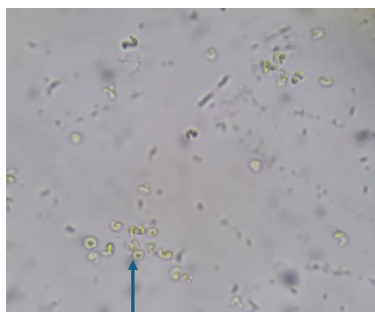


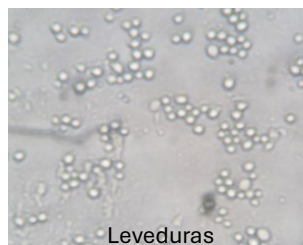


2

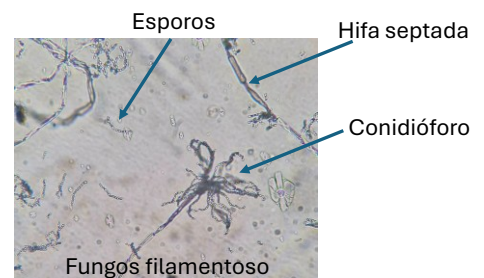
DIVERSIDADE DE TIPOS CELULARES VISTO AO MICROSCÓPIO



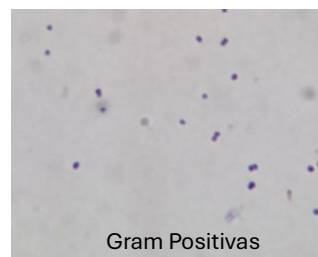
Microalgas



Leveduras



Fungos filamentosos



Gram Positivas



Gram Negativas

3

PROCARIOTOS

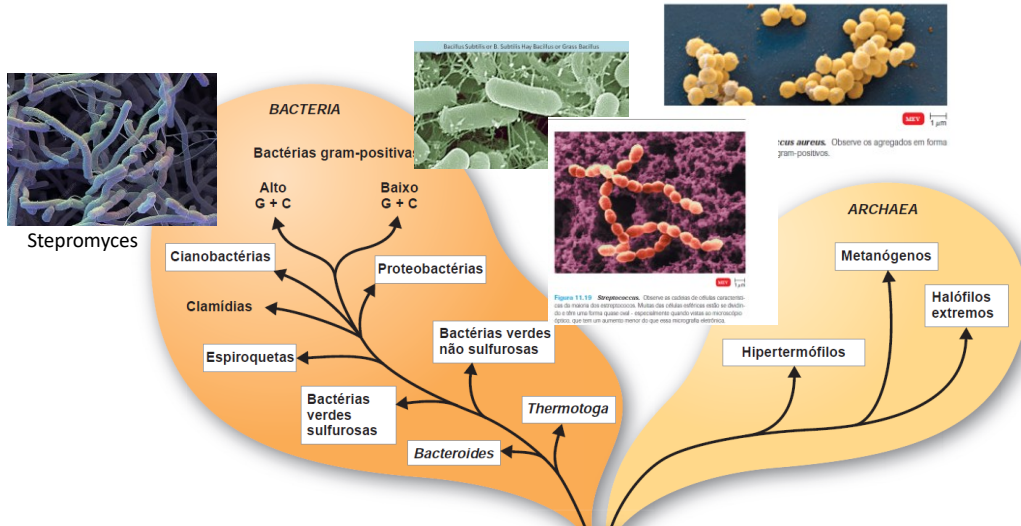


Figura 10.6 Relações filogenéticas dos procariotos. As setas indicam as linhas principais de descendência dos grupos bacterianos. Filos selecionados são indicados pelos quadros brancos.

P Membros de qual filo podem ser identificados pela coloração de Gram?

4

GRAM NEGATIVAS: PROTEOBACTÉRIAS

❑ Alfa-proteobactérias

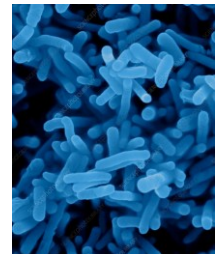
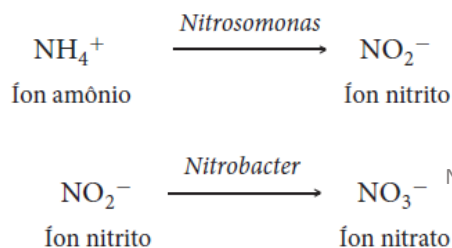
❑ Gêneros :*Nitrobacter* e *Nitrosomonas*

✓ Aeróbicas

✓ Quimioautotrófico

✓ Processo de nitrificação:

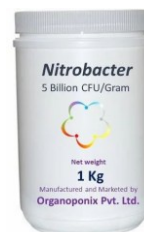
✓ Essenciais para decomposição do material orgânico e para a agricultura



Nitrosomonas sp. nitrifying



Nitrobacter sp. nitrifying,



5

PROTEOBACTÉRIAS

- ❑ Alfa-proteobactérias
- ❑ Gêneros :*Rhizobium*, *bradyrhizobium* e *agrobacterium*
- ✓ Aeróbicas
- ✓ leva à formação de nódulos
- ✓ Fixadoras de nitrogênio relação simbiótica com as plantas

Rhizobium rhizogenes

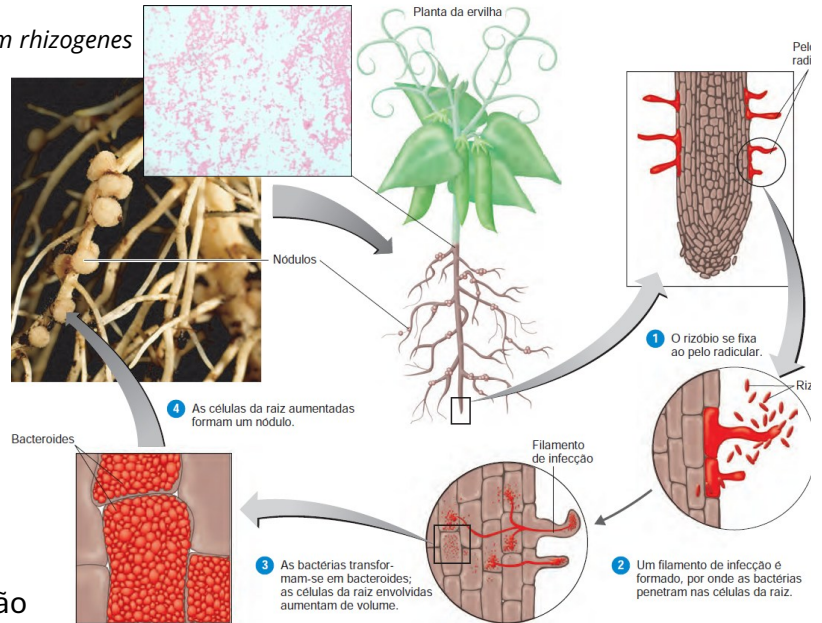
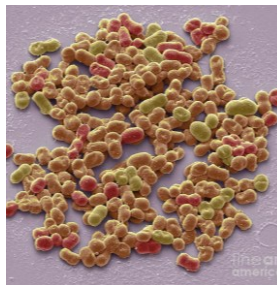


Figura 27.5 A formação de um nódulo de raiz. Membros dos gêneros fixadores de nitrogênio *Rhizobium* e *Bradyrhizobium* formam esses nódulos em leguminosas. Essa associação mutualística é benéfica tanto para a planta quanto para a bactéria.

