

Microbiologia

Microbiologia

Alexandre Verzani Nogueira

Germano Nunes Silva Filho



UNIVERSIDADE FEDERAL
DE SANTA CATARINA



UNIVERSIDADE
ABERTA DO BRASIL

Ministério da
Educação

GOVERNO FEDERAL
BRASIL
PÁTRIA EDUCADORA

1ª Edição Revisada.
Florianópolis, 2015.

Governo Federal

Presidente da República Dilma Vana Rousseff
Ministro de Educação Renato Janine Ribeiro
Diretor de educação a Distância/CAPES Jean Marc Georges Mutzig

Universidade Federal de Santa Catarina

Reitora Roselane Neckel
Vice-Reitora Lúcia Helena Martins Pacheco
Núcleo UAB/UFSC Sônia Maria Silva Corrêa de Souza Cruz
Pró-Reitoria de Graduação Julian Borba
Pró-Reitoria de Pós-Graduação Joana Maria Pedro
Pró-Reitoria de Pesquisa Jamil Assereuy Filho
Pró-Reitoria de Extensão Edison da Rosa
Pró-Reitoria de Planejamento e Orçamento Antônio Cezar Bornia
Pró-Reitoria de Administração Antônio Carlos Montezuma Brito
Pró-Reitoria de Assuntos Estudantis Denise Cord
Secretaria de Aperfeiçoamento Institucional Marcelo Minghelli
Secretaria de Cultura Zilma Gesser Nunes
Secretaria Especial de Gestão de Pessoas Elci Terezinha de Souza Junckes
Centro de Ciências da Educação Nestor Manoel Habkost
Centro de Ciências Biológicas Sonia Gonçalves Carobrez

Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas na Modalidade a Distância

Diretora Unidade de Ensino Sonia Gonçalves Carobrez
Coordenadora de Curso Viviane Mara Woehl
Coordenadora de Tutoria Leila da Graça Amaral
Coordenação Pedagógica LANTEC/CED

Coordenação de Ambiente Virtual Michel Kramer Borges de Macedo

Comissão Editorial Viviane Mara Woehl, Alexandre Verzani Nogueira, Milton Muniz

Projeto Gráfico Material Impresso e on-line

Coordenação Prof. Haenz Gutierrez Quintana

Equipe Henrique Eduardo Carneiro da Cunha, Juliana Chuan Lu, Laís Barbosa, Ricardo Goulart Tredezini Straioto

Equipe de Desenvolvimento de Materiais

Laboratório de Novas Tecnologias – LANTEC/CED

Coordenação Pedagógica das Licenciaturas a Distância UFSC/CED/CFM

Coordenação Geral Carla Cristina Dutra Búrigo

Vice-Coordenação Marina Bazzo de Espíndola

Coordenação de Formação Carla Cristina Dutra Búrigo

Coordenação de Desenvolvimento de Materiais

Impressos e Multimídias Juliana Cristina Faggion Bergmann

Coordenação de Avaliação Zenilde Durlí

Design Gráfico

Supervisão Roberto Gava Colombo

Adaptação do Projeto Gráfico Laura Martins Rodrigues, Thiago Rocha Oliveira

Diagramação Cristiane Amabile Wartha

Ilustrações Alexandre dos Santos Oliveira, Amanda Cristina Woehl, Talita Ávila Nunes, Liane Lanzarin, Maiara Ornellas Ariño, Grazielle S. Xavier, Jean H. de O. Menezes, Tarik Assis Pinto, Maicon Hackenhaar de Araujo, Ângelo Bortolini Silveira

Design Educacional

Design Educacional Larissa Zancan Rodrigues

Revisão gramatical Ana Carolina de Melo Martins

Copyright © 2015 Universidade Federal de Santa Catarina. Biologia/EaD/UFSC
Nenhuma parte deste material poderá ser reproduzida, transmitida e gravada sem a prévia autorização, por escrito, da Universidade Federal de Santa Catarina.

N778m Nogueira, Alexandre Verzani
Microbiologia / Alexandre Verzani Nogueira, Germano Nunes Silva Filho. – Florianópolis : Biologia/EaD/UFSC, 2015.
211 p.: il., grafs., tabs., plantas
ISBN 978-85-61485-26-9
1. Microbiologia. 2. Ensino. 3. Biologia. I. Silva Filho, Germano Nunes. II. Título.

CDU: 576.8

Catálogo na fonte elaborada na DECTI da Biblioteca Universitária da Universidade Federal de Santa Catarina.

Sumário

Apresentação.....	9
1 Introdução à Microbiologia.....	11
1.1 Histórico.....	13
1.2 Posição dos microrganismos na árvore da vida.....	17
Resumo.....	20
Referências.....	20
2 Bactérias.....	23
2.1 Morfologia e estrutura bacteriana.....	25
2.1.1 Formas das bactérias.....	26
2.1.2 Arranjos bacterianos.....	28
2.2 Estruturas externas e internas das células bacterianas.....	28
2.2.1 Estruturas externas.....	30
2.2.2 Estruturas internas.....	32
2.3 Genética bacteriana.....	36
2.3.1 Material genético da bactéria.....	36
2.3.2 Replicação do DNA.....	37
2.3.3 Transcrição, tradução e síntese de proteínas.....	37
2.3.4 Mutação e Recombinação do material genético.....	40
2.3.5 Genética e Biotecnologia.....	42
Resumo.....	47
Referências.....	48
3 Reino Protista.....	51
3.1 Algas.....	53
3.1.1 Introdução.....	53
3.1.2 A importância das algas.....	55

3.2 Protozoários.....	58
3.2.1 Classificação.....	59
3.2.2 Importância.....	60
Resumo.....	61
Referências.....	61
4 Fungos.....	63
4.1 Introdução.....	65
4.2 Características.....	65
4.3 Morfologia.....	67
4.3.1 Sistema somático.....	67
4.3.2 Sistema Reprodutivo.....	69
4.4 Sistemática de fungos.....	73
4.4.1 Reino Protista.....	73
4.4.2 Reino Stramenopila.....	74
4.4.3 Reino Fungi.....	77
4.5 Disseminação.....	82
4.6 Importância.....	84
4.7 Nova classificação dos Fungos.....	84
Resumo.....	85
Referências.....	86
5 Vírus.....	89
5.1 Introdução.....	91
5.2 Características gerais dos vírus.....	93
5.3 Taxonomia viral.....	98
5.4 Ciclo de vida dos bacteriófagos.....	98
5.5 Cultivo dos vírus.....	99
5.6 Outros agentes infecciosos.....	99
5.7 Viroses.....	100
Resumo.....	101
Referências.....	101
6 Interações com microrganismos.....	103
6.1 Introdução.....	105
6.2 Interações positivas.....	105
6.2.1 Neutralismo.....	105
6.2.2 Simbiose.....	105
6.2.3 Protocooperação.....	106
6.2.4 Comensalismo.....	106

6.3 Interações Negativas	107
6.3.1 Parasitismo	107
6.3.2 Predatismo	108
6.3.3 Competição.....	108
6.3.4 Amensalismo	109
Resumo.....	110
Referências	111
7 Microbiologia do Solo	115
7.1 O solo	117
7.2 Microrganismos do solo.....	118
7.3 Efeitos dos fatores ambientais.....	119
7.3.1 Fatores primários.....	120
7.3.2 Fatores secundários	121
7.4 Funções dos microrganismos no solo.....	123
7.5 Rizosfera.....	127
Resumo.....	129
Referências	130
8 Microbiologia da Água	133
8.1 Introdução.....	135
8.2 Microrganismos e aspectos de saúde	136
8.3 Coliformes.....	137
8.4 Métodos de análises microbiológicas de água	139
8.4.1 Método dos Tubos Múltiplos ou Número Mais Provável.....	139
8.4.2 Método da Membrana de Filtro	141
8.4.3 Outras análises	141
Resumo.....	142
Referências	142
9 Microbiologia do Ar	147
9.1 Introdução.....	149
9.2 Fontes de contaminação	149
9.3 Fatores que afetam a população	151
9.4 Métodos de avaliação.....	151
9.5 Controle da população.....	152
9.6. Utilidade	153
Resumo.....	153
Referências	153

10 Ciclo dos elementos químicos	155
10.1 Introdução.....	157
10.2 Ciclo do Carbono.....	157
10.2.1 Decomposição dos compostos adicionados ao solo.....	159
10.3 Ciclo do Nitrogênio.....	160
10.3.2 Nitrificação.....	162
10.3.3 Desnitrificação.....	163
10.3.4 Imobilização	163
10.3.5 Fixação de nitrogênio	164
10.4 Ciclo do Enxofre.....	170
10.5 Ciclo do Fósforo.....	171
10.6 Ciclo do Potássio.....	172
Resumo.....	173
Referências	173
11 Patogenicidade	175
11.1 Introdução	177
11.2 Etapas do desenvolvimento da doença	178
Resumo.....	182
Referências	182
12 Controle de microrganismos	185
12.1 Introdução.....	187
12.2 Fatores que afetam os microrganismos.....	188
12.3 Agentes físicos.....	189
12.4 Agentes químicos.....	195
Resumo.....	198
Referências	198
13 Microbiologia Industrial - Biotecnologia	201
13.1 Introdução.....	203
13.2 Substratos em biotecnologia	206
13.3 Produtos e processos da biotecnologia.....	206
13.4 Aplicações em meio ambiente.....	210
Resumo.....	215
Referências	215

Apresentação

O conteúdo apresentado neste livro de Microbiologia representa um esforço dos professores autores em procurar transmitir aos alunos os conhecimentos adquiridos ao longo de anos de ministração de cursos na modalidade presencial. Não é uma obra acabada, mas o início de uma tentativa de uma nova forma de ensinar. Portanto, caro aluno, você é parte importante deste processo. Ninguém melhor do que você para nos ajudar a melhorar este material ao longo do nosso curso. Durante a leitura deste material você encontrará informações sobre o histórico da microbiologia e dos organismos que são objeto de estudo dos microbiologistas: bactérias, algas, protozoários, fungos e vírus. Também serão discutidas: a presença dos microrganismos nos mais diferentes ambientes como o solo, a água e o ar, bem como as atividades desenvolvidas por eles e que representam importantes funções na manutenção da vida do planeta. Em adição, os microrganismos apresentam uma intensa atividade social em relacionamentos com outros seres vivos e com o meio ambiente. Algumas destas interações são positivas e outras negativas, como as relacionadas à patogenicidade. Por fim, é importante conhecer as formas de controlar os microrganismos e os produtos microbianos que utilizamos no cotidiano e que muitas vezes nos passam despercebidos e parecem ser de pouca importância. Na verdade, ninguém vive sem os microrganismos, que estão ao nosso redor e dentro de nós.

Alexandre Verzani Nogueira

Germano Nunes Silva Filho

CAPÍTULO 1



Introdução à Microbiologia

Neste capítulo serão apresentados os principais personagens e suas contribuições para o desenvolvimento da microbiologia. Também será discutido ao longo do tempo o posicionamento dos microrganismos na árvore da vida.

1.1 Histórico

Desde a antiguidade havia a suspeita de que deveriam existir organismos menores do que aqueles que se podia observar. Alguns se aventuravam a dizer que nas costas de um animal maior existia um menor, e neste menor existia um ainda menor e assim sucessivamente. Havia também a ideia de que as doenças se propagavam por sementes. Mas quem pela, primeira vez, convenceu o mundo de que os microrganismos existiam foi Antony Van Leeuwenhoek, considerado o pai da Microbiologia.

Leeuwenhoek era um holandês, comerciante de tecidos. Para não ser enganado na compra, começou a utilizar lentes para verificar os produtos que adquiria. Isto despertou o seu interesse na produção destes instrumentos. Ele passou a produzir lentes com tal acuidade que permitiam aumentos de até 400 vezes. Com estas lentes começou a investigar o mundo que o cercava. Como não era um cientista, ele passou a comunicar suas descobertas através de cartas. Em 1674, escreveu para a Sociedade Real Inglesa que tinha ficado maravilhado ao descobrir em uma gotícula uma serie de “animálculos”. Ele descreveu com tal precisão o que tinha observado que hoje é possível identificar os microrganismos visualizados. No entanto, como não era da área da ciência, não deixou discípulos. Com a sua morte, a técnica de polimento das lentes foi perdida, e seu trabalho interrompido.



Figura 1.1. Foto de Antony Van Leeuwenhoek. FONTE: http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/9/94/Jan_Verkolje__Antonie_van_Leeuwenhoek.jpg. Acesso em: 19/01/2010.

Após Leeuwenhoek, um novo impulso só foi dado na microbiologia com o desenvolvimento da indústria ótica na Alemanha com a produção de microscópios compostos.

O primeiro período áureo da microbiologia teve início no final do século XIX, com a derrubada da **teoria da abiogênese**, o estabelecimento dos processos de fermentação como produto da atividade de microrganismos, o estabelecimento da relação de microrganismos com as doenças e o desenvolvimento da microbiologia agrícola e ambiental.

A teoria da abiogênese teve origem junto com a humanidade. Ela era, inclusive, defendida por grandes filósofos. Mas à medida que o conhecimento sobre biologia evoluía, ela ia paulatinamente sendo derrubada. O ponto final foi dado por Redi, em 1668, quando demonstrou que as larvas que surgiam na carne em putrefação eram um estágio da vida das moscas, e que as mesmas não surgiam na carne se a mesma estivesse devidamente protegida.

No entanto, com a descoberta dos microrganismos, esta teoria ressurgiu, pois preparados aparentemente isentos de microrganismos, em pouco tempo, apresentavam abundância dos mesmos. Logo, duas correntes de pensamento foram estabelecidas: a da biogênese e a da abiogênese, cada qual produzindo experimentos tentando provar sua teoria ou derrubar a outra. Os partidários da teoria da biogênese começaram com o conhecimento de que o calor matava os microrganismos, assim, meios de cultura submetidos à fervura por longos períodos, mostravam a ausência de microrganismos. Mas, com o passar do tempo, os microrganismos surgiam. Logo, eles podiam estar aparecendo de algum lugar e, o mais lógico, era do ar. Trataram então de aquecer o material em recipientes fechados e assim o mantinham estéril.

Os adeptos da teoria da abiogênese contra atacaram, argumentando que em ambientes fechados os microrganismos não teriam acesso ao oxigênio que era considerado, na época, essencial a todo o tipo de vida. Foi quando entrou em cena Louis Pasteur. Ele resolveu o problema utilizando um balão de vidro cujo pescoço fora esticado e encurvado na forma de um pescoço de cisne (figura 1.2A). O frasco, contendo no seu interior meio de cultura era, então, aquecido e

- **Teoria da abiogênese**
- Hipótese que se baseava na
- crença de que os seres vivos
- poderiam ser originados a
- partir da matéria bruta.

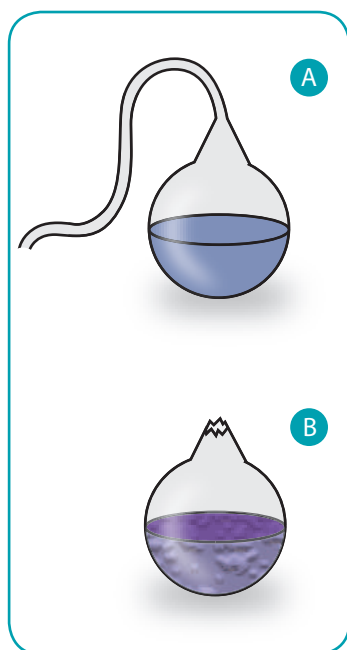


Figura 1.2. (A) Vidro com forma de um pescoço de cisne e (B) vidro com o gargalo quebrado mostrando o crescimento microbiano. FONTE: Modificado de: <http://www.ateus.net/artigos/ciencias/imagens/como_a_vida_comecou_1.gif>. Acesso em: 29/03/2010.

Pasteurização

aquecimento do produto a baixas temperaturas, e por longos períodos, de forma a destruir os microrganismos indesejáveis sem alterar as características do produto.

fervido. Com esse procedimento, o meio de cultura ficava isento de microrganismos por longos períodos. Só surgiam microrganismos quando o gargalo era quebrado ou quando se fazia o líquido vir até a borda do pescoço e retornar para dentro do frasco (Figura 1.2B).

Na realidade, pode-se dizer que Pasteur teve muita sorte, pois, outro pesquisador, Tyndall, também realizava experimentos semelhantes, utilizando uma caixa selada. Quando ele passava através da caixa um raio de luz e verificava que não havia partículas em suspensão no ar, o meio de cultura permanecia estéril. Seu experimento foi repetido diversas vezes com sucesso. De repente, o meio começou a apresentar crescimento. Ao investigar o problema, ele descobriu que o que estava crescendo era um microrganismo que produzia endósporos, capazes de resistir a alguns minutos de fervura.

Outra participação de Pasteur foi no estabelecimento dos processos de fermentação. Pasteur era químico, e na sua época as fermentações eram consideradas reações químicas. Ao estudar este processo Pasteur descobriu que em boas produções de vinhos e cervejas, ocorria a presença de microrganismos conhecidos, hoje, como leveduras. Sugeriu então que estas leveduras deveriam ser inoculadas nos mostos ou sucos de uva para a produção de um bom produto. Mas havia um problema: esses materiais já apresentavam uma microbiota oriunda do campo, da própria uva, dos processos de transporte e processamento. Como eliminar estes organismos, para introduzir somente os microrganismos desejáveis? O aquecimento eliminava os microrganismos, mas também alterava as características do produto. Foi quando Pasteur desenvolveu um procedimento conhecido por **pasteurização**. Este procedimento é utilizado até hoje na preservação de alimentos como sucos, cervejas, leites e ovos.

Outro pesquisador que teve participação destacada no desenvolvimento da microbiologia, notadamente na área médica, foi Robert Koch. Ele era um médico que vivia no interior da Alemanha e ganhou de presente de aniversário de sua esposa um microscópio com o qual começou a pesquisar o mundo microbiano. Ao investigar a morte de animais por uma doença conhecida por carbúnculo, verificou que nas lâminas preparadas com esfregaço

do sangue encontrava um microrganismo em forma de bastão. Assim, ele começou então a relacionar a presença deste microrganismo ao desenvolvimento da doença.

Como provar isso? Parecia ser fácil. Bastava inocular este microrganismo em um animal sadio e ver se este desenvolvia a doença. Mas, para isso, era necessário obter esse organismo em cultura, em uma cultura contendo apenas esse microrganismo, ou seja, uma cultura pura. Foi necessário, então, o desenvolvimento de metodologia de isolamento, de cultivo de microrganismos e de identificação. A partir daí, Koch elaborou quatro postulados, conhecidos como Postulados de Koch, que são utilizados até hoje para relacionar doenças ao seu agente, ou seja: (1) o microrganismo deve estar presente em todos os casos da doença; (2) o microrganismo deve ser isolado em uma cultura pura; (3) ao ser inoculado em um organismo sadio e suscetível, esse deve desenvolver os sintomas da doença e, por último, (4) o microrganismo deve ser obtido, novamente, em cultura pura. Com estes postulados, em questão de duas décadas (1880 a 1900), muitas doenças importantes para a espécie humana, incluindo a de outros animais e as de plantas, tiveram os seus agentes identificados. Isso abriu as portas para o controle das infecções, possibilitando a prevenção, o tratamento e a cura.

Pasteur participou, ainda, do entendimento do processo de imunização e desenvolvimento de vacinas. Certa vez, ao tentar demonstrar que havia identificado o agente causador de uma doença de aves, verificou que bactérias, quando submetidas ao cultivo continuado, podiam ficar atenuadas, ou seja, perdiam a capacidade de produzir a doença, mas não perdiam a capacidade de induzir a imunidade. Na demonstração, Pasteur inoculou um lote de galinhas com a bactéria isolada e outro lote permaneceu como testemunha. Para seu espanto, ambos os lotes permaneceram vivas. Avaliando o que poderia ter ocorrido, descobriu que a cultura utilizada no experimento era velha, ou seja, com vários dias de incubação. Ele resolveu, então, repetir o experimento inoculando um novo lote de galinhas e o lote que tinha sido inoculado anteriormente. Ao avaliar o experimento, verificou-se que as galinhas inoculadas com a cultura jovem haviam morrido. As que receberam a cultura jovem, mas que anteriormente haviam sido inoculadas com a cultura velha,

O termo foi uma homenagem a Jenner, que teria utilizado material de vacas com varíola para imunizar humanos.

Microrganismos quimiolitotróficos

São microorganismos que obtêm energia a partir da oxidação de compostos inorgânicos. A maioria dessas bactérias é autotrófica e utiliza CO₂ como fonte única de carbono, sendo portanto quimioautotrófica.

e as que não foram inoculadas, continuaram vivas. Desta forma, foi sugerido que a imunidade poderia ser obtida inoculando-se microrganismos atenuados e deu-se o nome dessa técnica de **vacinação**.

Enquanto a maioria dos microbiologistas da época estava preocupada com as questões de patogenicidade, em descobrir quem provoca o que, alguns questionavam: se existem tantos microrganismos no ambiente, no solo, na água, na superfície de plantas e animais, qual é o papel destes microrganismos, o que eles fazem? Nessa indagação tiveram grande participação Winogradsky e Beijerinck. Eles demonstraram a importância dos microrganismos na ciclagem dos nutrientes e descobriram **microrganismos quimiolitotróficos** e fixadores de nitrogênio.

Nas décadas de 40 e 50, iniciou-se o segundo período áureo da microbiologia. Os microrganismos são utilizados como modelos, como ferramentas, na síntese de compostos orgânicos e no desenvolvimento da genética e tecnologia de DNA recombinante. Esses conhecimentos vieram a culminar com o desenvolvimento da biotecnologia, ou seja, com o uso de organismos ou partes destes na obtenção de produtos e serviços.

Qual será o futuro da microbiologia? Quem tiver a resposta para essa questão, por favor, divulgue, pois precisamos nos manter atualizados.

1.2 Posição dos microrganismos na árvore da vida

No início da biologia, devido a diferenças marcantes, os organismos foram divididos em dois grupos (Figura 1.3). De um lado estavam os animais que apresentavam, entre outras características, mobilidade, crescimento limitado, células sem parede celular e que eram heterotróficos. Já as plantas, imóveis, apresentavam células com parede celular, crescimento ilimitado e eram autotróficas. Na medida em que os microrganismos foram descobertos, iam sendo distribuídos entre os dois grupos.

Dessa forma, em 1753, Linnaeus propôs a inclusão de todos os organismos nos reinos Plantae e Animalia. Sendo as bactérias, algas

e fungos incluídos com as plantas e os protozoários com os animais.

No entanto, como os microrganismos apresentam características que não os classificavam perfeitamente em cada reino, controvérsias começaram a surgir. A maioria das bactérias é heterotrófica e apresenta parede celular, sendo algumas espécies móveis. Algas unicelulares são móveis, e determinados grupos não apresentam parede. Os fungos são heterotróficos. Os organismos euglenoides são tratados por alguns como algas flageladas e por outros como os protozoários clorofilados.

Para resolver o problema, Haeckel propôs, em 1866, a criação de um terceiro reino denominado de Protista, ou seja, “os primeiros”. Nele, deveriam ser incluídos todos os organismos (microrganismos) que não fossem caracterizados como pertencentes aos reinos Plantae e Animalia. No entanto, verificou-se que estes organismos apresentavam uma característica em comum: são organismos unicelulares, isto é, não apresentam diferenciação de células formando tecidos ou órgãos.

Com o desenvolvimento da microscopia, verificou-se que dentro do reino Protista havia microrganismos com características muito distintas. Um grupo apresentava células em que o material genético estava em contato com o citoplasma e foram denominadas de células procarióticas. Outro apresentava células com um núcleo contendo o material genético envolto por uma membrana e foram denominadas de células eucarióticas. Tal tipo de célula também é característica de plantas e animais. Surge então a ideia da divisão dos

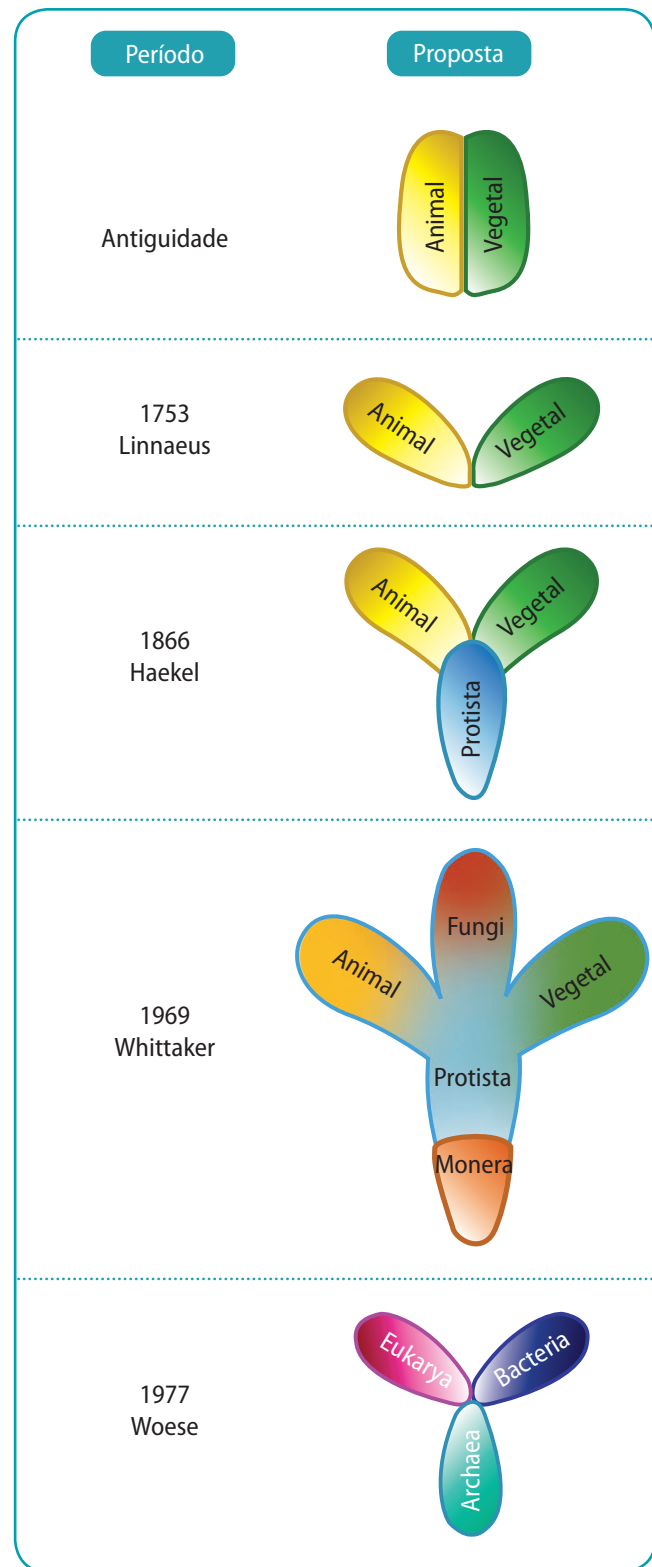


Figura 1.3. Evolução da árvore da vida.

protistas em superiores e inferiores. Os protistas superiores eram constituídos dos organismos que apresentavam célula do tipo eucariótica como algas superiores, fungos e protozoários. As bactérias e as algas inferiores, que apresentam célula do tipo procariótica foram denominadas de protistas inferiores. As algas inferiores foram depois denominadas de algas verde-azuladas, cianofíceas e, mais recentemente, denominadas de cianobactérias.

Em 1969, Whittaker, baseado na ideia de que os organismos evoluíram segundo três formas de nutrição (absorção, ingestão e fotossíntese), propôs a criação de cinco reinos: Monera, Protista, Fungi, Plantae e Animalia. Os organismos procarióticos, como as bactérias, foram incluídos no reino Monera e os eucarióticos unicelulares, como algas e protozoários, no reino Protista. Os eucarióticos, que se nutrem por absorção, foram colocados no reino Fungi, os fotossintéticos no Plantae e os organismos que se nutrem por ingestão no Animalia.

Com o surgimento das técnicas de sequenciamento genético, verificou-se que os organismos evoluíram, a partir de um ancestral, em três diferentes direções. Com base nisso, Woese propôs, em 1977, a criação de três domínios:

- **Archaea** – incluindo organismos procarióticos, denominados genericamente de arqueobactérias, que vivem em condições extremas de temperatura, pressão osmótica ou são produtoras de metano.
- **Bactéria** – incluindo organismos procarióticos denominados de bactérias.
- **Eukarya** – incluindo organismos eucarióticos como os reinos Protista (algas e protozoários), Fungi, Animalia e Plantae.

Essa nova proposta inclui ainda a teoria da endossimbiose, segundo a qual as organelas existentes nas células eucarióticas, tais como as mitocôndrias e cloroplastos, seriam oriundos de bactérias. Esta teoria é suportada pelas evidências estruturais, tipo de ribossomo, além de apresentarem genoma próprio. Se a célula eucariótica perde suas mitocôndrias e/ou cloroplastos, não é capaz de reconstituí-los, pois não possui informações completas no seu genoma para fazê-lo. A figura 1.3 sumariza a evolução da árvore da vida.

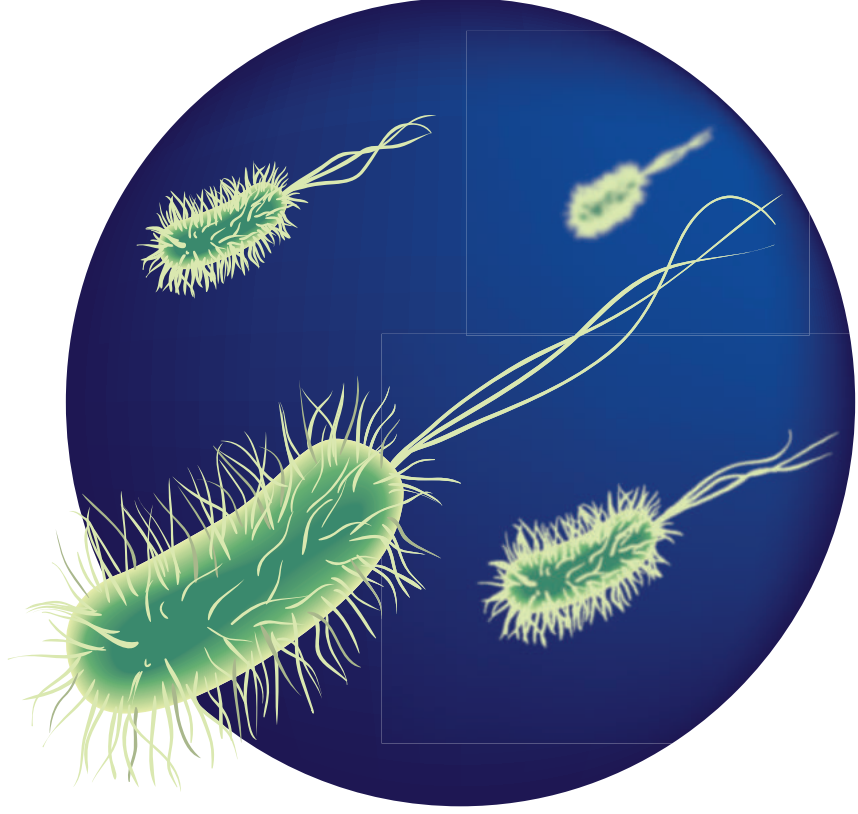
Resumo

A minuciosa descrição dos organismos observados através de uma lente por Leeuwenhoek convenceu o mundo da existência dos microrganismos, abrindo um novo campo para estudo e pesquisas. No início, os estudos se concentraram nos microrganismos patogênicos com os trabalhos de Pasteur e Koch, sendo que o último fez a demonstração de que as doenças eram provocadas por microrganismos específicos. Com a identificação do agente ficou mais fácil o controle, o tratamento e a prevenção das doenças. No entanto, as atividades dos microrganismos não se restringem a provocar doenças. Eles são responsáveis por inúmeras atividades essenciais à vida no planeta e pelos produtos utilizados em nossa sociedade. À luz do conhecimento atual, os microrganismos apresentam a maior diversidade entre todos os organismos. Dos três Domínios existentes, em dois (Archaea e Bacteria) eles são componentes exclusivos e no terceiro (Eukarya) participam com pelo menos dois reinos (Protista e Fungi).

Referências

- MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J.
Microbiologia de Brock. 10. ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2004. 608 p.
- PELCZAR JR, M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R.
Microbiologia: Conceitos e Aplicações. 2. ed. São Paulo: Makron Books, 1996. 524 p.

CAPÍTULO 2



Bactérias

Neste capítulo serão estudadas as bactérias, com destaque para as suas morfologias, estruturas e arranjos das células. Serão também abordados aspectos de genética e engenharia genética desses microrganismos, que habitam praticamente todos os ambientes do planeta Terra.

2.1 Morfologia e estrutura bacteriana

Com certeza, a grande maioria das pessoas que você conhece já ouviu falar sobre as bactérias. Há, no geral, um grande medo da presença delas, pelo seu potencial de causar doenças, mas poucos sabem que elas são mais benéficas do que maléficas para as pessoas, os animais e o meio ambiente. Pouca gente tem ideia em que ambientes elas existem e, principalmente, de que tamanho elas são.

Pare um pouco e reflita! No seu dia a dia, onde você encontra as bactérias e qual o tamanho delas?

As bactérias são seres vivos muito interessantes, pois vivem em praticamente todos os lugares e ecossistemas. Elas estão no ar, na água, no solo, nos alimentos, nos animais e em muitas partes do nosso corpo. Alguns desses lugares, talvez, você jamais imaginou, como, por exemplo, em geleiras, a mais de 50 metros de profundidade e em águas vulcânicas, com mais de 100 °C. Recentemente, as bactérias foram encontradas em nuvens e participam até do tipo

de clima. Veja que interessante: um organismo tão pequeno poder ter uma influência em escala tão grande, global. Outro exemplo curioso é a presença de algumas células bacterianas vivendo no estômago de certas pessoas, causando úlceras. Vale lembrar que nesse último ambiente a predominância dos ácidos seria em teoria totalmente desfavorável à presença de vida. Mas elas estão lá realizando um interessante trabalho.

Mas qual o tamanho desses organismos tão interessantes? Pegue uma régua comum, dessas escolares, e veja os risquinhos menores, os milímetros, que são as divisões dos centímetros. Pois bem, as bactérias são, em linhas gerais, mil vezes menores do que um milímetro. Esse tamanho é um micrômetro (μm), ou micra, como alguns chamam, e isso faz com que elas, as bactérias, sejam apenas vistas pelo microscópio.

Existem diferentes tipos de bactérias, como vamos ver mais para frente, e elas podem variar normalmente de 1 a 10 μm . Mas, em casos extremos, podem ser de 0,2 μm , como nas espécies pertencentes ao gênero *Chlamidia*, a 250 μm em células de **espiroquetas**. Curiosamente, 0,2 μm é a medida do limite de resolução do microscópio óptico. Para termos uma ideia do tamanho da bactéria que vemos no microscópio óptico comum, que aumenta mil vezes: se pudéssemos ver uma mosca doméstica nesse mesmo microscópio ela teria o tamanho de 10 metros, aproximadamente.

Podemos dar outro exemplo que ajuda a entender o tamanho desses microrganismos, fazendo um exercício mental: em um milímetro cúbico pode haver nove trilhões de células de bacilos, que são as de formas alongadas. Outra curiosidade é que em um grama de fezes humanas frescas podem existir 1011 bactérias. Muitas destas, com um potencial incrível de contaminar uma praia e ou um alimento. Veja que a expressão “tamanho não é documento” se aplica bem para as bactérias que são pequenas, sim, mas muito importantes no nosso cotidiano.

Já que sabemos o porte delas, vamos estudar, a seguir, o que é uma célula bacteriana, suas estruturas e funções.

Como você sabe, as bactérias são células procarióticas, de estrutura bastante simples, se comparadas com as células eucarióticas das plantas, animais e fungos. As células das bactérias apresentam apenas um cromossomo, que não é envolto por membranas. Outra característica interessante é que a reprodução delas é assexuada, não envolvendo a presença de gametas e os processos tradicionais de mitose e meiose, que você já estudou em outras disciplinas deste curso. As mitocôndrias e cloroplastos, que são organelas mais evoluídas, não ocorrem nas bactérias. Esses organismos, no entanto, apresentam parede celular, membrana plasmática e ribossomos mergulhados no citoplasma. Algumas têm flagelos, que são estruturas ligadas à locomoção e outras possuem pelos. Essas diferenças veremos a seguir, quando ressaltaremos as diferentes estruturas desses microrganismos.

2.1.1 Formas das bactérias

Há cinco formas de células bacterianas: cocos, bacilos, espirilos, espiroquetas e vibriões (Figuras 2.1 e 2.2). Os cocos são, em geral,

- **Espiroquetas**
- São bactérias em forma
- de espiral. Além dessa
- particularidade, são
- relativamente longas, finas,
- flexíveis e se movimentam
- por rotação e flexão. As
- espiroquetas são bactérias
- anaeróbias Gram-negativas.

redondos ou levemente ovais e achatados. Como exemplos dessas formas podemos citar os gêneros *Streptococcus* e *Staphylococcus*, que possuem grande importância médica e alimentar.

Antraz

O antraz é uma doença infecciosa aguda causada pelo *Bacillus anthracis*, formador de esporos. Ocorre mais frequentemente em animais selvagens e domésticos, porém, o antraz pode, também, ocorrer em humanos, que são expostos aos animais infectados ou à pele de animais infectados. Como uma arma biológica, pode ser facilmente espalhada através da pulverização de plantações, sistemas de distribuição de ar e espaços fechados.

Os bacilos são formas alongadas, parecendo bastões ou bastonetes, que também são nomes usados para descrevê-los. Há vários exemplos de microrganismos nesse grupo como *Escherichia coli*, que é uma das bactérias mais estudadas no mundo, pelas questões ambientais, em análises de água, e pelo seu potencial de ser patogênica. As dimensões de *E. coli* são 1µm de largura por 3µm de comprimento. O gênero *Bacillus* possui várias espécies importantes na microbiologia. Você já deve ter ouvido falar no **antraz**, que é uma doença causada por *Bacillus anthracis*, e é perigoso na fabricação de armas biológicas.

As formas espiraladas e espiroquetas, menos comuns do que as de cocos e bacilos, são alongadas e são importantes em estudos de meio ambiente. Um exemplo de espirilo é *Rhodospirillum rubrum* e de espiroqueta temos *Spirochaeta stenostrepta*.

Uma forma interessante, que parece um chapéu de cangaceiro nordestino, e é muito importante na área da saúde é o vibrião,

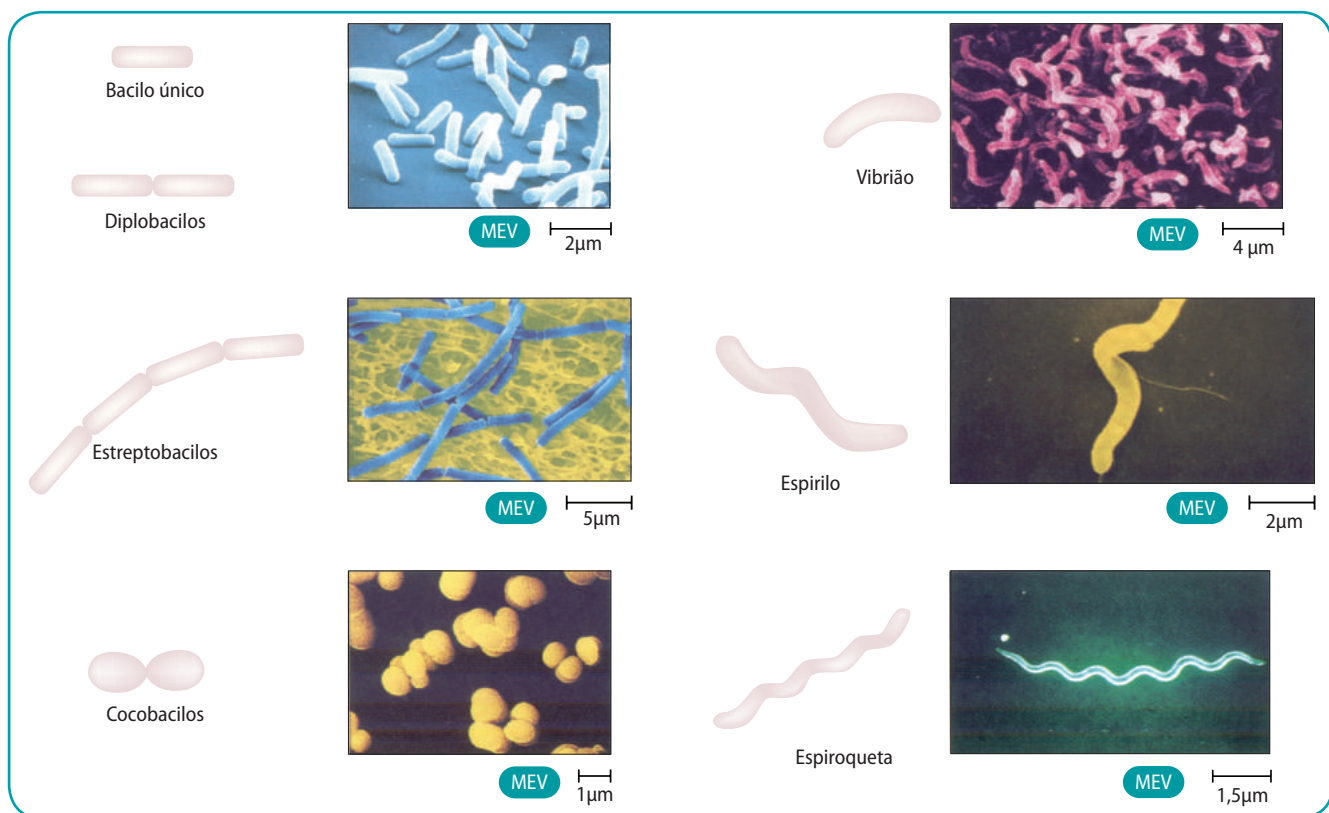


Figura 2.1. Formas de bactérias. FONTE: Modificado de Tortora et al. (2000, p. 79).

que lembra um bacilo arredondado. *Vibrio cholerae* é a causadora da cólera, que mata milhares de pessoas em áreas com baixa estrutura sanitária.

2.1.2 Arranjos bacterianos

As bactérias podem estar isoladas ou em arranjos. Os principais arranjos ocorrem em cocos. Quando dois cocos coexistem chamamos esse agrupamento de diplococos. É o caso de *Streptococcus pneumoniae*, causadora da pneumonia em seres humanos. Uma fileira ou cadeia de cocos é chamada de estreptococos e acontece em *Streptococcus pyogenes*, outra bactéria que causa infecções em pessoas. Um cacho de cocos, os estafilococos, aparece, por exemplo, em *Staphylococcus aureus*, que é muito importante em estudos de infecção hospitalar e em intoxicação alimentar.

Outras formas menos comuns de cocos são as tétrades, com quatro cocos, e as sarcinas, que parecem uns cubos ou caixas de oito células.

Em bacilos, quando ocorre a divisão celular, podem ocorrer diplobacilos. Os estreptobacilos são fileiras de bacilos.

Como na natureza existem curiosidades e exceções às regras, há formas e arranjos de células em estrelas, como é o caso do gênero *Stella*. Células quadradas ocorrem no gênero *Haloarcula*.

Em geral, as formas e arranjos das bactérias são características hereditárias e apresentam o seu próprio tipo. Entretanto, há casos não muito comuns em que uma espécie pode ter várias formas, modificadas por questões ambientais. Os gêneros *Rhizobium* e *Corynebacterium*, por exemplo, apresentam **pleomorfismo** e podem variar na natureza. Essas duas bactérias são importantes na área de microbiologia do solo e assuntos ligados à agronomia e biologia.

2.2 Estruturas externas e internas das células bacterianas

Podemos distinguir em uma bactéria estruturas externas, que serão descritas a seguir, e as estruturas internas, que você verá

A cólera é uma doença infecciosa aguda, transmissível e perigosa, caracteriza-se por uma infecção intestinal grave, podendo levar à morte em decorrência da desidratação. A bactéria causadora é o vibrião colérico ou *Vibrio cholerae*, em forma de vírgula, móvel, que se desenvolve no intestino humano e produz a toxina responsável pela doença. O vibrião colérico foi descoberto em 1883, por Robert Koch, cientista inglês, um dos pais da microbiologia. O agente etiológico da cólera é encontrado nas fezes das pessoas infectadas. O contágio é direto, através da água e dos alimentos contaminados. As moscas e outros insetos podem funcionar como vetores mecânicos, transportando o vibrião para a água e para os alimentos. O homem chega a eliminar milhões de bactérias por grama de fezes.

Pleomorfismo

a bactéria que não apresenta uma morfologia única, mesmo que se encontre em condições favoráveis à sua sobrevivência.

