

Estrutura e Morfologia bacteriana

José Gregório Cabrera Gomez
jgcgomez@usp.br



Microbiologia

Microbiologia estuda organismos vivos com dimensões reduzidas e que não podem ser visualizados a olho nu.

Menor que 0,1 mm não percebido pelo olho humano.

Menor que 1 mm percebemos poucos detalhes.



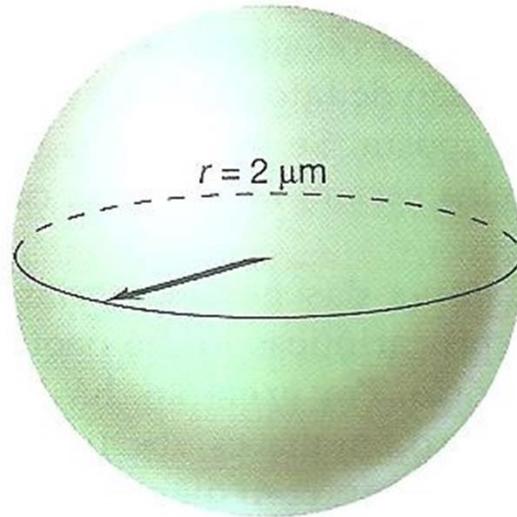


$$r = 1 \mu\text{m}$$

$$\text{Área superficial } (4\pi r^2) = 12,6 \mu\text{m}^2$$

$$\text{Volume } \left(\frac{4}{3}\pi r^3\right) = 4,2 \mu\text{m}^3$$

$$\frac{\text{Superfície}}{\text{Volume}} = 3$$



$$r = 2 \mu\text{m}$$

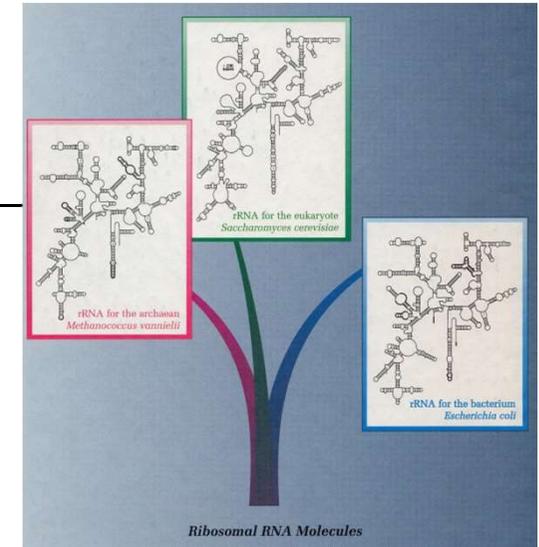
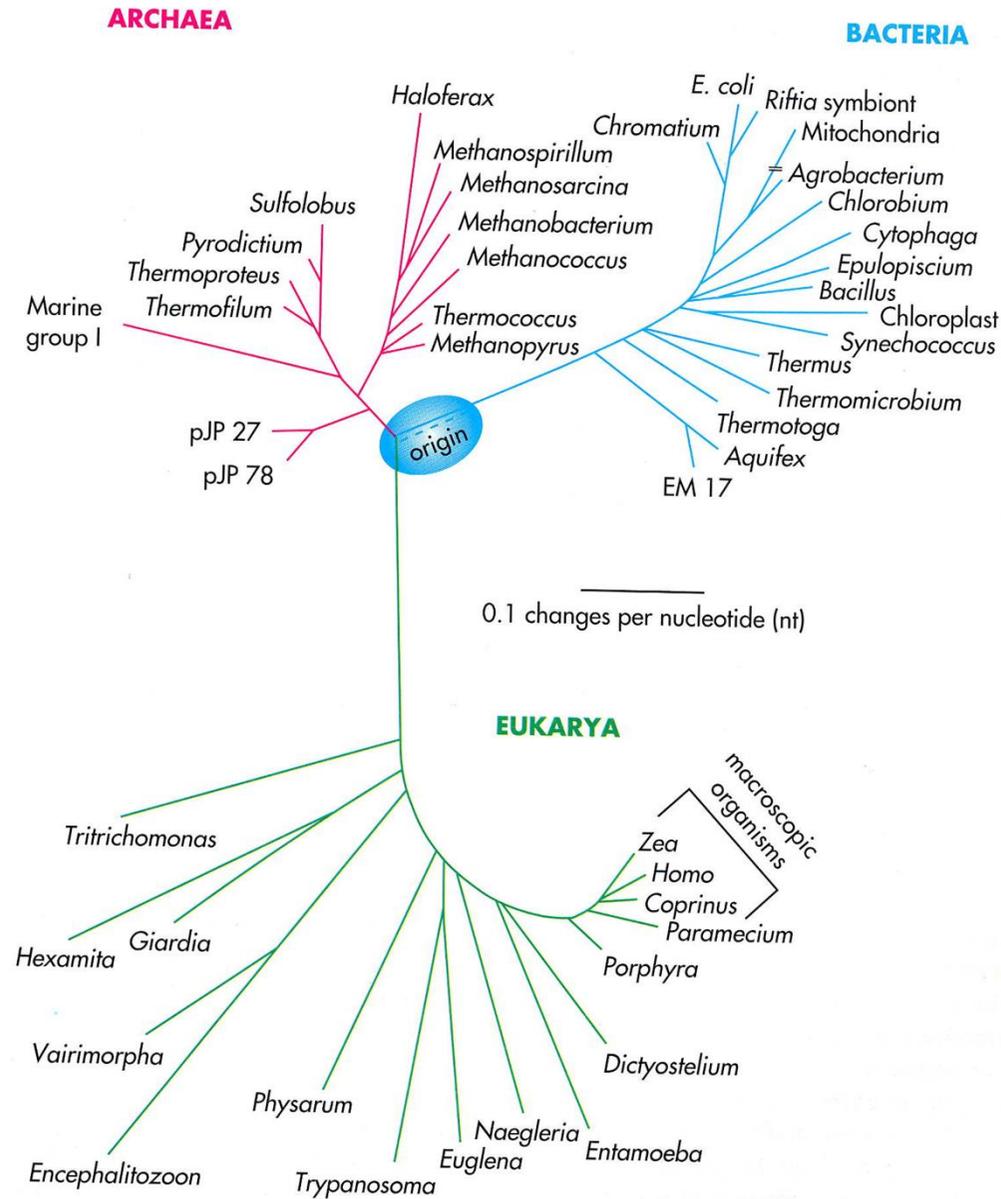
$$\text{Área superficial} = 50,3 \mu\text{m}^2$$

$$\text{Volume} = 33,5 \mu\text{m}^3$$

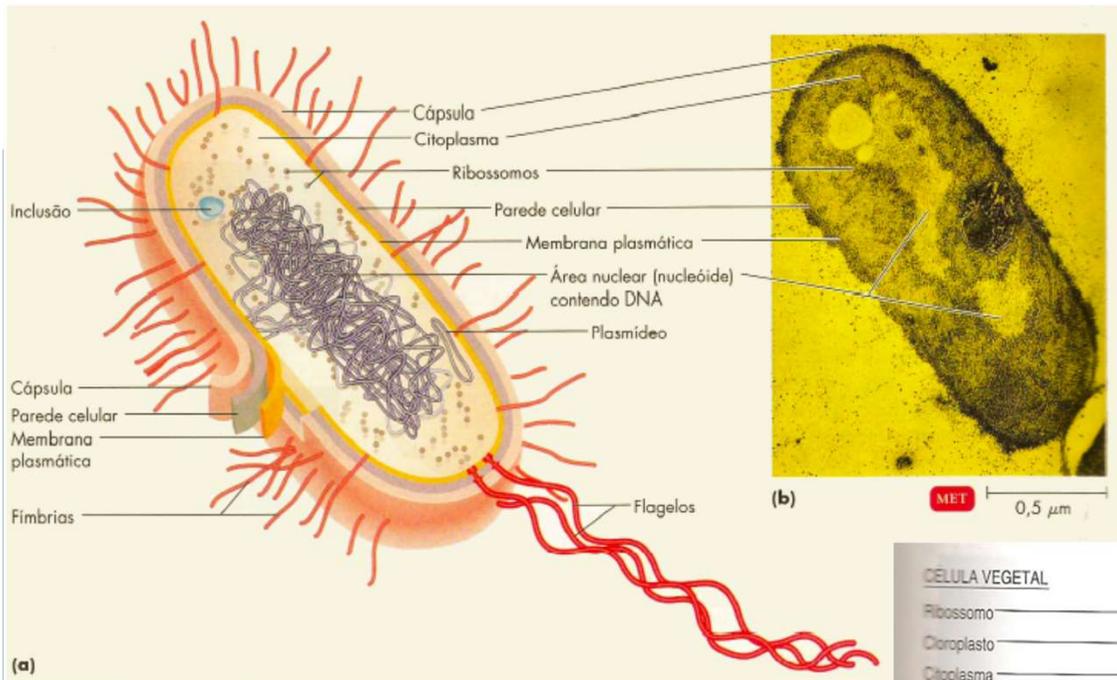
$$\frac{\text{Superfície}}{\text{Volume}} = 1,5$$

Figura 4.3 Relações entre a área superficial e o volume nas células. À medida que uma célula aumenta em tamanho, sua razão S/V diminui.

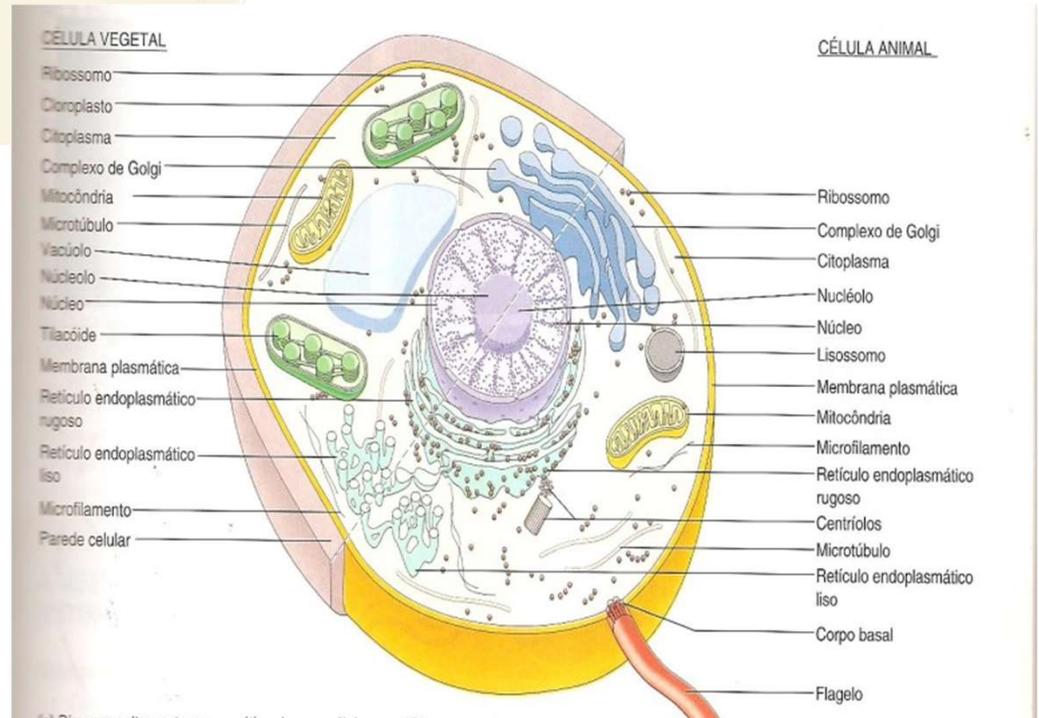
Quem são microrganismos?



Woese, 1970



(a)



