


**Técnica de siembra, Aislamiento y
Cultivo de microorganismos
TP nº 3**

Aislamiento

- Separación de un microorganismo determinado de las poblaciones mixtas que existen en la naturaleza, que permiten la identificación y el crecimiento del microorganismo en medios artificiales bajo condiciones de laboratorio.
- Para el aislamiento directo se emplean generalmente medios gelificados. Cuando un inóculo mixto que contiene una cierta variedad de organismos diferentes se extiende directamente sobre la superficie de un medio gelificado, todos aquellos que puedan crecer sobre el mismo producirán colonias.
- La dispersión de los microbios sobre el medio elimina gran parte de la competencia por los nutrientes y por ello algunos que crecen lentamente son capaces de multiplicarse en el mismo ambiente de los que crecen rápidamente



Como consecuencia del aislamiento físico aparecen sobre la placa del medio de cultivo, luego de la incubación, poblaciones de bacterias y levaduras e individuos fúngicos separados. Se los puede mantener vivos en el laboratorio mediante trasplantes a otros medios de cultivo.

Otra forma de aislamiento se puede realizar añadiendo ciertas sustancias químicas a un medio base, o imponiendo algunas otras condiciones especiales durante el crecimiento del cultivo, ellas son:

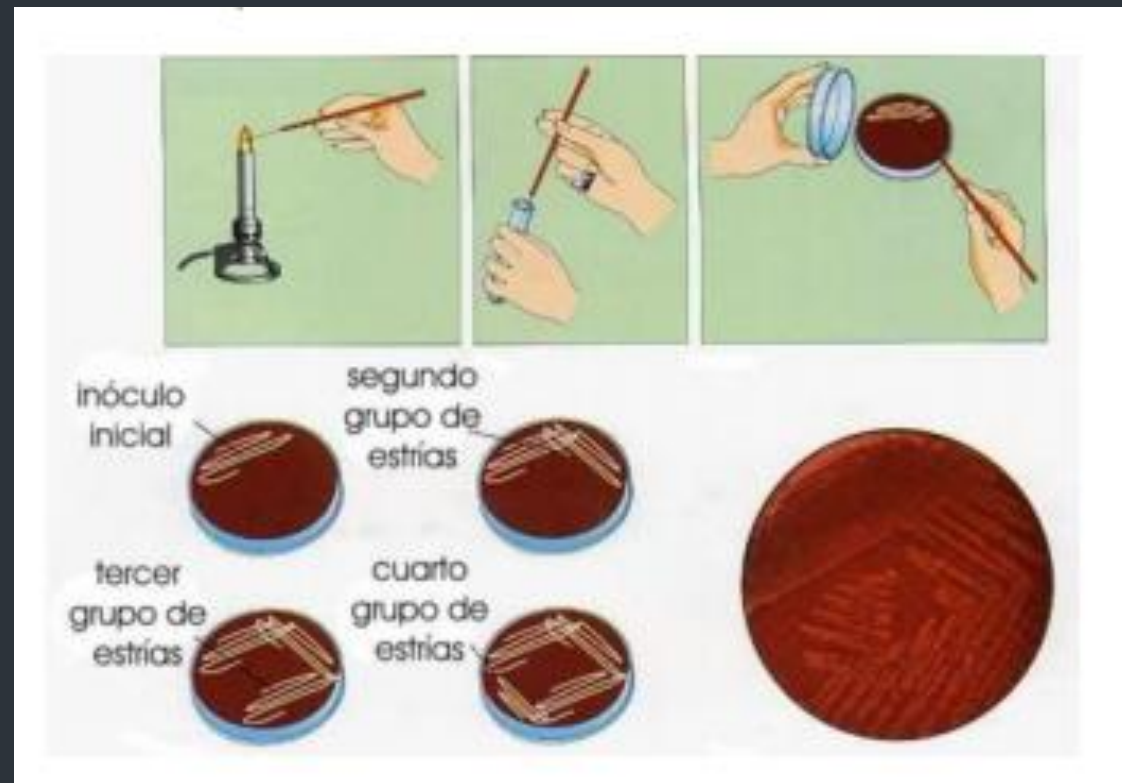
- Selección por inhibición: se reprime el crecimiento de microbios que interfieren, permitiendo al mismo tiempo el cultivo deseado.
- Selección por enriquecimiento: se favorece el crecimiento del microbio buscado, por lo que se desarrolla más que sus competidores.

El crecimiento y la colonia

- El crecimiento determina la multiplicación celular y en los organismos unicelulares motiva un aumento del número de individuos, mientras que en los multicelulares lleva al aumento del tamaño del individuo.
- En el aislamiento se tomó una pequeña cantidad de células microbianas y al deslizar el asa sobre el agar se las distribuyó por la superficie. Durante la incubación la célula supuestamente aislada se dividió repetidamente hasta formar una masa visible llamada colonia sobre el medio de cultivo.
- El crecimiento de las poblaciones bacterianas está normalmente limitado por la desaparición de los nutrientes accesibles o por la acumulación de productos metabólicos tóxicos.

