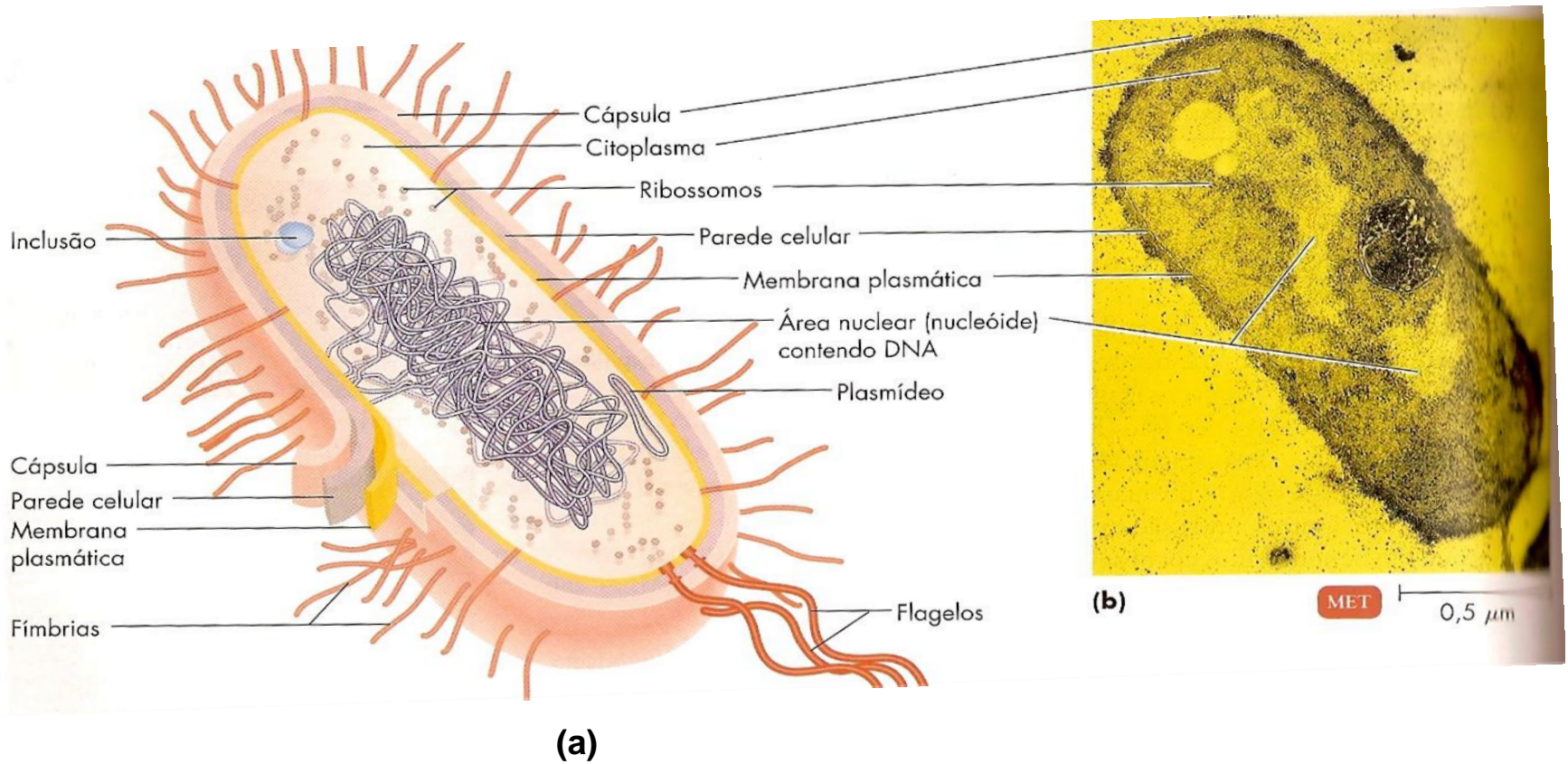


Bactérias

COLORAÇÃO E MOTILIDADE

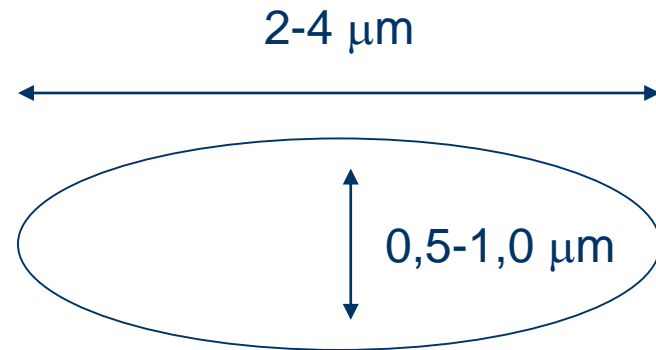
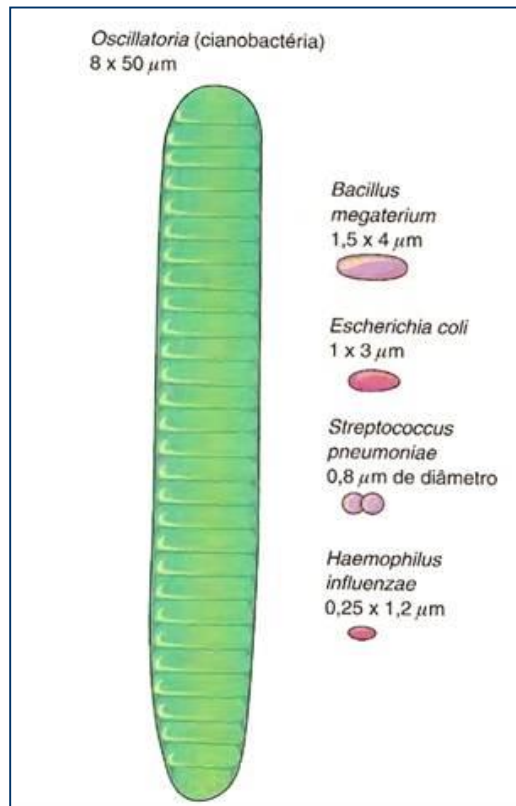
Bactérias: Microrganismos Procariotos

- Não apresentam vacúolos e organelas membranosas (mitocôndria, cloroplasto)
- Não apresentam membranas internas
- Unicelulares
- Multiplicação-fissão binária (cissiparidade)



Uma célula procariótica apresentando estruturas típicas. Ambos, o desenho **(a)** e a micrografia **(b)** mostram uma bactéria em corte transversal para revelar as estruturas internas.

Tamanho



Comparação dos tamanhos de vários procariotos (Brock et al., 2004)

Classificação de bactérias

