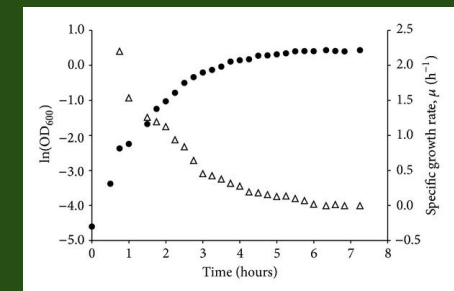
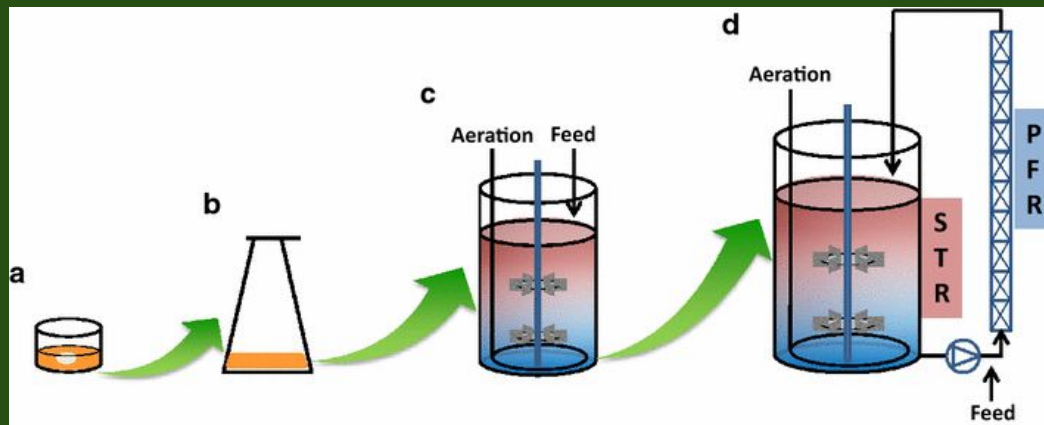


# Fisiologia bacteriana: crescimento e nutrição



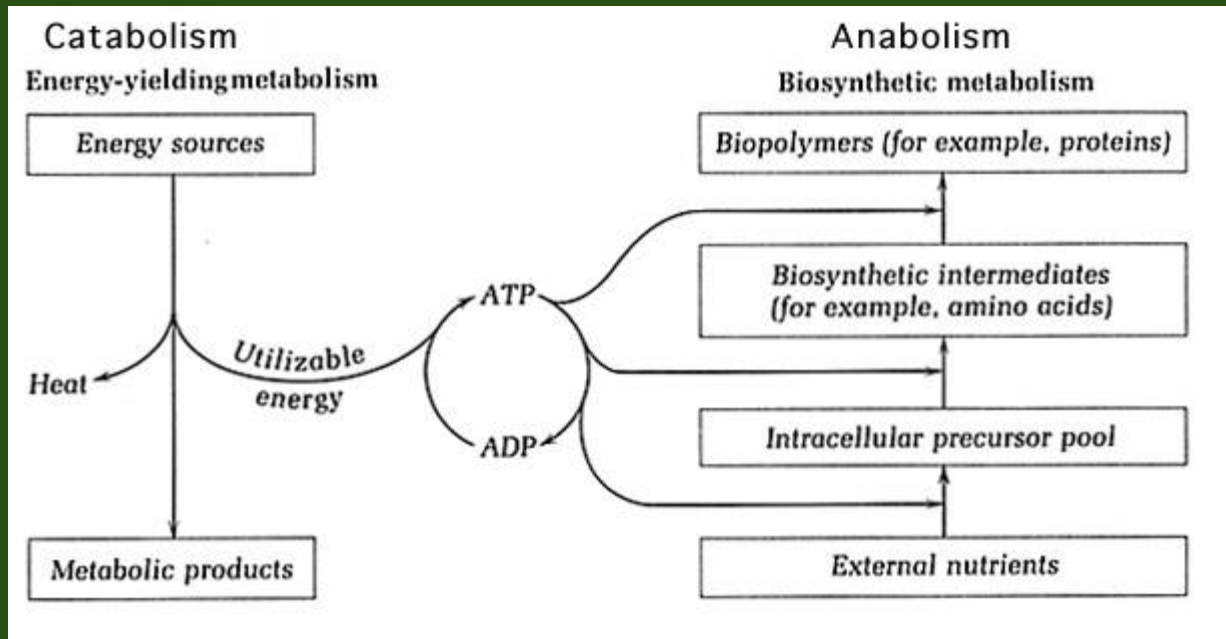
# Tópicos

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

# Diversidade Bioenergética

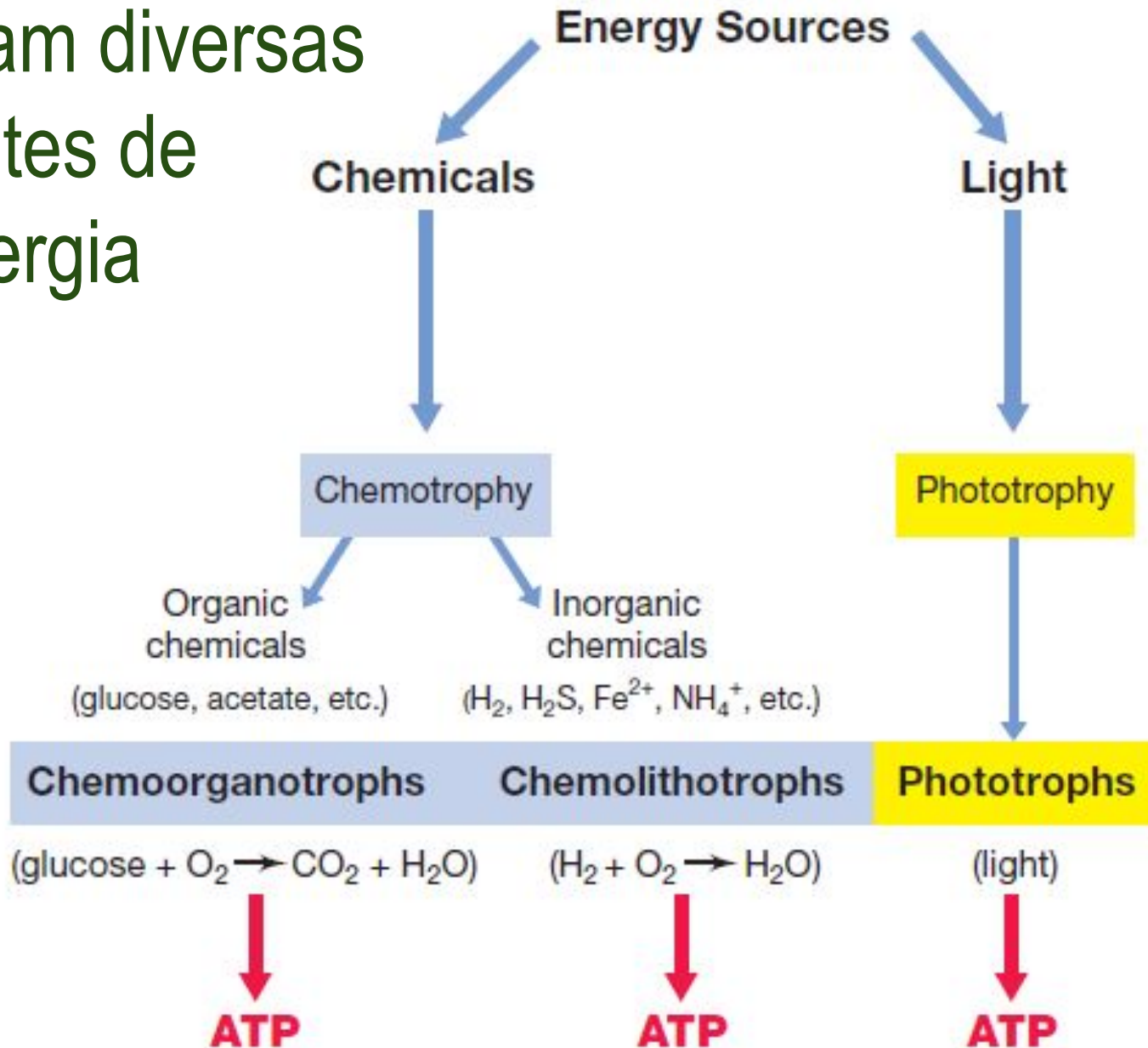
- Micro-organismos têm uma diversidade grande de estratégias bioenergéticas.
- Conseguem usar diferentes compostos químicos para geração de energia.
  - compostos inorgânicos
  - compostos orgânicos e
  - podem usar a Luz como fonte de energia.