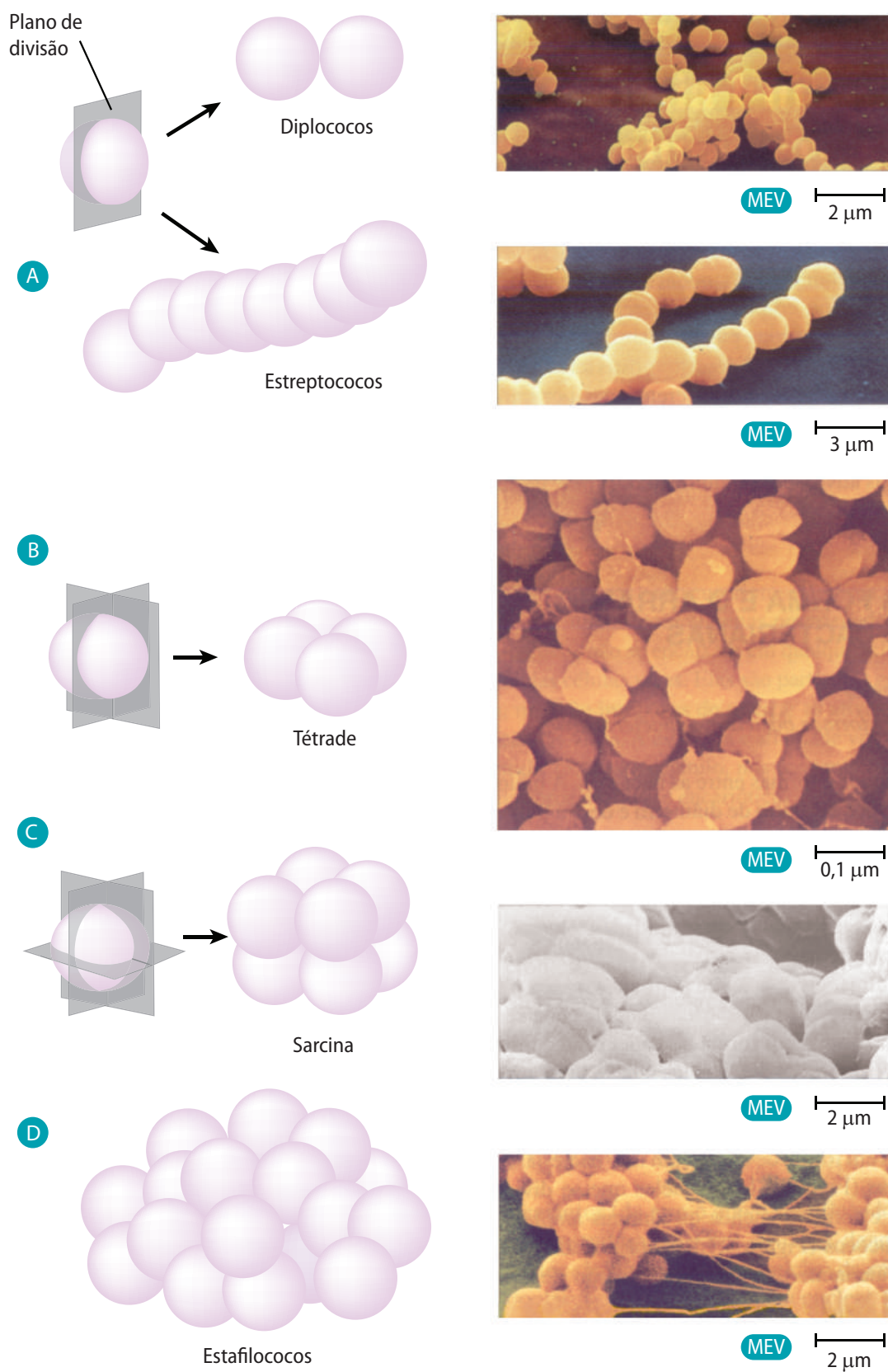


Figura 2.2. Arranjos de cocos. FONTE: Modificado de Tortora et al. (2000, p. 78).

posteriormente. A figura 2.3 mostra o desenho básico de uma bactéria contendo o nome de suas estruturas.

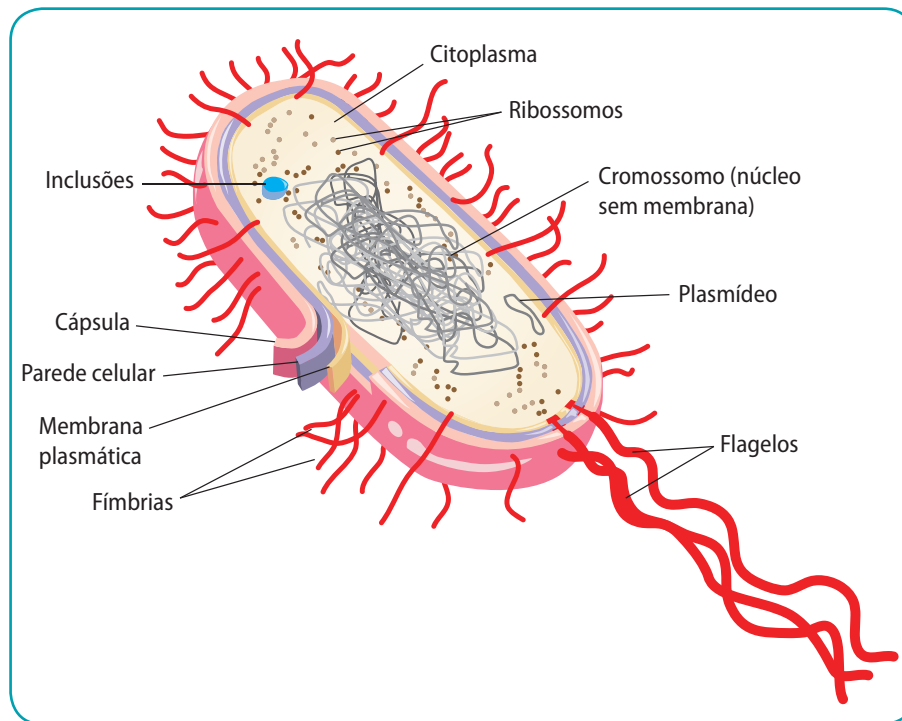


Figura 2.3. Estruturas da bactéria. FONTE: Modificado de Tortora et al.. (2000, p. 80).

2.2.1 Estruturas externas

Na parte externa há os flagelos, pili, fimbrias e a cápsula ou glicocálix.

Flagelos

Você já pensou que uma bactéria pode nadar? Os flagelos (Figura 2.4) são compostos de proteínas chamadas flagelinas e têm tamanhos de $5\text{-}20\mu\text{m} \times 0,01\text{-}0,02\mu\text{m}$. Sua função é de locomoção, fazendo com que as células nadem em meio líquido, através da rotação de uma base e que se propaga pelo flagelo. Quando a célula bacteriana vai ao encontro da luz e de alguma substância química, dizemos que ela tem fototaxia e quimiotaxia positivas, respectivamente. Pode ocorrer o contrário e elas fugirem de luz ou químicos e então, nesse caso, dizemos que esses efeitos são negativos.

Nem todas as bactérias têm e algumas apresentam até mais do que um flagelo por célula. Os flagelos monotríquios são os do tipo de apenas um polar, os anfitriquios têm duas unidades polares, os

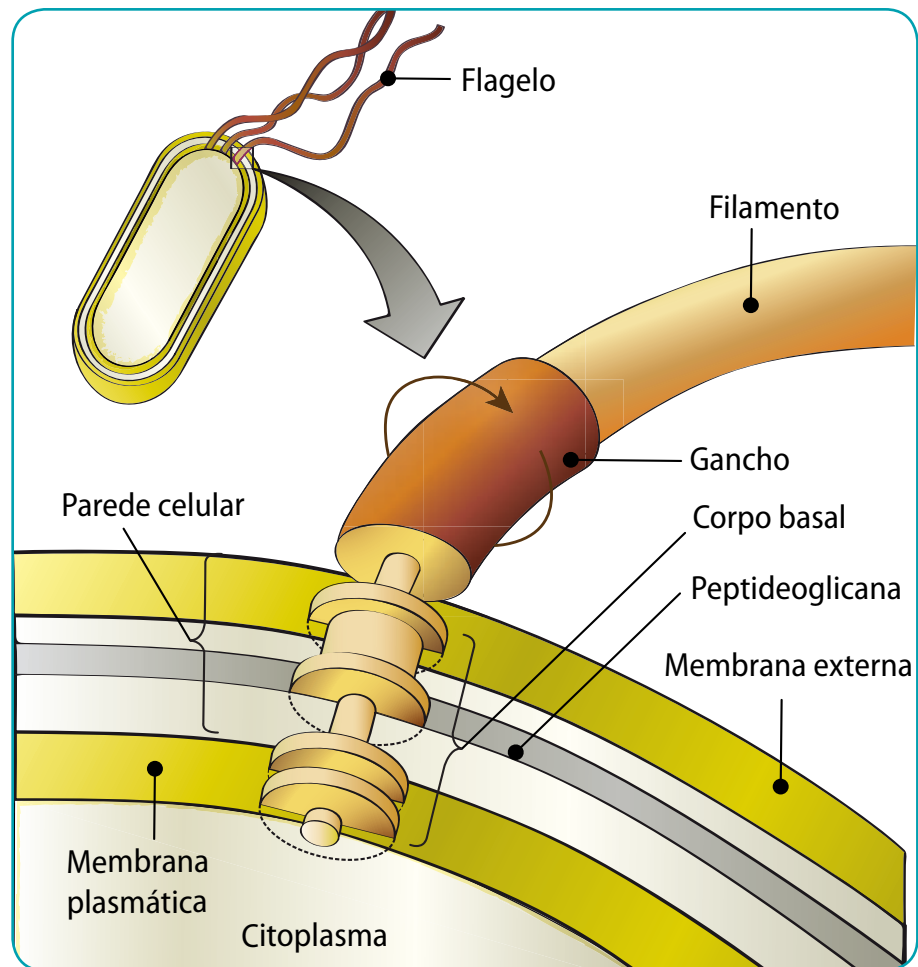


Figura 2.4. Partes do flagelo. FONTE: Modificado de Tortora et al. (2000, p. 83).

lofotríquios têm dois ou mais flagelos em um pólo, e os peritríquios são os distribuídos em toda a célula.

Exemplos de bactérias que têm flagelos são algumas espécies dos gêneros *Pseudomonas* e *Vibrio*. *Helicobacter pylori*, uma bactéria que pode formar úlceras no estômago humano, *Caulobacter crescentus*, que hoje em dia é estudada na fabricação de colas cirúrgicas, e *Escherichia coli* são outros exemplos interessantes de microrganismos que têm essas estruturas.

Pili e fímbrias

São também filamentos proteicos, bastante finos, e de tamanhos que variam de 0,1-5µm x 2-10nm. Pili são maiores e menos numerosos que as fímbrias. Em geral, essas estruturas ocorrem principalmente em células **Gram negativas**. As funções dessas pequenas estruturas (pili) estão associadas à reprodução, através da

A técnica de Gram ou coloração de Gram é uma técnica de coloração de preparações histológicas para observação ao microscópio óptico, utilizada para corar diferencialmente microorganismos com base na composição química e integridade da sua parede celular. Consoante a cor que adquirem, são classificados em gram positivos (roxo) ou gram negativos (vermelho). Tal método se deve ao médico dinamarquês Hans Christian Joachim Gram (1853-1938). Geralmente as bactérias "gram negativo" são mais patogênicas e possuem lipopolissacarídeos na sua membrana exterior que agravam a infecção.

passagem de material genético de uma célula para outra, no processo chamado conjugação. Outra função é a de aderência (fímbrias), que ajuda na fixação celular em um tecido que vai infectar ou causar doença, como no caso de *Neisseria gonorrhoea*, agente da gonorreia, bastante importante em países tropicais e de baixas condições de higiene. A *Salmonella typhi*, uma bactéria que causa infecções e intoxicações alimentares também apresenta muitas fímbrias. A *Escherichia coli*, que é muito numerosa no intestino de seres humanos e de animais de sangue quente, pode ter pili e fímbrias (Figura 2.3).

Cápsula ou Glicocálix

Em algumas células ocorre essa camada de constituição aquosa e de polissacarídeos. As suas funções estão associadas à proteção (dessecação e barreira contra metais pesados, por exemplo), reserva de alimentos e aderência em alguma superfície que seja do interesse da bactéria. Exemplos de microrganismos que têm cápsulas são *Bacillus anthracis*, já citada anteriormente por ser utilizada na fabricação de armas biológicas, e *Xanthomonas campestris*, que secreta polissacarídeos com grande potencial na indústria de alimentos, como agentes solidificantes e **espessantes naturais**.

Os espessantes naturais são carboidratos naturais (goma microbiana xantana, entre outras) responsáveis pelo aumento da viscosidade de soluções em alimentos. A goma xantana, quando associada com outras gomas proporciona textura lisa e cremosa, sendo utilizadas para a fabricação de molhos para saladas, bebidas, geleias, produtos cárneos, enlatados e sopas.

2.2.2 Estruturas internas

Parede celular

Essa camada de grande importância para a célula apresenta uma espessura de 10 a 100nm e corresponde a cerca de 10 a 40% do peso bacteriano. Sua constituição é de uma rede macromolecular de peptidoglicano, também conhecido como mureína. O peptidoglicano é um polímero insolúvel rígido, composto de acetilglicosamina, ácido acetilmurâmico e peptídeo. A função básica da parede celular é proteção e sustentação da célula. Há também várias enzimas localizadas nela que são de suma importância no metabolismo celular.

Em 1884, um cientista dinamarquês chamado Christian Gram descreveu um método de coloração celular que separa

as células em dois grandes grupos de bactérias: Gram positivas e Gram negativas.

A parede celular das bactérias Gram positivas é mais grossa (30-100nm) e apresenta uma aparência mais uniforme no microscópio eletrônico. Exemplos de células Gram positivas são as dos gêneros *Streptococcus* e *Staphylococcus*, cocos, já citados anteriormente. A parede celular das células Gram negativas tem espessura que varia de 20 a 30nm e apresenta camadas bastante distintas no microscópio eletrônico, uma de peptidoglicano mais fino e outra de uma membrana celular externa, que não existe nas Gram positivas. Exemplos de bactérias Gram negativas são *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, esta última muito ligada a estudos de microbiologia ambiental e da saúde, já que pode também ser patogênica para seres humanos.

Membrana citoplasmática e Mesossoma

A membrana citoplasmática tem uma espessura de apenas 7-8nm e é composta de unidades de lipídeos com fósforo e proteínas (Figura 2.5). Suas funções são ligadas à permeabilidade seletiva da célula

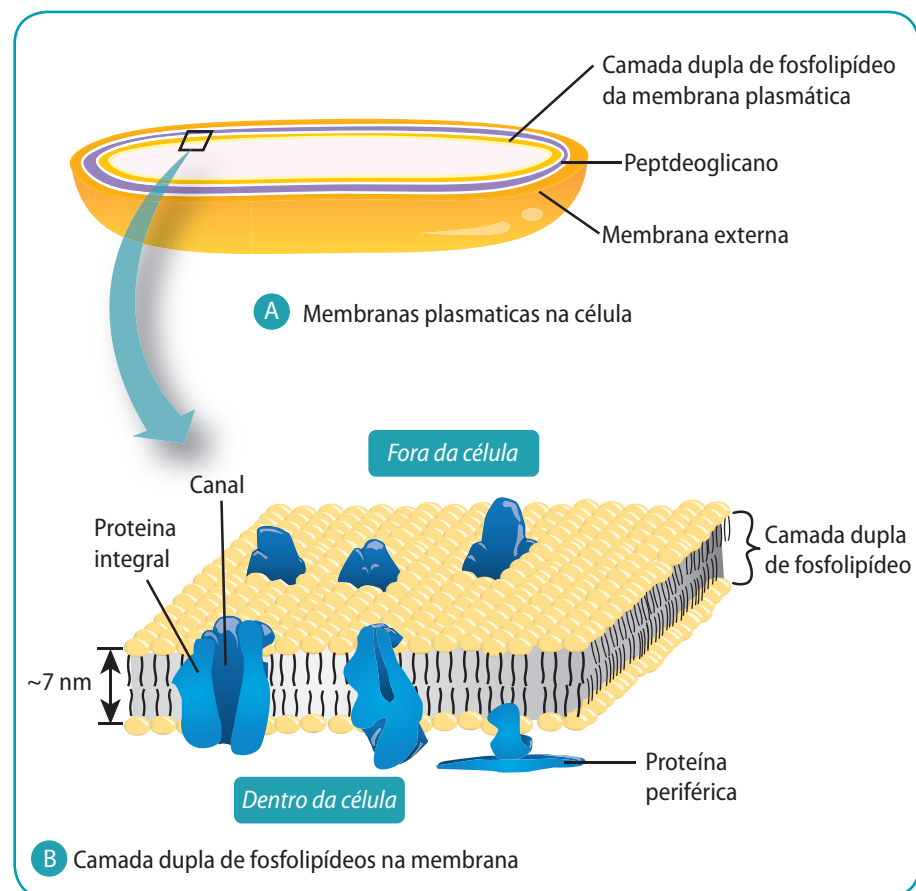


Figura 2.5. Detalhes da membrana celular. FONTE: Modificado de Tortora et al. (2000, p. 90).

e a localização de enzimas do metabolismo celular. Vale lembrar o que significa a palavra osmose, que é a passagem do meio menos concentrado para o mais concentrado. Em outras palavras, a membrana plasmática, através de mecanismos internos onde entram os íons sódio e potássio, faz com que haja um controle do que entra ou sai da célula. Se uma bactéria estiver mergulhada numa solução muito concentrada a tendência dessa célula é murchar. Se ela estiver numa solução com poucos sais, ela tende a inchar com o aumento de água. Esses controles são fundamentais na célula e funcionam até certo ponto.

Os mesossomas são invaginações da membrana citoplasmática e apresentam basicamente as mesmas funções desta última.

Citoplasma

Abaixo da membrana citoplasmática há o citoplasma, que é um meio aquoso, com cerca de 80% de água, onde estão mergulhados os ribossomos, o cromossomo, íons, nutrientes, grânulos e compostos diversos produzidos no metabolismo celular. Em algumas células há cristais que são tóxicos para alguns insetos, é o caso da bactéria *Bacillus thuringiensis*, que é bastante estudada no controle biológico de pragas na agricultura. Outro exemplo curioso é a presença de partículas de magnetita, compostos de ferro, em certas bactérias aquáticas que podem ser atraídas pelo campo magnético. Essas estruturas são chamadas de magnetossomos.

Cromossomo

A célula bacteriana tem apenas um cromossomo que, em linhas gerais, é uma longa fita ou molécula enrolada. Esse material, também chamado de nucleóide, contém os genes, que são pequenos segmentos ou frações, onde estão localizadas as informações genéticas da bactéria. Diferentemente dos organismos eucariontes, o cromossomo bacteriano não tem membrana nuclear, como você já estudou anteriormente, e tem DNA em sua constituição. Em adição ao cromossomo único, em certas bactérias, há um pequeno

Você sabia que o Mar Morto, na divisa de Israel e Jordânia, não é totalmente morto? Nesse inóspito lugar, numa depressão geológica, e que quase não chove, há poucas espécies de bactérias que estão ainda vivendo, quase chegando aos seus limites de sobrevivência. Vale lembrar que a água desse mar está diminuindo e ficando mais salgada, pela grande utilização de fontes que o abastecem para irrigação e intensa evaporação. Até quando essas bactérias vão resistir?

DNA circular, que é chamado de plasmídeo. Eles apresentam de 5 a 100 genes, que são ligados à sobrevivência a certos fatores ambientais. Esses plasmídeos são também importantes na reprodução celular, como apresentado na parte de genética deste livro.

Ribossomos

São estruturas arredondadas de cerca de 0,0025 µm de diâmetro e compostos de RNA e proteínas. São locais onde são sintetizadas as proteínas da célula, a partir de informações contidas no material genético, o cromossomo, e estão, também, mergulhados no citoplasma. Os ribossomos são descritos pela sua taxa de sedimentação em centrífugas, através da unidade **Svedberg (S)**. Os ribossomos de células procarióticas são denominados 70S e os de células eucarióticas 80S. Vários **antibióticos** atuam na inibição na síntese protéica, através da fixação dessas substâncias nas unidades 30S. É o caso de estreptomicina e gentamicina.

Endósporos

Algumas bactérias dos gêneros *Clostridium* e *Bacillus*, por exemplo, formam estruturas de repouso chamadas de esporos ou endósporos. Elas são bastante resistentes e podem permanecer vivas até mesmo em água fervente por alguns minutos. Por apresentarem material genético, podem germinar e produzir novas células que foram parcialmente destruídas pela ação de algum fator físico ou químico. Por essa razão, esses microrganismos são muito importantes na indústria de alimentos, onde, em alimentos enlatados ou vidros, podem resistir e contaminar pessoas que consumiram tais produtos. No caso do *Clostridium botulinum*, há uma doença associada, chamada botulismo, que pode matar pessoas pelo efeito de sua toxina, que ataca os músculos e deixa os que ingeriram essa substância com aparência retorcida. Curiosamente, essa mesma toxina, que pode matar, pode ser usada na fabricação de botox, que é um produto feito com baixas concentrações, e que são aplicados na região da face de pessoas. O seu efeito é o de esticar a pele, dando uma aparência mais jovial a quem a recebeu.

Svedberg (S)

Svedberg (S) é uma medida da taxa de sedimentação de uma partícula em uma centrífuga, onde a taxa de sedimentação é associada com o tamanho da partícula e sua forma tridimensional.

Antibiótico

substância química produzida por um microrganismo para controlar outro microrganismo, podendo eliminá-lo ou inibi-lo.

2.3 Genética bacteriana

A genética é a ciência que estuda as características herdadas de um organismo para outro, bem como as mudanças que ocorrem nessas informações e que podem ser transmitidas para outros descendentes. Como você já estudou na disciplina específica deste curso, a genética aborda o genótipo, que é a composição genética de um organismo, e o fenótipo, que é o conjunto de características observáveis em dado momento, podendo ser modificado pelo meio ambiente.

A genética é uma das áreas do conhecimento biológico que mais cresce atualmente e é, também, abordada em várias outras disciplinas como, por exemplo, a biotecnologia e a bioinformática. Com certeza você já ficou maravilhado com os produtos e potencialidades da engenharia genética em nosso cotidiano. O estudo da genética tem se desenvolvido muito graças aos microrganismos que, em linhas gerais, crescem muito mais rápido que outros organismos maiores. Vale lembrar que muitos dos princípios de genética de uma bactéria, por exemplo, podem ser extrapolados para outros seres vivos mais evoluídos, incluindo células humanas.

Por essa razão, em termos aplicados, a genética bacteriana será abordada neste capítulo, salientando e lembrando alguns conceitos que você já estudou em outras disciplinas.

2.3.1 Material genético da bactéria

A célula bacteriana, um organismo procarionte de estrutura bastante simples, se comparado com células eucariontes, de fungos, animais e vegetais, por exemplo, tem apenas um cromossomo enrolado, parecendo um fio de telefone, haploide (n), e mergulhado no citoplasma formando uma fita dupla tipo escada. O DNA da bactéria *Escherichia coli*, que é a mais estudada no mundo, tem cerca de quatro milhões de pares de bases e teria cerca de 1mm de comprimento se alongado, o que representa, aproximadamente, mil vezes o tamanho de sua célula e tem ao redor de 10% do peso microbiano. Algumas bactérias podem ter um cromossomo circular extra, menor, chamado de plasmídeo e que tem vários genes de resistência da célula.

2.3.2 Replicação do DNA

Antes de a célula se dividir, a bactéria precisa replicar o material genético contido nos genes, que são fragmentos do cromossomo (Figura 2.6, Figura 2.7 e Figura 2.8). A replicação bacteriana é um processo semiconservativo em que uma nova fita vai sendo produzida, a partir de uma mais velha. Na primeira etapa da replicação, as duas fitas se separam e são desenroladas pela enzima DNA girase. Depois, outra enzima chamada DNA polimerase vai adicionando novas bases nitrogenadas aos pedaços e a nova fita vai sendo formada até o final do processo. As bases nitrogenadas que se ligam são: Timina (T) com Adenina (A), e Citosina (C) com Guanina (G). A enzima DNA ligase é a última a atuar e faz com que a fita nova seja contínua. Cada molécula de DNA de fita dupla terá uma fita vinda da bactéria mãe (original) e outra da filha (fita nova formada).

2.3.3 Transcrição, tradução e síntese de proteínas

Como já vimos, o gene é um fragmento do DNA que contém uma sequência de nucleotídeos para sintetizar uma proteína. A partir da informação do DNA, ocorrem dois processos que vão culminar na síntese de proteínas: a transcrição e a tradução.

Na transcrição, a enzima RNA polimerase, de forma semelhante ao que ocorre na replicação do DNA, sintetiza uma fita de RNA a partir de uma de DNA. A diferença, nesse caso, é que a base nitrogenada Timina (T) se liga com outra base chamada Uracila (U). A ligação das bases Citosina (C) e Guanina (G) ocorrem de forma parecida na duplicação do DNA.

Dessa forma, a informação do gene é copiada para uma molécula de RNA mensageiro (mRNA), no processo de transcrição. Esse mRNA transporta as informações da área nuclear para os ribossomos, no citoplasma, onde são feitas as proteínas. Os ribossomos são constituídos de proteínas e RNA ribossômico (rRNA). Outro termo estudado nessa parte é o do RNA transportador (tRNA), que carrega os aminoácidos para o ribossomo.

O código genético é formado por unidades chamadas códon. Cada códon é constituído de três letras, correspondentes às bases

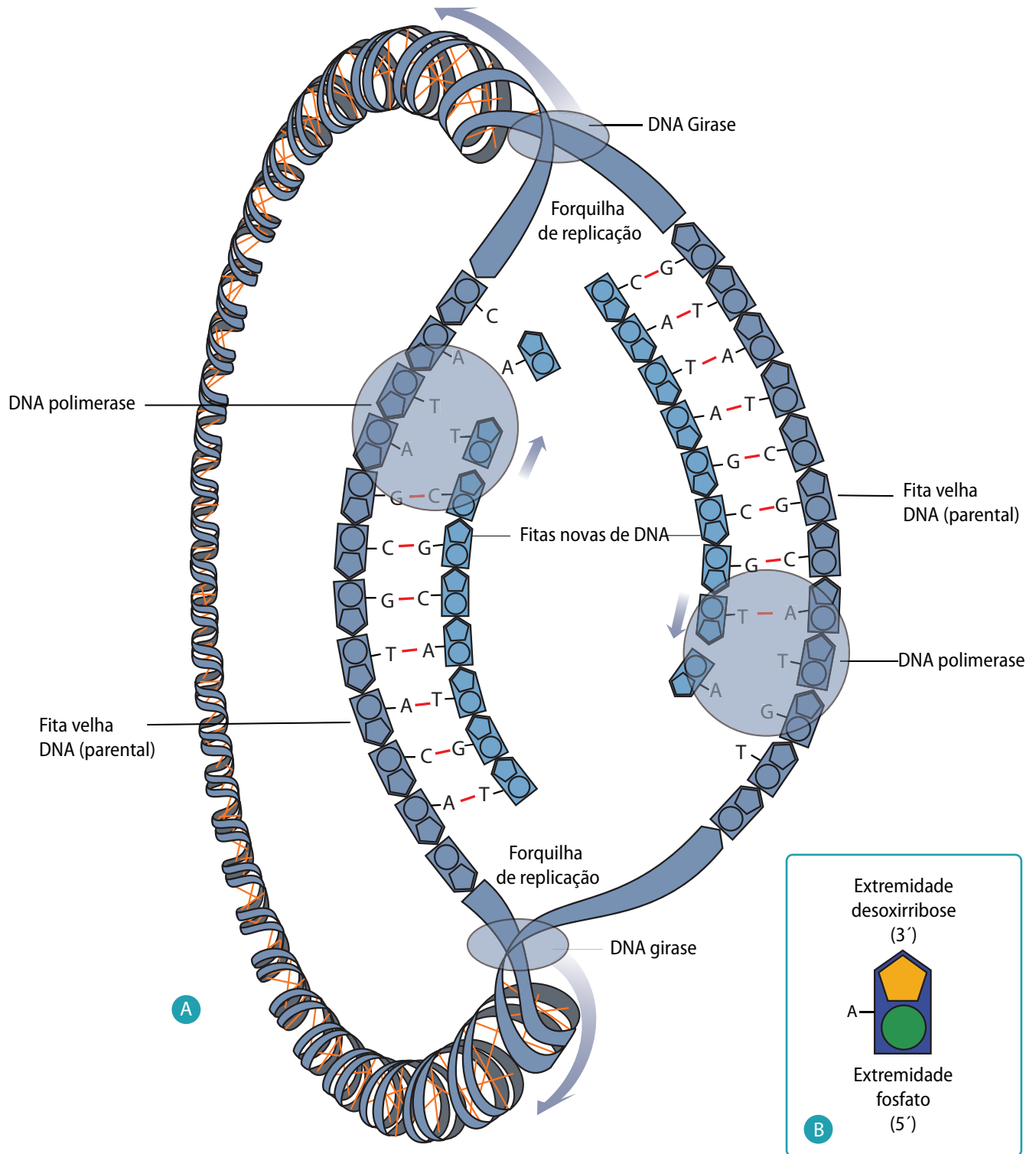


Figura 2.6. Processo de divisão do cromossomo. FONTE: Modificado de Pelczar et al. (1996).

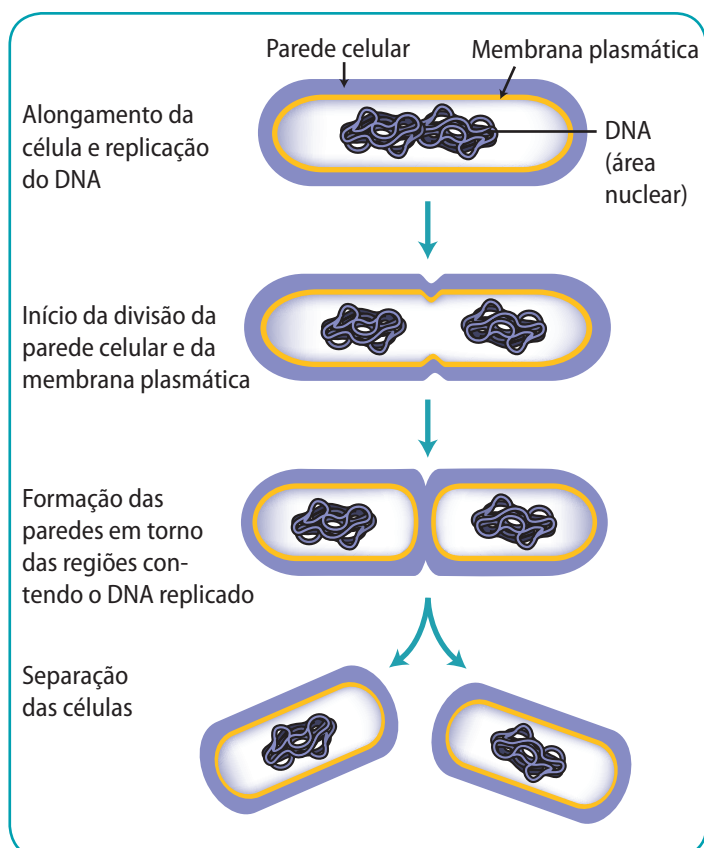


Figura 2.7. Divisão da bactéria. FONTE: Modificado de Tortora et al. (2000, p. 169).

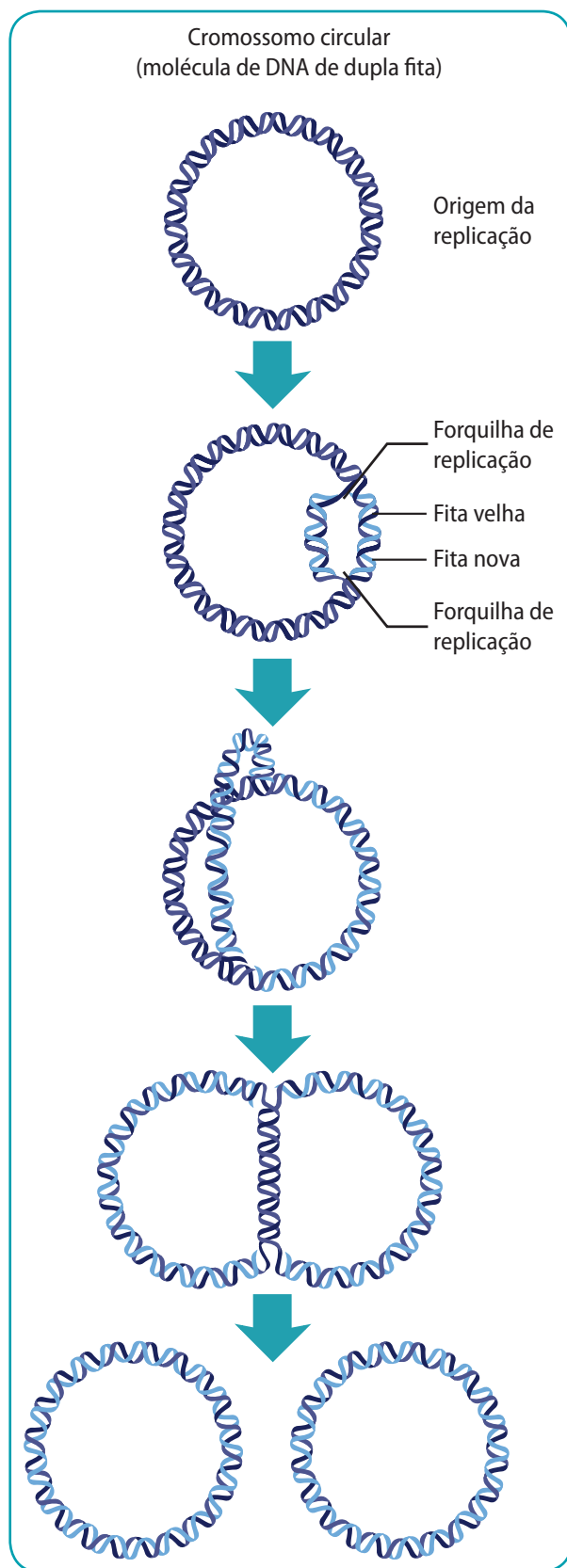


Figura 2.8. Duplicação do cromossomo. FONTE: Modificado de Pelczar et al. (1996).

nitrogenadas. AUG, por exemplo, é um códon que codifica o aminoácido metionina e dá início ao processo da mensagem. Mais de um códon pode codificar um aminoácido. Há 64 códons, sendo que 61 codificam aminoácidos e 3 não, esses dão sinais de interrupção da tradução.

Em resumo, a tradução é o processo em que a informação codificada do mRNA orienta a sequências dos aminoácidos e as respectivas proteínas.

2.3.4 Mutação e Recombinação do material genético

Normalmente quando você ouve falar em genética logo vem à mente as informações hereditárias que são passadas de uma geração para outra. Essa primeira parte foi abordada até aqui. Mas, como vimos na definição, a genética também estuda as variações ou alterações nas células microbianas. Há dois tipos básicos de alterações celulares: as fenotípicas, que são causadas por algum fator do meio ambiente, e as genotípicas, no material genético. Um exemplo interessante de alteração fenotípica é o causado pela sacarose em bactérias do gênero *Azomonas*. Quando o meio está rico em sacarose, as suas colônias são grandes e viscosas. Na sua ausência, elas são pequenas e não são viscosas.

As mudanças genotípicas mais complexas podem ocorrer de duas formas: mutação e recombinação. As mutações são alterações na sequência de bases nitrogenadas do DNA, dando um produto que pode ser muito diferente do material genético original. Elas podem ser benéficas ou maléficas, dependendo do caso. As recombinações, como o próprio nome diz, são processos que levam a uma nova combinação de genes de um cromossomo.

Agentes mutagênicos são aqueles que causam alterações no DNA e que podem ser transmitidos para os descendentes das células afetadas. Alguns exemplos desses agentes são: substâncias químicas nitrogenadas, compostos em fumaças de cigarro, antibióticos e radiações UV (ultravioleta) e ionizantes; essas últimas de comprimentos de onda menores como os raios-x e raios gama. Alguns agentes mutagênicos podem ser, também, cancerígenos, desencadeando crescimento desordenado de células. O teste de Ames é um exame para identificar possíveis agentes carcinogênicos em bactérias sensíveis.

As recombinações genóticas, conforme já mencionado, são rearranjos de material genético dando novas combinações aos produtos obtidos. Há nas bactérias três tipos básicos de recombinação: transformação, conjugação e transdução.

A transformação ocorre quando um fragmento de material genético de uma célula passa para outra, sendo incorporada no cromossomo da segunda (Figura 2.9). Na natureza, pedaços de um cromossomo de célula que foi lesada, por exemplo, podem ser reabsorvidos por uma célula viva, passando a fazer parte do cromossomo da segunda. Esse processo pode ocorrer naturalmente em várias bactérias dos gêneros: *Bacillus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Acinetobacter* e *Neisseria*. A *Escherichia coli* é bastante usada em processos de transformação laboratorial, que irão fornecer condições para trabalhos de engenharia genética.

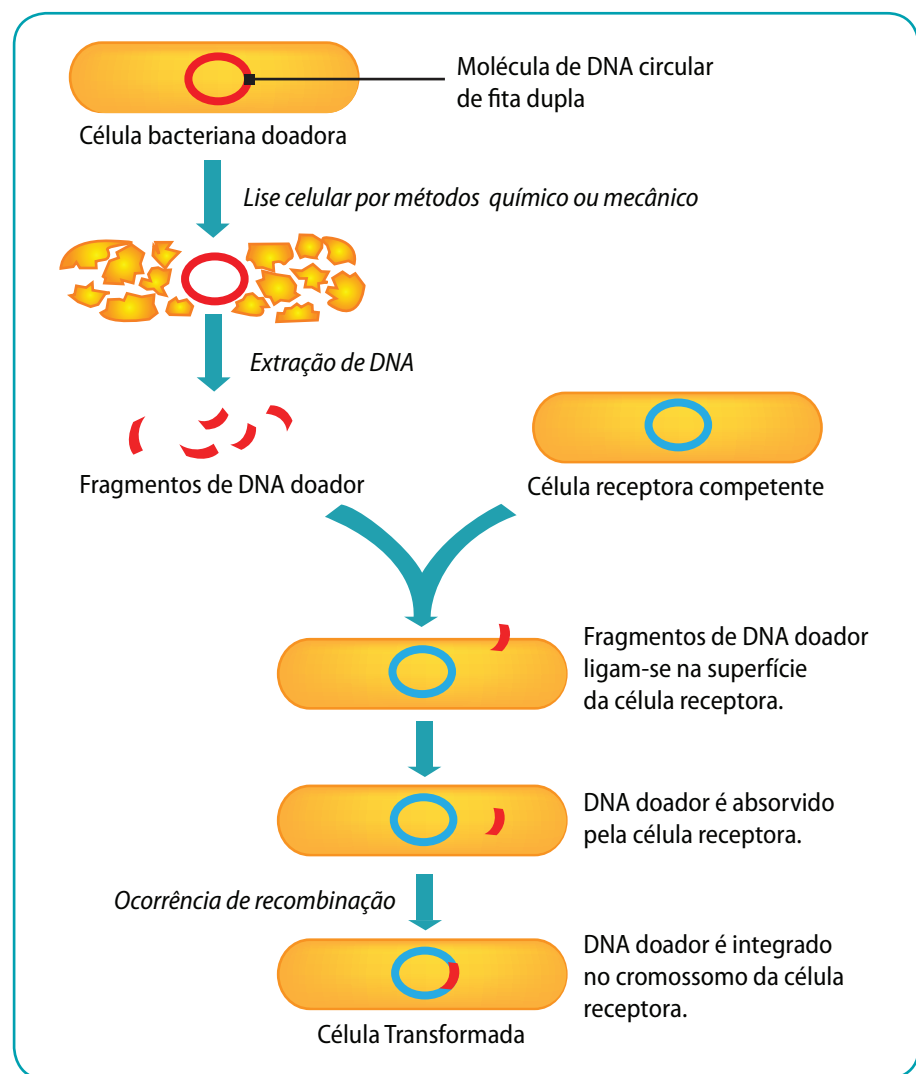


Figura 2.9. Transformação bacteriana.
FONTE: Modificado de Pelczar et al.
(1996, p. 346).

A conjugação ocorre quando o material genético de uma célula bacteriana é transferido para outra (Figura 2.10). Esse processo ocorre pela ação de pilis sexuais que aproximam as células, que uma vez aderidas, formam um canal através do qual é transferida a informação genética. Normalmente, o material vem de plasmídeos e é feito entre células doadoras e receptoras. A *Escherchia coli* é um bom exemplo de organismo onde são realizados experimentos de transferência de genes. O termo fator F (fator de fertilidade) é aquele que apresenta a capacidade de transferir material de um organismo para outro. F⁺ (doador), F⁻ (receptor). O termo Hfr é o que descreve uma alta frequência de recombinação.

A transdução é o processo de transferência de material genético de uma célula para outra através da ação dos bacteriófagos estudados na parte de vírus (Figura 2.11). O material genético dos vírus é injetado na célula hospedeira da bactéria e esses são incorporados pelas células descendentes.

2.3.5 Genética e Biotecnologia

Desde os tempos remotos, os microrganismos têm sido úteis para a humanidade na fabricação de pães, cerveja, vinho, queijos, iogurtes e vários outros produtos. No passado, o termo biotecnologia englobava os processos fermentativos das células microbianas selecionadas. Estirpes mais adaptadas e produtivas foram desenvolvidas com o auxílio de mecanismos naturais de alterações genéticas discutidos aqui: mutações e recombinações (transformação, conjugação e transdução).

A biotecnologia moderna ampliou esse conceito e hoje em dia utiliza-se de novas ferramentas como, por exemplo, o DNA recombinante, que artificialmente manipula genes de origens diferentes para criar novos organismos. Os estudos de plasmídeos foram intensificados, e hoje, é possível pegar genes de uma bactéria, com uma determinada característica interessante, e introduzi-los no material genético de uma planta. A soja transgênica, hoje resistente a aplicação de **fungicida** graças à introdução de genes de bactérias do solo, é um exemplo dessa ideia bastante revolucionária. Outros exemplos interessantes na agricultura são bactérias do

- **Fungicida**
- Agente que controla fungos.

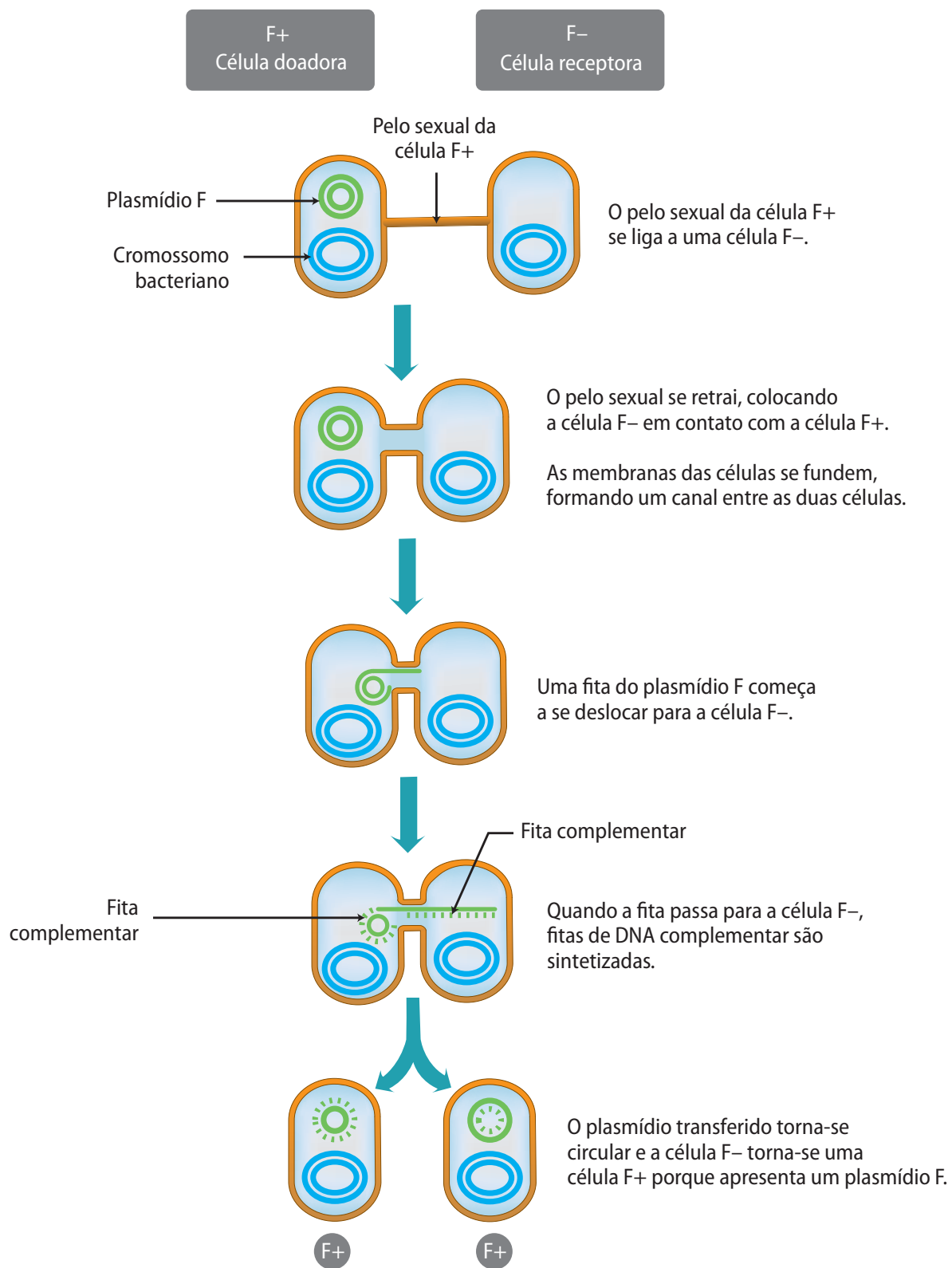


Figura 2.10. Conjugação bacteriana. FONTE: Modificado de Pelczar et al. (1996).