- Análise do ácido nucléico: seqüência do DNA do rRNA; conservado entre espécies
- Análise de propriedades bioquímicas e características de crescimento
- Características morfológicas (forma, flagelos)

Classificação de bactérias

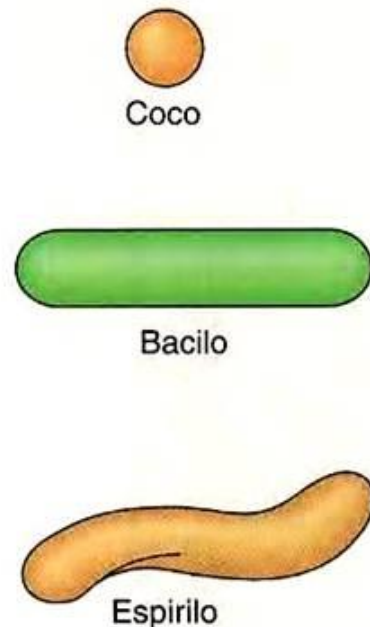
- **Testes bioquímicos e fisiológicos**
 - **Gram**
 - **Motilidade**
 - Produção de ácido a partir de carboidrato
 - Oxidação/fermentação de glicose
 - Asparagina como única fonte de carbono e nitrogênio
 - Produção de pigmento verde-fluorescente
 - Teste de oxidase
 - Produção de 3-cetolactose
 - Produção de inclusões de poli- β -hidroxibutirato

Características utilizadas para diferenciar os gêneros de bactérias fitopatogênicas