# Catabolismo e Anabolismo

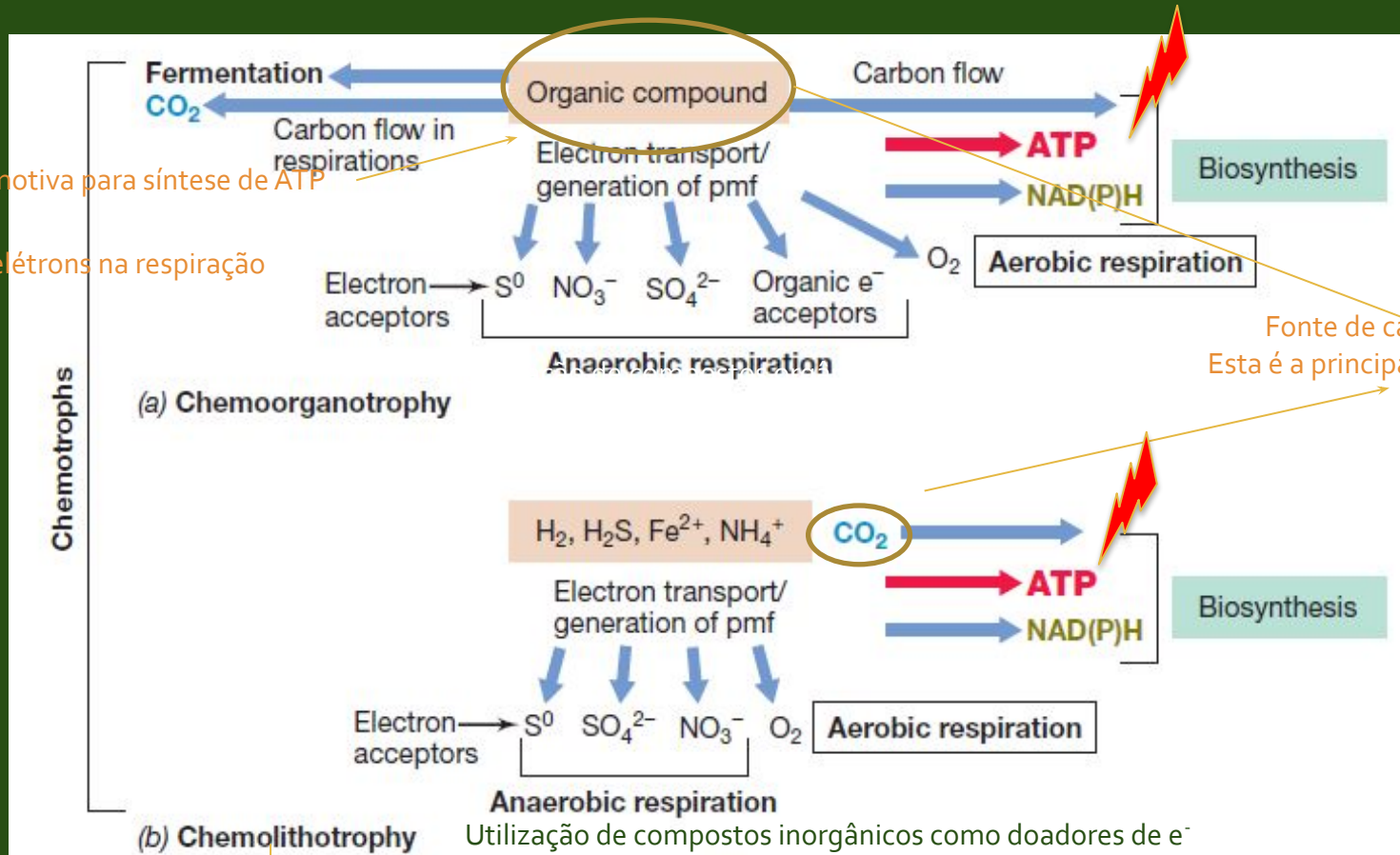


# Bactérias

usam diversas fontes de energia



# Diversidade Catabólica



Força próton motiva para síntese de ATP

Aceptores de elétrons na respiração

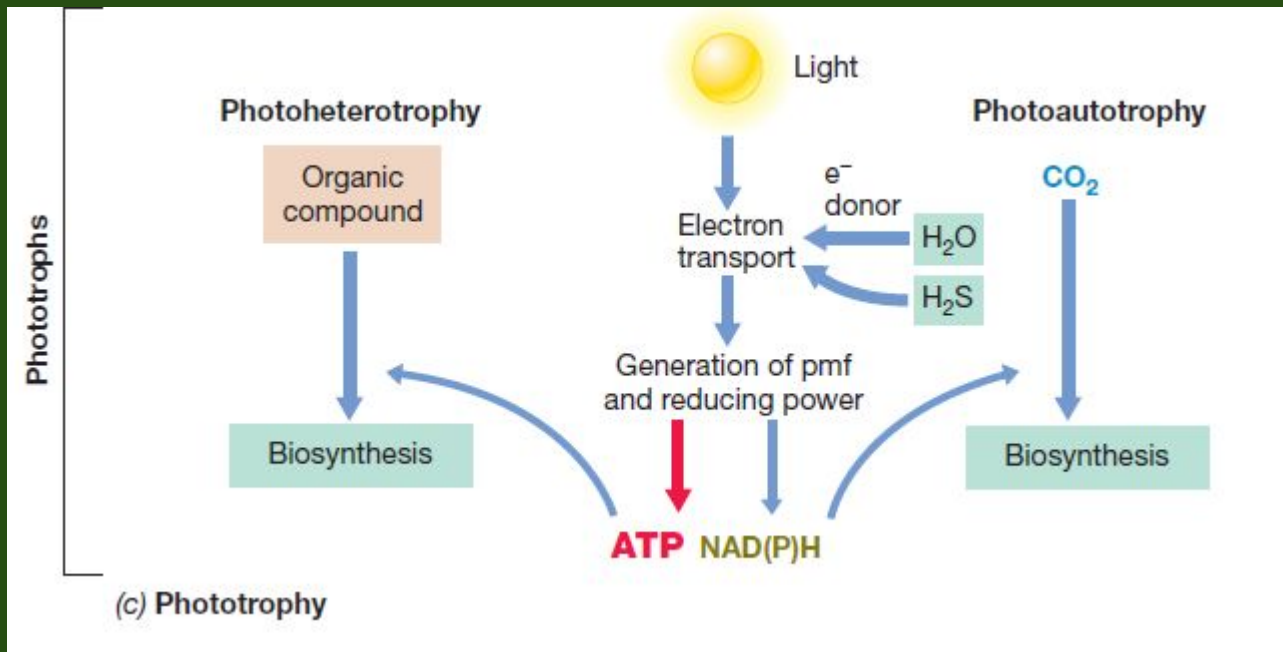
Fonte de carbono  
Esta é a principal diferença

Utilização de compostos inorgânicos como doadores de e<sup>-</sup>

autotróficos

# Diversidade Catabólica

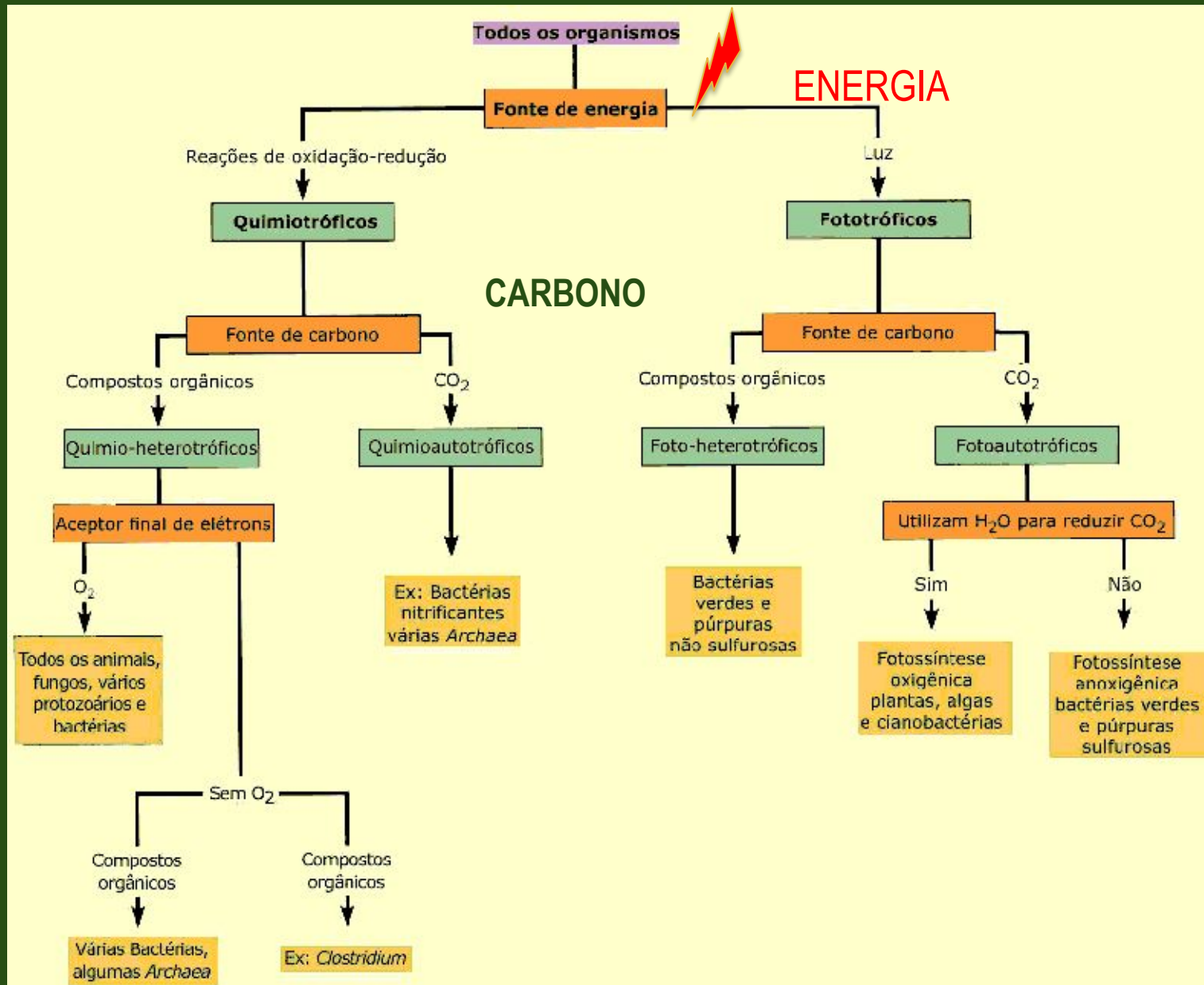
Utilização da luz como fonte de energia



Fotossíntese oxigênica – Libera oxigênio como as cianobactérias

Fotossíntese anoxigênica, processo simples encontrados em bactérias púrpuras e verdes, não há produção de O<sub>2</sub>

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

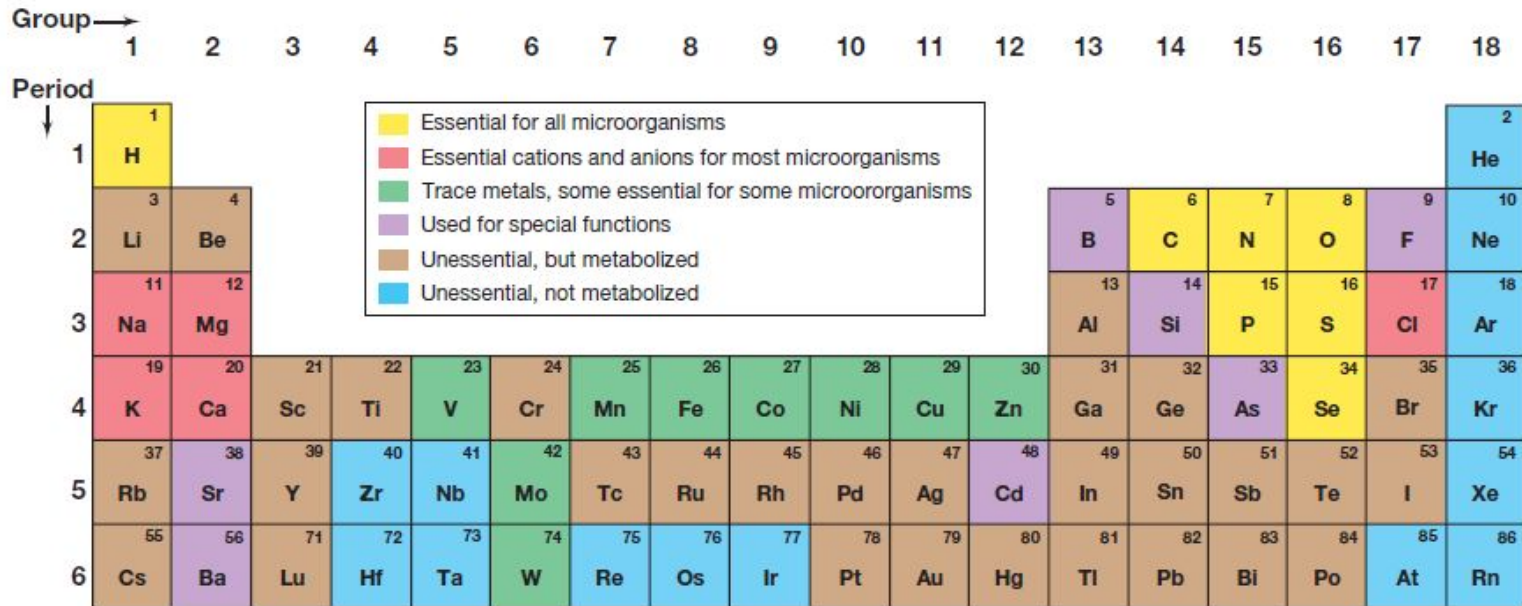




# *Nutrição microbiana*

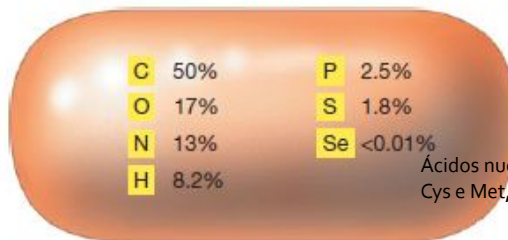
- Macronutrientes – compostos químicos usados em grande quantidade
- Micronutrientes – compostos químicos usados em menor quantidade
- Principais elementos são C, H, O, N, P, S. No entanto, + 50 elementos são metabolizados pelas células

# Nutrição microbiana



(a)

## Essential elements as a percent of cell dry weight



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

(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

- 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 peptideoglicano
- 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 *archaea* 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

**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> ; transcobalamin (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

- Alguns organismos necessitam também de algumas substâncias definidas como **FATORES DE CRESCIMENTO**: 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)
  - Água de lago...