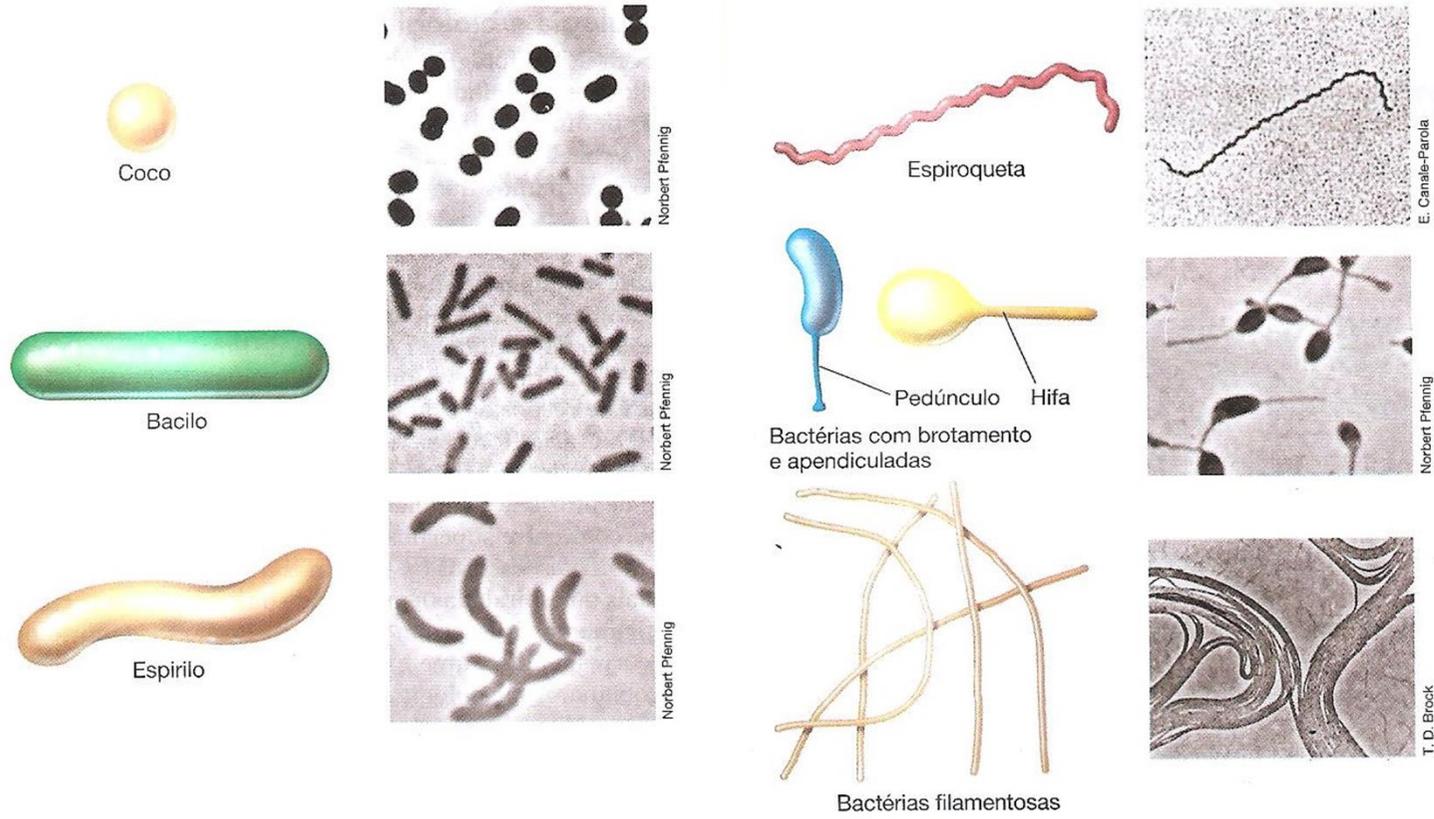
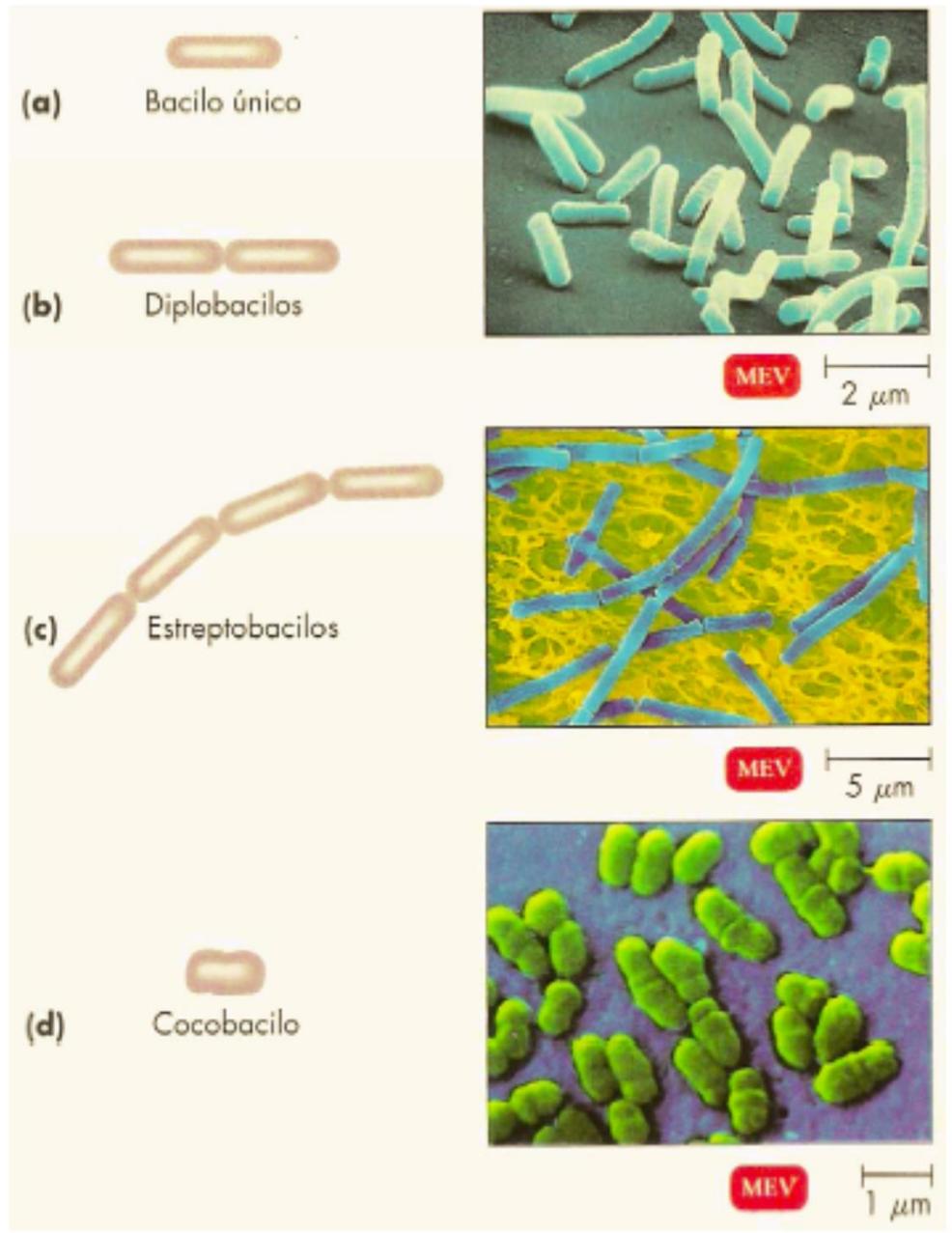
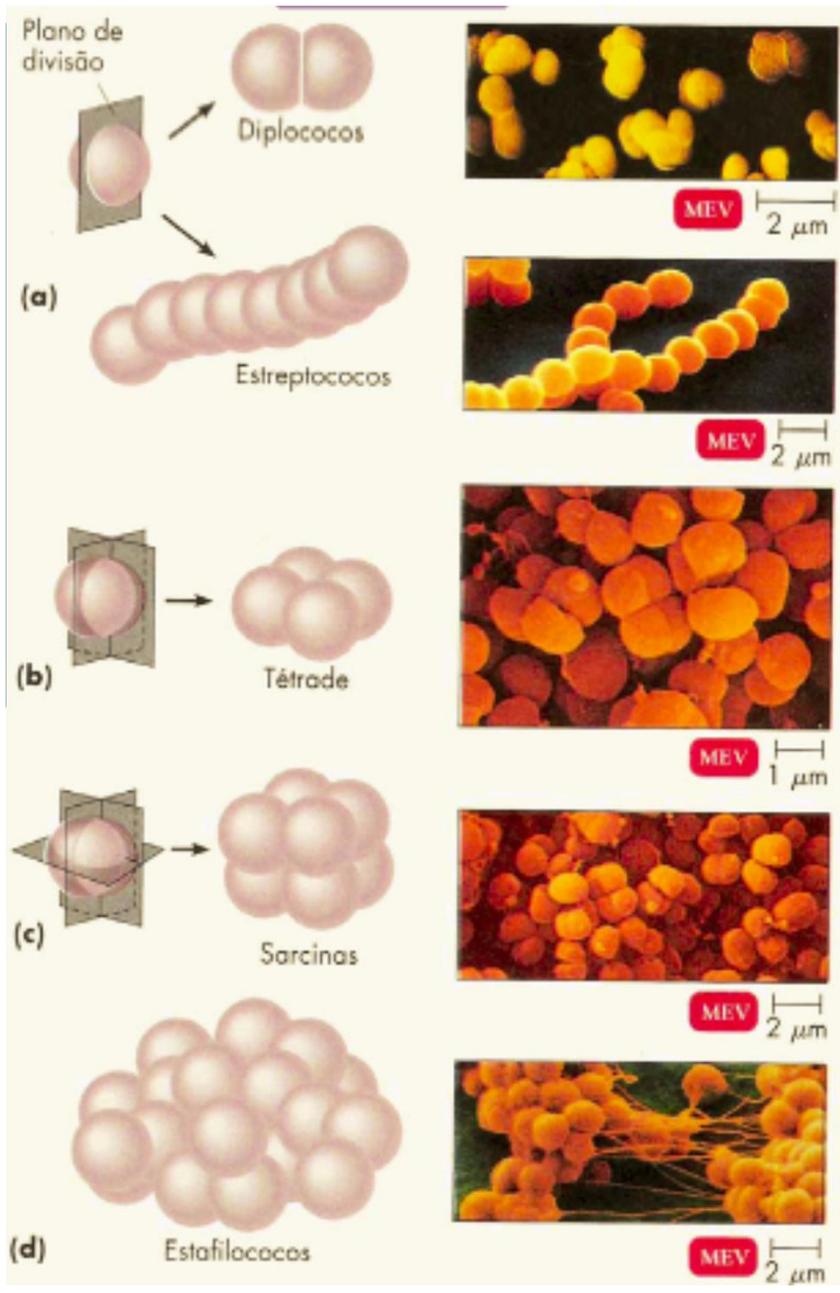
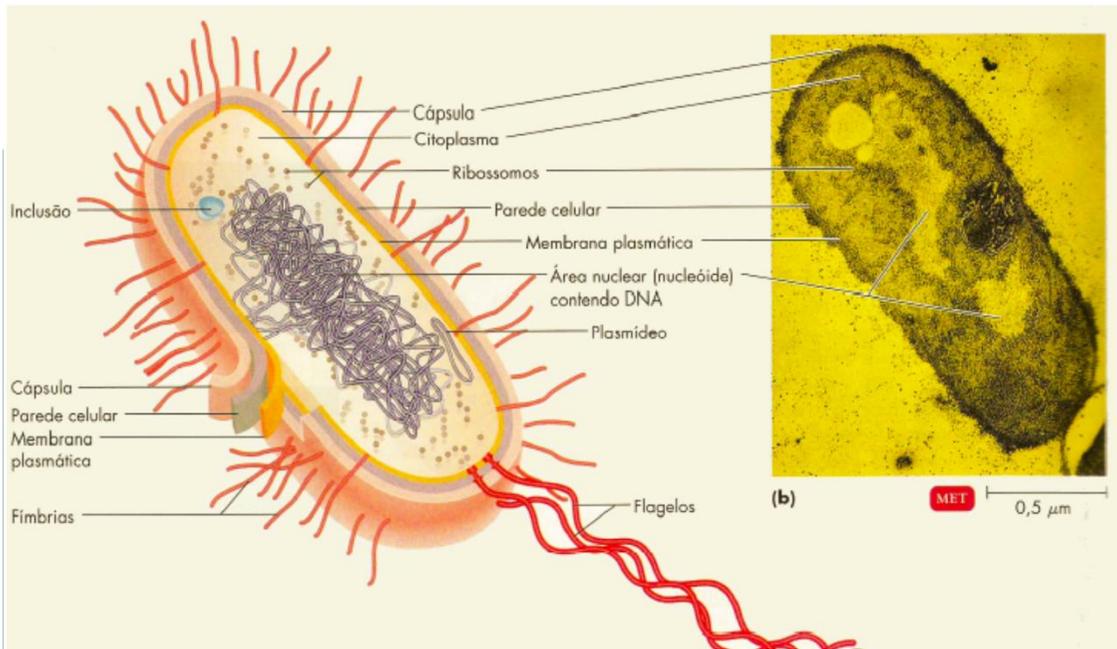


Figura 4.1 Morfologias celulares representativas de procariotos. Ao lado de cada diagrama há uma fotomicrografia de contraste de fase apresentando um exemplo daquela morfologia. Os organismos em forma de cocos são *Thiocapsa roseopersicina* (diâmetro de uma célula = 1,5 μm); bacilo, *Desulfuromonas acetoxidans* (diâmetro = 1 μm); espirilo, *Rhodospirillum rubrum* (diâmetro = 1 μm); espiroqueta, *Spirochaeta stenostrepta* (diâmetro = 0,25 μm); com brotamento e apendiculada, *Rhodomicrobium vannielii* (diâmetro = 1,2 μm); filamentosas, *Chloroflexus aurantiacus* (diâmetro = 0,8 μm).





