

Fisiologia bacteriana: crescimento e nutrição



LUIZIANA FERREIRA DA SILVA
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA
ICB-USP

São Paulo, Agosto de 2018

Tópicos

2

- Tipos de metabolismo
- Divisão celular
- Curva de crescimento
- Nutrição microbiana e Meios de cultura
- Efeitos de fatores ambientais no crescimento
- Diversidade metabólica

Diversidade Bioenergética

3

- Micro-organismos têm uma diversidade grande de estratégias bioenergéticas.
- Conseguem usar diferentes compostos químicos para geração de energia.
 - compostos inorgânicos
 - compostos orgânicos e
 - podem usar a Luz como fonte de energia.

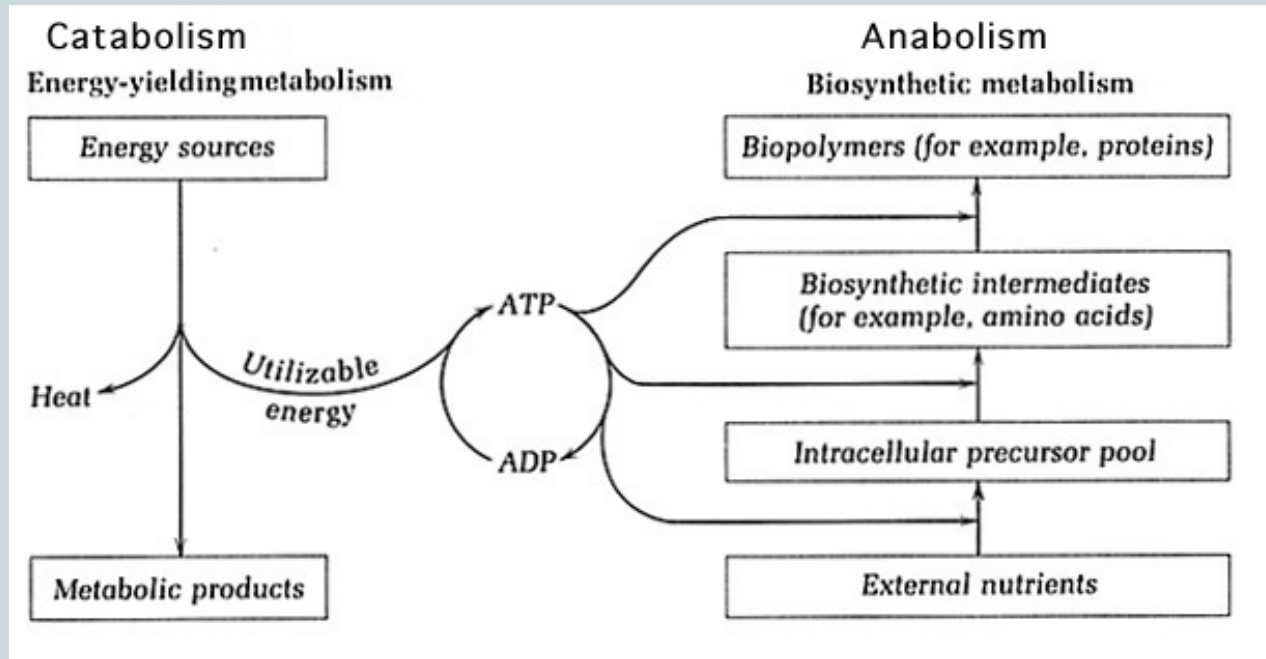
Diversidade Bioenergética

4

- O processo de oxidação dos compostos orgânicos ou inorgânicos e a fotossíntese geram elétrons que são usados para a geração da força próton motiva por intermédio da ATPase.
 - Catabolismo – geração de energia
 - Anabolismo – consumo de energia
- Apesar das diferentes vias metabólicas, diferentes aceptores de e-, diferentes doadores de e-. O transporte de e- e a força próton motiva vinculam todos esses processos.

Catabolismo e Anabolismo

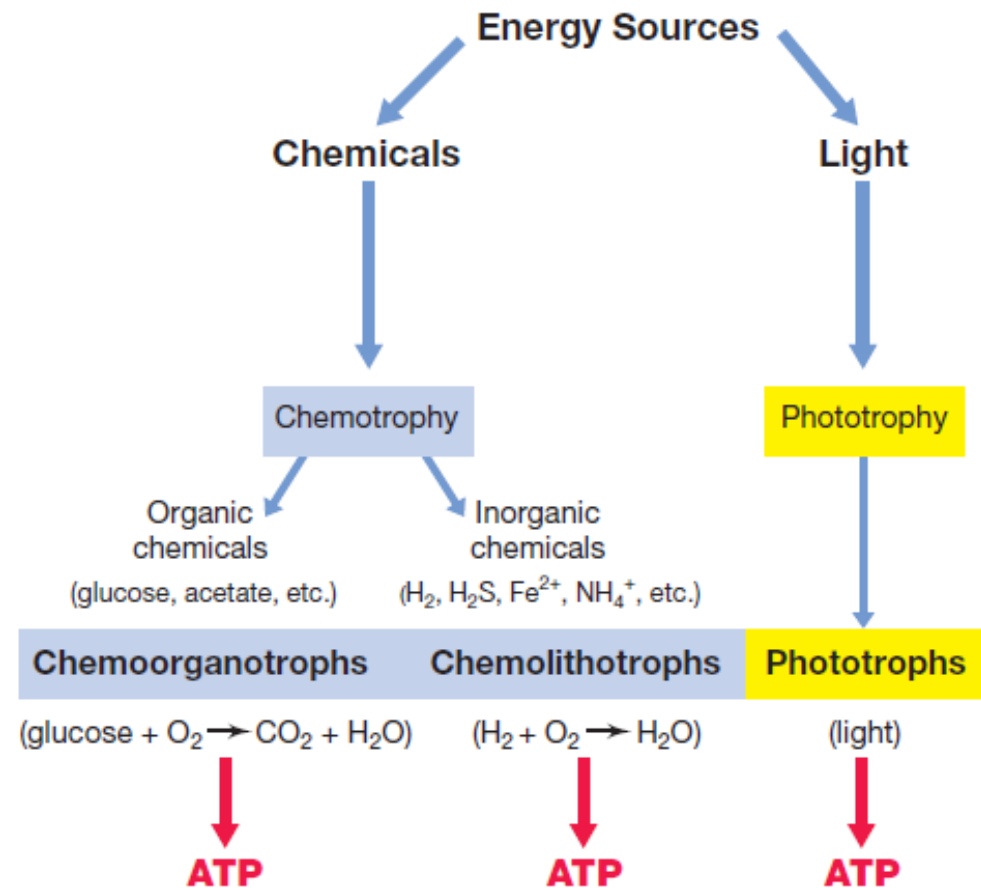
5



Fontes de Energia

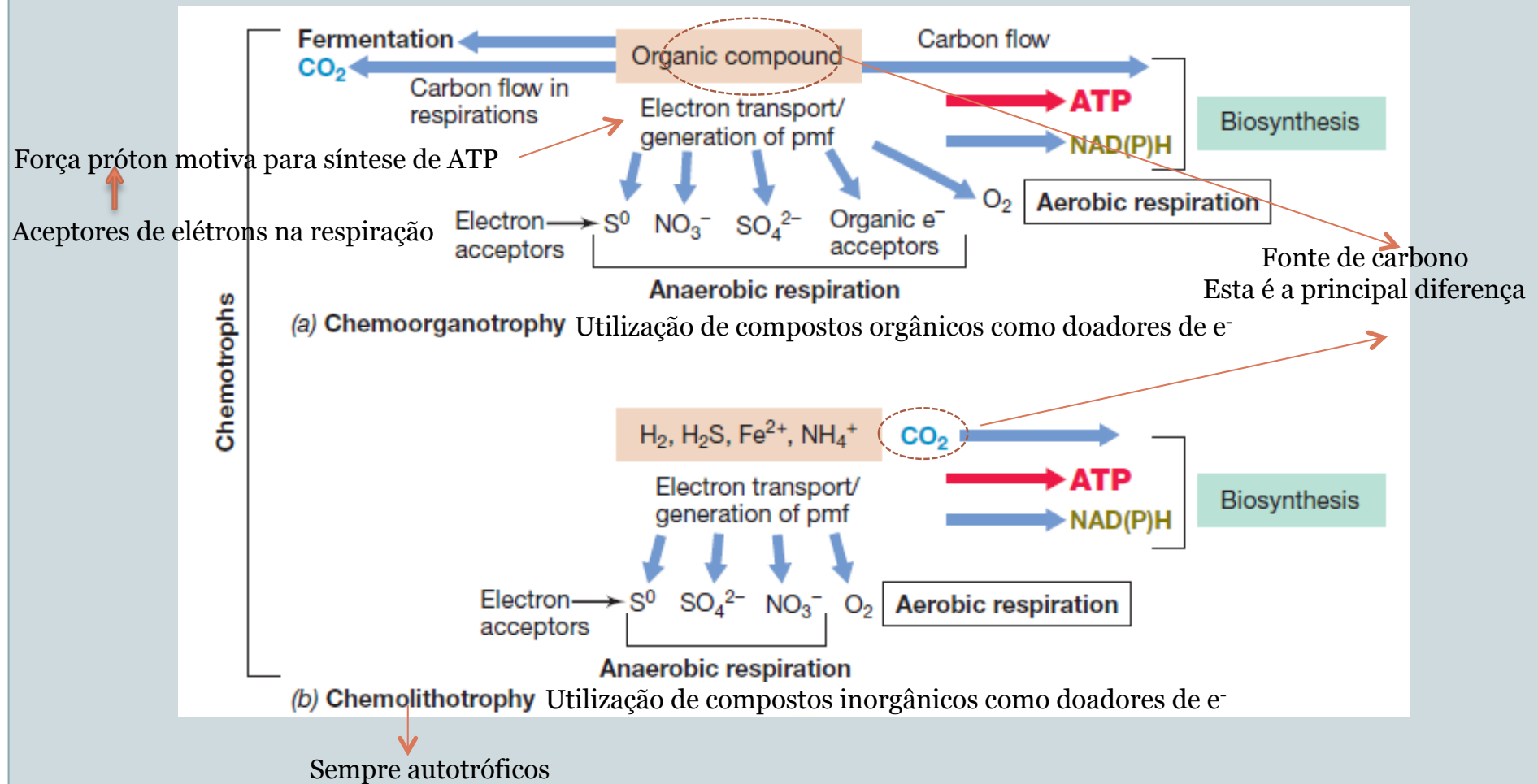
6

- Sergei Winogradsky com estudos de bactérias oxidantes de enxofre e de fixação de nitrogênio propôs a **quimiolitotrofia**
 - Oxidação de compostos inorgânicos para obtenção de energia
- Winogradsky isolou a primeira bactéria fixadora de nitrogênio *Clostridium pasteurianum*
- **Autotrofia**, obtenção de carbono via CO_2



