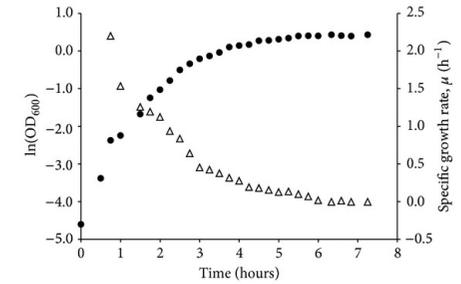
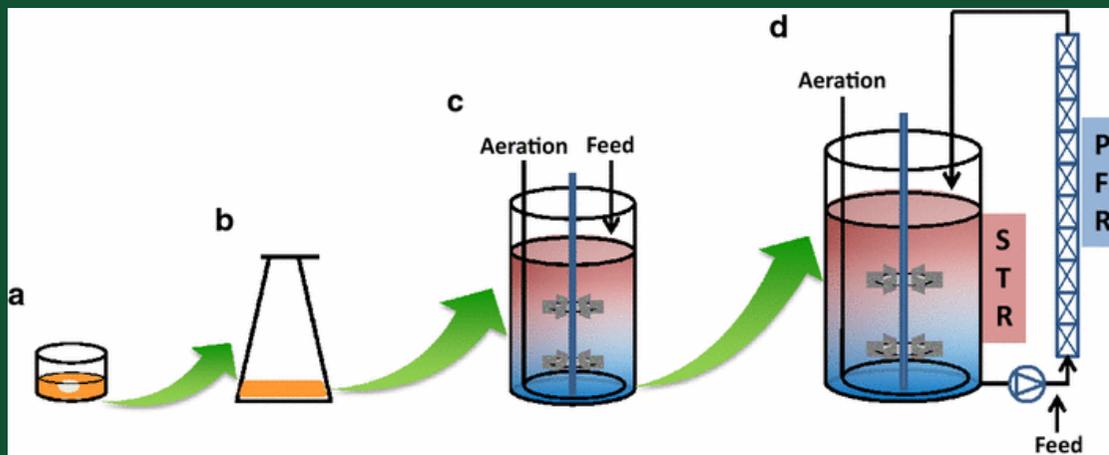




# Fisiologia bacteriana: metabolismo, nutrição crescimento



LUIZIANA FERREIRA DA SILVA  
LABORATÓRIO DE BIOPRODUTOS  
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA  
ICB-USP



# Tópicos

2

- Diversidade bioenergética e tipos de metabolismo
- Nutrição microbiana e Meios de cultura
- Efeitos de fatores ambientais no crescimento
- Crescimento bacteriano e multiplicação celular
- 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.

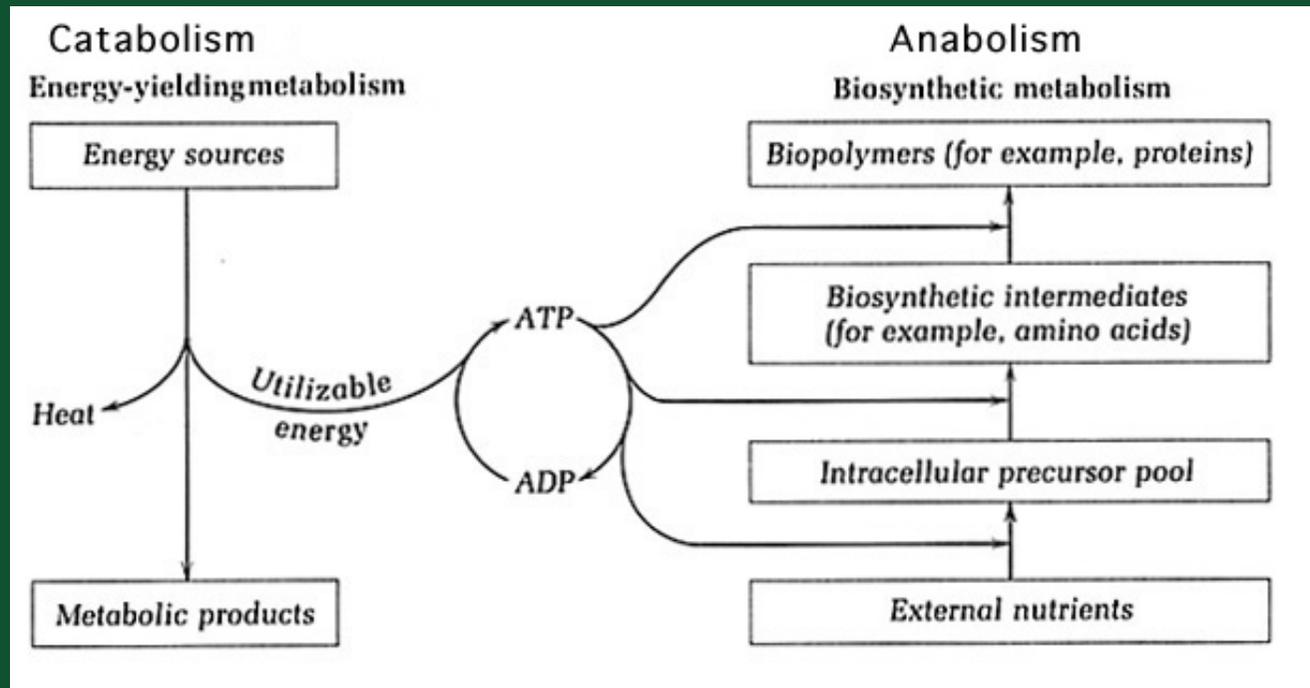
# Diversidade Bioenergética

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 elétrons ( $e^-$ ), diferentes doadores de  $e^-$ . O transporte de  $e^-$  e a força próton motiva vinculam todos esses processos.

# Catabolismo e Anabolismo

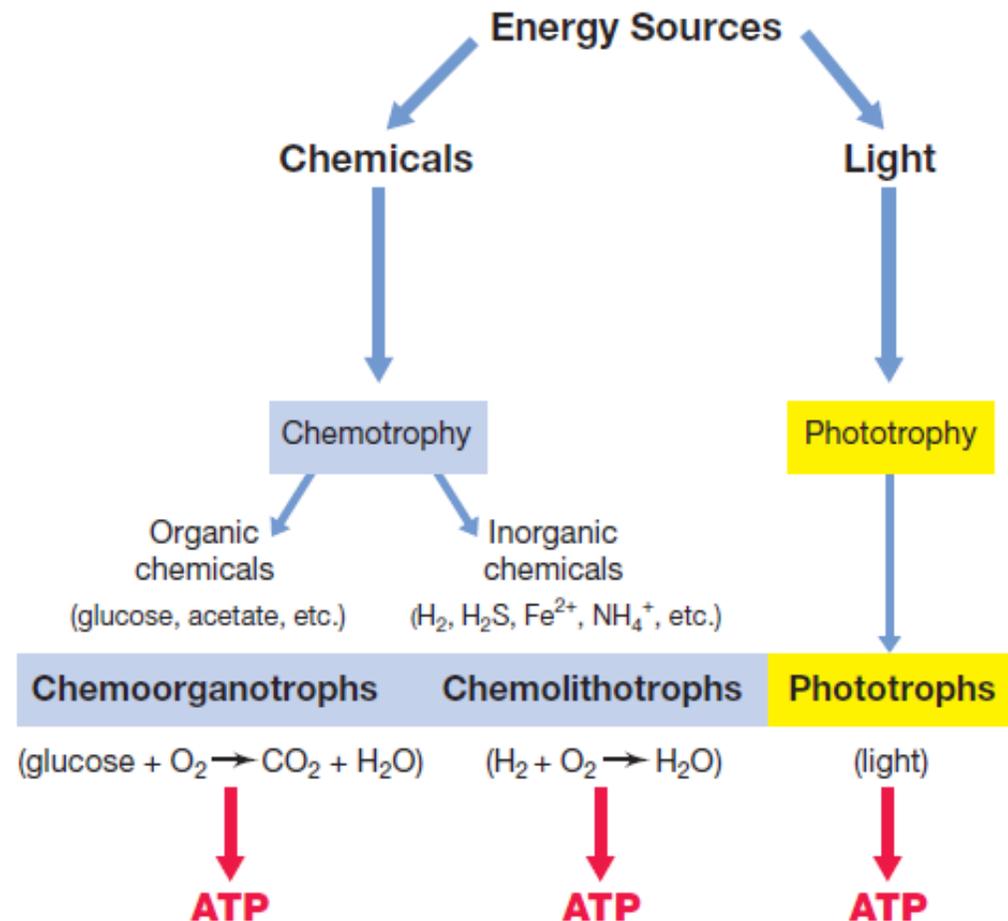
5



# Fontes de Energia

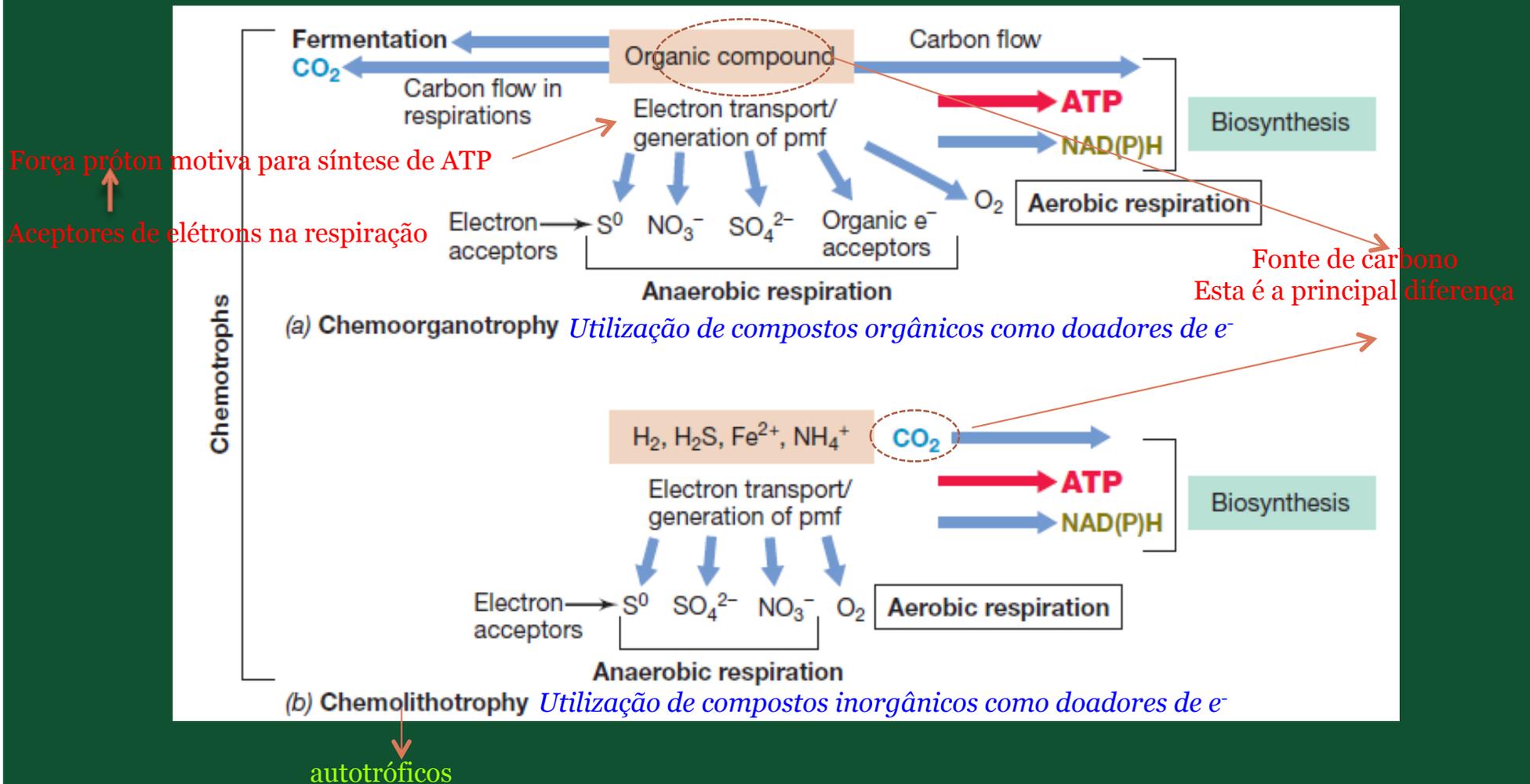
6

- Sergei Winogradsky com estudos de bactérias oxidantes de enxofre e de fixação de nitrogênio prôpos 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  $\text{CO}_2$