# Exemplos de meio de Cultura

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>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>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>

## Meio Complexo

## Meio Definido



(a)



(b)

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

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

<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

- 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)

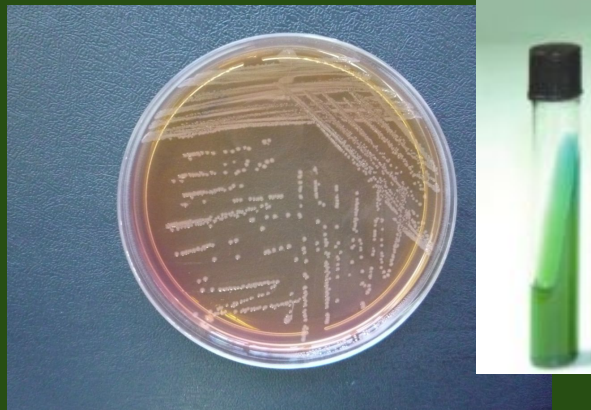
# Cultivo de micro-organismos em Laboratório

- Meio devidamente preparado e esterilizado (autoclave, fluxo, filtração)
- Três tipos de meio de cultura

Líquido  
0% agar

Sólido  
1.5% agar

Semisólido  
>0.6 e <1.5% agar





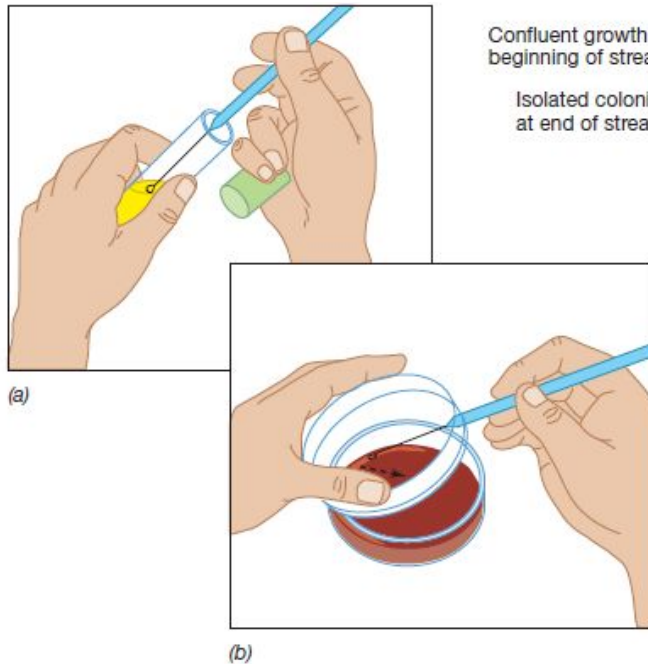
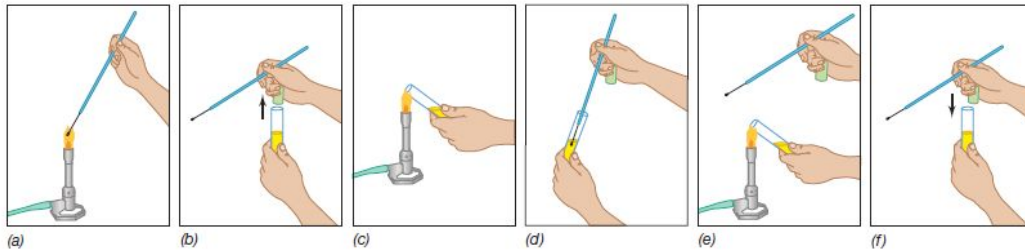
# Fanny Angelina Hesse: a mulher que revolucionou a microbiologia com um ingrediente de cozinha



| A dona de casa Fanny Angelina Hesse foi essencial no trabalho científico assinado pelo marido

# Obtenção de culturas puras por semeadura por esgotamento

- Avaliar a pureza da amostra
- A quantidade de diferentes microorganismos
- Obtém colônias isoladas



Confluent growth at beginning of streak  
Isolated colonies at end of streak



James A. Shapiro, University of Chicago

Várias células proveniente de uma única célula

# Meio de Cultura sólido

Tomar cuidado em meio de cultura sólido em placas de Petri

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

.....

*Serratia marcescens*  
Agar MacConkey



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

James A. Shapiro, University of Chicago

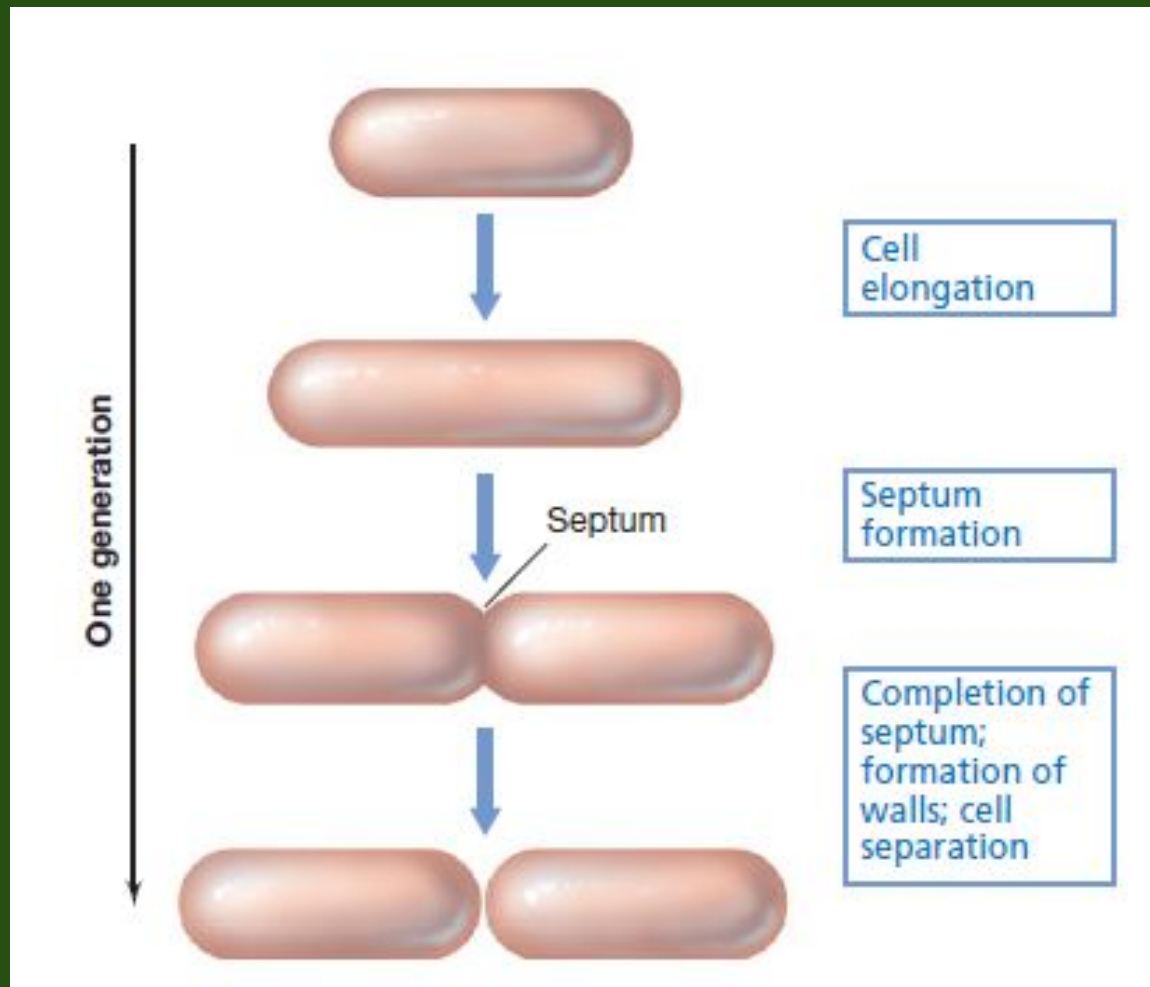
*P. aeruginosa*  
Agar Trypticase-soja



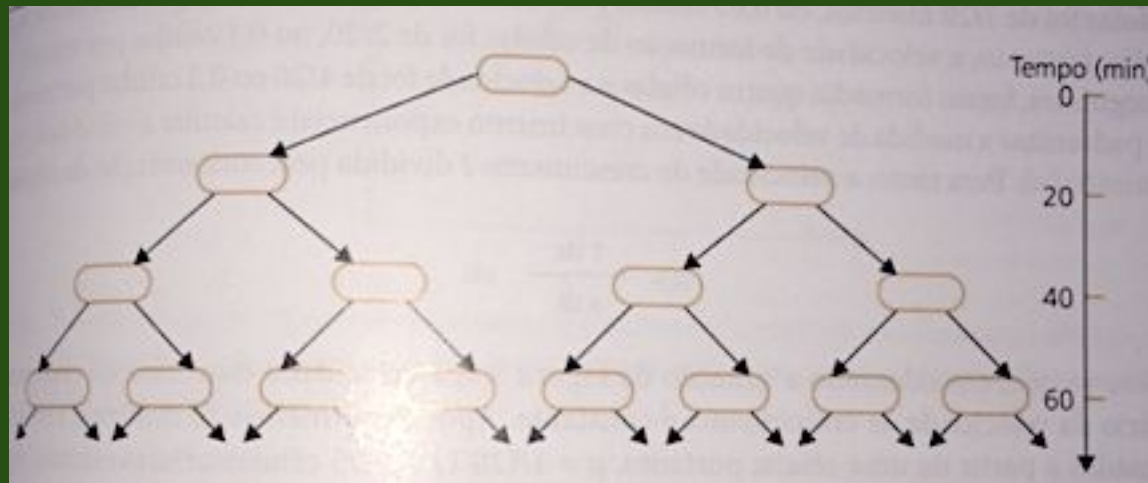
Figure 5-2c Brock Biology of Microorganisms 11/e  
© 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

James A. Shapiro, University of Chicago

# *Crescimento bacteriano e Duplicação Celular*



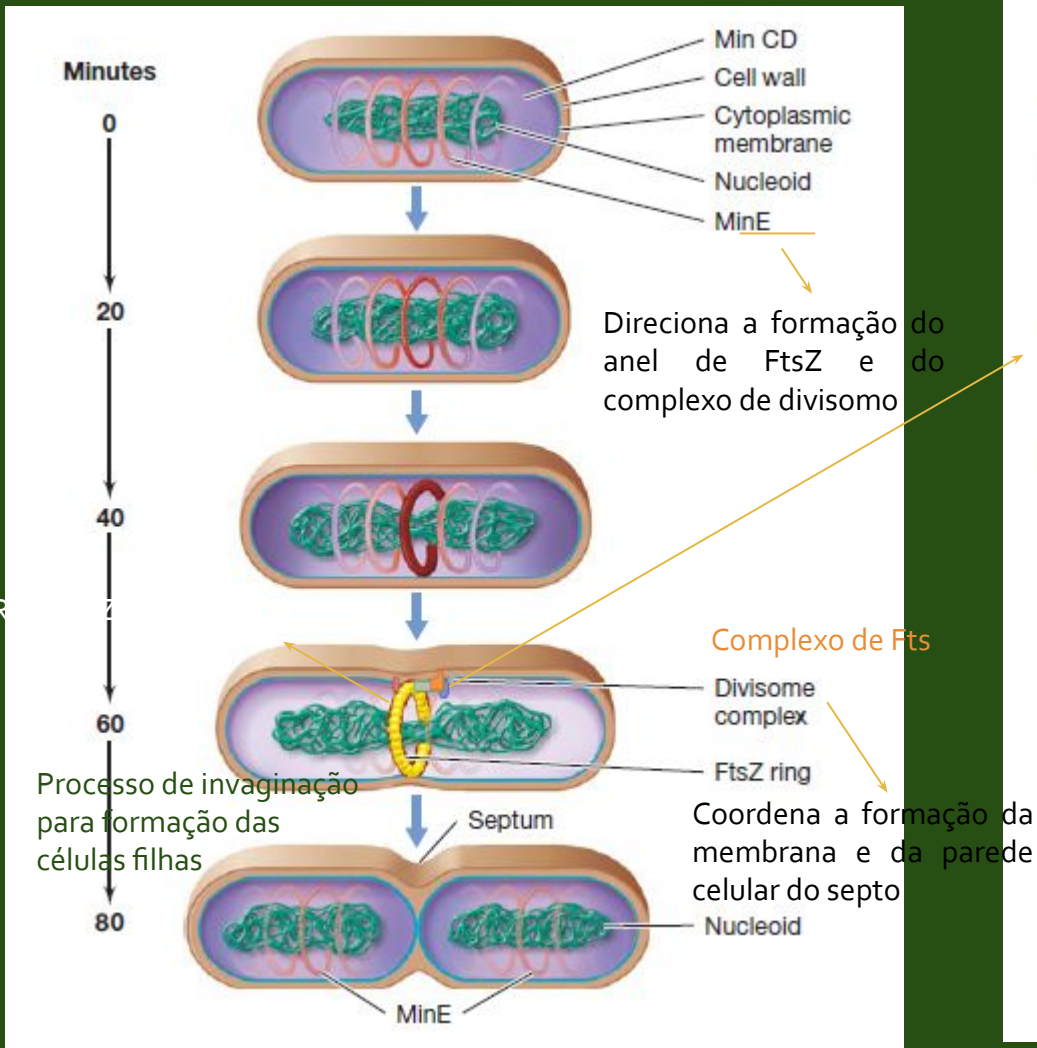
# Crescimento bacteriano e Duplicação Celular