6

PROTEOBACTÉRIAS

- ❑ Gama-proteobactérias
- ❑ Gêneros :*Azotobacter* e *Azomonas*
- ✓ Aeróbicos
- ✓ não simbiótica
- ✓ Fixadoras de nitrogênio



7

PROTEOBACTÉRIAS

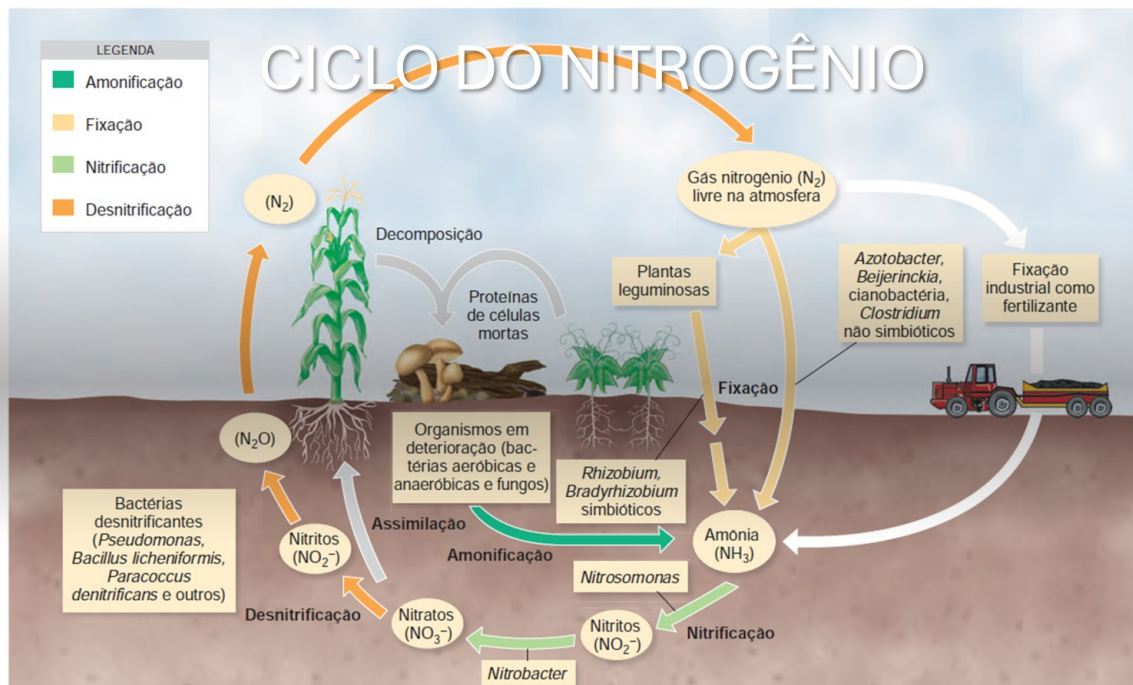
- ❑ Gama-proteobactérias
- ❑ Gêneros : *Pseudomonas*
- ✓ Aeróbicos
- ✓ Muitas espécies excretam pigmentos extracelulares
- ✓ Algumas espécies patogênicas
- ✓ Desnitrificantes



Figura 11.7 *Pseudomonas*. Essa foto de um par de *Pseudomonas* mostra seus flagelos polares, que são uma característica do gênero. Em algumas espécies, somente um flagelo está presente (veja a Figura 4.7b, página 81). Note que uma célula (na parte inferior) está começando a se dividir.



8

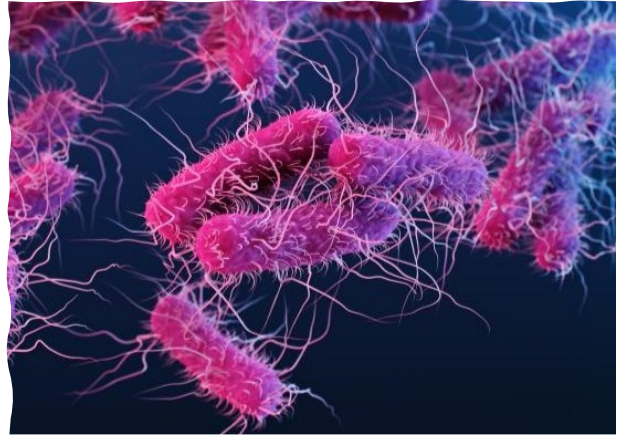
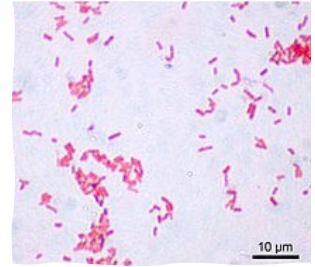
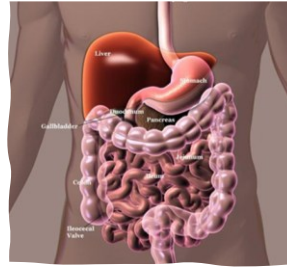


10

PROTEOBACTÉRIAS

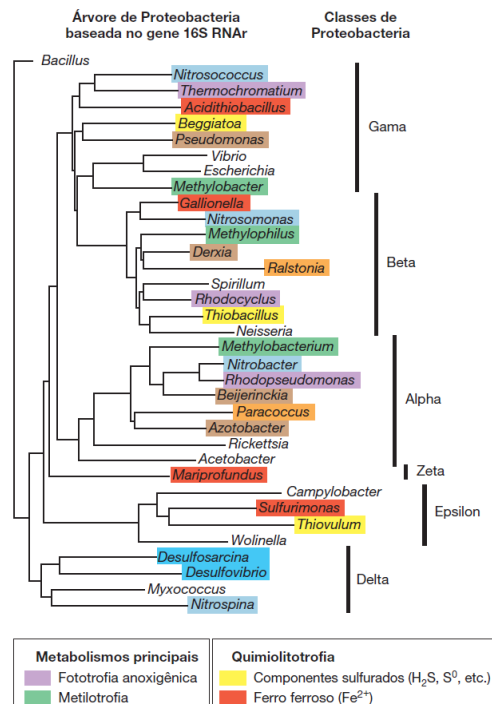
☐ Gama-proteobactérias (Enterobacterias)

- ✓ Gêneros: *Escherichia*
- ✓ Espécie: *Escherichia coli*
- ✓ Anaeróbicos facultativos
- ✓ habitam o trato gastrointestinal do homem e de outros animais
- ✓ Possuem fimbrias e flagelos



11

• Proteobactérias



12

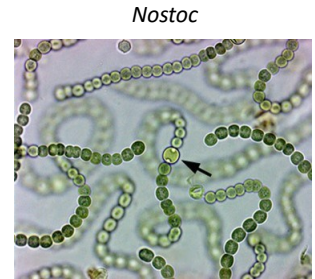
BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS NÃO PROTEOBACTÉRIAS

☐ Cianobactérias

- ✓ fotossintéticas oxigênicas
- ✓ Variação na forma e aparência
- ✓ Presença de vacúolo gasoso
- ✓ Podem fixar N₂



Oscillatoria



Nostoc



Anabaena



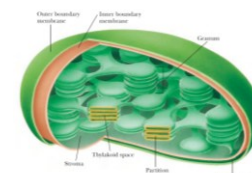
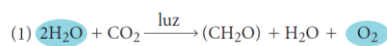
Chroococcus



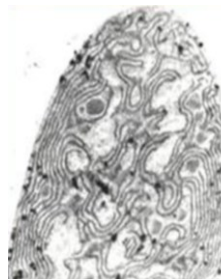
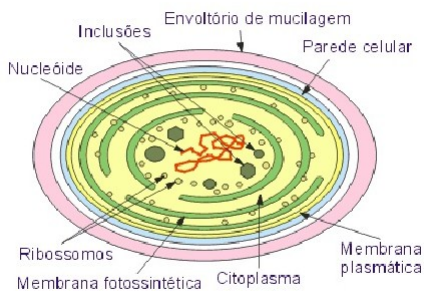
13

BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS NÃO PROTEOBACTÉRIAS

- ✓ Presença de membranas fotossintéticas no citoplasma



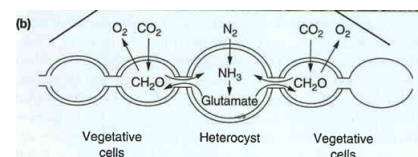
Cloroplasto presente em plantas e algas



Membranas em Cianobactérias



(a) Cianobactérias filamentosas mostrando heterocistos, nos quais a atividade de fixação de nitrogênio é localizada. MO 10 µm

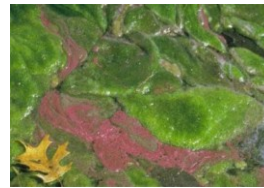
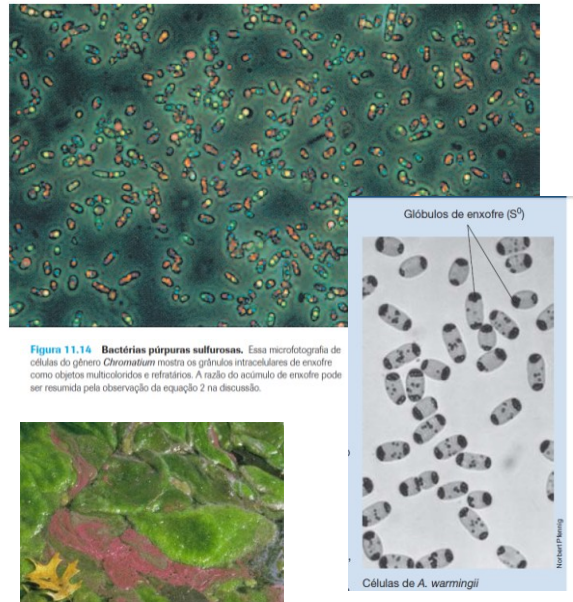
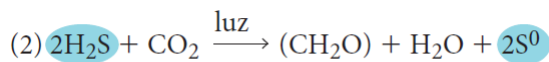


Fixação de N₂

14

BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS NÃO PROTEOBACTÉRIAS

- ❑ Bactérias fotossintéticas púrpuras e verdes
- ✓ fotossintéticas anoxigênicas
- ✓ Possuem bacteriofila e utilizam compostos reduzidos de enxofre, como o sulfeto de hidrogênio em vez de água



15

BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS NÃO PROTEOBACTÉRIAS

- ❑ Bactérias fotossintéticas púrpuras e verdes
- ❑ membranas fotossintéticas vesiculares com bacteriofila

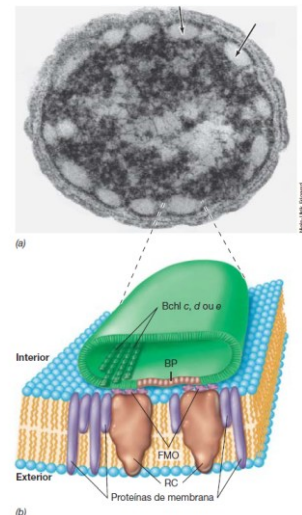
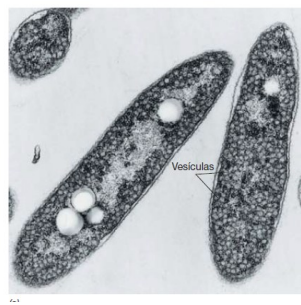
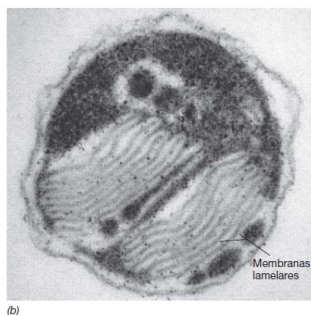
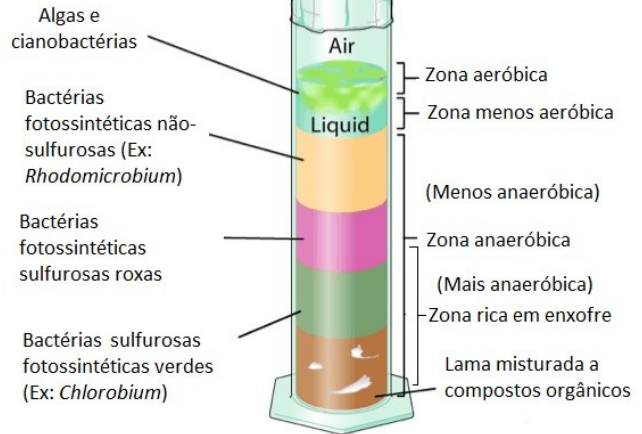
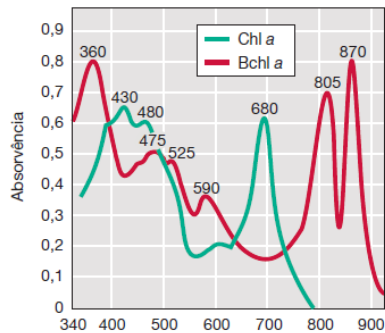
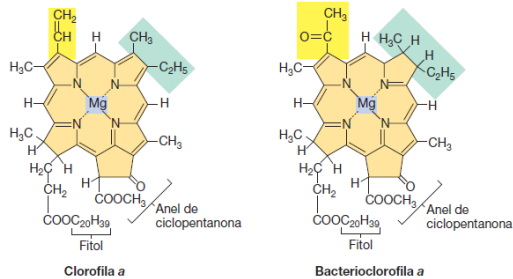


Figura 13.6 Membranas em fototróficos anoxigênicos. (a) *Cryptomonas*. Seção de uma célula da bactéria púrpura fototrófica *Rhodospirillum rubrum*, mostrando as membranas fotossintéticas vesiculares. As vesículas são contínuas à membrana citoplasmática e são formadas por invaginações dela. Uma célula tem largura aproximada de 1 µm. (b) Membranas lamelares da bactéria púrpura *Ectothiorhodospira*. Uma célula tem cerca de 1,5 µm de largura. Essas membranas são lamelares contínuas à membrana citoplasmática e são formadas pela invaginação dela, porém, em vez de originarem vesículas, organizam-se de forma amplificada.

Figura 13.7 O clorossoma de bactérias verdes sulfurosas e verdes não sulfurosas. (a) Micrografia eletrônica de uma célula da bactéria verde sulfurosa *Chlorobacterium thiosulfatum*. Observe os clorossomos (setas). (b) Modelo da estrutura do clorossoma. O clorossoma (verde) encontra-se estreitamente associado à superfície interna da membrana citoplasmática. As moléculas de bacterioclorofila (Bchl) estão organizadas em conjuntos lamelares no interior do clorossoma, sendo a energia transferida a partir das suas bacteriorredutases, por meio das moléculas de Bchl a captação de luz (LH), para a Bchl a do centro de reação (RC), situado na membrana citoplasmática por meio da proteína denominada FMO. As proteínas da placa de base (BP) atuar podem atuar como conectores entre o clorossoma e a membrana citoplasmática.