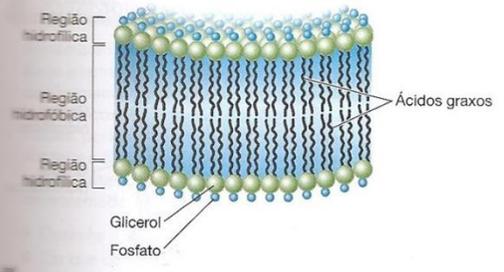
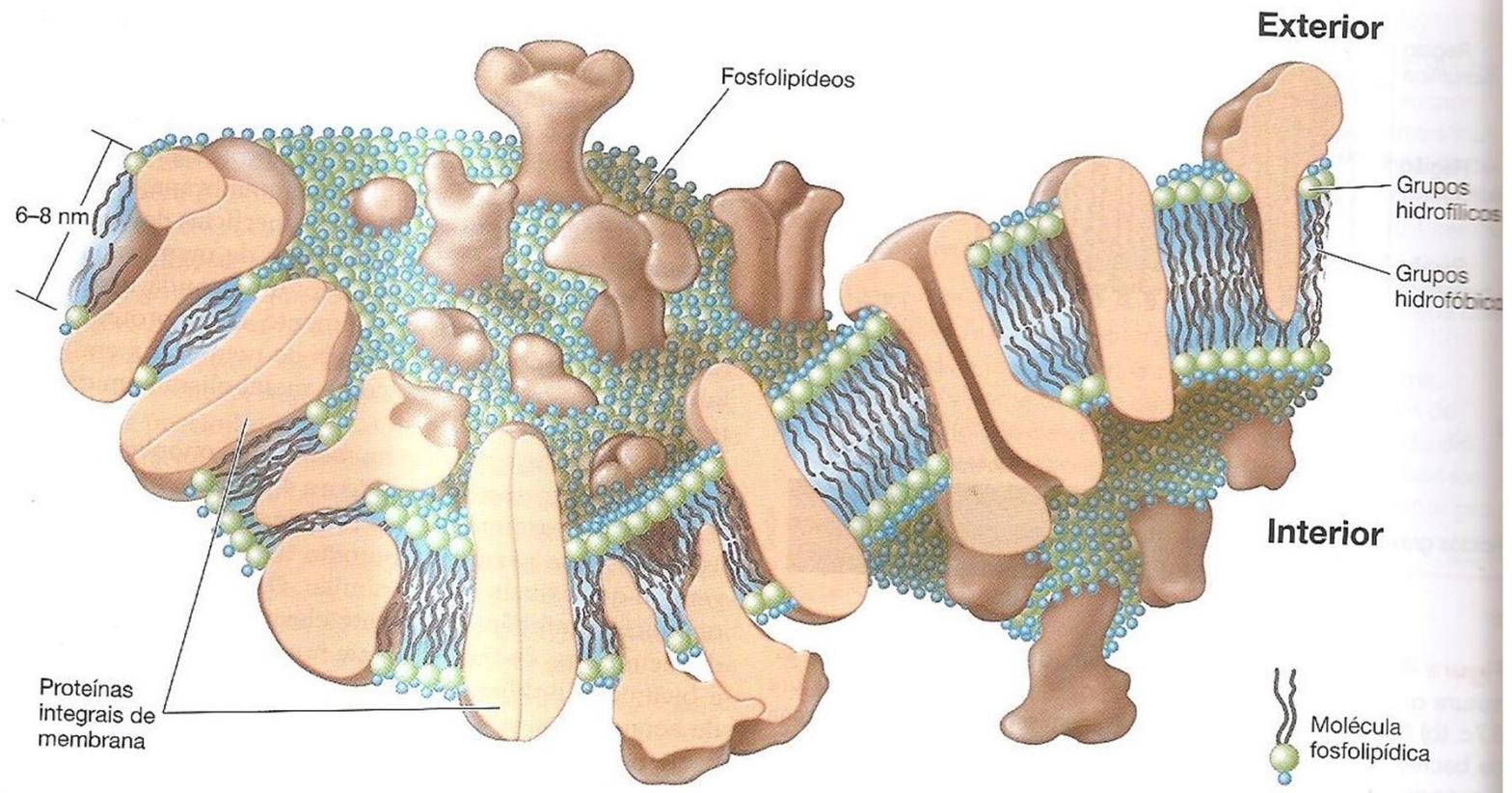
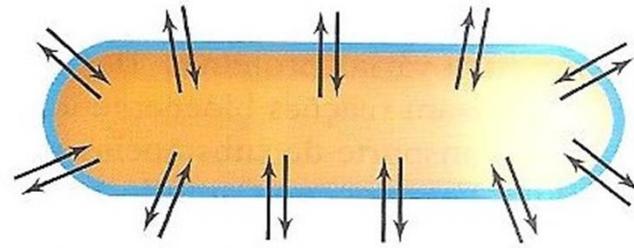
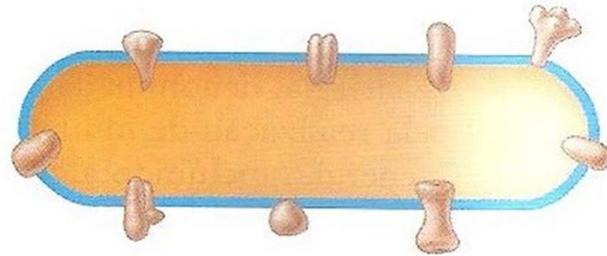


Figura 4.4 Estrutura de uma bicamada fosfolipídica. (a) A estrutura química geral de um fosfolípido é apresentada na Figura 3.7c. (b) Micrografia eletrônica de transmissão de uma membrana da bactéria *Halorhodospira halochloris*. A área interna escura corresponde à região hidrofóbica do modelo de membrana apresentado em (a).

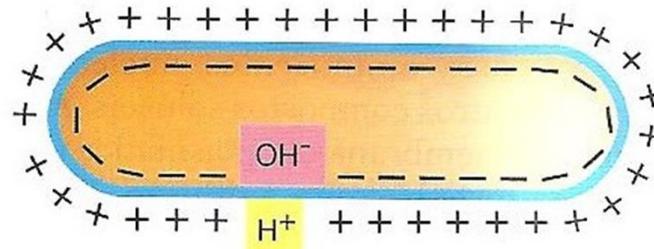




- 1. Barreira de permeabilidade:** impede o extravasamento e atua como uma porta para o transporte de nutrientes para dentro e fora da célula



- 2. Ancoragem de proteínas:** sítio de muitas proteínas envolvidas no transporte, bioenergética e quimiotaxia



- 3. Conservação de energia:** sítio de geração e utilização da força próton motiva

Figura 4.9 As principais funções da membrana citoplasmática. Embora estruturalmente frágil, a membrana citoplasmática desempenha várias funções celulares importantes.

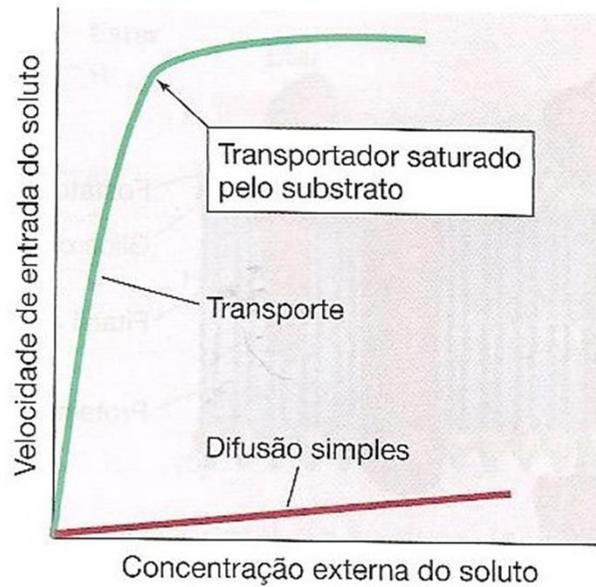


Figura 4.10 Transportadores *versus* difusão. A velocidade da captação no transporte revela uma saturação em concentrações externas relativamente baixas.

Tabela 4.2 Permeabilidade comparativa da membrana às várias moléculas

Substância	Grau de permeabilidade ^a	Potencial de difusão para o interior de uma célula
Água	100	Excelente
Glicerol	0,1	Bom
Triptofano	0,001	Moderado/Fraco
Glicose	0,001	Moderado/Fraco
Íon cloreto (Cl ⁻)	0,000001	Muito fraco
Íon potássio (K ⁺)	0,0000001	Extremamente fraco
Íon sódio (Na ⁺)	0,00000001	Extremamente fraco

^aEscala relativa – o grau de permeabilidade em relação à permeabilidade da água, considerada 100. A permeabilidade da membrana à água pode ser afetada pelas aquaporinas (ver texto).

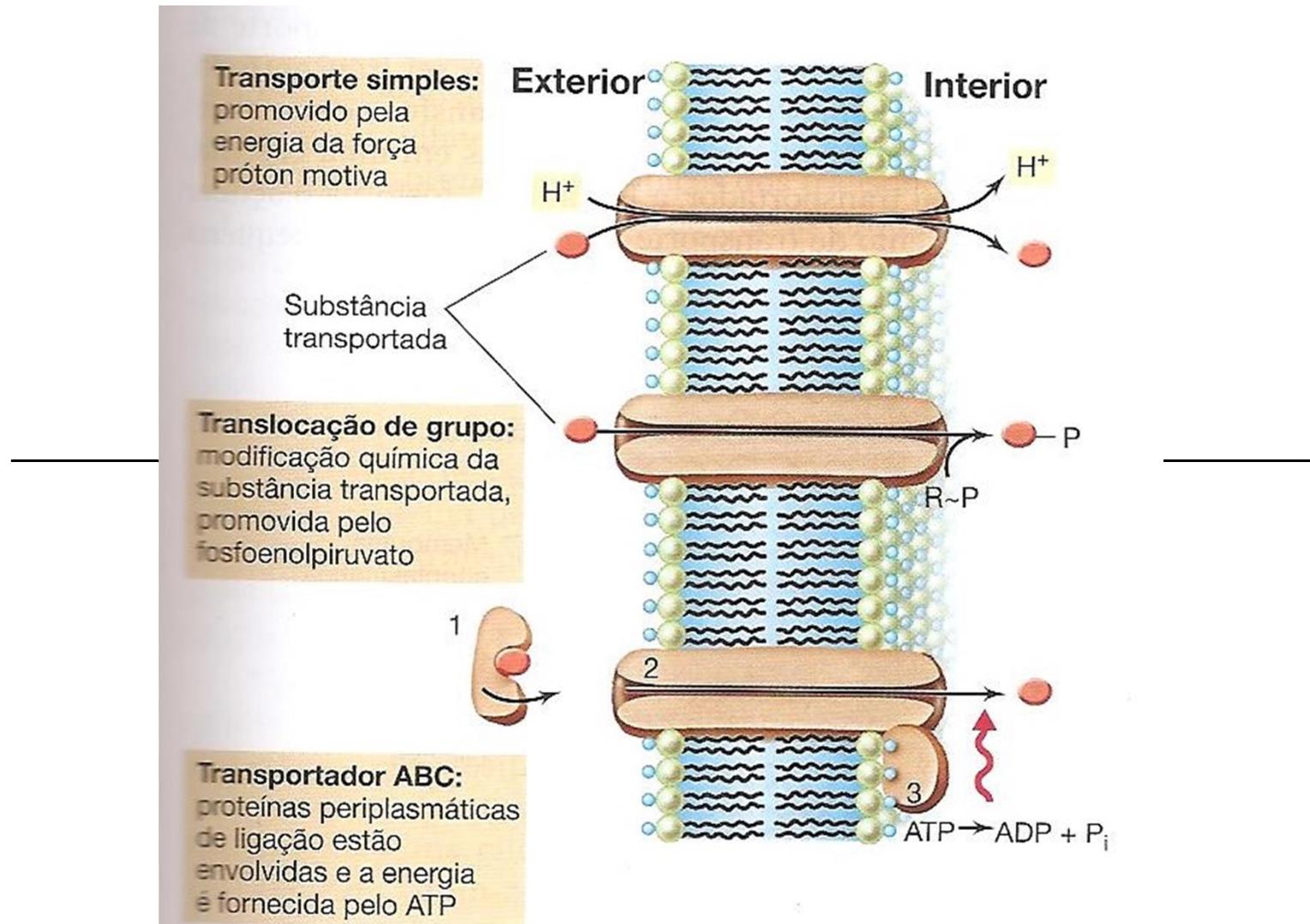


Figura 4.11 As três classes de sistemas transportadores de membrana. Observe como os transportadores simples e o sistema ABC transportam substâncias sem modificá-las quimicamente, enquanto a translocação de grupo resulta na modificação química (fosforilação) da substância transportada. As três proteínas do sistema ABC estão identificadas por 1, 2 e 3.

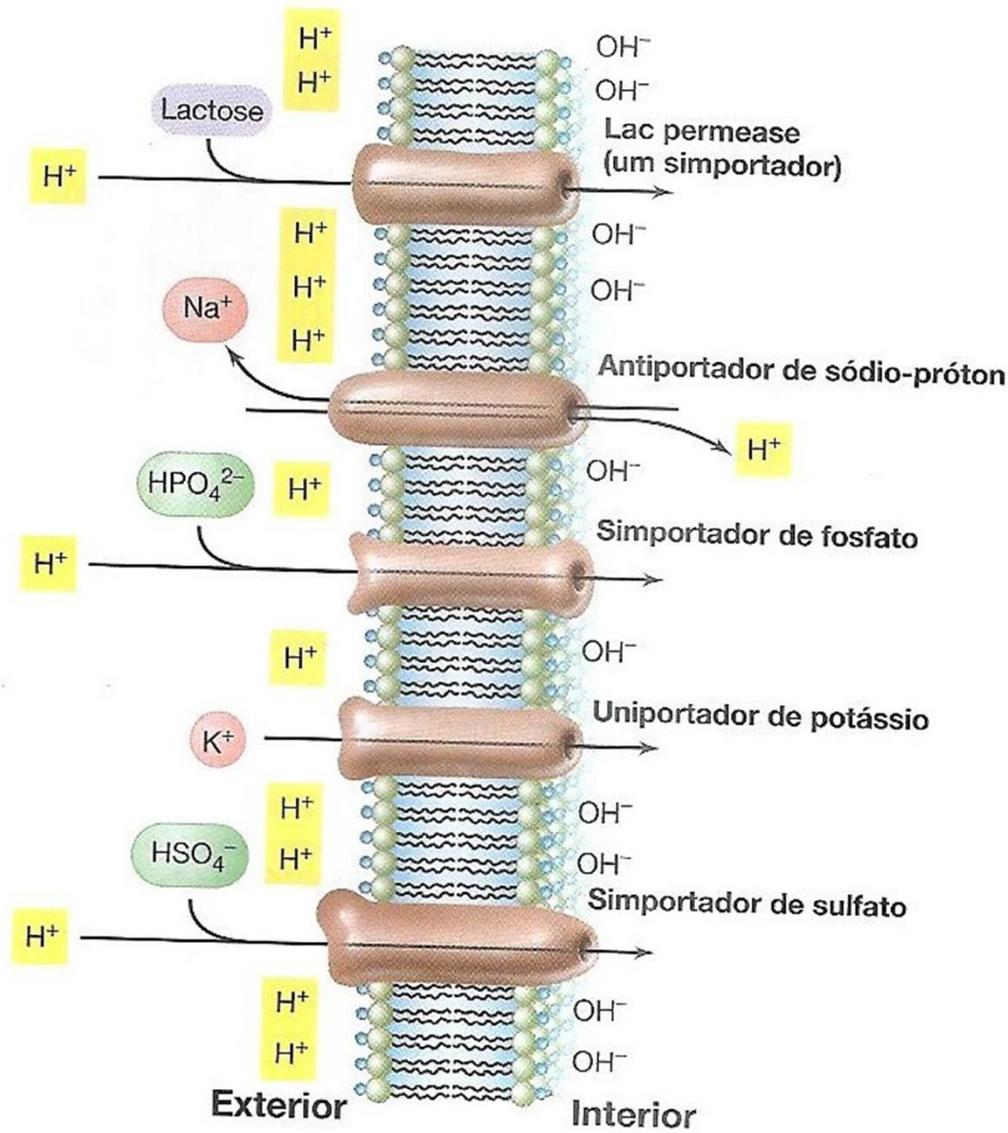


Figura 4.13 Função do simportador Lac permease de *Escherichia coli* e vários outros transportadores simples bem caracterizados. Para simplificar, as proteínas transmembrânicas estão aqui representadas em sua forma globular, observe, no entanto, que sua estrutura corresponde àquela apresentada na Figura 4.12.