Característica Diferencial	<i>Erwinia</i>	<i>Pantoea</i>	<i>Acidovorax</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Ralstonia</i>	<i>Burkholderia</i>	<i>Xanthomonas</i>	<i>Xylophilus</i>	<i>Agrobacterium</i>	<i>Clavibacter</i>	<i>Clostridium</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Streptomyces</i>
Reação de Gram	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
Anaerobiose	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
Colônias amarelas ou laranja em YDC ou NBY	-	+ ^a	-	-	-	-	+ ^b	+ ^c	-	+ ^d	-	-	-
Colônias mucóides em YDC a 30 °C	-	-	+	-	+	-	+	-	+	+	N	N	-
Pigmento fluorescente em meio de King B	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pigmentos não -fluorescentes difusíveis em King B	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Urease	- ^e	-	+	-	+	V	-	+	N	-	N	N	N
Oxidase	-	-	+	-	+	+ ^f	-	-	+	-	-	V	+
Crescimento a 40 °C	-	V	+	-	-	+ ^g	-	-	-	-	+	+	-
Mais de 4 flagelos peritríquios	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	V	V	-
Crescimento em DIM agar	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Formação de endosporos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
Presença de pseudomicélio	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

Fonte: adaptado de Schaad et al. (2001).

Bactérias: Formas básicas



Formas celulares (morfologia) representativas de procariotos. Observe que ao lado de cada diagrama há uma fotomicrografia de fase apresentando um exemplo da morfologia.

Bactérias

COLORAÇÃO

Coloração de Bactérias

- Observação das características morfológicas
- Facilita a visualização
- Evidencia diferenças entre células (Método de Gram)

Coloração de Bactérias

- **Direta ou positiva** - A bactéria fica colorida
 - Simples
 - Gram (diferencial)