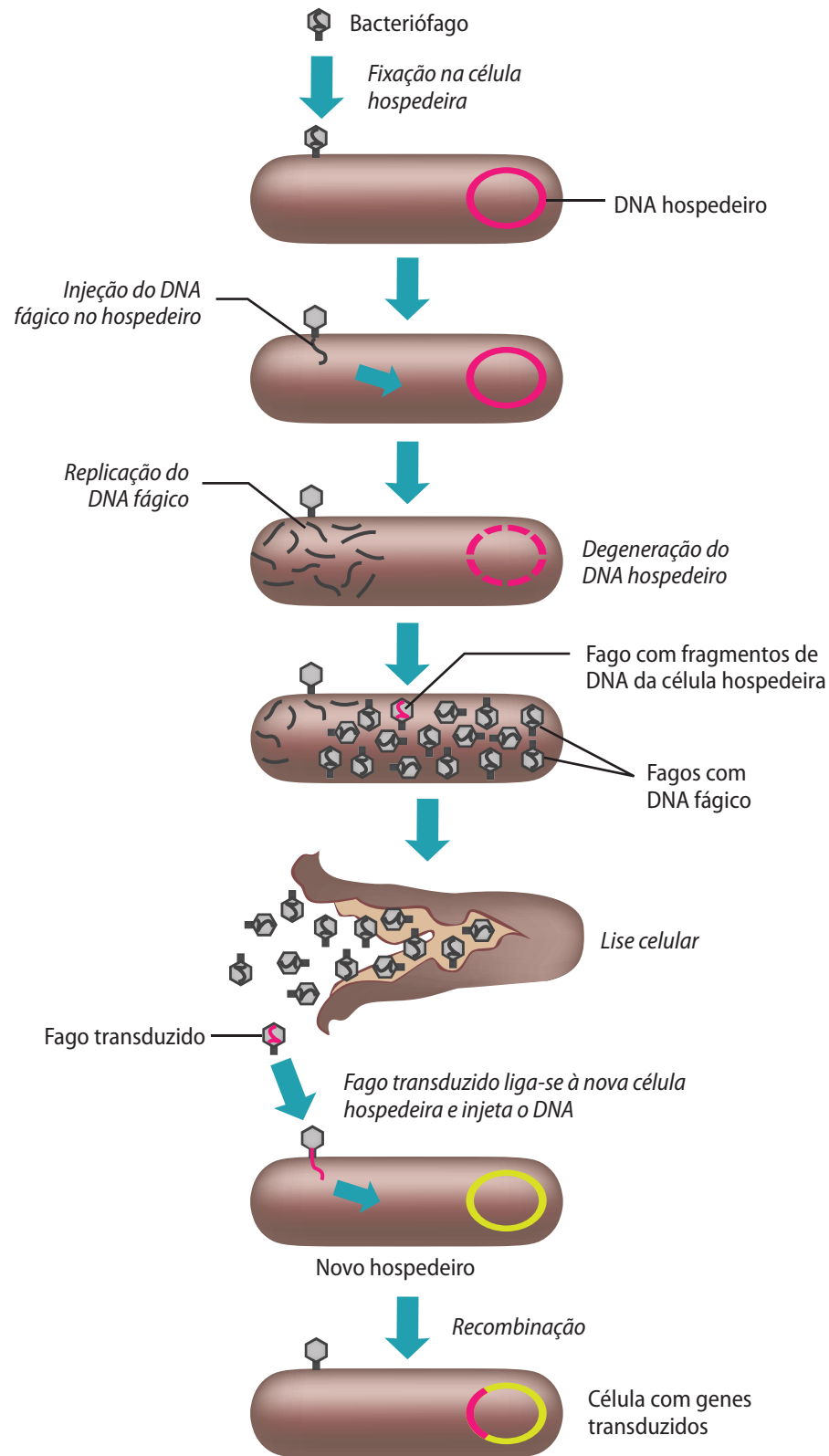


Figura 2.11. Transdução bacteriana. FONTE: Modificado de Pelczar et al. (1996, p. 346).

Interferons

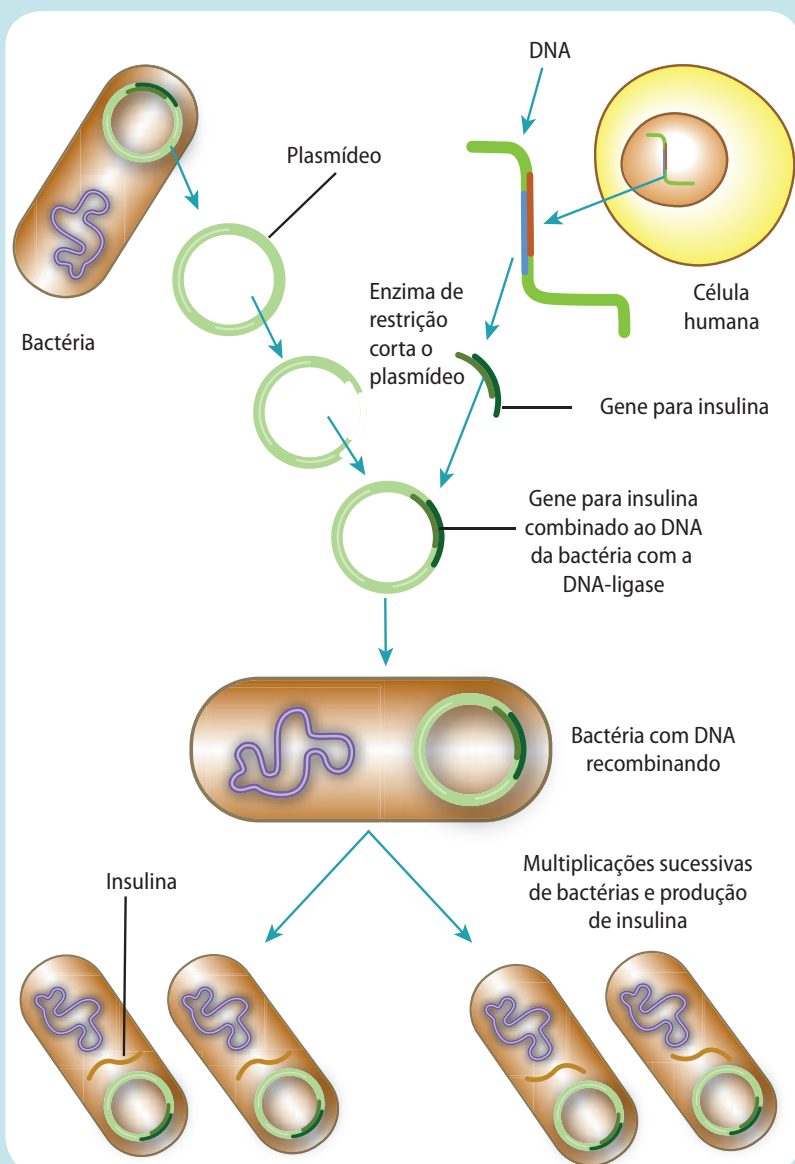
proteínas expressas por diferentes células humanas e sintetizadas como resposta a muitos agentes químicos e biológicos, eles atuam na proteção do organismo contra patógenos.

Taxol

produto vegetal utilizado no combate de câncer de ovário.

gênero *Rhizobium* e *Bradyrhizobium* que fixam melhor o nitrogênio do ar e são inoculadas em plantas leguminosas. A bactéria *Pseudomonas* foi modificada para produzir uma toxina de outra bactéria *Bacillus thuringiensis*, que combate insetos em plantas.

Outros exemplos de grande aplicação na indústria farmacêutica da engenharia genética são: insulina humana por *Escherichia coli*, **interferon** por *E. coli* e *Saccharomyces cerevisiae*, vacina contra hepatite B, por *S. cerevisiae*, **taxol**, por *E. coli*, hormônios de crescimento humano, por *E. coli*, entre tantos outros.



As bactérias possuem um DNA principal e um pequeno DNA circular, o plasmídeo. Com o auxílio de uma enzima de restrição, é possível abrir o plasmídeo e introduzir nele um fragmento de DNA de outra espécie, que pode ser de uma célula humana responsável por determinada proteína. Depois que recebe o novo fragmento de DNA, o plasmídeo torna-se um DNA recombinante, isto é, uma molécula formada pela união de duas ou mais moléculas de DNA não encontradas juntas na natureza. Esse DNA recombinante é introduzido na bactéria, que passa a produzir, por exemplo, uma proteína humana, como a insulina, hormônio secretado pelo pâncreas que controla a utilização da glicose pela célula. Esse hormônio está ausente nos indivíduos portadores de diabetes, que, por isso, apresentam deficiência na utilização da glicose, com sérias consequências para a saúde.

Figura 2.12. Esquema simplificado da produção de insulina humana por bactérias. FONTE: Modificado de <<http://www.portaimpacto.com.br/docs/01Rinaldo2ANOF2Aula24e25.pdf>>. Acesso em: 28/03/2010.

Ferramentas *in vitro* de modificações genéticas podem ser utilizadas para complementar as técnicas *in vivo*, como as mutações e recombinações. As mais modernas são: enzimas de restrição, sequenciamento e síntese de DNA, clonagem molecular, plasmídeos e bacteriófagos como vetores de clonagem (Figura 2.12), amplificação de DNA e mutagênese. As enzimas de restrição são as que reconhecem e quebram em locais específicos do DNA. Os vetores de clonagem são aqueles em que os genes podem ser recombinados e replicados. O termo transposon é bastante usado e significa um segmento de DNA que pode se mover de uma molécula para outra. Mutagênese é uma técnica onde um determinado gene de mutação pode ser sintetizado, de forma dirigida.

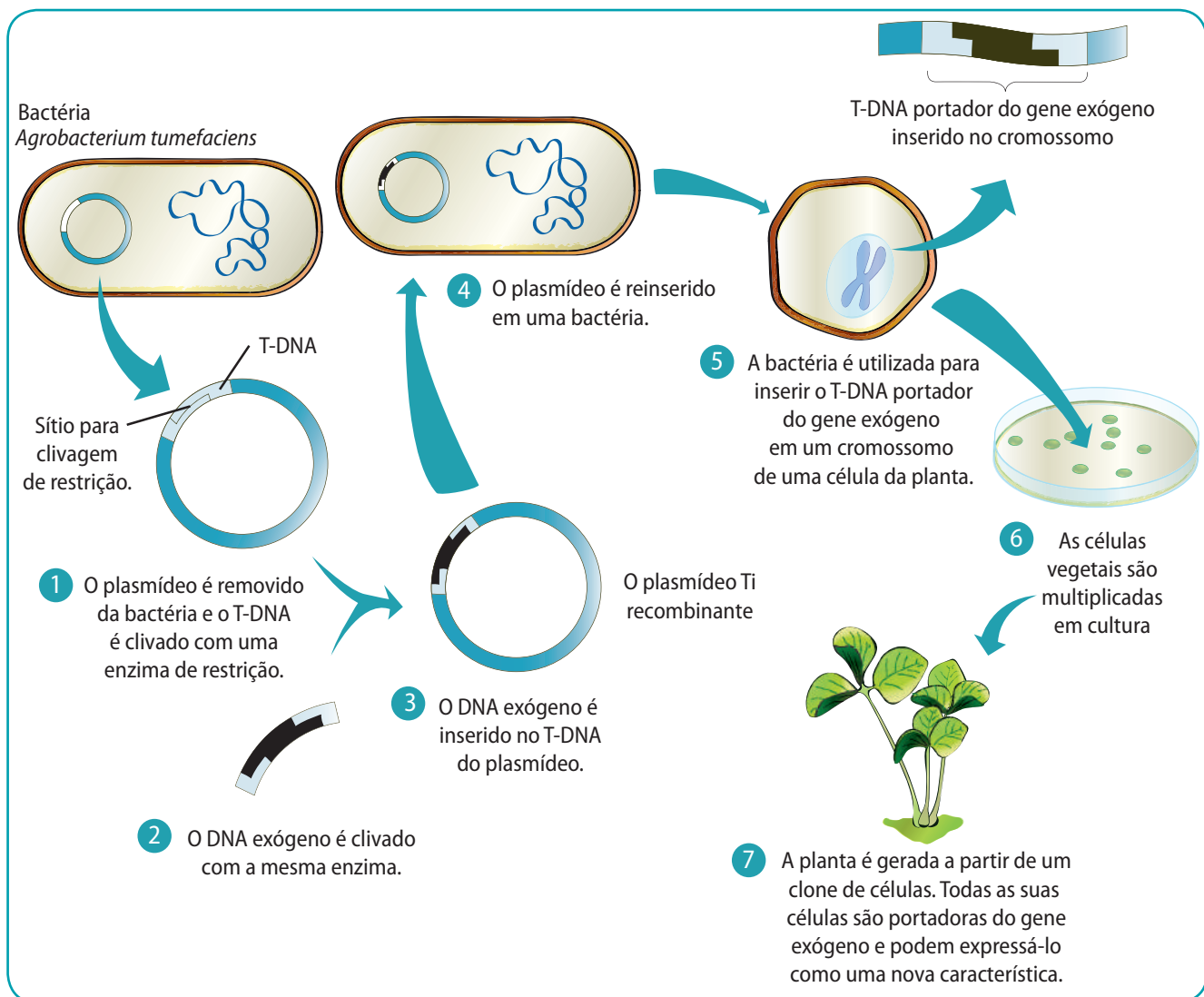


Figura 2.13. Processo de engenharia genética utilizando plasmídeo "Ti". FONTE: Tortora et al. (2000, pg. 261).

Recentemente novas técnicas vem sendo bastante empregadas na clonagem de DNA: são as de sequenciamento de DNA pelos processos de *Southern blotting*, *DNA fingerprinting* e PCR (*polimerase chain reaction*). As duas primeiras são importantes para se localizar um determinado gene num material biológico. Isso poderia ajudar na prevenção de doenças em estágios iniciais de desenvolvimento ou até mesmo antes de ela aparecer.

Em adição à identificação, a terapia gênica pode ser utilizada, substituindo genes defeituosos ou ausentes por outros melhores. Outra aplicação interessante é a da medicina forense, onde se tem como objetivo desvendar crimes com o auxílio genético, através de análises de restos humanos e de animais. As análises de PCR são usadas para amplificar amostras de DNA a partir de fragmentos de materiais biológicos. A partir dessa amplificação, uma quantidade maior de material pode ser produzida para identificar microrganismos em amostras ambientais, por exemplo. Sondas moleculares também podem ser utilizadas nas indústrias de alimento e farmacêutica para identificar possíveis patógenos e produtores de toxinas humanas.

Através de técnicas moleculares, entre tantas aplicações, há o potencial de se construir mapas genéticos dos cromossomos de microrganismos. O objetivo geral seria identificar cada gene do organismo e sua respectiva função, aumentando as possibilidades de utilização do potencial genético, nas mais variadas atividades humanas. Essa ideia geral, definida como projeto genoma, está sendo estudada para outros organismos. Num futuro próximo conheceremos os genes e as suas respectivas funções em vários seres vivos, inclusive os seres humanos. Um novo e surpreendente admirável mundo novo está para surgir, afetando radicalmente a vida no nosso planeta.

Resumo

As bactérias são microrganismos muito interessantes e habitam praticamente todos os ambientes terrestres. São seres procariontes e apresentam uma célula mais simples comparada com as dos

organismos eucariontes. As células bacterianas, isoladas ou em arranjos, podem se apresentar numa das seguintes formas: cocos, bacilos, espirilos, vibriões e espiroquetas. As estruturas da célula são: flagelo, pili, fímbria, cápsula, parede celular, membrana citoplasmática, mesossoma, ribossomo, grânulos, citoplasma, esporo, cromossomo e plasmídeo. A bactéria tem reprodução assexuada e se divide após realizar duplicação do material genético e síntese de proteínas. Mutações e recombinações podem ocorrer com destaque para os processos de transformação, conjugação e transdução. A genética bacteriana é uma das áreas que mais cresce na biologia, dando origem a novos organismos geneticamente modificados, produtos e processos de biotecnologia.

Referências

IMPACTO. Disponível em: <<http://www.portalimpacto.com.br/docs/01Rinaldo2ANOF2Aula24e25.pdf>>. Acesso em: 15 mar. 2010.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. **Microbiologia de Brock**. 10. ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2004. 608 p.

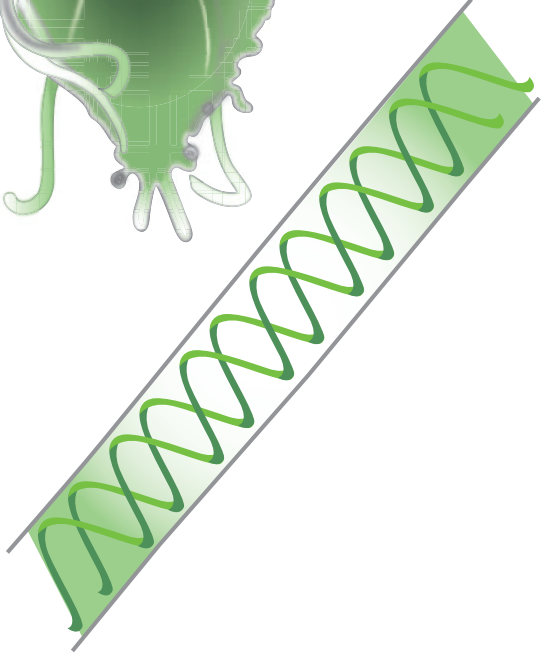
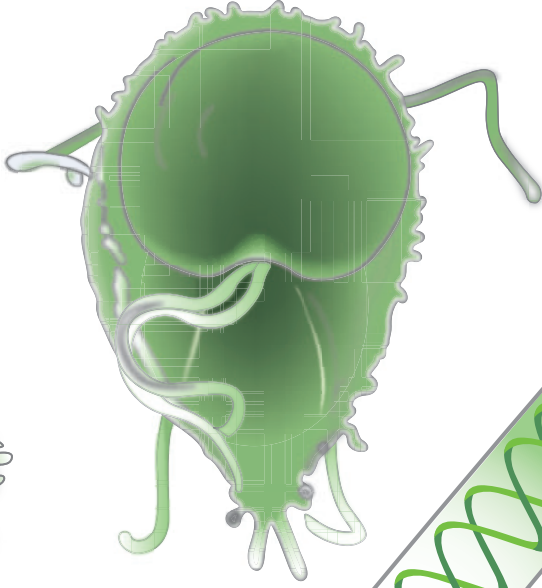
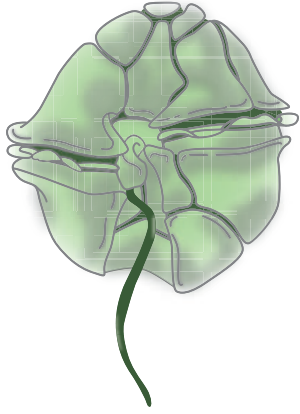
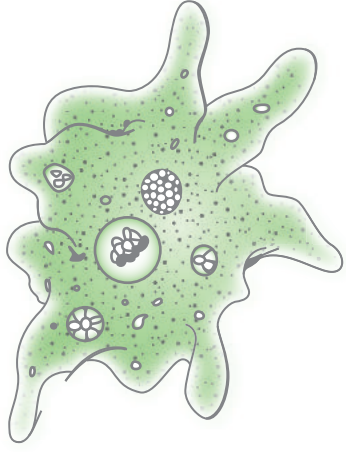
PELCZAR JR, M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. **Microbiologia: Conceitos e Aplicações**. 2. ed. São Paulo: Makron Books, 1996. 524 p.

PRESCOTT, L. M.; HARLEY, J. P.; KLEIN, D. A. **Microbiology**. 2. ed. Dubuque: W. C. Brown, 1993. 912 p.

SINGLETON, P. **Introduction to bacteria**. 2. ed. Chichester: Wiley, 1992. 221 p.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2000. 827 p.

CAPÍTULO 3



Reino Protista

Neste capítulo serão estudados os protistas, com destaque para as algas e os protozoários.

Os protozoários e as algas pertencem ao reino Protista, que incluem os organismos eucarióticos unicelulares. No entanto, desde o início da biologia, houve a tendência de os organismos desse reino, que apresentavam mobilidade e heterotrofismo, serem estudados pelos zoologistas, enquanto que os fotoautotróficos foram assumidos pelos botânicos. Desta forma, organismos do mesmo reino são discutidos e disputados como dois grupos. Isto muitas vezes cria certa confusão. Os organismos euglenoides, por exemplo, são considerados pelos botânicos como uma alga flagelada e pelos zoólogos como um protozoário clorofilado.

3.1 Algas

3.1.1 Introdução

Um dos grupos de organismos mais interessantes e estudados em microbiologia é o das algas. Muita gente faz confusão sobre o que de fato são as algas e iremos abordar sobre o que são e qual a área de importância dessas no meio ambiente e alimentação.

Você sabia que as algas já foram antigamente descritas e estudadas totalmente como plantas? Elas já fizeram parte do Reino Plantae e, curiosamente, o termo alga vem de uma palavra em latim que significa “planta marinha”. As algas são, também, estudadas na botânica, como você já viu em outra disciplina (Sistemática Vegetal I). Claro que existem algas que parecem com plantas, pois

muitas possuem cloroplastos, onde é realizada a fotossíntese, mas há também outras que são muito diferentes dos vegetais. O estudo das algas é chamado ficologia.

Em geral, as algas podem ser microscópicas (microalgas) e macroscópicas (macroalgas) e apresentam pigmentos fotossintéticos. Há uma grande diversidade desses organismos e a classificação delas é bastante complexa e polêmica.

Em linhas gerais, os ficologistas trabalham com dois grupos de organismos: os procariontes e os eucariontes. As dos procariontes fazem parte do antigo Reino Monera, com destaque para as cianofíceas, ou algas azuis, hoje chamadas de cianobactérias. Elas são do domínio Bactéria, são unicelulares ou filamentosas e são fototróficas. O tamanho delas pode ser o de uma bactéria normal, com diâmetro de aproximadamente 0,5 a 1µm até células maiores de 10µm. Elas apresentam, em geral, clorofila a, que é verde, e outros pigmentos como a ficocianina (azul) e ficoeritrina (vermelha ou marrom). Em geral, habitam ambientes tanto terrestres como aquáticos, podendo estes últimos ser de água doce ou salgada. Exemplos de gêneros de cianobactérias são: *Oscillatoria*, *Spirulina*, *Anabaena*, *Nostoc*, *Nodularia* e *Microcystis*. Vale destacar que a *Anabaena*, que tem um **caráter endofítico** e fixa o nitrogênio do ar, faz associação simbiótica com uma samambaia aquática de nome *Azolla*, que pode ser essencial nutricionalmente em sistemas de produção de arroz irrigado. *Microcystis* é um organismo importante que causa florações em águas, produzindo toxinas e contaminando os ambientes aquáticos.

O segundo grande grupo de algas, as eucariontes, fazem parte dos Reinos Protistas e Plantae. Elas apresentam cloroplastos, fazem fotossíntese e são classificadas em filos: Chlorophyta (algas verdes), Rhodophyta (algas vermelhas), Phaeophyta (algas marrons), Euglenophyta (euglenas), Dinophyta (dinoflagelados) e Bacilariophyta (diatomatóceas).

As Chlorophytas (verdes) podem ser unicelulares e multicelulares, apresentam clorofila a e b, amido e lipídios como substância de reserva e habitam ambientes úmidos e aquáticos (principalmente água doce). Um exemplo interessante de microalga verde é a *Chlorella*, que é usada na alimentação humana e tem aproximadamente

- **Caráter endofítico**
- Situado ou que ocorre dentro
- de tecidos de plantas, sem
- causar aparentemente dano
- a seus hospedeiros.

10µm de diâmetro. Exemplos de filamentosas verdes são dos gêneros *Spirogyra*, *Ulothrix* e *Cladophora*.

As Rhodophytas (vermelhas) têm clorofila a e d e apresentam amido das florídeas como substância de reserva. Apresentam pigmentos chamados ficoeritrinas, são aquáticas e bastante empregadas na alimentação oriental para fazer sushi. Um exemplo desse tipo tem o nome de Nori, que é uma alga vermelha do gênero *Porphyra*.

As Phaeophytas (marrons) são marinhas, apresentam clorofila a e c, pigmentos carotenoides e xantofilas, variam de tamanho, podendo apresentar formas microscópicas até os “Kelps” que podem chegar a 60 metros. Exemplos desse grupo são as Wakame (*Undaria* e *Sargassum*) e Kombu (*Laminaria*), importantes na culinária oriental.

Kelps :
coberturas extensas de algas :
 (“florestas de algas”). Os :
Kelps, são constituídos por :
algas da ordem Laminariales. :

As Dinophytas (dinoflagelados) são unicelulares, têm clorofila a e c, apresentam como pigmento carotenoides e como substância de reserva amido e gordura. Podem produzir toxinas que matam peixes e outros animais.

As Euglenophyta (euglenas) são unicelulares com flagelos, têm clorofila a e b, carotenoides e xantofila como pigmento, têm como substância de reserva grânulos de paramilo.

As Bacilariophyta (diatomáceas) são unicelulares, aquáticas e terrestres, têm clorofila a e c, a substância de reserva é a crisolaminarina e têm também carotenoides e xantofila. Apresentam uma carapaça dura, com grande quantidade de sílica e têm uma diversidade de formas. A partir dos antigos depósitos das frústulas, podem formar rochas denominadas diatomito, com essa estrutura dura e rígida, podendo ser usadas na fabricação de filtros e pedras de raspagem de calos em pessoas.

3.1.2 A importância das algas

Pelo fato já salientado de realizarem fotossíntese, a maior importância das algas, em termos ecológicos no planeta, está na produção global de oxigênio. Há estimativas de que mais de 50% do O₂ está ligada às algas, que habitam uma vasta área de superfície dos oceanos. Outra importante função desse grupo de organismos é que fazem parte, através do fitoplâncton, da cadeia alimentar de muitos

seres vivos, incluindo grandes animais. É de se esperar que, num grande vazamento de petróleo, como, por exemplo, do navio Exxon Valdez, em 1989, no Alasca, uma imensa área e um grande número de espécies sejam afetados. Além de serem alimentos, as algas podem também se nutrir de bactérias, equilibrando o meio ambiente.

As algas, juntamente com as plantas, participam dos processos de formação de muitos solos. Por serem produtores primários, as algas se fixam nas rochas e, com o passar do tempo, tendo umidade e calor, começam a liberar substâncias orgânicas que quebram a estrutura das rochas formando os solos. Você já deve ter visto, quando, em viagem, uma rocha exposta, contendo muitos organismos verdes limosos na sua superfície. De forma lenta e contínua essa rocha vai se desgastando, num processo chamado intemperismo, e os solos são formados de forma bem superficial. Com o passar do tempo, outros organismos chegam e as camadas vão ficando maiores nesses ambientes desbravados pelas algas.

Um aspecto negativo das algas, do ponto de vista humano, é que muitas delas, conforme já mencionado na introdução, podem se reproduzir em grande escala e contaminar as águas através da produção de toxinas.

Além desse aspecto biológico, que pode contaminar peixes, moluscos e crustáceos, e inclusive o ser humano, há a poluição visual pela enorme produção de massa verde. Normalmente, isso ocorre



Figura 3.1. Floração de algas verdes no lago Titicaca, Peru. FONTE: Fotografia de Viviane Mara Woehl, (arquivo pessoal - julho de 2005).

pelo desequilíbrio nutricional nas águas pela descarga de esgotos ou fertilizantes, com destaque para os elementos nitrogênio e fósforo. A eutrofização é esse fenômeno de crescimento desordenado de algas e plantas que pode atingir níveis preocupantes no ambiente. Com o excesso de massa verde, há uma grande deposição de matéria orgânica, que exigirá uma quantidade elevada de oxigênio para a sua decomposição. A consequência natural, em muitos casos, é a mortalidade de peixes e outros seres vivos. Com certeza, você já deve ter lido sobre isso em várias partes do país, como, por exemplo, na lagoa Rodrigo de Freitas no Rio de Janeiro e em muitas represas do estado de São Paulo, principalmente no verão.

Como você pode notar, a microbiologia é uma importante disciplina que, apesar de estudar microrganismos, tem uma dimensão maior pelo efeito destes no meio ambiente. No geral, os problemas estão todos envolvidos e atuando paralelamente. A poluição por fertilizantes pode causar um problema maior, pelo desbalanceamento nutricional nas águas, afetando muitos seres vivos.

No aspecto biotecnológico, estudado com mais detalhe em outro capítulo deste livro, podemos ver a importância das algas em várias áreas de atuação humana. Vários produtos são feitos de algas, como, por exemplo, a indústria farmacêutica com a produção de cosméticos e medicamentos. Há diversos produtos como cremes para a pele e pasta de dentes que são feitos a partir desses organismos. As algas podem também fazer parte de filtros, como vimos na introdução, para as algas diatomáceas. Na indústria de alimentos há uma gama de produtos na culinária oriental que se destaca e que cresce a cada dia. Em macroalgas temos os exemplos de Nori, Wakame e Kombu, que podem ser utilizados para fazer o *sushi* e para o consumo em saladas e sopas. Derivados de algas, como, por exemplo, o alginato, podem ser utilizados na indústria de cerveja, estabilizantes e espessantes, e na preservação de frutas. A carragenina é outra substância que atua no clareamento de cerveja e é também espessante e estabilizante.

Outro produto de grande destaque é o ágar, um polissacarídeo, extraído de algas marinhas do gênero *Gelidium* e outros, e tem a função de solidificar o meio, atuando como gelatina. Esse ágar é bastante usado na produção de meios de cultura, em microbiologia e

outras áreas, como cultura de tecidos vegetais e animais. A agarose é um produto mais refinado e que é utilizada na composição do gel de análises de biologia molecular. Curiosamente, quando alguém vai fazer um exame de paternidade, as algas podem participar dessa importante atividade. Na microbiologia forense, para tentar desvendar crimes, materiais biológicos são analisados e podem também utilizar a agarose.

As microalgas podem ser utilizadas na dieta humana, com exemplos dos gêneros *Chlorella*, *Spirulina* e *Dunaliella*. Além de fornecerem várias vitaminas, as algas são ricas em proteínas, substâncias antioxidantes, como o Omega-3 e apresentam vários minerais, usualmente não muito consumidos no cotidiano. Esses produtos, em forma de cápsulas, são encontrados em farmácias e supermercados, no mercado de produtos naturais e estão em franco crescimento, já que muitas pessoas estão aderindo a essas dietas alternativas.

Em várias partes do mundo há a produção dessas algas em tanques oxigenados, principalmente em países com grande exposição ao sol, como é o caso de Israel e nos Estados Unidos, na Califórnia. Nessa linha de produção de biomassa, recentemente, tem sido bastante estudado o potencial de algas na indústria de combustíveis, os biocombustíveis, muito na mídia mundial.

A biomassa das algas, como ocorre em muitas partes do mundo, pode também ser utilizada para a fabricação de ração, adubos orgânicos e na produção de pigmentos como por exemplo a ficobiliproteína, empregada nas análises de imunofluorescência.

Em resumo, a importância das algas é muito grande e está em fase de expansão, em diversas áreas do conhecimento humano.

3.2 Protozoários

Além das características que os incluem no reino Protista (células eucarióticas e unicelulares), os protozoários são heterotróficos, geralmente móveis e sem parede celular. São unicelulares unos, ou seja, não formam agrupamentos ou filamentos, se apresentando, sempre, de forma celular isolada.

Pseudópodes

(em grego: falsos pés - **pseudo + podes**) é um termo para as extensões fluídas do citoplasma de seres unicelulares, utilizadas para a alimentação e a locomoção. São evaginações da membrana plasmática que surgem por meio de deslocamentos do citoplasma e que movimentam a célula e englobam partículas.

Fissão binária

Nome dado ao processo de reprodução assexuada dos organismos unicelulares que consiste na divisão de uma célula em duas por mitose, cada uma com o mesmo genoma da "célula-mãe" (com o mesmo DNA ou material genético da "célula-mãe")

Fissão múltipla

O núcleo se divide múltiplas vezes antes da célula se dividir. Após a formação de vários núcleos, uma pequena porção do citoplasma se concentra ao redor de cada núcleo e então, uma única célula se separa em células-filhas.

Gemulação

A gemulação, também chamada de gemiparidade ou brotamento, caracteriza-se pelo aparecimento de brotos ou gemas, que surgem e crescem ligados ao organismo inicial e que podem, ou não, dele se desprender em certa época da vida.

A característica de mobilidade foi responsável pela sua denominação de primeiros animais (**protos** = primeiro, **zoo** = animal). Podem se locomover por **pseudópodes**, flagelos ou cílios.

Como heterotróficos podem atuar como saprógenos decompondo a matéria orgânica, parasitas e predadores, incluindo os próprios protozoários (holozoicos) e simbiontes. Protozoários flagelados que vivem em associação com cupins, degradam a celulose (ingerida, mas não digerida) em substância glicogênica que é assimilada pelo inseto.

Apresentam dimensões variáveis. *Leishmania donovani*, 10 µm, *Amoeba proteus*, 400 µm e alguns ciliados chegam a 2.000 µm.

Eles podem produzir cistos, envoltórios temporários que aumentam a proteção contra as agressões externas. Falta de alimento e desidratação favorece o encistamento. Ele também pode ocorrer durante a reprodução, como forma de proteção quando é transmitido de um hospedeiro para outro.

A reprodução pode ser sexuada ou assexuada. A reprodução assexuada pode ser por divisão ou fissão (**binária ou múltipla**) e **gemulação**. A sexuada pode ser por conjugação (união temporária de dois indivíduos para troca de material genético) ou fusão de gametas (comparável aos espermatozoides e óvulos). Os protozoários possuem capacidade de regeneração de partes perdidas.

3.2.1 Classificação

Devido ao fato de serem heterotróficos e necessitarem buscar alimento, a principal característica utilizada é o modo de locomoção. Apesar de existirem inúmeras espécies, as mais citadas são as causadoras de problemas para o homem. São divididos em quatro grandes grupos:

Mastigophora

Locomoção por flagelos. O número, a posição e o tamanho são importantes na classificação.

Exemplos:

- *Trichonympha collaris* – Simbionte de cupins.

- *Trichomonas buccalis*, *T. hominis*, *T. vaginalis* – Causadores de gengivites, inflamação no intestino e trato urogenital, respectivamente.
- *Trypanossoma cruzi* – Causador da doença de Chagas. O agente transmissor é o barbeiro (*Triatoma*).
- *Giardia lamblia* – Causa diarreia, principalmente em crianças. É um dos eucariotos mais antigos. Não apresenta mitocôndrias, não se sabe, entretanto, se nunca a tiveram ou se a perderam.

Sarcodina

Locomoção por pseudópodes. São conhecidos como amebas. Além da locomoção os pseudópodes, servem para a ingestão. A *Entamoeba histolytica* é a espécie característica desse grupo.

Ciliophora

Locomoção por cílios. Os cílios também auxiliam na alimentação, conduzindo o alimento para o poro bucal. O grupo tem representantes como *Paramecium*, um ciliado comum na água, e o *Balantidium coli*, único ciliado patogênico ao homem.

Sporozoa

São pequenos, parasitas obrigatórios, formam esporos e as formas adultas não apresentam organelas de locomoção.

Exemplos:

- *Plasmodium vivax* - Causador da malária e tem como agente transmissor os mosquitos.
- Coccídios que atacam a parede intestinal como as nosemoses. A *Nosema apis* ataca as abelhas, destruindo as colmeias. Além de ocasionar problemas na produção de mel, prejudica outras atividades agrícolas pela falta de polinização.

3.2.2 Importância

Grande importância é dada aos protozoários pelos problemas de saúde causados ao homem. No entanto, outros atributos tão ou mais importantes são normalmente esquecidos. A grande maioria

dos protozoários não é patogênica ao homem. Alguns podem ser predadores, ou parasitas de outros organismos. Outros são decompositores de matéria orgânica. Há ainda os simbioses, como os que vivem no rúmen de determinados mamíferos realizando a digestão da celulose. Como grupo é um dos principais formadores do plâncton, que é a base da cadeia alimentar dos ambientes aquáticos.

Resumo

Protistas são organismos eucarióticos unicelulares, tradicionalmente divididos em fototróficos (algas) e heterotróficos (protozoários). As algas fazem fotossíntese, produzindo uma significativa quantidade de oxigênio para o planeta, e são divididas em dois tipos: as macroalgas e as microalgas. As algas são, também, muito importantes, ecologicamente, por participar dos processos de formação do solo, ciclagem de nutrientes e fazem parte da alimentação de vários seres vivos, incluindo o homem. Podem ser utilizadas na indústria em vários produtos e, quando em desequilíbrio ambiental, podem contaminar a água e produzir toxinas. Os protozoários são microrganismos que apresentam reprodução sexuada ou assexuada e podem ser móveis ou não. Em termos ecológicos, são importantes por fazerem parte da cadeia de alimentação de vários seres vivos, alguns são simbioses, ajudam nos processos de decomposição da matéria orgânica, e podem ser patogênicos ao homem e animais.

Referências

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. **Microbiologia de Brock**. 10. ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2004. 608 p.

PELCZAR JR, M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. **Microbiologia: Conceitos e Aplicações**. 2. ed. São Paulo: Makron Books, 1996. 524 p.

CAPÍTULO 4



Fungos

Neste capítulo serão estudados os fungos, com destaque para as suas características, morfologia, reprodução e importância.

4.1 Introdução

O reino Fungi ocupa uma posição de interface com os reinos animal, vegetal e protista. Historicamente vem sendo comparado às plantas, mas apresenta células somáticas sem diferenciação ou divisão de trabalho. Os fungos podem ser unicelulares ou multicelulares.

Curiosamente, o maior ser vivo que existe no planeta Terra é um fungo do gênero *Armillaria* e que foi encontrado em florestas do estado do Oregon, nos Estados Unidos. Suas partes subterrâneas atingem muitos quilômetros quadrados e análises de DNA mostraram que pertencem a um mesmo organismo.

4.2 Características

Os organismos pertencentes ao reino Fungi são caracterizados por apresentarem:

- a) **Célula eucariótica:** Células com núcleo envolto por membrana, onde estão os cromossomos. O DNA é linear e associado a histonas. O número de cromossomos é superior a um e variável com a espécie, apresentando portanto mais DNA que os procarióticos. Apresenta nucléolo, local onde é sintetizado o RNA ribossomal, e mitocôndrias, organelas responsáveis pela respiração e fosforilação oxidativa.

b) Metabolismo heterotrófico: Não possuem clorofila, dessa forma não realizam fotossíntese. São **quimiorganotróficos** que se nutrem por absorção. Podem ser saprógenos, parasitas, predadores ou simbiontes. Como saprógeno, libera as enzimas no meio as quais desdobram as macromoléculas em subunidades que podem ser absorvidas. Muitos são parasitas de plantas, outros de animais e mesmos de fungos. Grande parte atua como facultativos, enquanto alguns são obrigatórios. Eles podem usar suas enzimas para matar as células e depois usá-las (necrotróficos) ou, podem produzir hifas especializadas, denominadas de apressórios e haustórios, para se fixarem nas células dos hospedeiros e absorverem os nutrientes (biotróficos). Muitos fungos formam associações com raízes de plantas (micorrizas) favorecendo a absorção de nutrientes e água.

c) Parede celular: É responsável pela forma, protege o citoplasma e é necessária nas associações para reprodução, parasitismo e simbiose. É constituída de um componente microfibrilar (“esqueleto”), localizado no lado interno da parede, embebida por uma matriz que se estende para o lado externo. O componente microfibrilar é constituído de um componente cristalino insolúvel em água, que inclui glicanas (polímeros de glicose de ligação variada) e quitina (polímeros de N-acetil-glicosaminas, também chamado de glicoaminoglicano). A matriz é de polissacarídeos solúveis em água (glicanas e glicoproteínas). Lipídeos e melaninas são outros compostos que podem estar presentes. A celulose geralmente está ausente nos fungos verdadeiros. Ela é mais comum na *Stramenopila* (Oomycetos), que embora sejam morfologicamente parecidos com os fungos não estão filogeneticamente relacionados a eles.

d) Geralmente imóveis: Alguns grupos relacionados aos fungos podem apresentar flagelos e alguns são ameboides.

e) Maioria aeróbia: Principalmente os filamentosos. As leveduras são facultativas.

• **Quimiorganotróficos**
• organismos que oxidam
• somente substratos
• orgânicos.

4.3 Morfologia

Os fungos apresentam formas diferenciadas nas estruturas somáticas ou reprodutivas. Essas diferenças morfológicas são a base dos sistemas de identificação.

4.3.1 Sistema somático

É constituído por uma ou mais células. As formas unicelulares são conhecidas como leveduras. São ovais (esféricas alongadas) e maiores que as bactérias, com dimensões que variam de 1 a 5 μm por 50 μm . Não tem mobilidade e formam em meios de cultura colônias lisas e brilhantes, semelhantes às das bactérias.

As formas multicelulares ou filamentosas são conhecidas como bolores. As células são reunidas pelas extremidades formando um tubo denominado de hifa e o conjunto dessas o micélio. As hifas são finas (5 a 10 μm de diâmetro), transparentes e rígidas. Elas crescem por alongamento pela ponta, pois, nessa região, a ligação dos polissacarídeos ainda não é fixa, o que permite a inclusão de outras unidades. O crescimento também pode ocorrer em outras partes, produzindo ramificações. Cada fragmento que contém núcleos é capaz de gerar novos indivíduos.

Fungos dimórficos apresentam tanto a forma unicelular (leveduras), como a multicelular (filamentosa). E ocorrem principalmente entre os parasitas. Quando crescem fora do hospedeiro são filamentosos e dentro destes unicelulares.

Tipos de Hifas

Muitas espécies de fungos apresentam interrupções nas hifas, chamadas de septos (invaginações entre as células) (Figura 4.1B). Algumas vezes estas invaginações são produzidas em espaços regulares com um, dois ou mais núcleos, dividindo os filamentos em células distintas. No entanto, podem existir poros que permitem a migração de núcleos e outras organelas entre as células, formando um protoplasma contínuo. No filo Ascomycota, os poros às vezes

podem ser bloqueados por estruturas como **corpos de Woronin**. Em alguns casos como no filo *Basidiomycota* o septo pode tornar-se inflamado próximo ao septo, quando então é denominado de dolíporo-parentossomo.

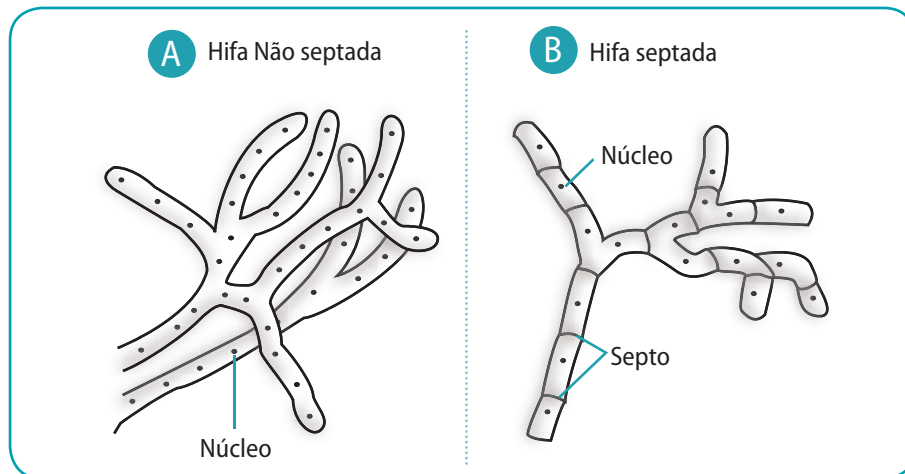


Figura 4.1. Tipos de hifas. FONTE: modificado de Pelczar et al. (1996, p. 125).

Em outras espécies, o septo raramente está presente (Figura 4.1A), surgindo apenas na base de estruturas reprodutivas ou em partes velhas formando micélios asseptados ou cenocíticos. A célula cenocítica é essencialmente uma célula com muitos núcleos.

As hifas podem ser diferenciadas através da formação de estruturas mais complexas (Figura 4.2.):

- **Rizoides:** hifas especializadas que penetram no substrato, apresentando forma de raízes. Servem para sustentação e nutrição.
- **Anastomose:** união de hifas.
- **Grampo de conexão ou fíbula:** característico de micélio binucleado de *Basidiomycota*.
- **Haustórios ou sugadores:** hifas que penetram no hospedeiro para absorver nutrientes.

As hifas podem se organizar em:

- **Rizomorfos ou cordões miceliais:** conjunto de hifas reunidas paralelamente podendo se entrelaçar.
- **Plectênquimas:** reunião de hifas formando massas consistentes densas com fusão das paredes. Quando as hifas perdem a sua individualidade, o plectênquima é denominado de esclerócito, que

Estruturas eletronicamente densas de forma esférica, retangular ou hexagonal. Possui a função de manter a integridade hifal. Ocorrem, provavelmente, em situações tais como envelhecimento e ataque por outros organismos, impedindo desta forma que haja extravasamento citoplasmático com consequente morte do organismo.

é muito resistente as condições adversas. Quando as hifas depois de soldadas ainda conservam a sua individualidade a estrutura é denominada de estroma. Órgãos reprodutivos podem ter origem nos estromas. Em alguns casos é difícil diferenciar os dois tipos.

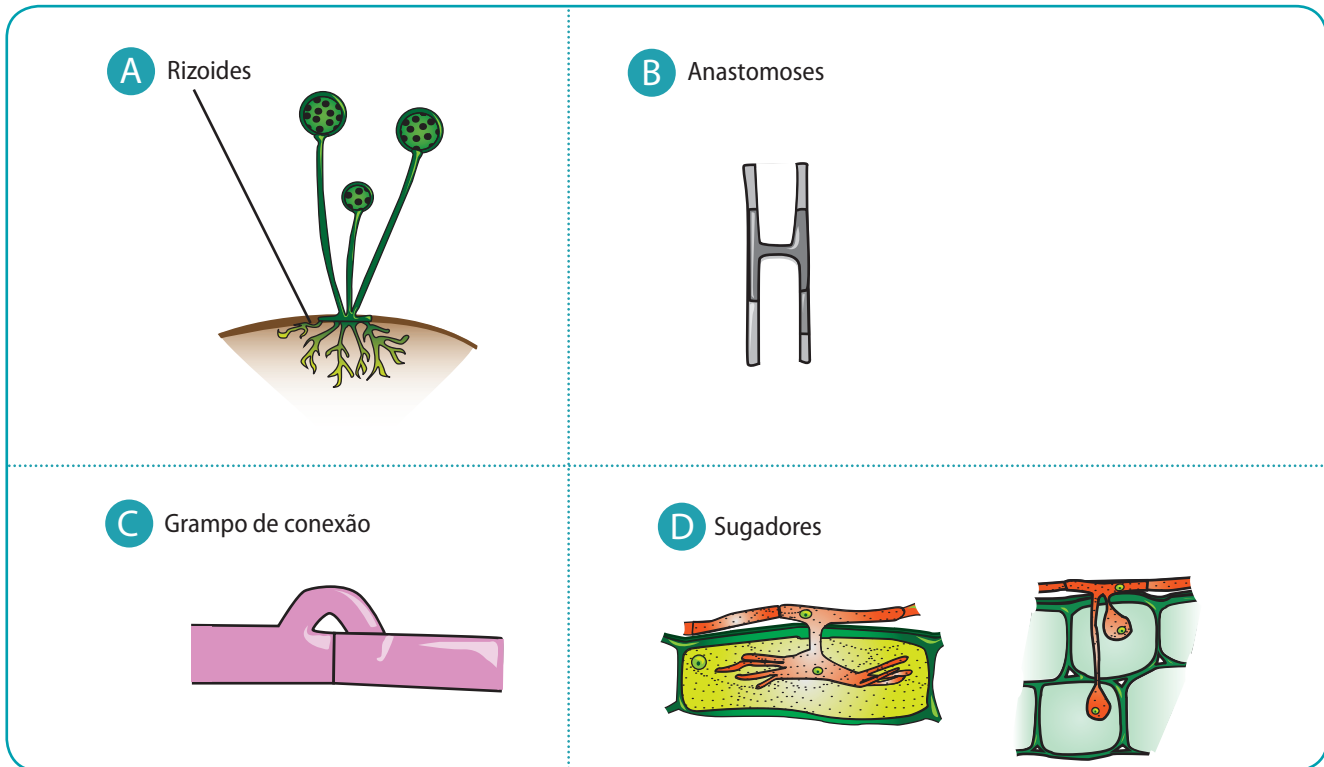


Figura 4.2. Diferenciação de hifas. FONTE: modificado de Pelczar et al. (1996, p. 125) e Silveira (1995, p. 10-11).