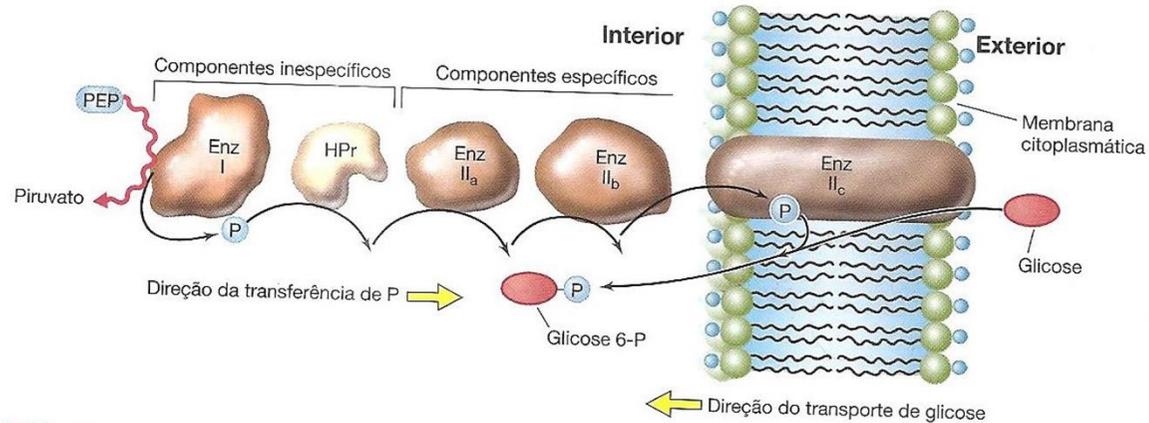


Figura 4.14 Mecanismo do sistema fosfotransferase de *Escherichia coli*. O sistema de captação de glicose consiste em cinco proteínas: Enzima (Enz) I, Enzimas II_a, II_b e II_c, e HPr. O fosfato é transferido sequencialmente do fosfoenolpiruvato (PEP), através das proteínas receptoras, até a Enzima II_c que, de fato, transporta e fosforila o açúcar. As proteínas HPr e Enz I são inespecíficas e transportarão qualquer

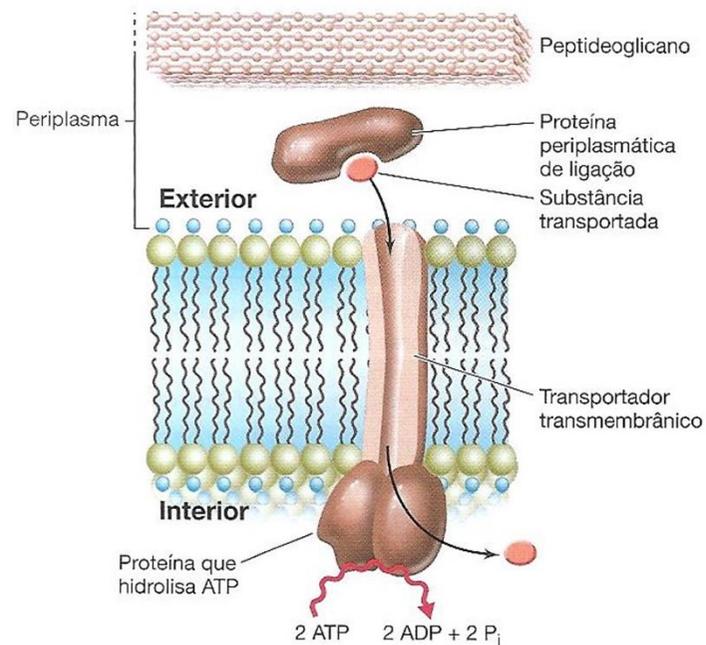


Figura 4.15 Mecanismo de um transportador ABC. A proteína perioplasmática de ligação exibe alta afinidade pelo substrato, as proteínas transmembrânicas formam o canal de transporte, e as proteínas citoplasmáticas que hidrolisam ATP fornecem energia para o evento de transporte.

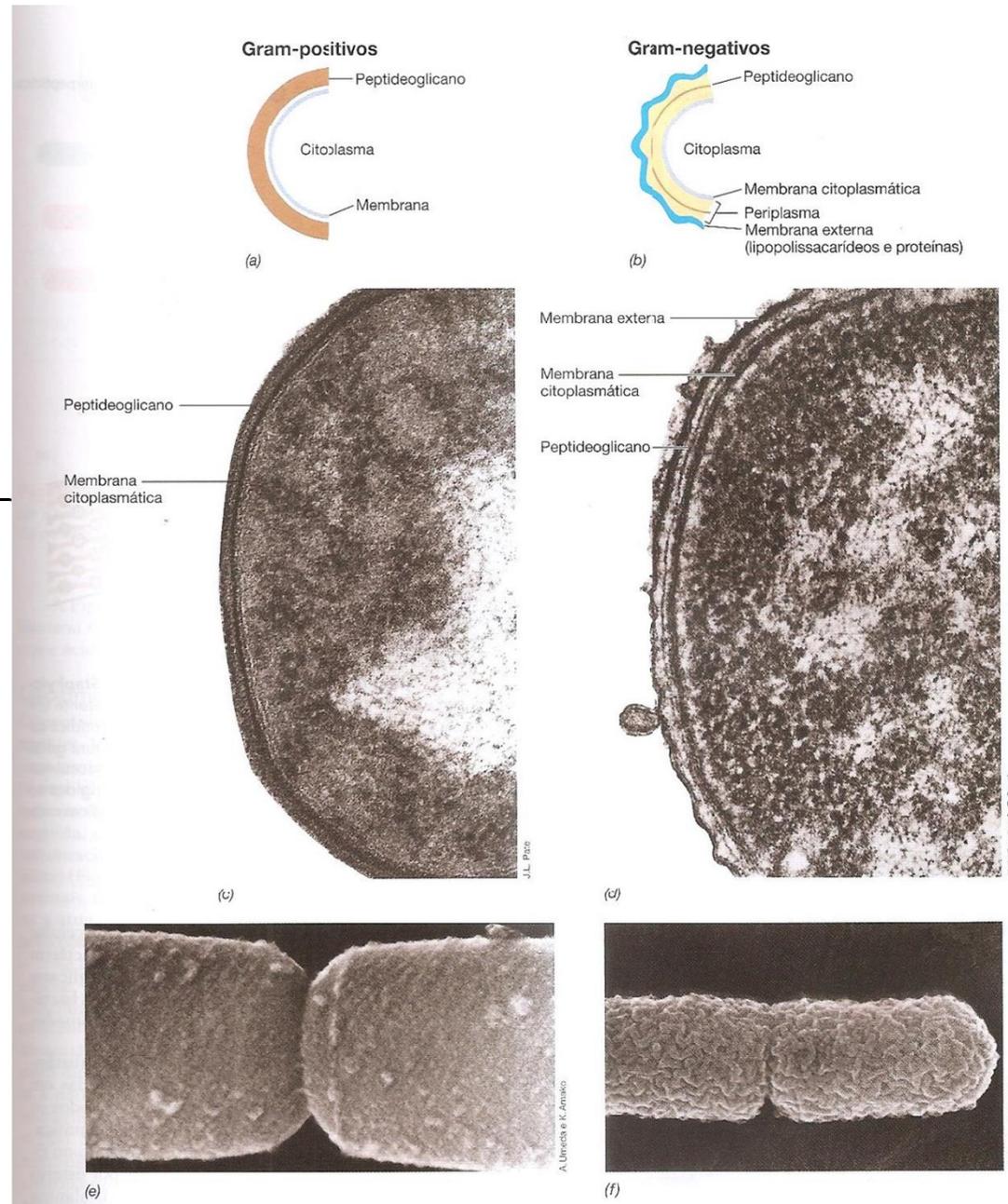


Figura 4.16 Paredes celulares de Bacteria. (a, b) Diagramas esquemáticos de paredes celulares Gram-positivas e Gram-negativas. Micrografias eletrônicas de transmissão apresentando a parede celular de (c) uma bactéria Gram-positiva, *Arthrobacter crystallopoietes*, e (d) uma bactéria Gram-negativa, *Leucotrix mucor*. (e, f) Micrografias eletrônicas de varredura de varredura de bactérias Gram-positivas (*Bacillus subtilis*) e Gram-negativas (*Escherichia coli*). Observe as diferenças na textura da superfície das células apresentadas em (e) e (f). Uma única célula de *B. subtilis* ou de *E. coli* tem aproximadamente 1 μm de largura.

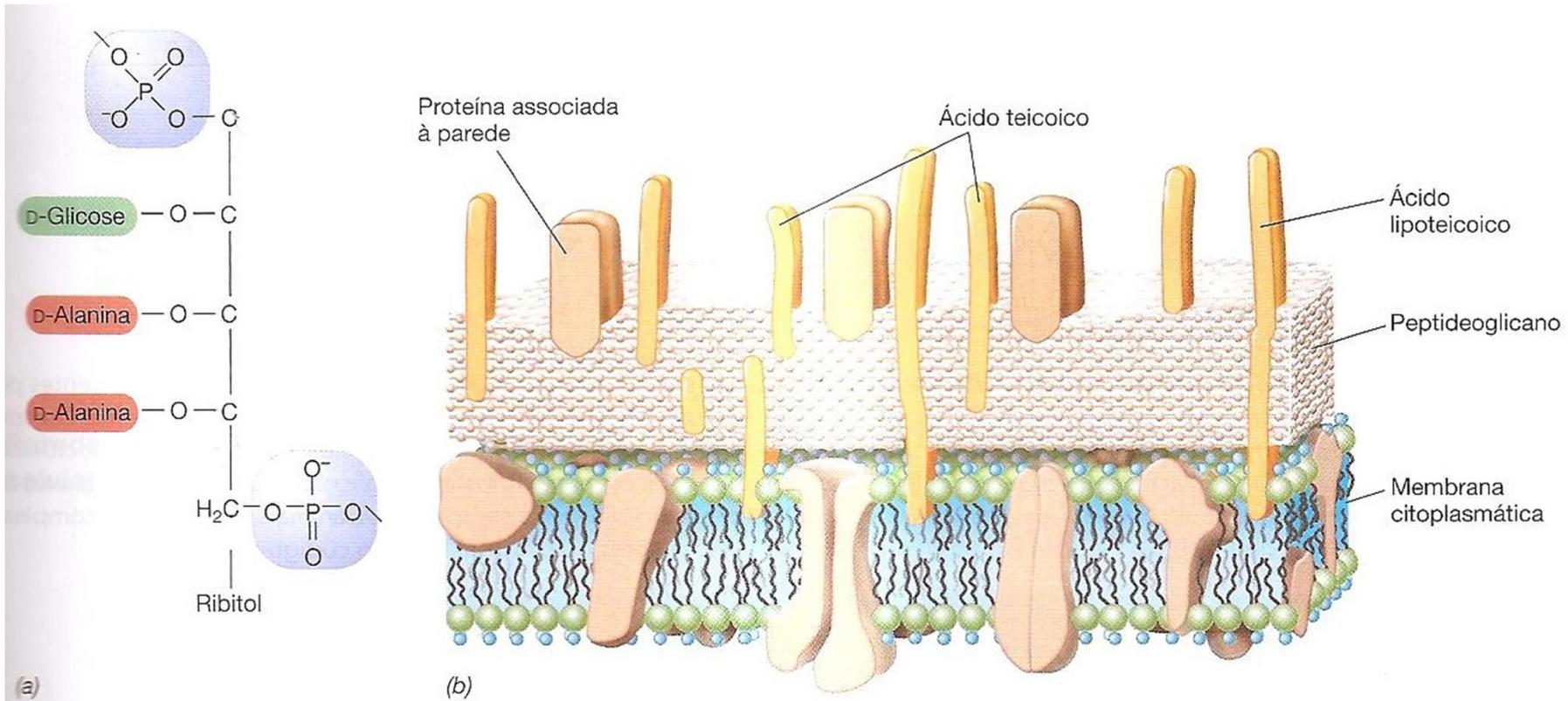
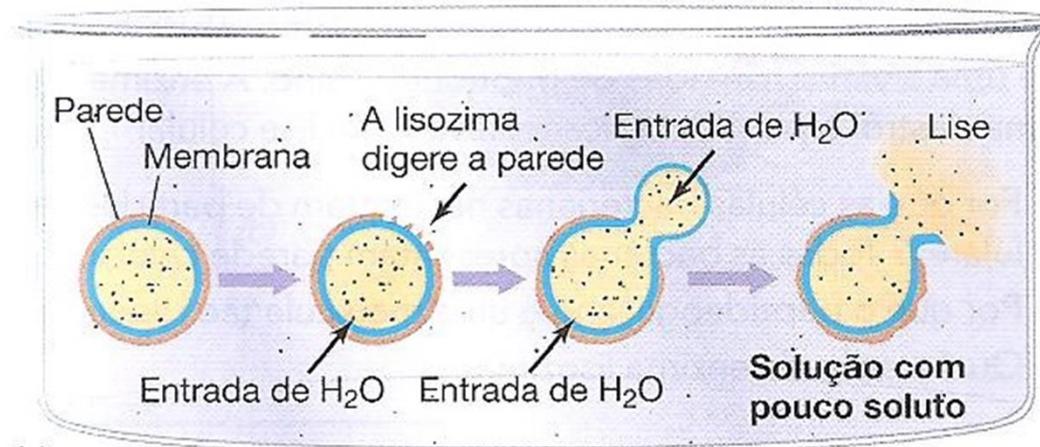
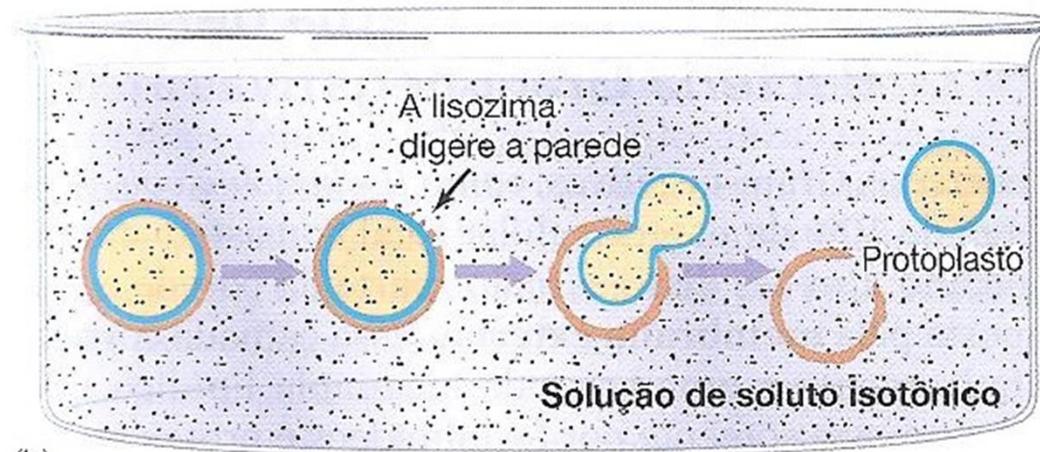