Corantes: Safranina ou Fucsina

- **Indireta ou negativa** - A lâmina fica colorida

Corantes: Nankin ou Nigrosina

Coloração Direta

1. Esfregaço

2. Fixação

3. Coloração

4. Lavagem

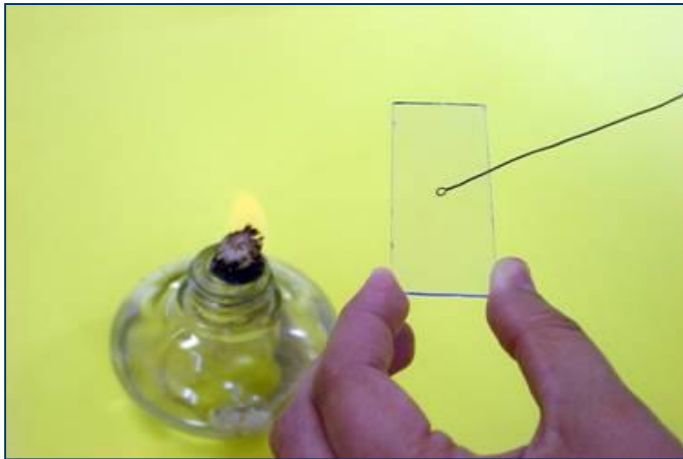
5. Secagem

6. Observação

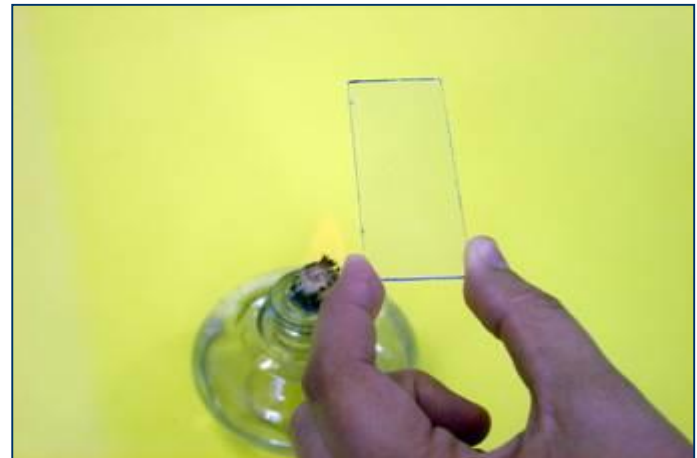


Coloração Indireta

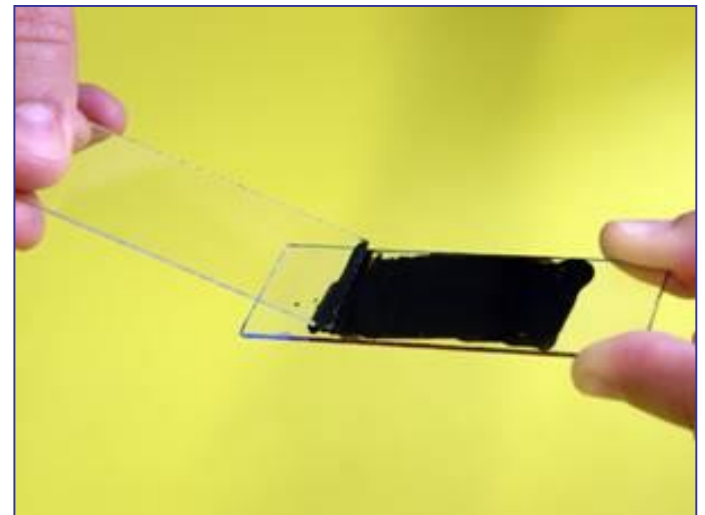
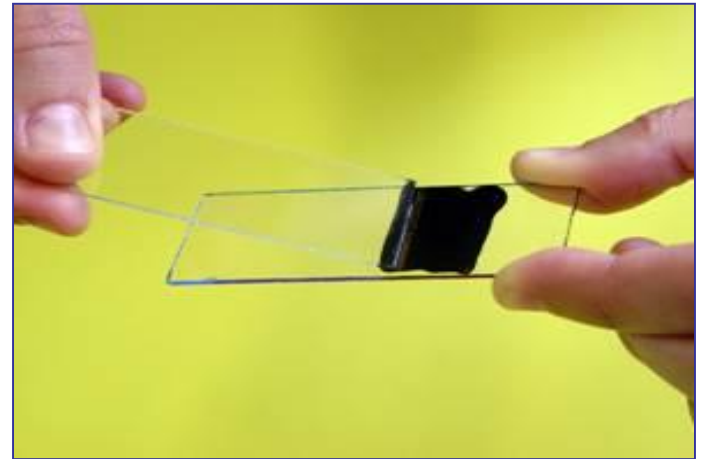
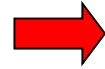
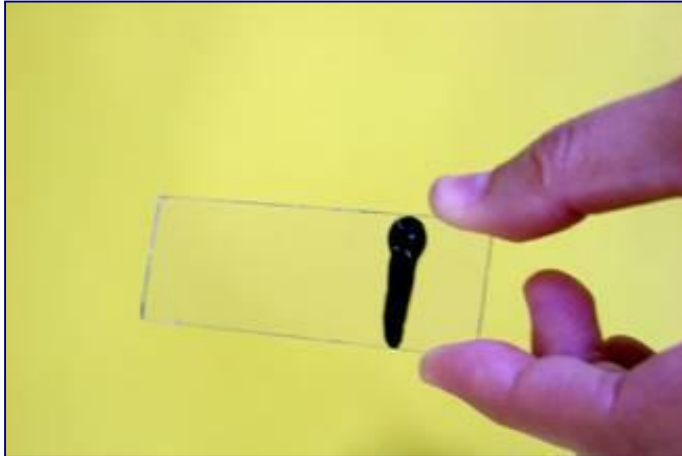
1. Esfregaço