4.3.2 Sistema Reprodutivo

As estruturas reprodutivas exibem uma diversidade de formas, que são utilizadas na classificação. Os fungos podem apresentar estruturas de reprodução assexuada (Figura 4.3) ou sexuada.

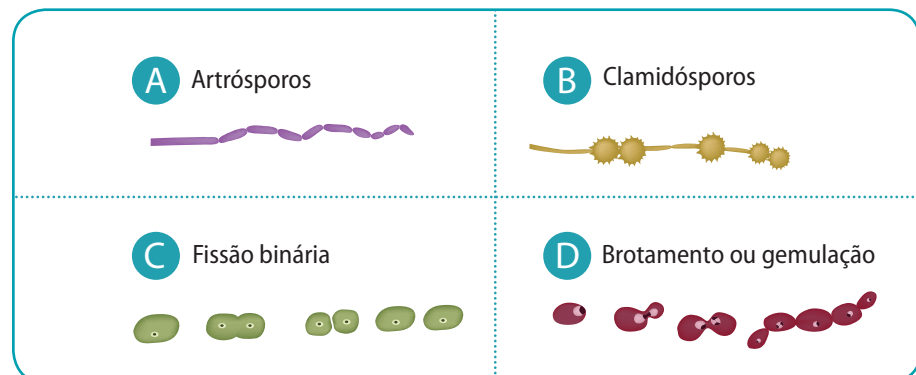


Figura 4.3. Reprodução assexuada. FONTE: Modificado de Silveira (1995, p. 34-35) e Pelczar et al. (1980, p. 318).

Reprodução Assexuada

Esta forma de reprodução também é denominada de somática ou vegetativa, pois não envolve a fusão de gametas, é a chamada fase anamórfica (fase assexual) e pode ocorrer por diferentes procedimentos:

- a) **Fragmentação**
- b) **Formas de resistência** como: plectênquimas: esclerócitos e estromas.
- c) **Artrósporos:** esporos que se formam pela quebra das extremidades da hifa (Figura 4.3A).
- d) **Clamidósporos:** esporos formados por células especiais de descanso (Figura 4.3B).
- e) **Fissão binária:** divisão da célula (Figura 4.3C).
- f) **Brotamento** ou **gemulação:** surgimento de protuberância que vai aumentando até originar outra célula (Figura 4.3D).
- g) **Esporos:** os esporos representam o método mais comum de reprodução assexuada (Figura 4.4). Eles variam em cor (transparentes, verdes, amarelos, vermelhos, marrons, pretos) e forma (ovais, esféricos, globulosos, helicoidais). Algumas espécies podem produzir até quatro tipos de esporos.

Tipos de esporos Assexuados

Os esporos podem estar no interior de estruturas (endógenos) ou externamente (exógenos), serem imóveis (aplanósporo) ou móveis (planósporos ou zoósporos).

- Esporos endógenos imóveis são denominados de esporangiósporos, estão contidos num esporângio, que é sustentado por uma hifa denominada de esporangióforo.
- Esporos endógenos móveis são denominados de zoosporangiósporos, estão contidos num zoosporângio, que é sustentado por um zoosporangióforo.
- Conídias são esporos exógenos imóveis localizados nas extremidades nas hifas.
- Os esporos dos fungos normalmente são imóveis (aplanósporos). Apenas um grupo, os quitrídios produzem zoósporos.

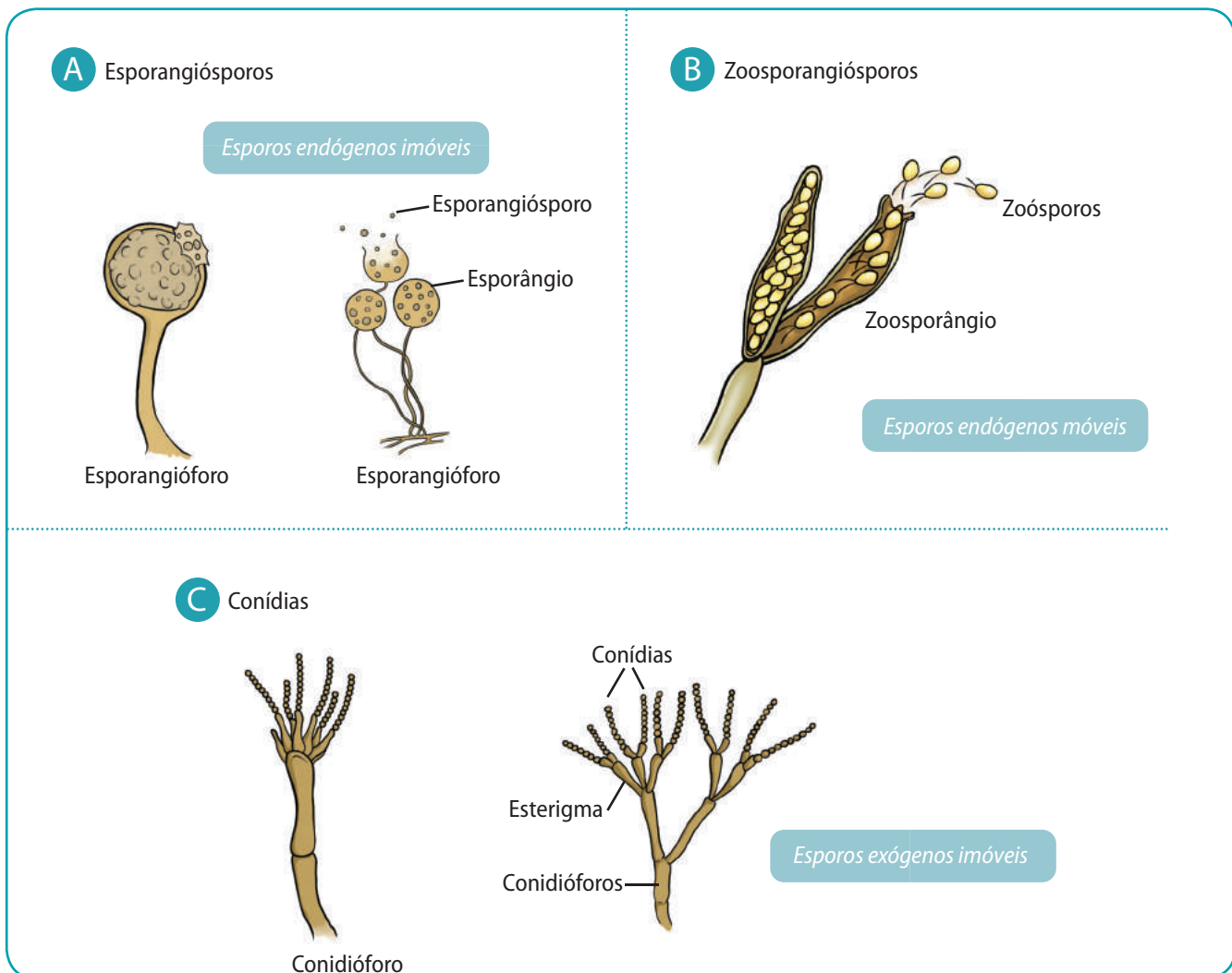


Figura 4.4. Tipos de esporos assexuados. FONTE: modificado de Pelczar et al. (1996, p. 263; 1980, p. 318-319).

Reprodução Sexuada

A fase sexual também é denominada de teleomórfica. Há alta incidência de recombinação e formação de novos genótipos. Envolve a união de dois núcleos compatíveis. Um indivíduo pode produzir diferentes tipos de “machos” e “fêmeas”, compatíveis ou não. Ocorre em três fases:

- Plasmogamia:** união de dois protoplastos que pode ocorrer de várias maneiras, gametas móveis, imóveis, iguais, diferentes, fusão de hifas ou células, fazendo com que os núcleos fiquem juntos na mesma célula.
- Cariogamia:** fusão de dois núcleos.
- Meiose:** divisão reducional, reduzindo outra vez o número de cromossomos ao estado haploide.

Os órgãos sexuais são chamados de gametângios e formam os gametas. Quando não se distingue a sexualidade (“macho” ou “fêmea”) são denominados de isogametângio e isogametas. No caso de serem diferentes o “macho” é chamado de anterídeo e a “fêmea” de oogônia ou ascogônio.

Diferentes tipos de esporos sexuais são produzidos (Figura 4.5):

- a) **Oósporos:** Esporos produzidos dentro da oogônia (Figura 4.5A).
- b) **Zigósporos:** Esporos de parede espessa, produzidos a partir do contato de duas hifas (Figura 4.5B).
- c) **Ascósporos:** Esporos produzidos no interior de ascos (saco), geralmente em número de 8 (Figura 4.5C).
- d) **Basidiósporos:** Esporos produzidos na extremidade de basídios (clava), geralmente em número de 4 (Figura 4.5D).

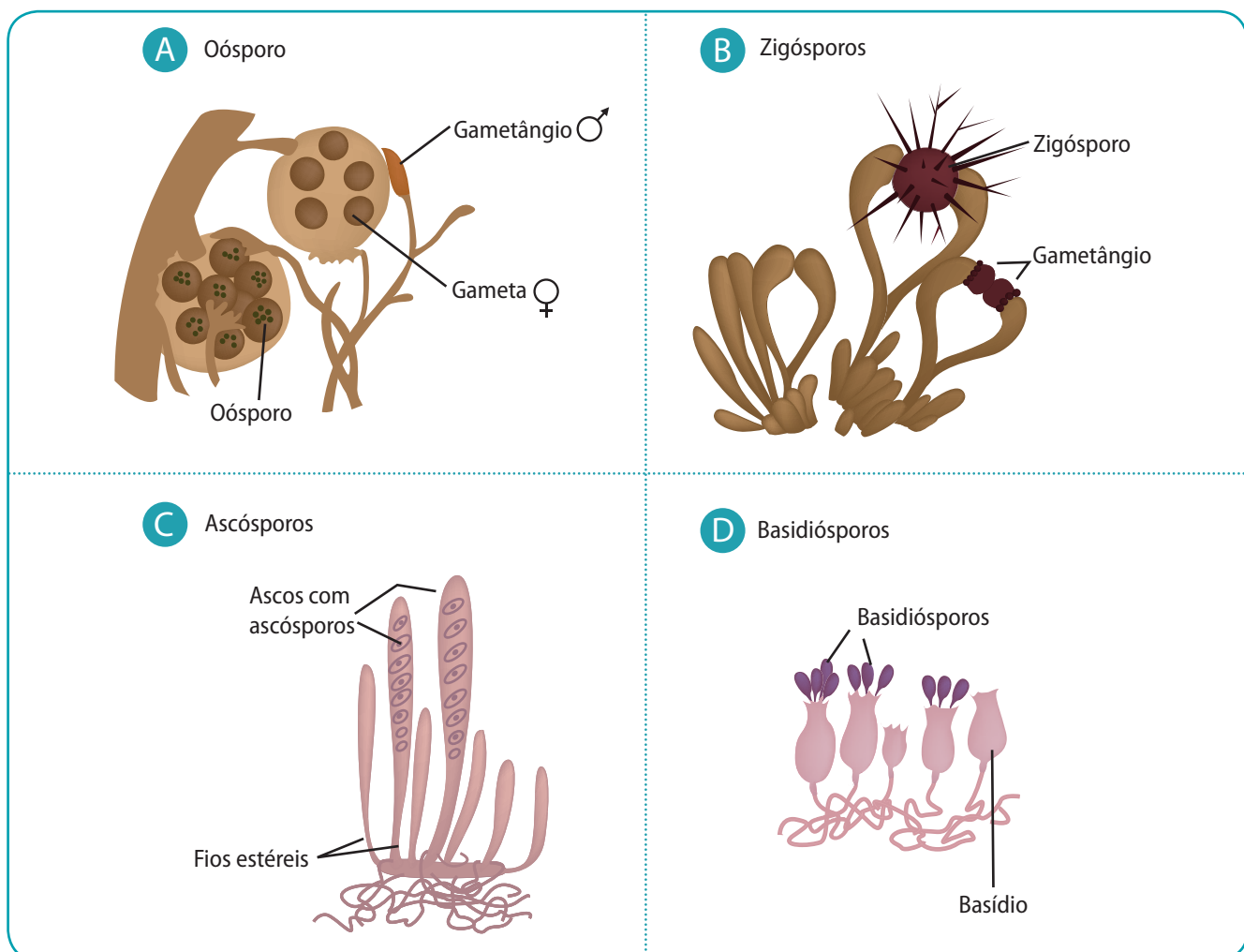


Figura 4.5. Tipos de esporos sexuais. FONTE: Modificado de Pelczar et al. (1980, p. 319; 324).

4.4 Sistemática de fungos

É utilizada uma classificação filogenética, ou melhor, monofilética, e cada grupo contém um ancestral e todos os seus descendentes. Como o aspecto morfológico foi determinante nesta classificação, o que outrora se classificou como fungo, hoje pode estar em outro grupo, pois indivíduos que apresentam formas semelhantes podem não apresentar um histórico evolucionário igual. Assim, hoje por questões de tradição e praticidade três diferentes grupos são estudados pelos micólogos.

4.4.1 Reino Protista

Dentro deste reino há quatro filos que, embora não estejam relacionados, são denominados de fungos limosos: Myxomycota, Acrasiomycota, Plasmodiophoromycota e Dictyosteleomycota.

Myxomycota

São denominados de fungos limosos acelulares, pois formam plasmódio verdadeiro (massa de protoplasma ameboide, multinucleada envolta por uma membrana citoplasmática), ou seja, os núcleos não estão separados por membranas celulares em células individuais.

No estágio vegetativo apresentam-se como amebas (protozoários) nutrindo-se por fagocitose (bactérias) ou absorção. A fase de crescimento é formada por células haploides com dois flagelos. Estas células podem apresentar tipos sexuais e podem fundir-se formando um zigoto diploide. O zigoto pode dividir-se repetitivamente por meiose, formando um plasmódio. Os plasmódios nutrem-se de materiais em decomposição (absorção). Quando as condições do ambiente tornam-se adversas (mais seco ou faltam alimentos), o protoplasma plasmodial torna-se concentrado, surgindo um esporângio pedunculado. A meiose ocorre dentro dos esporos (esporangiósporos), produzindo células haploides.

Acrasiomycota

São denominados de fungos limosos celulares, pois formam um pseudoplasplasmódio.

No estágio vegetativo estão na forma de células isoladas (semelhantes a protozoários), alimentando-se de bactérias. Tem por habitat a água doce, solo úmido e vegetais em decomposição. Sob condições adversas agregam-se formando uma massa viscosa com muitos pseudoplasmodios (as amebas permanecem com suas membranas celulares). Os pseudoplasmodios assemelham-se as lesmas e podem migrar e transformar-se em corpos de frutificação produtores de esporos. Os esporos espalhados germinam e dão origem as amebas completando o ciclo.

Plasmodiophoromycota

Durante a fase de crescimento apresentam-se como plasmódio multinuclear, sem parede celular. Apresentam zoósporos com dois flagelos chicoteantes. São fungos limosos parasitas obrigatórios que provocam aumento anormal no tamanho (hipertrofia) e no número de células (hiperplasia). *Plasmodiophora brassicae* provoca hérnia das crucíferas.

Dictyosteliomycota

Formam pseudoplasmodios e produzem esporos não flagelados. O ciclo de vida dos fungos limosos é sumarizado na Figura 4.6.

4.4.2 Reino Stramenopila

É um novo reino baseado na estrutura do flagelo que está sendo proposto a partir das algas. Apresenta três filos: Oomycota, Hyphochytridiomycota e Labyrinthulomycota.

Oomycota

São reconhecidos como sendo diferentes do reino Fungi pois estão mais relacionados às algas, mas por tradição, bem como por considerações práticas, têm sido estudados pelos micólogos. Embora não filogeneticamente relacionados aos fungos, eles têm nutrição por absorção e morfologia semelhantes. Geralmente filamentosos com micélio cenocítico. Enquanto os fungos apresentam parede de quitina, os oomicetos apresentam glicanas e/ou celulose.

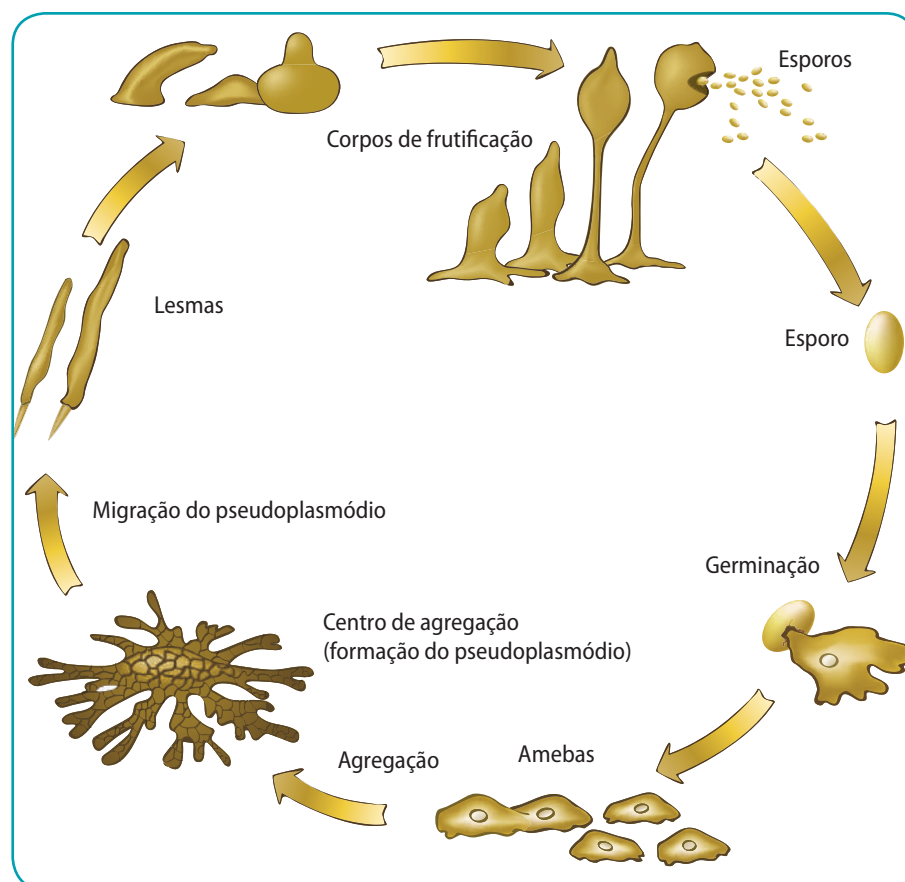


Fig. 4.6. Ciclo de vida de um Dictyosteliomycota. FONTE: Modificado de Pelczar et al. (1996, p. 260).

A reprodução sexuada ocorre por contato gametangial produzindo oósporos. Nas formas simples todo o talo age como um gametângio, em outros, os gametângios são diferenciados. O “macho” pequeno denominado de anterídeo e a “fêmea” globosa denominada oogônia. Após a cariogamia ocorre a meiose e um ou mais oósporos são produzidos.

A reprodução assexuada ocorre pela produção de esporângio com zoósporos biflagelados (ornamental e chicoteante).

A figura 4.7 apresenta o ciclo de vida de um Oomycota.

Muitos são aquáticos vivendo como saprógenos, outros são parasitas, introduzindo suas hifas nos hospedeiros, onde liberam enzimas digestivas para depois absorverem os nutrientes. Espécies do gênero *Saprolegnia* são aquáticos e saprógenos, *Phytophthora infestans* provoca doenças em batata, *Plasmopora viticola* nas videiras e *Pythium* provoca tombamento em mudas.

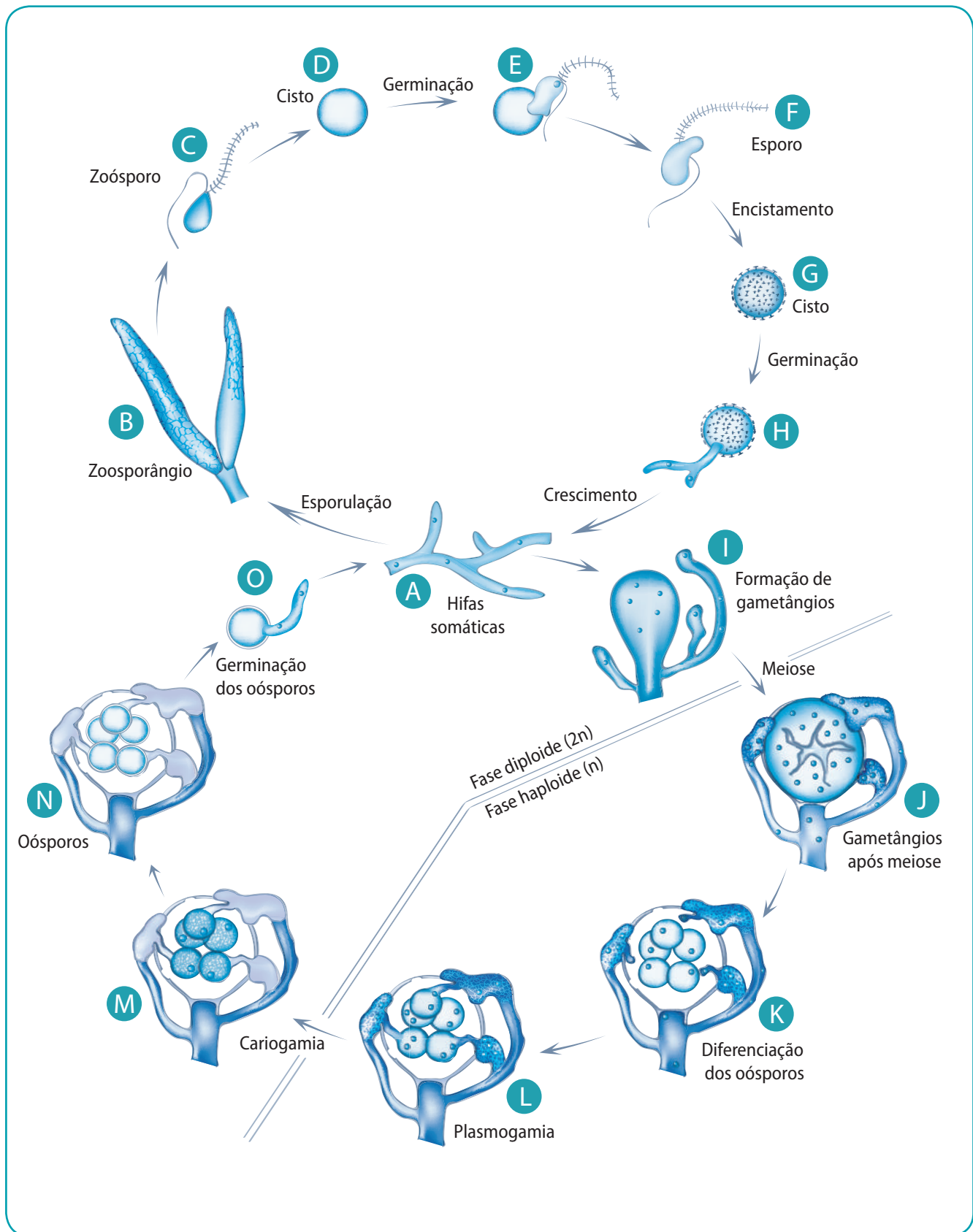


Figura 4.7 Ciclo de vida de um Oomycota. FONTE: Modificado de Alexopoulos et al. (1996, p. 705).

Hyphochytriomycota

Organismos semelhantes aos quitrídios, com células móveis com flagelos complexos (ornamentados). Possuem parede com quitina e celulose. Reproduzem-se somente assexuadamente pela produção de zoósporos

Labyrinthulomycota

São conhecidos como fungos em malha.

4.4.3 Reino Fungi

São os fungos verdadeiros, nutrem-se por absorção e possuem micélio. É constituído de quatro filos (Chytridiomycota, Zygomycota, Ascomycota e Basidiomycota) e uma morfoclasse (Deuteromycota).

Chytridiomycota

São chamados de quitrídios. São os únicos fungos verdadeiros que possuem células móveis (esporos com um flagelo chicoteante). Apresentam micélio cenocítico com parede celular contendo quitina e glicanas, bem desenvolvido, ou de forma globuloide ou ovoide com uma única hifa. As hifas podem diferenciar-se em rizoides.

São saprógenos ou patogênicos de plantas, animais e fungos (ascomicetos e basidiomicetos). Alimentam-se pelas hifas que penetram no hospedeiro ou material orgânico. Como saprógenos vivem no solo e água decompondo celulose, quitina e queratina.

Zygomycota

Possuem micélio cenocítico (só existe septo separando partes reprodutivas, hifas velhas ou danificadas) bem desenvolvido (filamentoso). São divididos em duas classes: Zygomycetes e Trichomycetes.

Os Zygomycetes apresentam esporos sexuais chamados zigósporos (esporo de repouso de paredes grossas). O zigósporo desenvolve-se dentro de um zigosporângio que é formado de dois gametângios (compatíveis e iguais ou diferentes).

A reprodução assexuada é por esporangiósporos que se desenvolvem no interior de esporângios. Apresenta duas ordens: Mucorales

e Glomales. A Mucorales representa fungos decompositores como o *Rhizopus stolonifer*, que apresentam rizoides e estolão. A Glomales inclui os fungos endomicorrízicos denominado de MVA, cujas hifas no interior do hospedeiro formam arbúsculos para a realização das trocas simbióticas e vesícula onde são depositadas substâncias de reserva. Ela apresenta os seguintes gêneros: *Glomus*, *Scutellospora*, *Entrophospora*, *Acaulospora*, *Gigaspora* e *Sclerocystis*.

Os Tricomycetes apresentam espécies que vivem em associação obrigatória com artrópodes.

Organismos pertencentes a esse filo são utilizados na produção de ácidos orgânicos, drogas antiinflamatórias, produção de inoculantes (micorrizas) e produção de molho de soja (*shoyu*).

Ascomycota

São filamentosos, mas também podem ser unicelulares (leveduras) e dimórficos. O micélio é septado, com um ou mais núcleos, com poro simples e corpo de Woronin. A parede celular é constituída de quitinas e algumas vezes há a presença de celulose. Junto com os Basidiomycotas são considerados os fungos superiores e tiveram um ancestral comum. O filo apresenta a reprodução assexuada através de conídias e sexuada por ascósporos.

Na reprodução sexuada há a necessidade da presença de dois núcleos compatíveis na mesma hifa que podem provir de células, hifas ou gametângios morfologicamente iguais ou diferentes (anterídio – macho; ascogônia - fêmea). Os dois núcleos podem permanecer na mesma hifa e sofrer sucessivas divisões resultando em um grande número de células dicarióticas. Após a plasmogamia (fusão dos protoplastos), ocorre a cariogamia (fusão dos núcleos), geralmente nos ascos jovens. Seguida a fusão ocorre a meiose resultando em quatro núcleos haploides e após uma mitose que dará origem aos oito ascósporos (ascoporogênese). Os ascósporos são contidos nos ascos, que é uma célula em forma de clava (contém oito ascósporos, mas pode variar de um a centenas). Os ascos podem estar separados ou contidos em ascocarpos. Há vários tipos de ascomas (ascocarpos) (Figura 4.8), que são característicos de cada espécie.



Figura 4.8. Tipos de ascomas.
FONTE: Modificado de Silveira (1995, p. 130).

A reprodução assexuada pode ocorrer por fissão, fragmentação, sorédias, clamidósporos e esporos. Os esporos assexuados são produzidos nas extremidades das hifas (conídias) sustentados por uma hifa (conidióforo). Os conidióforos podem ser nus ou reunidos formando estruturas de frutificação (picnídeos, acérvulos, esporodóquios e sinemias) (Figura 4.9).

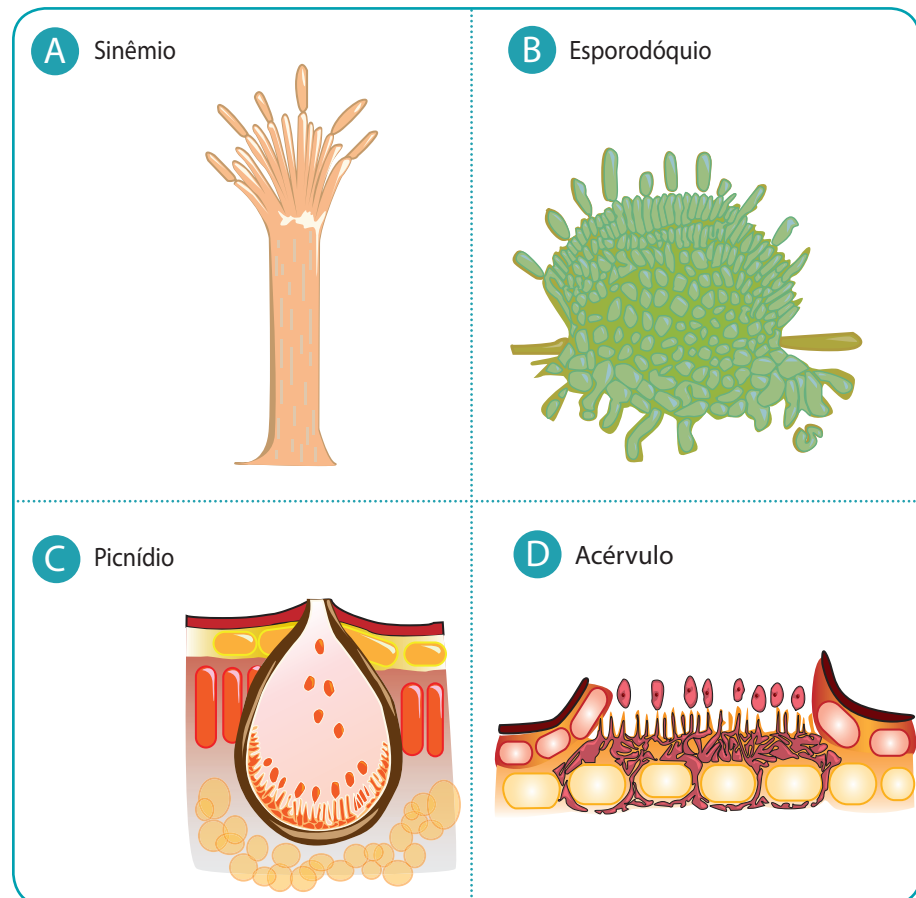


Figura 4.9. Tipos de conidióforos. FONTE: Modificado de Silveira (1995, p. 25; 28).

Os ascomicetos apresentam diferentes ciclos de vida. Podem iniciar o ciclo com a germinação dos esporos (ascósporos ou conídias) por um ou mais tubos germinativos, desenvolvendo hifas e formando micélio. A produção de micélio pode levar a produção de conídias, providenciando um contínuo fornecimento de esporos durante uma estação ou ano. Quando determinadas condições ocorrem, inicia-se o processo de reprodução sexuada. Dependendo do caso há a necessidade do encontro de hifas compatíveis, em outros, a ascogônia e o anterídio diferenciam-se das células somáticas. Os núcleos dos anterídeos passam para a ascogônia pelo

tricógeno. Após a plasmogamia, a ascogônia pode desenvolver hifas ascogênicas (dicariótica), com os núcleos dividindo-se por mitose e, em seguida, ocorre a cariogamia, seguida de meiose, produzindo quatro células haploides que por mitose daram oito. Os ascósporos maduros são liberados e dispersos e o ciclo se repete.

As leveduras possuem reprodução assexuada por fissão ou brotamento e sexuada com produção de ascos com quatro ascósporos.

O filo apresenta espécies que atuam como saprógenos (degradadores de celulose, hemicelulose e lignina); parasitas, patógenos (*Claviceps purpurea*) e predadores (de nematoides); simbiontes de algas (formando os líquens) e plantas (micorrizas). A espécie *Saccharomyces cerevisiae* é um importante fermentador de açúcares produzindo bebidas (cerveja, vinho e cachaça) e combustível (álcool).

Basidiomycota

São fungos superiores, apresentando micélio septado com grampo de conexão e dolipore. O filo apresenta a reprodução assexuada através de conídias e sexuada por basidiósporos. Os basídios são formados após plasmogamia, cariogamia e meiose (os dois últimos ocorrem no basídio) dando origem a quatro basidiósporos haploides dispostos sobre a sua superfície.

O ciclo de vida dos basidiomicetos pode ser resumido nos seguintes passos: os esporos (conídias e basidiósporos) germinam dando origem a hifas e micélios haploides. O fungo pode reproduzir-se pela produção de esporos assexuados a partir do micélio ou hifas compatíveis que se fundem, formando um micélio dicariótico (dois núcleos em cada célula). O micélio dicariótico desenvolve-se por divisão simultânea dos dois núcleos. O micélio dicariótico se diferencia em basidiocarpo (corpo de frutificação que produz basídios) ou em micélio produtor de basídio. Nos basídios são produzidos os basidiósporos.

Os basidiocarpos são as estruturas fúngicas mais visíveis a campo. Embora alguns permaneçam imersos nos substratos (hipógenos) como as trufas, outros emergem a superfície podendo permanecer fechados como os Gasteromycetos (*Pisolithus*) ou aberto como os cogumelos (*Agaricus*), apresentando chapéu, lamela e estipe (Figura 4.10).

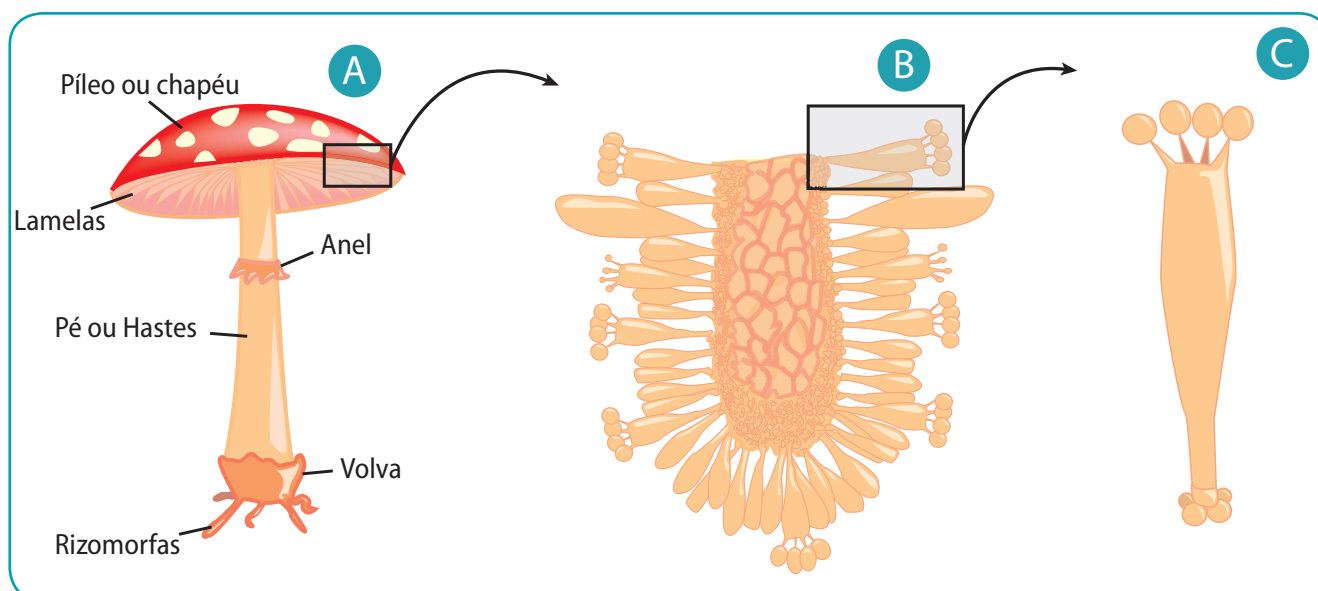


Figura 4.10. Partes do basidióforo. FONTE: modificado de Silveira (1995, p. 29).

O filo apresenta espécies que são utilizadas na alimentação (*Agaricus*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus*), decompositoras de celulose, ectomicorrizas (*Laccaria*, *Amanita*, *Scleroderma*, *Pisolithus*) e patogênicas (*Armillaria*). Patógenos vegetais que causam doenças, como a ferrugem e o carvão, tem ciclos complexos, passando por um ou dois hospedeiros e estágios sucessivos de esporulação, geralmente dependentes das condições climáticas.

Deuteromycota

São fungos superiores, apresentando micélio septado. São conhecidos como fungos imperfeitos, pois não é conhecida a fase sexual (fase teleomórfica), apenas a assexuada (anamórfica). Constitui-se então de um grupo artificial ou uma morfoclasse. É possível que alguns representantes possam realmente não possuir a reprodução sexuada, podem ter perdido definitivamente essa característica, mas também pode ocorrer que essa característica não tenha sido descoberta. A descoberta muitas vezes é difícil, pois alguns só se reproduzem sexuadamente em determinadas condições. Além disso, pode ser difícil identificar as estruturas reprodutivas. Por isso, quando identificados, normalmente são pertencentes ao filo Ascomycota e mais raramente ao Basidiomycota. O gênero *Arthrotrix* há muito conhecido dos micólogos, só foi identificado como pertencente à Ascomycota

em 1994. Muitas vezes a espécie é reclassificada, isto cria muita confusão pois o fungo pode receber nomes diferentes na fase teleomórfica e na anamórfica. No entanto, como o estágio sexual é raro e o assexuado é mais conhecido, a espécie continua a ser referida como tal. O gênero *Penicillium*, conhecidos como Deuteromycota típico, na realidade é um Ascomycota pertencente ao gênero *Talaromyces*.

Mesmo não conhecendo a fase sexuada, algumas características apresentadas no micélio facilitam a identificação. A presença de dolíporo é característica de Basidiomycota, enquanto que poro simples é típico de Ascomycota.

Diante da falta de reprodução sexuada, a identificação e a classificação desse grupo ficam restritas à reprodução assexuada, que ocorre pela produção de conidióforos tendo nas extremidades as conídias. O conidióforo é constituído de uma única hifa ou pode ser ramificada, carregado as células conidiogênicas (células das quais são formadas as conídias, as fialides). Os conidióforos podem ser simples ou agrupados formando estruturas especializadas como:

- **Sinêmias:** Reunião de hifas (Figura 4.9. A).
- **Esporodóquio:** Forma de almofada (Figura 4.9 B).
- **Picnídio:** Forma de figo (Figura 4.9 C).
- **Acérvulo:** Formado em tecidos vegetais (Figura 4.9 D).

A Deuteromycota pode apresentar, ainda, outras estruturas assexuais de propagação como; esclerócios, estroma e clamidósporos.

O grupo apresenta decompositores de matéria orgânica (*Aspergillus*, *Penicillium*), produtores de antibióticos (*P. notatum* e *P. Chrysogenum*) e patogênicos como a *Candida albicans*, uma levedura oportunista que provoca candidíase, na boca e vagina em humanos.

4.5 Disseminação

Geralmente ocorre através dos esporos, mas outras estruturas podem ser utilizadas como clamidósporos, esclerócios e micélio.

Os principais veículos utilizados são:

- a) **Vento:** Como os esporos são normalmente pequenos e leves, esse é o principal veículo utilizado. Alguns esporos, para facilitar o deslocamento, apresentam estruturas denominadas de fulcros. Cleistotécios apresentam fulcros com ganchos, que se unem uns aos outros aumentando a superfície e facilitando a planagem. Outros esporos possuem fulcros higroscópicos. Quando as condições para a disseminação são adequadas, vento seco, eles ficam em “pé”, caso contrário, eles permanecem “deitados”, dificultando a dispersão.
- b) **Água:** Para os fungos considerados superiores ela não é um veículo importante. Mas, para os que produzem zoósporos, a presença de orvalho, gotas de chuva, a formação de películas de águas e corpos aquáticos, fornecem as condições essenciais à propagação.
- c) **Solo:** É particularmente importante como reservatório para espécies que sobrevivem como saprógenos ou como parasitas facultativos no solo. Desta forma, o deslocamento do solo por implementos agrícolas, veículos, mudas e pelo homem contribuem para a disseminação.
- d) **Homem:** Através de suas atividades e no trânsito, podem levar de várias formas os fungos para outras regiões. Os agricultores devem dar atenção especial aos funcionários (“boias-frias”) que prestam serviços em diferentes propriedades.
- e) **Sementes:** Sementes contaminadas, contendo micélio no seu interior ou mesmo esporos que estão juntas as sementes. Esclerócios de *Sclerotium rolfsii* tem o tamanho das sementes de mostarda, couve e outras crucíferas e, portanto, não são separadas durante o beneficiamento, sendo conduzidas junto com as sementes.
- f) **Insetos:** Podem carregar no seu corpo esporos e micélio ou ainda alimentando-se de plantas contaminadas podem eliminar os esporos através das fezes.
- g) **Outros:** Esporos, ou micélio, também podem ser transportados aderidos às penas e pelos de animais. Herbívoros, ao se alimentarem de plantas, podem consumir esporos que são liberados através das fezes.

4.6 Importância

Os fungos são de grande importância na natureza. A seguir são descritas as áreas onde atuam:

- a) **Decomposição da matéria orgânica e ciclagem dos nutrientes:** A principal função dos fungos é atuar na decomposição da matéria orgânica realizando a ciclagem dos nutrientes. Eles também podem provocar danos na decomposição de tecidos, madeiras e colheitas, pois eles não vão diferenciar uma fibra, um galho, ou uma semente inviável que cai ao solo, de um produto ou um bem útil ao homem.
- b) **Produção de alimentos:** Cogumelos e biomassa.
- c) **Síntese de substâncias:** Álcool, bebidas, ácidos orgânicos, enzimas, vitaminas, corantes e antibióticos.
- d) **Parasitas de animais, plantas e microrganismos:** Ocasionalmente causam danos nas criações e culturas, como parasitas também podem ser utilizados no controle biológico de ervas e insetos.
- e) **Simbiontes:** Como as micorrizas (fungos e raízes) que favorecem o crescimento das plantas, ou como os líquens (fungos e algas), que fornecem alimentos a uma gama de animais em regiões de tundras.

4.7 Nova classificação dos Fungos

Uma nova árvore filogenética, com base em análises de biologia molecular, foi proposta por Hibbet et al. (2007) e que classifica os fungos em sete filos, sendo cinco filos de fungos basais: Chytridiomycota, Neocallimastigomycota, Blatocladiomycota, Microsporidia e Glomeromycota; e dois filos de um sub-reino Dikarya: Basidiomycota e Ascomycota. Como esta parte ainda é recente, muita polêmica existe entre os estudiosos. Fique ligado nos novos desdobramentos dessa interessante área de ciência, que classifica e separa os organismos semelhantes em grupos afins.