16

CLOROFILA X BACTERIOFILA



17

PADRÃO FOTOSSINTÉTICO EM PROCARIOTO

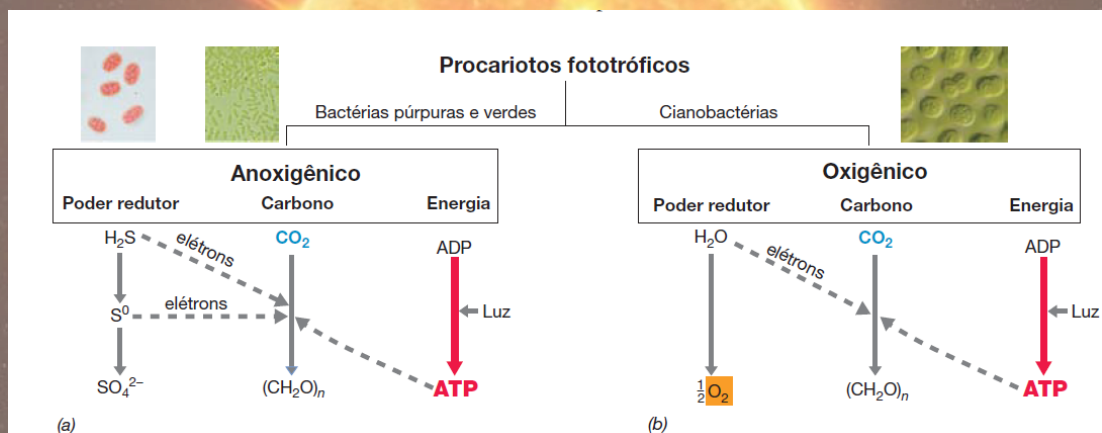
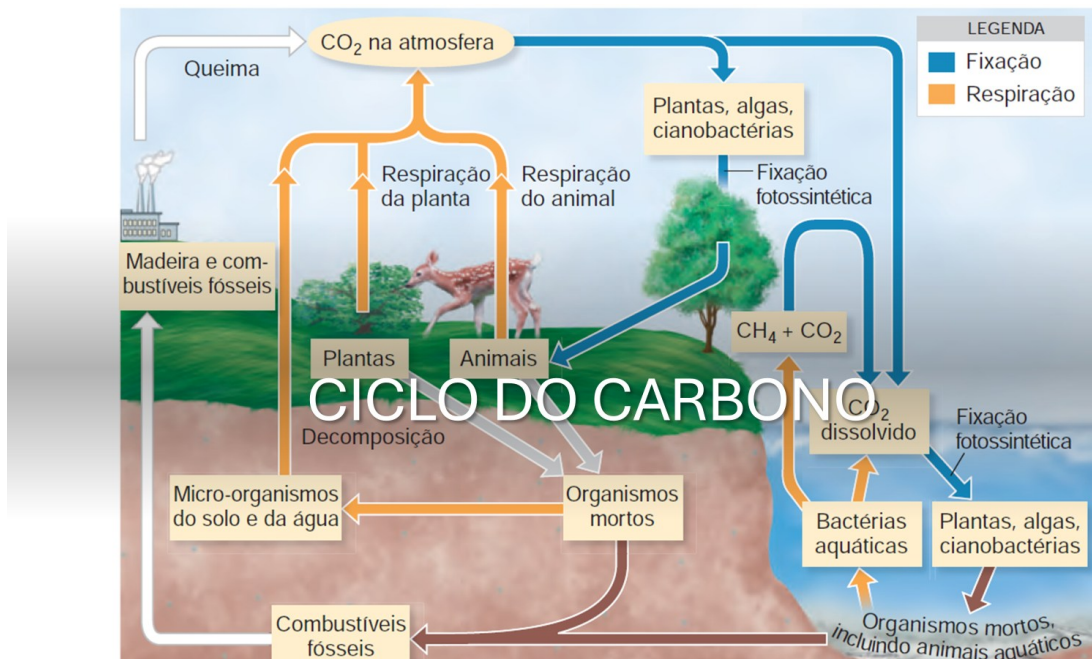


Figura 13.1 Padrões de fotossíntese. Síntese de energia e de poder redutor em (a) fototróficos anoxigênicos e (b) oxigênicos. Embora os dois tipos de fototróficos obtenham sua energia a partir da luz, em fototróficos oxigênicos a luz também dirige a oxidação da água em oxigênio. Esquerda, fotomicrografia de luz transmitida de células de bactérias púrpuras sulfurosas (*Chromatium*,

células com 5 μm de diâmetro) e bactérias verdes sulfurosas (*Chlorobium*, células com 0,9 μm de diâmetro). Observe os glóbulos de enxofre elemental no interior das células no interior ou exterior das células produzidos a partir da oxidação de H_2S . À direita, uma fotomicrografia de contraste de interferência de células de uma cianobactéria com forma cocóide.

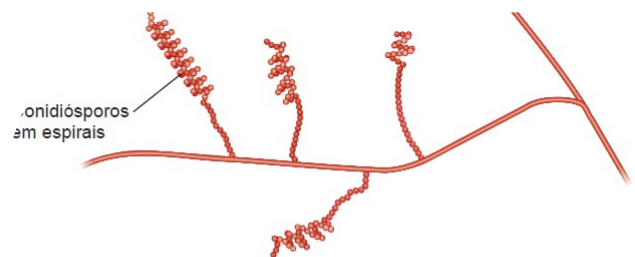
18



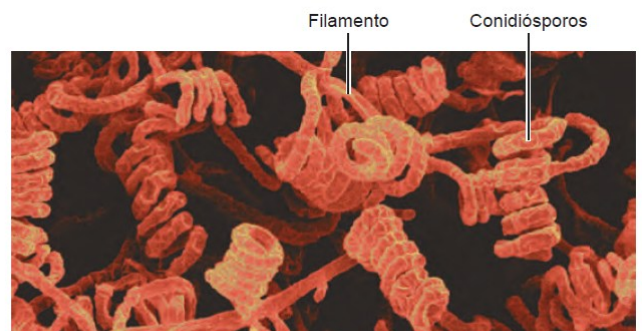
20

GRAM POSITIVAS COM ALTO GC: ACTINOBACTÉRIAS

- ☐ Actinomicetos
- ☐ Gêneros: *Streptomyces*, *Frankia*, *Actinomycetes* e *Nocardia*
- ✓ crescimento em filamentos ramificados semelhante a fungos



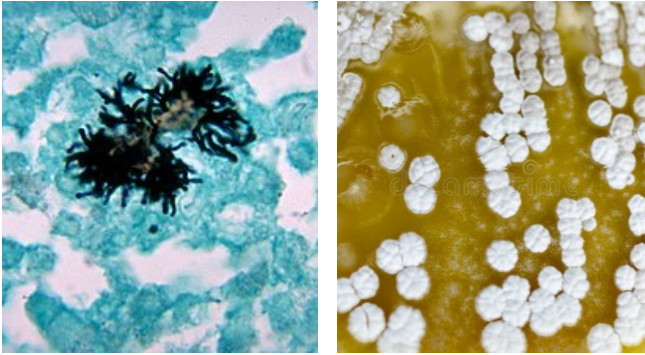
(a) Desenho de um estreptomiceto típico mostrando o crescimento filamentosos e ramificado com conidiósporos assexuados reprodutivos na ponta dos filamentos.



(b) Espirais de conidiósporos sustentados pelos filamentos do estreptomiceto.