# Diversidade Catabólica

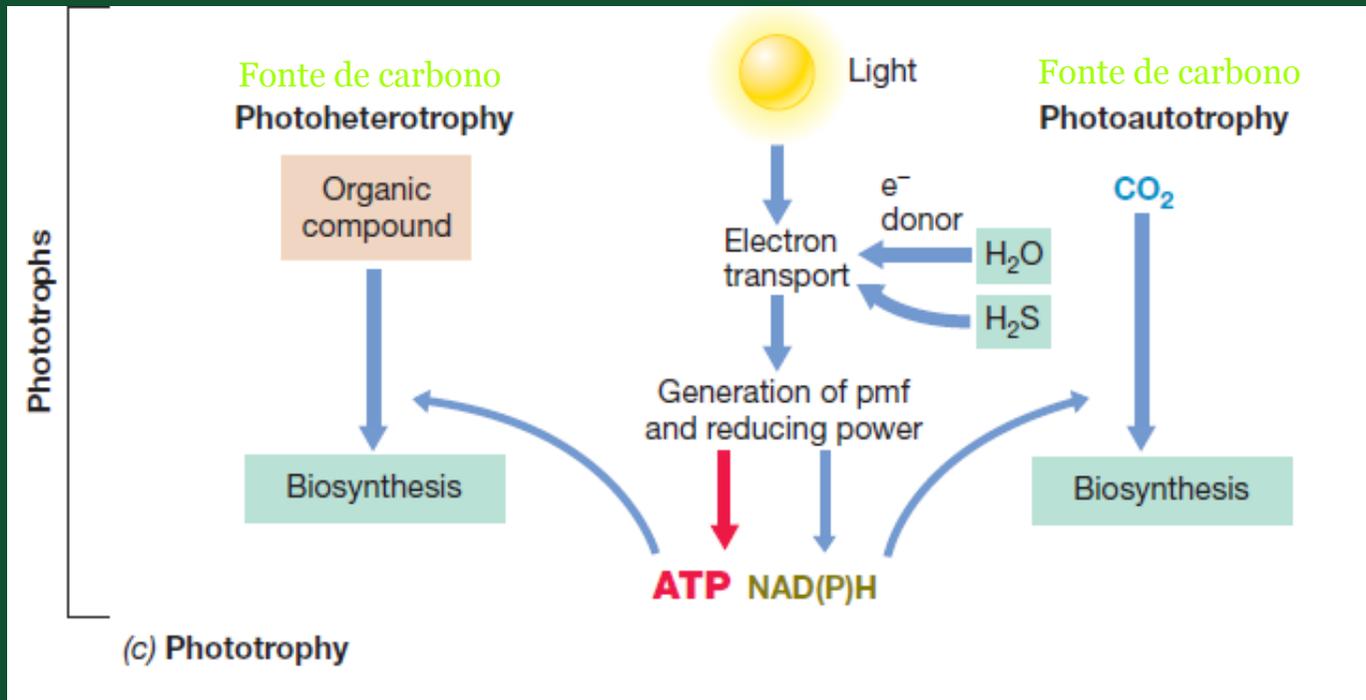
7



# Diversidade Catabólica

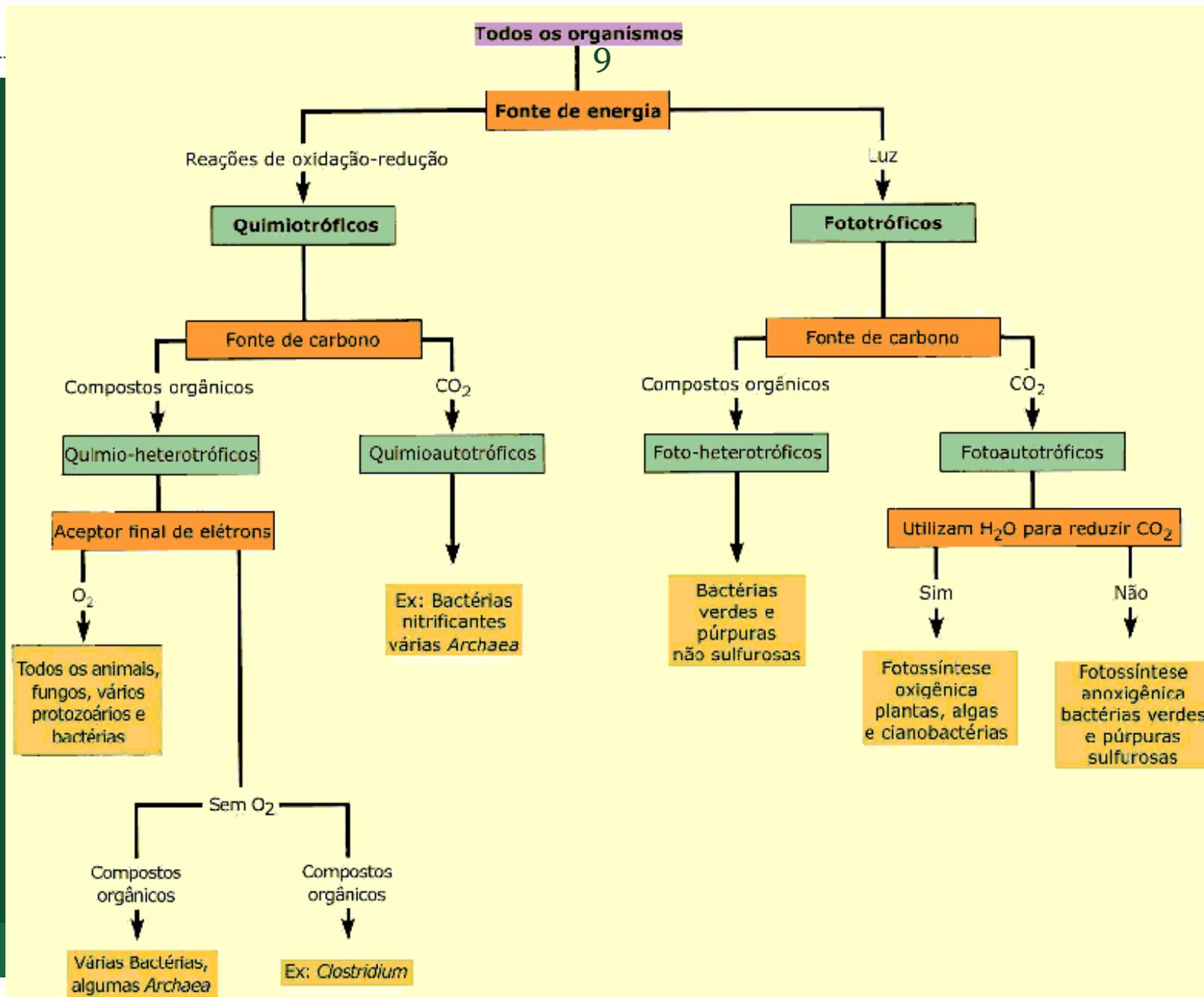
8

## 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  $\text{O}_2$

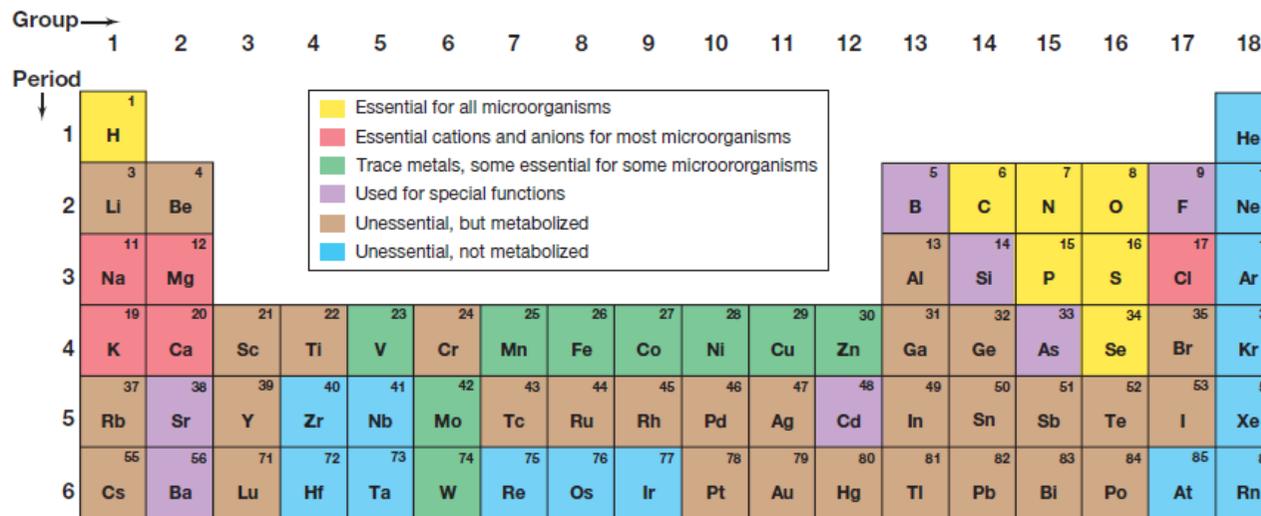
# Classificação dos seres vivos, de acordo com a utilização das fontes de energia e carbono



# Nutrição microbiana

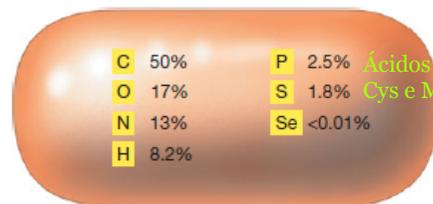
10

- 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



(a)

Essential elements as a percent of cell dry weight



(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)

Ácidos nucleicos e fosfolipídios  
 Cys e Met, vitaminas (ex. coenzimaA)

# Macronutrientes

11

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

<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 <sub>12</sub> ; transcarboxylase (only in propionic acid bacteria)
Copper (Cu)	In respiration, cytochrome c oxidase; in photosynthesis, plastocyanin, some superoxide dismutases
Iron (Fe) <sup>b</sup>	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 <sub>430</sub> 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

<sup>a</sup>Not every micronutrient listed is required by all cells; some metals listed are found in enzymes or cofactors present in only specific microorganisms.