Figura 4.20 Ácidos teicoicos e a estrutura geral da parede celular de bactérias Gram-positivas. (a) Estrutura do ácido teicoico ribitol de *Bacillus subtilis*. O ácido teicoico consiste em um polímero de unidades repetitivas de ribitol, aqui apresentado. (b) Diagrama resumido da parede celular bacteriana Gram-positiva.



(a)



(b)

Figura 4.21 Protoplastos e sua formação. A lisozima cliva as ligações glicosídicas β -1,4 do peptidoglicano (Figura 4.18). (a) Em soluções diluídas, a ruptura da parede é imediatamente seguida pela lise celular, devido à fragilidade estrutural da membrana citoplasmática. (b) Em uma solução contendo uma concentração isotônica de um soluto, como a sacarose, a água não penetra no protoplasto e ele permanece estável.

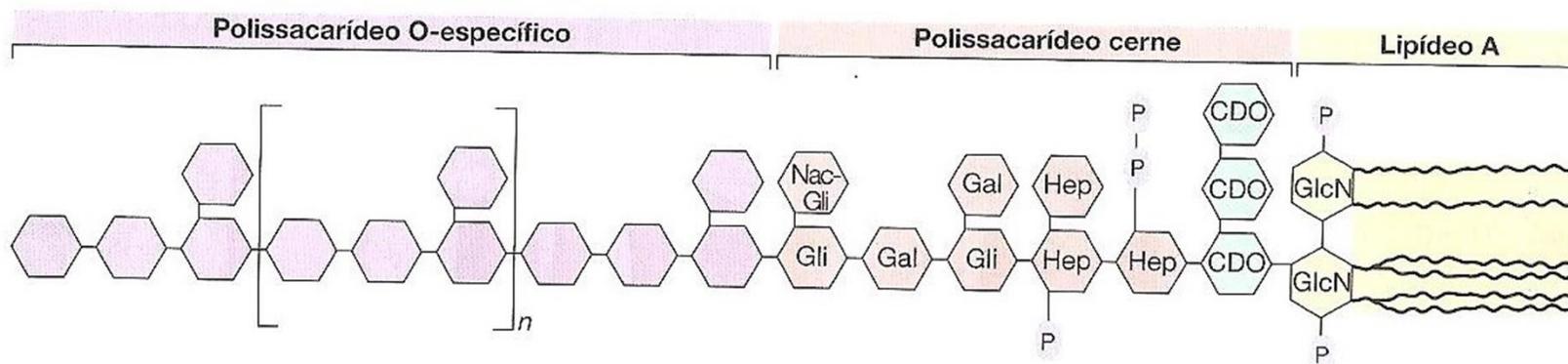


Figura 4.22 Estrutura do lipopolissacarídeo de *Bacteria Gram-negativas*. A composição química do lipídeo A e dos componentes polissacarídicos é variável dentre as espécies de *Bacteria Gram-negativas*, contudo os principais componentes (lipídeo A-CDO-cerne-O-específico) normalmente são os mesmos. O polissacarídeo O-específico varia significativamente dentre as espécies. CDO, cetodesoxioctonato; Hep, heptose; Gli, glicose; Gal, galactose; Nac-Gli, N-acetilglicosamina; GlcN, glicosamina; P, fosfato. A glicosamina e os ácidos graxos do lipídeo A são ligados por intermédio dos grupos amino. A porção do lipídeo A do LPS pode ser tóxica aos animais, e abrange o complexo endotoxina. Compare esta figura com a Figura 4.23, acompanhando os componentes do LPS com base no código de cores.

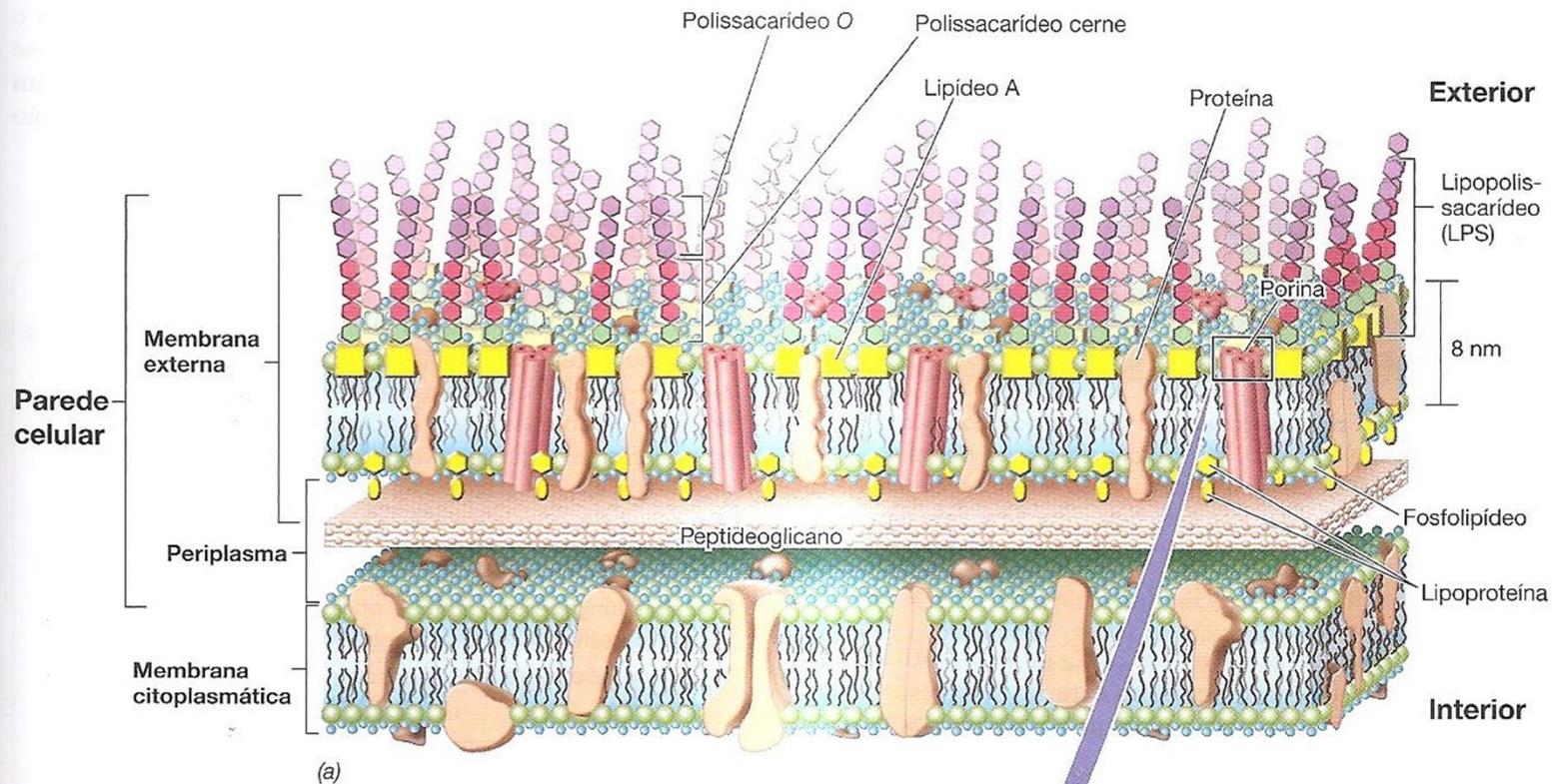
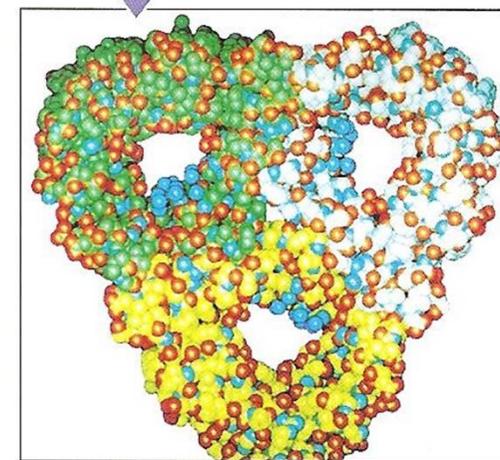


Figura 4.23 Parede celular Gram-negativa. Observe que, embora a membrana externa seja frequentemente denominada de “segunda bicamada lipídica”, a composição química e arquitetura desta camada diferem, sob vários aspectos, da membrana citoplasmática. (a) Arranjo do lipopolissacarídeo, lipídeo A, fosfolípidos, porinas e lipoproteínas na membrana externa. Para maiores detalhes sobre a estrutura do LPS, consultar Figura 4.22. (b) Modelo molecular de proteínas do tipo porinas. Observe os quatro poros presentes, um no interior de cada proteína que forma uma molécula de porina e um poro central menor entre as proteínas porinas. A visão é perpendicular ao plano da membrana. Modelo baseado nos estudos de difração de raios X da porina de *Rhodobacter blasticus*.

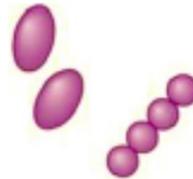


(b)

Georg E. Schulz

Coloração de Gram

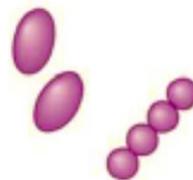
1ª Etapa



Cobrir o esfregaço fixado pelo calor com cristal violeta, por 1 min.

Todas as células coradas em roxo.

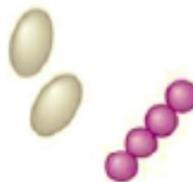
2ª Etapa



Adicionar a solução de iodo por 3 min.

Todas as células permanecem roxas.

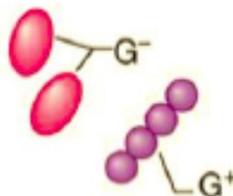
3ª Etapa



Descorar rapidamente com álcool por aproximadamente 20 s.

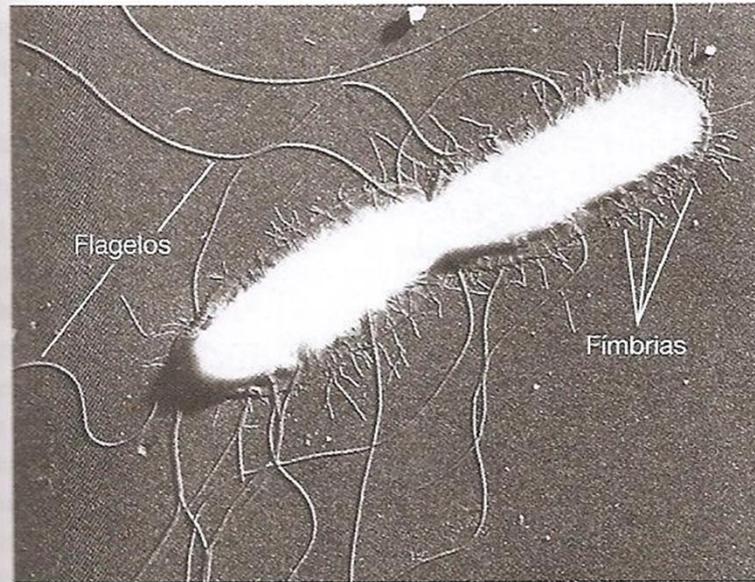
As células gram-positivas coram-se em roxo; as gram-negativas apresentam-se incolores.

4ª Etapa



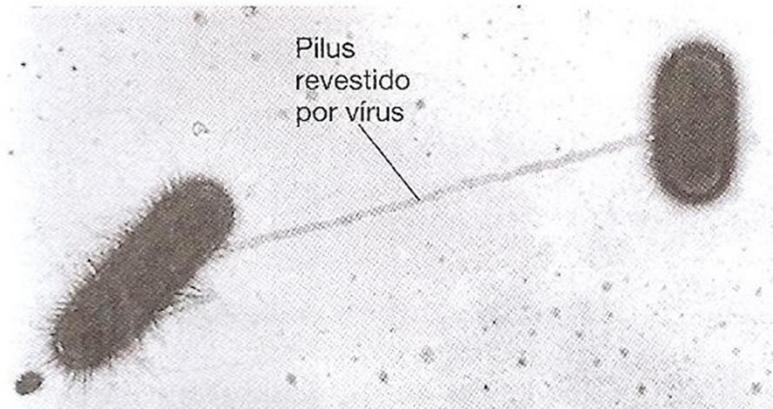
Contracorar com safranina por 1-2 min.