Aislamiento por estrías

- Flamear el asa hasta que tenga color rojo brillante y dejar que se enfríe dentro de la zona de convección del mechero. Tomar una gota de la suspensión y extenderla sobre la superficie de una placa de agar nutritivo haciendo las primeras estrías. Flamear el asa y hacer la segunda serie de estrías con el asa vacía. Flamear otra vez el asa y hacer la tercera serie de estrías con el asa vacía. Incubar las cajas con la tapa hacia abajo (invertidas) a 30 a 35°C durante 48 horas



Aislamiento por punción

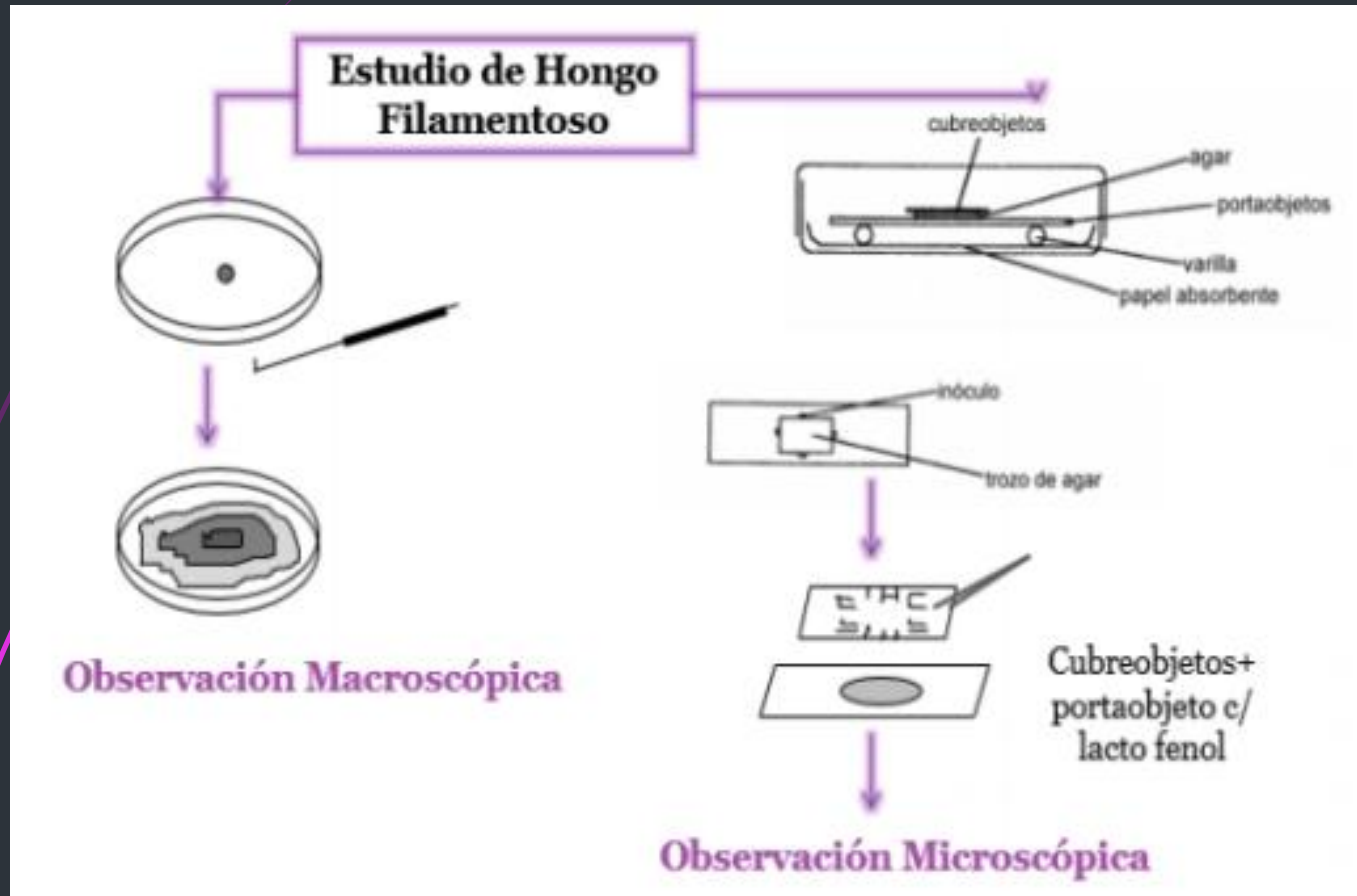
De las placas de Petri o frutos con desarrollo de hongos filamentosos, seleccionar una colonia. Flamear el asa de gancho hasta que tenga color rojo brillante y dejar que se enfríe dentro de la zona de convección del mechero. Tomar una porción de micelio y hacer punciones separadas sobre toda la superficie de una placa de agar Sabouraud. El trabajo es más sencillo si se toma la placa en forma invertida. Se evita que las esporas del hongo caigan sobre toda la superficie dificultando el aislamiento. Incubar las cajas con la tapa hacia abajo (invertidas) a 25-27°C durante 48 horas.



Medios de cultivos

- Para bacterias usamos Medio Agar Nutritivo. Se incuba a 30–35°C durante 24 a 48 hs. (Aislamiento en tubos, placas, por estrías y por punción).
- Para hongos usamos medio general Sabouraud. Se incuba a 25–28 °C durante 5 a 7 días en estufa. (Aislamiento en placas por punción).

Microcultivo



El microcultivo es el procedimiento idóneo para la identificación de estructuras fúngicas, pues te permite visualizar al microscopio el micelio en su conjunto no solo una parte.