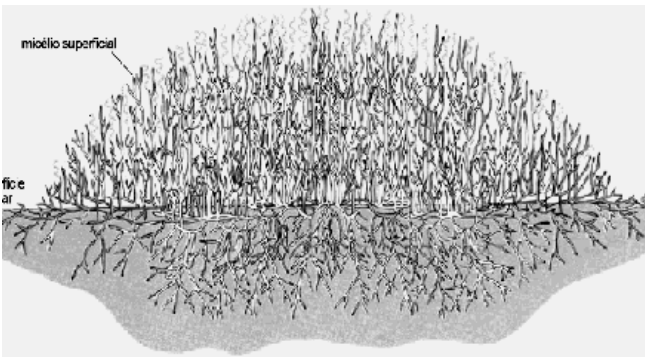
MEV 5 μm

21



ACTINOMICETOS

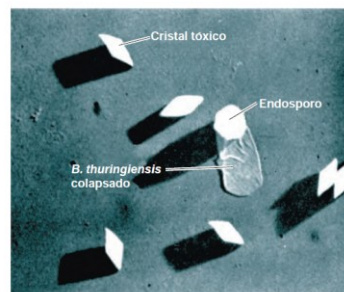
- ✓ Habitat: Rizosfera, associado a raízes das plantas
- ✓ Produtores de pigmentos, antibióticos (Ex: streptomina) e fixadoras de N_2 (gênero *Frankia*)
- ✓ Alguns grupos gram-indeterminados



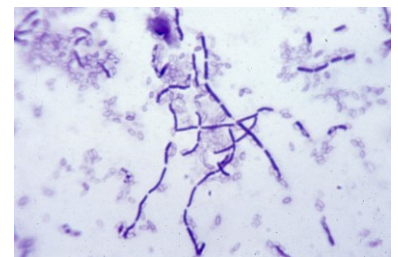
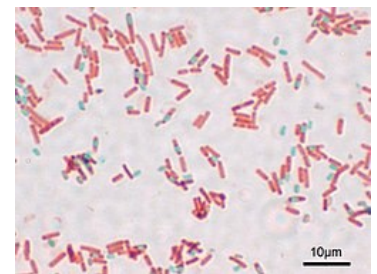
22

GRAM POSITIVAS COM BAIXO GC: FERMICUTES

- ❑ Ordem *Bacilales*
- ❑ Gênero *Bacillus*
- ✓ produzem endosporos
- ✓ comuns no solo;
- ✓ importância para a agricultura
- ✓ Aeróbicos;
- ✓ Algumas produzem antibióticos



(a) *Bacillus thuringiensis*. Os cristais em forma de diamante mostrados perto do endosporo são tóxicos para os insetos que os ingerem. Essa micrografia eletrônica foi feita utilizando a técnica de sombreamento, descrita na página 63.



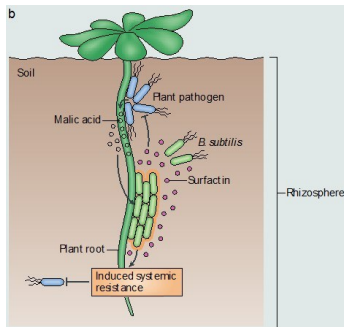
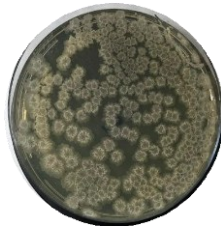
23

BACILLUS COMO AGENTES BIOLÓGICOS

Bacillus amyloliquefaciens



Bacillus licheniformis



Fonte: Nature Reviews
Microbiology, 11:157-168 (2013)



24

GRAM POSITIVAS COM BAIXO GC: FERMICUTES

- ☐ Ordem Bacilales
- ☐ Gênero Staphylococcus
- ✓ Forma de cachos
- ✓ crescem bem sob condições de pressão osmótica elevada e baixa umidade
- ✓ *S. aureus* produz a toxina responsável pela síndrome do choque tóxico



Figura 11.18 *Staphylococcus aureus*. Observe os agregados em forma de cachos de uva desses cocos gram-positivos. MEY 1 µm



Intoxicação alimentar



Infecções na pele

25

GRAM POSITIVAS COM BAIXO GC: FERMICUTES

- ❑ Ordem *Clostridiales*
- ❑ Gênero *Clostridium*
- ✓ Anaeróbicos obrigatórios
- ✓ Produzem endosporos
- ✓ incluem membros patogênicos causador do o
tétano e do botulismo
- ✓ Produtores de butanol e acetona



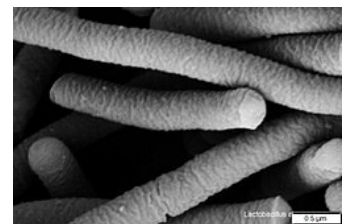
Figura 11.15 *Clostridium tetani*. Os endosporos dos clostrídios geralmente deformam a parede celular, como mostrado aqui.



26

GRAM POSITIVAS COM BAIXO GC: FERMICUTES

- ❑ Ordem *Lactobacillales*
- ❑ Gênero : *Lactobacillus*
- ✓ Anaeróbicos aerotolerantes
- ✓ produtoras de ácido lático para a indústria
- ✓ Nos humanos são localizadas na vagina, no trato
intestinal e na cavidade oral



27

GRAM POSITIVAS COM BAIXO GC: FERMICUTES

- ❑ Ordem *Lactobacillales*
- ❑ Gênero : *Streptococcus*
- ✓ células em cadeia
- ✓ Anaeróbias facultativas
- ✓ Produtos de fermentação como acetato, etanol, formato e acetaldeído
- ✓ responsável por diversas infecções

Streptococcus pneumonia

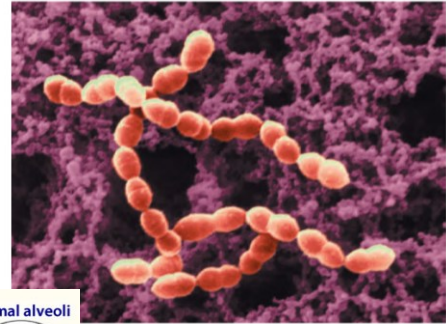
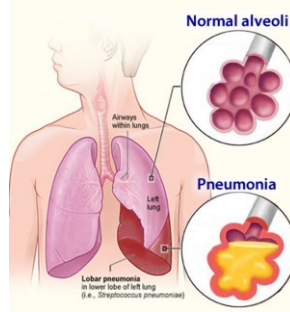
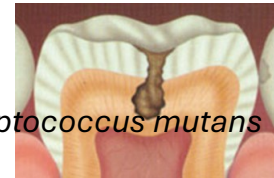


Figura 11.19 *Streptococcus*. Observe as cadeias de células características da maioria dos estreptococos. Muitas das células esféricas estão se dividindo e têm uma forma quase oval - especialmente quando vistas ao microscópio óptico, que tem um aumento menor do que essa micrografia eletrônica.



Streptococcus mutans

28

FERMENTAÇÃO

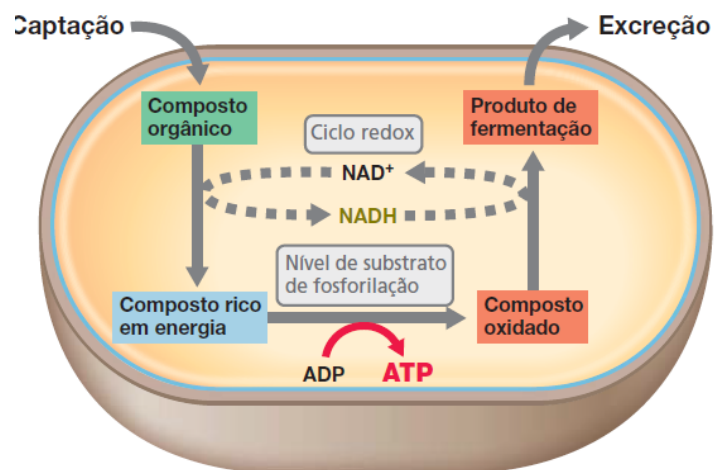
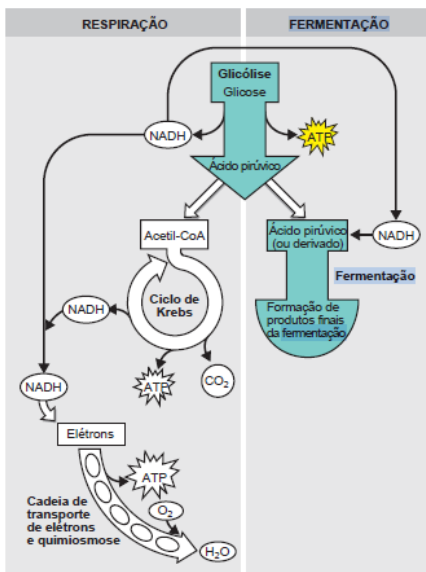


Figura 13.29 Os fundamentos da fermentação. O produto da fermentação é excretado pela célula, e apenas uma quantidade relativamente pequena do composto orgânico original é utilizada na biossíntese.