As células gram-positivas (G⁺) coram-se em roxo; as células gram-negativas (G⁻) são róseas ou vermelhas.



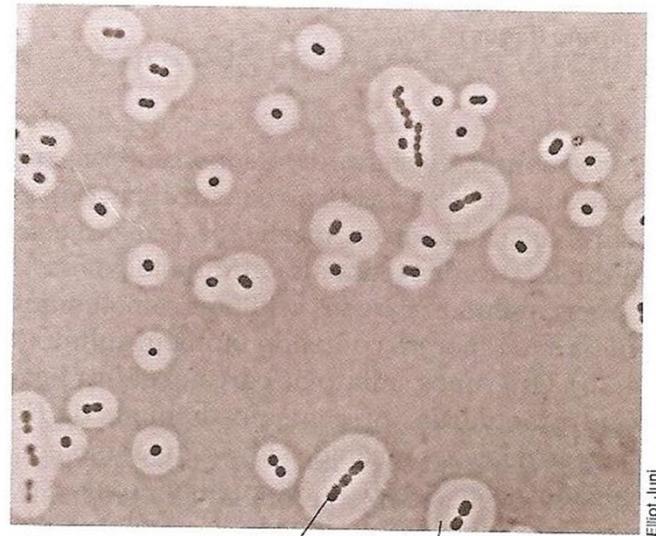
J. P. Duguid e J. F. Wilkinson

Figura 4.29 Fimbrias. Micrografia de uma célula de *Salmonella typhi* em divisão, revelando flagelos e fimbrias. Uma única célula exibe largura de aproximadamente $0,9 \mu\text{m}$.



Charles C. Brinton, Jr.

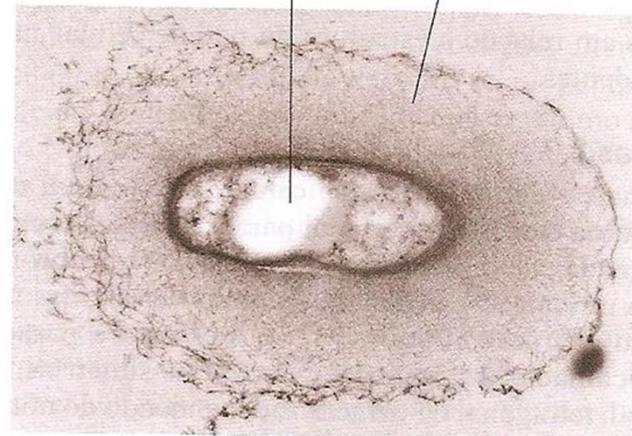
Figura 4.30 Pili. O pilus de uma célula de *Escherichia coli*, que está realizando a transferência genética com uma segunda célula, é revelado pelos vírus que aderiram a ele. As células apresentam cerca de $0,8 \mu\text{m}$ de largura.



Elliott Juni

(a)

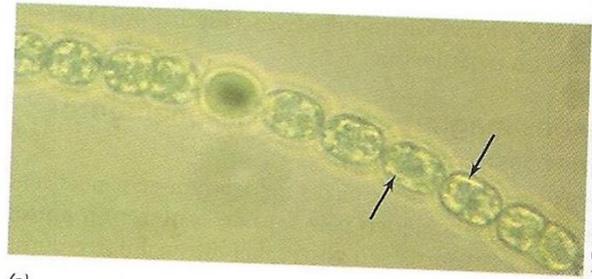
Célula Cápsula



Frank Dazzo e Richard Heinzen

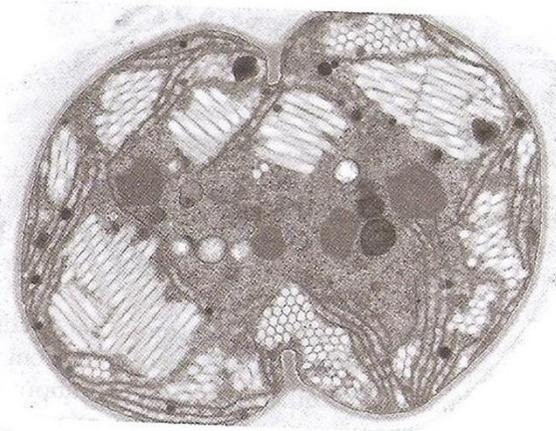
(b)

Figura 4.28 Cápsulas bacterianas. (a) Cápsulas de espécies de *Acinetobacter*, observadas por coloração negativa com tinta nanquim em microscópio de contraste de fase. A tinta nanquim não penetra na cápsula e, conseqüentemente, a cápsula aparece como uma região clara circundando a célula, a qual se apresenta escura. (b) Micrografia eletrônica de uma seção fina de *Rhizobium trifolii*, corada com vermelho de rutênio, revelando a cápsula. O diâmetro da célula (excluindo a cápsula) é de aproximadamente 0,7 μm .



(a)

A. E. Walsby



(b)

S. Pellegrini e M. Grilli Caicola

Figura 4.36 Vesículas de gás das cianobactérias *Anabaena* e *Microcystis*. (a) *Anabaena flosaquae*. A célula escura ao centro (um heterocisto) é desprovida de vesículas de gás. Nas outras células, as vesículas agrupam-se em conjuntos brilhantes que dispersam a luz, denominados vacúolos de gás (setas). (b) Micrografia eletrônica de transmissão da cianobactéria *Microcystis*. As vesículas de gás arranjam-se em feixes, aqui observadas em seções longitudinais e transversais.

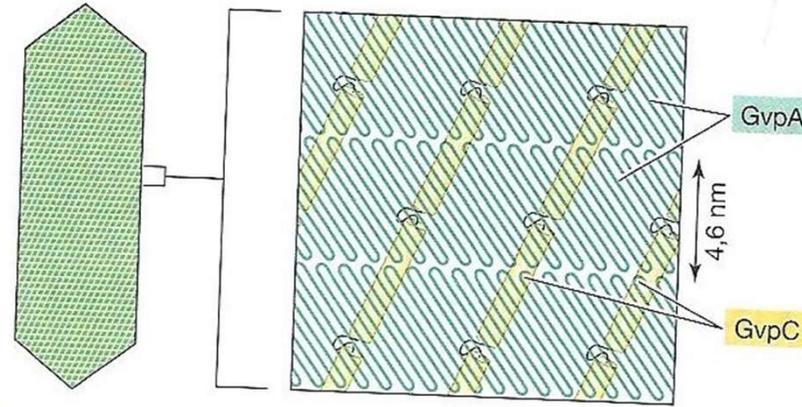
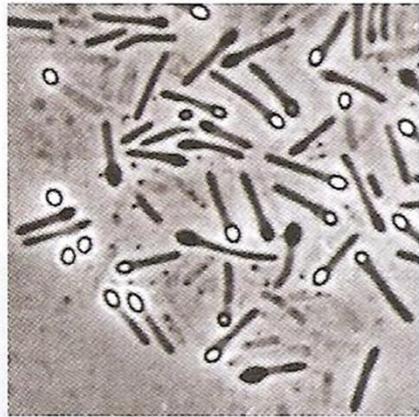
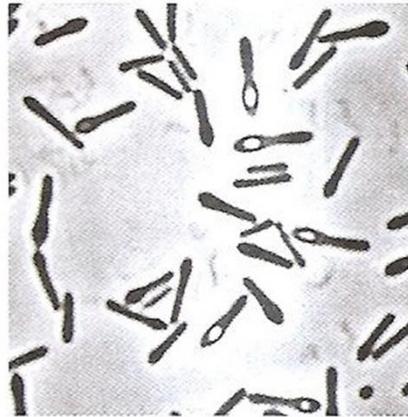


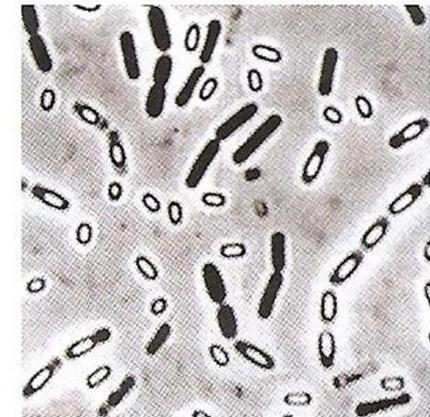
Figura 4.37 Proteínas da vesícula de gás. Modelo apresentando como as duas proteínas que formam a vesícula de gás, GvpA e GvpC, interagem, originando uma estrutura impermeável à água, porém permeável ao gás. GvpA, uma folha β pregueada rígida, compõe a trave, enquanto GvpC, uma estrutura em α -hélice, é responsável pelas ligações cruzadas.



(a) Esporos terminais



(b) Esporos subterminais



(c) Esporos centrais

Figura 4.38 O endósporo bacteriano. Fotomicrografias de contraste de fase ilustrando tipos morfológicos e localizações intracelulares dos endósporos em diferentes espécies de bactérias formadoras de endósporos.

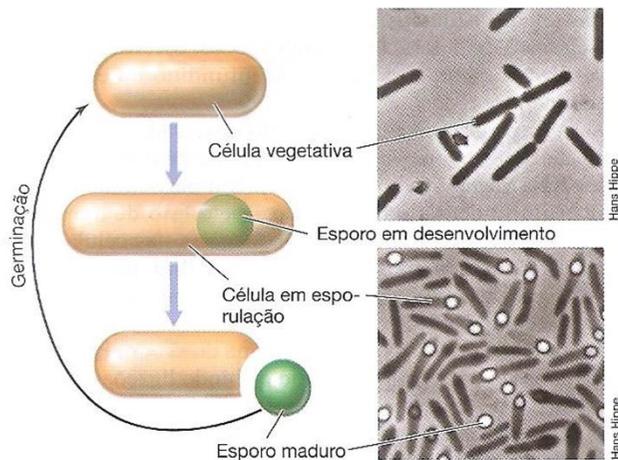
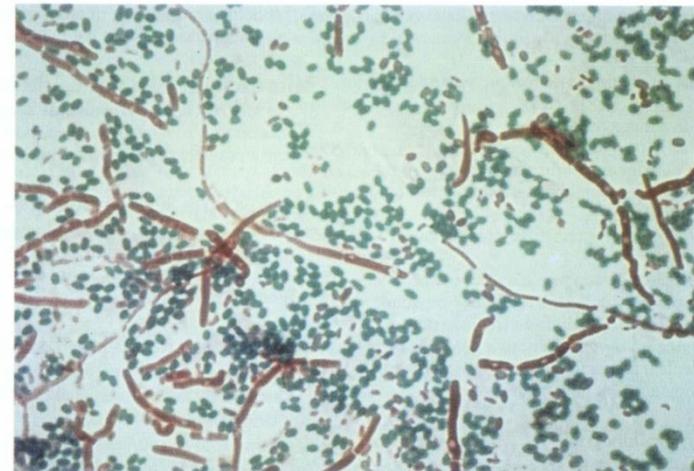


Figura 4.39 Ciclo de vida de uma bactéria formadora de endósporos. Fotomicrografias de contraste de fase de células de *Clostridium pascui*. Uma célula apresenta cerca de $0,8 \mu\text{m}$ de largura.



> **Fig. 3.31 Coloração para esporos de Schaeffer-Fulton.** Endósporos de *Bacillus megaterium* ($1.000\times$) são visualizados como estruturas verdes e ovais dentro e fora das células em forma de bastonete. As células vegetativas (que representam um estágio não-formador de esporos) e as regiões celulares sem esporos tornam-se vermelhas.

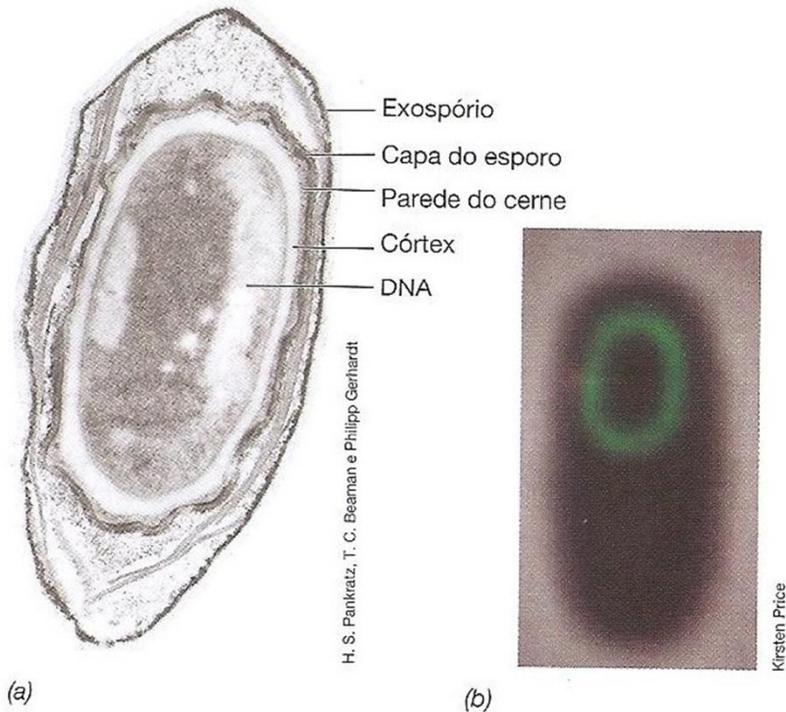


Figura 4.41 Estrutura do endósporo bacteriano. (a) Micrografia eletrônica de transmissão de uma seção fina de um endósporo de *Bacillus megaterium*. (b) Fotomicrografia de fluorescência de uma célula de *Bacillus subtilis* em processo de esporulação. A área em verde deve-se a um corante que cora especificamente uma proteína de esporulação presente na capa do esporo.

