

As informações abaixo são recomendações com finalidade de padronização de procedimentos. Especialmente os tópicos faixa de dias indicado para contagem de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) e as características morfológicas das colônias podem variar significativamente conforme a espécie ou cepa do microrganismo. Neste sentido, embora se espere maior uniformidade entre colônias em plaqueamentos de uma mesma cepa, na rotina de análise de insumos biológicos observa-se que essa uniformidade nem sempre se mantém. É possível que as condições do meio em que o microrganismo permaneceu antes da análise possam afetar nas características das colônias. Colônias da mesma cepa podem apresentar variações morfológicas relevantes, possivelmente influenciadas pela formulação do produto. Em alguns casos, formulações distintas, contendo a mesma cepa, podem impactar inclusive o tempo de incubação necessário para expressão visual das colônias.

Microrganismo: <i>Bradyrhizobium</i> spp., <i>Rhizobium</i> spp., <i>Paraburkholderia</i> spp.	
Solução diluente	Solução salina - solução 0,85% (m/v) de cloreto de sódio (NaCl)
Meio	Meio sólido 79 ou YMA (Yeast, Manitol, Ágar) com Vermelho Congo
Incubação	29°C (± 1°C) no escuro
Faixa de dias para a contagem de UFC	5 a 10 dias - <i>Bradyrhizobium</i> spp 2 a 3 dias - <i>Rhizobium</i> spp 3 a 5 dias - <i>Paraburkholderia</i> spp
Características da colônia no meio 79	Em estágios iniciais de incubação, colônias de rizóbios, em geral, não apresentam absorção visível do corante vermelho Congo no meio 79.

Microrganismo: <i>Azospirillum</i> spp	
Solução diluente	Solução salina - solução 0,85% (m/v) de cloreto de sódio (NaCl)
Meio	Meio Rojo Congo (RC)
Incubação	29°C (± 1°C) no escuro
Faixa de dias para a contagem de UFC	4 a 7 dias
Características da colônia no meio RC	Azospirillum demonstram capacidade de apresentar variações morfológicas significativas. De modo geral, absorvem o corante vermelho Congo presente no meio, formando colônias avermelhadas. No entanto, mesmo dentro de uma mesma cepa, podem ser observados diferentes padrões morfológicos, possivelmente influenciados pela formulação do produto. Plaqueamentos de diluições de produtos distintos contendo a mesma cepa podem apresentar: colônias com morfologia uniforme, poucos padrões recorrentes ou elevada heterogeneidade, especialmente no aspecto de coloração (vermelhas, amareladas, amarronzadas, colorações estriadas). Assim, sua análise laboratorial requer maior atenção na contagem e identificação da cepa alvo e a detecção de contaminantes.
Cuidados especiais	1. No plaqueamento distribuir uniformemente a alíquota transferida na superfície do meio de cultura, executando poucas passadas (recomendável em torno

	<p>de cinco) delicadamente, contribuindo para a expressão das UFC's do material analisado.</p> <p>2. Favorecer a aeração na incubação - não empilhar mais de 6 placas e manter uma distância mínima de 2 cm entre as pilhas e as paredes da incubadora.</p>
--	---

Microrganismo: <i>Bacillus</i> spp., <i>Priestia</i> spp.	
Solução diluente	Solução salina - solução 0,85% (m/v) de cloreto de sódio (NaCl)
Meio	Meio ágar soja triptona (TSA) Opcionalmente pode ser usado: Meio ágar nutriente (AN)
Incubação	29°C (± 1°C) no escuro.
Faixa de dias para a contagem de UFC	1 a 2 dias Algumas cepas podem demandar realização de uma primeira contagem antes de 24 horas de incubação.
Cuidados especiais	Incubação das placas preferencialmente na posição invertida (tampa para baixo), conforme prática microbiológica padrão, a fim de evitar condensação sobre as colônias. Porém algumas espécies podem demandar incubação na posição normal (tampa para cima).

Microrganismo: <i>Pseudomonas fluorescens</i>	
Solução diluente	Solução salina - solução 0,85% (m/v) de cloreto de sódio (NaCl)
Meio	Meio King B
Incubação	29°C (± 1°C) no escuro.
Faixa de dias para a contagem de UFC	2 a 4 dias
Características da colônia no meio King B	Geralmente as colônias emitem fluorescência esverdeada característica quando observadas sob luz ultravioleta (aproximadamente 365 nm). A fluorescência é um indicativo presuntivo da presença do microrganismo.

Microrganismo: <i>Trichoderma</i> spp., <i>Metarhizium</i> spp. e <i>Beauveria</i> spp.	
Solução diluente	Solução salina - solução 0,85% (m/v) de cloreto de sódio (NaCl) com 0,1% (v/v) de Polissorbato 80
Meio	Meio Meio ágar batata dextrose (BDA) com 0,1% (v/v) de Triton X-100
Incubação	25°C (± 1°C) no escuro.
Faixa de dias para a contagem de UFC	3 a 5 dias - <i>Trichoderma</i> spp. 4 a 7 dias - <i>Metarhizium</i> spp. e <i>Beauveria</i> spp.
Cuidados especiais	Pode-se considerar a vedação das placas com filme plástico semipermeável, visando reduzir o risco de contaminações cruzadas, desde que se mantenha a troca gasosa adequada ao crescimento microbiano. Deve-se evitar movimentação de placas inoculadas com microrganismos esporulantes até o momento da contagem.