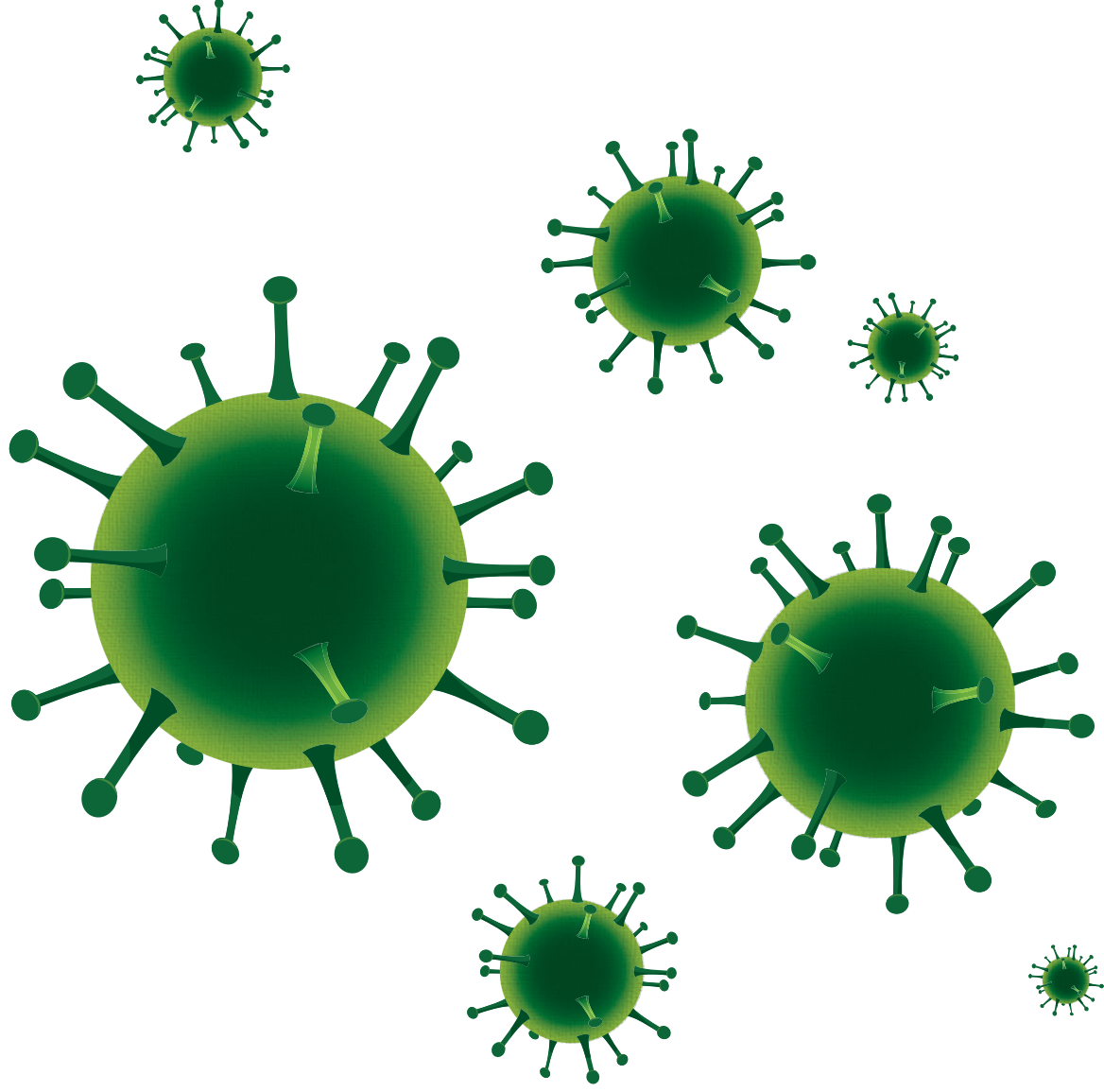
Resumo

Os organismos pertencentes ao reino Fungi são caracterizados por serem eucariotos e heterotróficos que se nutrem por absorção. As características morfológicas como tipo de micélio, esporos sexuais e assexuais são utilizados como base na classificação destes organismos. Por questões de praticidade e históricas, são estudados pelos micólogos além dos organismos pertencentes ao reino Fungi, os filos Myxomycota, Acrasiomycota, Plasmodiophoromycota e Dictyosteleomycota do reino Protista e os filos Oomycota, Hyphochytridiomycotae e Labyrinthulomycota do reino Stramenopila. O reino Fungi apresenta quatro filos (Chytridiomycota, Zygomycota, Ascomycota e Basidiomycota) e uma morfoclasse (Deuteromycota). O Chytridiomycota apresenta micélio não septado e é o único grupo dos fungos verdadeiros que apresenta esporos móveis. O Zygomycota apresenta micélio não septado, esporos sexuais do tipo zigósporo e assexuais do tipo esporangiósporos. Os filos Ascomycota e Basidiomycota e a morfoclasse Deuteromycota apresentam micélio septado e esporos assexuais nas extremidades das hifas denominados de conídios. O Ascomycota apresenta esporos sexuais endógenos em ascos denominados de ascósporos. Os esporos sexuais do Basidiomycota são exógenos presentes nas extremidades de basídios, sendo denominados de basidiósporos. Os fungos desempenham importantes funções no ambiente como a degradação de compostos orgânicos propiciando a ciclagem dos nutrientes, bem como podem trazer prejuízos na deterioração de produtos e materiais. São responsáveis pela síntese de inúmeras substâncias de interesse econômico como: antibióticos, álcool e bebidas. Na agricultura, podem ser utilizados como alimentos (cogumelos e queijos) e são responsáveis pela associação com plantas, as micorrizas, que podem favorecer o crescimento vegetal. Na natureza, podem existir na forma de líquens, que são associações com fungos e algas. Em adição, podem causar doenças em plantas e animais, incluindo os seres humanos.

Referências

- ALEXOPOULOS, C. J.; MIMS, C. W.; BLACKWELL, M.
Introductory Mycology. 4. ed. New York: John Wiley & Sons, Inc., 1996. 869 p.
- HIBBETT, D.S. et al. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. **Mycological Research III**, 2007, p. 509-547.
- MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M; PARKER, J.
Microbiologia de Brock. 10. ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2004. 608 p.
- PELCZAR JR, M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R.
Microbiologia: Conceitos e Aplicações. 2. ed. São Paulo: Makron Books, 1996. 524 p.
- PELCZAR JR, M. J.; REID, R.; CHAN, E. C. S. **Microbiologia**. São Paulo: Mc Graw Hill Ltda, 1980. 566 p.
- SILVEIRA, V. D. **Microbiologia**. 5. ed. Rio de Janeiro: Âmbito Cultural, 1995. 336 p.

CAPÍTULO 5



Vírus

Neste capítulo serão estudados os vírus, com destaque para as características gerais, taxonomia, ciclos de vida, cultivo, outros agentes infecciosos e as viroses.

5.1 Introdução

Um dos agentes infecciosos mais interessantes estudados em microbiologia e que está diariamente na mídia são os vírus. De forma bastante comum, ouvimos falar de doenças causadas por eles e que assolam milhares de pessoas mundialmente. Recentemente, estão em discussão os efeitos do vírus H1N1, inicialmente chamado de vírus da gripe suína. Muita gente ficou preocupada com a sua expansão e até chegou a utilizar máscaras de proteção. Na época do inverno somos bombardeados com as informações de vírus de gripe e de resfriados. Outro vírus que está sempre nas conversas do cotidiano é o HIV, causador da AIDS. Há os que causam a febre aftosa, em gado, por exemplo, e têm grande impacto econômico. Atualmente, muito se fala da dengue, uma terrível doença que já matou várias pessoas no Brasil.

Afinal, quem são os vírus?

Curiosamente, a palavra vírus vem do latim e significa “veneno”. Isso mesmo. Veneno. Será que os vírus são veneno? Por que eles têm esse estranho nome?

Como você já estudou, os microscópios mais rudimentares surgiram não faz tanto tempo assim e muitas doenças causadas por eles somente puderam ser identificadas mais recentemente. Pois bem, quando as pessoas não conseguiam associar uma determinada enfermidade com as bactérias ou outros seres vivos, logo diziam que o agente causador era um veneno. Foi então que surgiu a expressão: “veneno”, ficando até os dias de hoje.

Outra questão interessante e que vale uma reflexão é se os vírus são considerados seres vivos ou não. Há quem diga que sim pois, como vamos ver mais para frente, eles se multiplicam dentro de células, tanto animais como vegetais, e tem ácidos nucleicos em sua constituição (o DNA ou o RNA). Entretanto, há quem defenda a ideia que não podem ser considerados seres vivos porque não eles não possuem, como nos seres vivos, células organizadas com as diferentes organelas. A grande maioria dos microbiologistas segue esse argumento. Mas, como você também pode ver e concordar, o assunto é bastante polêmico, já que eles causam grandes estragos. O importante é que eles estão em nosso dia a dia e merecem um lugar especial no estudo da microbiologia e de tantas outras ciências em que estão presentes. Há o lado benéfico deles, claro, no sentido de que há um grande potencial da utilização de vírus na produção de vacinas e medicamentos, entre tantos outros exemplos de aplicação discutidos na parte de biotecnologia da nossa disciplina.

Um químico holandês chamado Adolf Mayer mostrou, em 1886, que uma importante doença na planta de fumo podia ser propagada para outra planta, aparentemente sadia. Dmitri Iwanowski, um russo que estudava bactérias, em 1892, estudou a seiva dessas plantas e provou que a seiva pode, mesmo filtrada, contaminar outra planta. Inicialmente, ele pensou que era uma bactéria, mas a partir de 1900, através de outros estudos científicos, chegou-se à conclusão de que eram organismos únicos, diferentes estruturalmente das bactérias. Foi então feita a distinção entre esses dois tipos de agentes causadores de doenças. Em 1935 Stanley, um cientista norte-americano, isolou esse vírus e mostrou com o auxílio do microscópio eletrônico a sua estrutura bastante exótica, diferente de bactérias. Como você pode ver o vírus do mosaico do fumo ou tabaco teve um importante papel no estudo desses organismos, hoje largamente estudado em relação às doenças em pessoas. Exemplos dessas enfermidades são: o vírus do HIV, identificado em 1983 através de isolados de macacos na África, o hantavírus, que causa doenças severas em animais e seres humanos e que foi estudado em 1993, nos Estados Unidos, e o vírus Ebola, causador da febre hemorrágica identificado, em 1995, na África.

5.2 Características gerais dos vírus

Os vírus são agentes infecciosos que podem ser entre 10 a 100 vezes menores do que as bactérias (Figura 5.1). Seu tamanho médio está na faixa de 20 a 300nm. São vistos apenas pelo microscópio eletrônico e têm uma estrutura que, em linhas gerais, é uma capa de proteína que contém no seu interior um ácido nucleico, que pode ser o DNA ou RNA. Eles não crescem de forma isolada como muitos fungos e bactérias, em meios de cultura. Podem crescer em condições *in vitro*, em placas de Petri, mas apenas se células estiverem crescendo conjuntamente. Fora das células, eles são inativos.

Outra característica desse grupo de organismos é que eles são chamados de parasitas de máxima sofisticação, porque “enganam” as células para produzirem o material genético, que é deles. Em outras palavras, eles direcionam a maquinaria genética microbiana para produzir o material que irão formar as partículas virais. Curiosamente, algumas enzimas acabam destruindo a própria célula para que eles, os vírus, possam ser propagados e espalhados no meio ambiente, contaminando outros organismos. Veja que interessante e que forma inteligente de sobrevivência.

A estrutura básica dos vírus é chamada de vírion, que é a partícula viral completa. Ela corresponde ao ácido nucleico envolvido por uma membrana de proteína e, às vezes, por outra camada externa, chamada de envelope. Esta última composta de lipídeos, carboidratos e proteínas. O termo capsídeo é usado para descrever a capa de proteína e o ácido nucleico interno (Figura 5.2 e Figura 5.3). Os capsômeros são as unidades básicas de proteínas que formam os capsídeos. Os ácidos nucleicos podem ser de fita simples ou dupla.

As formas dos vírus são as mais variadas, de esférico a poliedros, compostos por vários vértices. Há também as formas alongadas, helicoidais, parecendo bastões, como é o caso de muitos vírus de células vegetais (Figura 5.4, Figura 5.5 e Figura 5.6). Uma forma curiosa são as dos bacteriófagos, que são os que atacam bactérias e apresentam um jeito diferente, contendo uma cabeça, um corpo e unidades de fixação que parecem com pernas de animais. Os bacteriófagos foram descobertos em 1915, na Inglaterra, pelo cientista Frederick Twort, e, posteriormente, em 1917, na França, a existência desses foi

confirmada por Felix d'Hérelle. Os colifagos são exemplos de vírus que atacam bactérias da espécie *Escherichia coli*.

5.3 Taxonomia viral

Os virologistas formaram, em 1966, o Comitê Internacional de Taxonomia Viral (CITV) que procurava agrupar os vírus por categorias ou famílias. Exemplos de famílias de vírus são: Adenoviridae, como os **adenovírus**; Herpesviridae e Picornaviridae, como os enterovirus

- **Adenovírus**
- Os Adenovirus são um grupo
- de vírus muito frequentes
- de genoma de DNA duplo
- (dupla hélice). Não possuem
- envelope bilipídico e são
- extremamente resistentes.

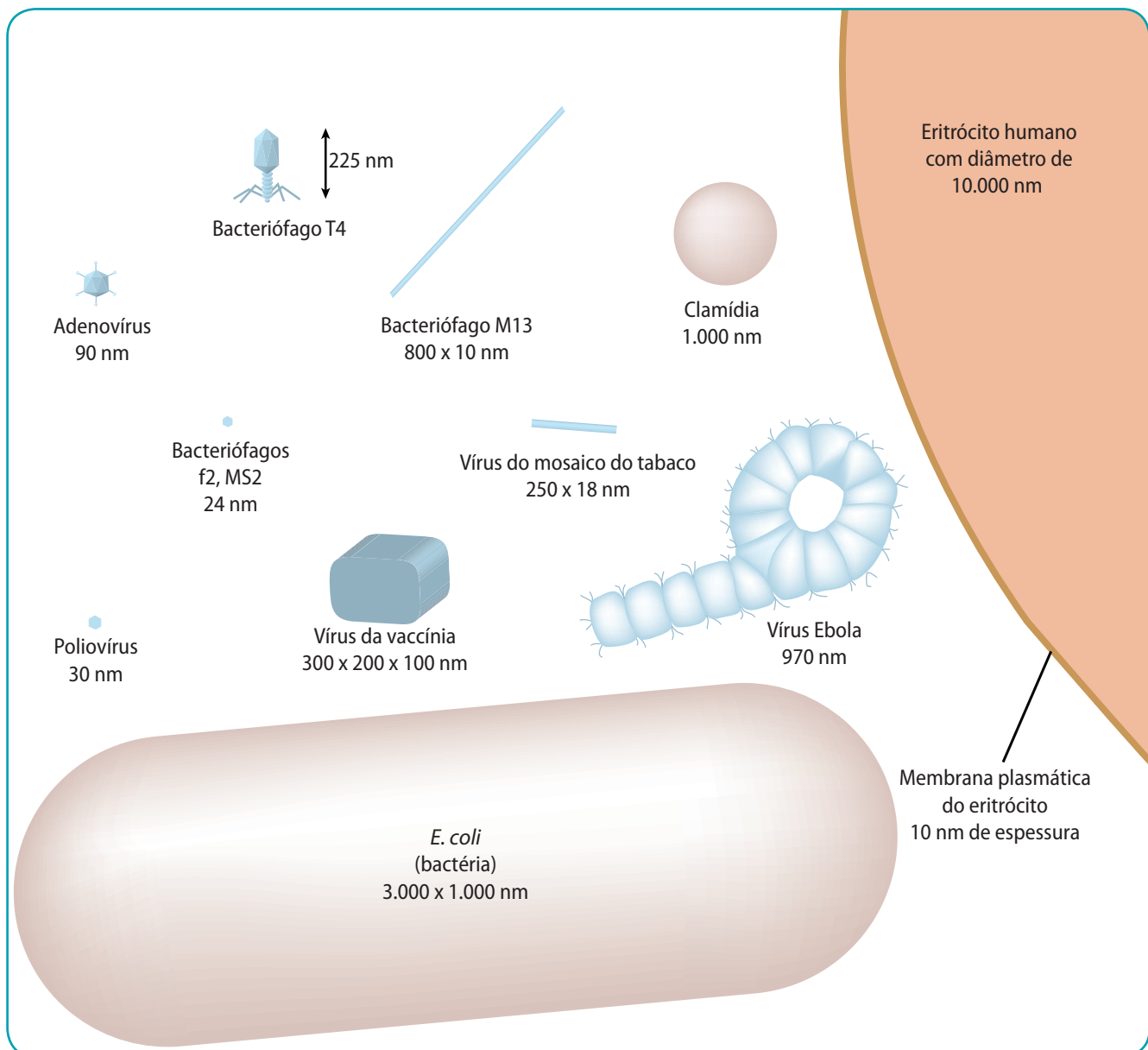


Figura 5.1. Tamanho comparativo de vírus e células. FONTE: Modificado de Tortora et al. (2000, p. 361).

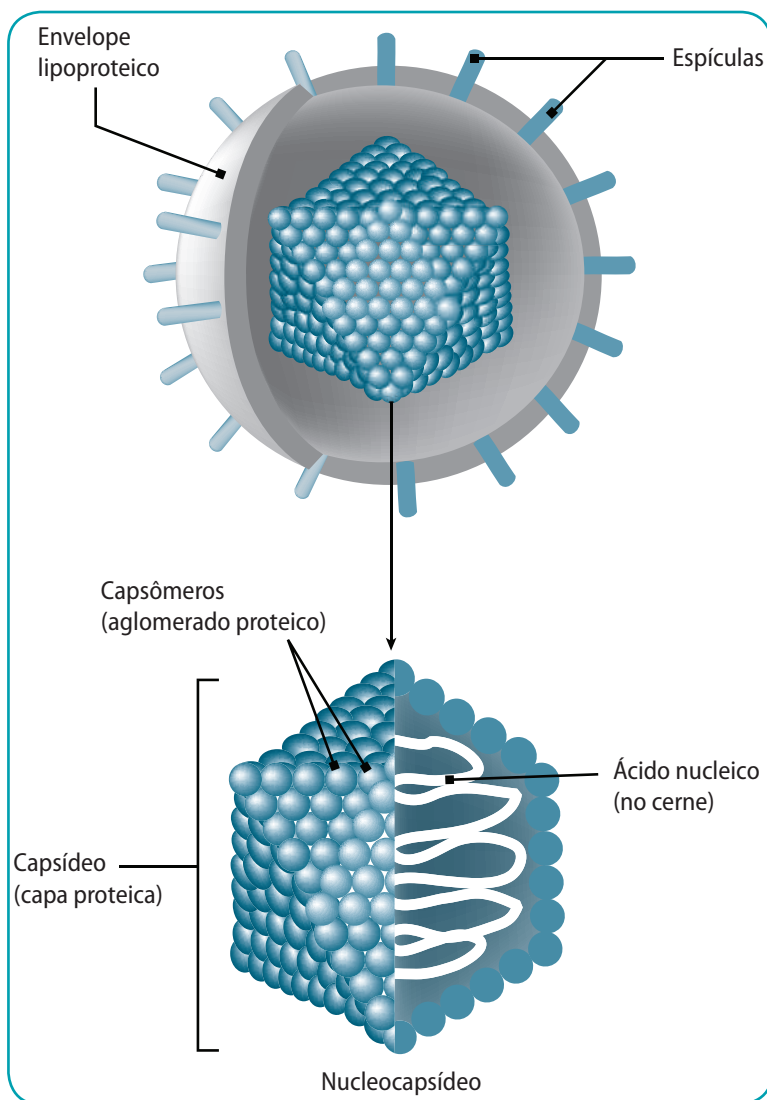


Figura 5.2. Partes de uma partícula viral. FONTE: Modificado de Pelczar et al. (1996, p. 380).

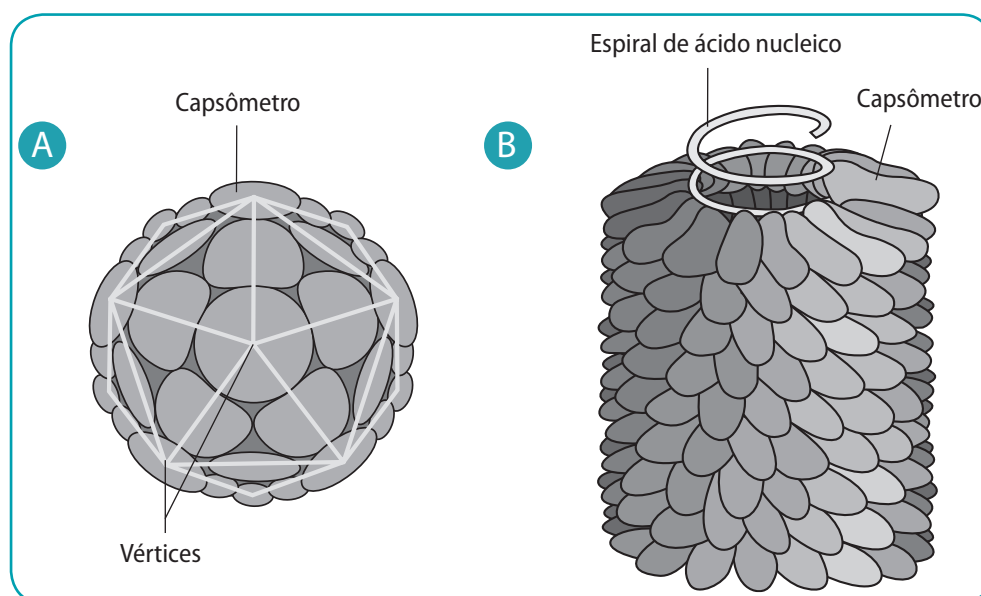


Figura 5.3. Detalhes dos vírus. FONTE: Modificado de Pelczar et al. (1996, p. 380).

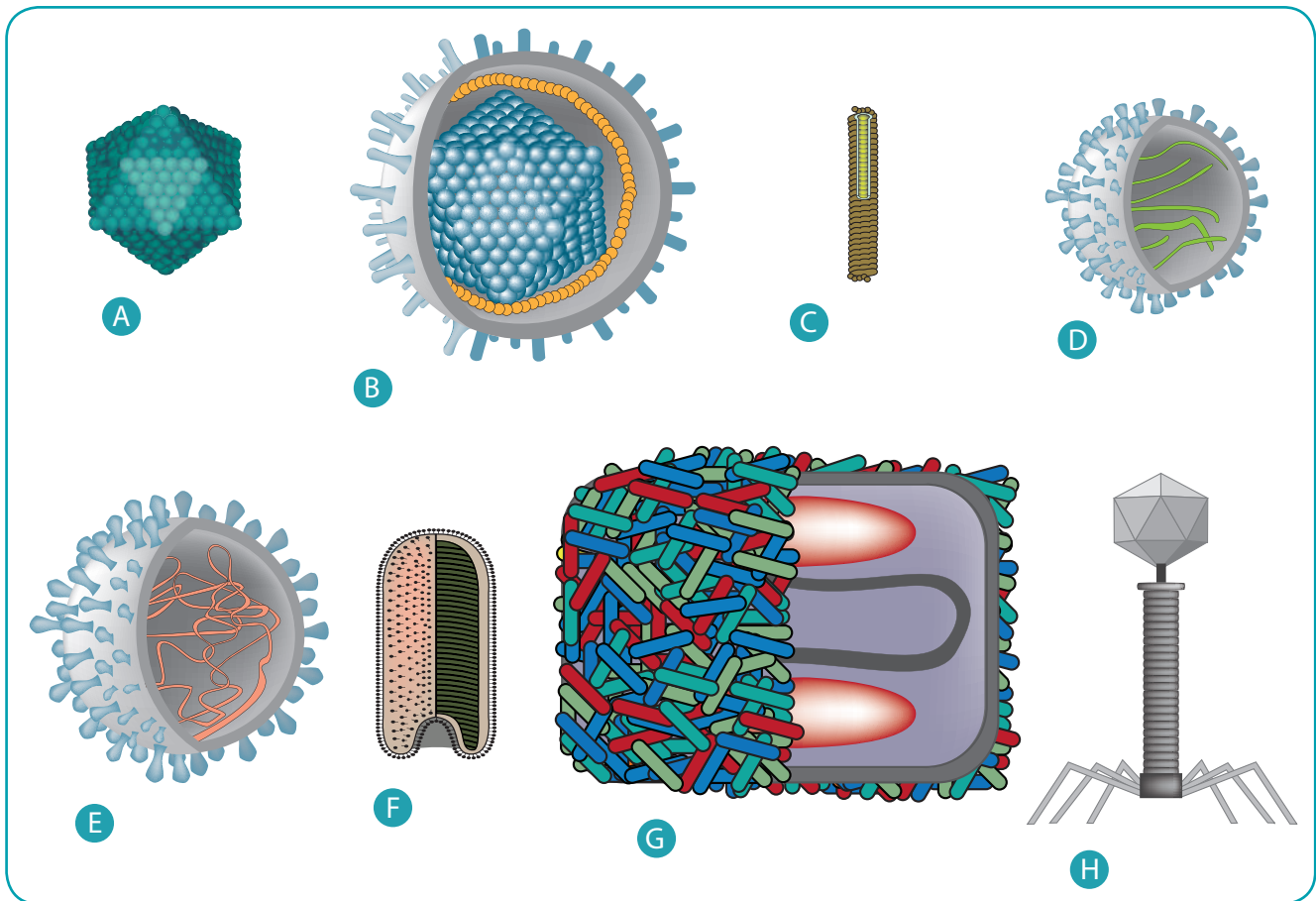


Figura 5.4. Tipos de vírus gerais: (A) pólio; (B) herpes; (C) mosaico do fumo; (D) influenza; (E) sarambo, caxumba; (F) raiva; (G) poxvírus. FONTE: Modificado de Pelczar et al. (1996, p. 383).

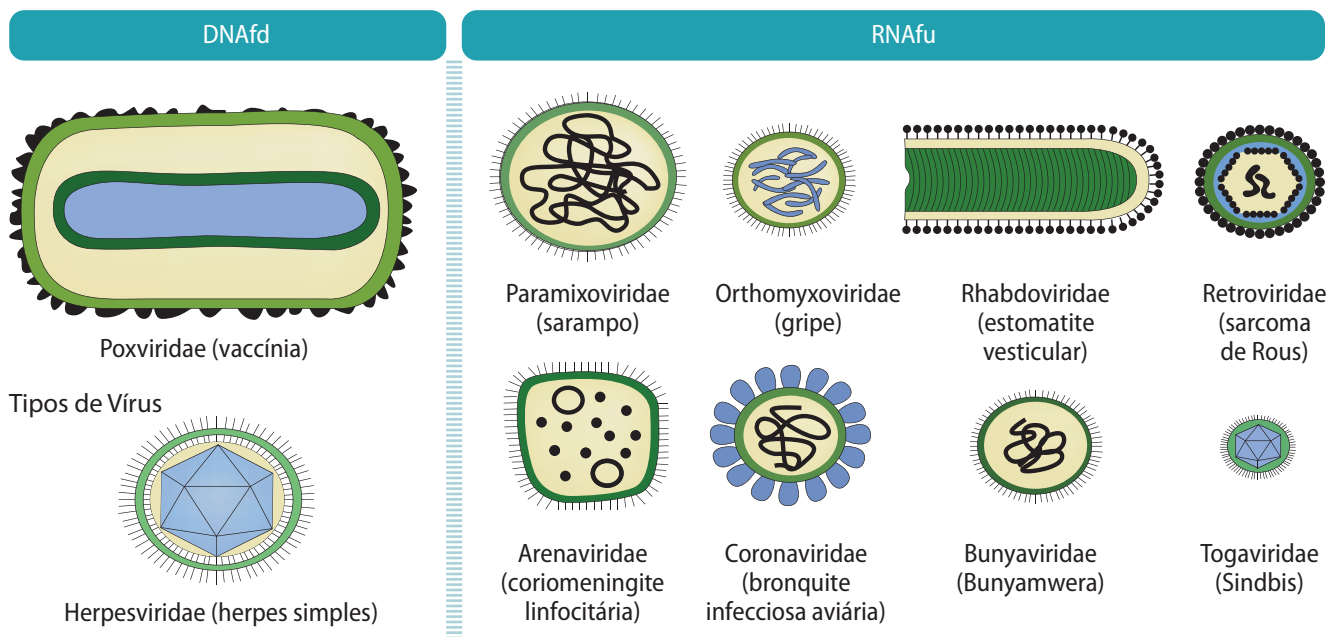


Figura 5.5. (A) Tipos de vírus com envelope. (B) Tipos de vírus não envelopados. FONTE: Modificado de Pelczar et al. (1996, p. 399).


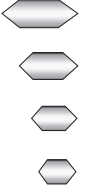



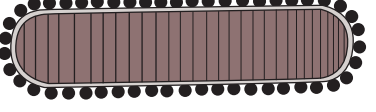





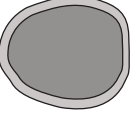




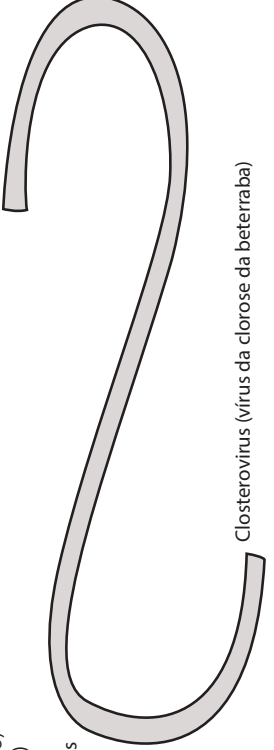

NÃO ENVELOPADOS		ENVELOPADOS
DNAfd	RNAfu	RNAfu
 Caulimovirus (virus do mosaico da couve-flor)	 Grupo dos vírus do mosaico da alfafa  Larivirus (virus da necrose branca do tabaco)  Bromovirus (virus do mosaico do capim bromo)  Cucumovirus (virus do mosaico do pepino)	 Rhabdoviridae (virus da necrose amarela da alface)
RNAfd  Reoviridae (virus do tumor de feridas)	 Nepovirus (virus da mancha anelar do tabaco)  Comovirus (virus do mosaico do feijão-de-corda)  Carlavirus (virus latente do cravo)  Potyvirus (virus Y da batata)	 Grupo dos vírus vira-cabeça do tomateiro
DNAfu  Geminivirus (virus do maize streak)	 Tymovirus (virus do mosaico amarelo dos nabos)  Tombusvirus (virus do nanismo do tomateiro)  Sobemovirus (virus do mosaico do feijoeiro)  Grupo dos vírus da faixa clórica das nervuras do milho Closterovirus (virus da clorose da beterraba)  Luteovirus (virus do nanismo amarelo da cevada)	100 nm

Figura 5.6. Tipos de vírus em plantas. FONTE: Modificado de Pelczar et al. (1996, p. 400).

e rinovirus. As famílias dos vírus são agrupadas com base no tipo de ácido nucleico, na forma de replicação e na morfologia. O termo espécie viral é um grupo de vírus, dentro da família, que apresenta a mesma informação genética e nicho ecológico. Enterovirus e rinovirus são exemplos de um gênero viral importante e bastante comum em várias doenças humanas. A poliomielite é um exemplo de enterovirus e os rinovirus são exemplos dos que causam resfriados.

5.4 Ciclo de vida dos bacteriófagos

Há dois tipos de ciclos de vida dos vírus que atacam as bactérias: o ciclo lítico, que destrói a célula hospedeira (Figura 5.7) e o ciclo lisogênico que não destrói a célula hospedeira (Figura 5.8). O termo fago temperado é usado para aqueles vírus que infectam a célula, mas não a matam. O vírus virulento é o que causa quebra (lise) ou mata o hospedeiro.

As fases do ciclo lítico são: adsorção, após a fixação na superfície da célula hospedeira, injeção do material genético, transcrição das informações genéticas, síntese de proteínas, montagem das estruturas virais e liberação.

O ciclo lisogênico apresenta uma variante que a célula não é destruída, podendo o material genético viral fazer parte do genoma da bactéria. Após um determinado ponto, pode ocorrer paralelamente o ciclo lítico, com a liberação dos vírus.

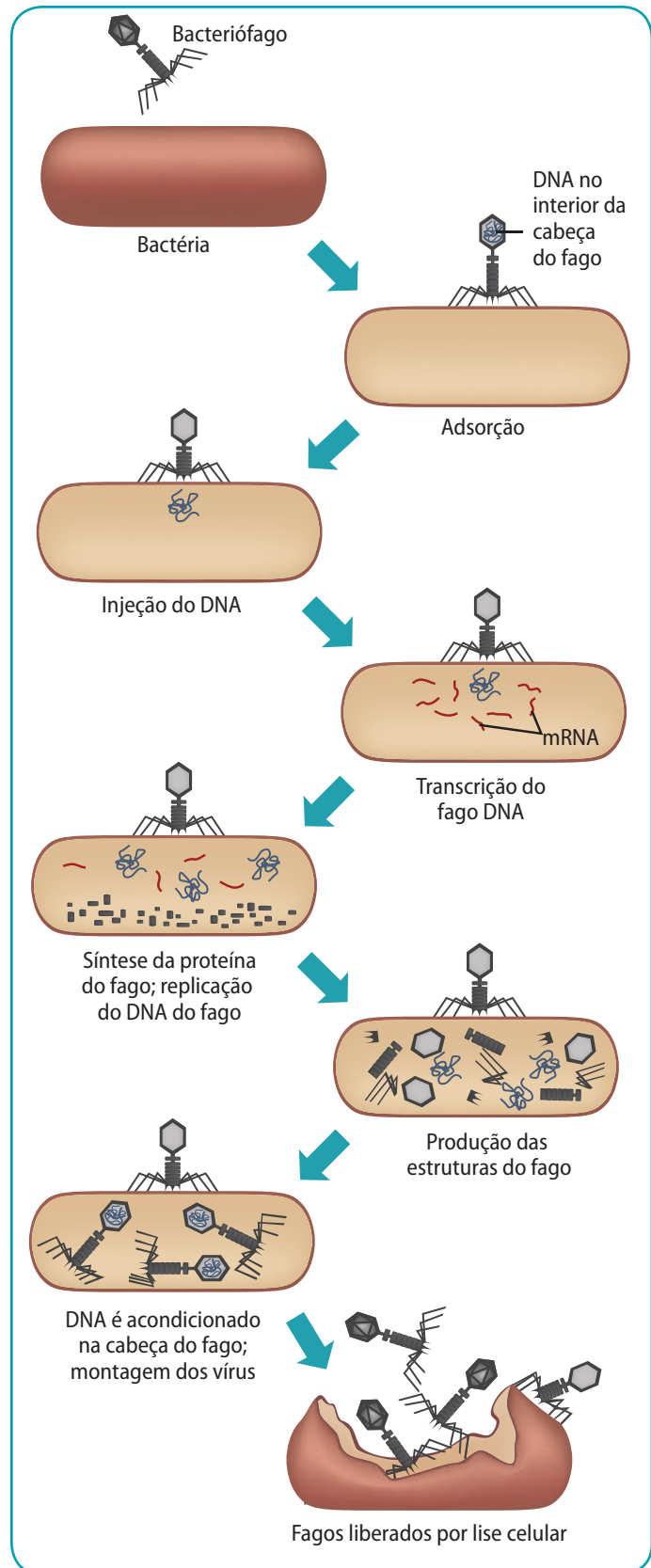


Figura 5.7. Ciclo lítico dos vírus. FONTE: Modificado de Pelczar et al. (1996).

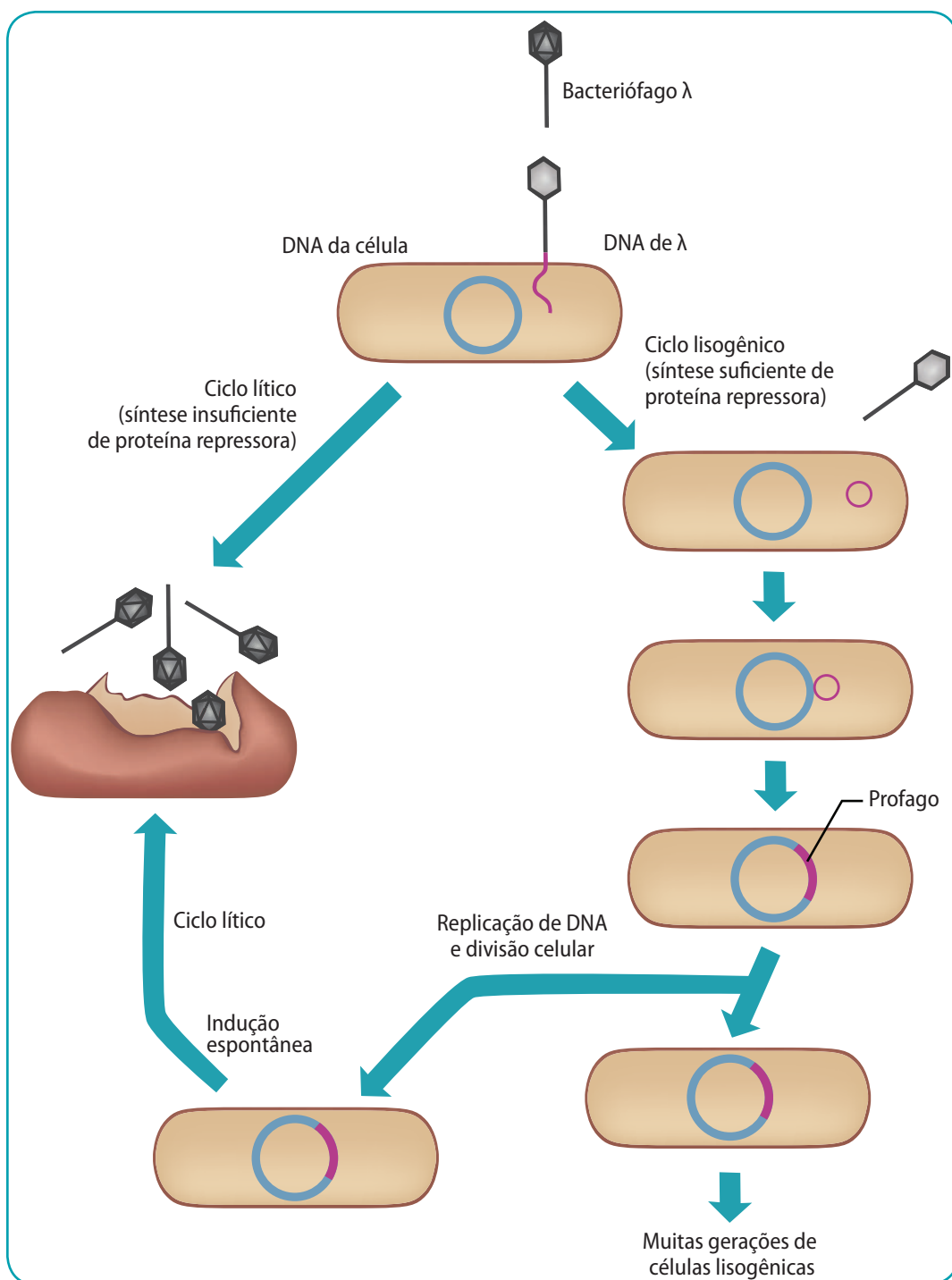


Figura 5.8. Ciclo lisogênico dos vírus. FONTE: Modificado de Pelczar et al. (1996).

Em células de animais e de plantas as etapas são normalmente parecidas e seguem uma fixação, penetração, síntese de partículas virais, montagem e liberação.

5.5 Cultivo dos vírus

Como citado, os vírus não se multiplicam sozinhos e, por essa razão, são de difícil estudo, por não crescerem em meios de cultura tradicionais. Os bacteriófagos crescem em culturas bacterianas, em formas sólidas ou líquidas. Os vírus animais são estudados em partes animais, como células e ovos embrionários. Os vegetais crescem em partes ou células de plantas, com destaque para a seiva, e formando, nas folhas, um sintoma típico que é chamado de mosaico, com várias tonalidades de cores. Há outros que atacam os vasos, bloqueando a passagem de líquido e de nutrientes para outras partes da planta.

5.6 Outros agentes infecciosos

Em adição aos vírus, que causam uma gama vasta de doenças, há outros agentes infecciosos que são também muito importantes na área de saúde animal e humana: príon e viroide. Os príons são agentes compostos de proteínas infecciosas e o exemplo típico é o da doença da vaca louca, que assolou grande parte do rebanho de gado na Grã-Bretanha em 1987. Os viroides são compostos de moléculas de RNA, em fita simples, em forma circular e causam doenças em plantas.

5.7 Viroses

O termo virose é empregado para descrever a doença causada por vírus. Alguns exemplos em pessoas, animais e plantas são dados a seguir, entre tantos já descritos na literatura. Exemplos de várias doenças de grande importância para os seres humanos são: dengue, raiva, caxumba, rubéola, sarampo, catapora, hepatite, AIDS, resfriado, gripe e febre amarela. Em animais, há a bronquite infecciosa aviária, gripes, febre aftosa e mancha branca do camarão. Em plantas, há a murcha do tomateiro, virose do mamoeiro, o vírus do vira-cabeça em tomateiro, mosaico em alface e tristeza dos citros.

Resumo

Os vírus são agentes infecciosos que estão numa classificação polêmica. Para muitos não são seres vivos porque não possuem células, mas para outros são porque têm material genético e se multiplicam dentro de células. São vistos pelo microscópio e apresentam uma estrutura simples de capa proteica, com ou sem envelope externo, e o material genético dentro, sendo DNA ou RNA. São chamados parasitas de máxima sofisticação porque “enganam” as células, conduzindo a sua maquinaria genética para a própria replicação. Os vírus que atacam as bactérias são os bacteriófagos e ocorrem dois tipos de ciclos: o lítico, que destrói, e o lisogênico, que não destrói a célula. Os vírus não se reproduzem em meios de cultura sem a presença de células. Potencialmente, podem ser utilizados nos processos de engenharia genética, na obtenção de produtos e em processos biotecnológicos.

Referências

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. **Microbiologia de Brock**. 10. ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2004. 608 p.

PELCZAR JR, M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. **Microbiologia: Conceitos e Aplicações**. 2. ed. São Paulo: Makron Books, 1996. 524 p

PRESCOTT, L. M.; HARLEY, J. P.; KLEIN, D. A. **Microbiology**. 2. ed. Dubuque: W. C. Brown, 1993. 912 p.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2000. 827 p.

CAPÍTULO 6



Interações com microrganismos

Neste capítulo serão estudadas as interações que ocorrem entre os microrganismos e entre estes e as plantas e os animais.

6.1 Introdução

Durante a evolução da vida diversos tipos de relações foram desenvolvidas entre os organismos. O presente capítulo tratará apenas das interações que ocorrem entre microrganismos e entre estes, as plantas e os animais. As interações podem ser do tipo positivas ou negativas.

6.2 Interações positivas

Entre as interações positivas encontramos o neutralismo, o comensalismo, a protocooperação e a simbiose.

6.2.1 Neutralismo

O neutralismo se caracteriza pela inteira independência de um indivíduo, espécie ou população. Diante da complexidade de relações e atividades desenvolvidas pelos organismos é muito difícil imaginar que esse tipo de interação exista. Se ela acontecer deve ser entre indivíduos presentes em sítios muito distintos e afastados.

6.2.2 Simbiose

Também relatada como parasitismo controlado ou mutualismo. A palavra tem origem grega (*sim*= juntamente; *bios* = vida), ou seja, uma relação existente entre dois seres de vida em comum. No

uso geral, caracteriza-se como a relação em que há a conveniência para os dois, caracterizado por uma obrigatoriedade e especificidade, em que determinada atividade só é exercida na presença dos dois. Em muitos casos ela é necessária à sobrevivência de ambos.

São exemplos de simbioses:

- a) Associação entre bactérias do grupo rizóbio e leguminosas;
- b) Os líquens (fungos e algas);
- c) Bactérias e protozoários do rúmem;
- d) Micorrizas (fungos e plantas).

Essas associações serão discutidas de forma mais abrangentes nos capítulos posteriores.

6.2.3 Protocooperação

A exemplo da simbiose, a protocooperação é uma associação de benefícios mútuos, porém não exige dependência obrigatória e especificidade. Um microrganismo pode estar realizando determinada atividade (fixação de nitrogênio, degradação de um composto tóxico, liberação de determinado produto) que é útil a outro organismo, e esse por sua vez também pode estar executando alguma atividade que beneficia o anterior. No entanto, por diversas causas uma destas atividades pode ser interrompida e o tipo de interação muda.

6.2.4 Comensalismo

É a associação em que um indivíduo é beneficiado enquanto que o outro não sofre qualquer benefício ou prejuízo. É o tipo de interação mais comum que existe. São exemplos de comensalismo:

- a) Modificação do substrato nutritivo. Transformação da celulose por fungos celulolíticos em ácidos orgânicos que podem ser utilizados por bactérias e outros fungos não celulolíticos.
- b) Produção de substâncias e fatores de crescimento. Aminoácidos, vitaminas e fitohormônios que são utilizados por outros organismos que não conseguem sintetizá-los.

- c) Decomposição de produtos metabólicos ou substâncias tóxicas.
- d) Mudanças nas propriedades físicas ou químicas do habitat. Alteração no pH, pressão osmótica e composição atmosférica.
- e) Fornecendo o habitat. Em ambientes naturais, ocorrem as chamadas simbioses nutricionais. Nesses casos ocorrem inúmeras associações comensalistas interligadas, de forma que a decomposição de um determinado material é muito mais rápida do que quando é tratada de forma isolada com culturas puras. Isso ocorre devido a uma extensa rede de associação entre os decompositores, os que utilizam o material decomposto, os que sintetizam fatores de crescimento e os decompositores de substâncias tóxicas.

6.3 Interações Negativas

Entre as interações negativas encontramos a competição, o amensalismo, o parasitismo e a predação.

6.3.1 Parasitismo

Caracteriza-se por ser uma associação em que um dos membros obtém benefícios (parasita) em detrimento de outro (hospedeiro). É uma interação específica onde o parasita atinge um número limitado de espécies sendo que muitas vezes pode ser uma só. O hospedeiro permanece vivo pelo menos durante um determinado tempo, em que serve de habitat e fonte de nutrientes.

Os parasitas provavelmente surgiram a partir de microrganismos adaptados às estruturas externas do hospedeiro, vivendo à custa de excreções. Nesse local há intensa competição. Quem tiver a capacidade de invadir a célula obtém a vantagem da não competição.

Os parasitas podem ser obrigatórios ou facultativos. Os obrigatórios são completamente dependentes do hospedeiro. Requerem requisitos nutricionais muito especializados, crescendo apenas em uma espécie ou variedade e, às vezes, em apenas uma parte do hospedeiro. Como parasitas obrigatórios típicos temos os vírus, causadores de muitas doenças em animais e em plantas.

Os facultativos vivem tanto no hospedeiro como à custa de material orgânico morto. Fora do hospedeiro, crescem vagarosamente, podendo ser eliminados pela competição com saprófitos. Como exemplo, temos o *Ophiobolus graminis*, causador de doença nas raízes do trigo.

Embora os exemplos de parasitismo mais citados na literatura estejam relacionados a microrganismos com plantas e animais, eles também ocorrem entre os microrganismos. Devido ao seu tamanho reduzido, parece difícil imaginar que uma bactéria possa ser parasitada. O gênero *Bdellovibrio* é parasita de **rizóbio**. Bacteriófagos são parasitas de bactérias.

O termo patógeno não deve ser utilizado como sinônimo de parasita. Ele é utilizado quando o organismo causa uma doença. Um microrganismo pode ser patogênico sem ser parasita. O *Clostridium botulinum* causa danos sem ser um parasita. Ele se desenvolve por exemplo em conservas onde produz as toxinas, que ingeridas irão causar o **botulismo**.