<sup>b</sup>Needed 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)

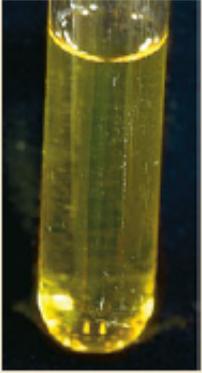
Fontes altamente nutricionais

# Exemplos de meio de Cultura

14

Quimiolitotrófico autotrófico

**Table 4.2** Examples of culture media for microorganisms with simple and demanding nutritional requirements<sup>a</sup>

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 thioparus</i>
<p>K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 7 g                      KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2 g                      (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1 g                      MgSO<sub>4</sub> 0.1 g                      CaCl<sub>2</sub> 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</p> <p><b>Meio Definido</b></p>  <p>(a)</p>	<p>K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.6 g                      KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.6 g                      NH<sub>4</sub>Cl 3 g                      MgSO<sub>4</sub> 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</p>	<p>Glucose 15 g                      Yeast extract 5 g                      Peptone 5 g                      KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2 g                      Distilled water 1000 ml                      pH 7</p> <p><b>Meio Complexo</b></p>  <p>(b)</p>	<p>KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.5 g                      NH<sub>4</sub>Cl 0.5 g                      MgSO<sub>4</sub> 0.1 g                      CaCl<sub>2</sub> 0.05 g                      KCl 0.5 g                      Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 2 g                      Trace elements (as in first column)                      Distilled water 1000 ml                      pH 7                      Carbon source: CO<sub>2</sub> from air</p>

<sup>a</sup>The 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
- Em alguns casos, é necessária 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

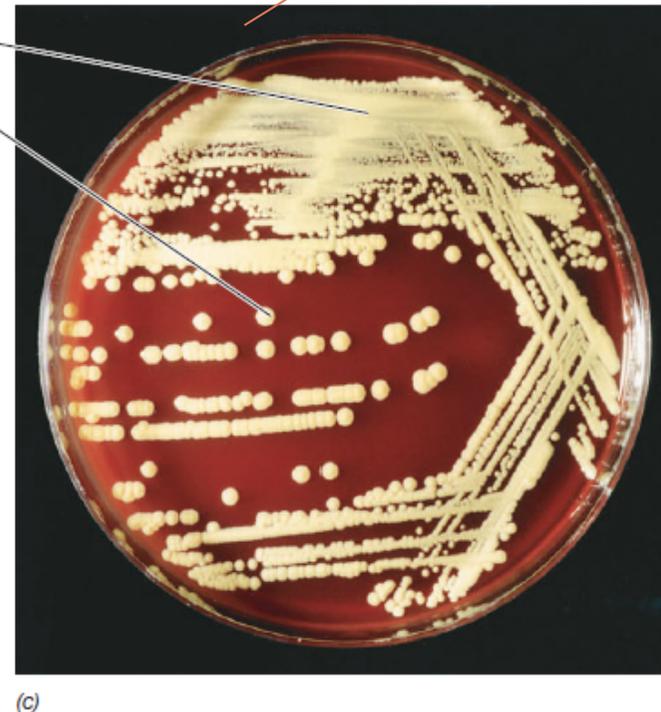
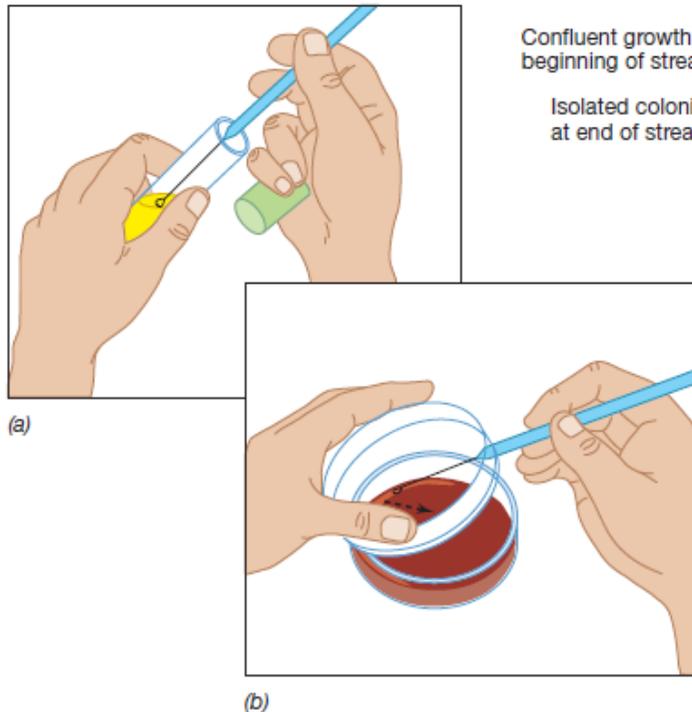
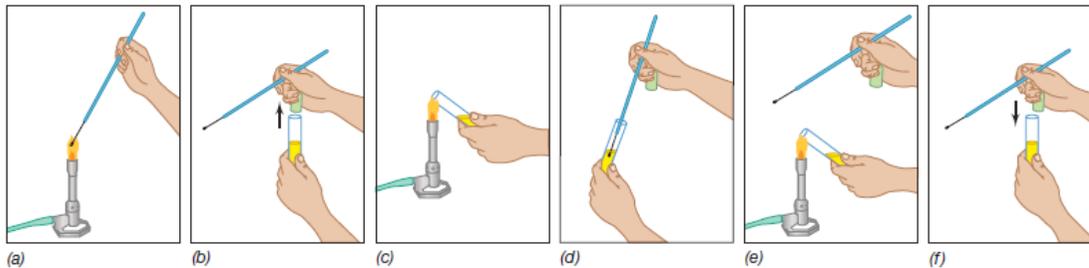
Semisólido  
>0.6 e <1.5% agar

# 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 microorganismos
- Obtém **colônias** Isoladas



Várias células  
provenientes de  
uma única célula

# Meio de Cultura sólido

18

*Serratia marcescens*  
Agar MacConkey

Tomar cuidado em meio de cultura sólido em placas de Petri

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

.....



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

James A. Shapiro, University of Chicago

*P. aeruginosa*  
Agar Trypticase-soja

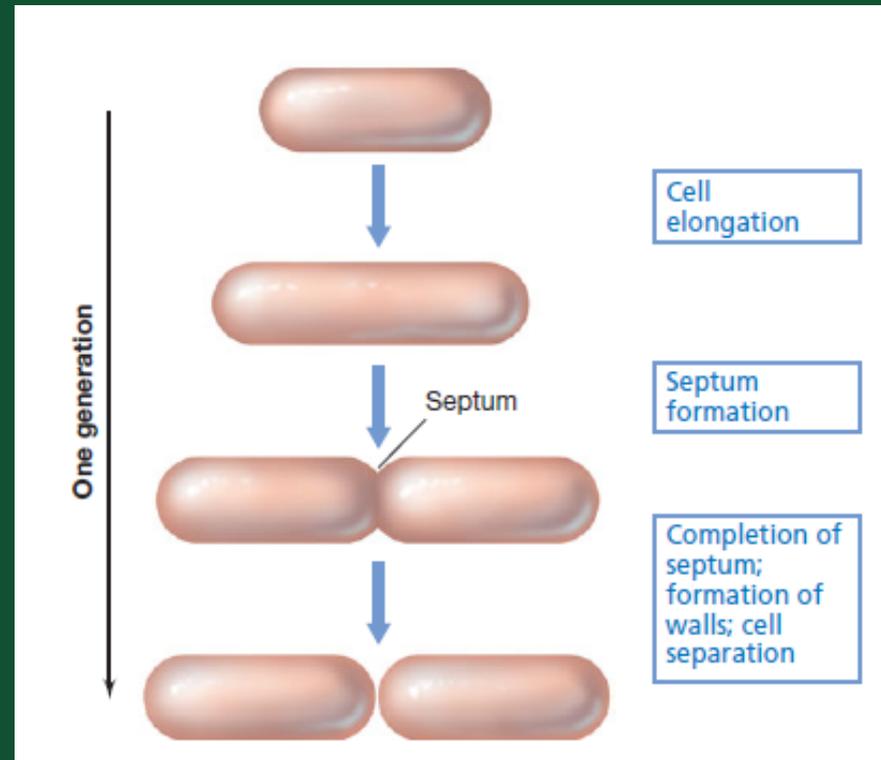


Figure 5-2c Brock Biology of Microorganisms 11/e  
© 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

James A. Shapiro, University of Chicago

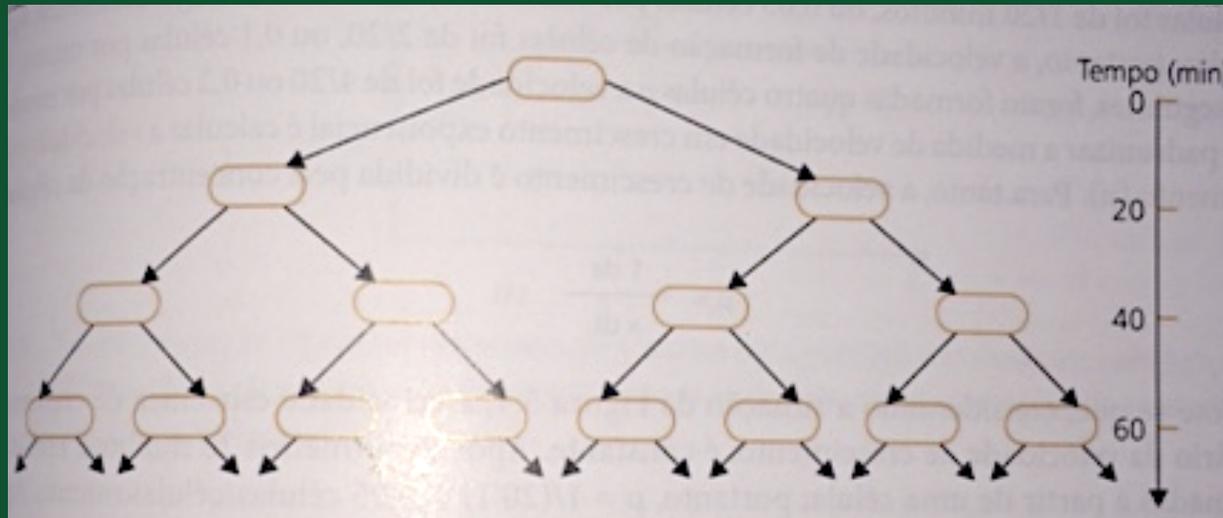
# Crescimento bacteriano e Duplicação Celular