Diversidade Catabólica

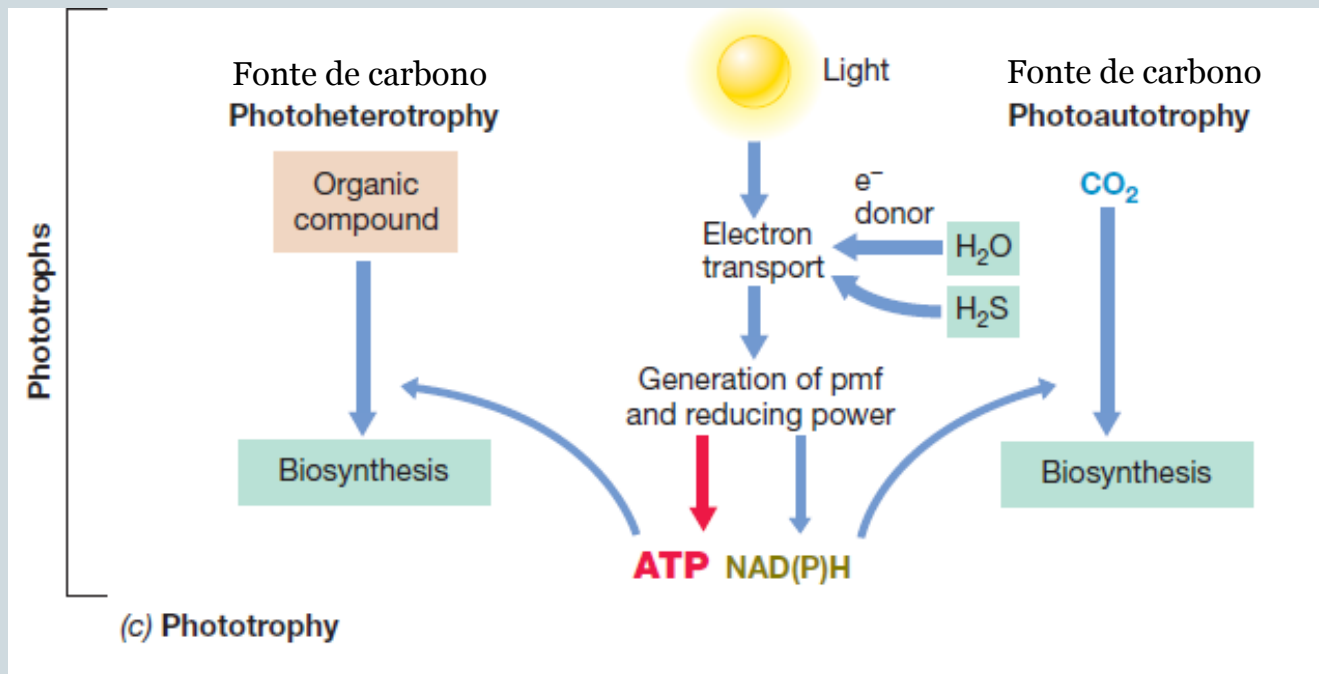
7



Diversidade Catabólica

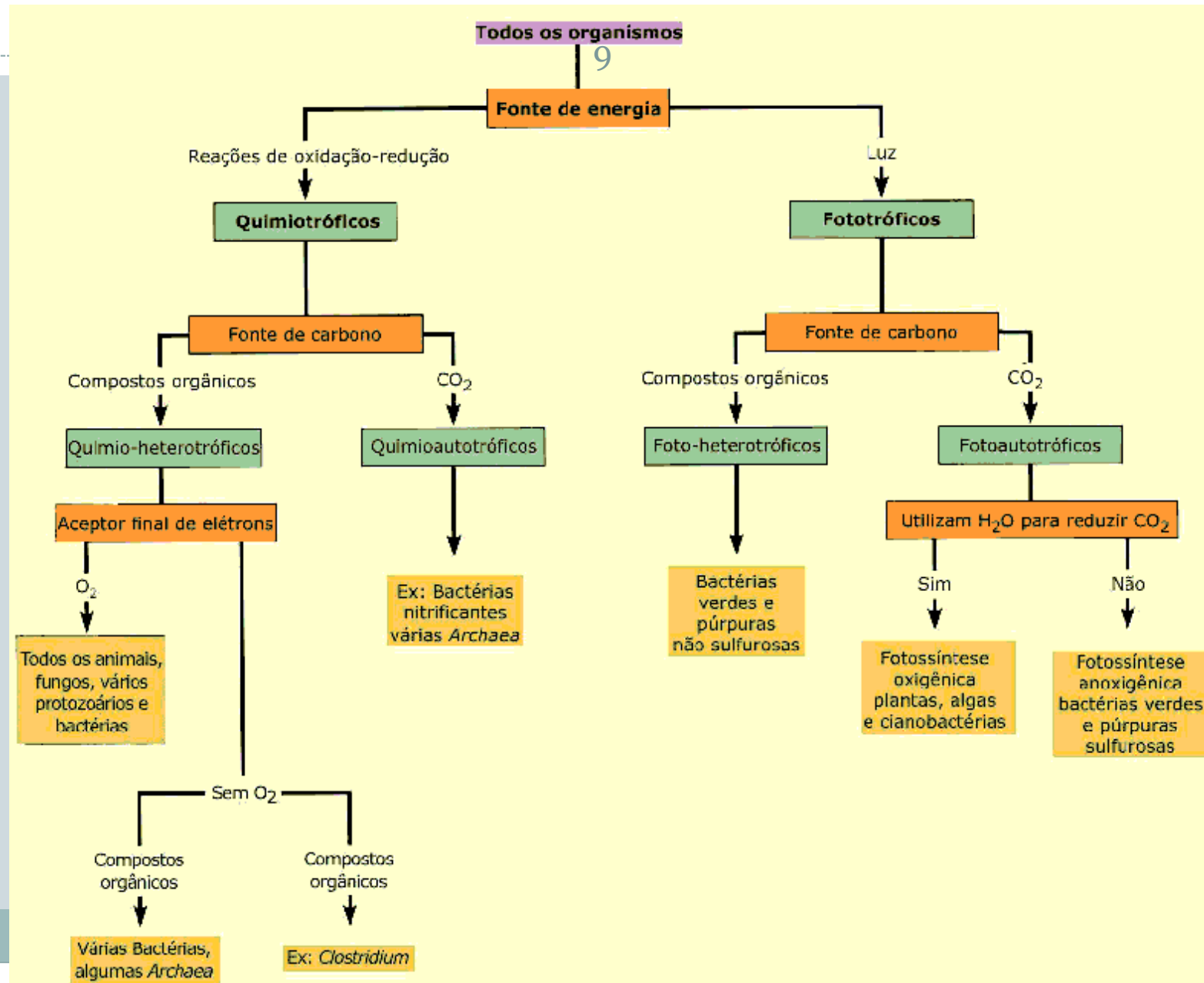
8

Utilização da luz como fonte de energia



Fotossíntese oxigênica – Libera oxigênio como as cianobactérias
Fotossíntese anoxigênica, processo simples encontrados em bactérias
púrpuras e verdes, não há produção de O₂

Classificação dos seres vivos, de acordo com a utilização das fontes de energia e carbono



Nutrição microbiana

10

- Macronutrientes – compostos químicos muito usados
- Micronutrientes – compostos químicos pouco usados
- Principais elementos são C, O, H, N, P, S. No entanto, + 50 elementos são metabolizados pelas células

Group → 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18

Period ↓

Legend:

- Yellow: Essential for all microorganisms
- Red: Essential cations and anions for most microorganisms
- Green: Trace metals, some essential for some microorganisms
- Purple: Used for special functions
- Brown: Unessential, but metabolized
- Blue: Unessential, not metabolized

(a)

Essential elements as a percent of cell dry weight

C 50%	P 2.5%	Ácidos nucleicos e fosfolipídios
O 17%	S 1.8%	Cys e Met, vitaminas (ex. coenzimaA)
N 13%	Se <0.01%	
H 8.2%		

(b)

Macromolecular composition of a cell

Macromolecule	Percent of dry weight
Protein	55
Lipid	9.1
Polysaccharide	5.0
Lipopolysaccharide	3.4
DNA	3.1
RNA	20.5

(c)

Macronutrientes

11

C	→	CO ₂ e compostos orgânicos	base de todas as moléculas orgânicas
H	→	H ₂ O e compostos orgânicos	compõem proteínas, ácidos nucleicos e peptideoglicano
O	→	H ₂ O e O ₂	O ₂ : Aceptor de elétrons da cadeia de transporte e regulador do metabolismo
N	→	NH ₃ , NO ₃ e comp. org.	componente de proteínas e ácidos nucleicos, além de vitaminas e outros compostos celulares
P	→	PO ₄	importante na composição de ácidos nucleicos e fosfolipídeos
S	→	H ₂ S, SO ₄ , comp. org.	SO ₄ : aceptor final de elétrons da cadeia de transporte anaeróbia. Reduzido: incorporado a aminoácidos (cisteína e metionina) e a vitaminas (biotina e tiamina)
K	→	K ⁺	ativador de várias enzimas, tais como aquelas envolvidas na tradução
Mg	→	Mg ⁺²	estabilização de ribossomos, membranas e ácidos nucleicos e para o funcionamento de diferentes enzimas como aquelas envolvidas na transferência de fosfato
Ca	→	Ca ⁺²	tem papel na estabilização da parede celular e de termorresistência nos esporos, atividade enzimática
Na	→	Na ⁺	microrganismos marinhos e certas <i>archaea</i> halófilas . Organismos marinhos – reflexo do habitat
Fe	→	Fe ⁺³ , comp. org.	presente em proteínas envolvidas na respiração celular (essencial nos citocromos, cluster Fe-S,..).

Exemplos de micronutrientes

12

Table 4.1 *Micronutrients (trace elements) needed by microorganisms^a*

<i>Element</i>	<i>Cellular function or molecule of which a part</i>
Boron (B)	Autoinducer for quorum sensing in bacteria; also found in some polyketide antibiotics
Chromium (Cr)	Possible but not proven component for glucose metabolism (necessary in mammals)
Cobalt (Co)	Vitamin B ₁₂ ; transcarboxylase (only in propionic acid bacteria)
Copper (Cu)	In respiration, cytochrome c oxidase; in photosynthesis, plastocyanin, some superoxide dismutases
Iron (Fe) ^b	Cytochromes; catalases; peroxidases; iron-sulfur proteins; oxygenases; all nitrogenases
Manganese (Mn)	Activator of many enzymes; component of certain superoxide dismutases and of the water-splitting enzyme in oxygenic phototrophs (photosystem II)
Molybdenum (Mo)	Certain flavin-containing enzymes; some nitrogenases, nitrate reductases, sulfite oxidases, DMSO-TMAO reductases; some formate dehydrogenases
Nickel (Ni)	Most hydrogenases; coenzyme F ₄₃₀ of methanogens; carbon monoxide dehydrogenase; urease
Selenium (Se)	Formate dehydrogenase; some hydrogenases; the amino acid selenocysteine
Tungsten (W)	Some formate dehydrogenases; oxotransferases of hyperthermophiles
Vanadium (V)	Vanadium nitrogenase; bromoperoxidase
Zinc (Zn)	Carbonic anhydrase; alcohol dehydrogenase; RNA and DNA polymerases; and many DNA-binding proteins

^aNot every micronutrient listed is required by all cells; some metals listed are found in enzymes or cofactors present in only specific microorganisms.

^bNeeded in greater amounts than other trace metals.

Fatores de Crescimento e Meio de Cultura

13

- Alguns organismos necessitam também de alguns fatores de crescimento, como vitaminas, aa, purinas, pirimidinas (**compostos orgânicos**).
- Meio de Cultura
 - Condições nutricionais para o crescimento de um micro-organismo
 - 2 classes de meio de cultura



Meio Definido

Adição precisa de compostos orgânicos e inorgânicos
Composição química exata

Meio Complexo

Não se sabe a composição exata do meio de cultura.

Exemplos:

- Caseína – proteína do leite
- Extrato de levedura (células de levedura)

Fontes altamente nutricionais

Exemplos de meio de Cultura

14

Quimiotrófico autotrófico)

Table 4.2 Examples of culture media for microorganisms with simple and demanding nutritional requirements^a

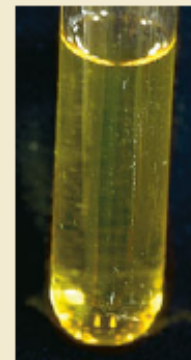
Defined culture medium for <i>Escherichia coli</i>	Defined culture medium for <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Complex culture medium for either <i>E. coli</i> or <i>L. mesenteroides</i>	Defined culture medium for <i>Thiobacillus thioautotrophicus</i>
K₂HPO₄ 7 g KH₂PO₄ 2 g (NH₄)₂SO₄ 1 g MgSO₄ 0.1 g CaCl₂ 0.02 g Glucose 4–10 g Trace elements (Fe, Co, Mn, Zn, Cu, Ni, Mo) 2–10 µg each Distilled water 1000 ml pH 7	K₂HPO₄ 0.6 g KH₂PO₄ 0.6 g NH₄Cl 3 g MgSO₄ 0.1 g Glucose 25 g Sodium acetate 25 g Amino acids (alanine, arginine, asparagine, aspartate, cysteine, glutamate, glutamine, glycine, histidine, isoleucine, leucine, lysine, methionine, phenylalanine, proline, serine, threonine, tryptophan, tyrosine, valine) 100–200 µg of each Purines and pyrimidines (adenine, guanine, uracil, xanthine) 10 mg of each Vitamins (biotin, folate, nicotinic acid, pyridoxal, pyridoxamine, pyridoxine, riboflavin, thiamine, pantothenate, <i>p</i>-aminobenzoic acid) 0.01–1 mg of each Trace elements (as in first column) 2–10 µg each Distilled water 1000 ml pH 7	Glucose 15 g Yeast extract 5 g Peptone 5 g KH₂PO₄ 2 g Distilled water 1000 ml pH 7	KH₂PO₄ 0.5 g NH₄Cl 0.5 g MgSO₄ 0.1 g CaCl₂ 0.05 g KCl 0.5 g Na₂S₂O₃ 2 g Trace elements (as in first column) Distilled water 1000 ml pH 7 Carbon source: CO₂ from air

Meio Definido



(a)

Meio Complexo



(b)

E. coli tem capacidade biossintética maior que *L. mesenteroides*

Capacidade Biossintética:
quando o organismo consegue sintetizar fatores importantes para o seu crescimento

^aThe photos are tubes of (a) the defined medium described, and (b) the complex medium described. Note how the complex medium is colored from the various organic extracts and digests that it contains. Photo credits: Cheryl L. Broadie and John Vercillo, Southern Illinois University at Carbondale.