29

REAÇÕES DE FERMENTAÇÃO

Ex: Processo de Fermentação de Lactose no intestino

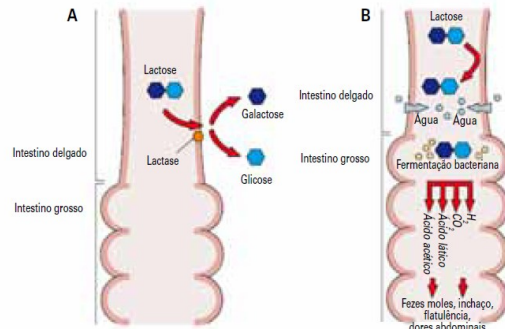
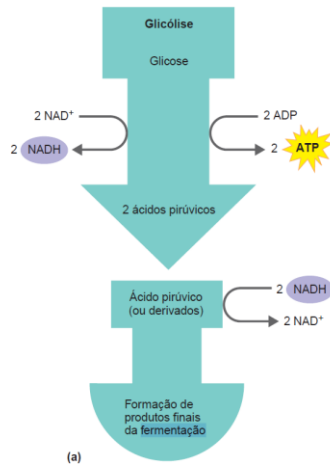


Imagem A
A lactase hidrolisa a lactose. Não há sintomas de intolerância à lactose

Imagem B
A lactose não absorvida no intestino grosso provoca os sintomas de intolerância à lactose.

30

PRODUTO DE FERMENTAÇÃO DE INTERESSE

Produtos químicos produzidos a partir da matriz Biotecnológica

Tabela 13.4 Fermentações bacterianas comuns e alguns dos organismos que as realizam

Tipo	Reação	Energia produzida $\Delta G^{0'}$ (kJ/mol)	Organismos
Alcoólica	Hexose $\rightarrow$ 2 etanol + 2 CO ₂	-239	Leveduras, <i>Zymononas</i>
Homoláctica	Hexose $\rightarrow$ 2 lactato ⁻ + 2 H ⁺	-196	<i>Streptococcus</i> , alguns <i>Lactobacillus</i>
Heteroláctica	Hexose $\rightarrow$ lactato ⁻ + etanol + CO ₂ + H ⁺	-216	<i>Leuconostoc</i> , alguns <i>Lactobacillus</i>
Ácido propiônico	3 Lactato ⁻ $\rightarrow$ 2 propionato ⁻ + acetato ⁻ + CO ₂ + H ₂ O	-170	<i>Propionibacterium</i> , <i>Clostridium propionicum</i>
Ácida mista ^{ab}	Hexose $\rightarrow$ etanol + 2, 3-butanediol + succinato ²⁻ + lactato ⁻ + acetato ⁻ + formato ⁻ + H ₂ + CO ₂	—	Bactérias entéricas ^b , como <i>Escherichia</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i>
Ácido butírico ^b	Hexose $\rightarrow$ butirato ⁻ + 2 H ₂ + 2 CO ₂ + H ⁺	-264	<i>Clostridium butyricum</i>
Butanol ^b	2 Hexose $\rightarrow$ butanol + acetona + 5 CO ₂ + 4 H ₂	-468	<i>Clostridium acetobutylicum</i>
Caproato/Butirato	6 Etanol + 3 acetato ⁻ $\rightarrow$ 3 butirato ⁻ + caproato ⁻ + 2 H ₂ + 4 H ₂ O + H ⁺	-183	<i>Clostridium kluyveri</i>
Acetogênica	Frutose $\rightarrow$ 3 acetato ⁻ + 3 H ⁺	-276	<i>Clostridium aceticum</i>

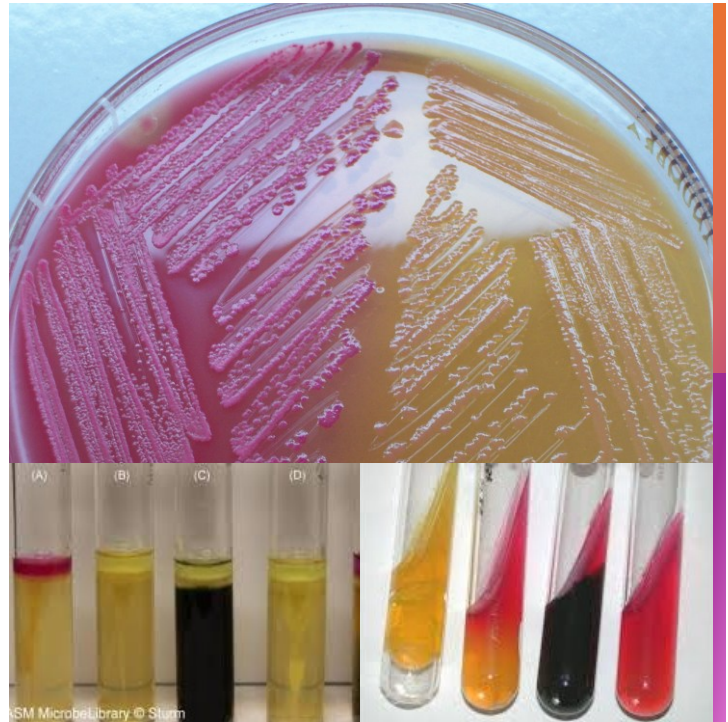
^aNem todos os organismos originam todos os produtos. Em particular, a produção de butanediol é limitada somente a determinadas bactérias entéricas. Reação não balanceada.

^bA estequiometria apresenta os principais produtos. Outros produtos incluem certa quantidade de acetato e uma pequena quantidade de etanol (apenas na fermentação de butanol).

31

TESTES BIOQUÍMICOS

- ❑ Permite identificar características metabólicas dos microorganismos
- ❑ Seleção de microrganismos com características de interesse
- ❑ Caracterização de novos microrganismos
- ❑ Identificação de grupos



32

TESTES BIOQUÍMICOS

- ❑ Teste de fermentação. Ex: manitol
- ❑ Indicador de pH e da presença de CO₂ (tubo de Durham)

Fermentação. Ex: E.coli (Fermantação Mista)