Duplicação bacteriana a intervalos de tempo constantes

*Barbosa, Torres, Gomez, 2018*

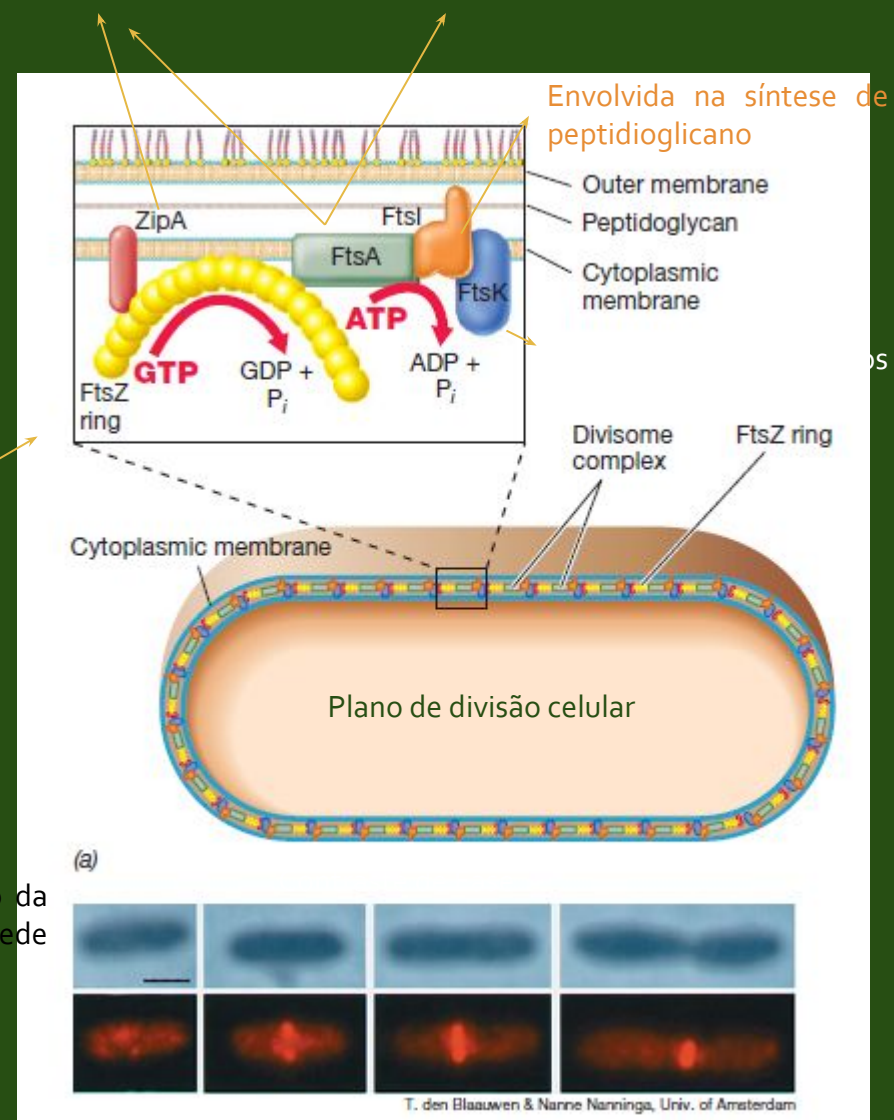
# A DUPLICAÇÃO CELULAR É UM POROCESSO COMPLEXO



*E. coli* com tempo de geração de 80'

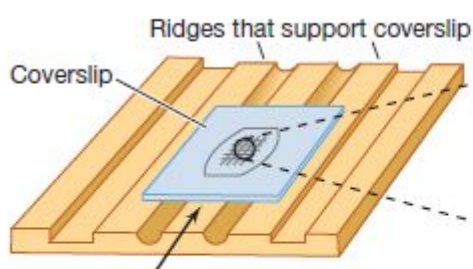
Conecta o anel a membrana citoplasmática

Tb recruta outras proteínas do divisomo

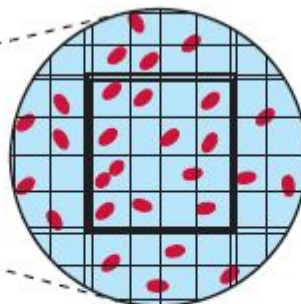


# Formas de medir o crescimento microbiano

- 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
  - .....



Sample added here. Care must be taken not to allow overflow; space between coverslip and slide is 0.02 mm ( $\frac{1}{50}$  mm). Whole grid has 25 large squares, a total area of 1 mm<sup>2</sup> and a total volume of 0.02 mm<sup>3</sup>.



Microscopic observation; all cells are counted in large square (16 small squares): 12 cells. (In practice, several large squares are counted and the numbers averaged.)

To calculate number per milliliter of sample:  
12 cells × 25 large squares × 50 × 10<sup>3</sup>

Number/mm<sup>2</sup> ( $3 \times 10^2$ )

Number/mm<sup>3</sup> ( $1.5 \times 10^4$ )

Number/cm<sup>3</sup> (ml) ( $1.5 \times 10^7$ )

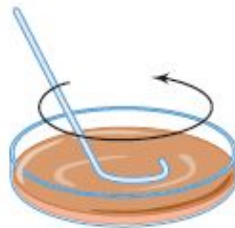
# Métodos de contagem de células viáveis

- 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 (ou **UFC : unidades formadoras de colônias**)

## Spread-plate method

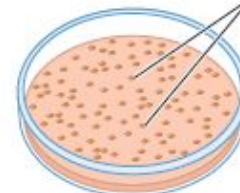


Sample is pipetted onto surface of agar plate (0.1 ml or less)

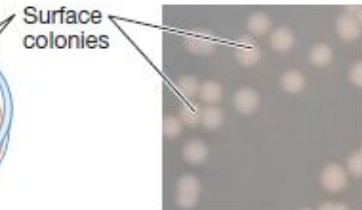


Sample is spread evenly over surface of agar using sterile glass spreader

Incubation



Typical spread-plate results

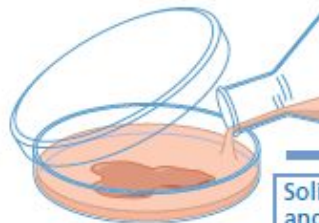


Deborah C. Jung

## Pour-plate method

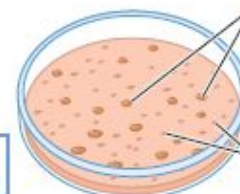


Sample is pipetted into sterile plate

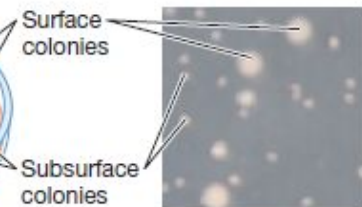


Sterile medium is added and mixed well with inoculum

Solidification and incubation



Typical pour-plate results

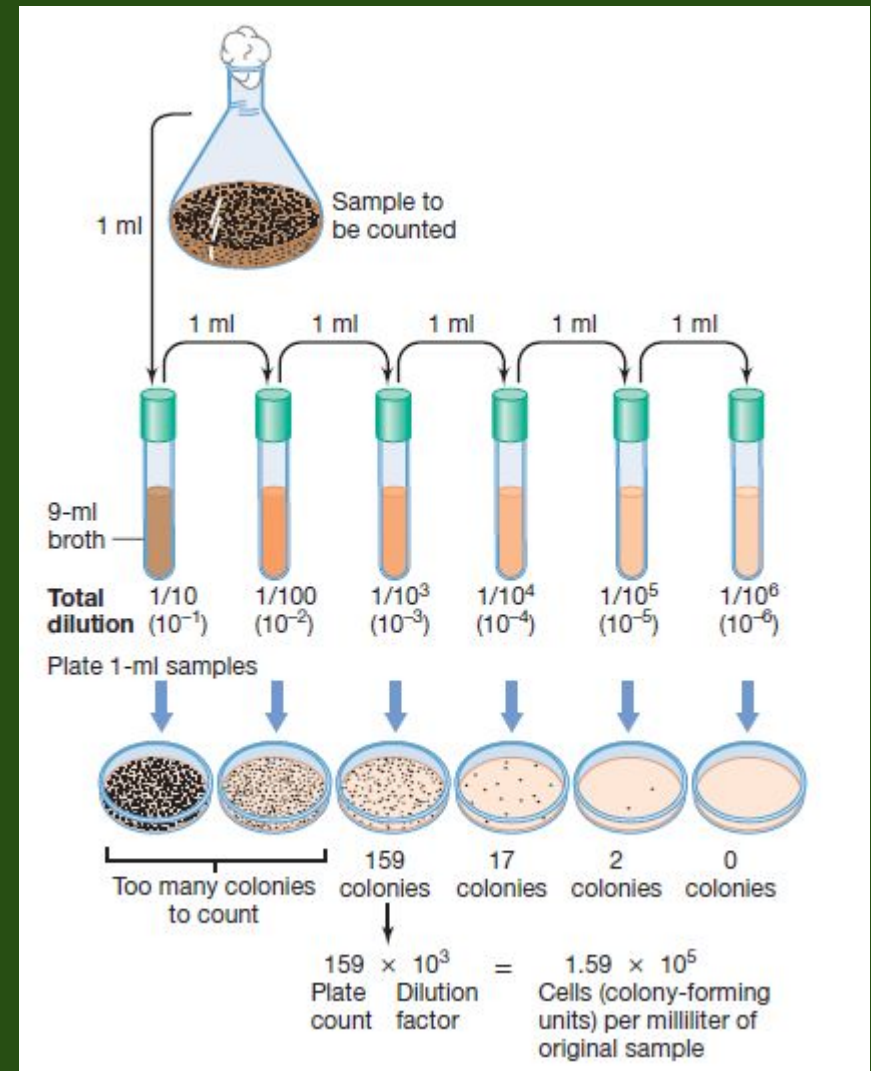


Deborah C. Jung



# Diluição antes da semeadura

- 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)