19



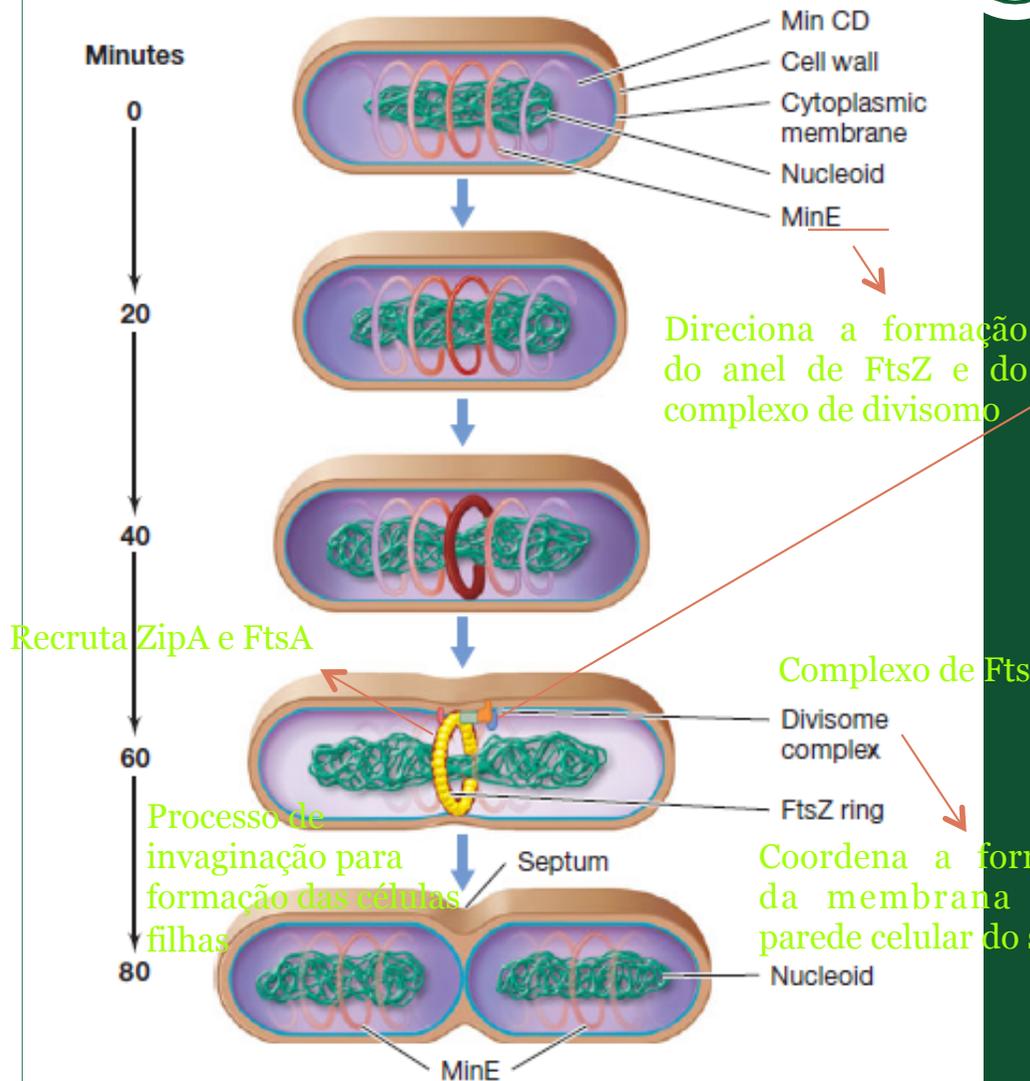
# Crescimento bacteriano e Duplicação Celular

20



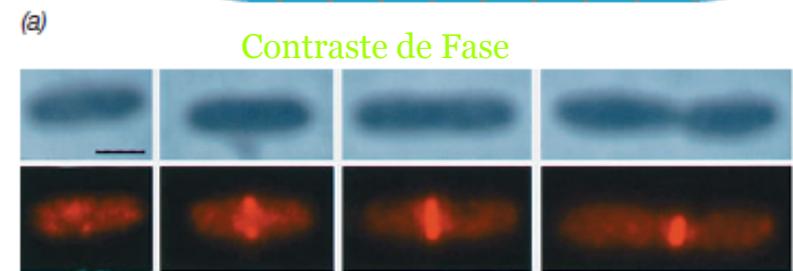
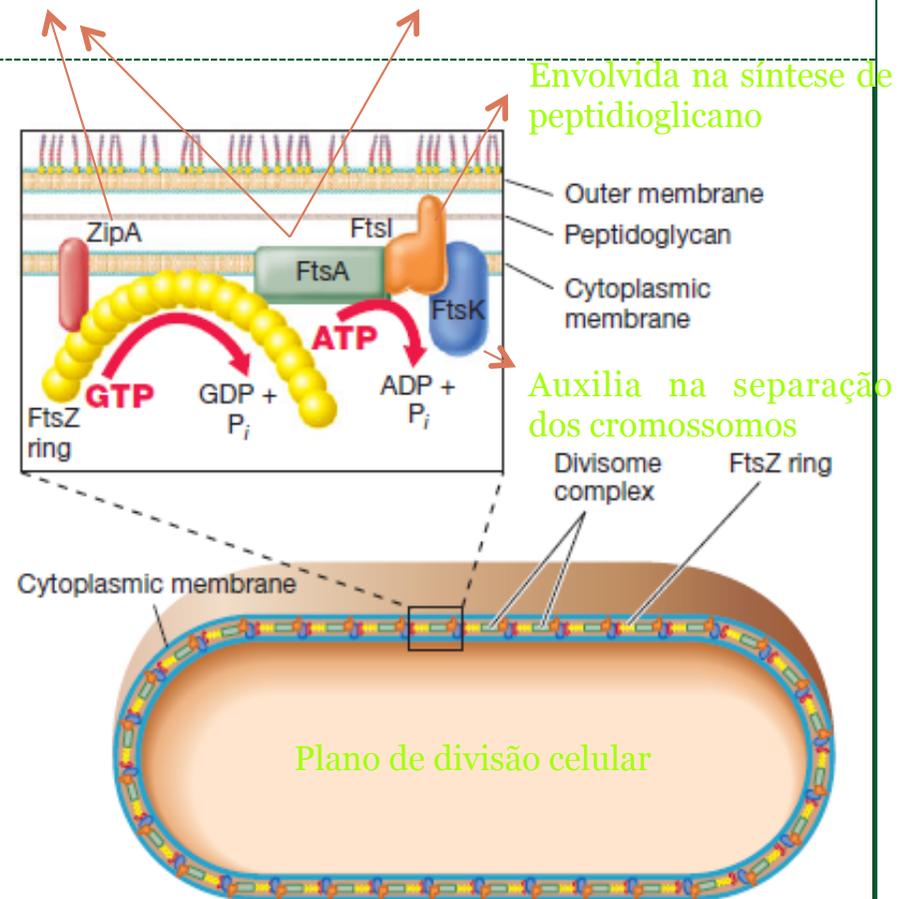
Duplicação bacteriana a intervalos de tempo constantes

*Barbosa, Torres, Gomez, 2018*



Conecta o anel a membrana citoplasmática

Tb recruta outras proteínas do divisomo

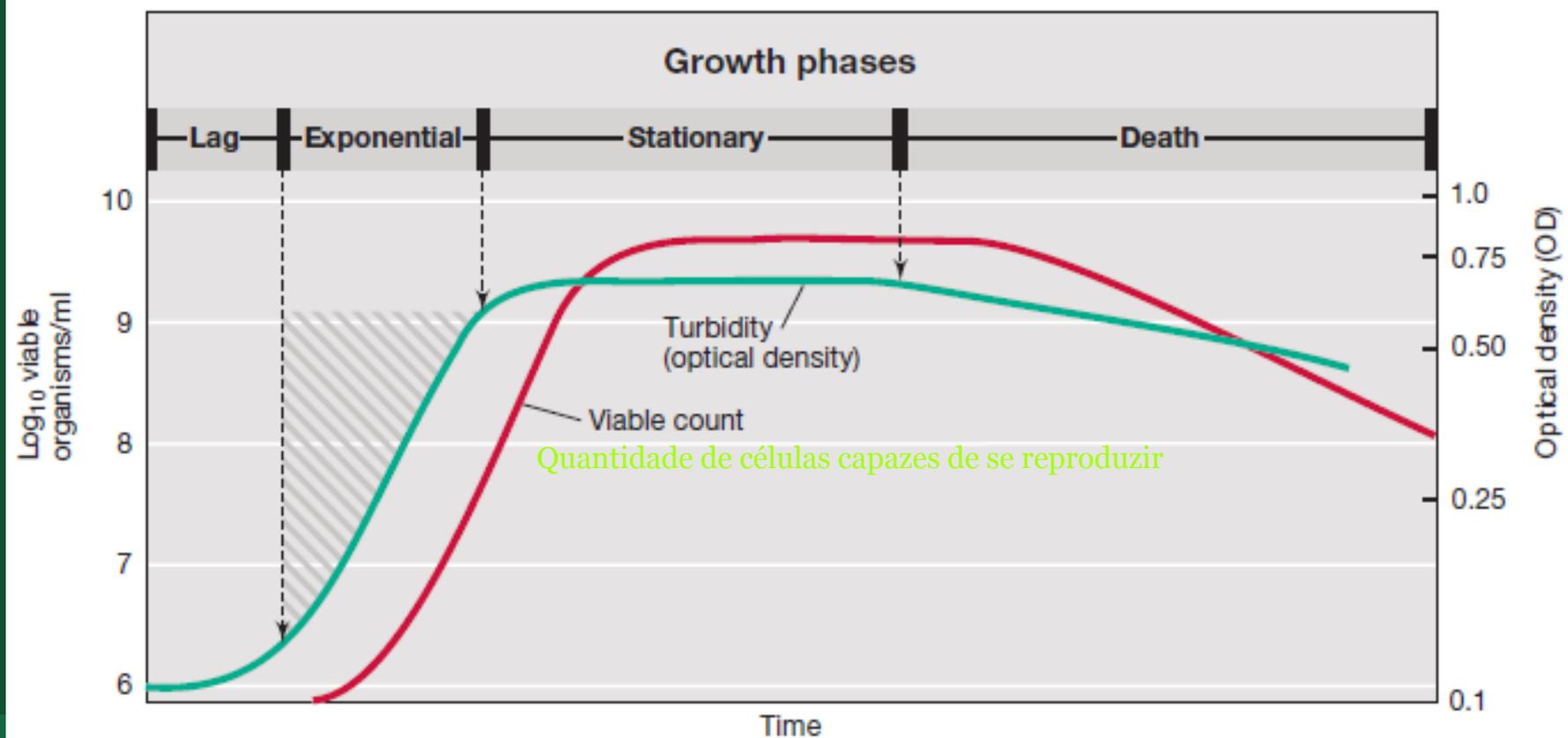


*E.coli* com tempo de geração de 80'