6.3.2 Predatismo

A semelhança do parasitismo, o predatismo é uma associação entre dois organismos em que um dos sócios obtém vantagem (predador) enquanto o outro é prejudicado (presa). A presa é menor, não serve de habitat e serve como alimento geralmente representando uma refeição.

Exemplos de predação ocorrem entre os microrganismos. Muitos fungos capturam nematoides e protozoários; da mesma forma, os protozoários são os grandes predadores de bactérias do solo. Fungos do gênero *Arthrobotrys* produzem hifas que apresentam em sua extremidade três células em forma de anel. Quando um nematoide penetra no anel, as células se inflamam em décimo de segundo, prendendo-o. Após, algumas hifas crescem através da vítima e digerem o seu conteúdo.

6.3.3 Competição

Associação entre organismos que disputam a mesma coisa. Ao nível ecológico, ela se torna importante quando o objeto

Rizóbio

Bactéria heterotrófica com capacidade de formar nódulos simbióticos nas raízes de plantas, principalmente da família leguminosa, fixando nitrogênio atmosférico que é utilizado pela planta.

Botulismo

é uma forma de intoxicação alimentar, causada por uma toxina produzida pela bactéria *Clostridium botulinum*, presente no solo e em alimentos contaminados e mal conservados. A intoxicação se caracteriza por um comprometimento severo do sistema nervoso e, se não tratada a tempo, mata.

Interespecífica

Competição interespecífica -
ocorrem entre indivíduos de
espécies diferentes.

Intraespecífica

Competição intraespecífica -
ocorrem entre indivíduos da
mesma espécie.

em disputa não existe em quantidade suficiente para suprir as demandas, o que ocasiona prejuízos para ambas as partes. A competição pode ser **interespecífica** ou **intraespecífica**.

Esse tipo de interação negativa é a mais comum e a mais importante no ambiente. Ela pode ocorrer por nutrientes (fonte de energia, carbono e nitrogênio), espaço, oxigênio e elementos minerais. A competição por nutrientes é a mais importante. *Ophiobolus graminis*, um patógeno que ataca o sistema radicular de gramíneas, cresce no solo com boa disponibilidade de nitrogênio. Quando nessas condições são realizados procedimentos que diminuam a disponibilidade do nutriente (cultivo de plantas com alta capacidade extratora) o fungo é eliminado pela competição com a microbiota do solo.

6.3.4 Amensalismo

É o tipo de interação em que um organismo prejudica o outro sem obter benefício direto desta ação. Ela ocorre pela produção de substâncias que afetam o crescimento do outro. Por exemplo:

Bactericidas

Bactericida é o agente que
controla bactérias.

- a) Síntese de bacteriostáticos, **bactericidas** ou antibióticos;
- b) Produção de ácidos que afetam as espécies sensíveis ao pH baixo;
- c) Produção de substâncias inorgânicas tais como NH_4^+ , CN^- , CO_2 , NO_2^- ;
- d) Utilização de oxigênio.

Inibição

Inibição é a redução do
crescimento microbiano em
um determinado meio.

O caso mais estudado tem sido a produção de antibióticos (substância que em baixa concentração inibe o crescimento de outro organismo). A **inibição** do crescimento de microrganismos mediante produção de antibióticos é denominada de antibiose. A produção de antibióticos nos ambientes naturais não tem sido bem comprovada por não se dispor de métodos adequados para sua determinação e também devido a sua possível rápida decomposição ou inativação química e biológica (adsorção por partículas do solo). Há ainda a suposição de que a produção de antibióticos seja devido a um erro metabólico e que a quantidade produzida em condições naturais seria baixa. No entanto, essa característica

pode dar certa vantagem ao produtor e aos demais organismos que não são sensíveis.

Existem ainda alguns termos utilizados nas discussões das interações:

- a) **Epífitas:** São organismos que vivem sobre as plantas (folhas e caules). Alguns utilizam as plantas apenas como suporte, pois são autotróficos (algas e bactérias fotossintetizantes). Outros são saprófitos, crescendo à custa de exsudados das células e da epiderme. Esses organismos podem prejudicar ou favorecer as plantas. Os prejuízos podem ocorrer quando se tornam numerosos, diminuindo a incidência de luz, impedindo a fotossíntese, ou a respiração. Podem tornar-se simbioses atacando parasitas como as cochonilhas.
- b) **Saprófitas, saprógenos e sapróbios:** São termos utilizados para organismos que se nutrem a partir de material orgânico morto. O termo saprófita é utilizado quando o material orgânico tem origem vegetal. Saprógenos é utilizado da forma mais geral, pois o material orgânico poderia ser tanto de origem vegetal quanto animal e sapróbios para qualquer material orgânico, inclusive de origem microbiana.

Resumo

Em ambientes naturais um microrganismo não está isolado. Ele convive com o meio ambiente e com vários outros organismos com os quais estabelece interações. Algumas interações podem trazer benefícios ao seu crescimento e outras podem trazer prejuízo, podendo ocasionar até a morte. O conhecimento do funcionamento destas interações permite o manuseio dos microrganismos permitindo a solução de problemas e a obtenção de produtos biotecnológicos.

Referências

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J.
Microbiologia de Brock. 10. ed. São Paulo: Pearson Prentice
Hall, 2004. 608 p.

PELCZAR JR, M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R.
Microbiologia: Conceitos e Aplicações. 2. ed. São Paulo: Makron
Books, 1996. 524 p.

Microbiologia do Solo

Neste capítulo será estudado o ambiente solo, suas características, a microbiota e sua atividade.

7.1 O solo

O solo representa a fina camada que recobre a superfície da terra. Ele é o substrato e o ambiente para muitos organismos, entre eles os microrganismos. Antes de discutir a questão microbiológica, há a necessidade do conhecimento de algumas características desse ambiente. O solo ideal apresenta metade do seu volume tomado por espaços. Esse espaço deve ser ocupado de forma proporcional pela água e o ar. A parte sólida é constituída de 45% de matéria mineral e 5% de material orgânico, do qual 0,5% correspondem a organismos.

Como o ar e água ocupam o mesmo espaço, o predomínio de um acarreta na deficiência do outro. Assim, solos alagados apresentam condições de anaerobiose. Dessa forma, o efeito da umidade e da aeração dos solos sobre a microbiota tem de ser discutido de forma conjunta.

O ar do solo apresenta um maior teor de CO_2 e um menor teor de O_2 em relação ao ar atmosférico, além de ser descontínuo.

A água do solo pode apresentar-se na forma líquida, sólida ou gasosa. Na forma líquida ela recobre as partículas do solo, sendo retida com diferentes intensidades. É nela que estão dissolvidos os nutrientes necessários às plantas e microrganismos.

A matéria mineral é constituída de areia, silte e argila, que provêm ou são produtos do material de origem, que, em grande parte, é oriundo das rochas utilizadas e alteradas no processo de formação do solo.

O material orgânico é constituído dos resíduos e organismos presentes no solo. Os resíduos apresentam-se em diferentes estágios de decomposição. Desde os recentemente adicionados com folhas, raízes, caules, células, tecidos e corpos de organismos mortos, até a matéria no seu estado mais avançado de decomposição, uma substância escura e bastante cheirosa chamada de húmus.

Entre os organismos encontra-se desde animais (tatu, roedores) e raízes de plantas, até as formas microbianas (algas, protozoários, fungos, bactérias e vírus). Embora o percentual de 0,5% pareça pequeno, em termos de biomassa, isso representa toneladas de matéria viva por hectare.

Ao observar os solos a partir de sua superfície não se tem a ideia de que haja diferenças entre eles. Mas, observando-se um corte vertical no solo, são verificadas diferentes camadas, o perfil do solo. Essas diferentes camadas são denominadas horizontes. A camada mais superficial, de cor escura (devido à presença de matéria orgânica) é denominada de horizonte A. Em seguida, tem-se o horizonte B, conhecido como horizonte diagnóstico, pois permite uma caracterização do solo sem o efeito da matéria orgânica. Por último temos um horizonte C, horizonte de transição entre o solo e a rocha. A espessura de cada camada depende do tipo de solo, assim como as subdivisões que podem ocorrer em cada camada ou mesmo a ausência de camadas. Na medida em que se aprofunda no perfil aumenta o teor de CO_2 , diminui a quantidade de matéria orgânica, o teor oxigênio, a presença de raízes e, conseqüentemente, a biota do solo. Depois destas informações, fica mais fácil o entendimento da microbiota do solo.

7.2 Microrganismos do solo

Os principais grupos de microrganismos encontrados no solo são: bactérias, fungos e protozoários. Também é relatada em procedimentos de contagem a presença de actinomicetos, um grupo característico de bactérias. Ecologicamente, esses organismos

apresentam indivíduos classificados em dois grupos. O grupo autóctone ou indígena é representado pela população de microrganismos que são pouco afetados pela adição de nutrientes ao solo, vivem à custa dos resíduos em estágios mais avançados de decomposição. Já a população estimulada pela adição de resíduos ao solo é denominada de zimógena ou fermentativa. À medida que o resíduo vai sendo decomposto ocorre uma sucessão na população, que vai sendo substituída por organismos que atuam sobre os produtos de decomposição, resíduos ou dos próprios organismos.

O número de microrganismo presentes no solo é da ordem de 10^6 a 10^9 por grama de solo. A população de bactérias é a mais numerosa variando de 100 mil a 100 milhões em contagem em placas, a 100 milhões a um bilhão em contagem direta. Apesar do maior número de bactérias, em termos de biomassa, o domínio é dos fungos com populações de 20 mil a 1 milhão de propágulos por grama de solo. Populações menores são encontradas nos actinomicetos (100 mil a 1 milhão), protozoários (10 mil a 100 mil) e algas (100 a 50 mil). Em trabalho conduzido no Rio Grande do Sul indica que as populações encontradas no Brasil são semelhantes às de outras partes do mundo (Tabela 7.1). Essas populações não são fixas e variam de acordo com fatores ambientais.

Tabela 7.1- Média da contagem em placa da população de microrganismos do solo.

(Número de propágulos por grama de solo $\times 10^5$)

Local	Bactérias	Fungos	Actinomicetos
Santo Ângelo	460	1,81	59,0
Cruz Alta	455	0,73	57,0
Coxilha Bonita	365	1,24	19,0
Média	438	1,30	50,0

7.3 Efeitos dos fatores ambientais

A população de microrganismos do solo é afetada quantitativa e qualitativamente por diversos fatores.

7.3.1 Fatores primários

São aqueles que afetam diretamente a população.

- a) **Aeração:** Em condições de aeração as atividades metabólicas são mais intensas devido ao metabolismo oxidativo resultando em populações mais elevadas. Em condições de anaerobiose, há restrições na população de bactérias e principalmente nos fungos.
- b) **Umidade:** Todos os organismos necessitam de água, no entanto, um excesso de umidade vai interferir com a aeração do solo. As maiores populações são encontradas nos teores de 60 a 80% da capacidade de campo. Em baixos teores de umidade, predominam as formas esporuladas.
- c) **Temperatura:** Cada organismo tem uma temperatura ótima de crescimento. As maiores populações são encontradas em solos com 25 a 30 °C. Em determinadas condições, como no acúmulo de material orgânico, as temperaturas são mais elevadas atingindo 50 a 60 °C, o que favorece a presença de termofílicos.
- d) **pH:** As bactérias dominam em ambientes neutros e os fungos em ambientes ácidos. Não é o caso dos fungos preferirem ambientes ácidos, é que nessas condições a competição com as bactérias é maior, prevalecendo as primeiras pela sua versatilidade bioquímica e altas taxas de crescimento.
- e) **Matéria orgânica:** Teores elevados de matéria orgânica favorecem a população, pois ela representa a fonte de nutrientes, principalmente, energia e carbono, para os microrganismos. Qualitativamente, a matéria orgânica também afeta a composição da biota. Resíduos de fácil decomposição como adubos verdes favorecem a população de bactérias, em detrimento de fungos. Já resíduos com substâncias mais complexas, como celulose, hemicelulose e lignina, favorecem os fungos. Os actinomicetos são os que surgem por último, pois atuam sobre os compostos orgânicos mais estabilizados do solo.
- f) **Relações entre as populações:** Ocorrem no solo diversas interações positivas (simbioses, protocooperação, comensalismo) e negativas (parasitismo, predatismo, amensalismo), que podem favorecer ou inibir determinada população.

- g) Nutrientes inorgânicos:** Os nutrientes inorgânicos podem afetar diretamente ou indiretamente a população. A presença de nutrientes que favoreçam o crescimento vegetal contribui indiretamente pelo aporte de nutrientes orgânicos fornecidos pela vegetação, mas também existem efeitos diretos. Se um solo é pobre em fósforo, a adição do nutriente favorece a biota do solo. Efeitos negativos também podem ser encontrados quando da presença de altas concentrações ou de elementos tóxicos, como os metais pesados.
- h) Luz solar:** Para os microrganismos fotossintéticos, a incidência de luz é essencial para o desenvolvimento. No entanto, essa pode levar ao aquecimento e a desidratação do solo, assim como a presença de luz ultravioleta, prejudicando a microbiota.

7.3.2 Fatores secundários

São aqueles que representam o somatório de vários fatores primários.

- a) Época do ano:** Durante o ano há variações na temperatura, umidade e radiação que afetam, direta e indiretamente, a população de microrganismos pelos seus efeitos no crescimento vegetal e na deposição de resíduos orgânicos. As populações tendem a ser menores no inverno, devido, principalmente, a baixa temperatura que limita a atividade bioquímica reduzindo o crescimento microbiano. Na primavera, há um aumento da população, motivada pela temperatura amena, boa disponibilidade de água, excreções radiculares, acúmulo de resíduos depositados anteriormente e pouco decompostos, população de predadores reduzida devido às condições do inverno. Com a chegada do verão e temperaturas elevadas, promovem déficit hídrico, fazendo com que a população microbiana fique reduzida. No outono, quando as condições são semelhantes às da primavera, a população torna a crescer.
- b) Tratos culturais:** As atividades desenvolvidas no cultivo, tais como aração, gradagem, capinas, calagem, irrigação, adubação e controle sanitário, afetam os fatores primários como a aeração, o pH, os nutrientes, a umidade e a presença de substâncias

tóxicas. No início da agricultura, o homem percebeu que o revolvimento do solo propiciava o desenvolvimento das plantas. Em parte, esse melhor desenvolvimento era promovido pela mineralização ocasionada pela aeração do solo. Em países de clima frio, com inverno muito rigoroso, foi instituída na primavera a prática da aração para o preparo do solo para o plantio. Essa prática tinha como objetivo “despertar” a microbiota para realizar a decomposição dos resíduos que ficaram acumulados durante o inverno e, assim, disponibilizar os nutrientes para a nova cultura. Com a colonização, tal prática foi introduzida no Brasil. No entanto, nas condições de clima do país, em que a temperatura é relativamente elevada, a decomposição é alta durante todo ano. Como o aporte de resíduos culturais é relativamente baixo, há um empobrecimento contínuo do teor de matéria orgânica, que vai se refletir na população microbiana. Isso tem levado a mudança de práticas agrícolas, partindo-se para os sistemas de plantio direto e cultivo mínimo.

- c) **Profundidade:** Conforme comentado anteriormente, a população de microrganismos diminui com a profundidade, devido à diminuição do teor de matéria orgânica, da presença de raízes, do teor de oxigênio e aumento do teor de gás carbônico. Alguns organismos podem ser particularmente prejudicados como as algas. Para organismos que produzem esporos como os actinomicetos, a redução percentual é menor, pois a verificação avaliativa por métodos de contagem em placas permite a avaliação dos esporos, que estão em formas inativas e crescem no meio de cultura mas não no solo.
- d) **Cobertura vegetal:** A cobertura vegetal afeta fatores nutricionais e ambientais. Representa uma fonte de nutrientes, pela deposição dos resíduos orgânicos na superfície do solo e pelos exsudados das raízes. A umidade e a temperatura são mais estáveis, favorecendo o desenvolvimento dos microrganismos. A tabela 7.2 demonstra o efeito de diferentes sistemas de cobertura vegetal sobre a microbiota e sua atividade no solo.

Tabela 7.2 - Efeito de diferentes sistemas de manejo do solo sobre a população e a atividade microbiana.

Sistemas de Manejo	Bactérias	Actinomicetos	Fungos	Liberação de CO ₂
	<i>10⁵ propágulos / g de solo</i>			
Convencional	372	48,0	1,43	9,1
Plantio direto	354	66,8	1,85	14,9
Rotação 1	604	55,8	2,53	12,7
Rotação 2	453	47,0	2,07	10,4
Pastagem cultivada	414	91,6	2,33	24,9
Campo Nativo	565	44,2	0,65	25,9

7.4 Funções dos microrganismos no solo

Os microrganismos desenvolvem inúmeras atividades no solo que representam importantes funções na produtividade e sustentabilidade desse ecossistema.

Decomposição da matéria orgânica

A principal função dos microrganismos é atuar como intermediários entre os consumidores e produtores. Todos os resíduos que não são aproveitados pelos demais organismos são metabolizados pela microbiota, liberando os compostos primários necessários aos produtores. Eles participam ativamente da ciclagem dos nutrientes, que será discutida em capítulo a seguir.

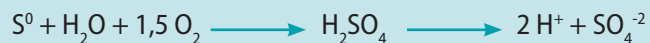
Formação do Húmus

O húmus é formado durante o processo de decomposição da matéria orgânica, por alteração ou formação de novos compostos que são polimerizados, constituindo a fração da matéria orgânica do solo bastante estável. Esses compostos representam uma fonte de energia e nutrientes para a microbiota e outros organismos, incluindo as plantas. Contribui ainda para importantes características do solo como a agregação, capacidade de retenção da água e capacidade de troca de cátion e ânions.

Disponibilização de nutrientes

As atividades dos microrganismos do solo alteram a disponibilidade de nutrientes para as plantas, afetam o crescimento, a produção e a produtividade das culturas.

- **Mineralização:** Durante o processo de decomposição da matéria orgânica são liberados, na forma inorgânica, diversos nutrientes. Das proteínas, por exemplo, é liberado amônia e de fosfolipídeos fosfatos.
- **Oxi-reduções:** Diversos elementos como P, K, N, S, Ca, Mg, Cu, Zn, Mn, são essenciais às plantas, mas a simples presença do nutriente não é indicativo de que as necessidades das plantas serão atendidas. Esses elementos para serem utilizados pelos vegetais têm que estar em determinadas formas. O fósforo é absorvido na forma de fosfato, o nitrogênio na forma de nitrato ou amônio e o potássio na forma iônica de K^+ . Elementos como o enxofre e manganês, por exemplo, são utilizados nas formas oxidadas e reduzidas, respectivamente. Se o enxofre for adicionado ao solo na forma elementar (S), ele é oxidado por microrganismo como o *Thiobacillus thiooxidans* a ácido sulfúrico, quando então poderá ser utilizado na forma de sulfato.



Já o manganês predomina nos solos na forma de MnO^2 , para se tornar disponível necessita passar para Mn^{2+} .



- **Solubilização:** Diversos elementos com o fósforo predominam nos solos em formas não disponíveis para as plantas. Reações e substâncias produzidas por microrganismos podem disponibilizar os elementos. Um dos principais mecanismos de solubilização de fosfatos é a produção de ácidos orgânicos. Os ácidos orgânicos podem agir de duas maneiras. Pelo efeito ácido e pela formação de complexos com o cátion acompanhante.



- **Fixação biológica de nitrogênio:** O nitrogênio é um dos elementos essenciais a constituição de diversos componentes celulares, entre eles as proteínas. Ele é relativamente abundante na atmosfera. No entanto, em sua forma elementar (N_2) é pouco reativo, não podendo ser utilizado pela maioria dos organismos, exceto alguns procariotos. Esses microrganismos podem fixar o nitrogênio utilizando-o para a constituição de suas moléculas. Algumas bactérias fixam nitrogênio apenas para atender às suas necessidades, no entanto, quando são predadas ou morrem podem suprir esse nitrogênio para outros organismos. Outras podem formar associações, entre elas, simbioses, fornecendo a seus parceiros o nitrogênio fixado, tornando-os independentes da presença de nitrogênio no meio. Maiores informações sobre esses grupos serão apresentadas no capítulo sobre o ciclo do nitrogênio.
- **Micorrizas:** Associações de fungos com raízes de plantas é a regra e não a exceção no ambiente. A colonização do solo pelas hifas do fungo aumenta, consideravelmente, o volume de solo explorado, contribuindo na absorção de água e nutrientes, notadamente aqueles pouco móveis no solo, como o fósforo.
- **Imobilização:** A absorção de nutrientes do solo pela microbiota, visando à produção de seus compostos celulares, representa uma perda temporária dos nutrientes do solo que pode comprometer o desenvolvimento vegetal. Isso ocorre normalmente quando há uma grande quantidade de energia disponível no ambiente (adição de resíduos), havendo uma competição pelos nutrientes pouco disponíveis no solo. A retenção desses nutrientes é temporária, pois com a morte dos microrganismos, parasitismo, predatismo, e decomposição dos resíduos, há a reciclagem e os nutrientes são novamente liberados. Aparentemente, a imobilização pode ser prejudicial ao desenvolvimento das plantas, mas, por outro lado, em épocas de ausência de culturas ou vegetação, ou ainda com o pouco crescimento vegetal, a atividade é importante para a manutenção dos nutrientes no solo, evitando perdas, como, por exemplo, lixiviação e desnitrificação.

Agregação e estrutura do solo

Um grama de solo (o volume da “ponta de um dedo”) pode conter de 10 a 100m de hifas de fungos e até um bilhão de bactérias. Imagine que aderência esses microrganismos podem dar através de pelos ou pili, cápsulas (glicocálice) e seus próprios corpos às partículas do solo.

Aeração de solos alagados

A presença de microrganismos fotoautotróficos, cianobactérias e algas, pode promover a oxigenação de ambientes úmidos e alagados, favorecendo o metabolismo oxidativo.

Equilíbrio da população

A população microbiana do solo é resultado do efeito de vários fatores físicos, químicos e biológicos, como as interações negativas (competição, parasitismo, predatório e amensalismo) e positivas (simbiose, protocooperação e comensalismo), de forma que ela está em equilíbrio dinâmico. Essa condição pode favorecer ou impedir a introdução de microrganismos.

No caso de organismos benéficos como, por exemplo, fixadores de nitrogênio, solubilizadores de fosfatos, fungos micorrízicos e outros promotores de crescimento vegetal, para se estabelecerem no solo e produzirem os efeitos desejados, precisam suplantar essas barreiras, o que na maioria das vezes não é possível levando ao fracasso as inoculações.

Solos com elevadas populações de microrganismos podem ser um eficiente mecanismo de proteção às plantas contra organismos patogênicos, pois quanto maior a população, maiores são as chances de eles serem eliminados pelas relações antagônicas. Por outro lado, solos degradados, com baixo teor de matéria orgânica e com repetitividade da mesma cultura, favorecem o estabelecimento de patógenos, pois se estes encontram condições de desenvolvimento, a baixa população de microrganismos vai oferecer pouca resistência ao seu estabelecimento.

Parasitas de vegetais

Apenas uma pequena parcela dos microrganismos apresenta patogenicidade às plantas, e, mesmo entre esses, a grande maioria

desenvolve sua atividade apenas em determinadas condições, principalmente quando as plantas estão debilitadas. Desta forma, não devemos imaginar esses microrganismos como inimigos, e sim, como ferramentas de trabalho. Se uma planta está debilitada, doente ou com alguma limitação nutricional, significa que ela também não é um bom alimento. Logo, devemos encarar o surgimento das doenças como indicador de que alguma coisa não está bem. Pode ser que a variedade não seja adequada para aquelas condições, haja estresse hídrico ou deficiência de nutrientes. A correção desses fatores pode ser a solução para o problema.

7.5 Rizosfera

A rizosfera compreende a área do solo sob influência das raízes. Dentro dessa área existe o rizoplano, ou seja, a superfície de contato entre a raiz e o solo. Na rizosfera, a atividade bioquímica e a população são várias vezes superiores ao do solo adjacente. São relatados casos de populações até 100 vezes maiores, sendo o mais comum ao redor de vinte e cinco vezes.

A população microbiana não é estimulada como um todo, pois o efeito é seletivo. Algumas espécies microbianas só são encontradas na rizosfera de determinadas plantas. Em geral, as bactérias, e em particular as Gram negativas, são as mais estimuladas. As Gram positivas e as esporuladas geralmente não são estimuladas. O efeito sobre as bactérias se deve a sua maior versatilidade bioquímica e as altas taxas de crescimento. Os fungos, de uma forma geral, também não são estimulados, exceto certas espécies com as dos fungos micorrízicos.

A população da rizosfera é afetada pela distância da raiz, profundidade, espécie e idade da planta. Quanto mais próximo das raízes maior é o efeito rizosférico. No entanto ele diminui na medida em que a raiz aprofunda-se no perfil do solo. As leguminosas tendem a ter um maior efeito rizosférico por unidade de raiz, talvez pela riqueza nutricional dos produtos liberados. Por outro lado, as gramíneas apresentam um sistema radicular mais avantajado, de forma que se podem considerar os solos de pastagens como solos rizosféricos. O

efeito rizosférico é maior nas plantas em fase de floração, decrescendo a seguir, tornando-se praticamente nula na senescência.

As alterações na população microbiana são resultado das modificações físicas, químicas e nutricionais promovidas pelas raízes.

A respiração das raízes em ambiente aeróbio diminui a quantidade de oxigênio e aumenta o teor de CO_2 . Em ambientes alagados, (condições de anaerobiose) a presença do sistema radicular de plantas como o arroz promove um teor maior de oxigênio na rizosfera.

As plantas, ao absorverem os nutrientes, criam diferentes gradientes nos teores de nutrientes na solução do solo. Há a tendência de acúmulo de cátions como o cálcio e o magnésio nas proximidades das raízes, enquanto que para o fósforo existe uma depleção. A absorção de determinadas formas de nutrientes pode ocasionar alterações no pH do solo. As plantas podem absorver nitrogênio tanto na forma de nitrato (NO_3^-) ou amônio (NH_4^+). Ao absorverem o nitrogênio na forma de nitrato, para manterem sua eletronegatividade, necessitam excretar um ânion, no caso OH^- , ocasionando a elevação do pH. Caso absorvam o amônio, excretam H^+ , diminuindo o pH.

As raízes representam, ainda, uma fonte de substâncias orgânicas que são excretadas ou exsudadas. São disponibilizadas por elas substâncias como, por exemplo, açúcares (glicose, frutose, maltose), aminoácidos (valina, serina, glicina), ácidos orgânicos (oxálico, málico, cítrico), ácidos nucleicos e enzimas.

Não só as plantas afetam a microbiota, mas também as alterações promovidas pela microbiota afetam as plantas. Todas as funções que os microrganismos exercem no solo também são realizadas na rizosfera e com mais intensidade. No entanto, algumas são realçadas. De 10 a 50% da população de microrganismos apresenta atividade de solubilização de nutrientes. Embora os microrganismos solubilizadores não ocupem um nicho específico, a rizosfera pode permitir a seu manejo para favorecimento na nutrição das plantas através da inoculação de microrganismos selecionados. São encontrados, também, na rizosfera microrganismos produtores de substâncias estimulantes ao crescimento vegetal, tais como os produtores de hormônios vegetais que sintetizam o ácido indol acético.

Microrganismos presentes na rizosfera podem produzir substâncias tóxicas às plantas, como cianeto e sulfetos. Tais microrganismos são denominados de deletérios, pois não demonstram normalmente sintomas de doenças. O cultivo continuado de uma única espécie vegetal pode levar ao que é denominado de solo cansado, ou seja, um solo que apresenta condições físicas e químicas adequadas ao crescimento vegetal e no entanto, a produtividade é baixa. A substituição desta população através de manejo de plantas ou pela inoculação de microrganismos que colonizem a rizosfera impedindo o estabelecimento dos deletérios pode resolver o problema.

Os microrganismos na rizosfera podem ainda atuar no controle de microrganismos patogênicos. Devido à intensa população, o estabelecimento dos patógenos é dificultado pela intensa competição, predatismo e amensalismo. A produção de substâncias antimicrobianas, além da proteção “*in loco*” podem ser transportadas para as partes aéreas das plantas amplificando seu efeito.

Resumo

O solo é constituído de material inorgânico e orgânico organizado em partículas apresentando espaços ocupados pela água e o ar. Os principais grupos de microrganismo presentes são os fungos e as bactérias, atingindo populações na ordem de 10⁹ UFC (Unidades Formadoras de Colônias) por grama de solo. A população é afetada por fatores ambientais, tais como o pH, aeração, umidade, temperatura, matéria orgânica e interações, que agem de forma isolada ou conjunta. O manuseio desses fatores permite o manejo da população. As atividades desenvolvidas pela biota do solo representam importantes funções responsáveis à sustentabilidade do sistema. Ela é responsável pela decomposição da matéria orgânica, formação do húmus, disponibilização de nutrientes e agregação e estruturação do solo. Estas atividades são mais intensas na rizosfera, onde a população é bem maior do que as populações do solo adjacente.

Referências

CARDOSO, E. J. B. N. et al. **Microbiologia do solo**. Campinas: Soc. Bras. de Ciência do Solo, 1992.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. **Microbiologia de Brock**. 10. ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2004. 608 p.

PELCZAR JR, M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. **Microbiologia: Conceitos e Aplicações**. 2. ed. São Paulo: Makron Books, 1996. 524 p.

SIQUEIRA, J. O. **Biotecnologia do Solo: Fundamentos e perspectivas**. Brasília: MEC, 1988.

Microbiologia da Água

Neste capítulo será estudada a microbiologia da água, com destaque para os aspectos de saúde humana e a biologia e métodos de análises dos coliformes.

8.1 Introdução

A água é um dos elementos mais importantes da natureza e essencial à vida. Aproximadamente 75% da superfície terrestre é coberta por água e a maior parte do peso dos seres vivos é composta por água. Entretanto, apenas 3% da água do planeta é doce e apenas 0,3% do total não está na forma de geleiras e faz parte dos rios e lagos. Há uma estimativa de que apenas 0,008% da água está na forma potável. Muito pouco, não? Apenas para a gente ver o quanto isso é importante, se toda a água do mundo coubesse dentro de uma garrafa de um litro, a água potável seria o equivalente a meia gota.

Dessa forma, como a água é um bem renovável, no ciclo da natureza, é de suma importância que ela seja preservada e tratada para que a vida não seja prejudicada e extinta.

Numa cidade, estima-se que o consumo de água seja de 40% pelas residências, 25% pelas indústrias e 15% pelo comércio. Desse montante, a maior parte da água usada numa casa é destinada para higiene em descarga (40%), banho (30%) e lavanderia (15%). Por esta razão, além do aspecto renovável citado acima, há a necessidade de que a qualidade da água que entra numa tubulação seja limpa, e não contaminada. Em adição, a água que sai para os esgotos deve ser tratada para evitar problemas ambientais, inclusive a proliferação de doenças das mais diversas para os seres humanos e animais.

A poluição da água pode ter várias origens, como, por exemplo, microrganismos, metais pesados, produtos químicos industriais,

defensivos agrícolas etc. A microbiologia da água, foco do nosso estudo, será tratada a seguir.

Quando se fala em microbiologia da água pensa-se em duas diferentes correntes: uma mais ampla e ecológica, onde são estudadas as relações dos microrganismos em ambientes aquáticos, e o aspecto de saúde, de prevenção e contaminação por microrganismos que podem ser patogênicos aos animais, incluindo os seres humanos.

No lado ecológico são abordados os tipos de microrganismos e os fatores ambientais que os afetam: temperatura, nutrientes, salinidade, aeração, pH, pressão hidrostática, luz, turbidez, as relações entre os próprios microrganismos e as atividades humanas. Nessa área da biologia são, também, estudados os organismos que são produtores primários e os consumidores. Claro que esses itens podem também ter uma influência na outra vertente, que é a da área da saúde.

8.2 Microrganismos e aspectos de saúde

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), 80% das doenças que assolam os países em desenvolvimento são causadas pela contaminação da água. Apenas 30% da população mundial tem água tratada e, no Brasil, várias regiões apresentam sérios problemas sanitários, diminuindo a qualidade de vida da população. Basta irmos às periferias das grandes cidades para que seja constatada a pobreza das pessoas que nelas habitam. Podemos aqui fazer uma rápida viagem ao passado para lembrar quantas pessoas perderam as suas vidas em tais ambientes contaminados e sujeitos às doenças, como as gastroenterites, uma das mais comuns, entre tantas outras. Na idade média, em que se vivia pouco por questões de condições precárias de higiene, uma grande parcela da população foi reduzida devido às contaminações microbianas.

Quais microrganismos são potencialmente patógenos aos seres humanos e são provenientes de água contaminada?

Transmissão da Cólera

Entre os anos de 1849 e 1854, na época da rainha Vitória, houve uma grande epidemia de cólera na cidade de Londres, que dizimou uma parte considerável da população. Em 1855, John Snow, um cientista renomado, escreveu um trabalho sobre a transmissão da cólera e, a partir daí, vários países começaram a se preocupar com as formas de propagação da bactéria *Vibrio cholerae* e de outras enfermidades veículas pela água. Entre os fatores estudados na prevenção de doenças, iniciou-se a ideia de tratamento da água, com a colocação de cloro em suas estações sanitárias.



Figura 8.1. Foto de John Snow. FONTE: <http://londonparticulars.files.wordpress.com/2009/07/john_snow1.jpg>. Acesso em: 20. 03. 2010.

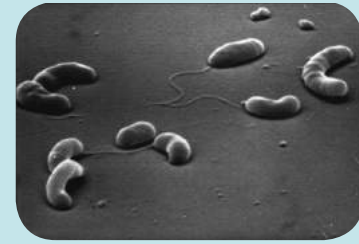


Figura 8.2. Microscopia eletrônica de *Vibrio cholerae*. FONTE: <<http://www.technoinhome.com/vspcite/site/wb03/gif/008/wb0300865009cc4b.gif>>. Acesso em: 15. 03. 2010.

Em linhas gerais são vírus, bactérias, fungos, algas, protozoários e helmintos que podem causar problemas para a saúde. Exemplos de vírus importantes são: adenovírus, enterovírus, de hepatites e os rotavírus, que causam diarreia e podem ser adquiridos pelo consumo de ostras e moluscos contaminados, por exemplo.

O grupo mais numeroso, em termos de número de espécies associadas com gastroenterites, é o das bactérias. Exemplos de bactérias e respectivas doenças com esse potencial são: *Aeromonas hydrophila* (diarreia aquosa), *Escherichia coli* (colite), *Legionella* spp. (legionelose), *Mycobacterium* spp (micobacterioses), *Salmonella typhi* (febre tifoide), *Shigella* spp. (shigelose) e *Vibrio cholerae* (cólera).

No aspecto de produção de toxinas e problemas para a saúde são importantes os gêneros *Anabaena* e *Mycrocistis*. Elas pertencem ao grupo das cianobactérias e apresentam potencial de contaminação para pessoas que consomem os animais que as carregam.

Entre os protozoários podemos destacar: *Entamoeba histolytica* (amebíase), *Giardia lamblia* (giardíase) e *Cryptosporidium parvum* (criptosporidiose). Nos helmintos temos o *Schistosoma* spp (esquistossomose) e *Ascaris lumbricoides* (ascaridíase).

8.3 Coliformes

Tendo em vista a vasta quantidade de microrganismos que podem causar doenças aos seres humanos e animais, você deve concordar que fica bastante complicado que todas as análises de água sejam feitas para cada grupo. Por esta razão, visando a simplificação para identificar o problema de água contaminada, tem-se estudado alguns microrganismos que são chamados de *indicadores de poluição da água*.

Normalmente, entre vários indicadores, também chamados de bioindicadores, os organismos mais estudados são os que habitam o trato intestinal de seres humanos e de animais de sangue quente. Vale destacar que nas fezes humanas há um número elevado, na casa de 1011 bactérias, por grama. Isso representa aproximadamente 25% do peso das fezes. Incrível, não?

Mais uma vez podemos ver a importância do tratamento de água já que, como já discutido anteriormente, essas bactérias podem contaminar pessoas que tenham contato com elas, quer seja bebendo ou tomando banho. Veja que interessante: os indicadores de poluição de água podem ser benéficos ou maléficos, dependendo do ponto de vista. Benéfico no caso de facilitarem o diagnóstico de contaminação. Em adição, há algumas espécies que ajudam na regulação da flora intestinal, melhorando o nosso sistema imunológico e ajudando na síntese das vitaminas K e B. É o caso da *Escherichia coli*, que é a espécie mais abundante e mais estudada no mundo.

Há dois tipos de coliformes: os coliformes totais e os fecais, esses últimos chamados mais recentemente de termotolerantes. Os totais são aqueles que habitam as águas e solos do meio ambiente e que podem também ser oriundos de fezes. Os fecais ou termotolerantes são originados diretamente de fezes, vindos de esgotos domésticos, basicamente. As características dos coliformes são: bactérias aeróbicas ou anaeróbicas facultativas, na forma de bacilos Gram negativos, que fermentam a lactose em temperatura entre 35 e 37 °C, não formam esporos e são negativos para o

As principais características deles são: estão presentes em água contaminada e ausentes em água potável, correlacionam-se com os patógenos, são estáveis no meio ambiente e são quantificáveis facilmente em laboratórios.

teste da oxidase. Exemplos de gêneros de coliformes totais são: *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter* e *Klebsiella*. O principal representante dos coliformes fecais ou termotolerantes é a *Escherichia coli*, que fermenta a lactose numa temperatura maior, 44,5 °C.

8.4 Métodos de análises microbiológicas de água

Antes de se fazer a coleta para a análise microbiológica, alguns cuidados devem ser observados para a melhor interpretação dos resultados:

- a) A amostra deve ser representativa da área. Em outras palavras, não adianta, por exemplo, pegar uma amostra de água de um ponto isolado de uma praia e dizer que toda a praia foi analisada;
- b) Se for de praia ou lago, por exemplo, a coleta deve ser feita numa profundidade de, aproximadamente, um metro (simulando uma balneabilidade média de pessoas), pegando-se a amostra entre 15 e 30 cm da superfície;
- c) A amostra deve ser coletada em recipientes limpos e esterilizados;
- d) Evitar a contaminação durante a coleta e no transporte;
- e) A análise deve ser feita o mais rapidamente possível, no máximo 24h da coleta, para evitar alterações no crescimento dos microrganismos;
- f) Se necessário, armazenar a amostra em temperaturas menores de 10°C; e
- g) Certificar-se que a água não é clorada. Se for, adicionar uma solução de 18 mg/litro de tiosulfato de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) para neutralizar o cloro que é um agente oxidante e que pode matar as bactérias.

Os dois métodos mais comuns para se analisar as bactérias do grupo coliforme são: o dos Tubos Múltiplos ou Número Mais Provável (NMP) e o da Membrana de Filtro (MF). A seguir serão descritas as metodologias básicas de cada um.

8.4.1 Método dos Tubos Múltiplos ou Número Mais Provável

Nesse método há três etapas: teste presuntivo, teste para coliformes totais e teste para coliformes fecais ou termotolerantes. Na primeira fase, são empregados baterias de 9 ou 15 tubos de ensaio contendo um caldo lactosado, também chamado de caldo lauril triptose. Os tubos recebem alíquotas de 10ml; 1ml ou 0,1ml da água a ser analisada. Dentro dos tubos há pequenos tubinhos de ensaio invertidos, tubos de Durham, que captam as bolhas produzidas quando da fermentação da lactose pelos microrganismos. O teste positivo tem bolhas bem visíveis e o negativo não. Entretanto, esse teste é apenas preliminar e não pode ser usado como certo para coliformes porque existem outros grupos de microrganismos que também fermentam a lactose, como é o caso de bactérias do gênero *Bacillus* e de certos fungos, as leveduras. Em linhas gerais, o positivo é um sério candidato a ser coliforme. A incubação do teste é feita em estufa bacteriológica numa temperatura de 37 °C por um período de 24 a 48 horas.

No segundo teste, a partir dos tubos positivos do primeiro, são feitas as inoculações para os tubos de ensaio, contendo o caldo lactosado com bile verde brilhante a 2%. Os tubinhos de Durham inseridos dentro dos tubos maiores, se positivos, apresentam bolhas, numa temperatura de 37 °C por um período de 24 a 48 horas. Nesse caso, são chamados de coliformes totais.

A terceira etapa consiste na inoculação de tubos de ensaio com o caldo EC (*Escherichia coli*), a partir dos positivos do primeiro teste. A incubação é na temperatura de 44,5 graus, entre 24 e 48 horas. Os tubinhos de Durham positivos indicam a presença de coliformes fecais ou termotolerantes e são comparados com uma tabela de NMP, que tem o número de coliforme por 100mL de água. Esta confirmação é importante porque um resultado positivo de água ou de um alimento, por exemplo, mostra que o material teve contato com fezes humanas ou de animais. E isso é preocupante para a saúde, já que outros organismos podem também estar presentes e causar as mais variadas doenças como já discutido anteriormente.

Para você ter uma ideia, a água potável deve ser isenta de coliformes fecais, segundo resoluções do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA), que apresenta os padrões de qualidade das águas. Se a água não for potável ela pode ser enquadrada ou não em águas próprias para banho, como ocorre em análises de várias praias do Brasil, em diversos estados. Vale lembrar que os estados têm legislação própria e os órgãos ambientais locais complementam essas informações de análises e de interpretação dos resultados.

8.4.2 Método da Membrana de Filtro

Este método consiste, basicamente, na filtração de uma amostra de água com o auxílio de uma bomba de vácuo. A parte que não passa no filtro é retida numa membrana com malha de 0,45µm e colocada numa placa de Petri contendo meios de cultura onde as bactérias irão crescer. Para a determinação dos coliformes totais usa-se o meio M-Endo Agar LES, incubando o material em temperatura de 37 °C por 24 horas. Os coliformes termotolerantes crescem em meio ágar MFC e incubado a 44,5 °C por 24 horas. A partir desses crescimentos contam-se os números de colônias de bactérias e são feitos os cálculos para a quantidade de água amostrada e analisada.

A vantagem do método da membrana de filtro, em relação ao anterior, dos tubos, é que muito menos vidraria de laboratório é utilizada. Entretanto, as membranas são caras e não é todo tipo de água que pode ser analisada. Águas muito turvas, barrentas, tendem a entupir os poros da membrana de filtro. Nesse caso, é melhor fazer as análises com o método mais trabalhoso, dos tubos.

8.4.3 Outras análises

Em adição aos métodos mais usuais discutidos, outras análises podem ser feitas, dando uma ideia geral da contaminação da água: contagem de bactérias heterotróficas em placas de Petri, determinação de estreptococos e enterococos, presença ou ausência de coliformes, bacteriófagos e enzimas específicas (beta galactosidase e beta glucoronidase). Recentemente, métodos moleculares como PCR (*polimerase chain reaction*) e árvores filogenéticas puderam

dar uma avaliação mais ampla dos microrganismos que habitam nas águas. Vale lembrar que nem toda célula microbiana cresce nos tradicionais meios de cultura. Por outro lado, deve-se ter cuidado na interpretação desses resultados para se chegar à conclusão de quais são os microrganismos que, naquele dado momento, estão em atividade e contaminando a água. Outro aspecto a ser observado e salientado é a praticidade e o custo das análises envolvidas.

Resumo

A água é um dos mais importantes elementos da vida. Pelo seu caráter renovável e de baixa quantidade em termos de potabilidade, a microbiologia da mesma é essencial para a sua qualidade. De um lado, os microrganismos podem ser estudados ecologicamente, no meio ambiente. De outra forma, certos microrganismos podem contaminar a água e causar doenças para os seres vivos, incluindo o homem. Vários fatores afetam os microrganismos como: temperatura, nutrientes, luminosidade, pH, potencial redox, pressão hidrostática e interação com outros organismos. Na análise microbiológica da água são estudados os organismos indicadores de poluição: os coliformes totais e coliformes fecais (termotolerantes). Os métodos mais empregados para a análise são: o de tubos múltiplos ou do número mais provável (NMP) e o da membrana de filtro (MF).

Referências

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Microbiological examination of water. In: **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 20. ed. Washington: APHA, 1998.

CETESB. **Análises microbiológicas da água**. Apostila de curso. São Paulo. Coordenação técnica: HACHID, E.M., 2005. 127p.

HURST, C. J.; KNUDSEN, G. H.; McINENEY, M. J.; STETZENBACH, L. D.; WALTER, M. J. **Manual of environmental microbiology**. Washington: American Society of Microbiology, 1997. 894 p.

LONDON Particulars. Disponível em: <http://londonparticulars.files.wordpress.com/2009/07/john_snow1.jpg>. Acesso em: 20 mar. 2010.