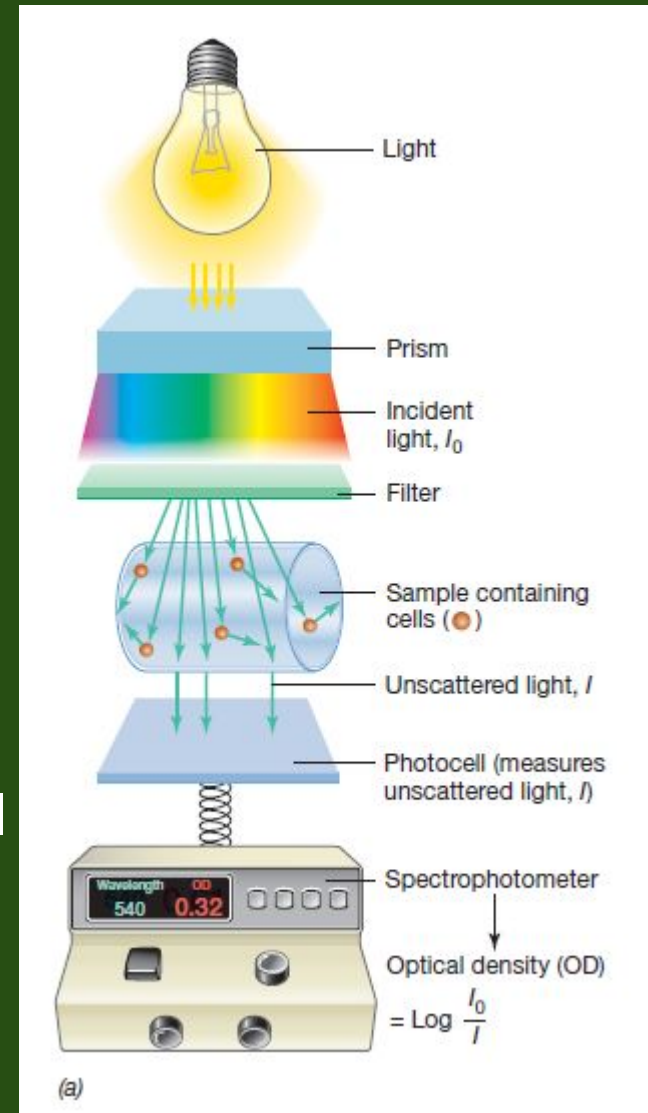


# Diluição antes da semeadura

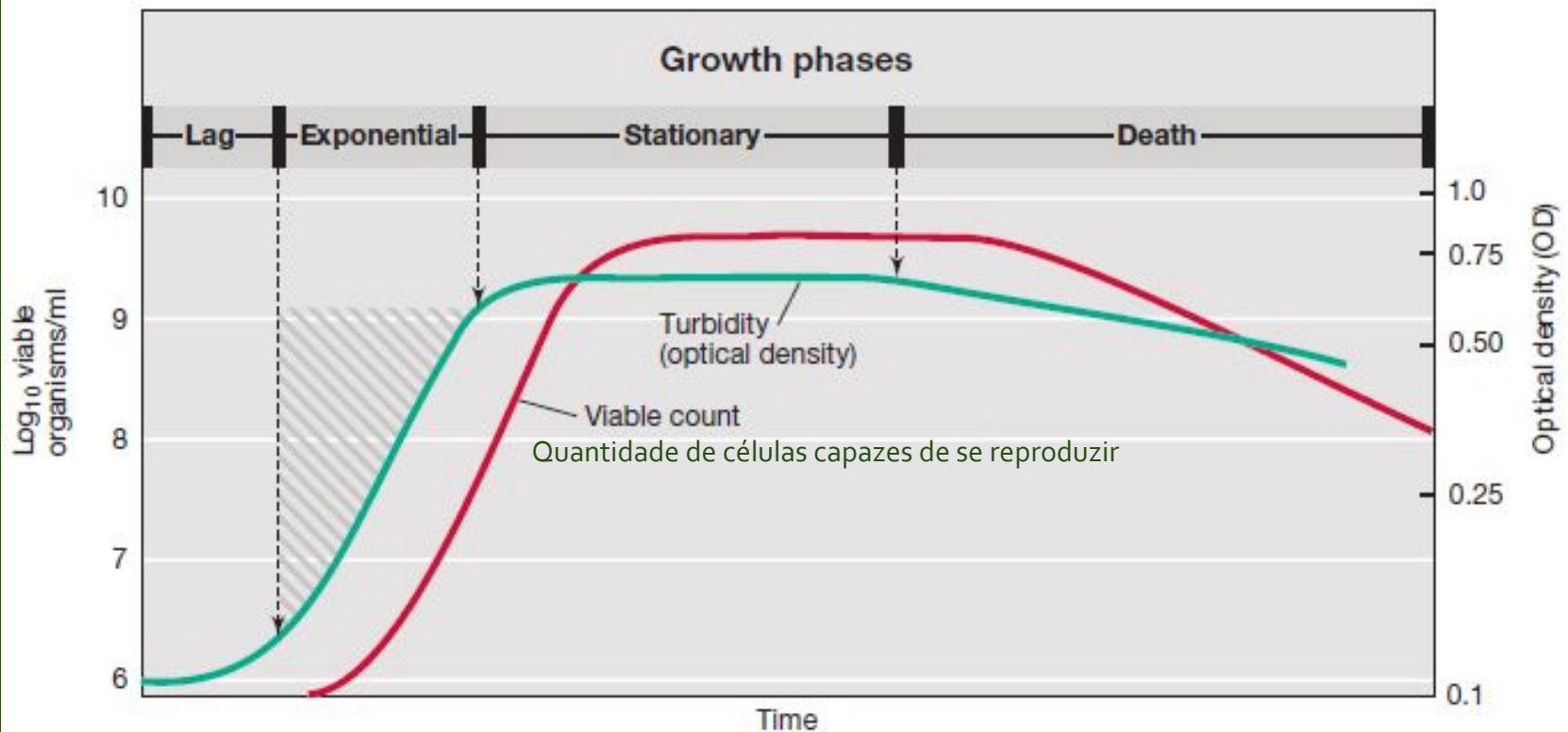
- A contagem em meio sólido em placa de Petri é inadequada para avaliar a quantidade de células totais em uma amostra natural (como se mimetiza o meio natural?)
  - Solo
  - Mar
  - ...
- Grande anomalia da contagem de placa
  - Limita a técnica

# *D.O- densidade óptica – medida de turbidez*

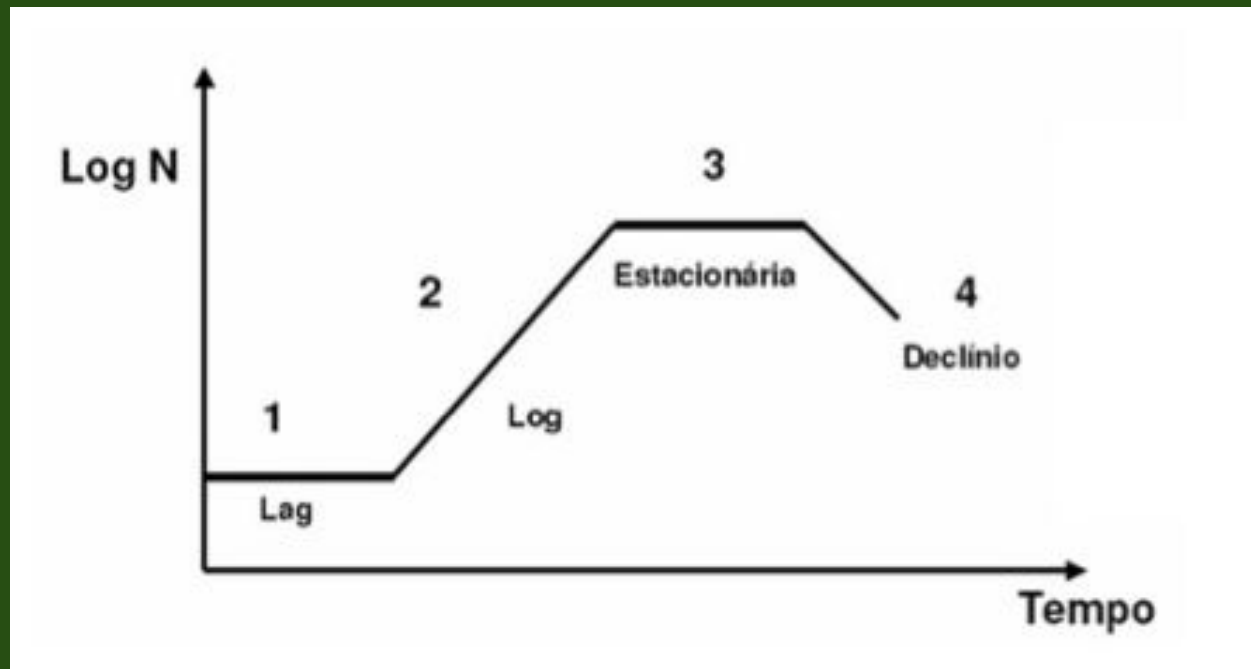
- Tomar cuidado com:
  - Caminho ótico
  - Comprimento de onda
    - 480nm
    - 540nm
    - 600nm -  $OD_{600}$  of 1.0 =  $8 \times 10^8$  cells/ml
    - 660nm



# Ciclo de crescimento microbiano



# *Curva de crescimento*



# Fases de crescimento

- 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



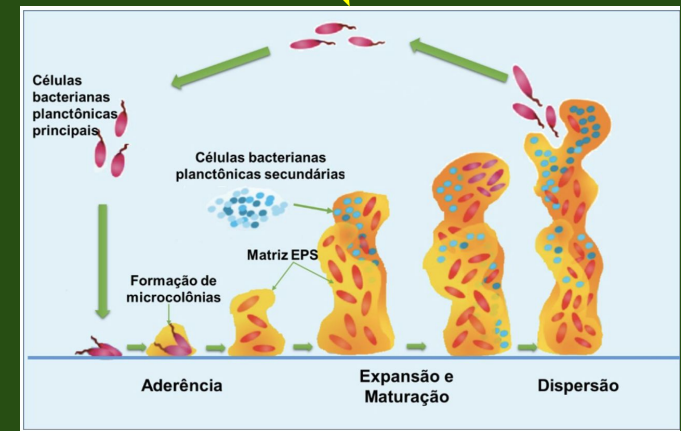
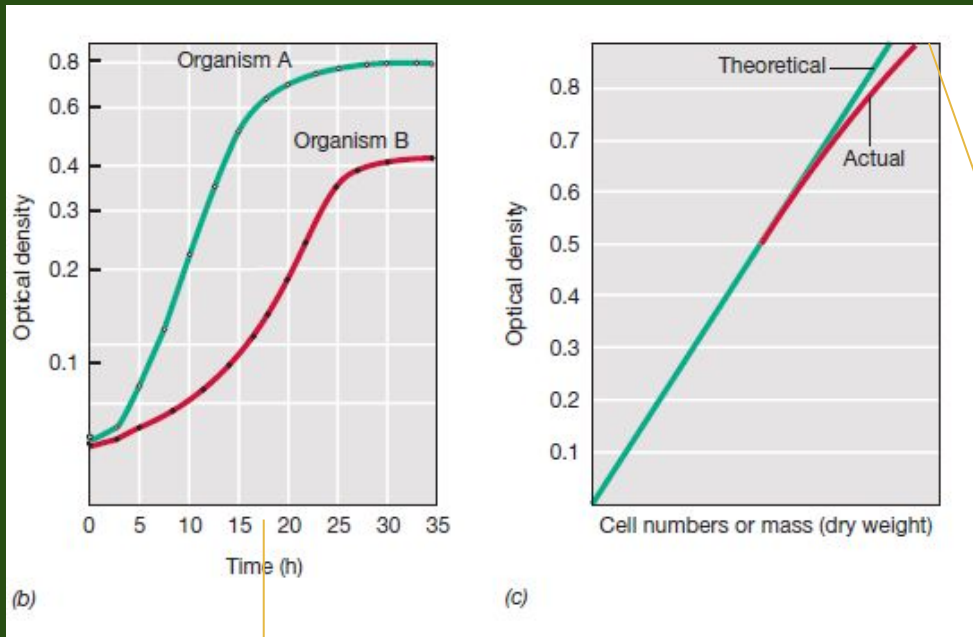
# Fase lag – Fase de adaptação

- 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 Mg).
  - Exemplo:
    - Inóculo coletado na fase exponencial e transferido para meio de mesma composição = a cultura nova não tem fase lag
    - Inóculo coletado na fase estacionária tem fase lag

# Medida da quantidade de células por D.O

- Problema:

- Agregados celulares
- biofilme



Exemplo da medida do 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

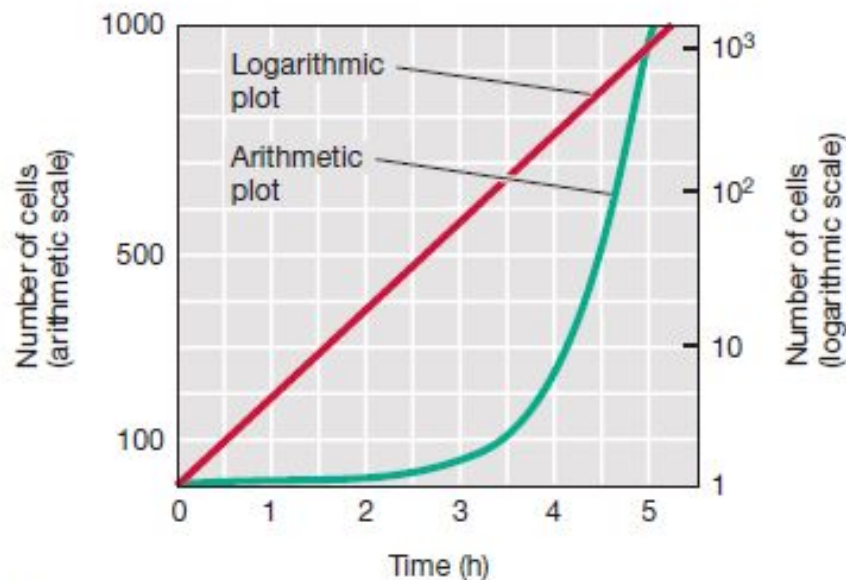


# Crescimento

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 ( $2^{19}$ )

Crescimento iniciado com 1 única célula, que tem um tempo de duplicação ( ou tempo de geração) igual a 30 minutos

(a)