2. Fixação



3. Coloração



4. Secagem



Secar no calor ou no ar

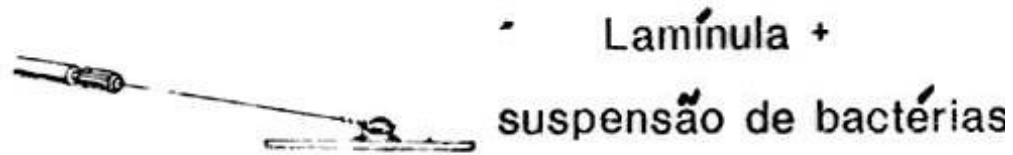
5. Observação



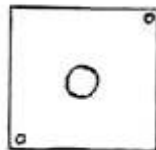
Bacillus subtilis

Motilidade de Bactérias

Técnica da Gota Pendente



Lâmina escavada



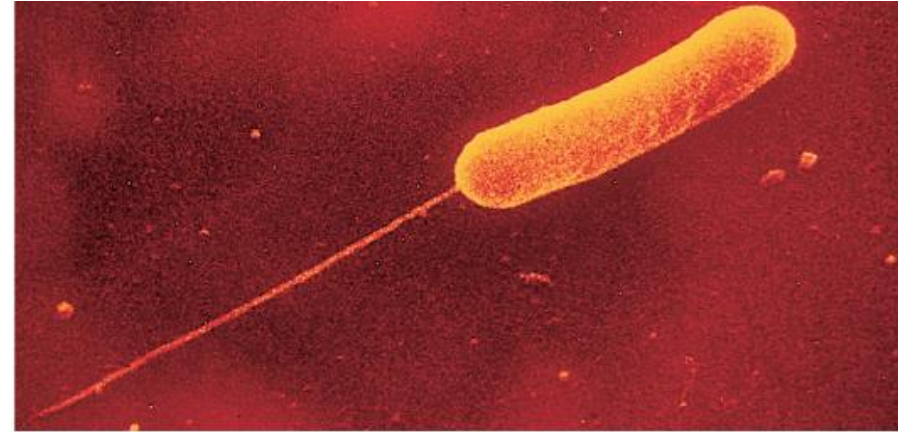
Focalizar a margem da gota
Aumentos 100X e 400X

Exemplos de arranjos de flagelos



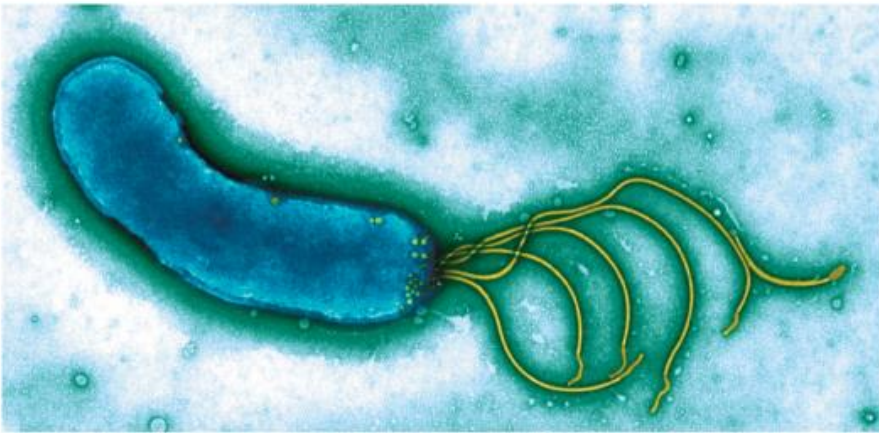
(a) Peritríqueo

MEV | 0,5 μm



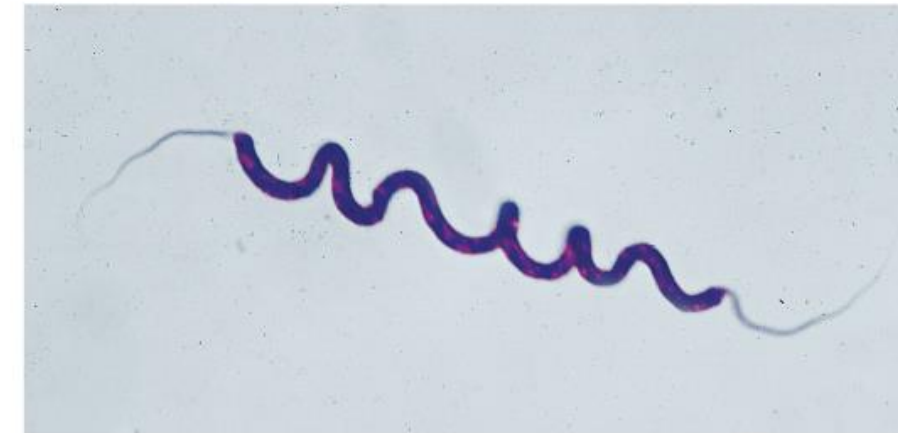
(b) Monotríqueo e polar

MEV | 0,5 μm



(c) Lofotríqueo e polar

MEV | 0,5 μm



(d) Anfotríqueo e polar

MEV | 5 μm

Figura 4.7 Arranjos de flagelos bacterianos. (a) Peritríqueo. (b) – (d) Polar.