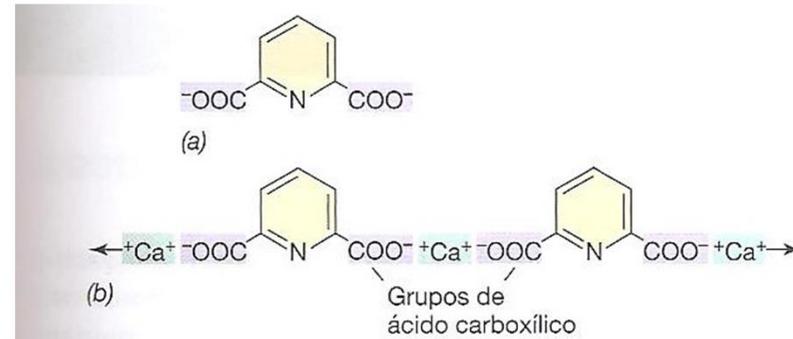


Figura 4.42 Ácido dipicolínico (DPA). (a) Estrutura do DPA. (b) Maneira pela qual o Ca^{2+} se associa a moléculas de DPA, formando um complexo.

Tabela 4.3 Diferenças entre endósporos e células vegetativas

Característica	Célula vegetativa	Endósporo
Estrutura	Típica célula Gram-positiva; raras células Gram-negativas	Córtecx espesso; capa do esporo exospório
Aspecto microscópico	Não refringente	Refringente
Teor de cálcio	Baixo	Elevado
Ácido dipicolínico	Ausente	Presente
Atividade enzimática	Elevada	Baixa
Metabolismo (captação de O_2)	Elevado	Baixo ou ausente
Síntese de macromoléculas	Presente	Ausente
mRNA	Presente	Baixo ou ausente
DNA e ribossomos	Presente	Presente
Resistência ao calor	Baixa	Elevada
Resistência a radiações	Baixa	Elevada
Resistência a agentes químicos (p. ex., H_2O_2) e ácidos	Baixa	Elevada
Capacidade de ser corada	Corável	Corável somente por métodos especiais
Ação da lisozima	Sensível	Resistente
Teor de água	Elevado, 80-90%	Baixo, 10-25% no cerne
Pequenas proteínas ácido-solúveis (produto dos genes <i>ssp</i>)	Ausentes	Presentes
pH citoplasmático	Na faixa de pH 7	Na faixa de pH 5,5-6,0 (no cerne)

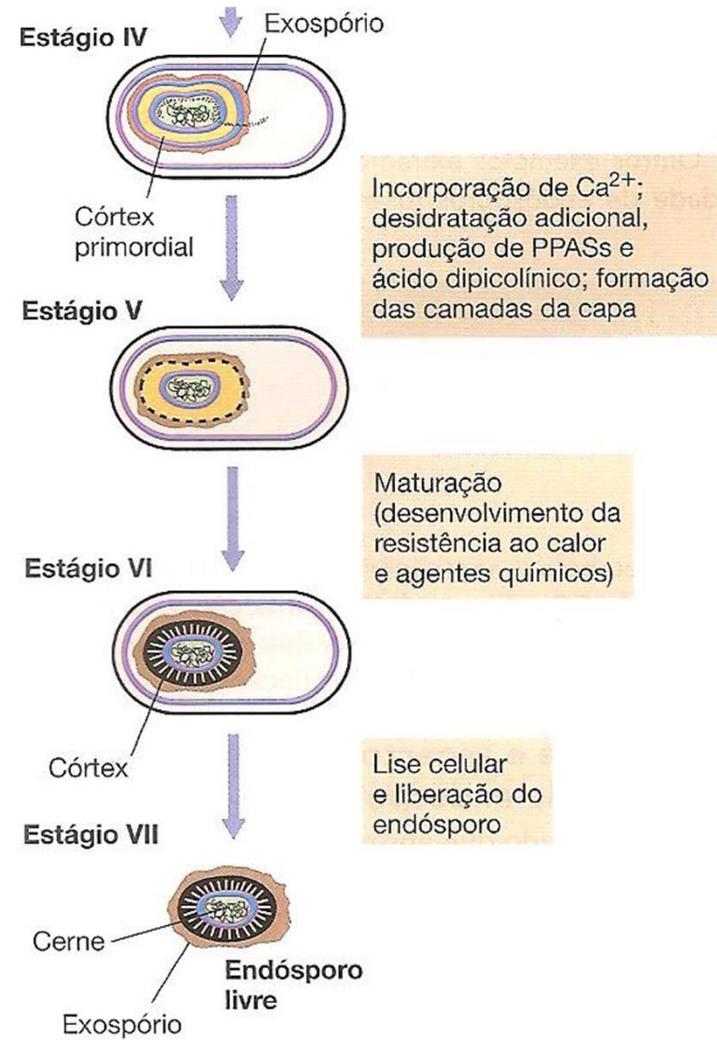
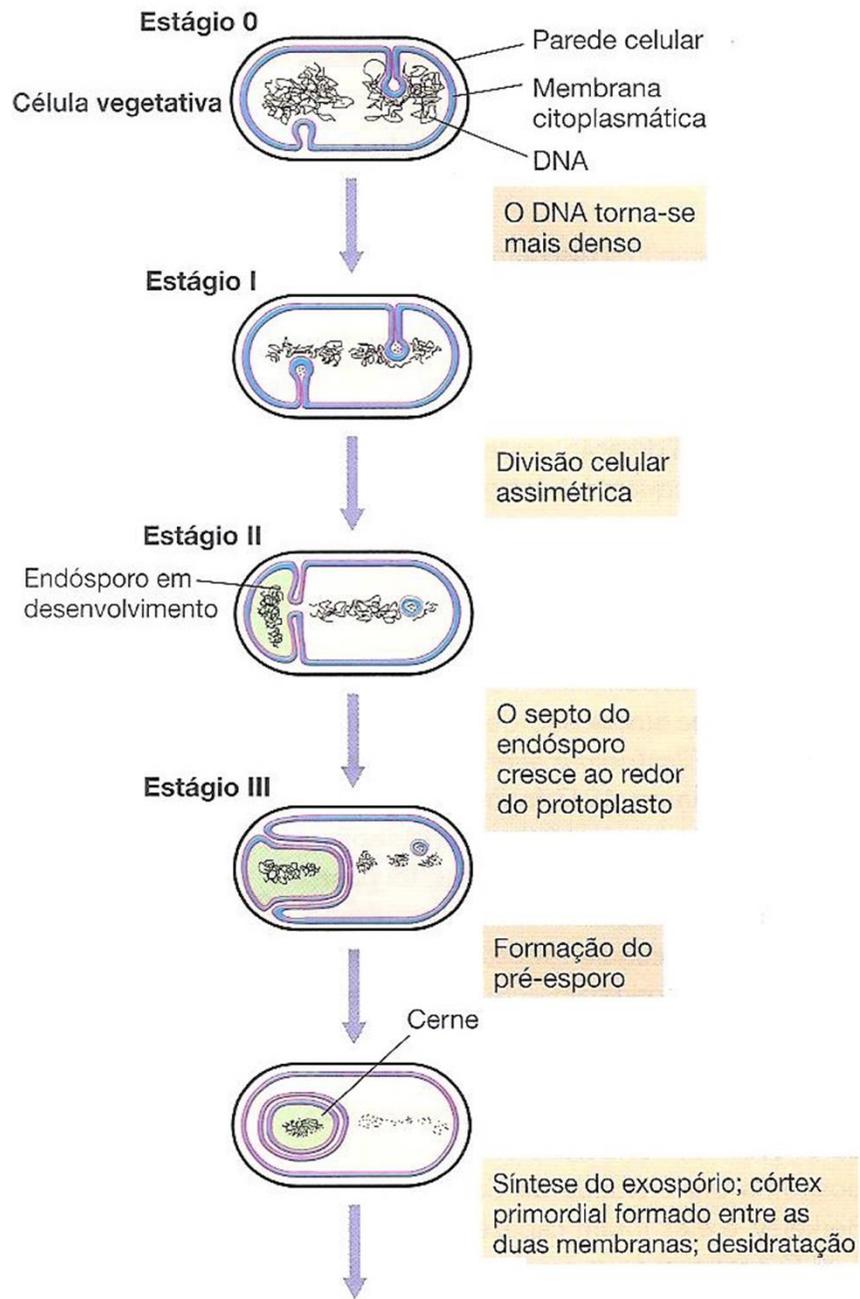
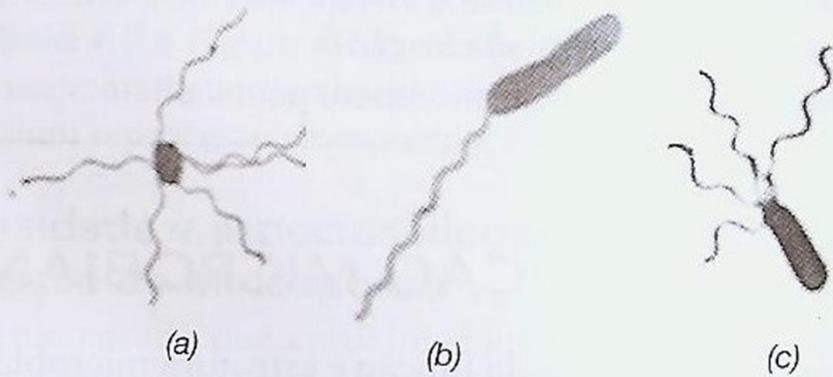


Figura 4.43 Estágios da formação de um endósporo. Os estágios de 0 a VII são definidos com base em estudos genéticos e análises microscópicas da esporulação em *Bacillus subtilis*.

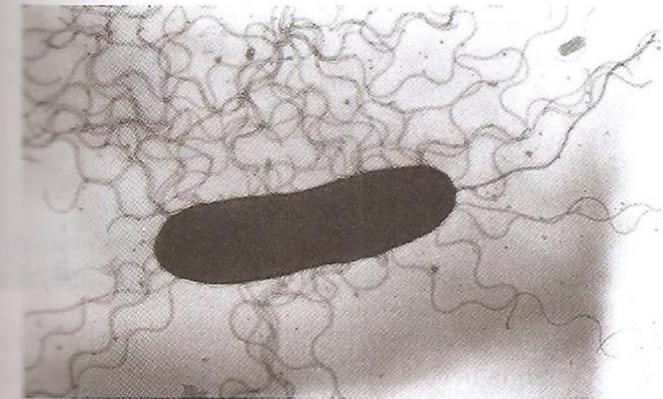


E. Leifson

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



Carl E. Bauer

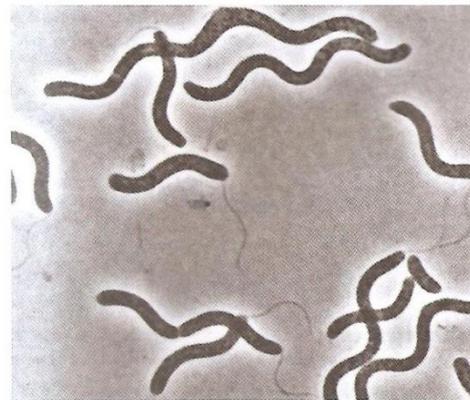


Carl E. Bauer

Figura 4.45 Flagelos bacterianos corados negativamente, observados ao microscópio eletrônico de transmissão. (a) Um único flagelo polar. (b) Flagelos peritríquios. Em ambas as micrografias são apresentadas células da bactéria fototrófica *Rhodospirillum centenum*, que apresentam largura de aproximadamente 1,5 μm . As células de *R. centenum* geralmente exibem flagelação polar, mas, sob certas condições de crescimento, passam a apresentar um padrão de flagelação peritríquia, originando células "expansivas". Ver também a Figura 4.55b.



R. Jänsch



Nobert Fleming

Figura 4.46 Flagelos bacterianos, observados em células vivas. (a) Fotomicrografia de campo escuro de um grupo de grandes bacterias em forma de bacilo, apresentando tufos de flagelos em cada um dos polos. Cada célula apresenta cerca de 2 μm de largura. (b) Fotomicrografia de contraste de fase de células da grande bactéria púrpura fototrófica, *Rhodospirillum photometricum* exibindo flagelos lofootríquios que se projetam de um dos polos. Cada célula mede cerca de 3 \times 30 μm .