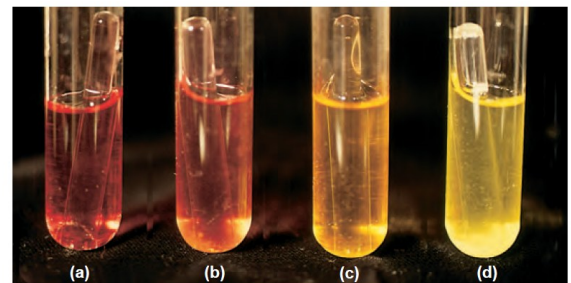
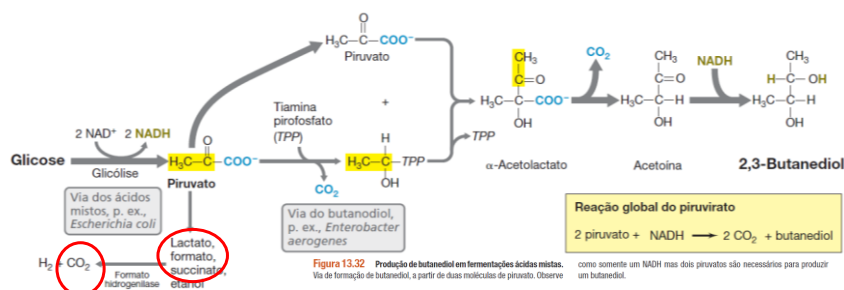


Figura 5.23 Teste de fermentação. (a) Um tubo de fermentação não inoculado contendo o carboidrato manitol. (b) *Staphylococcus epidermidis* cresceu na proteína, mas não utilizou o carboidrato. Esse organismo é denominado manitol-. (c) *Staphylococcus aureus* produziu ácido, mas não gás. Essa espécie é manitol+. (d) *Escherichia coli* também é manitol+ e produziu ácido e gás a partir de manitol. O gás é captado no tubo invertido de Durham.



33

TESTES BIOQUÍMICOS

☐ Teste da urease. Ex: *Helicobacter pylori*

☐ Detecta a enzima urease

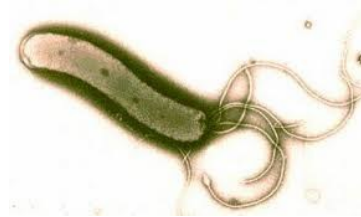
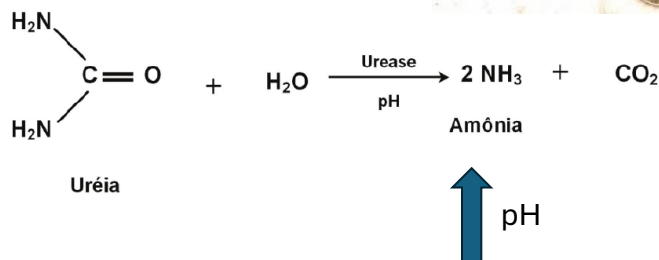


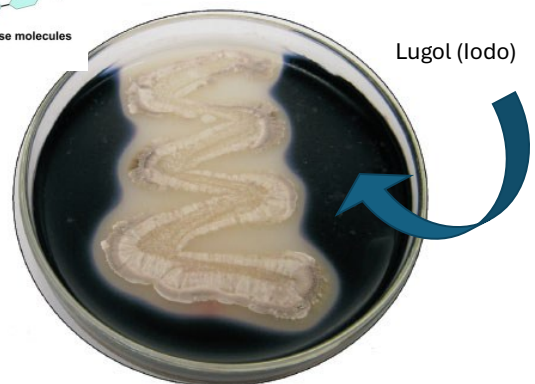
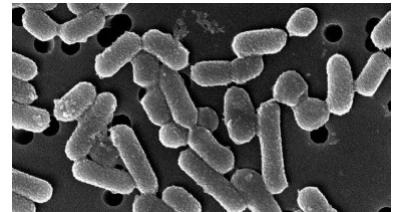
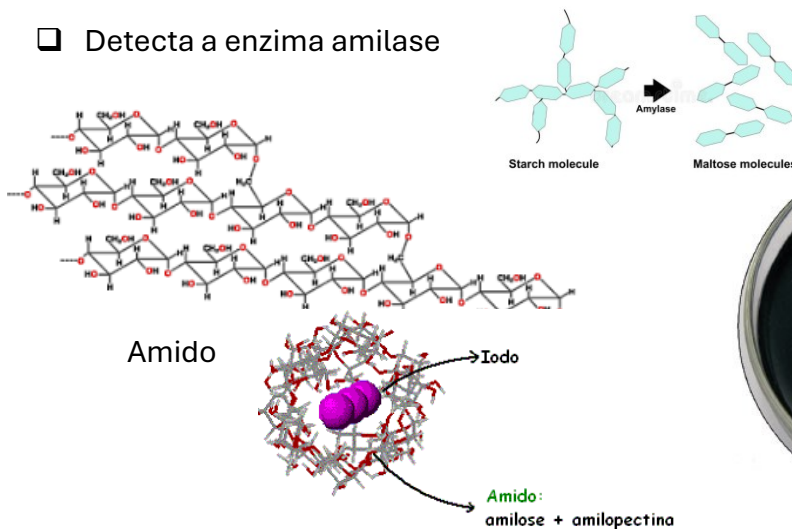
Figura B O teste da urease. Em um teste positivo, a urease bacteriana hidrolisa ureia, produzindo amônia. A amônia eleva o pH, e o indicador no meio se torna avermelhado.

34

TESTES BIOQUÍMICOS

☐ Teste da amilase. Ex: *Lactobacillus*

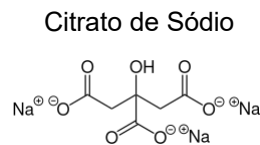
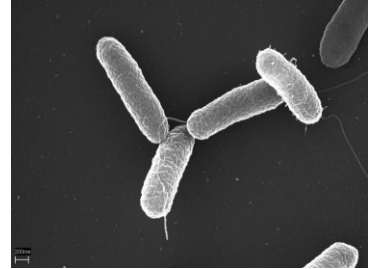
☐ Detecta a enzima amilase



35

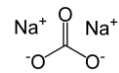
TESTES BIOQUÍMICOS

- ❑ Teste da citrato. Ex: Salmonella
- ❑ Capacidade de utilizar o Citrato de Sódio como fonte de carbono
- ❑ Azul de bromotimol no meio - indicador de pH



Oxidação

CO₂, H₂O e Sódio

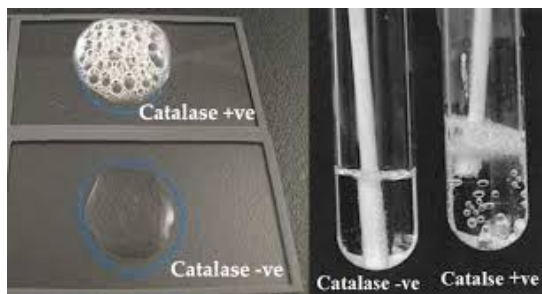
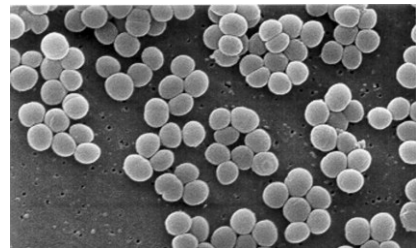


Carbonato de sódio (alcalino)

36

TESTES BIOQUÍMICOS

- ❑ Teste da catalase. Ex: *Staphylococcus*
- ❑ Detecta a presença da enzima catalase que degrada o peróxido de hidrogênio
- ❑ Mecanismo de proteção bacteriana