# Ciclo de crescimento microbiano

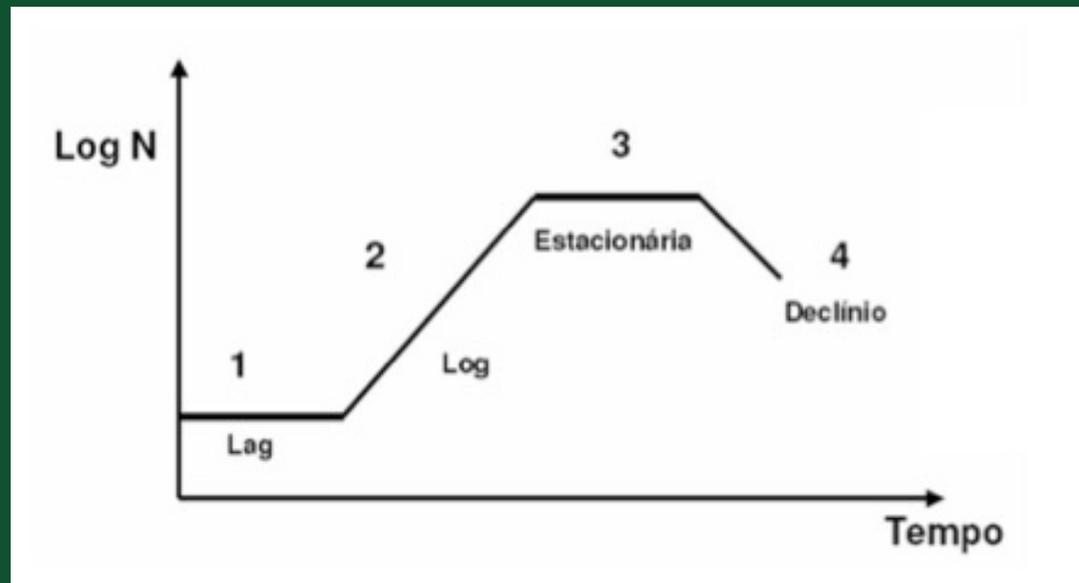
22

- 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

23



# Fases de crescimento

24



- **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

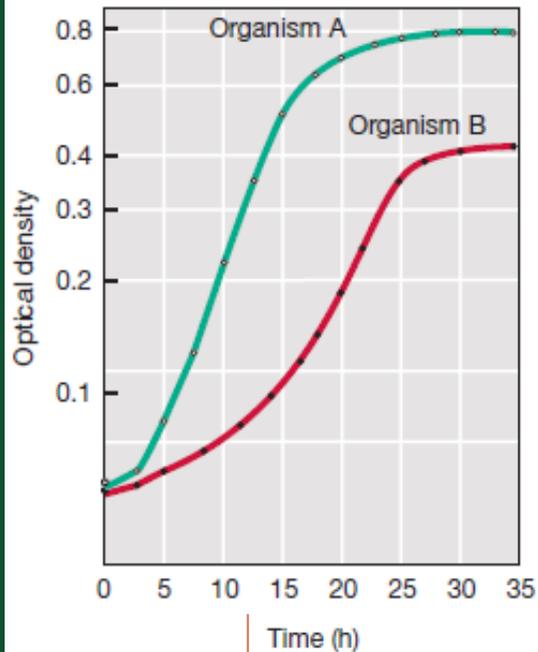
# Fase lag – Fase de adaptação

25

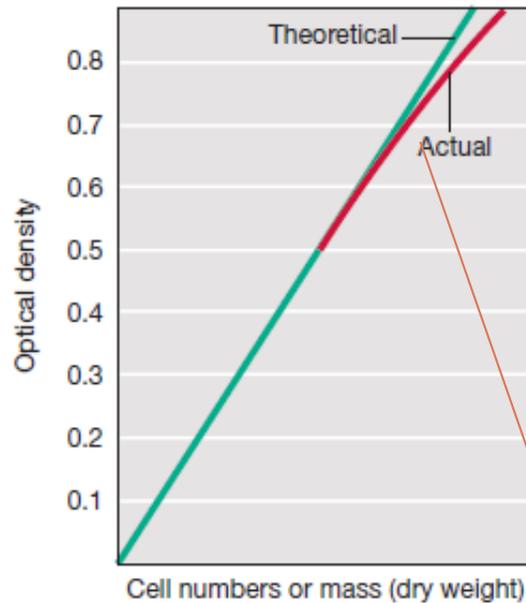
- Tempo pode ser curto ou longo depende:
  - Da origem do inóculo (adaptação prévia do aparato enzimático ao meio)
  - Das condições do meio de cultura atual
- Transferência de um meio para outro pode requerer a síntese de diferentes enzimas e essa adaptação pode demorar (transferência de meio 2xTY para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

# Medida da quantidade de células por densidade ótica (DO)

26



(b)



(c)

- **Problema:**
  - Agregados celulares
  - biofilme

Exemplo da curva de crescimento de dois organismos

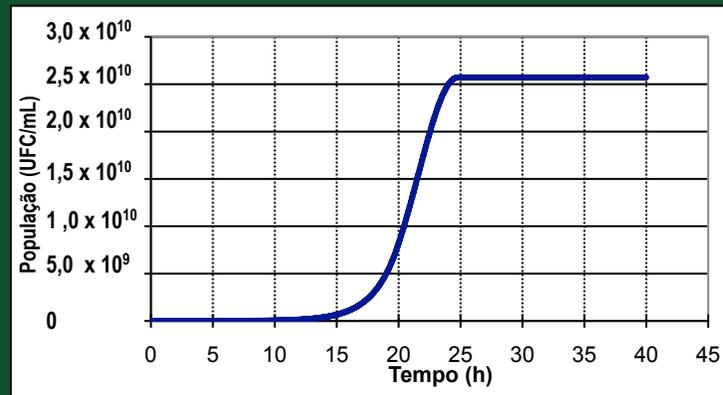
D.O é subestimada em quantidade de células elevadas

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

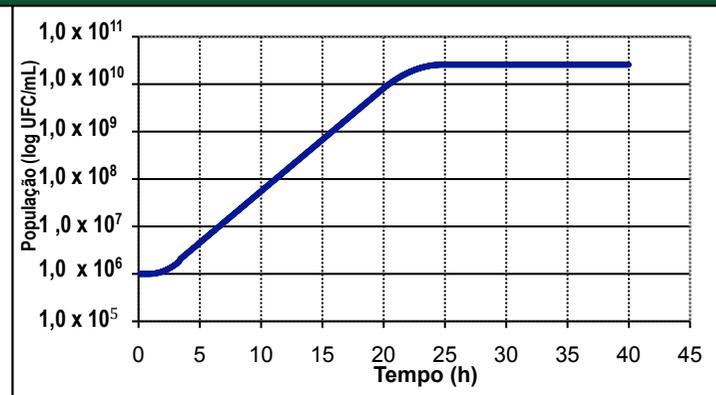
# Curva de crescimento

27

A



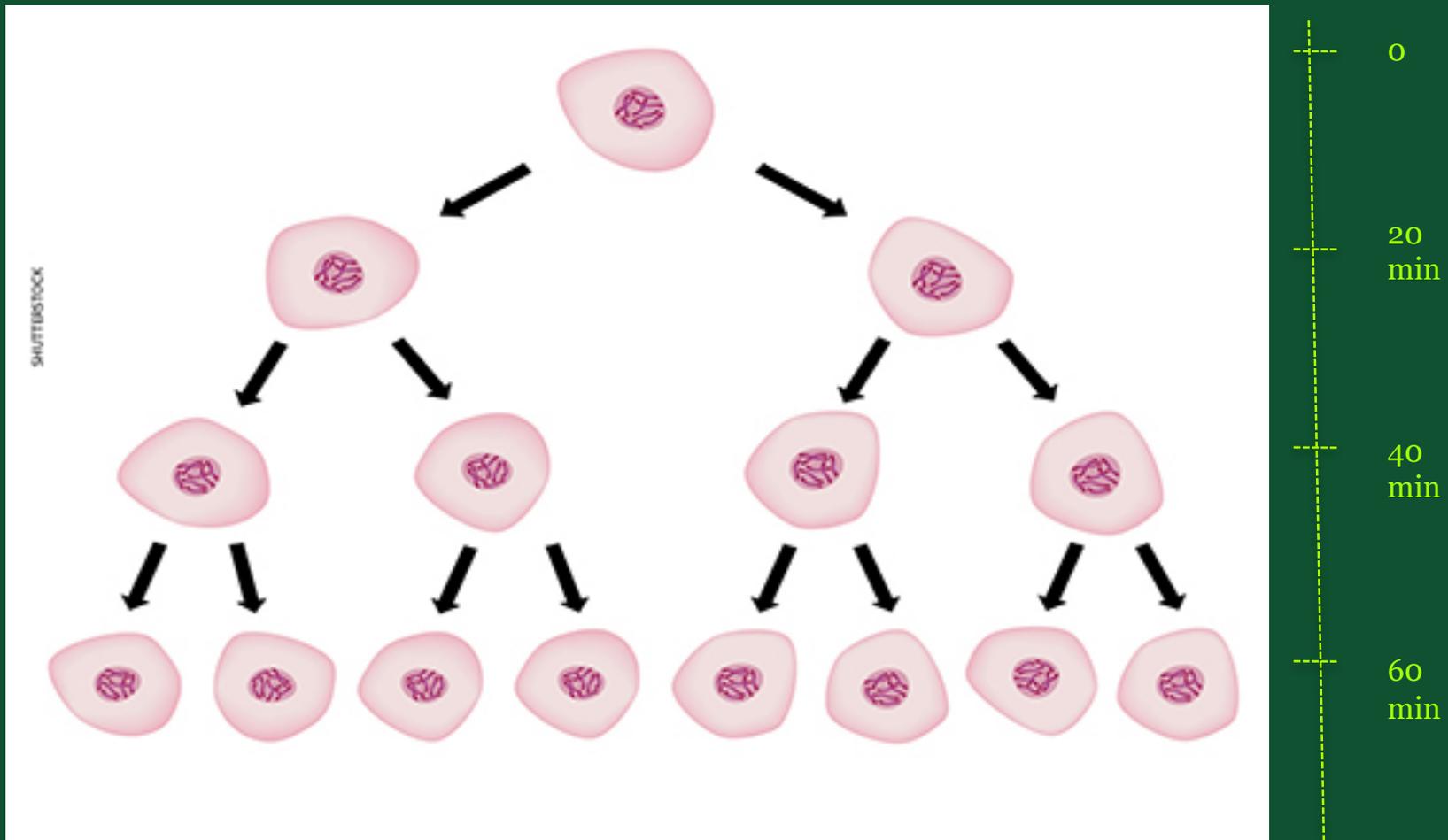
B



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

# Cálculo do Crescimento exponencial

28



*Duplicação de uma população bacteriana a intervalos de tempo constantes*

# Cálculo do Crescimento exponencial

29

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)