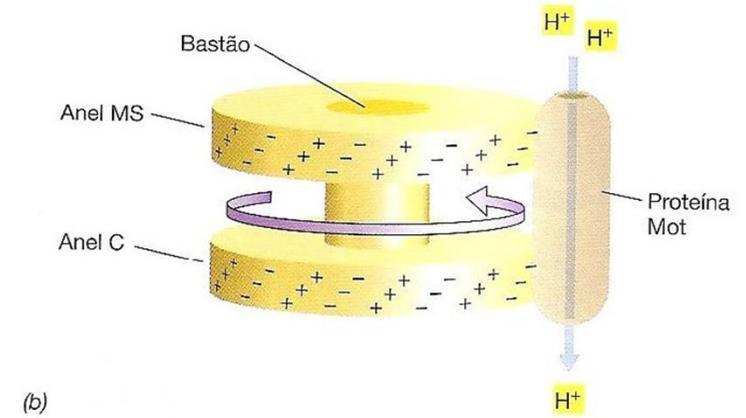
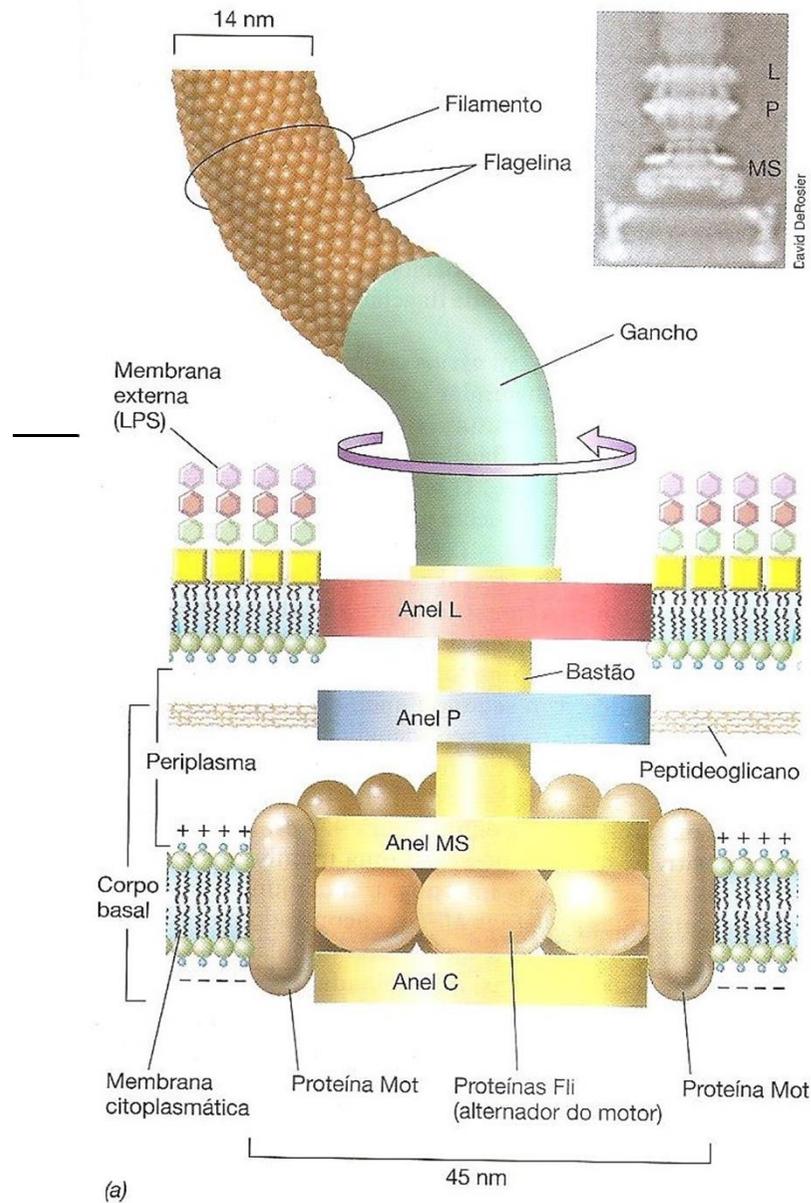


Figura 4.47 Estrutura e função do flagelo em *Bactéria Gram-negativas*. (a) Estrutura. O anel L está embebido no LPS e o anel P, no peptidoglicano. O anel MS está embebido na membrana citoplasmática e o anel C, no citoplasma. Um canal estreito é formado no bastão e no filamento, através do qual as moléculas de flagelina difundem-se para atingir o sítio de síntese flagelar. As proteínas Mot atuam como o motor flagelar, enquanto as proteínas Fli atuam como o alternador do motor. O motor flagelar gira o filamento, propulso a célula através do meio. No detalhe: micrografia eletrônica de transmissão de um corpo basal flagelar de *Salmonella enterica*, onde os vários anéis estão identificados. (b) Função. Um modelo de "turbina de prótons" foi proposto para explicar a rotação do flagelo. Os prótons, fluindo através das proteínas Mot, podem exercer forças sobre as cargas presentes nos anéis C e MS, conseqüentemente girando o rotor. Micrografia eletrônica reproduzida de *J. Bacteriol.* 183: 6404-6412 (2001).

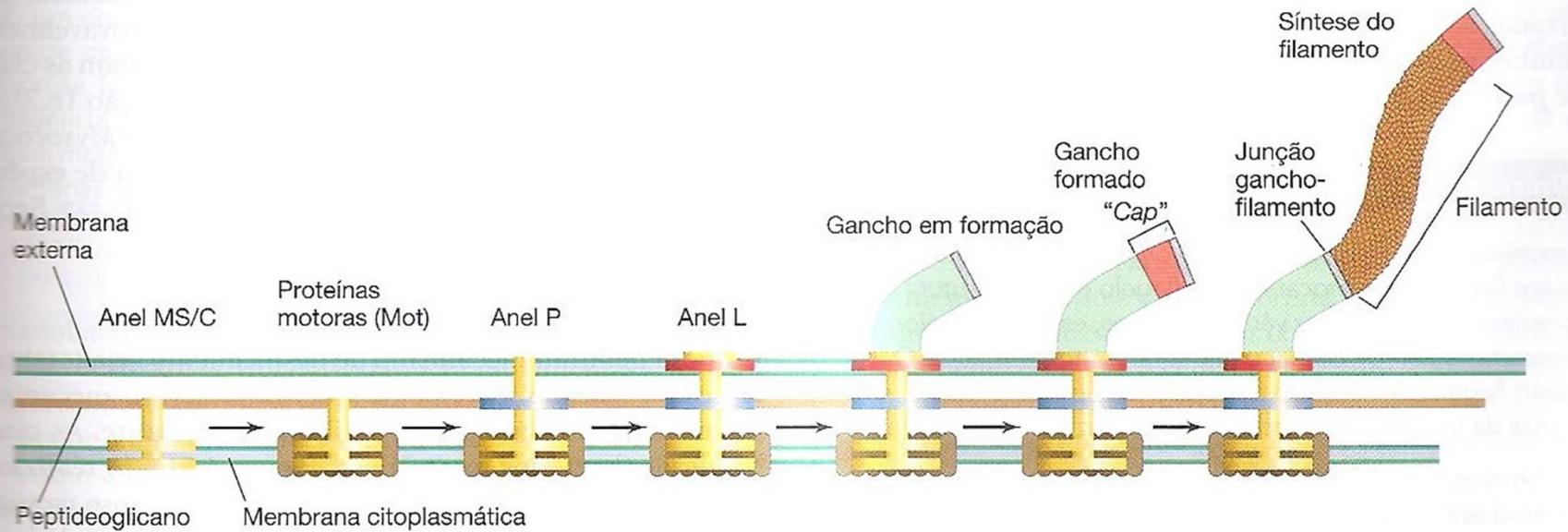
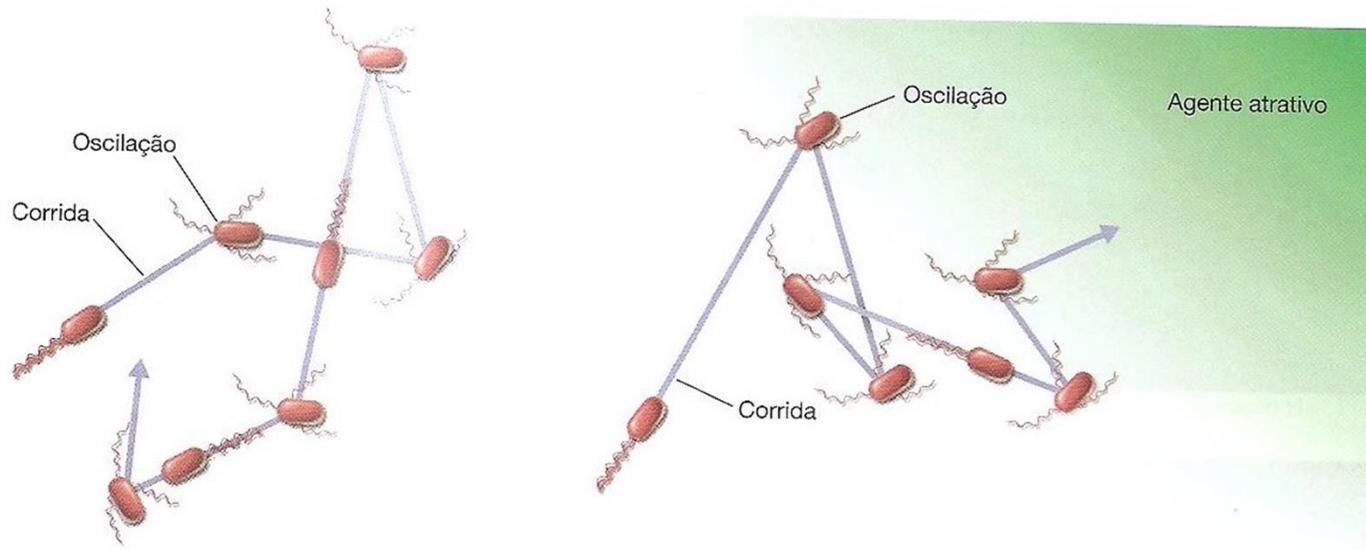


Figura 4.49 Biossíntese de flagelos. A síntese é iniciada pela montagem dos anéis MS e C na membrana citoplasmática. Em seguida, são formados os outros anéis, o gancho e o cap. A partir desse momento, a proteína flagelina passa através do gancho, originando o filamento. As moléculas de flagelina são posicionadas com o auxílio das proteínas cap, que garantem o desenvolvimento adequado do filamento em crescimento.



(a) Nenhum agente atrativo presente: movimento aleatório

(b) Agente atrativo presente: movimento direcionado

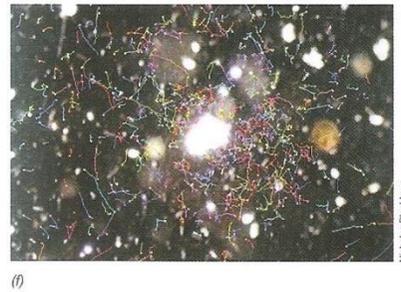
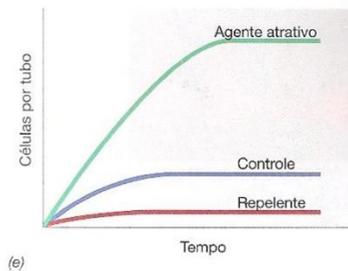
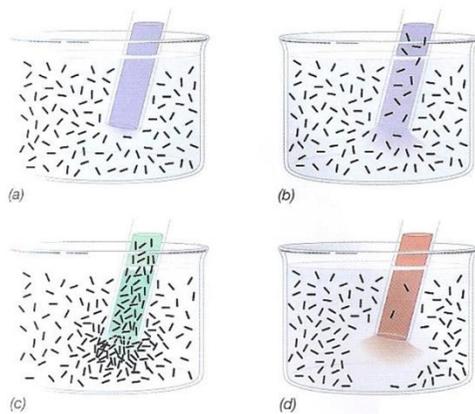


Figura 4.54 Medida da quimiotaxia utilizando um ensaio de capilar. (a) Inserção do capilar em uma suspensão bacteriana. Quando o capilar é inserido, forma-se um gradiente do composto químico. (b) Capilar controle contendo uma solução salina que não é atrativa, nem repelente. A concentração celular no interior do capilar é equivalente à concentração no meio externo. (c) Acúmulo de bactérias em um capilar contendo um agente atrativo. (d) Repulsão de bactérias por um repelente. (e) Análise temporal do número de células em capilares contendo diferentes agentes químicos. (f) Rastros de bactérias móveis na água do mar, movendo-se ao redor de uma célula de alga (grande ponto branco, ao centro), capturados por um sistema de câmera de vídeo acoplada a um microscópio. Observe como as células bacterianas exibem aerotaxia positiva, movendo-se em direção à célula da alga produtora de oxigênio. A velocidade média das células era de cerca de 25 $\mu\text{m}/\text{seg}$. A alga tem aproximadamente 60 μm de diâmetro.

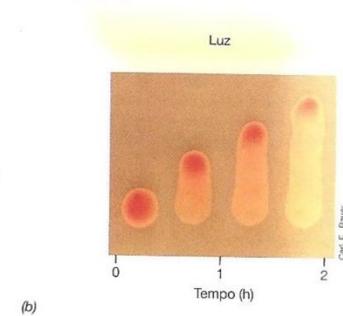
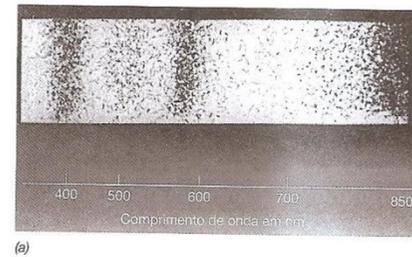
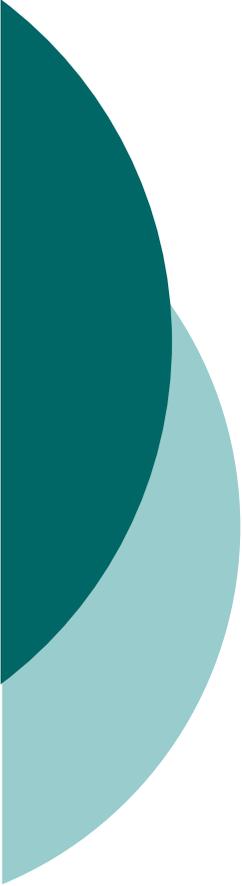


Figura 4.55 Fototaxia de bactérias fototróficas. (a) Acúmulo escotofóbico da bactéria púrpura fototrófica, *Thiospirillum jenense*, em comprimentos de onda de luz absorvidos por seus pigmentos. Um espectro luminoso foi incidido sobre uma lâmina de microscopia contendo uma suspensão densa de bactérias; após um intervalo de tempo, as bactérias acumularam-se seletivamente, quando a fotomicrografia foi tirada. Os comprimentos de onda onde as bactérias se acumularam correspondem àqueles onde o pigmento fotosintético bacterioclorofila a absorve (compare com a Figura 20.3b). (b) Fototaxia de uma colônia inteira da bactéria fototrófica púrpura *Rhodospirillum rubrum*. Essas células, fortemente fototáticas, movem-se simultaneamente em direção à fonte luminosa situada no topo. Ver Figura 4.45 para micrografias eletrônicas de células de *R. rubrum*.



José Gregório Cabrera Gomez
jgcgomez@usp.br



DEPARTAMENTO DE

MICroBiologia

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO