngicos nos métodos descritos acima é meta da CCMMECT.