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

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

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

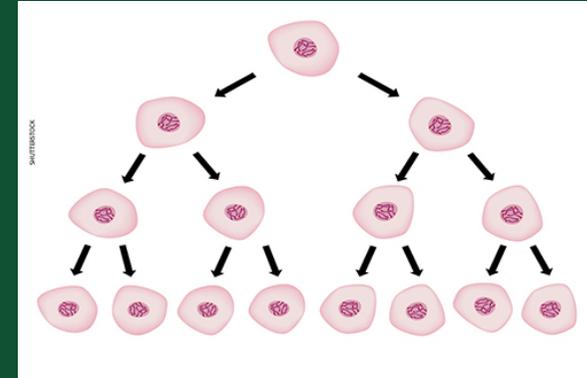
$$\log x - \log x_0 = 0,301 n$$

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

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

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  $g$

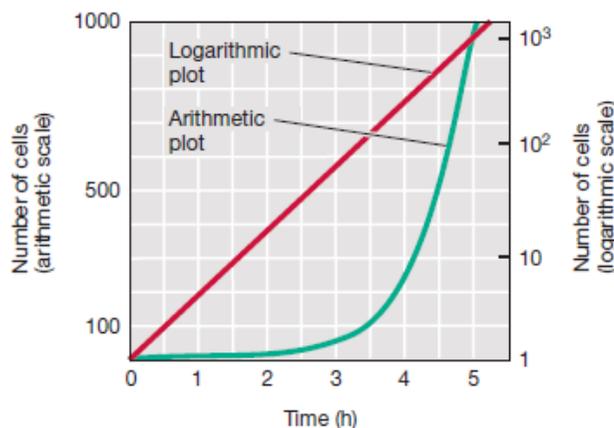
# Crescimento

30

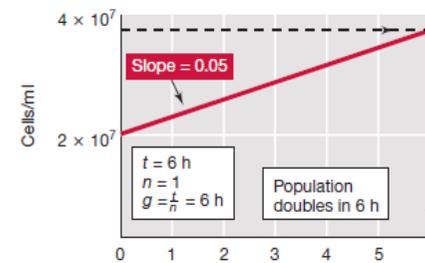
- Aumento do n. de células
- Tempo de geração:
  - Depende das condições do meio de cultura, pH, temperatura, oxigênio, etc
  - Em média 0.5-6h. Há casos que é menos de 20min e mais de uma semana
- Crescimento exponencial de uma população microbiana

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 ( $2^{19}$ )

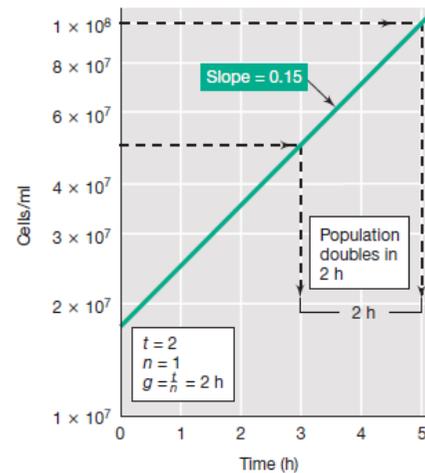
(a)



(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

31

- Qual o problema de comer comida no self service – *em que horário você preferiria almoçar, segundo a tabela abaixo?*
- 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 ( $2^{19}$ )

Nos próximos 30 min haverá mais 1 célula

Nos próximos 30 min haverá mais 2048 células

# Fatores que afetam o crescimento microbiano

32

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

# Efeito da Temperatura

33

- **Temperatura**

- **Mínima**

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

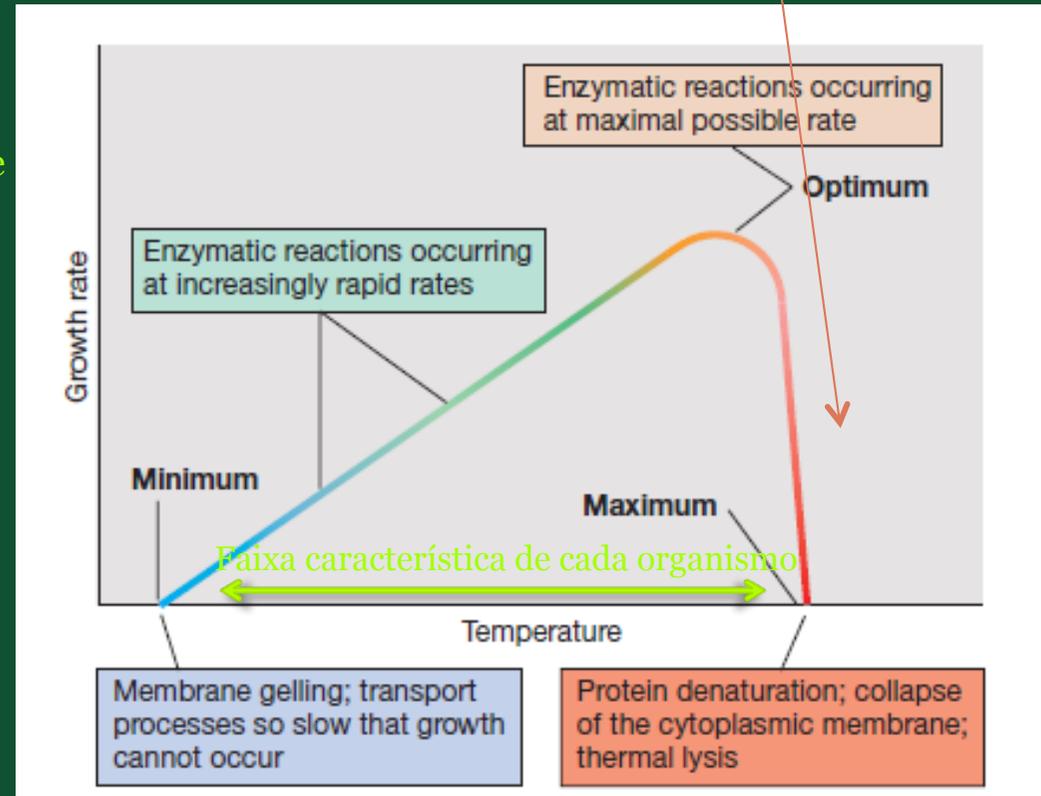
- **Ótima**

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**

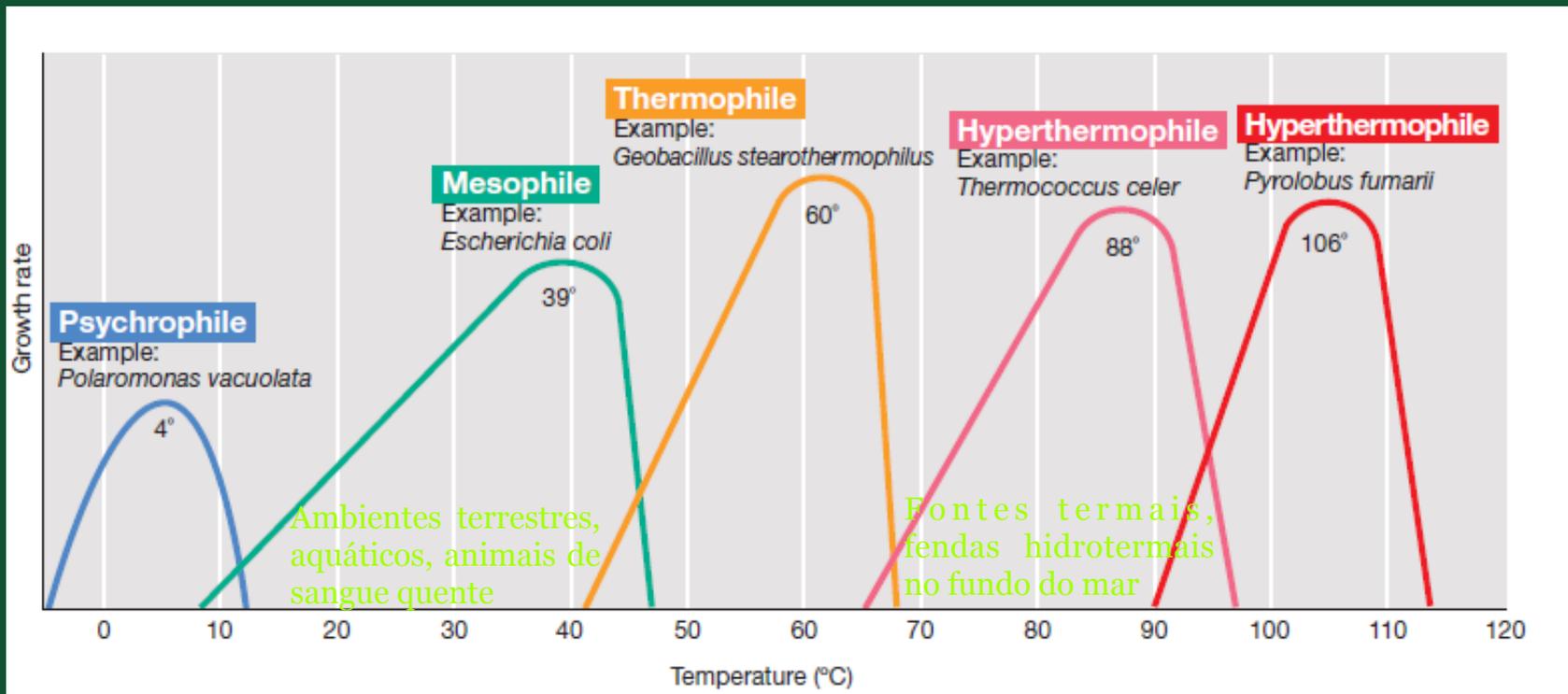
Processo geralmente irreversível  
Exemplo febre



# Efeito da Temperatura

34

- Classes térmicas dos organismos



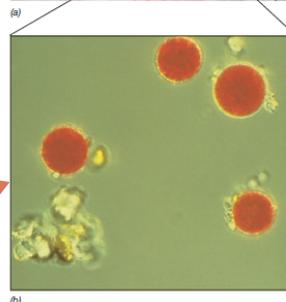
# Micro-organismos Psicrófilos

35

- 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*



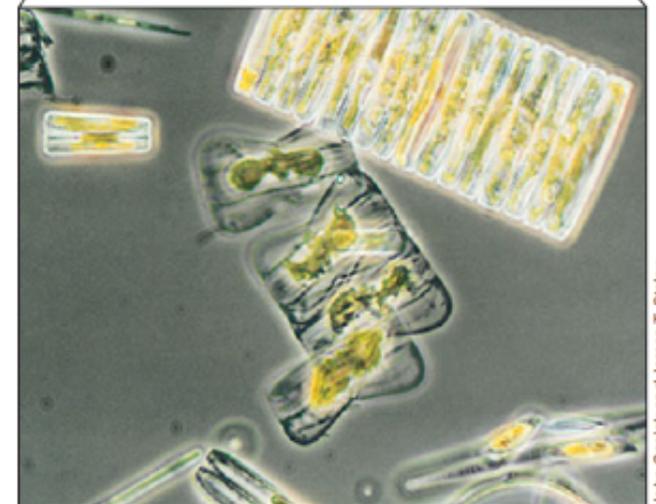
Antártida



John Gosink and James T. Staley

(a)