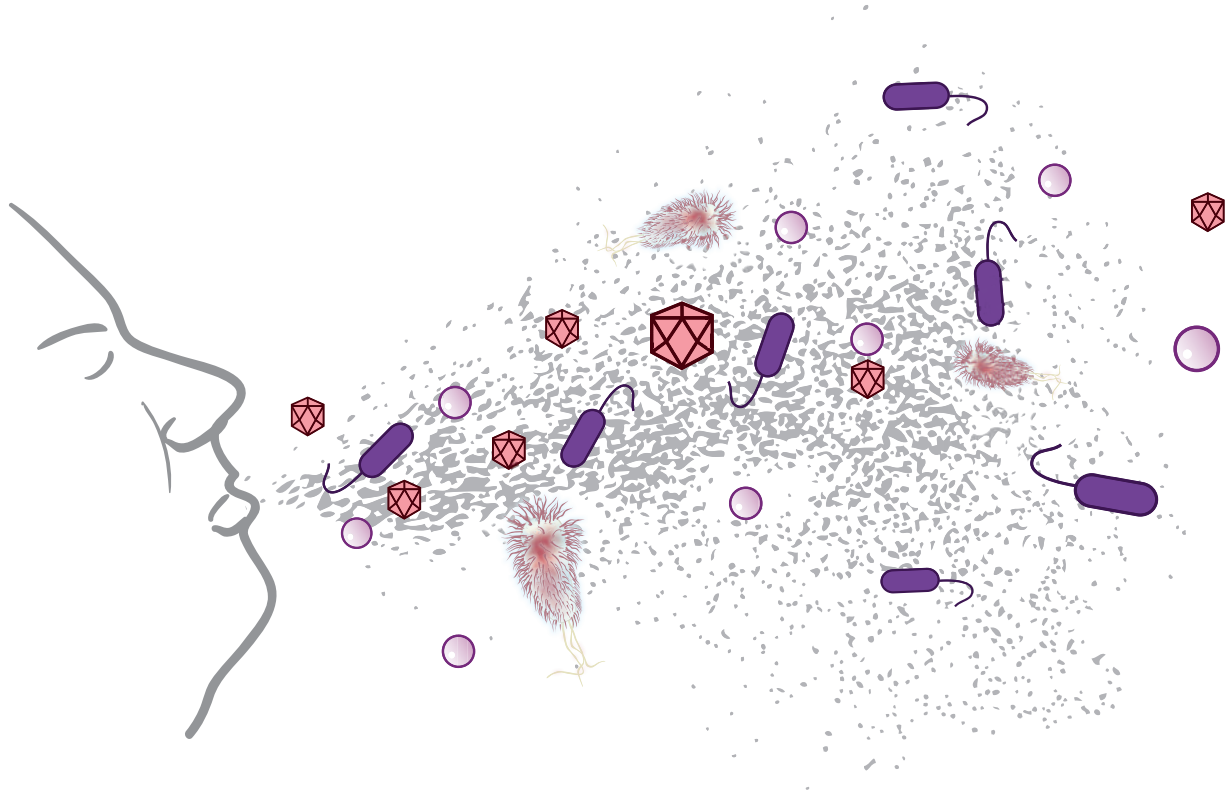
MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. **Microbiologia de Brock**. 10. ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2004. 608 p.

PELCZAR JR, M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. **Microbiologia: Conceitos e Aplicações**. 2. ed. São Paulo: Makron Books, 1996. 524 p.

PRESCOTT, L. M.; HARLEY, J. P.; KLEIN, D. A. **Microbiology**. 2. ed. Dubuque: W. C. Brown, 1993. 912 p.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2000. 827 p.

CAPÍTULO 9



Microbiologia do Ar

Neste capítulo serão abordadas as fontes de contaminação, os fatores que afetam a microbiota, os métodos de avaliação, o controle e a utilidade da microbiologia do ar.

9.1 Introdução

O ar, diferentemente dos outros ambientes, como o solo e a água, não apresenta uma concentração de nutrientes capaz de suprir o crescimento de microrganismos. Portanto, ele não pode ser considerado como um meio de cultura. Dessa forma, surgem perguntas: existem microrganismos no ar? Como provar que existem microrganismos no ar? Basta recordar os procedimentos adotados nos laboratórios de microbiologia para evitar a contaminação dos trabalhos executados. Se o ar não é um meio de cultura para os microrganismos, o que eles estão fazendo lá? O ar é um dos meios de dispersão de muitos microrganismos. Eles podem permanecer no ar por tempo variável, de segundos, horas, dias, semanas, meses ou anos. Assim como podem percorrer distâncias variáveis de milímetros a quilômetros ou milhares de quilômetros. Se os microrganismos não se multiplicam no ar, de onde eles surgem?

9.2 Fontes de contaminação

Se os microrganismos não se multiplicam no ar, sua origem tem de ser de outros ambientes. As principais fontes de contaminação são a poeira, acúmulo de cadáveres, depósitos de lixo e aerossóis.

Quando se fala em poeira, a primeira ideia que se tem é a de um veículo se deslocando em alta velocidade em uma estrada não pavimentada. Sim, realmente essa é uma grande fonte de contaminação.

Mas existem outras relacionadas como a poeira gerada pelo setor agrícola durante o processo de produção, como a aração, gradagem, colheita mecanizada, principalmente na trilhagem. Mas a maior contribuição provavelmente é a da chamada poeira “invisível”, ou seja, aquela que é produzida pelas correntes aéreas sobre as superfícies do solo, de plantas e animais. Grandes centros urbanos, com sua alta população, suas indústrias, tráfego de veículos, edifícios altos, ruas estreitas, também colaboram para a contaminação.

A concentração excessiva de animais e plantas de uma mesma espécie nas criações e plantações, assim como a presença de cadáveres e seres moribundos contribui para a contaminação do ar. Imagine, em tempos passados, onde as guerras eram realizadas com espadas, flechas, lanças, paus e pedras. Um indivíduo ferido nesses combates, muitas vezes não vinha a falecer logo em seguida, ficava moribundo talvez durante dias. Esses indivíduos, juntamente com os corpos de outros combatentes, representavam um excelente meio de cultura para a proliferação de microrganismos, muitos deles inclusive patogênicos. Nessas condições, muitas epidemias poderiam ser disseminadas por amplas regiões. Situações semelhantes ocorrem nas catástrofes, terremotos e inundações.

A presença de grandes quantidades de matéria orgânica em decomposição como as pilhas de compostagem e os depósitos de lixo, principalmente se expostos ao céu aberto, representam uma grande fonte de contaminação para o ar.

Muitos dos microrganismos presentes no ar podem ter suas origens a partir de ambientes aquáticos e através dos aerossóis, incluindo o fluxo de aparelhos de ar condicionado. Pequenas gotículas podem ser lançadas a atmosfera pela ação dos ventos, pelo choque de ondas nas praias e rochedos, pela névoa produzida pelas quedas d'água e pelo borbulhar de gases produzidos dentro dos corpos aquáticos, como, por exemplo, na produção de oxigênio durante a fotossíntese. Estas gotículas podem sofrer desidratação ficando apenas o núcleo constituído dos materiais orgânicos e inorgânicos e os próprios microrganismos.

9.3 Fatores que afetam a população

Uma vez presentes no ar os microrganismos são afetados por uma série de fatores.

A umidade constitui-se em um fator que tanto pode contribuir para o aumento como para a diminuição da população. A chuva lava o ar depositando os microrganismos sobre as superfícies do solo, plantas e águas, diminuindo a população do ar. Por outro lado, os microrganismos depositados nas superfícies, com a disponibilidade de água, podem multiplicar-se e novamente ganhar o ar, aumentando a população.

A população microbiana do ar aumenta com a elevação da temperatura ambiental. Nas regiões frias, dependendo da temperatura, os microrganismos ao serem depositados sobre as superfícies, podem permanecer latentes ou ter baixas taxas metabólicas, tornando a reprodução muito lenta, dificultando a reposição para o ar.

A altitude também afeta a população. Nas regiões mais altas, a incidência de luz ultravioleta é maior do que ao nível do mar, propiciando, assim, uma maior **desinfecção** do ar.

Desinfecção :
é um processo de eliminação
de patógenos, mas nem
todos os microrganismos,
de um objeto ou superfície
são eliminados. Células com
esporos podem resistir. :

A população do ar varia durante o dia e as épocas do ano. Essas são afetadas pela geração de microrganismos pelas fontes e atividades desenvolvidas. Assim, as populações nos ambientes naturais tendem a ser maiores no outono e primavera e nos ambientes urbanos nos horários de pico. Imagine como deve ser a população de microrganismos em um terminal urbano, às 5, 8, 13, 18 e às 24 horas.

9.4 Métodos de avaliação

A população de microrganismos do ar pode ser avaliada por diferentes procedimentos: sedimentação, impacto e filtração.

O procedimento mais simples é conhecido como método da sedimentação. Nesse procedimento, placas contendo meio de cultura adequado (p. ex., ágar nutriente para bactérias e ágar dextrose para fungos) são colocadas com o meio de cultura em exposição nos ambientes a serem avaliados por determinado período de tempo (p. ex.

5 minutos para bactérias e 10 minutos para os fungos). Em seguida, as placas são colocadas para incubar em temperaturas entre 25 e 30 °C e procede-se a contagem das colônias, depois de 24 a 48h. Esse procedimento apresenta as desvantagens de não se saber o volume de ar avaliado porque se contam apenas partículas e não os indivíduos; e apenas as partículas maiores são coletadas. Apesar desses problemas, o método é bastante utilizado por ser de fácil execução e por permitir a comparação de ambientes semelhantes.

Outros procedimentos fazem uso do impacto. O impacto pode ser sobre o meio sólido ou sobre meio líquido. No impacto em meio sólido, usa-se uma placa contendo meio de cultura, sobre a qual é colocada uma tampa com fendas ou crivos acoplada a uma bomba de vácuo. O ar é succionado para o interior da placa, chocando-se com a superfície. Esse procedimento permite o conhecimento do volume de ar avaliado, no entanto, os demais problemas do método anterior permanecem.

No impacto em meio líquido, o ar é borbulhado no interior de um líquido, em seguida, o material é submetido à agitação para dissolução das partículas. Alíquotas da suspensão são colocadas em meio de cultura e após a incubação é realizada a contagem. Esse método permite conhecer o volume de ar analisado, captar todas as partículas e contar os indivíduos.

Pode-se ainda filtrar o ar em uma membrana e colocá-la em contato com o meio de cultura ou em um tubo contendo algodão, que posteriormente poderá ser lavado para retirar as partículas e a suspensão obtida ser submetida a contagem.

9.5 Controle da população

A presença de microrganismo no ar de determinados ambientes é indesejável ou, no mínimo, necessita ser controlada. Entre estes podemos citar as salas de cirurgia, câmaras de inoculação, sala de preparo de alimento. Para tanto, podem-se fazer uso de filtros, radiação com luz ultravioleta, **desinfetantes** gasosos ou em aerossóis.

- **Desinfetante**
- é um agente antimicrobiano
- utilizado em materiais
- inanimados.

9.6. Utilidade

Embora exista uma preocupação constante na área da saúde com os microrganismos patogênicos, que podem ser disseminados através do ar, a dispersão dos microrganismos benéficos é de suma importância. Na dispersão das espécies vegetais existe a necessidade da colonização de suas superfícies com espécies comensais e simbióticas, como no caso das micorrizas, onde os esporos são veiculados de uma região para outra pela ação do vento.

Resumo

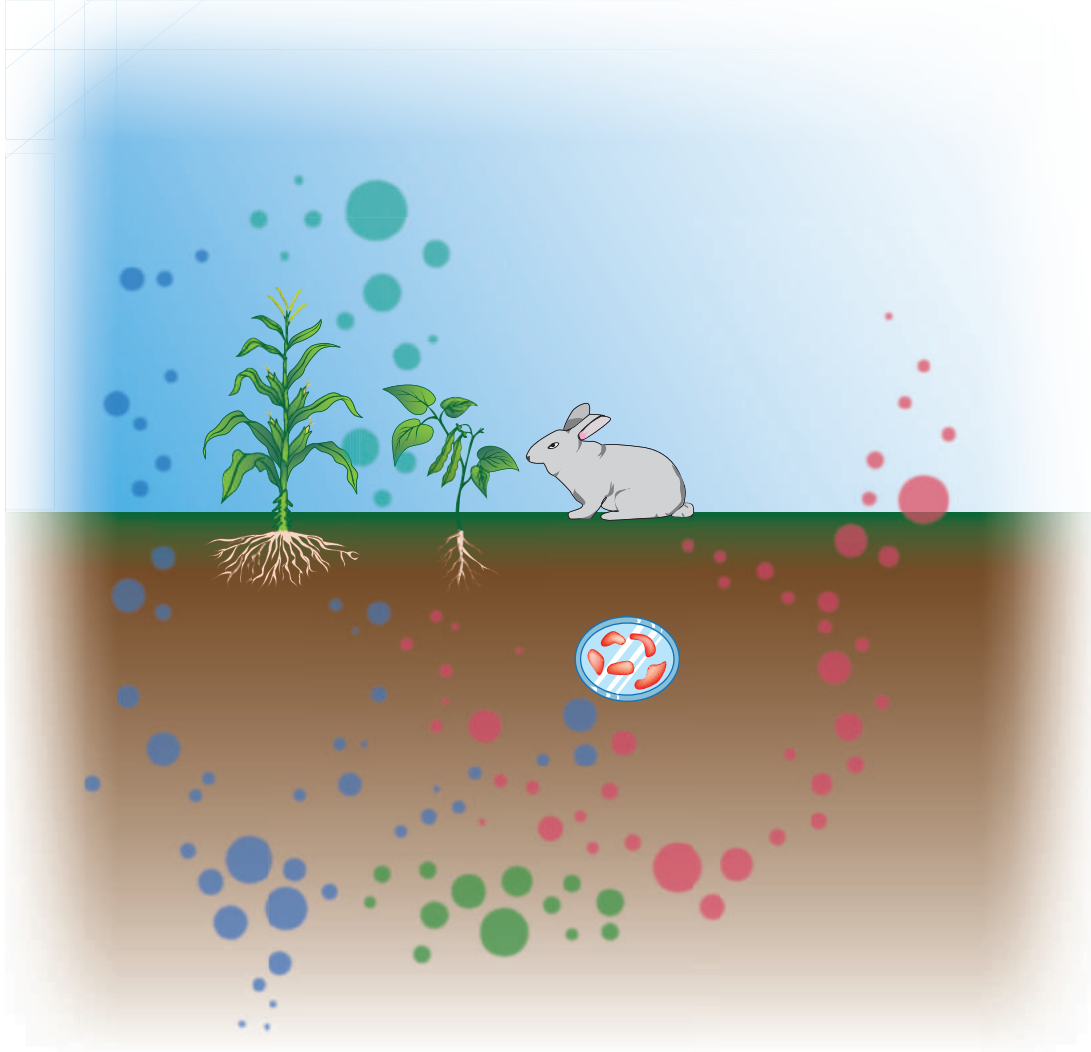
Os microrganismos não se proliferam no ar. O ar é apenas o meio de dispersão. Portanto, eles têm origem a partir do solo, da água e de outros organismos. Uma vez presentes no ar, os microrganismos são afetados pela umidade, temperatura e radiação. A avaliação da população de microrganismos existentes no ar utiliza procedimentos de captura baseados na sedimentação, impacto ou filtração para cultivo em meios adequados. É de suma importância avaliar a qualidade do ar em ambientes fechados pelo potencial de transmissão de doenças respiratórias para as pessoas e os animais. Por outro lado, a veiculação de microrganismos pode ser feita pelo ar de uma região para outra, como é o caso de esporos de fungos micorrízicos.

Referências

PELCZAR JR, M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R.

Microbiologia: Conceitos e Aplicações. 2. ed. São Paulo: Makron Books, 1996. 524 p.

CAPÍTULO 10



Ciclo dos elementos químicos

Neste capítulo serão abordados os ciclos do carbono, nitrogênio, enxofre, fósforo e potássio, tratando especificamente dos microrganismos envolvidos, das condições e importância na vida do planeta.

10.1 Introdução

A terra foi formada com uma determinada quantidade de elementos, e exceto por pequenas perdas e ganhos, essas quantidades permaneceram inalteradas. Se esses elementos se acumularem em determinadas formas, as que são necessárias aos organismos podem se tornar escassas ou inexistentes, diminuindo o desenvolvimento dos organismos ou determinando a extinção. A ciclagem dos nutrientes é, portanto, essencial a vida no planeta. Nesse contexto, os microrganismos desempenham papel importante e, muitas vezes, são a única alternativa. A água e o solo, como substratos de desenvolvimento de inúmeras formas vivas, são os centros da maioria destas atividades.

Atualmente, enfrentamos vários problemas ambientais que, na sua maioria, estão relacionados à ciclagem de nutrientes. Um maior conhecimento desses ciclos permitirá a escolha de procedimentos que minimizem ou eliminem esses problemas.

10.2 Ciclo do Carbono

Os organismos autotróficos (produtores) absorvem da atmosfera o CO_2 , e por processos oxidativos (quimioautotróficos) ou fotossintéticos (fotoautotróficos) fixam o C em suas moléculas orgânicas (Figura 10.1). O carbono orgânico circula entre os seres sendo transferido para os organismos consumidores. Com a

morte de produtores e consumidores, assim como os produtos de suas excreções, são depositados no ambiente constituindo assim a matéria orgânica. Os principais constituintes dos vegetais são a celulose, hemicelulose e a lignina. Há ainda porções menores de amido, pectina e inulina. Mais raras são as gorduras, proteínas e ceras. Nos animais os principais constituintes são as proteínas e gorduras, e, nos insetos, a quitina. Alguns desses constituintes também fazem parte das estruturas de fungos, bactérias, algas, protozoários e vírus. Estão ainda presentes em todos os organismos os ácidos nucleicos (DNA e RNA).

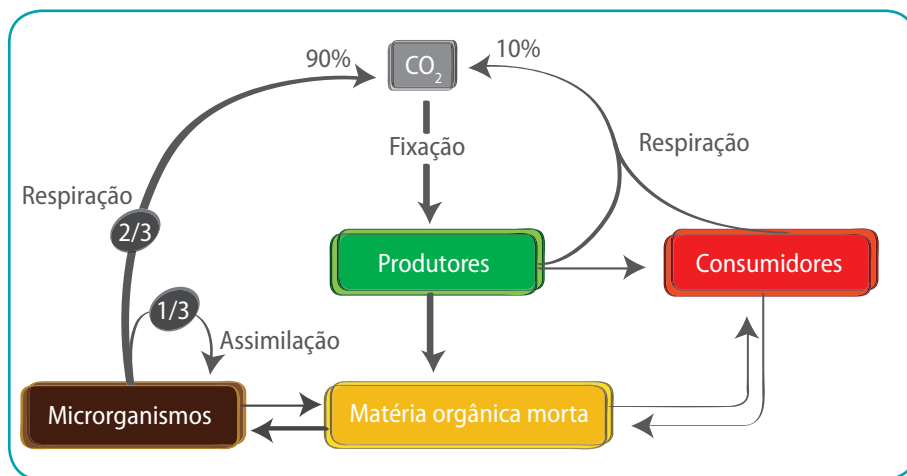


Figura 10.1. Ciclo do Carbono.

A matéria orgânica depositada no solo é a fonte de energia e nutrientes para uma gama de organismos, entre eles os microrganismos. Assim, a matéria orgânica é metabolizada, dando origem a novo protoplasma microbiano, a compostos intermediários e a liberação de CO_2 . Através de ciclos sucessivos, todo o carbono orgânico é liberado para a atmosfera na forma de CO_2 , completando o ciclo. Do carbono metabolizado cerca de um terço é assimilado pelos microrganismos para constituir o seu protoplasma.

Durante o processo de decomposição da matéria orgânica, há a formação no solo de substâncias orgânicas denominadas genericamente de **húmus**.

Podemos entender o húmus como a matéria orgânica bastante estável no solo, que é fruto não só da decomposição, mas também de ressíntese pela polimerização de compostos produzidos durante a decomposição.

10.2.1 Decomposição dos compostos adicionados ao solo

Além da presença de microrganismos, a decomposição é afetada pelas condições físicas, químicas e nutricionais. Entre estes, destacam-se os seguintes fatores: a temperatura, a aeração, a umidade, o pH e os teores de nitrogênio e fósforo. Observa-se que esses fatores são os mesmos que afetam a população de microrganismos. Temperatura de 25 a 30°C, teor de umidade de 60 a 80% da **capacidade campo**, pH neutro e baixas relações C:N e C:P no resíduo, favorecem a decomposição.

Capacidade campo :
é a quantidade de água :
retida pelo solo 24 h após sua :
saturação. :

Decomposição da Celulose

A celulose é o principal constituinte vegetal. É formada de uma cadeia de glicose (ligações β 1,4). Devido ao seu tamanho, não pode ser transportada para dentro das células. Há a necessidade inicial de que seja fragmentada em unidades de glicose para ser absorvida. Esta atividade é realizada por enzimas hidrolíticas, denominadas de celulasas. Os principais microrganismos celulolíticos são os fungos, principalmente em condições de aerobiose. Em condições de anaerobiose, a atividade fica restrita a algumas bactérias e o processo de decomposição é lento. A presença de outros compostos orgânicos de fácil decomposição favorece a decomposição da celulose, pois, enquanto os microrganismos se multiplicam são adaptados à decomposição da celulose.

Decomposição da hemicelulose

A hemicelulose é um polímero de heterossacarídeos e a semelhança da celulose, necessita ser fragmentada. Esta atividade é realizada por enzimas denominadas hemicelulasas que estão presentes na microbiota.

Decomposição da Lignina

A lignina é um polímero complexo, de difícil decomposição e cuja estrutura se assemelha bastante a do húmus. A decomposição é realizada por enzimas denominadas de lignases produzidas principalmente por fungos.

Decomposição do Amido

O amido também é um polímero de glicose, mas diferentemente da celulose as ligações são α 1,4. As quebras nas unidades de amido são realizadas por enzimas denominadas de amilases. Grande parcela da microbiota tem a capacidade de degradar o amido, de 3 a 90% dos isolados de bactérias e a quase totalidade dos fungos (exceto as leveduras).

Decomposição da pectina

A pectina é uma substância de cimento intercelular sendo um polímero complexo constituído de ácidos poligalacturônicos. A quebra em unidades é realizada pelas pectinases.

Decomposição da quitina

A quitina é a substância do exoesqueleto dos insetos e da parede de fungos. É um polímero de N-acetil-glicosamina. Devido a presença de nitrogênio (baixa relação C:N) é uma substância facilmente decomposta no solo, particularmente pelos actinomicetos.

A decomposição de substâncias orgânicas nitrogenadas (proteínas e ácidos nucleicos) será melhor compreendida quando discutida no ciclo do nitrogênio.

10.3 Ciclo do Nitrogênio

Apesar da imensa reserva de nitrogênio existente no ar (78%), apenas uma parcela muito pequena encontra-se no solo, em formas que possam ser utilizadas pelos organismos. Amônia e nitrato representam as formas utilizadas pelas plantas. O nitrogênio atmosférico torna-se disponível aos organismos (microrganismos e plantas) através da fixação, que pode ser química, industrial ou biológica. As perdas de nitrogênio do sistema-solo podem ocorrer por lixiviação, volatilização da amônia e desnitrificação. Dentro do sistema, o nitrogênio pode ser transferido entre os organismos (animais alimentando-se de plantas, animais alimentando-se de animais, parasitas e predadores nutrindo-se de plantas, animais e outros microrganismos e decompositores metabolizando os resíduos) ou passa por

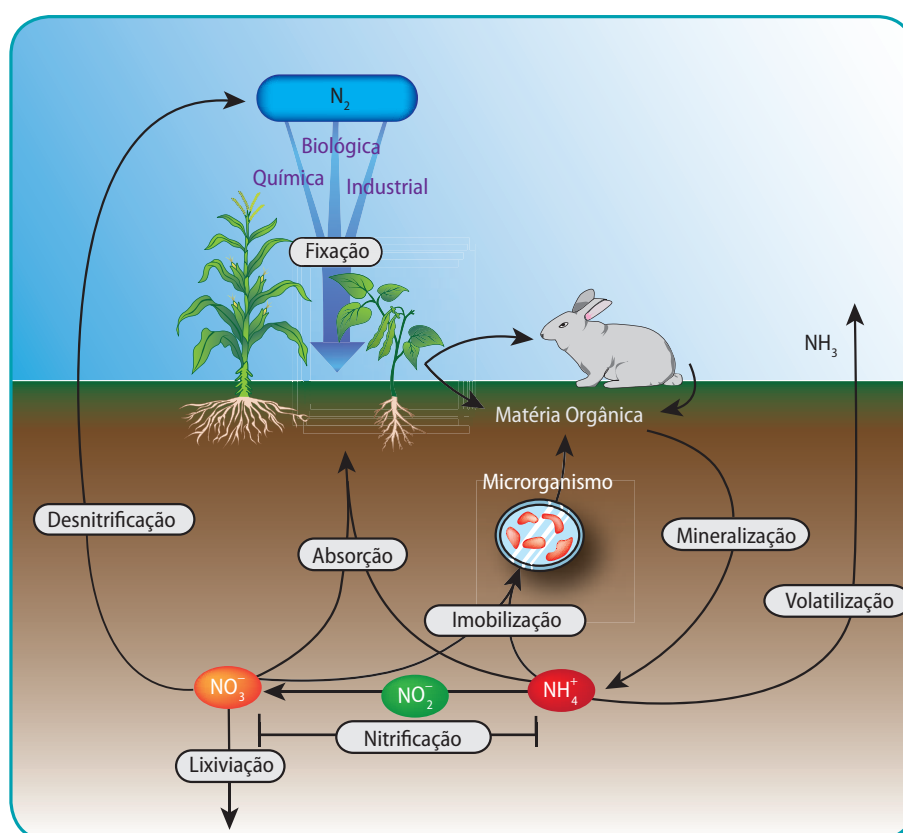


Figura 10.2. Ciclo do Nitrogênio.

fases ou etapas como: mineralização, imobilização, nitrificação e desnitrificação (Figura 10.2).

10.3.1 Mineralização

A mineralização consiste na transformação do nitrogênio orgânico contido em proteínas, ácidos nucleicos e uréia, em nitrogênio inorgânico, mais precisamente em amônio. As proteínas são inicialmente hidrolisadas por proteases em peptonas, peptídeos e finalmente a aminoácidos. Os últimos são utilizados pelos microrganismos ou então são desaminados liberando o amônio.

A biota responsável pela mineralização do nitrogênio é abundante e heterogênea. Todos os microrganismos são capazes de metabolizar alguma forma de nitrogênio orgânico. Assim, mesmo nas condições mais inadequadas para o crescimento de plantas e microrganismos (extremos de pH e condições de anaerobiose) a atividade ocorre. Uma vez no solo, o amônio pode ser perdido para atmosfera por volatilização, ser nitrificado, absorvido pelas plantas ou imobilizado por microrganismos.

A volatilização ocorre pela transformação do amônio em amônia, pela combinação do amônio com oxidrila (OH), produzindo amônia e água. Esta reação é favorecida em condições de alcalinidade.



10.3.2 Nitrificação

Consiste na transformação do amônio em nitrato. Esta atividade é realizada por microrganismos quimiolitotróficos aeróbios. A reação promove a energia necessária para o metabolismo desses microrganismos.

Na primeira etapa, realizada por bactérias do gênero *Nitrosomonas*, o amônio é oxidado a nitrito (NO_2^-).



Em seguida o nitrito é oxidado a nitrato (NO_3^-) pelas bactérias do gênero *Nitrobacter*.



Embora o nitrito seja tóxico às plantas e outros organismos, não há acúmulo no solo porque o *Nitrobacter* é mais rápido.

Diversos fatores afetam a nitrificação. Condições de acidez e temperaturas baixas restringem a atividade dos microrganismos. A presença de germicidas também afeta a atividade, o que às vezes pode ser utilizado como mecanismo para evitar perdas de nitrogênio no solo. Mas o fator mais importante é a aeração. Sem a presença de oxigênio a atividade não ocorre.

Uma vez no solo, o nitrato pode ser absorvido pelas plantas, imobilizado pelos microrganismos, desnitrificado ou lixiviado.

Como as partículas do solo apresentam cargas negativas, o nitrato permanece na solução do solo, ao contrário do amônio, que é atraído pelas cargas negativas. Assim sendo, qualquer excesso de água no solo carrega o nitrogênio (lixivia). Caso o nitrogênio

Aumento nos teores de nutrientes, notadamente N e P provocam crescimento excessivo de organismos autotróficos (cianobactérias, algas e vegetais). Quando da decomposição desses indivíduos há o consumo de oxigênio tornando o ambiente anaeróbico, provocando a morte da fauna especialmente dos peixes.

permaneça nessa forma, ele vai surgir nas fontes, lagos e lagoas podendo ocasionar a **eutrofização** desses ambientes.

10.3.3 Desnitrificação

Consiste na transformação do nitrato a nitrogênio elementar que retorna a atmosfera fechando o ciclo.



Esta atividade é realizada por bactérias anaeróbias ou facultativas que utilizam o nitrato como fonte receptora de elétrons na respiração anaeróbia. Isso representa uma perda de nitrogênio para os organismos. Ambientes com suprimentos de compostos orgânicos e má drenagem (condição de anaerobiose) são propícios a esta atividade. Desta forma, o uso de adubos nítricos em sistemas de produção agrícola, como em lavouras de arroz irrigado, é contra indicado, pois as plantas não têm condições de competir com a microbiota pelo nitrato, resultando em baixo aproveitamento do adubo.

10.3.4 Imobilização

Consiste na absorção do nitrato ou amônio pelos microrganismos para constituição de seu protoplasma. Isso ocorre quando é adicionado ao solo um substrato orgânico pobre em nitrogênio. Os microrganismos ao metabolizarem o composto incorporam carbono às suas estruturas. Algumas moléculas incorporadas contêm nitrogênio como, por exemplo, os aminoácidos. Se o resíduo decomposto apresenta pouco ou nenhum nitrogênio os microrganismos vão competir com as plantas pelo nitrogênio disponível no solo. A relação de carbono e nitrogênio nos microrganismos está em torno de 10:1 (relação C:N = 10:1), assim, para cada dez moléculas de carbono incorporada, há a necessidade da incorporação de uma molécula de nitrogênio. Supondo que seja incorporado ao solo um resíduo com uma relação C:N de 90:1, que esse resíduo possa ser prontamente metabolizado e que a taxa de assimilação de carbono seja de um terço do metabolizado, o que vai ocorrer? Se o resíduo é prontamente metabolizado, 30 moléculas de carbono poderão ser incorporadas ao protoplasma bacteriano. Mas para isso

terão de ser incorporadas 3 moléculas de nitrogênio. No entanto, o resíduo apresenta somente uma e os microrganismos terão de retirar do ambiente (solo) as outras duas moléculas (imobilização).

Podem ocorrer situações em que não há nitrogênio no meio. Nessa condição, a decomposição do resíduo será lenta, pois o nitrogênio deverá circular entre os microrganismos e através de ciclos contínuos haverá a liberação de carbono. Nesse caso, só poderiam ser metabolizadas 30 moléculas de carbono, sendo 10 incorporadas e 20 liberadas como CO_2 . Nesse ciclo a relação C:N seria reduzida para 70:1. Supondo que uma parcela equivalente de carbono incorporado aos microrganismos fosse metabolizada (após morte ou predação), novamente o ciclo se repetiria e mais 20 moléculas de carbono seriam liberadas reduzindo a relação C:N para 50:1. Um novo ciclo ocorre e a relação será de 30:1 e em seguida 10:1. Nesta última condição, apenas 3,3 moléculas de carbono serão incorporadas, necessitando de 0,33 moléculas de nitrogênio, havendo uma sobra de 0,67 moléculas de nitrogênio. Nesta fase já está sobrando nitrogênio, ele é liberado para o solo (ambiente), portanto está ocorrendo mineralização.

Está claro que no ambiente a ciclagem do nitrogênio é contínua, não ocorrendo da forma como foi descrita, mas ela é uma maneira prática de entender-se o processo e demonstrar que resíduo com relações C:N superiores a 30:1 podem ocasionar a imobilização, trazendo problemas para os vegetais, ao passo que relações inferiores a 30:1 favorecem a mineralização, disponibilizando amônio para o meio. Isso também demonstra que no tratamento de resíduos (lixo, esgoto ou outro composto orgânico) a adequação da relação C:N pela adição de fontes de nitrogênio prontamente utilizáveis (adubos) pode em muito favorecer o processo, diminuindo o tempo de retenção.

10.3.5 Fixação de nitrogênio

O nitrogênio gasoso (N_2) pode combinar-se com o oxigênio e hidrogênio formando compostos que são utilizados pelos organismos. Na fixação química as reações ocorrem pela energia fornecida por descargas elétricas (relâmpagos) e os compostos são depositados

nos ambientes através das precipitações. A fixação industrial exige alta demanda de energia das mais variadas fontes (hidráulica, carvão, petróleo) para obtenção de temperatura e pressão elevadas para romper a tripla ligação e obtenção dos compostos nitrogenados. Assim, os fertilizantes são caros e seu valor fica atrelado à demanda mundial de energia com flutuações abruptas em curtos períodos.

A fixação biológica é realizada por microrganismos procarióticos (bactérias), pois são os únicos que possuem a enzima nitrogenase, capaz de utilizar o nitrogênio atmosférico (N_2), produzindo aminas que serão incorporadas aos ácidos orgânicos dando origem aos aminoácidos. Utilizam a energia contida em compostos orgânicos em decomposição, ou de produtos da fotossíntese quando em associação com plantas. Assim, é válido afirmar que para as plantas e animais, incluindo os humanos, a proteína que hoje ostentam já foi um dia proteína bacteriana. Desta forma, a exuberância de vida no planeta passa por esse processo.

A fixação biológica constitui a forma mais barata, natural e sustentável de suprimento de nitrogênio para o ambiente e culturas. Existem vários grupos de microrganismos capazes de realizar a fixação. O conhecimento desses sistemas é de suma importância ecológica e econômica na produção e produtividade dos sistemas biológicos.

A fixação pode ocorrer de forma assimbiótica, quando é realizada por microrganismos de vida livre como, as bactérias dos gêneros *Bacillus*, *Clostridium*, *Azotobacter*, *Beijerinckia* e cianobactérias. *Bacillus*, *Clostridium*, *Azotobacter* e *Beijerinckia*, são organismos saprógenos habitantes do solo. As cianobactérias, como as dos gêneros *Anabaena* e *Nostoc* são organismos fotoautotróficos presentes na água e solos úmidos. As quantidades fixadas são para atender suas demandas metabólicas. Isso não quer dizer que não contribuam para outros organismos. Com a sua morte ou predação o nitrogênio fixado circula entre os organismos e pode ser mineralizado e disponibilizado para as plantas. Esse tipo de fixação ficou relegada a um segundo plano e pouco se acreditava na sua contribuição no suprimento de N para o ambiente. Isso ocorreu, em parte, devido a pouca pesquisa existente nos países de clima tropical e subtropical. A maioria das pesquisas nesta área foi inicialmente realizada em países de clima temperado e frio, em que

houve mais ênfase a sistemas de fixação simbióticos, pois as condições de clima limitariam a fixação assimbiótica. Com o avanço da pesquisa em países de clima mais quente percebeu-se a importância deste sistema, levando-se em conta que as quantidades fixadas variam de 100 a 700 kg de N/ha/ano.

As cianobactérias têm despertado a atenção para uso em ambientes alagados como as lavouras de arroz irrigado. No entanto, a suscetibilidade destes organismos a metais, como, por exemplo, cobre e zinco, utilizados nos defensivos agrícolas, tem limitado a sua utilização.

Diversas bactérias fixadoras podem estabelecer associações com diferentes graus de integração com outros organismos.

As cianobactérias além de fixarem em vida livre podem realizar simbioses com plantas. *Nostoc* coloniza raízes modificadas (coroloides) de plantas da família *Cycadaceae* e glândulas localizadas no caule de plantas do gênero *Gunnera*. *Anabaena azollae* coloniza a cavidade da folha de uma planta aquática (Pteridófito) conhecida como azola. Devido às altas taxas de crescimento e ao nitrogênio fixado, esta associação tem despertado o interesse na utilização em cultivos em solos alagados como na cultura do arroz, além da sua utilização na alimentação de peixes e animais domésticos.

Fixadores de nitrogênio podem ser estimulados na rizosfera de plantas constituindo associações frouxas ou específicas como a do *Azotobacter paspali* com *Paspalum notatum*. Os *Azospirillum* spp. têm sido isolados da rizosfera e de raízes esterilizadas externamente de gramíneas (forrageiras, milho, sorgo, trigo e arroz) e *Herbaspirillum seropedicae* e *Acetobacter diazotrophicus*, da cana de açúcar.

A fixação biológica em gramíneas foi descoberta por uma cientista brasileira, a doutora Johanna Döbereiner. Ao observar os jardins do seu local de trabalho verificou que a grama era constantemente cortada e removida e o gramado permanecia exuberante sem nunca ter recebido qualquer forma de adubação. De onde estava vindo o nitrogênio para aquele crescimento? Resolveu, então, submeter às raízes das gramíneas à técnica de redução de acetileno, detectando a fixação de nitrogênio. O isolamento, a seleção

e a produção de inoculantes, contendo esses microrganismos em cultivos de gramíneas, podem tornar-se técnicas muito importantes. Considerando-se a área de cultivo de cereais no mundo, qualquer ganho na fixação de nitrogênio em gramíneas pode gerar um grande impacto econômico e ecológico.

A simbiose com formação de nódulos é característica da associação entre rizóbio e leguminosas (Figura 10.3) ou *Parasponia*, mas também ocorre com espécies vegetais como a *Casuarina* e *Alnus*, com bactérias do gênero *Franquia*, uma actinomicetales.

O termo rizóbio refere-se à uma bactéria Gram negativa que participa da associação. No início todas as bactérias que induziam a formação de nódulos em leguminosas foram incluídas no gênero *Rhizobium*. Assim, *R. phaseoli* nodulava com feijoeiro, *R. japonicum* com soja e *R. leguminosarum* com ervilha. Com um maior conhecimento de fisiologia e, mais tarde, com o sequenciamento genético, verificou-se que haviam grandes diferenças entre estas espécies e o gênero foi dividido. Bactérias que nodulam com feijoeiro e ervilha, por exemplo, são *R. leguminosarum* com biovariedades *phaseoli* e *viceae*. As que nodulam com soja *Bradyrhizobium japonicum* e as que produzem nódulos no caule de *Sesbania*, *Azorhizobium caulinodans*. Pode-se perceber que existe uma especificidade bastante definida entre o microssimbionte e as plantas. Podem existir casos em que um isolado de uma espécie de rizóbio nodule com uma determinada variedade e não nodule com outra variedade da mesma espécie vegetal. No entanto, algumas espécies de rizóbio são bastante promíscuas, ou seja, nodulam com várias espécies. Estes são principalmente rizóbios de origem tropical como os do grupo caupi (*Bradyrhizobium* spp.) que nodulam com siratro, amendoim e *Leucena*.

As quantidades fixadas variam com a espécie, isolado (estirpe), planta, variedade de planta e condições de solo. No cultivo de soja a quantidade fixada varia de 60 a 180 kg de N, no feijoeiro de 3 a 110 kg de N e em *Leucena* até 600 kg de N ha⁻¹ano⁻¹ ou ciclo⁻¹. Portanto, esses organismos apresentam potencial biotecnológico para ser utilizados como inoculantes, suprimindo as necessidades de nitrogênio da planta, evitando-se o uso de fertilizantes industriais. O suprimento pode ser direto na cultura ou indiretamente através

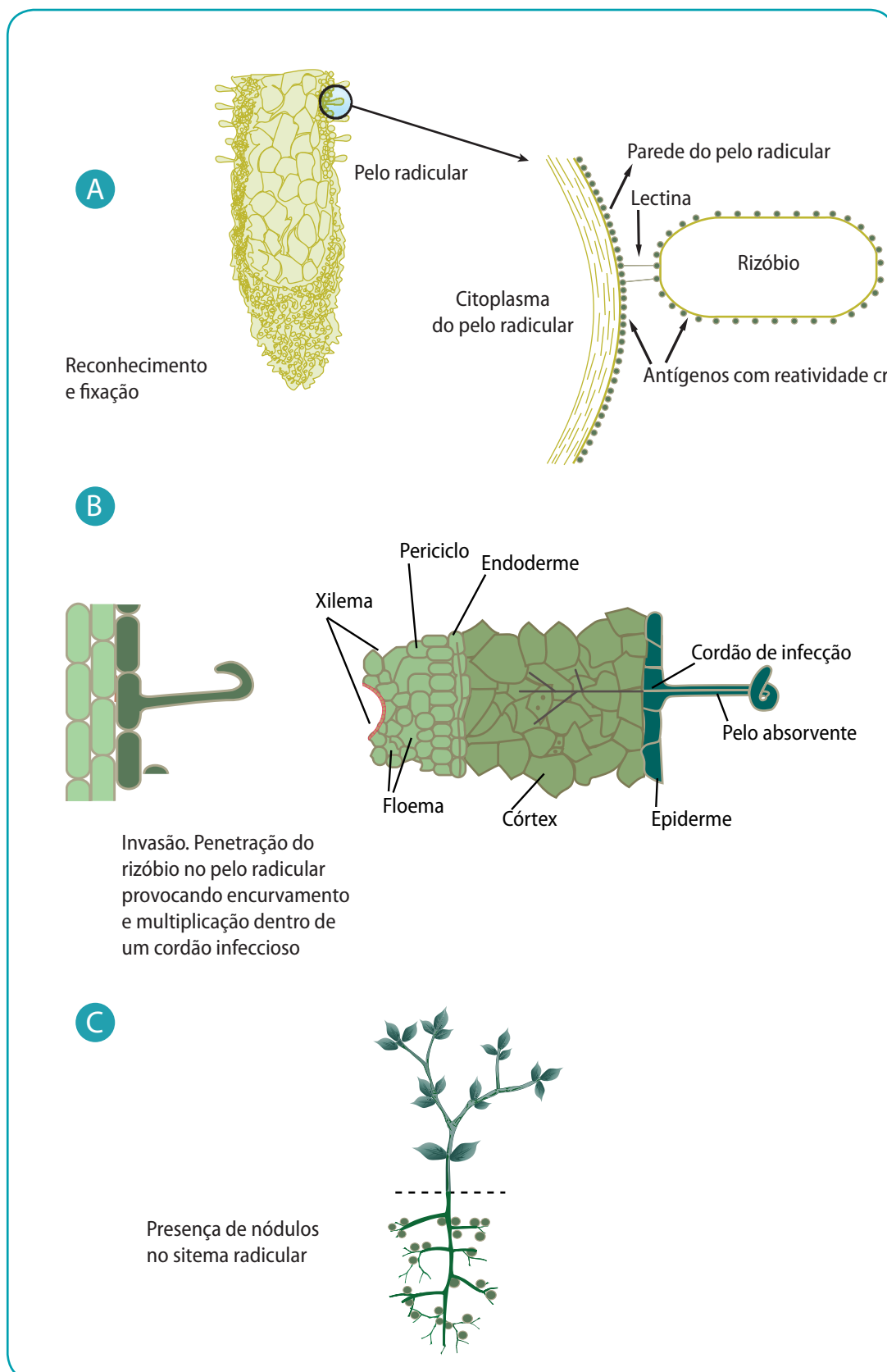


Figura 10.3. Simbiose entre rizóbio e leguminosas. FONTE: Modificado de Madigan (1996, p. 595) e Siqueira e Franco (1988, p. 197).

do cultivo de uma planta como a *Leucena* que pode ser incorporada ao solo e irá disponibilizar, pela mineralização, o nitrogênio para outras culturas, num processo conhecido como adubação verde.

O processo de nodulação inicia-se pela atração (quimotaxia) e estímulo rizosférico da planta sobre os rizóbios existentes no solo (naturais ou introduzidos pela inoculação das sementes). O microrganismo se liga ao sistema radicular, particularmente nos pelos radiculares, através de um processo de reconhecimento promovido pelas estruturas externas das plantas e do microsimbionte. Ocorre então a multiplicação do microrganismo e a excreção de hormônios que levam ao dobramento de pelos radiculares, como que englobando os microrganismos. Em seguida, há a formação de um cordão infeccioso que penetra no tecido radicular depositando os rizóbios no interior das células vegetais. As células vegetais são estimuladas a aumentarem de tamanho e número formando o nódulo. No interior do nódulo as bactérias estão dispostas dentro de envelopes em forma alterada, lembrando letras como x, y, denominadas de bacteroides.

A fixação ocorre pela permeabilização do nitrogênio, através do solo e do nódulo. Como o rizóbio é aeróbio e a enzima nitrogenase é suscetível ao oxigênio, há a necessidade da presença de leghemoglobina, substância que transporta o oxigênio para os bacteroides a exemplo da hemoglobina nos animais. Assim, para verificarmos se um nódulo está fixando, basta partirmos e observarmos a coloração avermelhada no seu interior.

A ocorrência de um grande número de espécies de leguminosa com interesse econômico na produção de grãos utilizados na alimentação humana e de animais domésticos, na produção de madeira e mesmo na recuperação de áreas degradadas ou contaminadas, tem motivado os microbiologistas no desenvolvimento de inoculantes eficientes no suprimento de N. Esse trabalho inicia-se com o isolamento dos microrganismos e processos de seleção e finaliza com a multiplicação e produção de inoculantes que são postos à disposição dos produtores.

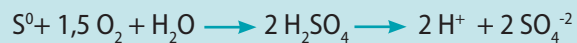
10.4 Ciclo do Enxofre

O enxofre apresenta um ciclo semelhante ao do nitrogênio, incluindo mineralização, oxidação, redução e imobilização.

O enxofre presente nos compostos orgânicos na forma de aminoácidos (cistina e metionina) e vitaminas (biotina e tiamina) é mineralizado e liberado na forma de sulfato (SO_4^{-2}) em condições de aerobiose e sulfeto (H_2S) em anaerobiose. Em condições de anaerobiose pode ocorrer também a liberação de produtos de mau cheiro como metil e dimetilmercaptanas.

O enxofre pode apresentar-se no ambiente em diferentes estágios de oxidação, da forma mais reduzida ($^{-2}$), o H_2S , até a mais oxidada ($^{+6}$), o SO_4^{-2} .

Participam do processo de oxidação bactérias quimiolitotróficas, quimioheterotróficas e fotoautotróficas. Bactérias como o *Thiobacillus thiooxidans* oxidam o enxofre elementar produzindo ácido sulfúrico conforme a reação:

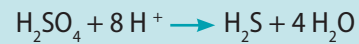


Essa reação pode ser de utilidade no controle de patógenos, na recuperação de solos alcalinos e na solubilização de minerais. Doenças como a sarna da batata, causada por *Streptomyces scabies*, podem ser controladas pela diminuição do pH do solo ocasionada pela adição de enxofre. Solos extremamente alcalinos, apresentam problemas na disponibilidade de nutrientes, podem ter o pH reduzido favorecendo a nutrição e o crescimento das plantas. Minerais como as apatitas podem ser dissolvidos por ácidos, liberando o fósforo em formas assimiláveis pelas plantas.

Bactérias fototróficas anoxigênicas também pode reduzir H_2S a S:



Em condições de anaerobiose, bactérias como o *Desulfovibrio desulfuricans* podem utilizar compostos de enxofre como receptor de elétrons reduzindo o enxofre.