Exemplos de arranjos de flagelos

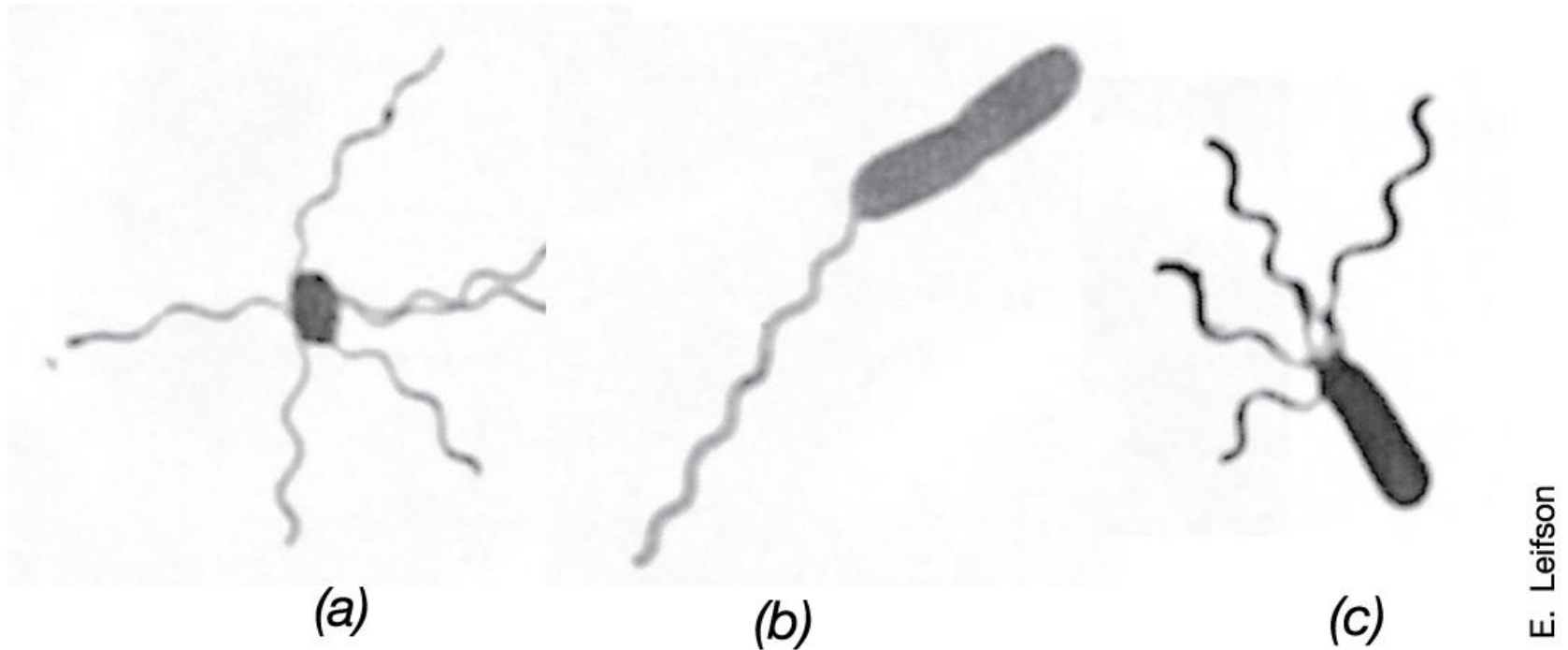


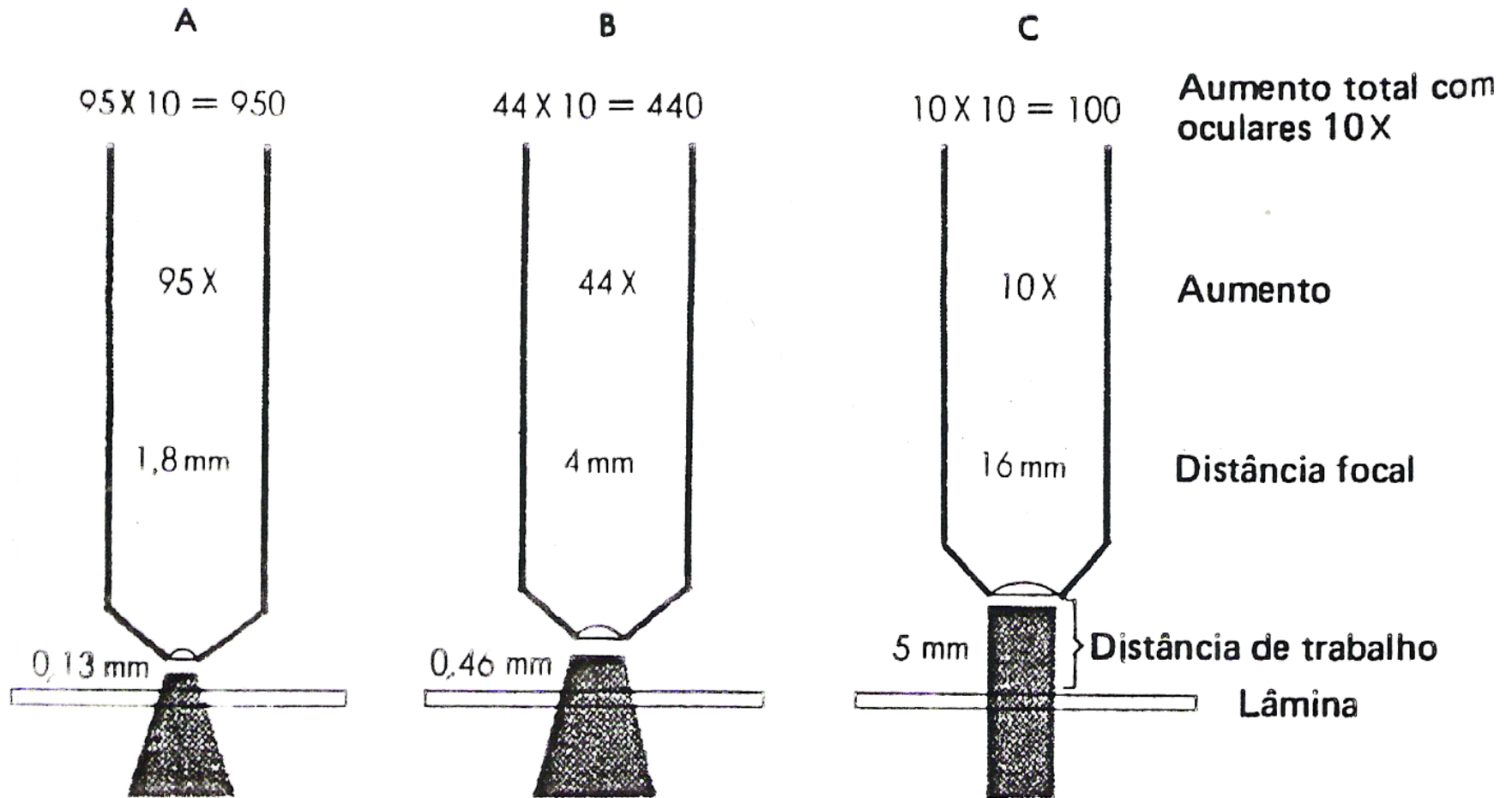
Figura 4.44 Flagelos bacterianos. Fotomicrografias ópticas de procariotos apresentando diferentes arranjos flagelares. As células foram coradas pelo método de Leifson de coloração de flagelos. (a) Peritríquio. (b) Polar. (c) Lofotríquio.

Focalização ao microscópio de luz

Iniciar sempre com a objetiva de menor aumento

1. Objeto no centro da mesa
2. Ajustar a iluminação (maior quantidade de luz através do objeto)
3. Elevar a mesa até a altura máxima utilizando o **macrométrico**
4. Iniciar o processo de focalização, com a menor objetiva (10x) abaixando vagarosamente a mesa com o macrométrico
5. Fazer a focalização fina – **micrométrico**
6. Mudar a objetiva (para 40x e 100x) e utilizar apenas o **micrométrico** para focalização final
7. Acertar a quantidade de luz
8. Condensador deve permanecer sempre em posição elevada

Focalização ao microscópio óptico



Focalização ao microscópio de luz

Efeito do óleo de imersão

Função do óleo usado com objetiva de imersão. Note que n (índice de refração) é igual para a lâmina de vidro e para o óleo. Isto faz com que os raios luminosos não se dispersem ao atravessarem o conjunto lâmina-óleo, permitindo a entrada de um grande cone de luz na objetiva