Meios de Cultura

15

- Exigências nutricionais extremamente diferentes
- Para o cultivo é necessário saber os componentes essenciais
- Alguns casos é necessário a adição de soro, sangue (*Neisseria gonorrhoeae*) e etc.. (Mimetiza o meio natural de crescimento do organismo)

Cultivo de micro-organismos em Laboratório

16

- Meio devidamente preparado e estéril (autoclave, fluxo)
- Três tipo de meio de cultura



Líquido
0% agar

Sólido
1.5% agar

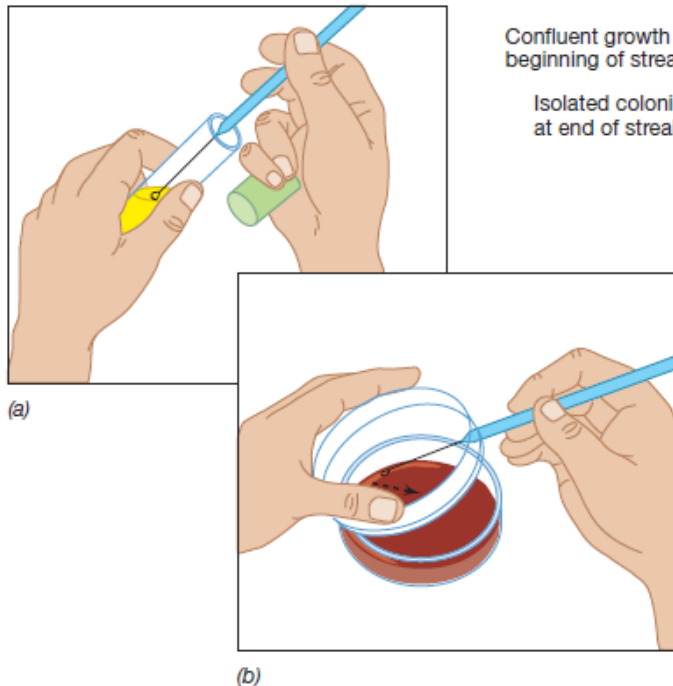
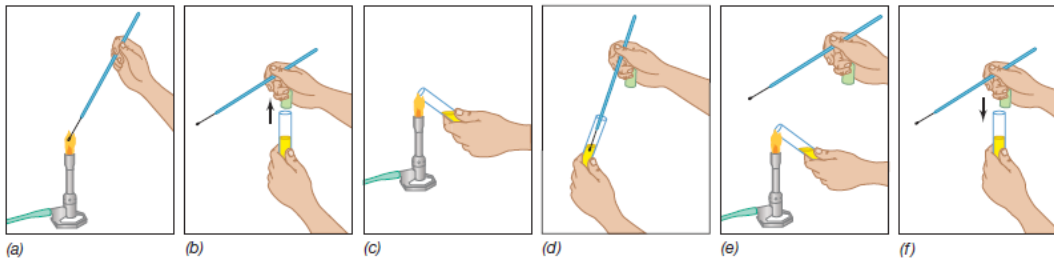
Semisólido
>0.6 e <1.5% agar

Obtenção de culturas puras por semeadura por esgotamento

17

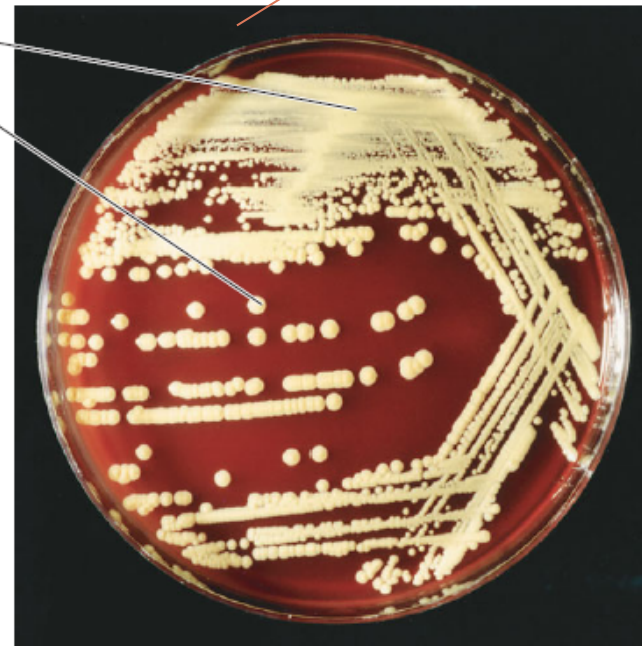
- Obtenção de amostras puras
- Método de assepsia (impedir contaminações)

- Avaliar a pureza da amostra
- A quantidade de diferentes microorganismo
- Obtém **colônias** Isoladas



Confluent growth at beginning of streak

Isolated colonies at end of streak



Várias células proveniente de uma única célula

James A. Shapiro, University of Chicago

Meio de Cultura sólido

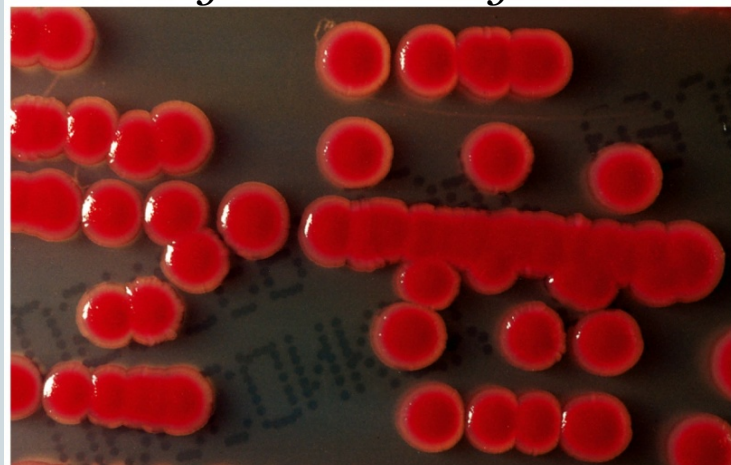
18

Tomar cuidado em meio de cultura sólido em placas de Petri

- Efeito de borda
- Umidade
- Temperatura
- Inclinação da placa

.....

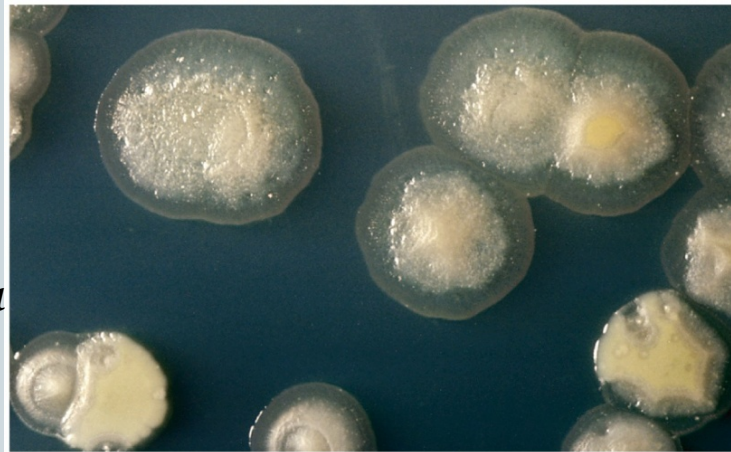
Serratia marcescens
Agar MacConkey



James A. Shapiro, University of Chicago

Figure 5-2b Brock Biology of Microorganisms 11/e
© 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

P. aeruginosa
Agar Trypticase-soja

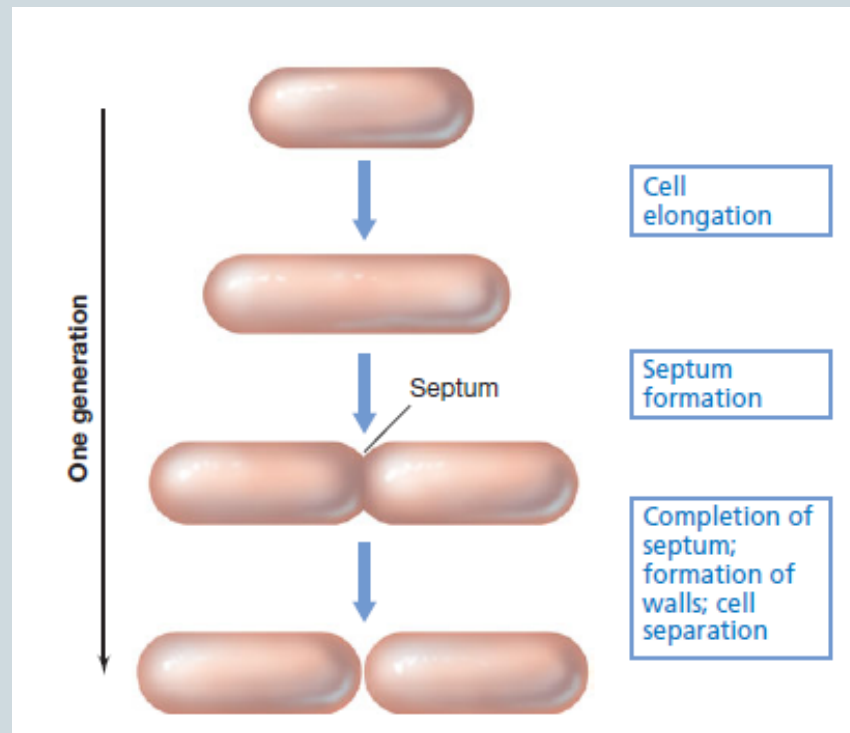


James A. Shapiro, University of Chicago

Figure 5-2c Brock Biology of Microorganisms 11/e
© 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

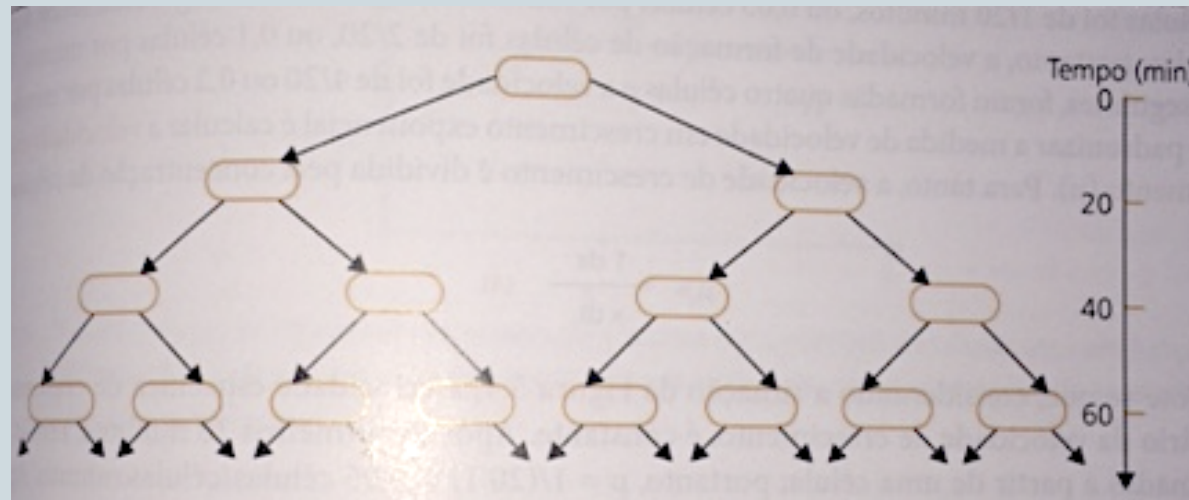
Crescimento bacteriano e Duplicação Celular

19



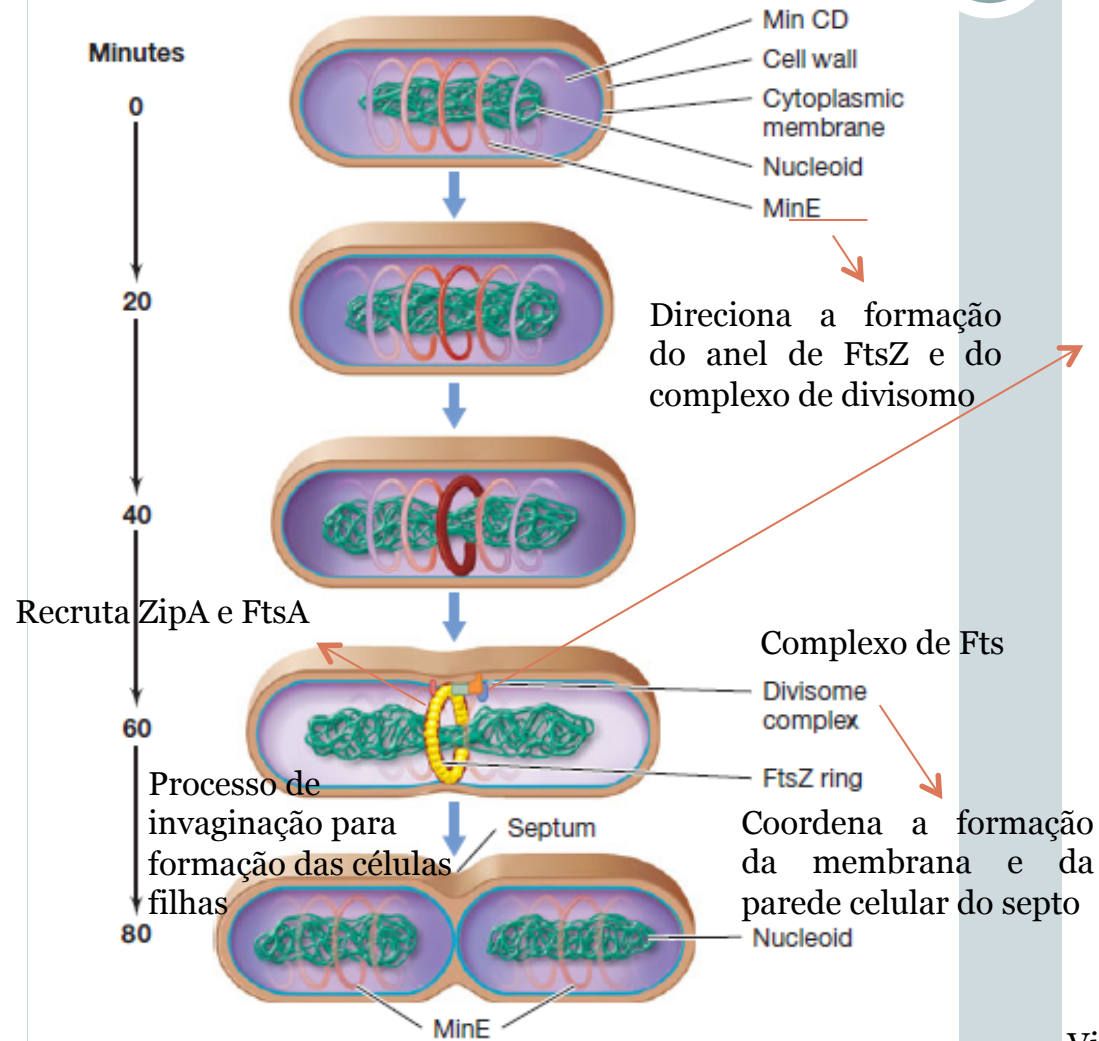
Crescimento bacteriano e Duplicação Celular

20



Duplicação bacteriana a intervalos de tempo constantes

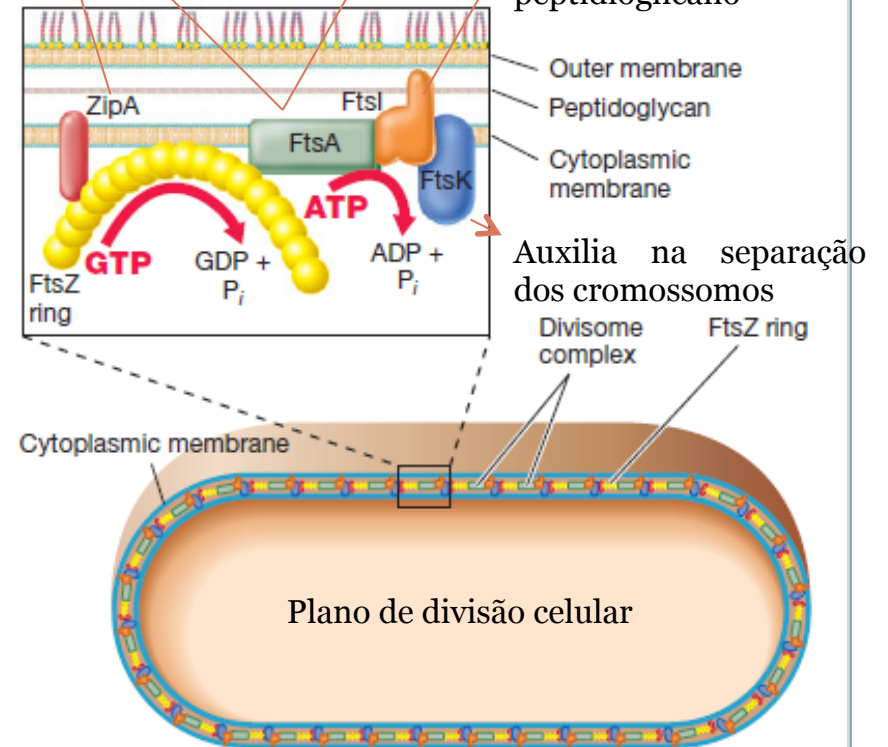
Barbosa, Torres, Gomez, 2018



Conecta o anel a membrana citoplasmática

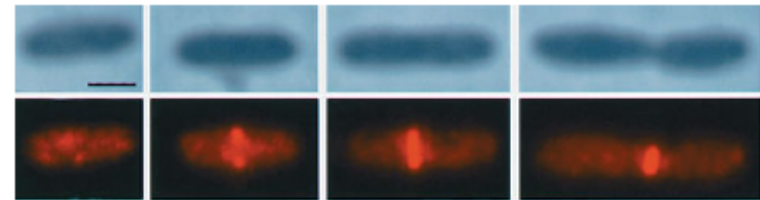
Tb recruta outras proteínas do divisomo

Envolvida na síntese de peptidoglicano



(a)

Contraste de Fase



Visualizando o FtsZ

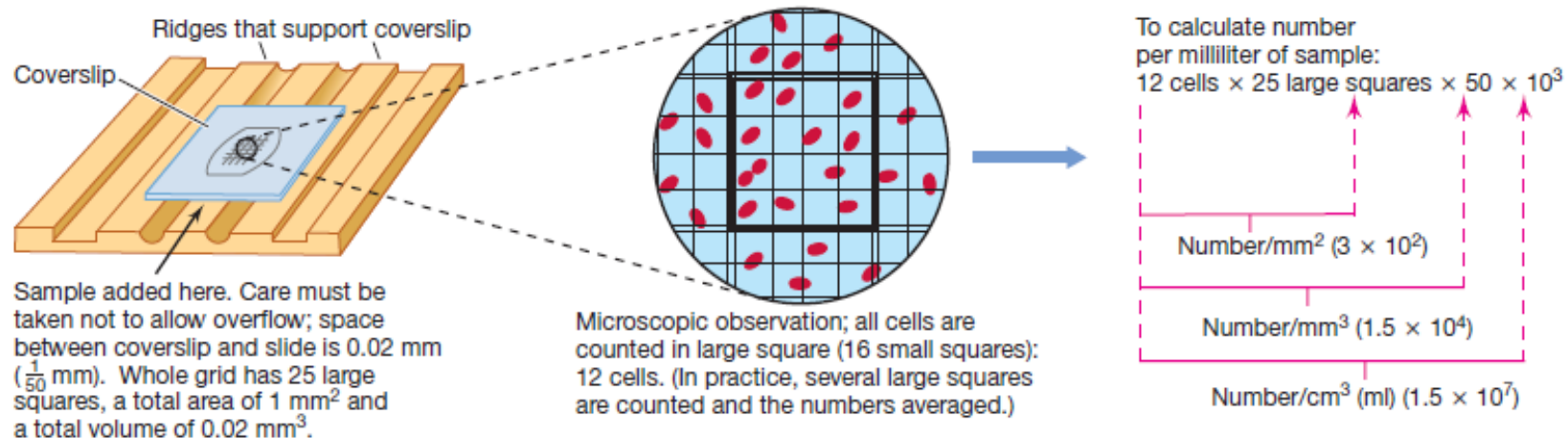
T. den Blaauwen & Nanne Nanninga, Univ. of Amsterdam

E.coli com tempo de geração de 80'

Formas de medir o crescimento microbiano

22

- Contagem usando células secas coradas em lâminas
- Contagem de células em meio líquido utilizando câmara de contagem de Petroff-Hausser e microscópio
 - Relação entre a média dos números de células por quadrante com a concentração de células por mililitro de suspensão
 - Não consegue distinguir células vivas das mortas
 - Células pequenas são difíceis de ver no microscópio
 - Usar amostras concentradas
 - Impurezas podem ser confundidos como células
 -



Métodos de contagem de células viáveis

23

- Contagem de células viáveis (contagem em placa) conta o número de células capazes de se dividir.
 - Semeadura por espalhamento – colônias
 - Semeadura em profundidade – colônias e células abaixo da superfície
 - Número de colônias $\propto$ n. células. Cada colônia veio de uma única célula

Spread-plate method

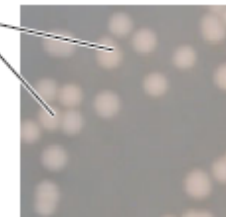
Sample is pipetted onto surface of agar plate (0.1 ml or less)

Sample is spread evenly over surface of agar using sterile glass spreader

Incubation

Typical spread-plate results

Surface colonies



Deborah O. Jung

Pour-plate method

Sample is pipetted into sterile plate

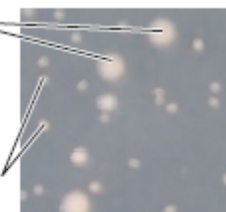
Sterile medium is added and mixed well with inoculum

Solidification and incubation

Typical pour-plate results

Surface colonies

Subsurface colonies

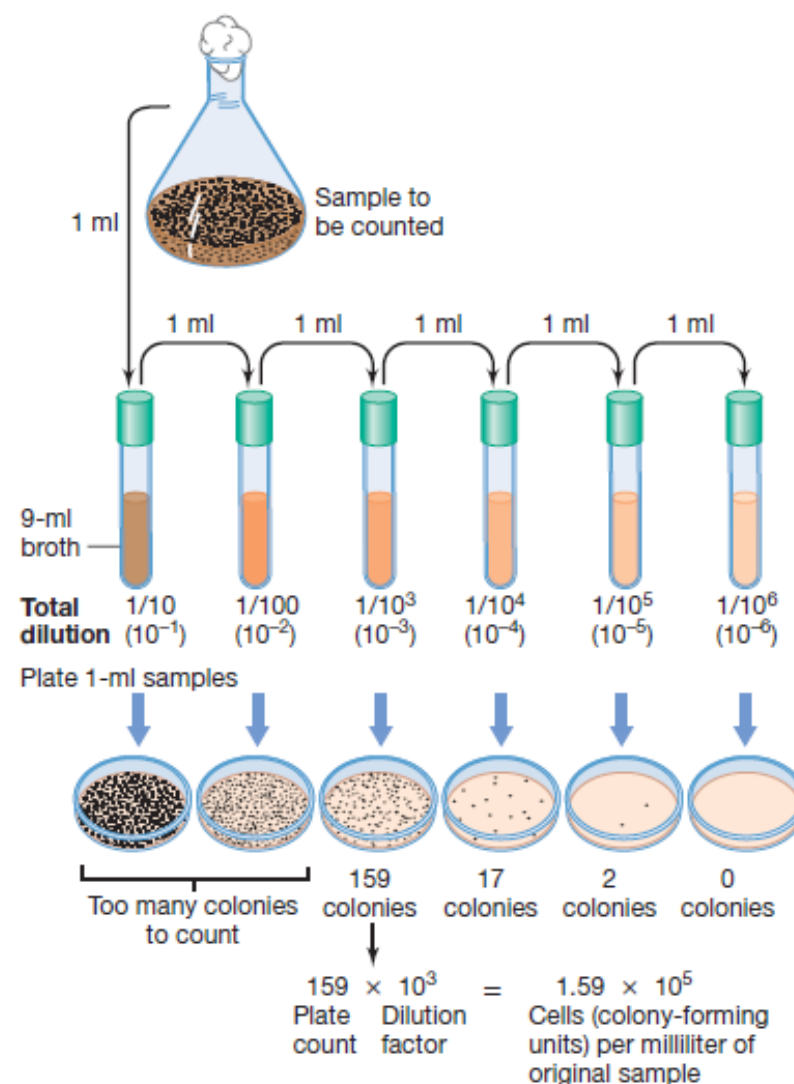


Deborah O. Jung

Diluição antes do plaqueamento

24

- Placas confiáveis tem entre 30-300 colônias
- Presença de muitas colônias, pode haver sobreposição de colônias
- Poucas colônias, não é confiável estatisticamente
- Importante fazer replicas para diminuir erros nas medidas
- Contagem é feita em “unidade formadora de colônia”
- Método bastante usado
 - Analisar contaminações
 - Sensível
 - Medir a quantidade de células de um organismo específico proveniente de uma amostra mista – selecionando o meio de cultura na placa de petri
 - ✦ Identificação de bactérias entéricas em água de piscina (própria ou não ao banho)



Diluição antes do plaqueamento

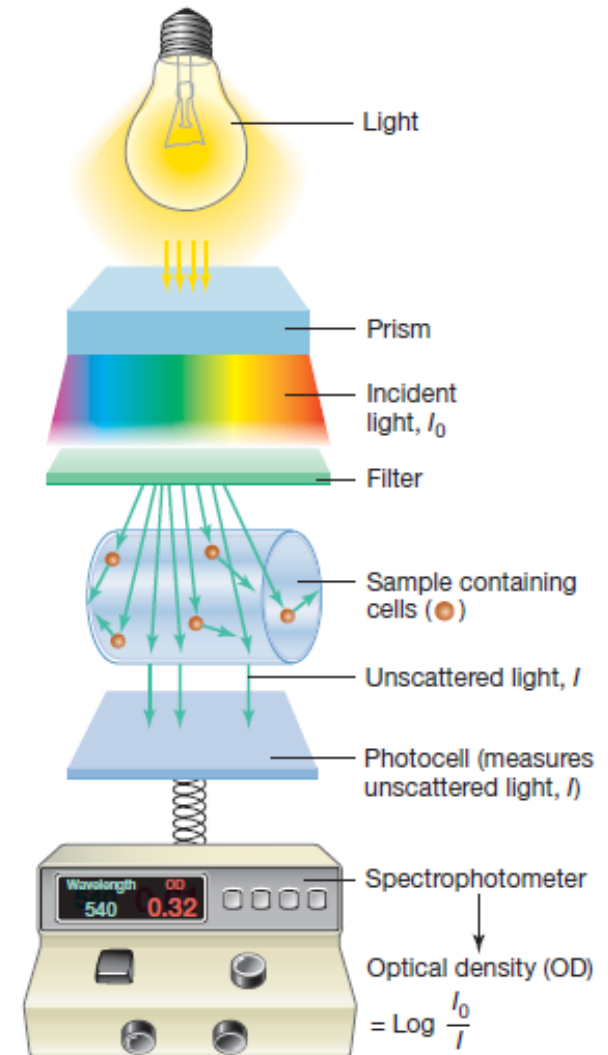
25

- A contagem em placa é inadequada para avaliar a quantidade de células totais em uma amostra natural (como vc mimetiza o meio natural?)
 - Solo
 - Mar
 - ...
- Grande anomalia da contagem de placa
 - Limita a técnica

D.O – medida de turbidez

26

- Tomar cuidado com:
 - Caminho ótico
 - Comprimento de onda
 - ✦ 480nm
 - ✦ 540nm
 - ✦ 600nm - OD_{600} of 1.0 = 8×10^8 cells/ml
 - ✦ 660nm

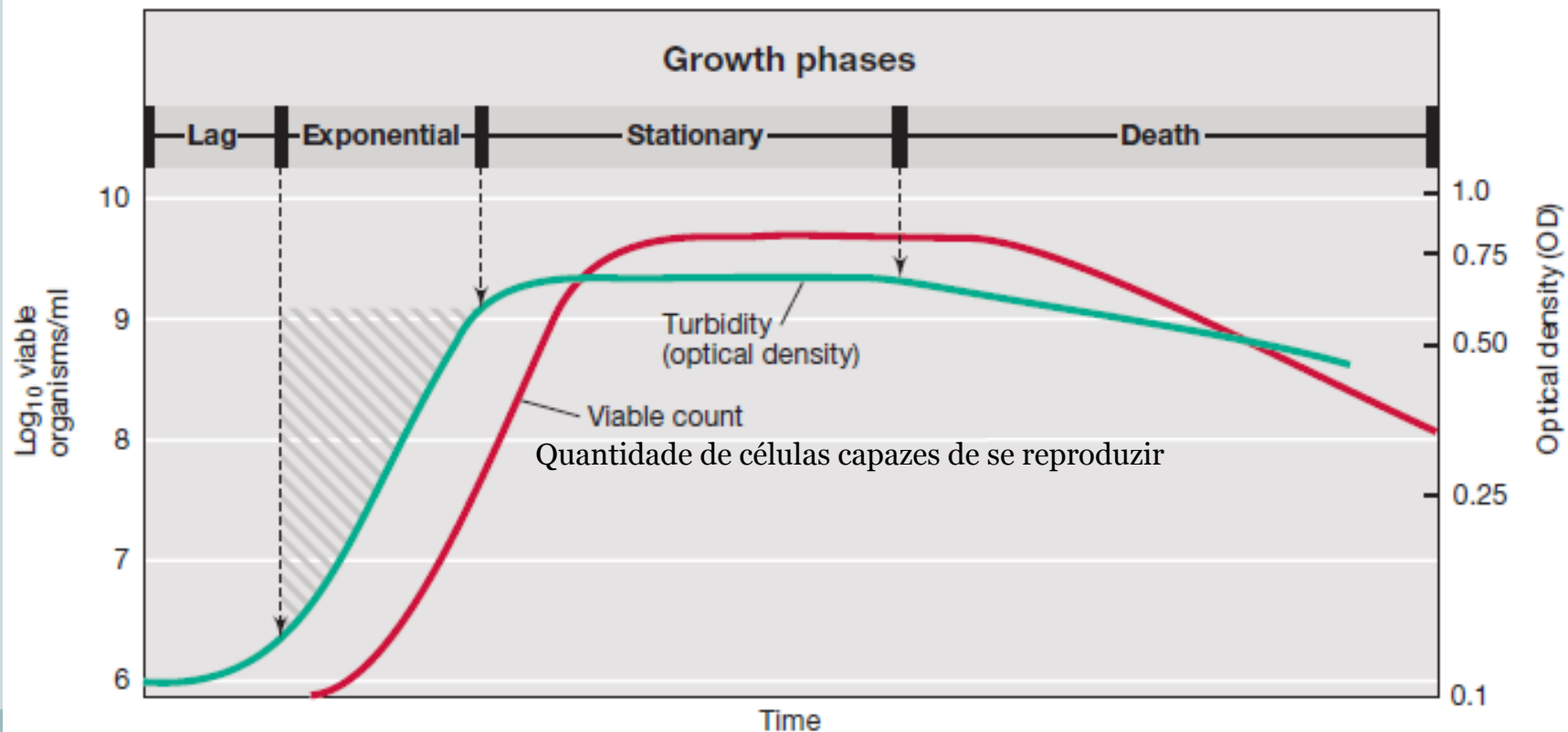


(a)

Ciclo de crescimento microbiano

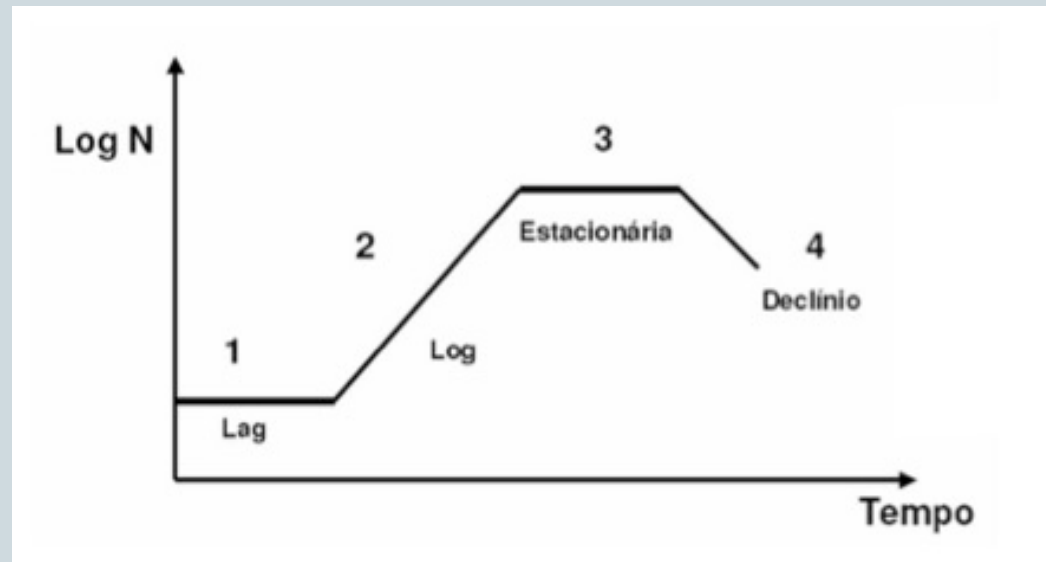
27

- Curva de crescimento de uma cultura em batelada (cultura em recipiente fechado) – estes conceitos de fase só se aplicam a populações de células e não a células individuais



Curva de crescimento

28



Fases de crescimento

29

- **Fase lag**
 - Adaptação do organismo ao meio de cultura
- **Fase exponencial**
 - Condições mais saudáveis
 - Neste estágio são feitos ensaios enzimáticos, expressão gênica e etc
- **Fase estacionária**
 - Limitações dos nutrientes
 - Acúmulo de produtos secretados pelos micro-organismos – inibe o crescimento
 - Pode ocorrer divisão celular quando uma célula morre -Crescimento críptico
- **Fase de Morte**
 - Morte celular
 - Lise celular

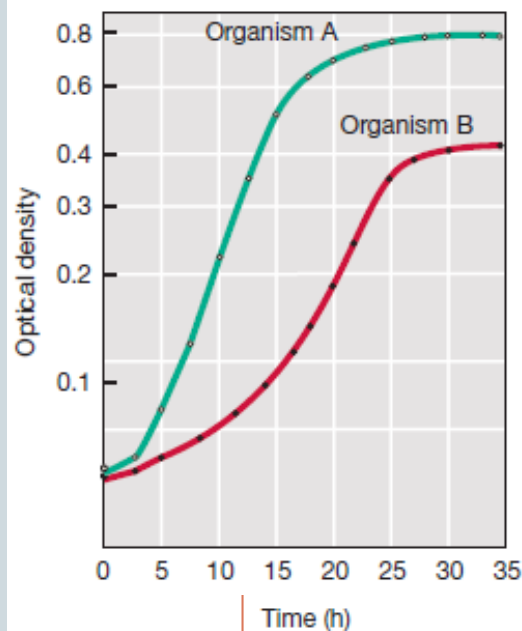
Fase lag – Fase de adaptação

30

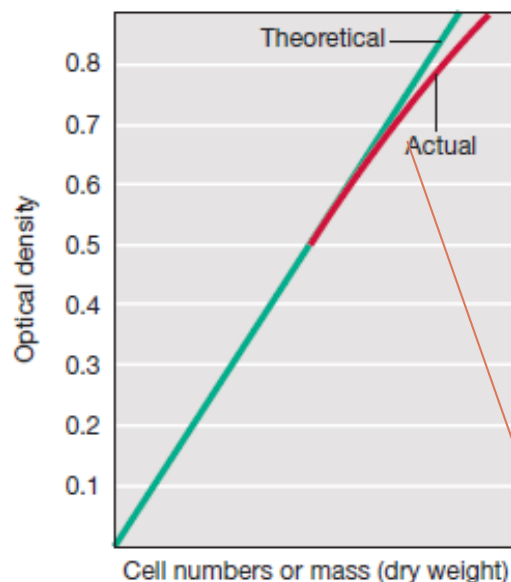
- Tempo pode ser curto ou longo depende:
 - Da origem do inóculo (adaptação prévia do aparato enzimático ao meio)
 - Das condições do meio de cultura atual
- Transferência de um meio para outro pode requerer a síntese de diferentes enzimas e essa adaptação pode demorar (transferência de meio 2xTY para M9).
 - Exemplo:
 - ✦ Inóculo na fase exponencial não tem fase lag
 - ✦ Inóculo na fase estacionária tem fase lag

Medida da quantidade de células por D.O

31



(b)



(c)

● Problema:

- Agregados celulares
- biofilme

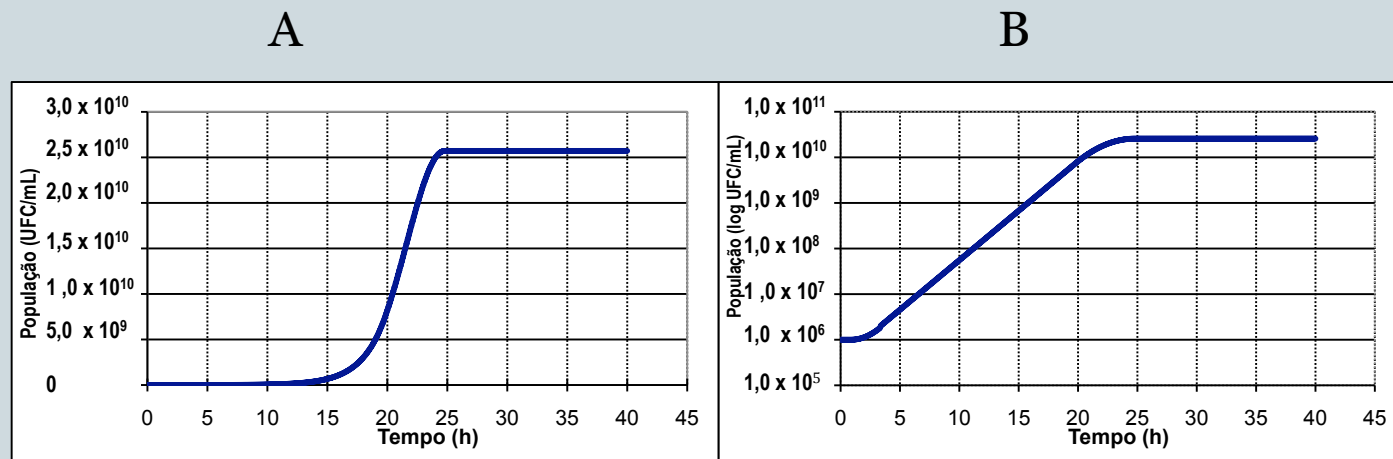
Exemplo da curva de crescimento de dois organismos

D.O é subestimada em quantidade de células elevadas

Muitas células – a luz dispersa por uma célula pode ser dispersa por outra, dando a impressão de que não houve dispersão

Curva de crescimento

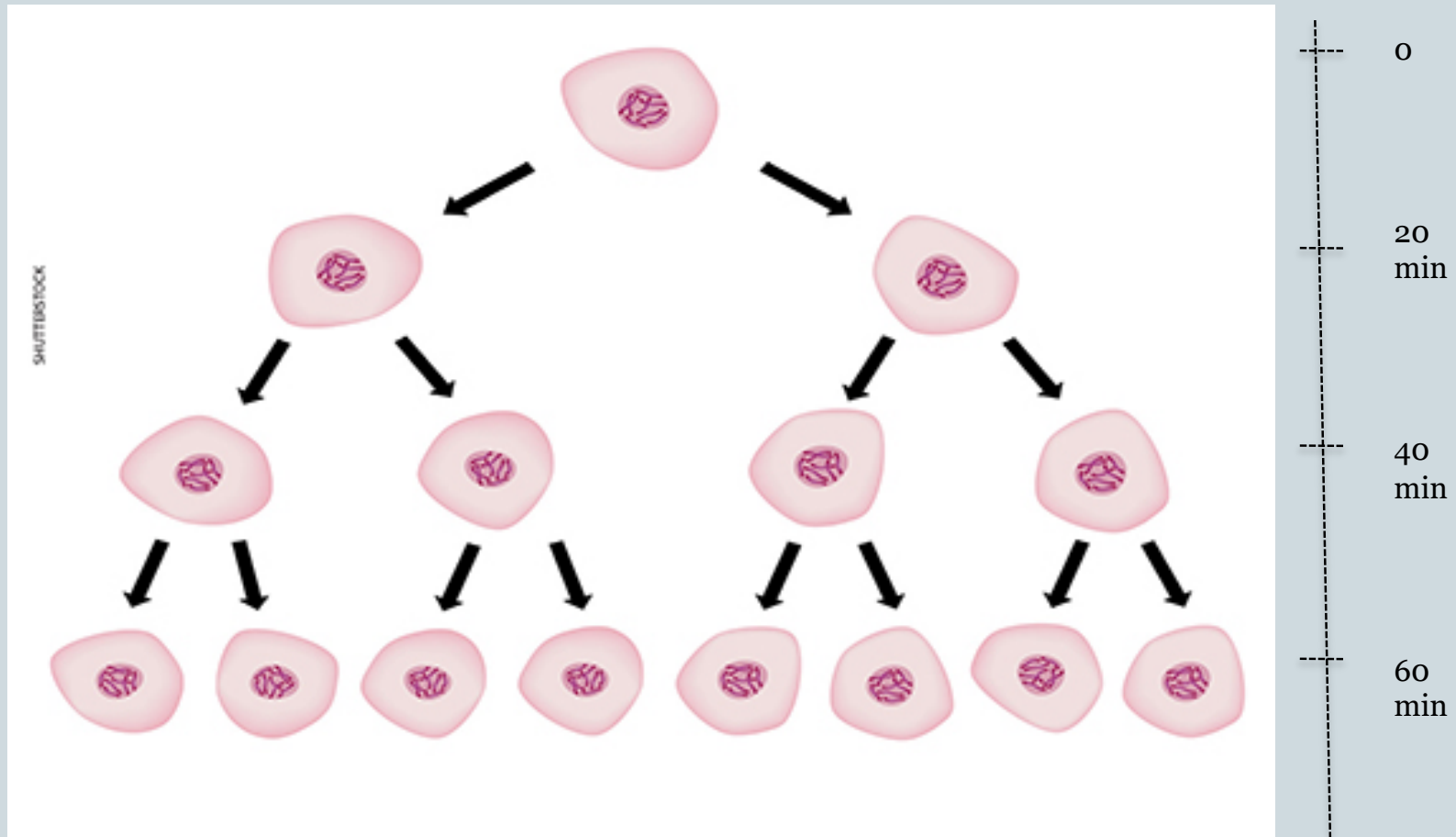
32



Crescimento de uma população bacteriana em curvas construídas a partir dos mesmos dados, em gráfico linear (A) e monologaritmico (B). A escala em (A) pode sugerir, erroneamente, tempo maior para a fase lag e menor para a fase exponencial

Cálculo do Crescimento exponencial

33



Duplicação de uma população bacteriana a intervalos de tempo constantes

Cálculo do Crescimento exponencial

34

Depois de n gerações, o número de células (x) será

$$x = x_0 2^n \quad (1)$$

Tomando-se a forma logaritmica da equação (1)

$$\log x = \log x_0 + \log 2^n$$

$$\log x = \log x_0 + n \log 2$$

$$\log x = \log x_0 + 0,301 n$$

$$\log x - \log x_0 = 0,301 n$$

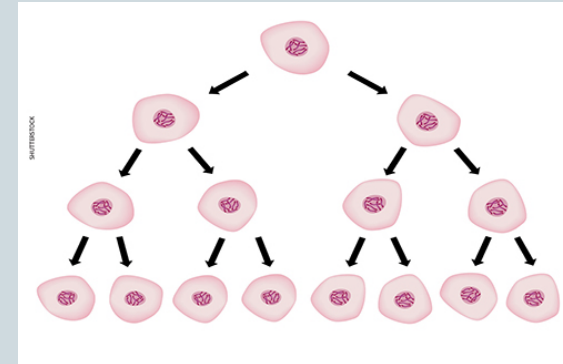
$$\log x/x_0 = 0,301 n$$

$$n = (\log x/x_0)/0,301 \quad (2)$$

Com (2) calcula-se o número de gerações n transcorridas para que a população fosse de x_0 para x , estabelecendo como t o tempo para que as n gerações ocorram

$$g = t/n \quad (3)$$

Cálculo do tempo de geração g



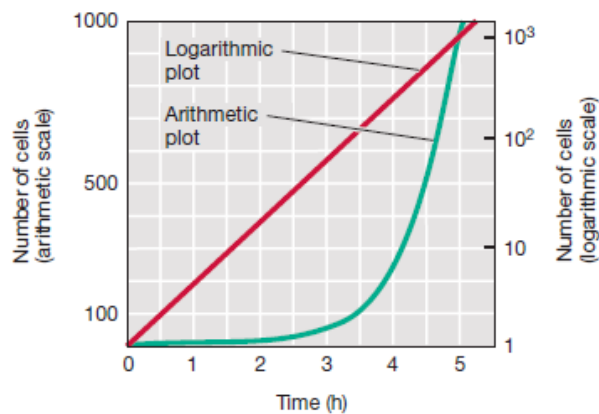
Crescimento

35

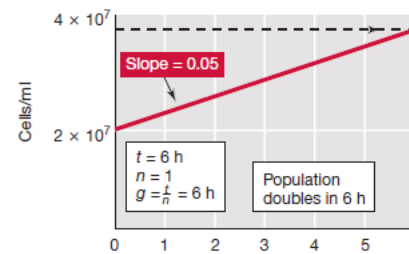
- Aumento do n. de células
- Tempo de geração:
 - Depende das condições do meio de cultura, pH, temperatura, oxigênio, etc
 - Em média 0.5-6h. Há casos que é menos de 20min e mais de uma semana
- Crescimento exponencial de uma população microbiana

Time (h)	Total number of cells	Time (h)	Total number of cells
0	1	4	256 (2^8)
0.5	2	4.5	512 (2^9)
1	4	5	1,024 (2^{10})
1.5	8	5.5	2,048 (2^{11})
2	16	6	4,096 (2^{12})
2.5	32	.	.
3	64	.	.
3.5	128	10	1,048,576 (2^{19})

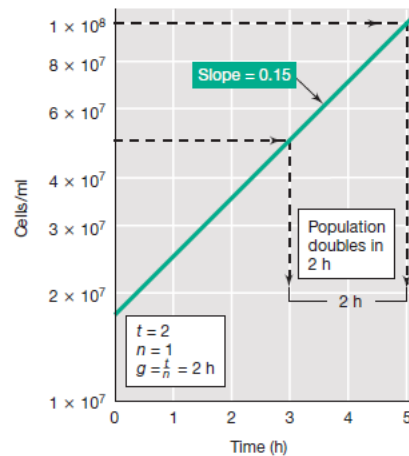
(a)



(b)



(a)



(b)

• n número de gerações formadas no intervalo de tempo T

• g tempo de geração

• Em uma escala logarítmica a inclinação da curva está diretamente relacionada ao g

• Quanto maior a inclinação menor o g

Maior velocidade = menor g

Menor velocidade de crescimento = maior g

Fase final do crescimento logarítmico

36

- Qual o problema de comer comida no self service
- Pq a comida mantida fora do refrigerador estraga mais rápido

Time (h)	Total number of cells	Time (h)	Total number of cells
0	1	4	256 (2^8)
0.5	2	4.5	512 (2^9)
1	4	5	1,024 (2^{10})
1.5	8	5.5	2,048 (2^{11})
2	16	6	4,096 (2^{12})
2.5	32	.	.
3	64	.	.
3.5	128	10	1,048,576 (2^{19})

Cada 30 min. tem mais 1 célula

Cada 30 min. tem mais 2048 célula

Fatores que afetam o crescimento microbiano

37

- Estado Químico e Físico do Ambiente
 - Temperatura
 - pH
 - Quantidade de água
 - Oxigênio
 - Outros fatores
 - ✦ Pressão
 - ✦ Radiação

Efeito da Temperatura

38

- Temperatura

- Mínima

- ✦ Gelificação da membrana, quando a membrana para funcionar, como no transporte de nutrientes a bactéria para de crescer.

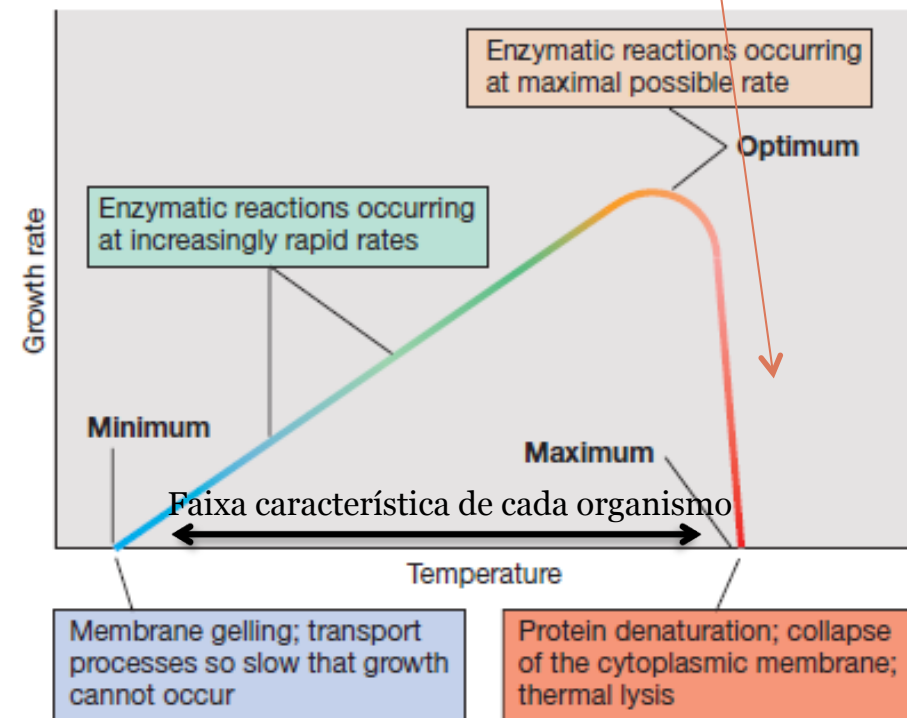
- Ótima

- ✦ Condição em que todos os componentes estão na sua atividade máxima

- Máxima

- Faixa normal de variação de temperatura no planeta é 15-40 °C – não conseguem crescer em todas as faixas

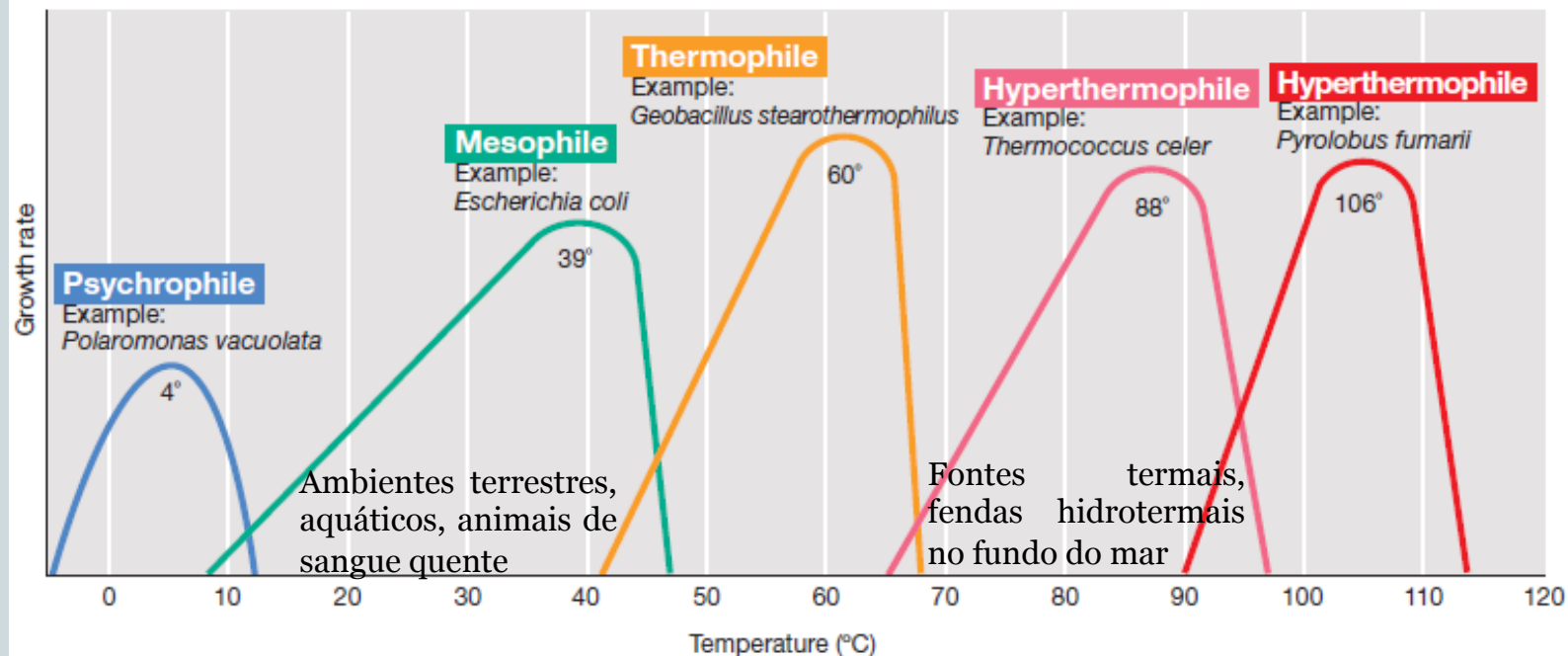
Processo geralmente irreversível
Exemplo febre