Catalase



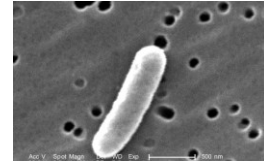
©Protein Data Bank Japan



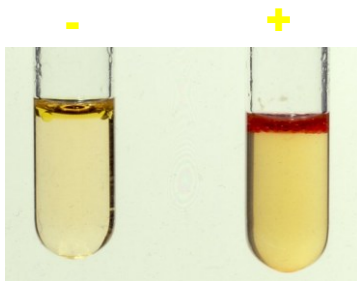
37

TESTES BIOQUÍMICOS

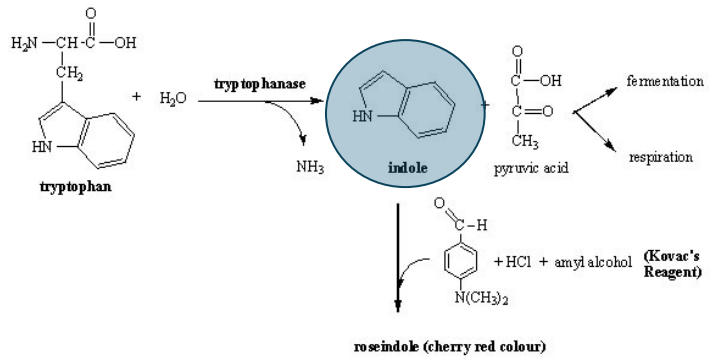
- ❑ Teste do Indol. Ex: *Escherichia coli*
- ❑ Detecta a presença da enzima triptofanase



INDOL



Hidrolise do Triptófano



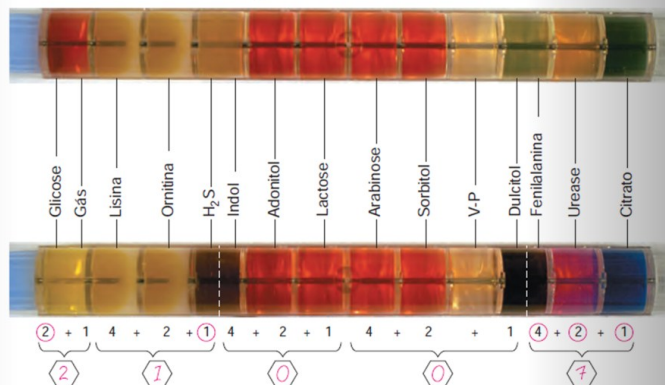
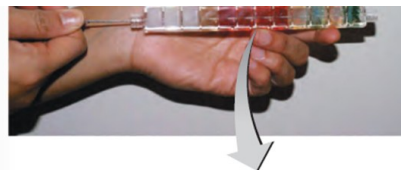
38

TESTES BIOQUÍMICOS

2 Após incubação, é feita a leitura dos resultados.

3 O valor para cada teste positivo é circulado, e os números de cada grupo de testes são somados para fornecerem o código numérico ID.

4 A comparação do código ID com uma lista de nomes computadorizada mostra que o organismo é *Proteus mirabilis*.

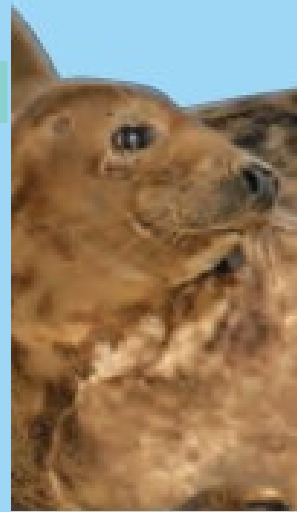
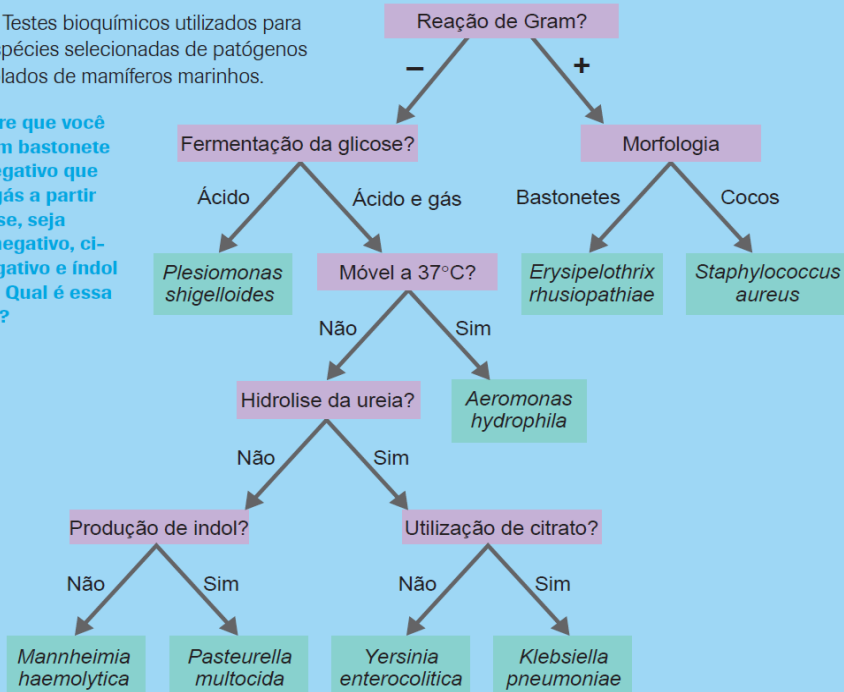


Código ID	Organismo	Resultados atípicos	Teste confirmatório
21006	<i>Proteus mirabilis</i>	Ornitina ⁺	Sacarose

40

Figura B Testes bioquímicos utilizados para identificar espécies selecionadas de patógenos humanos isolados de mamíferos marinhos.

P Considere que você isolou um bastonete gram-negativo que produz gás a partir da glicose, seja urease negativo, citrato negativo e indol positivo. Qual é essa bactéria?



41

SOROLOGIA

- ❑ Identificação dos Microrganismos por reação com anticorpos específicos
- ❑ Teste de aglutinação em lâmina
- ❑ Antissoros conhecidos são adicionados a cada amostra

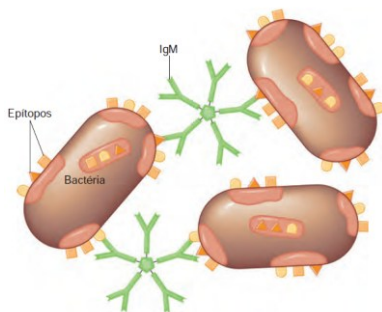
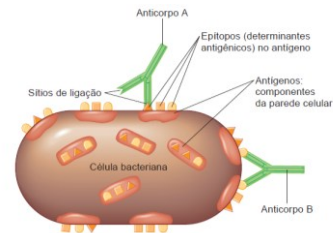
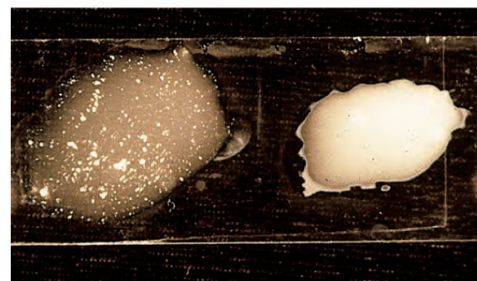


Figura 18.5 Uma reação de aglutinação. Quando os anticorpos reagem com os epítopos nos antígenos marcados nas células vivas, como essas bactérias (ou hemácias), os antígenos particulados (células) se aglutinam. A IgM, a imunoglobulina mais eficiente para aglutinação, é mostrada aqui, porém a IgG também participa nas reações de aglutinação.



(a) Teste positivo

(b) Teste negativo

Figura 18.10 Um teste de aglutinação em lâmina. (a) Em um teste positivo, a aglutinação granulada se deve ao agrupamento (aglutinação) de bactérias. (b) Em um teste negativo, as bactérias ainda estão distribuídas de maneira homogênea em solução e antissoro.

42

SOROLOGIA

❑ **ELISA** (*enzyme-linked immunosorbent assay*)

❑ Ferramenta para o diagnóstico de patógenos

❑ Anticorpo Primário : fixação do antígeno;

❑ Anticorpo secundário ligado a uma enzima