Algas verdes (eucariótos fototróficos)



John Gosink and James T. Staley

(b)

# Micro-organismos Psicrófilos

36

- Como eles são tolerantes a baixas temperaturas?
  - Armazenar células  $-80^{\circ}\text{C}$  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

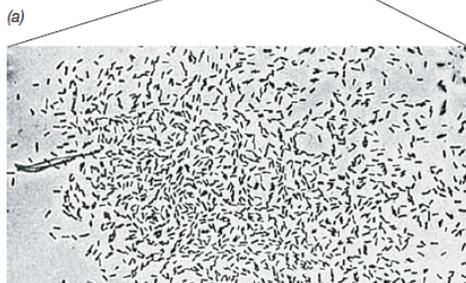
# Micro-organismos Psicrotolerantes

37

- Organismos 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



Fontes termais  
ferventes

38  
**Table 5.1** Presently known upper temperature limits for growth of living organisms

Group	Upper temperature limits (°C)
<b>Macroorganisms</b>	
<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
<b>Microorganisms</b>	
<i>Eukaryotic microorganisms</i>	
Protozoa	56
Algae	55–60
Fungi	60–62
<b>Prokaryotes</b>	
<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

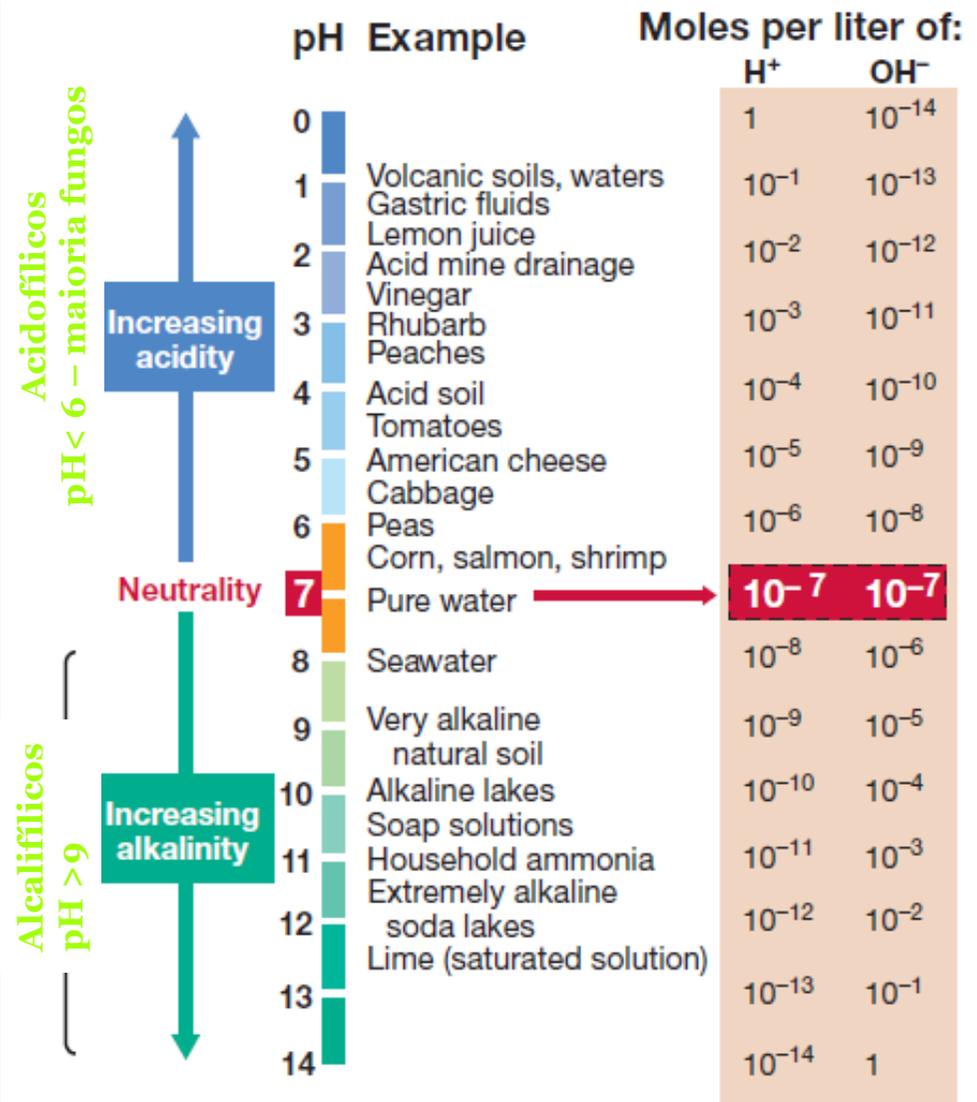
39

- 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 chave 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

40

- 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<sup>+</sup>
- 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

41

- **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 <sup>a</sup>
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>

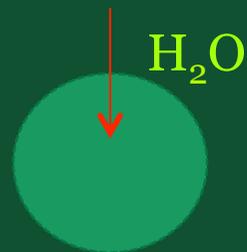
<sup>a</sup> *Picrophilus* and *Natronobacterium* are Archaea; all others are Bacteria.

# Efeito Osmótico

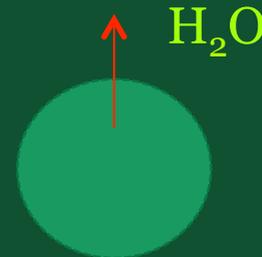
42

- 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 +



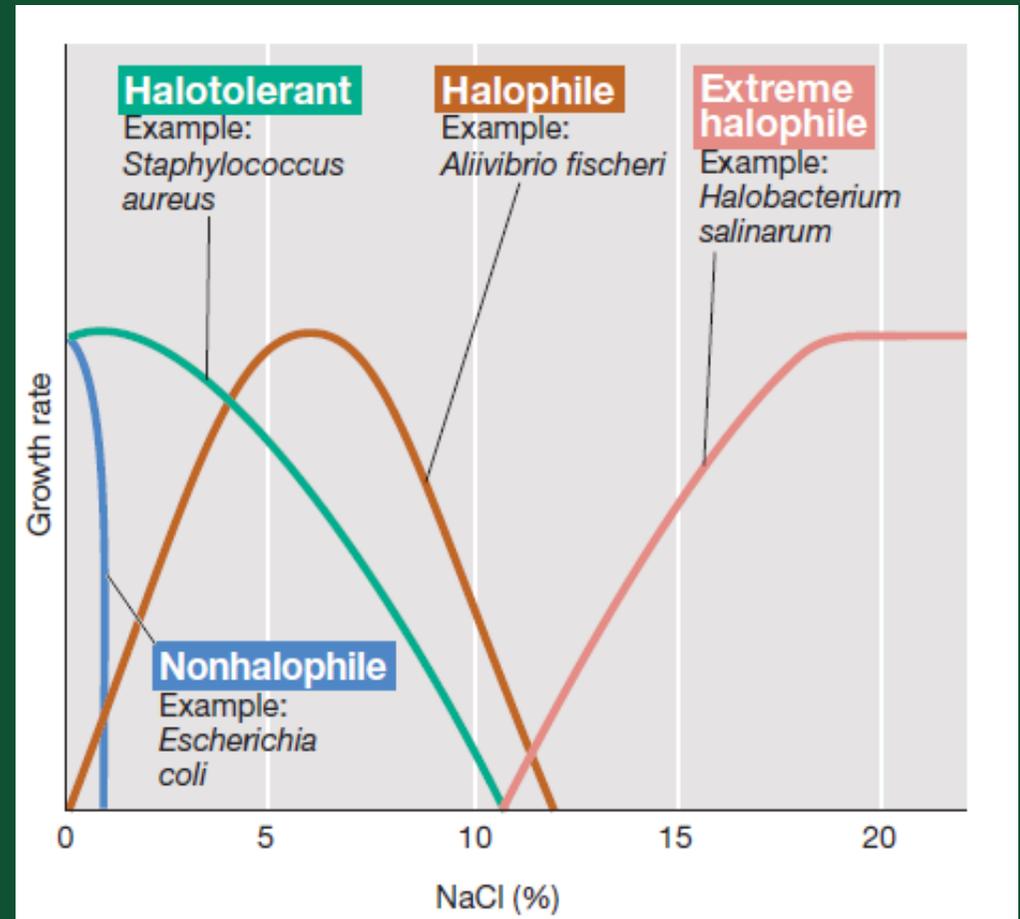
Pode causar morte celular-desidratação



# Efeito Osmótico

43

- Halófilos discretos (1-6% NaCl)
- Halófilos moderados (7-15% NaCl)
- Halófilos extremos são um problema na indústria alimentícia que usa alta concentração de sais 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

44

**Table 5.5** Oxygen relationships of microorganisms

	Group	Relationship to O <sub>2</sub>	Type of metabolism	Example <sup>a</sup>	Habitat <sup>b</sup>
Capazes de respirar usando O <sub>2</sub>	<b>Aerobes</b>	Ar tem 21% O <sub>2</sub>			
	Obligate	Required	Aerobic respiration	<i>Micrococcus luteus</i> (B)	Skin, dust
	Facultative	Not required, but growth better with O <sub>2</sub>	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 <sub>2</sub>	<b>Anaerobes</b>				
	Aerotolerant	Not required, and growth no better when O <sub>2</sub> 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

45

- **Aeróbios**

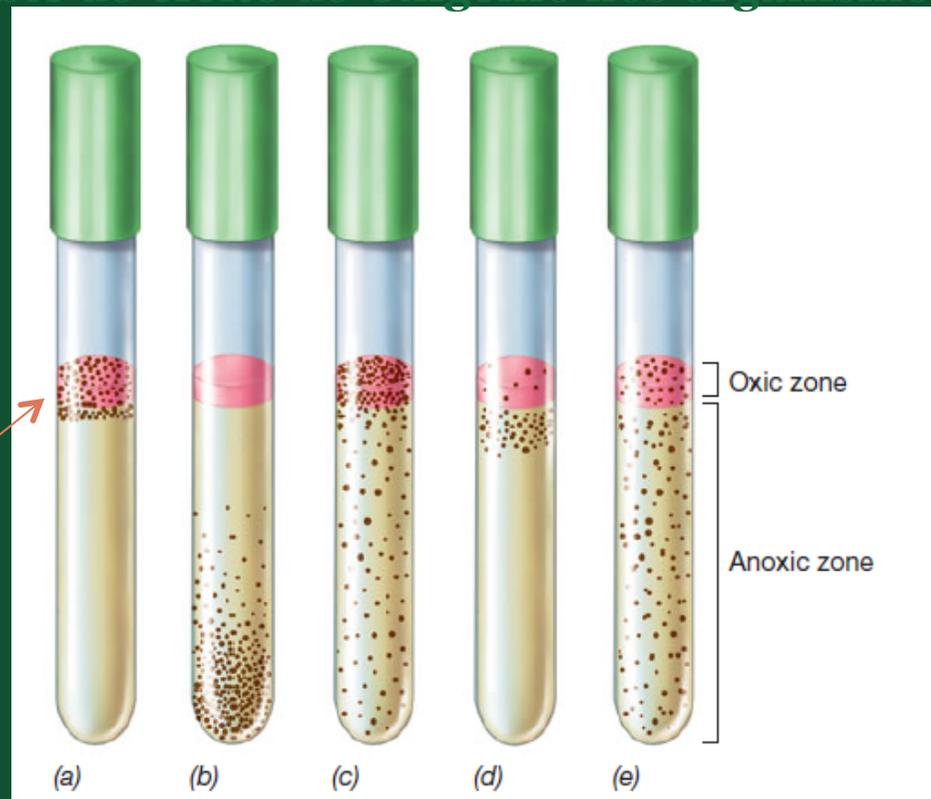
- Necessita de agitação (aeração forçada)
- Adicionar  $O_2$

- **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

Teste do efeito do Oxigênio nos organismos



**Aerobes**

Obligate

Facultative

Microaerophilic

**Anaerobes**

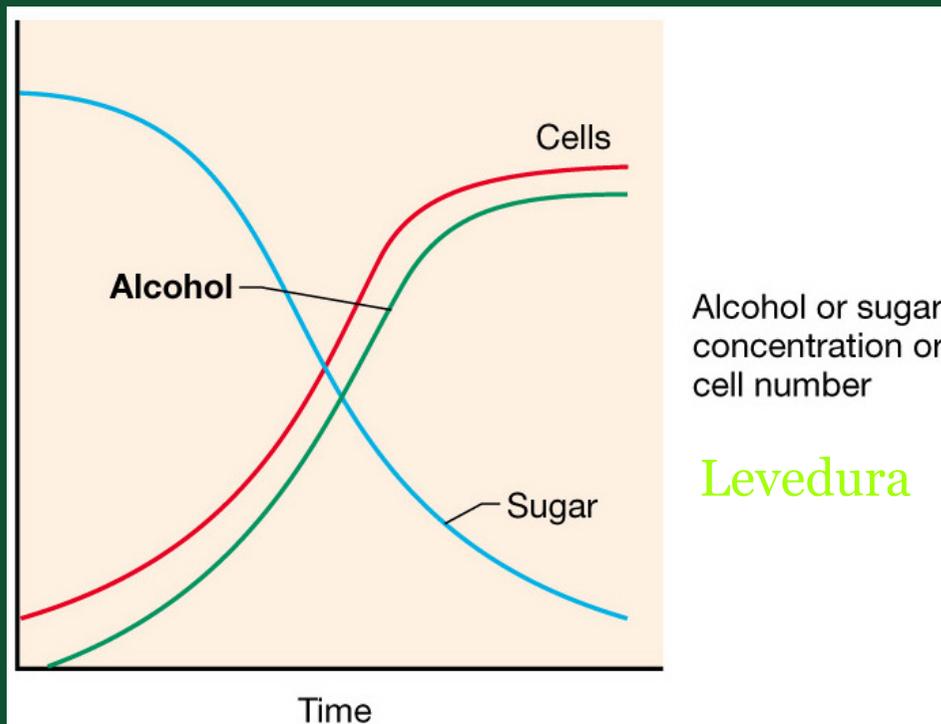
Aerotolerant

Obligate

# Metabólitos Primário e Secundário

46

Crescimento Primário  
Metabólico constantemente sintetizado

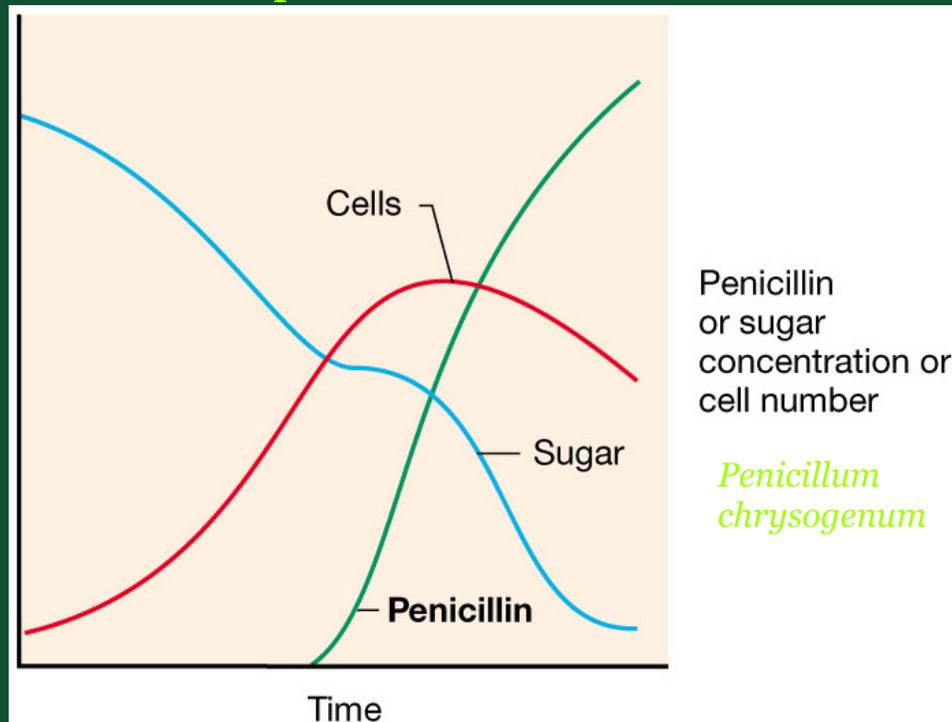


- Geralmente não são produzidos em grandes quantidades
- Faz parte do metabolismo

# Metabólito Secundário

47

**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

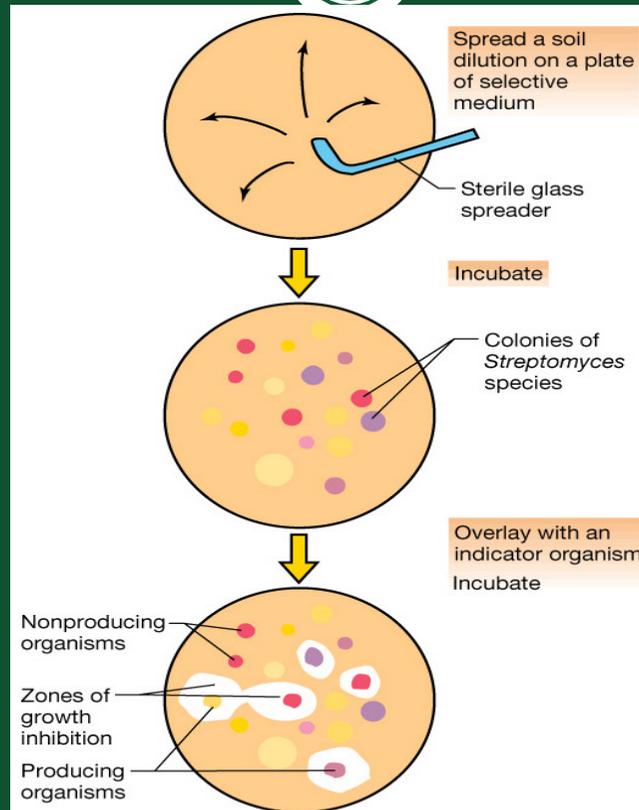
- Superprodução

- 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

48



(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

49

REPORTAGENS



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

Luiziana da Silva, Maria Filomena Rodrin & José Gr

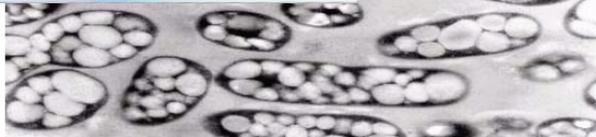
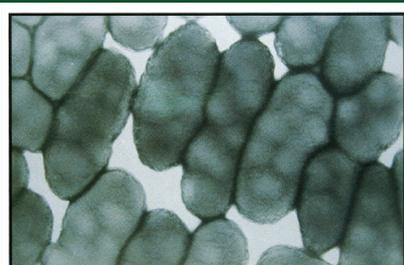


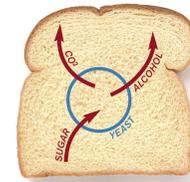
Figura 1. Grânulos de polímero biodegradável do tipo poli-3-hidroxi-butarato (P3HB) no interior de bactérias (preparação e fotomicrografia eletrônica realizadas por Rita de Cássia Paro Alli, Agrupamento de Biotecnologia, DQ, IPT)



**CHEESE PRODUCTION**

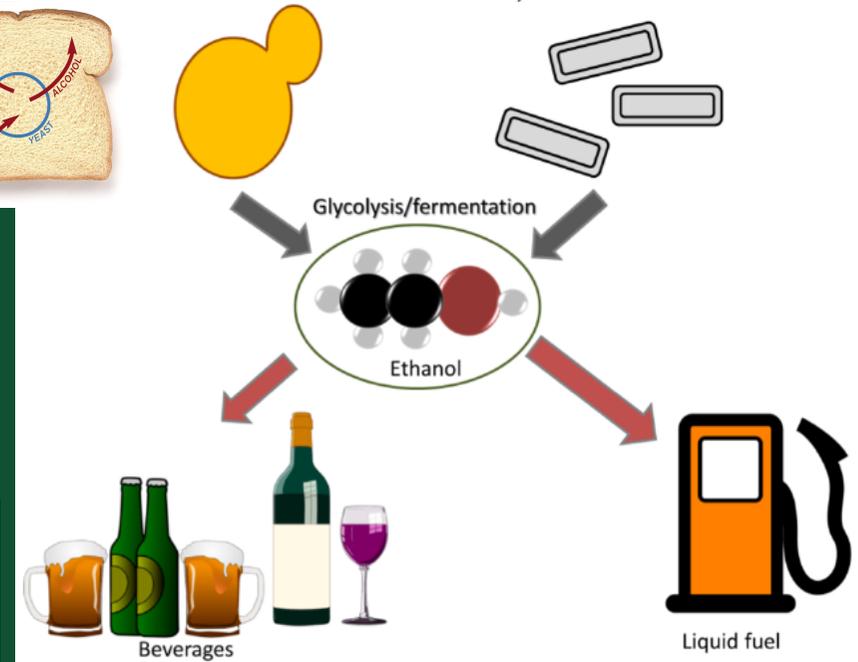


Acima, a bactéria *Ralstonia eutropha*, que transforma açúcar em polímero. Ao lado, utensílios fabricados com bioplástico



*Saccharomyces cerevisiae*

*Zymomonas mobilis*



HOW DID THEY MAKE INSULIN FROM RECOMBINANT DNA?