Efeito da Temperatura

39

- Classes térmicas dos organismos



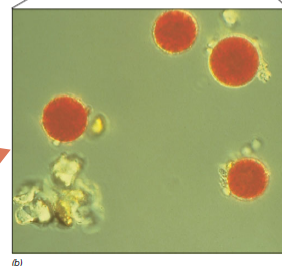
Micro-organismos Psicrófilos

40

- Organismos extremófilos – vivem em condições extremas, muito frio ou muito quente
- São encontrados em ambientes constantemente frios
- Encontra em sulcos de água dentro do gelo (-12°C).
- Ambientes frios na Terra
 - Ártico
 - Antártida
 - No fundo do mar (1-5 °C)
- Essas algas formam massas densas no interior do gelo →
- Possuem vários pigmentos carotenoides (coloração verde, marrom, laranja)

↑ Alga verde que esporula (temp.) e fica vermelha

Algas da neve
Chlamydomonas nivalis

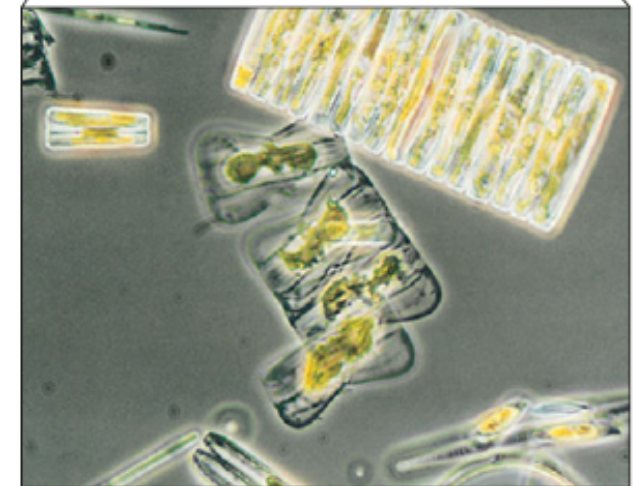


Antártida



(a)

Algas verdes (eucariótos fototróficos)



(b)

Micro-organismos Psicrófilos

41

- Como eles são tolerantes a baixas temperaturas?
 - Armazenar células -80°C adicionando crio protetores
 - Membrana tem maior quantidade de ácidos graxos insaturados (maior quant. Ligações duplas) – ponto de congelamento diminui
 - ✦ *Psychroflexus* tem 4 a 5 lig. duplas – áci. graxos são mais flexíveis que ác. Graxos saturados
 - Enzimas tem (observações)
 - ✦ maior n. de aa polares
 - ✦ Menor n. aa hidrofóbicos
 - ✦ Menor quantidade de interações fracas
 - ✦ Menos interações inter-domínios

Micro-organismos Psicrotolerantes

42

- Organismo capazes de crescer a 0°C (lento), com temperatura ótima de 20-40°C.
- São mais abundantes que os psicrófilos
- Encontrados solos, água de clima temperado, carne, leite, ...

Crescimento microbiano em altas Temperaturas

- Organismo procariotos com temp. ótima > 45°C (*termófilos*) > 80°C (*hipertermófilos*)
- Vulcões
- Fontes termais



(a)



(b)

Fontes termais
ferventes

Table 5.1 Presently known upper temperature limits for growth of living organisms

Group	Upper temperature limits (°C)
Macroorganisms	
<i>Animals</i>	
Fish and other aquatic vertebrates	38
Insects	45–50
Ostracods (crustaceans)	49–50
<i>Plants</i>	
Vascular plants	45 (60 for one species)
Mosses	50
Microorganisms	
<i>Eukaryotic microorganisms</i>	
Protozoa	56
Algae	55–60
Fungi	60–62
Prokaryotes	
<i>Bacteria</i>	
Cyanobacteria	73
Anoxygenic phototrophs	70–73
Chemoorganotrophs/chemolithotrophs	95
<i>Archaea</i>	
Chemoorganotrophs/chemolithotrophs	122

Figure 5.22 Growth of hyperthermophiles in boiling water.

Características dos Termófilos

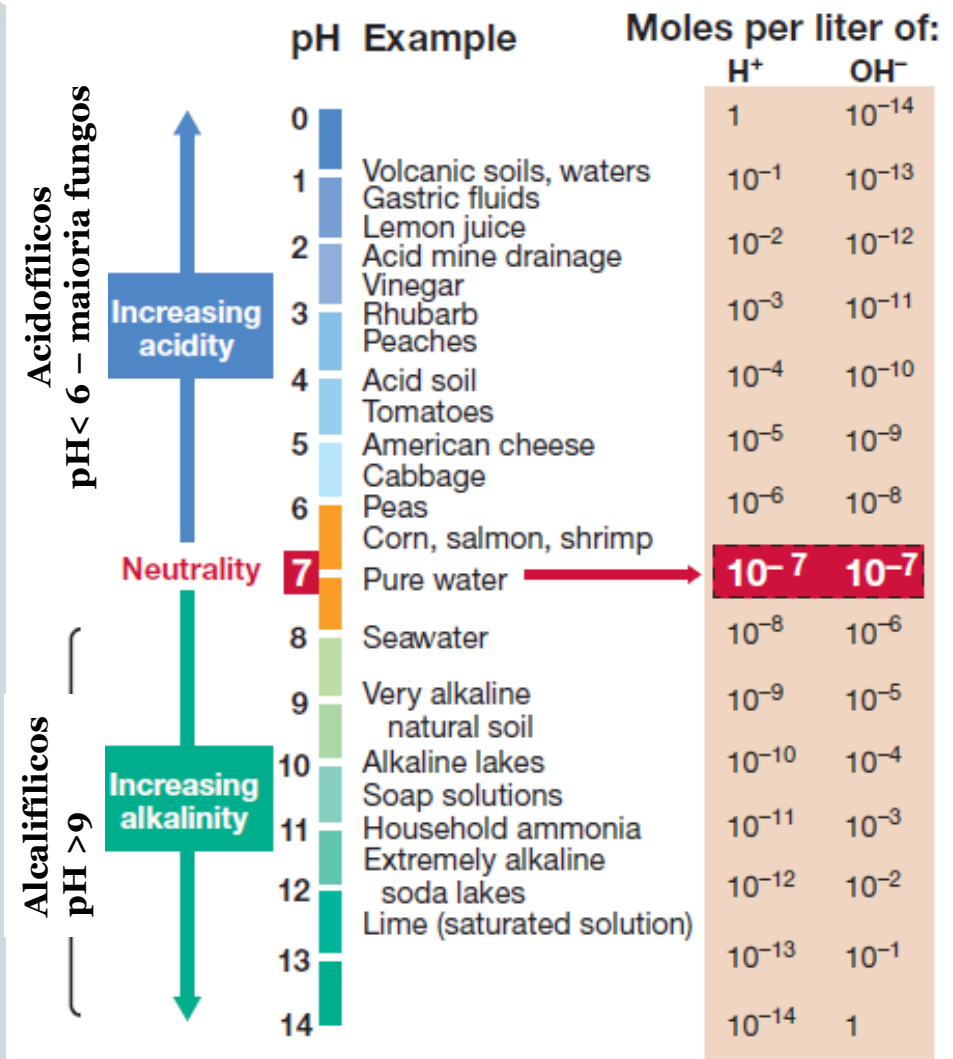
44

- Proteínas termoestáveis
- Pouca diferença na seq. de aa
- Membrana rica em ácidos graxos saturados p.i é mais alto (mais contato com as cadeias saturadas)
 - hipóteses
 - ✦ Mudanças pontuais chaves na sequência de aa que aumenta sua estabilidade
 - ✦ Aumento de compostos como diglicerol fosfato, manossilglicerato e outros que podem aumentar a estabilidade da proteína
- Exemplo de aplicabilidade biotecnológica é a *T. aquaticus* (Taq polimerase) no PCR

Efeito do pH

45

- Faixa de pH que crescem que variam de 2-3 unidades
- pH ótimo
- Maioria crescem em pH 4-9
- Poucos em pH <3 e >9
- Estabilidade da membrana é dependente de altas [] de H⁺
- Acidofílicos
 - Maior quantidade de fungos (pH 5 ou menos)
 - Obrigatórios, não crescem em pH neutro
 - ✦ *Acidithiobacillus*
 - ✦ Vários gêneros de *Archaea*
 - *P.oshimae* –*Archaea*- pH ótimo 0.7 e em pH 4 lise celular.
 - pH intracelular é 4.5



Efeito do pH

46

- Alcalifílicos
 - pH ótimo >9
 - pH intracelular mais elevado encontrado foi de 9.5
 - Encontrados
 - ✦ Lagos e solos ricos em carbonato de sódio
 - Exemplos
 - ✦ *Bacillus firmus* cresce na faixa de pH 7.5-11
- Crescimento em laboratório se usa tampões
 - Evita que o pH mude em função do metabolismo do organismo que consome e produz substâncias ácidas e/ou básicas

Table 5.2 Relationships of microorganisms to pH

Physiological class (optima range)	Approximate pH optimum for growth	Example organism ^a
Neutrophile (pH >5.5 and <8)	7	<i>Escherichia coli</i>
Acidophile (pH <5.5)	5	<i>Rhodospila globiformis</i>
	3	<i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>
	1	<i>Picrophilus oshimae</i>
Alkaliphile (pH ≥ 8)	8	<i>Chloroflexus aurantiacus</i>
	9	<i>Bacillus firmus</i>
	10	<i>Natronobacterium gregoryi</i>

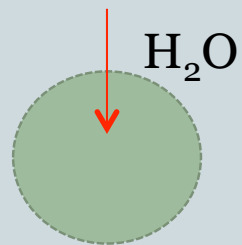
^a *Picrophilus* and *Natronobacterium* are Archaea; all others are Bacteria.

Efeito Osmótico

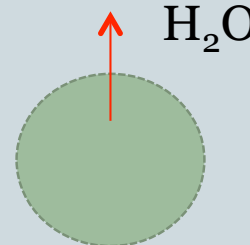
47

- Osmose- Migração de moléculas de água de um ambiente menos concentrado (hipotônico) para um ambiente mais concentrado (hipertônico)– até chegar em um equilíbrio (isotônico)

Equilíbrio aquoso +



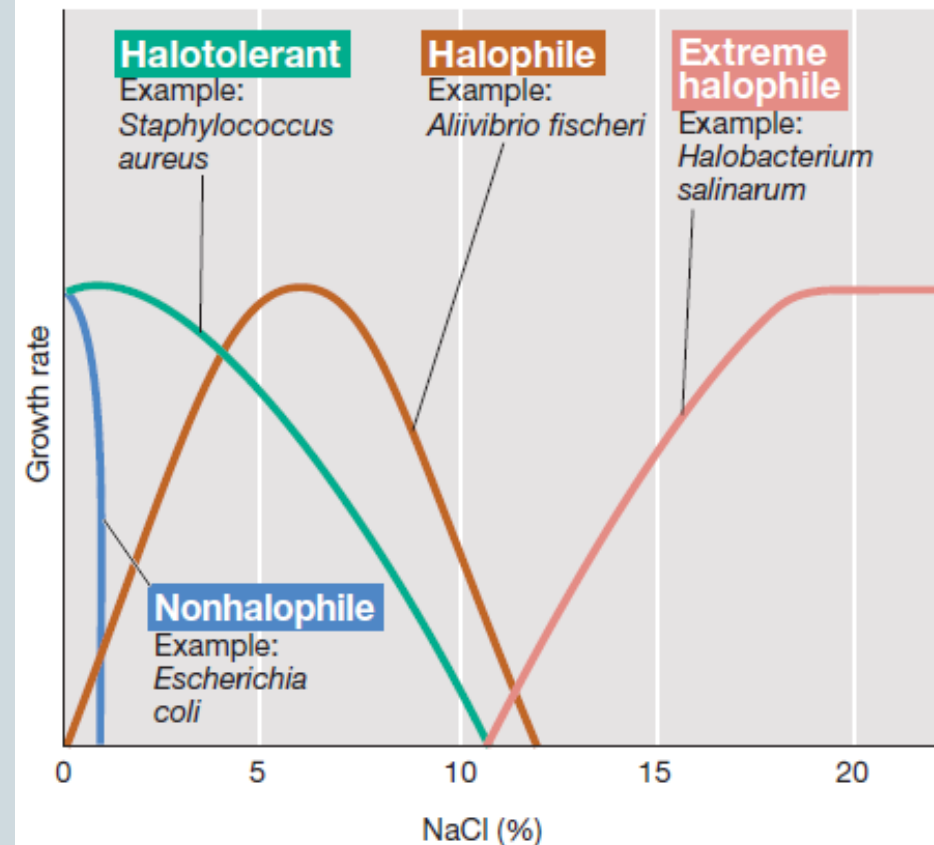
Pode causar morte celular-desidratação



Efeito Osmótico

48

- Halófilos discretos (1-6% NaCl)
- Halófilos moderados (7-15% NaCl)
- Halófilos extremos são um problema na indústria alimentícia que usa alta concentração de sal e de açúcares (osmófilos) como conservantes
- Xerófilos – crescem em ambientes com pouca quantidade de água.
 - As células acumulam ou sintetizam solutos compatíveis para manter o equ. aquoso +
- Não halófilos crescem em ambientes com pouco sal.



Efeito do Oxigênio

49

Table 5.5 Oxygen relationships of microorganisms

	Group	Relationship to O ₂	Type of metabolism	Example ^a	Habitat ^b
Capazes de respirar usando O ₂	Aerobes	Ar tem 21% O ₂			
	Obligate	Required	Aerobic respiration	<i>Micrococcus luteus</i> (B)	Skin, dust
	Facultative	Not required, but growth better with O ₂	Aerobic respiration, anaerobic respiration, fermentation	<i>Escherichia coli</i> (B)	Intestino grosso
	Microaerófilos	Required but at levels lower than atmospheric	Aerobic respiration	<i>Spirillum volutans</i> (B)	Lake water
Respiração sem O ₂	Anaerobes				
	Aerotolerant	Not required, and growth no better when O ₂ present	Fermentation	<i>Streptococcus pyogenes</i> (B)	Trato respiratório superior
	Obligate	Harmful or lethal	Fermentation or anaerobic respiration	<i>Methanobacterium formicicum</i> (A)	Sedimentos de lagos anóxicos

Encontrada em 3 grupos:

- 1- Procariotos
bactérias anaeróbias – *Clostridium*
Archaea
- 2- Fungos
- 3- Protozoários

Efeito do Oxigênio no crescimento no laboratório

50

- **Aeróbios**

- Necessita de agitação (aeração forçada)
- Adicionar O_2

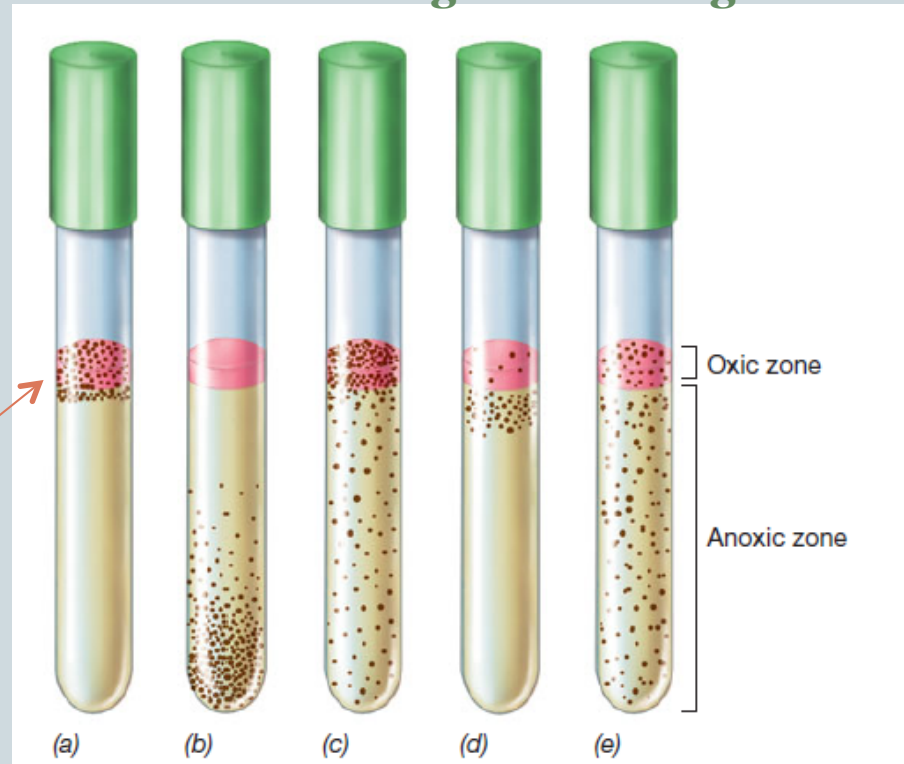
- **Anaeróbios**

- Remover o O_2 através da adição de agentes redutores como tioglicolato (reduz o O_2 a água)
- Casos de anaeróbios obrigatórios a remoção total de O_2 é complicada, crescer em ambientes específicos

O_2 consegue penetrar apenas na superfície, o resto do meio é sem O_2 por causa do tioglicolato

Aerobes
Obligate
Facultative
Microaerophilic
Anaerobes
Aerotolerant
Obligate

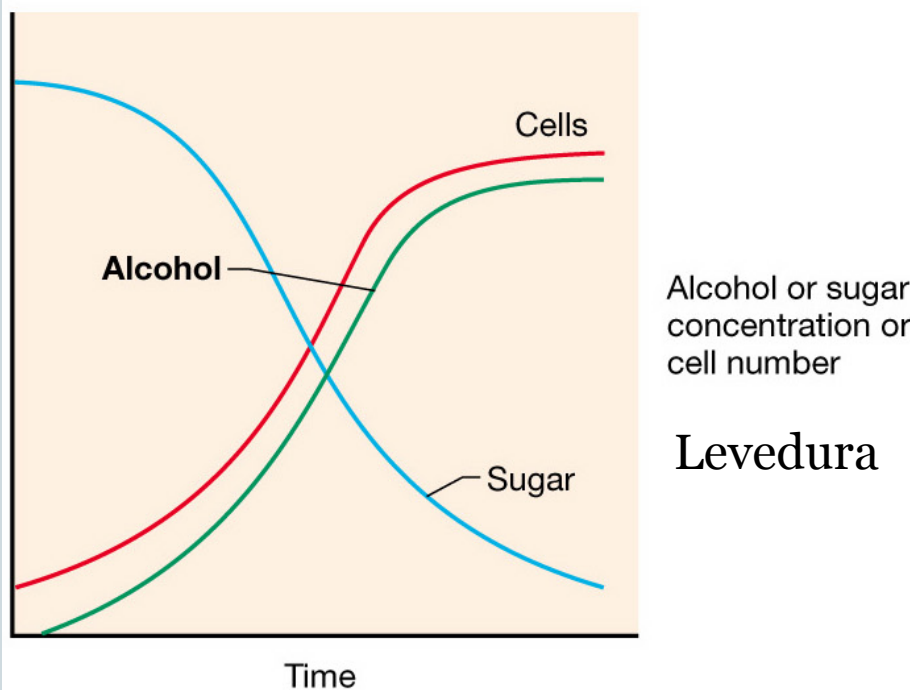
Teste do efeito do Oxigênio nos organismos



Metabólitos Primário e Secundário

51

Crescimento Primário
Metabólico constantemente sintetizado

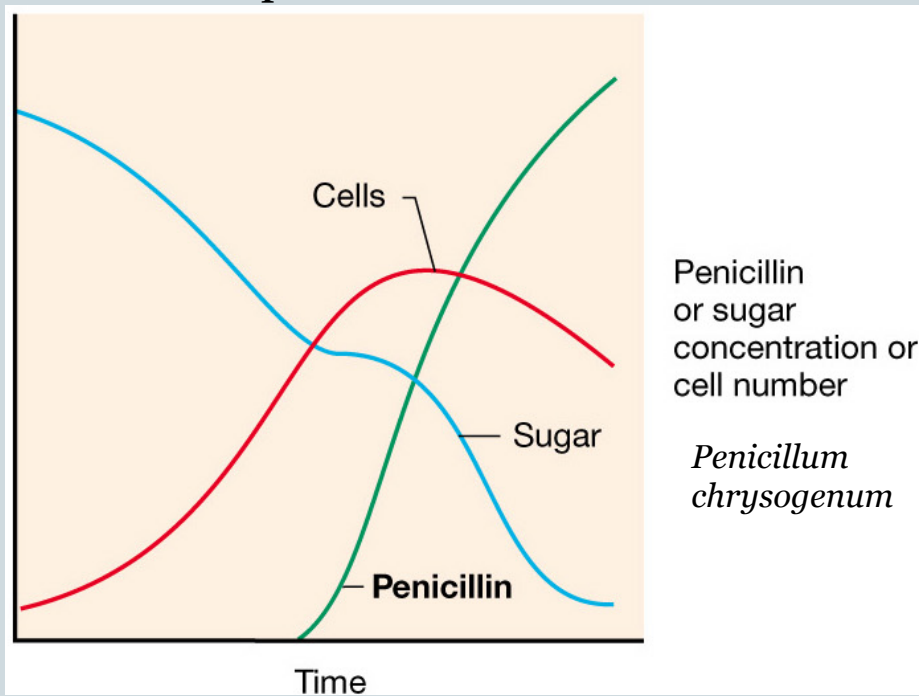


- Geralmente não são produzidos em grandes quantidades
- Faz parte do metabolismo

Metabólito Secundário

52

Crescimento Secundário
Metabólico sintetizado próximo ao final da fase exponencial-fase estacionária



- Não são essenciais ao crescimento nem a reprodução

- Depende das condições do meio de cultura

- Grupo de compostos relacionados

Ex. *Streptomyces* pode produzir 30 antibióticos diferentes relacionados

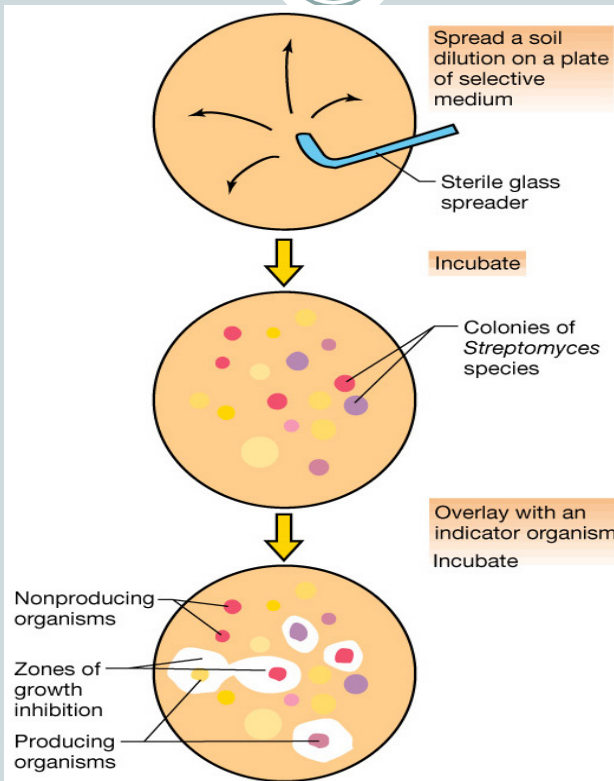
- Superprodução

- Geralmente são produzidos durante a esporulação

Ex. Antibióticos são produzidos por fungos e bactérias formadoras de esporo (bactérias do grupo actinomicetos)

Busca por novos antibióticos

53



(a)

Semear uma população de organismos desconhecidos

Deixa crescer células isoladas

Semear bactérias testes (conjunto de bactérias relacionadas a patógenos em que o antibiótico pode ser utilizado)

Analisar halos onde não há crescimento de bactérias testes

Bioprodutos microbianos

REPORTAGENS

54



Biodiversidade brasileira é fonte de microorganismos produtores de plásticos e elastômeros biodegradáveis

Luiziana da Silva, Maria Filomena Rodriques & José Gomes

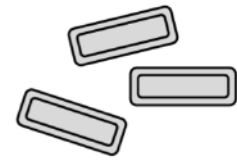
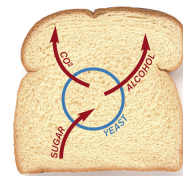


CHEESE PRODUCTION



Saccharomyces cerevisiae

Zymomonas mobilis



Glycolysis/fermentation

Ethanol



Beverages



Liquid fuel

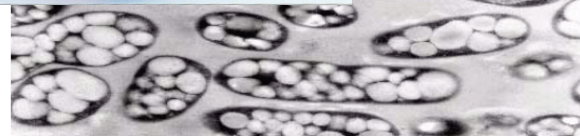
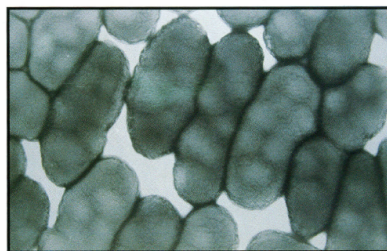


Figura 1. Grânulos de polímero biodegradável do tipo poli-3-hidroxibutirato (P3HB) no interior de bactérias (preparação e fotomicrografia eletrônica realizadas por Rita de Cássia Paro Alii, Agrupamento de Biotecnologia, DQ, IPT)



Acima, a bactéria *Ralstonia eutropha*, que transforma açúcar em polímero. Ao lado, utensílios fabricados com bioplástico



HOW DID THEY MAKE INSULIN FROM RECOMBINANT DNA?