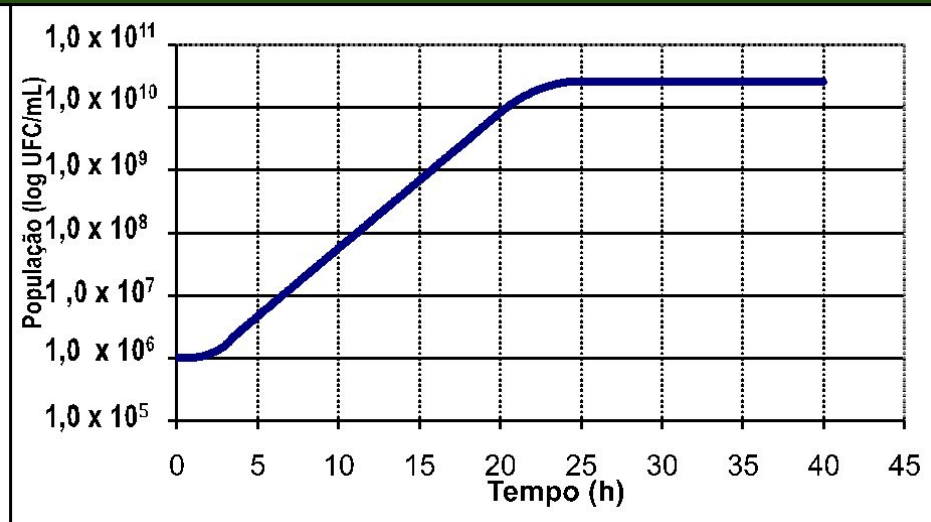
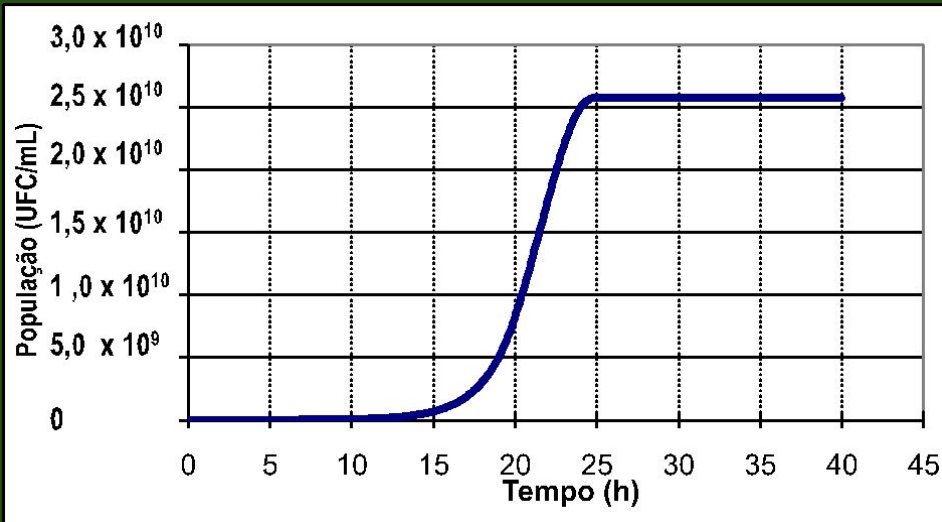


(b)

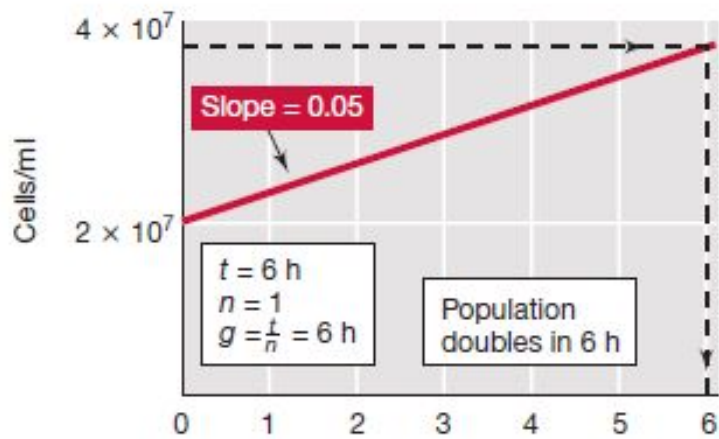
# Curva de crescimento

A

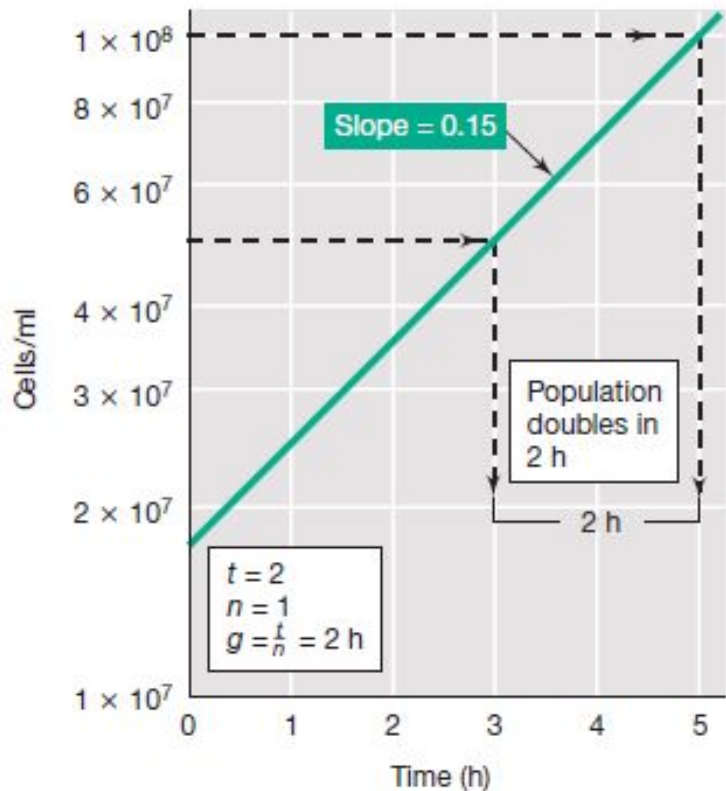
B



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



(a)



(b)

- $n$  = número de gerações formadas no intervalo de tempo  $T$
- $g$  = tempo de geração

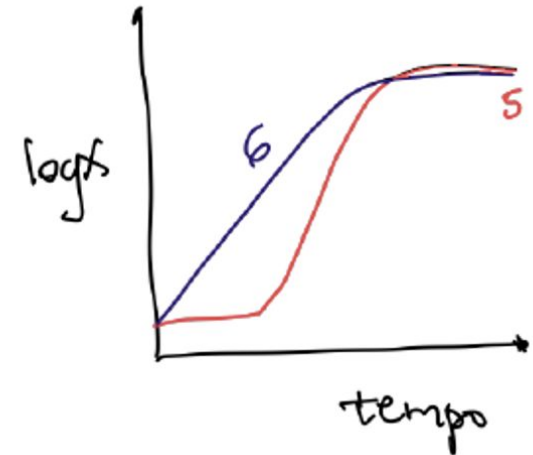
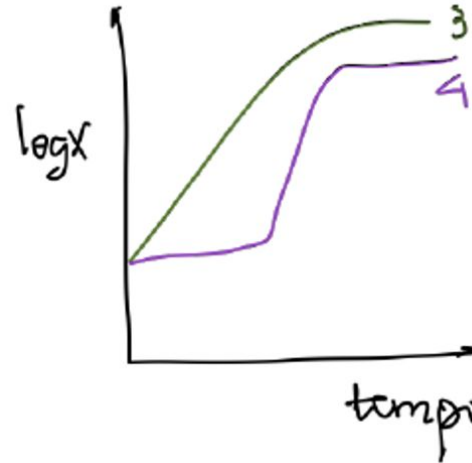
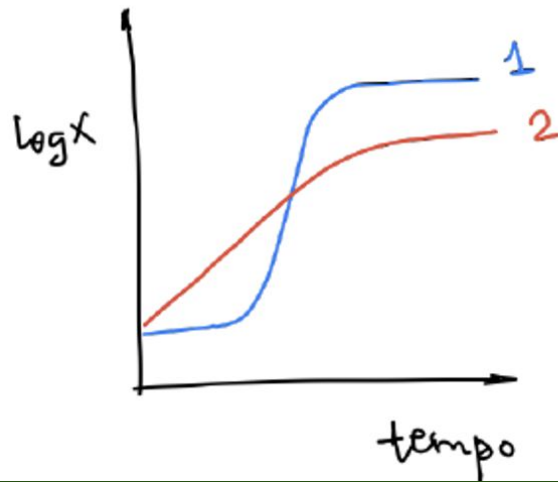
• Em uma escala logarítmica a inclinação da curva está diretamente relacionada ao  $g$

• Quanto maior a inclinação menor o  $g$

*Maior velocidade = menor  $g$*

*Menor velocidade de crescimento = maior  $g$*

# Analizando algumas curvas de crescimento....



O QUE SE PODE AFIRMAR SOBRE A VELOCIDADE DE CRESCIMENTO DAS CULTURAS?

- a)  $1 > 2$  e  $3 > 4$ , pois 1 e 3 atingem maior concentração celular final, enquanto 5 e 6 têm a mesma velocidade pois chegam à mesma concentração final
- b)  $2 > 1$ ;  $3 > 4$  e  $6 > 5$  pois 2, 3 e 6 não precisaram realizar a fase lag
- c)  $1 > 2$ ;  $4 > 3$  e  $5 > 6$  pois 1, 4 e 5 realizaram a fase lag
- d)  $1 > 2$ ;  $4 > 3$  e  $5 > 6$  pois, somente na fase exponencial, a inclinação das retas de  $\log X$  das culturas 1, 4 e 5 é maior do que 2, 3 e 6, respectivamente

# *Fatores do ambiente que afetam o crescimento microbiano*

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

# Efeito da Temperatura

Processo geralmente irreversível  
Exemplo febre

- Temperatura

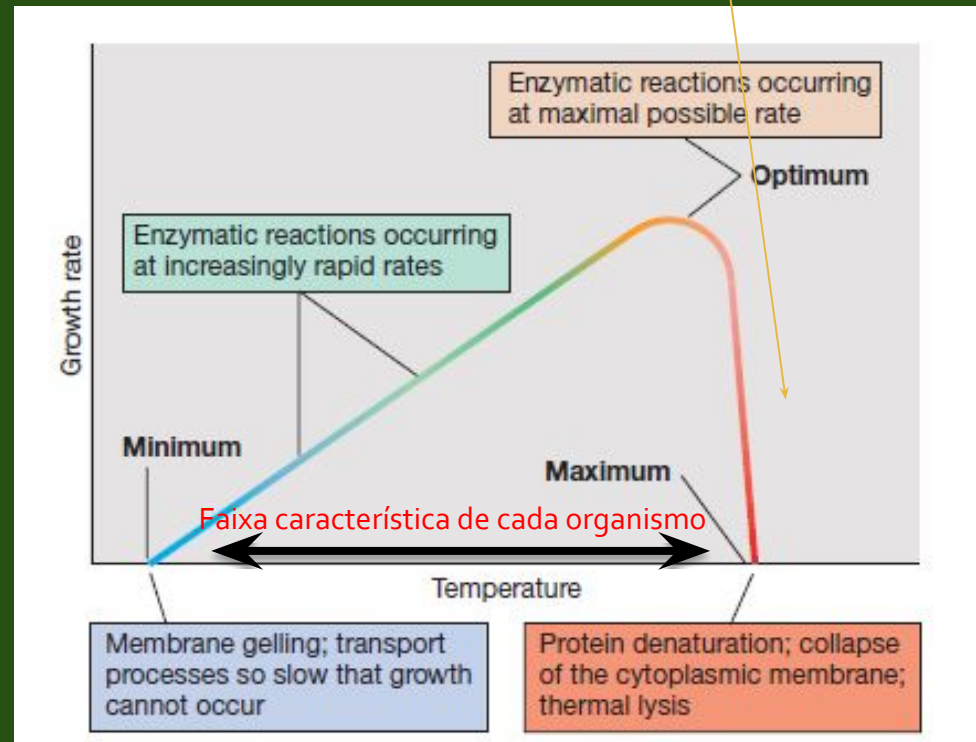
- Mínima

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

- Ótima

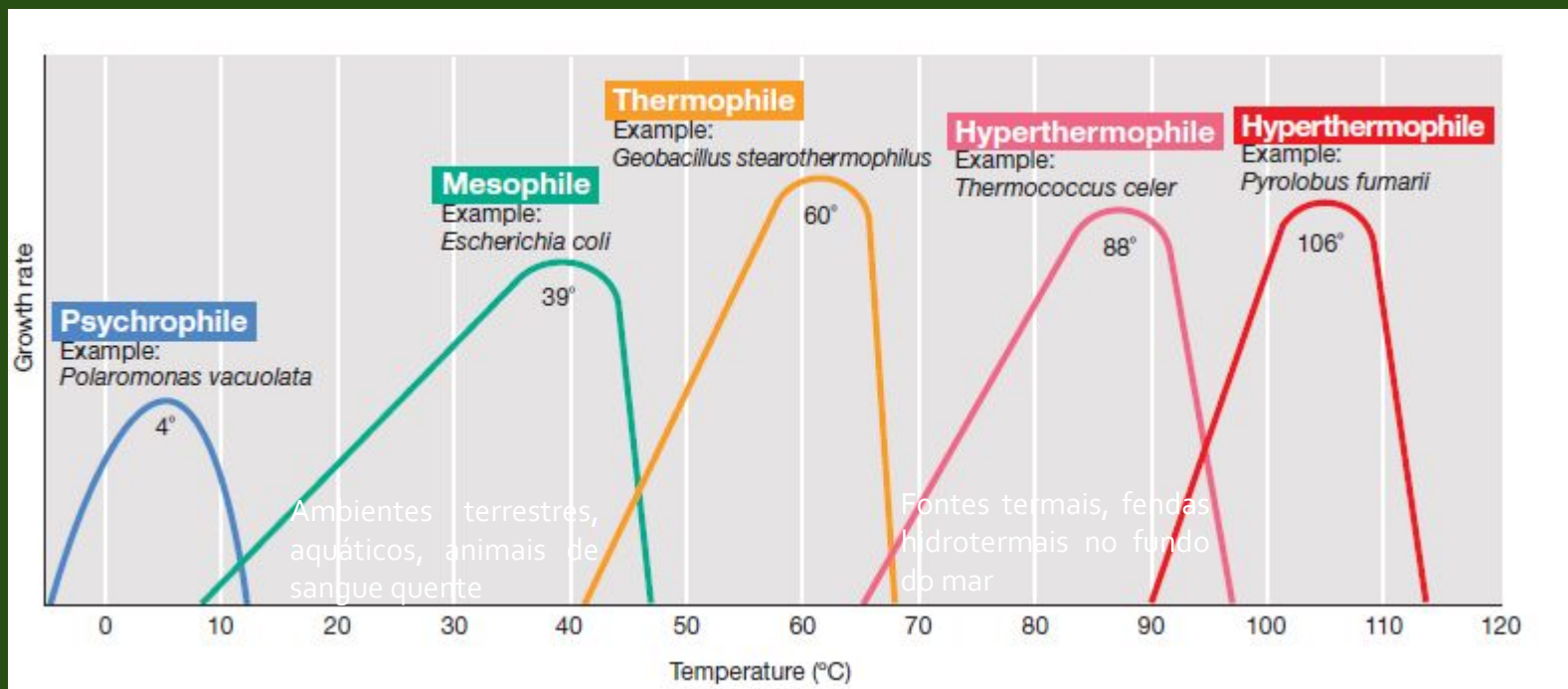
- Condição em que todos os componentes estão na sua atividade máxima

- Máxima



# Efeito da Temperatura

- Classes térmicas dos organismos

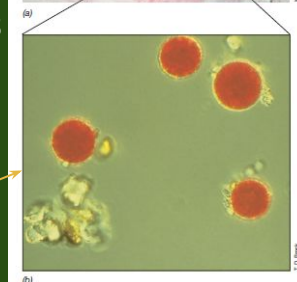
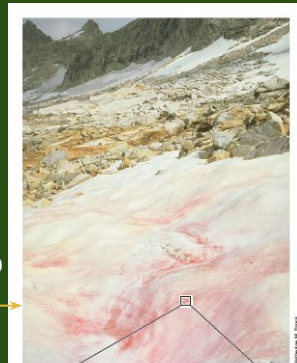


# Micro-organismos Psicrófilos

Antártida

- 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)

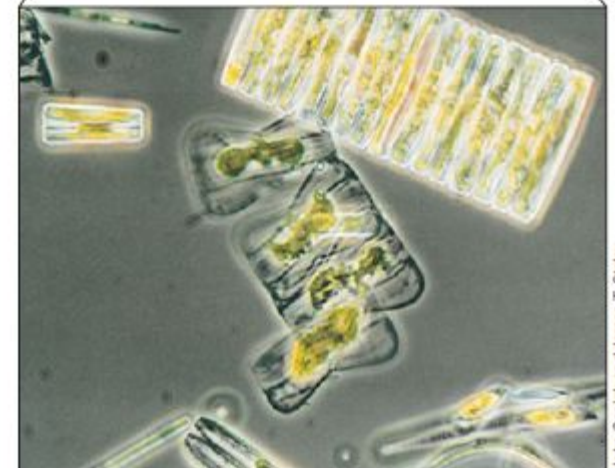
Algas da neve  
*Chlamydomonas nivalis*



Alga verde que esporula (temp.) e fica vermelha



(a)



(b)



# *Micro-organismos Psicrófilos*

- Como eles são tolerantes a baixas temperaturas?
  - importância de 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*

- Organismo capazes de crescer a  $0^{\circ}\text{C}$  (a baixa velocidade), com temperatura ótima de  $20-40^{\circ}\text{C}$ .
- São mais abundantes que os psicrófilos
- Encontrados solos, água de clima temperado, carne, leite, ...

# Crescimento microbiano em altas Temperaturas

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



Fontes termais ferventes

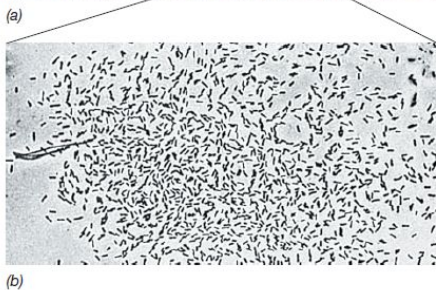


Figure 5.22 Growth of hyperthermophiles in boiling water.

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

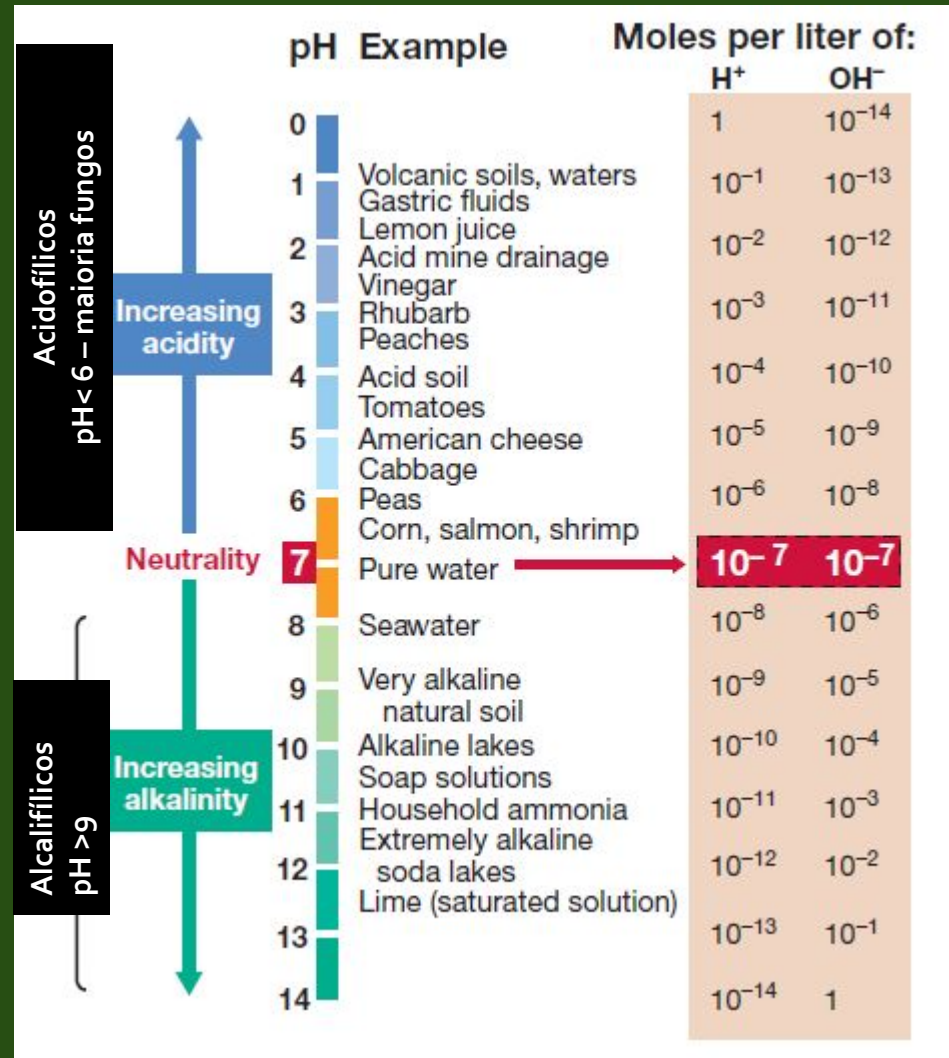
Group	Upper temperature limits (°C)
<b>Macroorganisms</b>	
<i>Animals</i>	
Fish and other aquatic vertebrates	38
Insects	45–50
Ostracods (crustaceans)	49–50
<i>Plants</i>	
Vascular plants	45 (60 for one species)
Mosses	50
<b>Microorganisms</b>	
<i>Eukaryotic microorganisms</i>	
Protozoa	56
Algae	55–60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

# Características dos Termófilos

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

# Efeito do pH

- 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

- 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

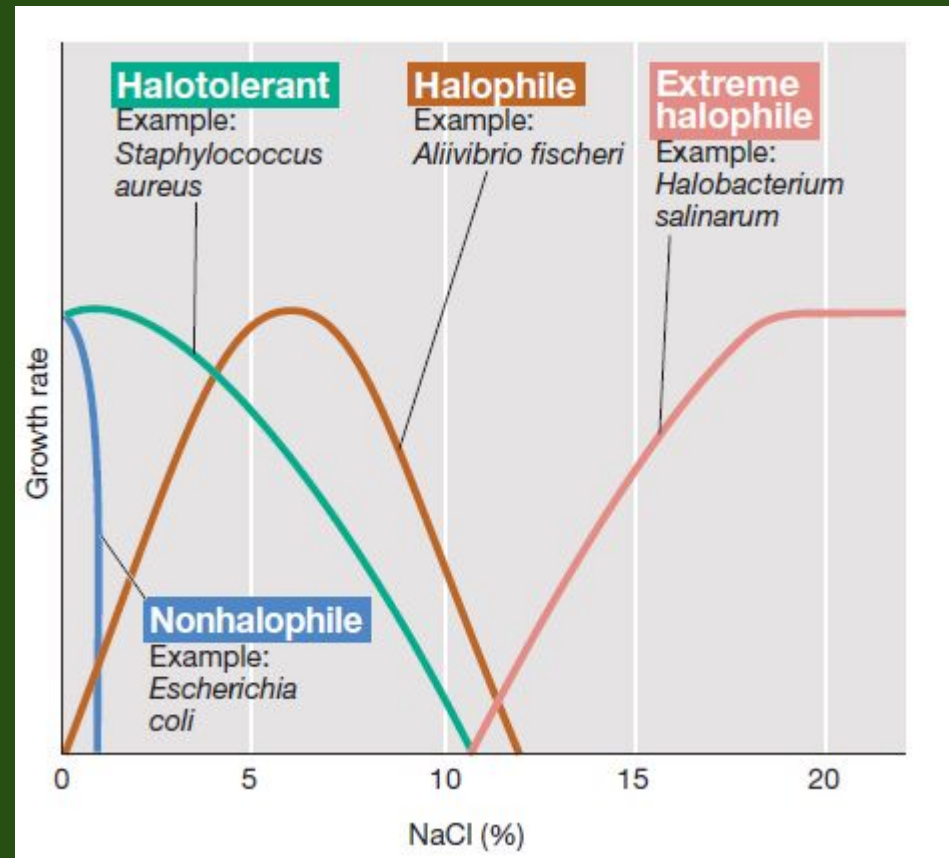
**Table 5.2** Relationships of microorganisms to pH

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

- Halófilos discretos (1-6% NaCl)
- Halófilos moderados (7-15% NaCl)
- Halófilos extremos são um problema na indústria alimentícia que usa alta concentração de saise de açures (osmófilos) como conservantes
- Não halófilos crescem em ambientes com pouco sal.



# Efeito do Oxigênio

**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>
<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
<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

Capazes de respirar usando O<sub>2</sub>

Respiração sem O<sub>2</sub>



# Efeito do Oxigênio no crescimento de bactérias no laboratório

- Aeróbios

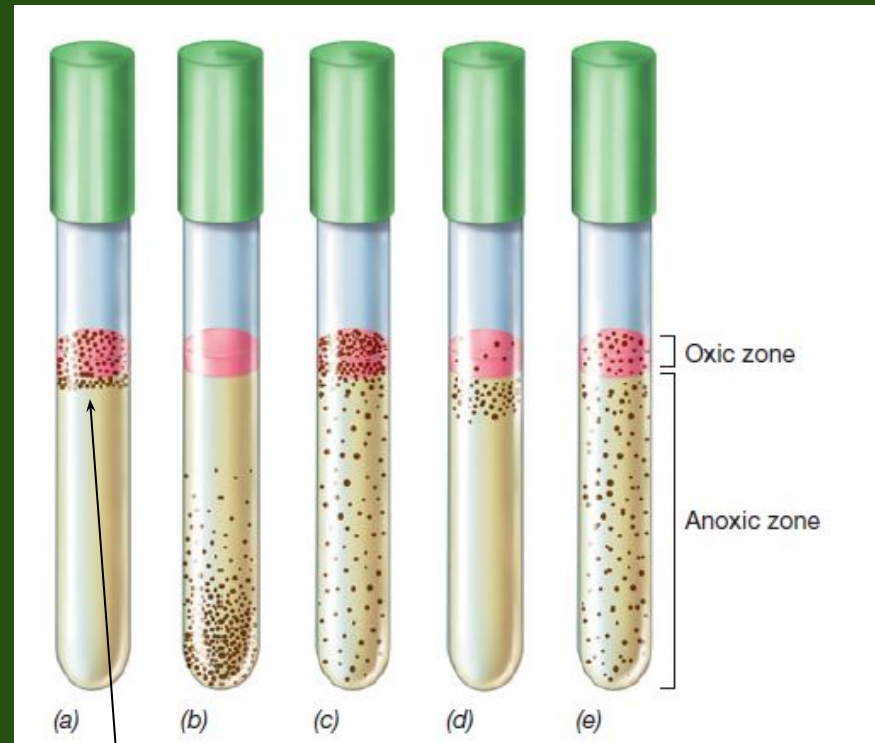
- Necessita de agitação (aeração forçada)
- Adicionar  $O_2$

- 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

<b>Aerobes</b>
Obligate
Facultative
Microaerophilic
<b>Anaerobes</b>
Aerotolerant
Obligate

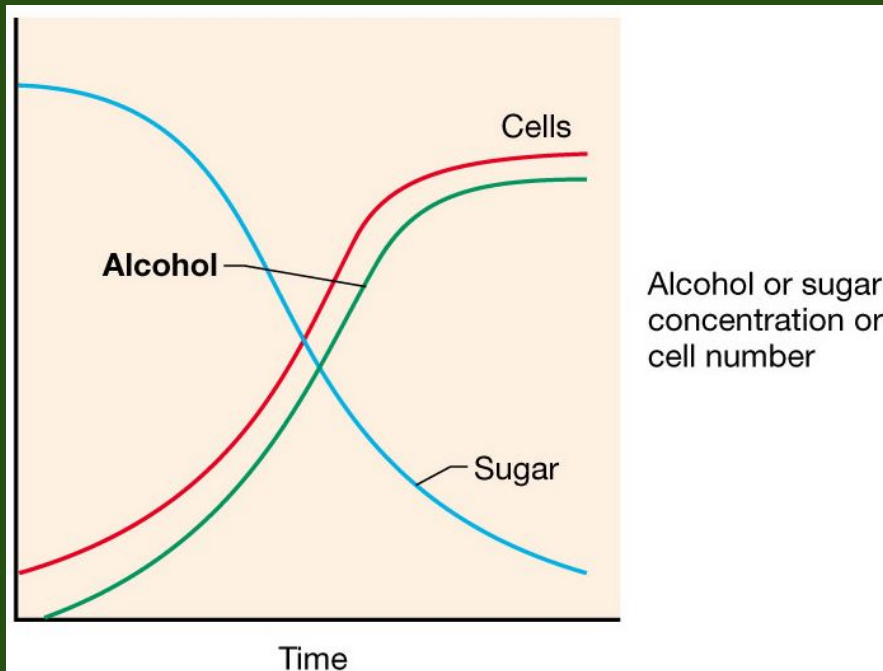
## Teste do efeito do Oxigênio nos organismos



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

# Metabólitos Primário e Secundário

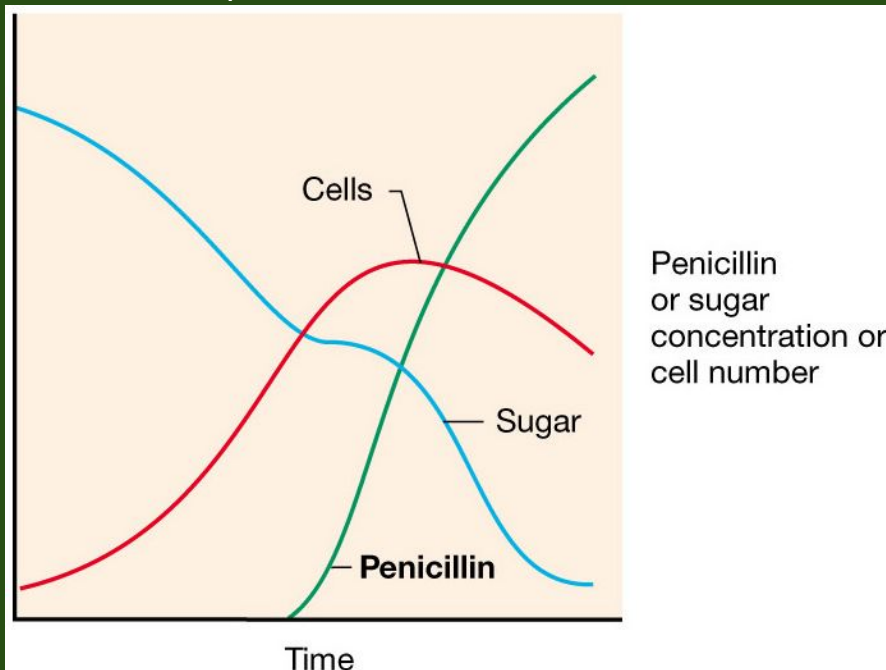
Crescimento Primário  
Metabólito constantemente sintetizado



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

# Metabólito Secundário

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

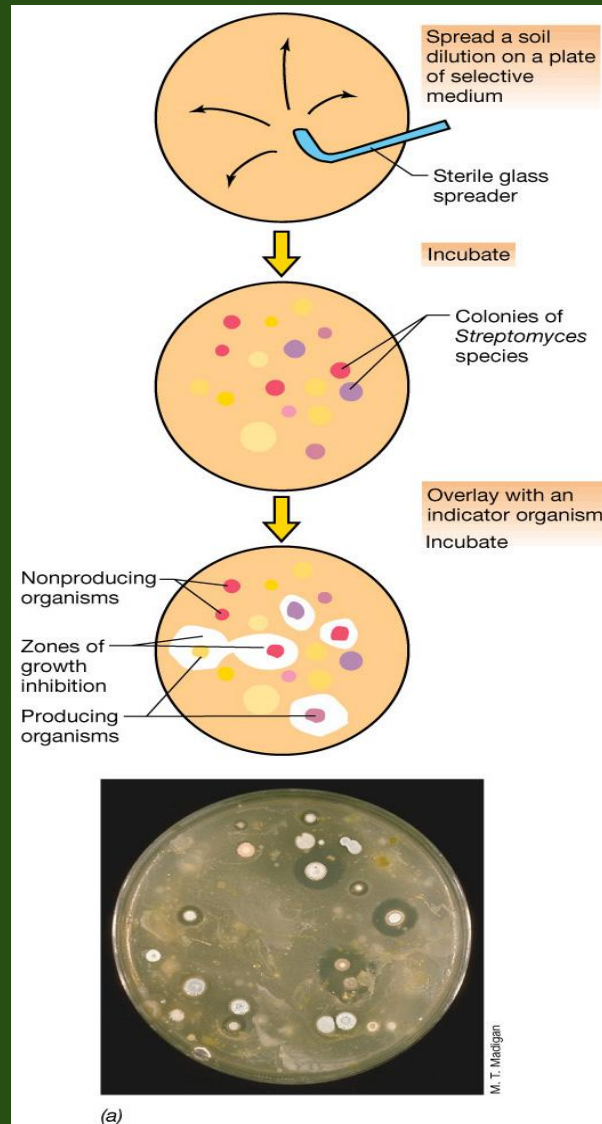
Ex. *Streptomyces* pode produzir 30 antibióticos diferentes relacionados

- Superprodução

*genum* 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



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

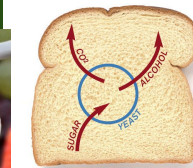
# Bioprodutos microbianos

REPORTAGENS



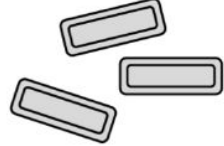
**Biodiversidade brasileira é fonte de microorganismos produtores de plásticos e elastômeros biodegradáveis**

Luiziana da Silva, Maria Filomena Rodri...  
& José Gr...



*Saccharomyces cerevisiae*

*Zymomonas mobilis*



Glycolysis/fermentation

Ethanol



**CHEESE PRODUCTION**

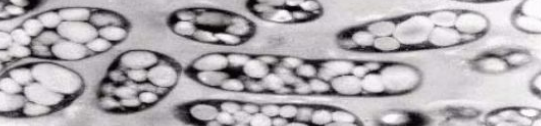
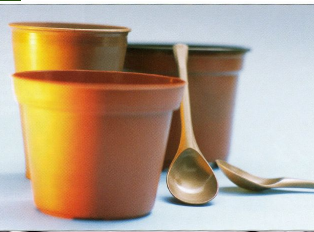
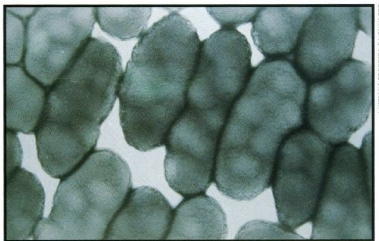


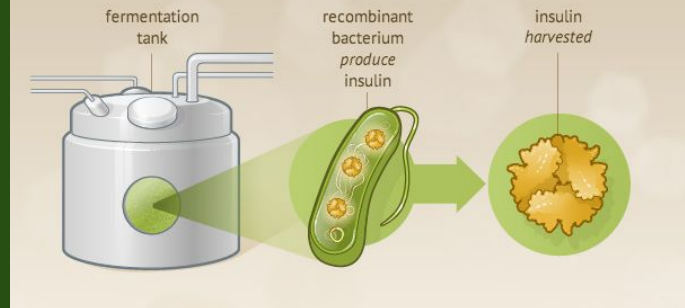
Figura 1. Grânulos de polímero biodegradável do tipo poli-3-hidroxi-butilato (P3HB) no interior de bactérias (preparação e fotomicrografia eletrônica realizadas por Rita de Cássia Pato Alli, Agrupamento de Biotecnologia, DQ, IPT)



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



HOW DID THEY MAKE INSULIN FROM RECOMBINANT DNA?



## *Uso de características nutricionais e metabólicas para isolar e identificar bactérias no laboratório*

- Para isolar : definir quais características são desejadas para as bactérias a serem isoladas, qual a amostra a coletar e quais organismos competidores é preciso inibir.
  - Ex. Gram positivas ou negativas
  - Consumidoras de celulose, sacarose, etc
  - fixadoras de nitrogênio
  - termotolerantes
  - neutrófilas
  - aeróbias ou anaeróbias
  - presença de fungos na amostra, etc...

# Uso de características nutricionais e metabólicas para isolar e identificar bactérias no laboratório

- Para identificar
  - acompanhar a aula prática a seguir....



Ágar MacConkey