Os microrganismos podem também imobilizar o enxofre existente no solo competindo com as plantas. Normalmente isso não é tão limitante quanto para o nitrogênio, uma vez que só ocorre quando a relação C:S no resíduo orgânico é superior a 50:1.

10.5 Ciclo do Fósforo

Embora muitos pesquisadores considerem o N o fator mais limitante à produtividade biológica dos ambientes, isso deve ser creditado ao fósforo, uma vez que para o nitrogênio sempre existe a possibilidade do suprimento via fixação biológica. Já para o fósforo isso não existe. A fonte primária de fósforo são os minerais como as apatitas, que ao serem dissolvidas disponibilizam o elemento para o solo onde pode ser utilizado pelas plantas. A partir daí há uma constante perda, pois apesar de ocorrer uma ciclagem no solo através dos processos de mineralização, solubilização, imobilização e reações de oxi-redução, ele é lentamente lixiviado para o lençol freático, com destino final os oceanos, onde é precipitado nos sedimentos marinhos. Assim, na realidade não temos um ciclo e sim uma linha reta, pois as quantidades retiradas dos oceanos através da pesca ou pelo consumo de peixes pelas aves são pequenas.

O fósforo contido nos resíduos orgânicos (fitina, ácidos nucleicos e fosfolipídeos) são mineralizados pela ação de enzimas extracelulares denominadas de fosfatases. As fosfatases desempenham importante papel na ciclagem do P, uma vez que a maioria dos solos é pobre no elemento e cerca de 50% do total está na forma orgânica.

Problemas de imobilização de P normalmente não são observados nos solos, pois a relação C:P a qual ocorre é superior a 300:1.

O fósforo inorgânico no solo encontra-se principalmente na forma de fosfatos de cálcio, tais como os minerais primários, as apatitas (hidroxiapatita, fluorapatita e clorapatita) e fosfatos de ferro e alumínio. Os primeiros são mais abundantes em solos neutros e os últimos em solos ácidos. O fosfato presente nesses compostos

pode ser disponibilizado para os organismos através da ação de ácidos orgânicos (acético, lático, cítrico, oxálico) e inorgânicos (sulfúrico e carbônico) produzidos pelos microrganismos.



Além do efeito ácido, os ácidos orgânicos podem disponibilizar o P pela combinação de seus radicais com os cátions acompanhantes dos fosfatos formando acetatos, lactatos, citratos, oxalatos de Ca, Fe e Al.

A redução de fosfato (H_3PO_4) a fosfina (H_3P) só ocorre em condições extremas de redução. Isso consiste em problemas no tratamento de águas residuais, se o fósforo não for removido será acumulado nos lagos, lagoas e rios, ocasionando eutrofização.

A microbiologia do folclore

A ocorrência de fantasmas e o boitatá, no folclore brasileiro, tem uma explicação na microbiologia do P. Imagine um cadáver em decomposição em condições anaeróbias em que propicie a produção e acúmulo de metano e fosfina, quando esses gases são liberados por fissuras no solo e entram em contato com o ar, a fosfina que é inflamável é oxidada, produzindo a queima do metano produzindo assim "labaredas". Explicação semelhante se dá pela presença de boitatá em pântanos.

10.6 Ciclo do Potássio

Dos três macronutrientes utilizados pelas plantas, o potássio é o que apresenta menos problemas de fornecimento e, portanto, é o que dispõe de menos conhecimento quanto a participação dos microrganismos na sua ciclagem. Isso se deve em parte à riqueza natural dos solos no elemento devido aos materiais de origem, a mobilidade, as quantidades inexpressivas para a imobilização e ao fato de estar sempre na forma de K^+ , dispensando reações de oxi-redução.

Porcentagem expressiva do K existente nos compostos orgânicos está prontamente disponível dispensando a mineralização. Uma simples lavagem retira a maior parte do K presente, uma vez que geralmente ele faz parte do balanço iônico das células e dificilmente faz parte de compostos orgânicos. Além disso, diversos organismos como *Bacillus siliceus* e *Aspergillus niger* são capazes de utilizar e disponibilizar o K existente em minerais como as micas.

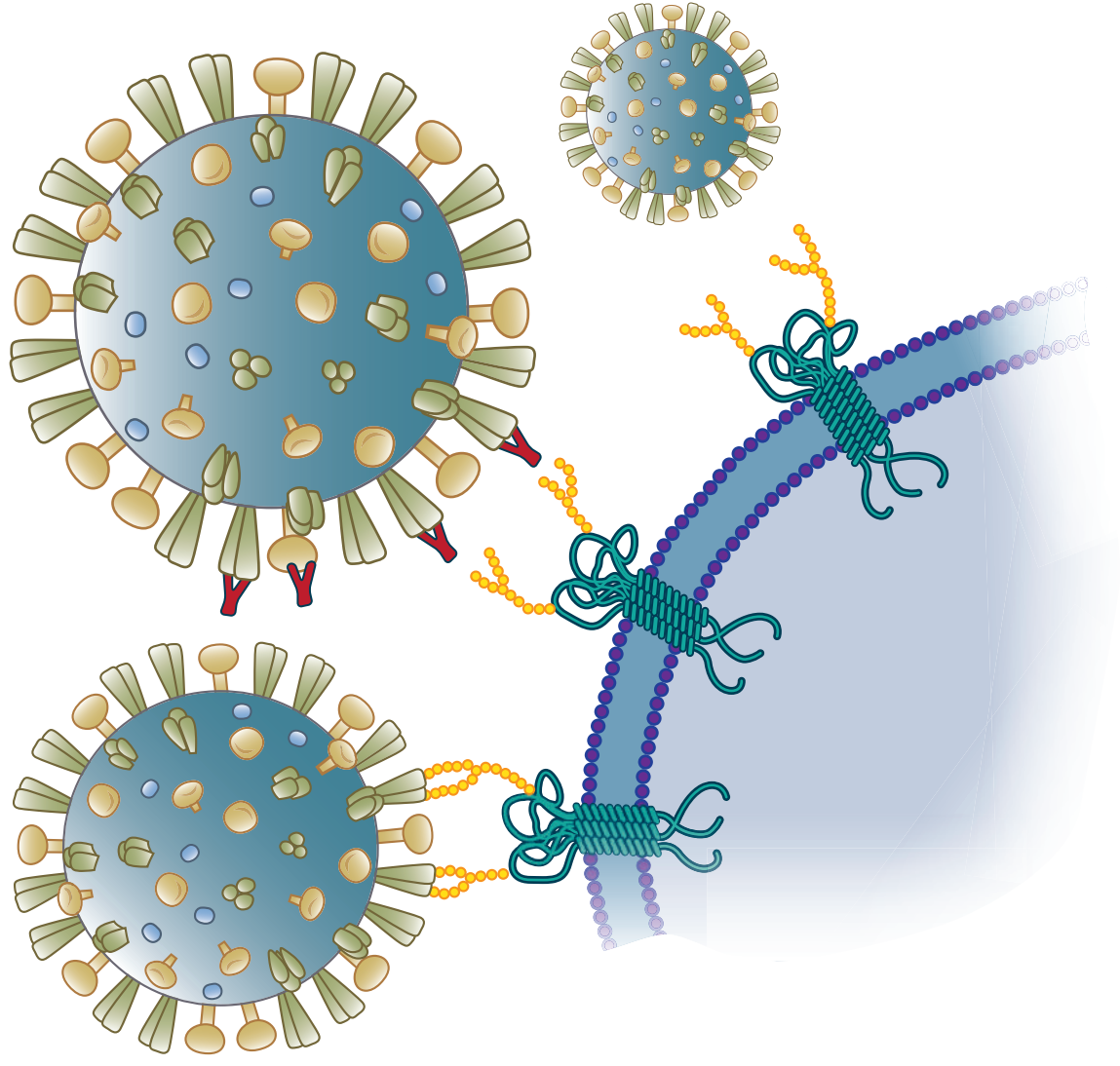
Resumo

A quantidade de nutrientes presentes no planeta é limitada, tornando necessário a ciclagem para a continuidade da vida. Os problemas ambientais enfrentados pela nossa sociedade e que afetam diretamente a vida como a conhecemos estão relacionados ao funcionamento dos ciclos. O conhecimento destes fenômenos permitirá a escolha de procedimentos que visem eliminar as falhas nos sistemas. O carbono fixado pelos organismos produtores, para constituir os diferentes componentes orgânicos, circula entre os organismos. Mas os resíduos que não são utilizados necessitam ser degradados e liberados novamente para utilização pelos produtores. Nisso os microrganismos são especialistas, sendo responsáveis por cerca de 90% do carbono liberado. O nitrogênio, embora abundante na atmosfera, é pouco disponível para os organismos. Apenas um grupo seletivo de procariotos é capaz de realizar a fixação tornando-o disponível. Devido a sua essencialidade, é importante que o nitrogênio circule pelos sistemas através de processos como a mineralização, nitrificação e imobilização, evitando perdas. No entanto, em determinadas circunstâncias se faz necessário o seu retorno à atmosfera através do processo de desnitrificação. A participação dos microrganismos nos ciclos do enxofre e do fósforo é intensa e constitui em alternativa para a solução de problemas ambientais.

Referências

- CARDOSO, E. J. B. N. et al. **Microbiologia do solo**. Campinas, SP: Soc. Bras. De Ciência do Solo, 1992.
- MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. **Microbiologia de Brock** 10. ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2004. 608 p.
- MADIGAN, M. T. et al. **Brock Biology of Microorganisms**. 8. ed. New Jersey: Prentice Hall, 1996. 986 p.
- PELCZAR JR, M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. **Microbiologia: Conceitos e Aplicações**. 2. ed. São Paulo: Makron Books, 1996. 524 p.
- SIQUEIRA, J. O.; FRANCO, A. **A Biotecnologia do Solo. Fundamentos e perspectivas**. Brasília: MEC, 1988. 236 p.

CAPÍTULO 11



Patogenicidade

Neste capítulo será abordado o conceito de patogenicidade e as etapas do desenvolvimento da doença.

11.1 Introdução

Ao longo da história, as doenças foram atribuídas a diferentes causas. No início, elas eram superstições primitivas tidas como castigo dos deuses ou provocadas por demônios. Mais tarde, estabeleceu-se o conceito humoral de que a saúde dependia do equilíbrio entre sangue, catarro, bile amarela, e bile negra e o desequilíbrio provocava a doença. Assim, às vezes para se restabelecer o equilíbrio, os indivíduos eram submetidos à sangria. Por fim, surgiu o raciocínio científico em que se verificara através de Robert Koch que os microrganismos eram responsáveis por determinadas doenças.

Patogenicidade é a capacidade que o microrganismo tem de provocar doenças, que são alterações anatômicas ou fisiológicas nos hospedeiros. Ela é medida pela virulência (grau de patogenicidade). A virulência é influenciada pelas características dos microrganismos, do hospedeiro e pelas condições ambientais. Pneumococos capsulados são virulentos, acapsulados não. O homem é susceptível aos gonococos, os animais inferiores são resistentes. Existem microrganismos que, em condições normais, não são patogênicos, mas com a diminuição da resistência do hospedeiro podem trazer problemas, como no caso das relações entre o uso de drogas imunossupressoras e a biota normal do homem.

Na maioria dos casos a patogenicidade não está relacionada a um único produto e as bases bioquímicas ou moleculares são difíceis de serem identificadas. Isso porque a virulência não depende apenas do patógeno, mas também do hospedeiro, logo sua

expressão depende de certas condições ambientais, tais como nutrientes, O_2 etc. No caso da brucelose em humanos, o crescimento do microrganismo na placenta é moderado, mas em vacas, cabras, ovelhas e suínos, devido à presença de eritritol, o crescimento é abundante, levando ao aborto.

11.2 Etapas do desenvolvimento da doença

Para que um microrganismo seja capaz de provocar uma doença é necessário o cumprimento de etapas:

- a) Infectar as superfícies do hospedeiro (pele e mucosas);
- b) Penetrar no organismo;
- c) Multiplicar-se;
- d) Interferir com os mecanismos de defesa;
- e) Causar danos.

As etapas podem não ocorrer nessa mesma sequência e algumas podem ser suprimidas. Os microrganismos podem ser introduzidos por picadas ou mordidas. Alguns vão direto aos danos, como no caso do botulismo, em que o microrganismo se multiplica e produz a toxina fora do organismo e a doença só se manifesta com a ingestão do alimento contaminado.

O contato é o primeiro quesito da invasão. Geralmente é casual, o microrganismo chega normalmente em pequeno número e pode ser eliminado por vários mecanismos de resistência do hospedeiro tais como: mucosidades, células ciliadas, barreiras físicas, substâncias antimicrobianas, fagocitose, etc. Existe, portanto, a necessidade imediata de se aderir às superfícies por meio de adesinas (pili, glicocálice) para evitar a remoção. Eles necessitam, ainda, sobreviver à competição com a microbiota presente nas superfícies. Muitos processos de sobrevivência e penetração não são bem compreendidos.

Uma vez no tecido, os microrganismos devem crescer, multiplicando-se na lesão local ou disseminando-se pelos organismos pelas vias: linfática e hemática. Para progredir devem vencer os

sistemas de defesa dos hospedeiros. No início da infecção os mecanismos de defesa são inespecíficos, caso haja uma derrubada dessas defesas, há em alguns dias uma resposta imunológica.

Os microrganismos podem interferir nos mecanismos de defesa do hospedeiro através da produção de cápsula, leucocidinas e agressinas.

A cápsula protege contra a fagocitose, mas ainda não se sabe como. Os fagócitos não conseguem ingerir os microrganismos capsulados, exceto se existir um anticorpo ligado a ele, caso contrário, a bactéria fica escorregadia.

Algumas bactérias, além de serem resistentes à fagocitose, também destroem os leucócitos pela produção de leucocidinas. São bactérias denominadas de piogênicas (produzem pus).

Os microrganismos além de resistirem às defesas dos organismos podem ainda produzir agressinas, substâncias que favorecem a invasão. A produção de hialuronidase (enzima que hidrolisa o ácido hialurônico) e colagense (hidrolisa o colágeno) promove a dissolução dos constituintes do tecido conjuntivo, facilitando a disseminação dos microrganismos. A coagulase precipita o sangue recobrando as células microbianas (estafilococos) com fibrina, protegendo-as da fagocitose. Lecitinase decompõe a lecitina (substância cimentadora de membranas celulares e mitocôndrias). Hemolisinas lisam os eritrócitos liberando a hemoglobina.

As plantas não possuem os sofisticados sistemas de defesa dos animais como a fagocitose e os anticorpos. Suas principais defesas estão relacionadas a barreiras mecânicas, a substâncias antimicrobianas (óleos e antibióticos) e ao baixo pH do suco celular. A principal barreira é o cimento intercelular, pectina e protopectina. Muitos patógenos vegetais produzem enzimas (pectinases) que dissolvem esses constituintes e permitem a invasão dos tecidos. Algumas plantas podem reagir formando pectina. O progresso da doença vai depender da capacidade dos microrganismos de produzir as enzimas e o organismo de produzir pectinas. Outro mecanismo pode ser a produção de substâncias inibidoras de pectinases.

Finalmente, para provocar a doença o microrganismo deve produzir substâncias (toxinas ou desencadeamento de reações

imunológicas) que prejudiquem o hospedeiro. As toxinas podem ser de dois tipos: as exotoxinas e as endotoxinas.

As exotoxinas são proteínas cuja ação tóxica se dá devido à configuração espacial dos aminoácidos. Estes arranjos podem ser alterados de forma a produzir toxoides, que são atóxicos, e protegem os indivíduos suscetíveis. São solúveis e eliminadas pelas células produtoras no ambiente (Botulismo em conservas) ou na corrente circulatória (difteria e tétano). São termossensíveis e inativadas por ácidos.

Os microrganismos que possuem altas propriedades toxigênicas têm baixo poder invasor. O *Clostridium tetani* não tem capacidade para invadir ou crescer em tecidos saudáveis, no entanto, quando introduzido em tecidos lesionados ou mortos, na ausência de oxigênio, produzem toxinas que provocam contrações musculares e até a rigidez das mandíbulas. O *C. botulinum* raramente invade tecidos vivos ou mortos, mas em conservas (carnes e vegetais) produzem toxinas que quando ingeridas levam até a morte.

Os mecanismos de ação de muitas exotoxinas ainda não são conhecidos. No entanto, alguns já foram identificados:

- a) Inibição da respiração das mitocôndrias;
- b) Ação enzimática, com a digestão de componentes celulares. Lecitinasas decompõem a lecitina que é um lipídeo que forma a substância cimentadora de membranas celulares e membranas das mitocôndrias;

Toxina Botulínica

Embora as toxinas provoquem danos nas células elas podem possuir outras aplicações. Como por exemplo, a toxina botulínica é uma proteína de origem biológica, comercializada e conhecida pelo nome de BOTOX®, que tem mudado a vida de pacientes com distúrbios neurológicos e é agora considerada uma grande aliada no tratamento de reabilitação, embora seus benefícios já tenham sido comprovados há anos no campo da estética. **A diferença entre o tóxico e o terapêutico está na dose.** Uma vez no organismo humano, essa toxina vai apresentar basicamente duas ações distintas, porém,

que se complementam. Ela vai ligar-se aos receptores terminais encontrados nos nervos motores, gerando um bloqueio na condução neuromuscular e, entrar nos terminais nervosos e inibir a liberação da acetilcolina. Dessa forma, quando injetada por via intramuscular, em doses terapêuticas, ela produz uma paralisia muscular localizada por denervação química temporária. A denervação química produz uma atrofia do músculo mas, posteriormente, o músculo acaba desenvolvendo novos receptores extrajuncionais para a acetilcolina e a debilidade que se instalara acaba se revertendo.

- c) Inibição da síntese proteica;
- d) Perda de fluido intestinal;
- e) Lise de células;
- f) Efeitos Vasculares;
- g) Neurotoxinas: são toxinas que atuam sobre o sistema nervoso, interferindo nos mecanismos pelos quais os nervos transmitem os estímulos aos músculos. A toxina botulínica é mais tóxica do que a tetânica. A primeira provoca a paralisia dos músculos respiratórios e a segunda, contrações contínuas dos músculos.

As exotoxinas dos patógenos de plantas podem provocar:

- a) Morte celular pela desagregação das células promovidas pelas pectinases ou interferindo com o metabolismo da metionina provocado pelo ácido b- hidroxidiamino pimérico;
- b) Murchamento pelo bloqueio mecânico do transporte de água por substância viscosa como a pectina degradada ou polissacarídeos degradados por pectinases e carboidrases excretadas pelos microrganismos;
- c) Crescimento anômalo provocado por substâncias difusíveis como etileno e ácido indol acético que provocam epinastia (crescimento excessivo de um lado do tecido).

As endotoxinas são lipopolissacarídeos proteicos encontrados nas paredes de muitas bactérias Gram negativas, que são liberadas das células quando estas se desintegram. São menos tóxicas que as exotoxinas e não formam toxoides. São altamente pirogênicas (produzem febre), algumas inibem a fagocitose e outras são agentes inflamatórios produzindo permeabilidade capilar e injúria celular. A temperatura do corpo humano é controlada pelo centro nervoso e inúmeras substâncias podem interferir nestes mecanismos reguladores e produzir febre.

Os danos no organismo também podem ser produzidos por mecanismos imunopatológicos, quando numa infecção primária ou o início de uma crônica, os microrganismos podem estimular uma resposta imunológica. Ocorrendo uma infecção subsequente, poderá haver uma interação da mesma com a resposta imunológica que

acarretará danos aos tecidos. Um exemplo é a hipersensibilidade provocada pela liberação de histaminas e outras substâncias vaso dilatadoras podendo provocar a morte instantânea.

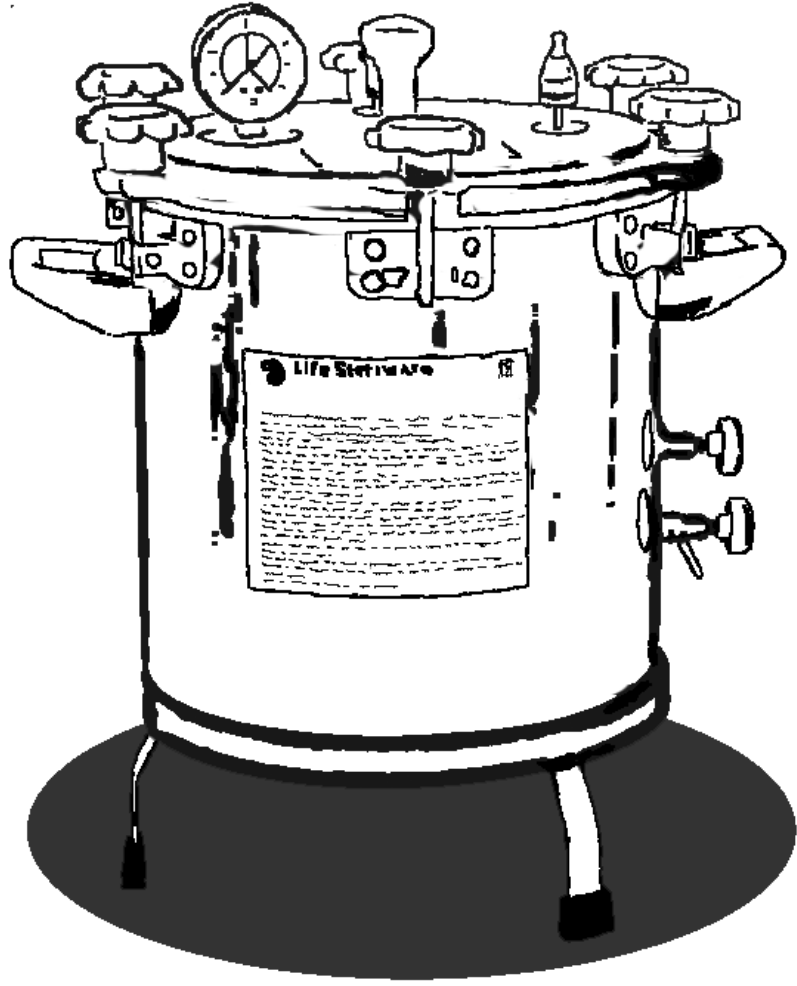
Resumo

A capacidade dos microrganismos em provocarem doenças depende do tipo de microrganismos e do hospedeiro e das condições ambientais. Para um microrganismo provocar uma doença ele tem que ser capaz de entrar em contato, penetrar, multiplicar-se, interferir com os mecanismos de defesa e causar danos no hospedeiro. Nem todas as etapas são essenciais. Um microrganismo pode ser introduzido por uma picada ou corte e outros podem apenas provocar danos externos.

Referências

- MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J.
Microbiologia de Brock. 10. ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2004. 608p.
- PELCZAR JR, M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R.
Microbiologia: Conceitos e Aplicações. 2. ed. São Paulo: Makron Books, 1996. 524 p.

CAPÍTULO 12



Controle de microrganismos

Neste capítulo serão estudados os fatores que afetam os microrganismos e os agentes físicos e químicos do seu controle.

12.1 Introdução

Como você sabe os microrganismos existem praticamente em todos os ambientes terrestres. Apenas para termos uma ideia, enquanto essa frase é lida, há uma infinidade de bactérias atuando no nosso processo de digestão. Há uma vasta população de fungos, para citar outro exemplo, vivendo na superfície de nossa pele e até dentro de nossos olhos. Nesse último caso, curiosamente, esse número podia ser bem maior se não fossem as substâncias químicas das lágrimas que os controlam.

Outro conceito que já foi estudado na introdução de nossa disciplina é que vida vem apenas de vida, não fazendo sentido as ideias de geração espontânea há muito defendidas e derrubadas pelo brilhante cientista francês Pasteur. Dessa forma, quem pretende estudar microbiologia, isolando alguns fatores em laboratório, precisa aprender a controlar os microrganismos. Caso contrário, o efeito que se investiga fica ainda mais difícil de entender se vários tipos de organismos estiverem presentes.

Outra importância em se controlar microrganismos está no entendimento das formas de eliminar microrganismos que causam doenças nos seres vivos. Quem é que já não ficou preocupado com algumas epidemias que assolam, de vez em quando, a humanidade? Recentemente, a gripe que veio dos suínos, por exemplo, foi destaque na mídia do mundo todo e muita gente acabou comprando máscaras para evitar o contágio. Você pensou em usar uma?

Na indústria de alimentos, que também utiliza microrganismos para produzir comida, o controle de células é muito importante para evitar a proliferação de organismos indesejáveis no processo. Além de poderem atrapalhar, os microrganismos podem produzir toxinas que são muito maléficas para muitas pessoas. Como fazer, então, para controlar os microrganismos no meio ambiente e nesses locais? Quais os agentes que os inibem?

Antes, porém, de entrarmos nos agentes físicos é importante definir alguns conceitos fundamentais e que muita gente faz confusão em termos de controle de microrganismos. Lembrando que a palavra controle se refere à redução de microrganismos, podendo-se eliminar ou inibir o crescimento de células numa dada situação ou material.

12.2 Fatores que afetam os microrganismos

Em linhas gerais, visando o controle de microrganismos, há cinco fatores que vão definir o sucesso ou fracasso dessas medidas. Três são ligados aos microrganismos em si e dois sobre o agente que está atuando.

Os três primeiros ligados aos microrganismos são:

- 1. O tamanho da população de microrganismos.** Obviamente, quanto maior for o número de células iniciais, com potencial de patogenicidade, por exemplo, maior será a chance deles de causar doença e, talvez, menor o controle;
- 2. Características dos microrganismos.** Quem são eles? Estão em culturas isoladas ou misturados com outras espécies? De que forma eles estão no meio? Forma esporulada?
- 3. Natureza do material que os contém.** Se for um leite, por exemplo, que tipo de leite é? Leite líquido tipo A, B ou C? Leite em pó ou condensado?

E os dois ligados aos agentes de controle:

- 4. Intensidade ou concentração do fator atuante.** Se for calor, por exemplo, qual a temperatura? Se for uma substância química, qual a concentração e forma do produto?

5. Tempo de exposição do agente microbiano. Quanto tempo fica a alta temperatura atuando no processo? Ou quanto tempo fica o produto químico em contato com o material que se quer controlar?

Basicamente, há três grandes formas de se controlar microrganismos: os métodos físicos, os métodos químicos e os métodos biológicos. Neste capítulo, discutiremos sobre os agentes físicos, primeiramente, e, depois os agentes químicos.

12.3 Agentes físicos

Os principais agentes físicos utilizados no controle de microrganismos em microbiologia são: calor (seco e úmido), frio, filtração, dessecação, pressão osmótica e radiação.

Calor

A forma mais usual de destruir células microbianas nas indústrias e nos hospitais é o calor. Vale lembrar que todo ser vivo tem uma temperatura ótima de crescimento, a partir da qual ele reduz o crescimento com o aumento da temperatura, antes da morte em si. Você deve concordar comigo que, evidentemente, uma bactéria que vive no Alasca, por exemplo, uma temperatura média ótima maior do que outra célula microbiana vivendo na Amazônia. Fora essa questão óbvia e geográfica, há também diferenças genéticas entre espécies do mesmo ecossistema, e até mesmo dentro do mesmo gênero. O calor pode ser úmido ou seco e há vários tipos de métodos de calor, que discutiremos a seguir.

Calor seco

O calor seco pode ser a própria chama, utilizada para esterilizar as alças de inoculação em laboratórios de microbiologia, com o auxílio do bico de Bunsen. A incineração, com temperaturas de centenas de graus Celsius, é feita por empresas especializadas no manuseio de certos tipos de materiais contaminantes, incluindo o lixo de clínicas e hospitais, acondicionados em sacos plásticos resistentes e brancos para diferenciar de outros tipos.

Outra forma de calor seco é o emprego de fornos ou estufas para destruir microrganismos em certas *vidrarias não volumétricas*, como placas de Petri, bastões de vidro e béqueres. O tempo de exposição normalmente é de duas horas, com uma temperatura de 160-180°C. Esse método é bastante usado em consultórios odontológicos e deveria ser também mais empregado por pessoas que trabalham em salões de beleza, pelo potencial de contaminação dos instrumentos de trabalho para cortar cabelos e unhas.

As vidrarias volumétricas são descalibradas com o excesso de calor.

Calor úmido

O calor úmido pode ser feito com fervura e no vapor, também com o uso de autoclave, que é em linhas gerais uma panela de pressão maior. A fervura da água é bastante usada em meios rurais, mas não é um método totalmente seguro porque existem bactérias, *Clostridium botulinum*, por exemplo, que tem esporos que podem resistir à água fervente até dez minutos. Obviamente, isso é uma exceção e a maioria das bactérias morre em temperaturas bem menores e com menos tempo.

O vapor pode ser utilizado na indústria para ajudar no cozimento e, ao mesmo tempo, controlar os microrganismos. Nesse caso, podemos citar o exemplo do milho cozido no vapor e em potes de doces ou de conservas, antes do fechamento das tampas. A forma mais usada em laboratórios de microbiologia, em indústria de alimentos e em ambientes hospitalares, é a autoclave. O processo de autoclave nada mais é do que o aquecimento da água em condições de pressão por um determinado tempo. Normalmente a temperatura chega a 121° C, em um tempo que vai de 15 a 30 minutos, com uma pressão de 15 libras por polegada quadrada. O material que sai, se for um meio de cultura por exemplo, é estéril e pronto para ser usado. Vários materiais podem ser autoclavados, como vidrarias, plásticos, panos e instrumentos cirúrgicos. Se os objetos forem sujos, após a utilização com práticas de microbiologia, recomenda-se que o tempo de autoclave seja de, no mínimo, 30 minutos. Hoje em dia, há diferentes formas de autoclave, desde equipamentos grandes, computadorizados, bastante caros, como os de menor porte, de bancada, de consultórios. É bastante importante que a pessoa que vai trabalhar com autoclave siga as

normas de segurança do laboratório para evitar acidentes. Outro ponto fundamental é sempre observar se a manutenção do aparelho está em dia, com os manômetros funcionando bem, e se a água foi colocada dentro do mesmo. Em alguns modelos, trabalhar de forma seca causa a queima de resistência, ocasionando atrasos e problemas ao laboratório.

Pasteurização

Este processo é bastante utilizado na indústria alimentícia e foi dado em homenagem aos importantes trabalhos de Pasteur, na França, no controle de microrganismos. Há basicamente dois tipos de pasteurização: uma com temperatura de 72°C, por 15 segundos, e outro com 63°C por 30 minutos. Bebidas alcoólicas, leite, sucos e até mesmo ovos podem ser empregados no processo. Vale lembrar que no caso do leite nem todos os microrganismos morrem, já que o objetivo geral da pasteurização é destruir os patógenos, sem afetar muito a qualidade do produto. Bactérias benéficas como, por exemplo, as dos gêneros *Streptococcus* e *Lactobacillus*, são usadas na fabricação de iogurte e queijo e são importantes para a saúde humana.

Esterilização

é um processo de eliminação total de microrganismos, incluindo as formas esporuladas.

Vale destacar que no caso do leite e em certos sucos existe outro processo parecido e muito confundido pelas as pessoas: o UHT (*ultra high temperature*), que é um processo de **esterilização**. Nesse caso a temperatura empregada é de 140-150°C, por 1-2 segundos.

Filtração

É o processo que utiliza membranas filtrantes de vários materiais, como, por exemplo, o acetato de celulose que tem capacidade de separar via bomba de vácuo os microrganismos da parte líquida, de produtos sensíveis ao calor. Na análise microbiológica de água de coliformes são também usadas essas membranas no método da MF, bastante empregado em países desenvolvidos pela facilidade de se obter esses materiais e o alto custo de mão de obra para lavar vidrarias (muito comum no método alternativo dos tubos múltiplos). O inconveniente de se utilizar o método das membranas é quando a amostra de água é bastante suja e barrenta, o que causa um entupimento da membrana de filtro.

Frio

Normalmente o frio é mais usado para manter o produto após a destruição pelo calor ou outro agente. Há o frio de refrigeração, comum nas geladeiras domésticas e que tem cerca de 4°C, e o congelamento, em grandes freezers de empresas que trabalham com alimentos, que variam de 0°C a -20°C. Em ambos os casos, pode haver a redução dos microrganismos, pela redução da atividade deles, mas, normalmente, não são métodos que matam todas as células microbianas. Uma carne congelada, por exemplo, pode ter várias espécies de bactérias que são destruídas, mas algumas resistentes permanecem e crescem quando as condições ambientais são favoráveis. Por essa razão, não se deve comer alimentos que ficaram descongelados ou congelar novamente carnes ou outros produtos que ficaram fora da geladeira por um longo tempo. Potencialmente, microrganismos patogênicos se proliferam rapidamente em condições de temperatura ambiente.

Radiação

Uma interessante e relativamente nova forma de controlar microrganismos é a utilização de radiação eletromagnética. Como você já estudou em física, quanto menor o comprimento de onda, maior a energia (Figura 12.1.).

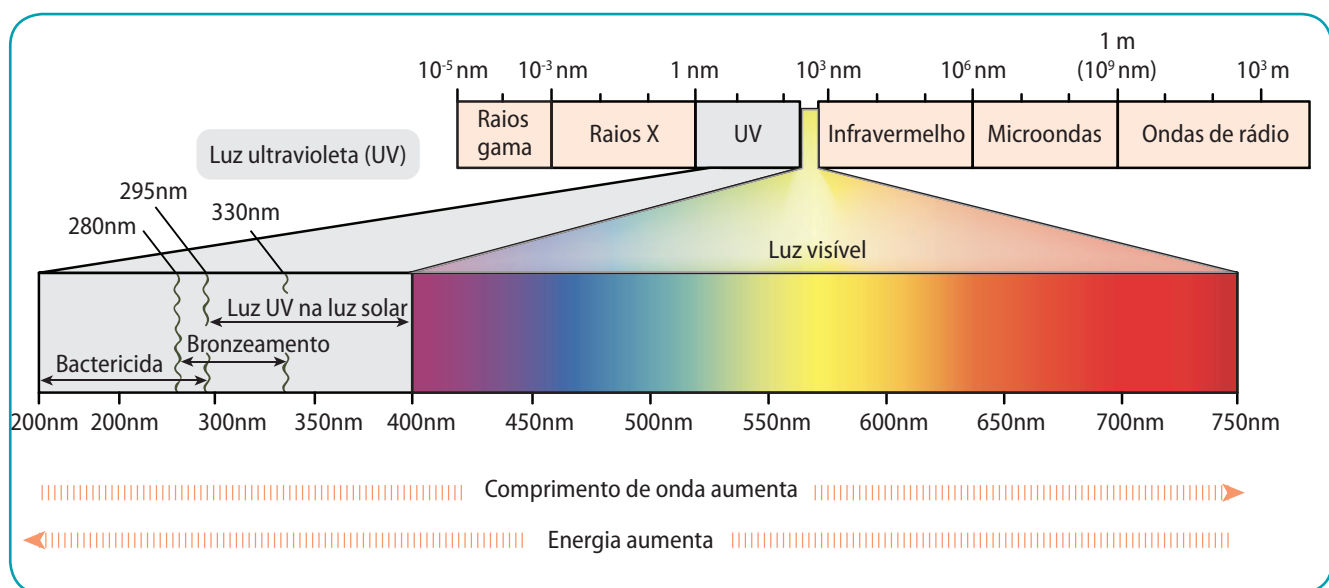


Figura 12.1. Comprimentos de ondas. FONTE: Modificado de Tortora et al. (2000, p. 189).

Wilhelm Konrad Roentgen descobriu os raios X e preferiu não patentear qualquer aparelho ou processo relacionado com os raios X, pois desejava que a humanidade se beneficiasse com sua descoberta.

Quando se fala em radiação, logo a gente pensa nos microondas. Vale salientar que essas ondas de microondas, aqueles aparelhos domésticos para aquecer alimentos, são bem maiores e tem pouco efeito no controle de microrganismos. Nesse processo, as microondas fazem com que as moléculas de água dos alimentos vibrem, aquecendo os mesmos. Se houver algum controle, este será pelo calor ao longo do tempo.

Normalmente, as radiações de alta energia são as que apresentam potencial na destruição de células bacterianas. As principais, e que estão abaixo do comprimento de onda da luz visível, são: Ultra Violeta (UV), Raios X e Raios Gama. Sendo que essas duas últimas são chamadas de ionizantes e a primeira, UV, não ionizante.

A unidade de radiação é chamada de **roentgen** e, em biologia, corresponde a dose de radiação absorvida. Essa dose é expressa em rad ou gray (1 Gy = 100 rad). Quanto mais difícil o microrganismo para ser eliminado, como é o caso de bactérias que formam esporos, maior será a energia necessária. Um fungo, bolor ou levedura, precisa de aproximadamente seis vezes menos radiação do que a necessária para destruir os esporos de *Clostridium botulinum*, uma bactéria que causa intoxicação alimentar.

A luz UV, que também tem na luz solar em menores doses, tem o potencial de danificar o DNA das células causando mortes ou danos para a reprodução do mesmo, levando às mutações bastante discutidas recentemente. Lâmpadas UV são colocadas dentro de câmaras de fluxo laminar, usadas para inocular microrganismos, em laboratórios. Elas ficam acesas por um período antes dos trabalhos e depois, durante as inoculações, são desligadas para não danificar a pele e olhos dos operadores. Outros locais onde se podem ver essas luzes são salas assépticas e centros cirúrgicos. No entanto, são de baixa penetração e apresentam mais um efeito desinfetante do que esterilizante.

As radiações ionizantes de maiores aplicações nas indústrias de produtos nas áreas de saúde e de alimentos para esterilizar microrganismos são as de raios gama. Os dois radioisótopos mais empregados são o ^{60}Co e ^{137}Cs . Vale realçar que esse método para alimentos deve ser bastante estudado e controlado pelas empresas e órgãos governamentais para evitar que formas residuais prejudiquem as pessoas que vão consumir esses produtos. Com certeza, como já se verifica mundialmente, essa forma de esterilização crescerá bastante nos próximos anos.

Pressão osmótica

Um dos métodos mais antigos na preservação de alimentos é a utilização de altas doses de sais ou açúcares, causando um efeito

hipertônico, retirando água das células dos microrganismos. Vale lembrar que, por osmose, a água vai de um meio menos concentrado para um mais concentrado.

O emprego de sais normalmente é feito em carnes e em vegetais fermentados, os pickles. O açúcar é utilizado em doces e geleias e apresenta grande eficácia nas indústrias alimentícias, incluindo as caseiras. Curiosamente, esse mesmo efeito de desfavorecer o crescimento de microrganismos indesejáveis é usado, desde tempos remotos, em machucados e feridas. Os fungos, comparados com as bactérias, são menos sensíveis e podem crescer em meios mais ácidos e úmidos, na presença de açúcares. Por essa razão, eles é que deterioram mais esses tipos de alimentos.

Ressecamento

Outra forma prática de controlar microrganismos é através da redução de água nos alimentos, a desidratação. Obviamente, entre outros fatores, isso depende também de cada tipo de célula e das condições ambientais. Não faz muito tempo, você deve lembrar, foi encontrado o corpo de um homem na região dos Alpes suíços, que estava quase intacto, preservado pela ação da secagem e frio.

Este processo de secagem ocorre na conservação de carnes e vários vegetais, incluindo as frutas secas. Na indústria, isso é feito em fornos e de forma caseira em fogão ou microondas. Quem já não comeu uma batatinha ou maçã daquelas bem fininhas e secas? A liofilização é uma forma de secagem de produtos através do frio e apresenta grande aplicação e potencial na indústria alimentícia.

Dessa forma, comparando um produto de grande consumo, como é o caso do leite por exemplo, podemos concluir que a sua forma seca, leite em pó, é mais difícil de estragar do que o leite comum. No entanto, é mais raro mas não impossível de que o leite em pó tenha bactérias na forma de esporos e esteja contaminado. Há alguns anos atrás isso foi noticiário de jornal de um lote importado. Pode ocorrer também para outros produtos.

12.4 Agentes químicos

Várias substâncias químicas podem ser utilizadas no controle de células patogênicas ou não, em tecidos vivos ou materiais inanimados. Conforme já foi visto no glossário, agentes microbianos são aqueles que matam ou inibem o crescimento de microrganismos. Em termos de bactérias, por exemplo, o termo bactericida é o que mata, enquanto que bacteriostático é o que inibe o crescimento do microrganismo.

Nem todos os produtos são esterilizantes, pela complexidade de se destruir microrganismos em superfícies e grandes áreas. Vale lembrar que as características das células microbianas também afetam a eficiência e eficácia dos agentes. Dessa forma, o termo desinfetante é mais usual e significa uma substância que mata apenas as partes vegetativas das células patogênicas. Normalmente, as estruturas de esporos são mais resistentes e dificilmente morrem com produtos químicos.

Várias substâncias químicas podem ser utilizadas para matar ou inibir os microrganismos. Uma solução ideal seria a que tivesse as seguintes características:

1. Ação antimicrobiana, de preferência em baixas concentrações;
2. Ser solúvel em água ou em outro solvente;
3. Ser estável para que o seu princípio não se perca ao longo do tempo;
4. Não ser tóxica aos seres humanos, animais e outros seres vivos;
5. Ser de fácil preparo;
6. Ter um bom poder de penetração na superfície que irá ser empregada;
7. Não ser corrosiva nem de forte coloração que fica impregnada;
8. Ter capacidade detergente para remover sujeira e microrganismos;
9. Ter um aroma agradável; e
10. Ter um baixo custo.

Os principais grupos de produtos químicos no combate aos microrganismos: substâncias fenólicas (hexaclorofeno, triclosan, cloroxilenol e clorexidina), halogênios (iodo e cloro), álcool (etanol e isopropanol), metais pesados, água oxigenada, ozônio, detergentes, óxidos de etileno, formaldeído, glutaraldeído e conservantes de alimentos. Alguns dos grupos de agentes químicos serão discutidos a seguir, enfocando também o lado histórico deles.

Fenol e compostos fenólicos

Uma das primeiras substâncias estudadas no controle de microrganismos foi o fenol ou ácido carboxílico. Em meados de 1800, um médico inglês chamado Joseph Lister empregou o produto antes de cirurgias para prevenir ou amenizar os problemas de infecções decorrentes dos procedimentos. Acima de 1%, o fenol age de forma bactericida, mas, pelo seu odor forte, pode irritar a pele. Lysol, cresóis e hexaclorofeno são exemplos de compostos fenólicos. Normalmente esses produtos exercem atividade antimicrobiana lesando as membranas plasmáticas, inativando e destruindo as proteínas.

Halogênios

Esse grupo de substâncias é um dos mais empregados no controle de microrganismos, com destaque para o iodo e o cloro, que são dois agentes oxidantes.

O iodo é um dos mais antigos produtos utilizados pela humanidade, reconhecido em 1830, nos Estados Unidos, e utilizado para tratar de feridas. A maioria das partes vegetativas das bactérias morre com o iodo e até alguns esporos. Sua ação contra fungos e alguns vírus também é notável. O modo de ação de compostos de iodo é em proteínas.

Normalmente a tintura de iodo, que é uma combinação de iodo 2% e etanol 70%, é utilizada em hospitais e clínicas. Produtos à base de iodo são grandemente utilizados para a **assepsia** de partes vivas, tanto de seres humanos como em animais. Na ordenha de vacas, por exemplo, é comum mergulhar as tetas do úbere bovino em uma substância mais concentrada de iodo, de cor marrom, após a coleta do leite, para evitar o aparecimento de mamite, que é uma doença das mamas.

• **Assepsia**
• É um processo que
• reduz significativamente
• a contaminação de
• microrganismos.

Outro agente oxidante muito utilizado é o cloro, na forma líquida, de gás comprimido e que atua no tratamento de águas para abastecimento e de piscinas. Sua concentração efetiva é que esteja entre 0,5 e 1 partes por milhão ou mg por litro de água. A ação germicida do cloro, que é um gás, é através do ácido hipocloroso, que se forma em contato com a água. Outros exemplos de produtos clorados são as cloraminas e o hipoclorito de sódio, este último usado como produto de limpeza doméstica, com 1% de hipoclorito de sódio, que é o princípio ativo da água sanitária que tem cerca de 2% a 2,5% de cloro ativo. Concentrações maiores do que 1% de hipoclorito de sódio, de 5% a 12%, são usadas como alvejantes industriais e em zonas rurais. O modo de ação dos clorados, pela sua forte reação oxidante, é a destruição de compostos celulares em paredes e membranas. Pastilhas de cloro podem ser usadas para matar microrganismos em poços e cisternas e são de grande utilidade para pessoas que vão acampar em áreas onde não existe água potável.

Álcool

Um dos produtos mais utilizados para destruir formas vegetativas de microrganismos é o álcool, com o etanol e isopropanol, como exemplos. Normalmente, o etanol 70% é o que apresenta maior eficácia, pois a água ajuda a espalhar o produto. Outro aspecto importante é que concentrações próximas do álcool puro são bastante voláteis e se perdem no ar. O modo de atuação desses produtos é desnaturando membranas, através da ação em lipídeos e proteínas.

Modo de ação dos agentes químicos

Os modos de ação dos produtos químicos em microrganismos podem ser diversos e listamos a seguir com alguns exemplos:

1. Agente oxidante (iodo, cloro, água oxigenada e ozônio);
2. Solvente de lipídeos ou desnaturante de proteínas (álcool, compostos fenólicos e vários detergentes);
3. Precipitação de proteínas (nitrato de prata, sulfato de cobre); e
4. Agente alquilante (óxidos de etileno, formaldeído).

Avaliação dos agentes químicos

A avaliação de novas substâncias químicas pode ser testada através de duas técnicas: avaliação em tubos e em placas de Petri. No caso de tubos, é estudada a concentração mínima que inibe o crescimento em meios de cultura líquidos. No outro método, em placas contendo meios de cultura sólidos, são feitos orifícios que funcionam como pequenos poços onde são preenchidos com as soluções a serem testadas. Na superfície das placas é inoculado o microrganismo a ser avaliado e, após um período de incubação, são medidos os halos de inibição ao redor dos furos. Quanto maior o halo maior a sensibilidade do microrganismo ao produto químico testado.

Resumo

Os microrganismos habitam praticamente todos os ambientes. Para estudá-los e fazer o controle deles são empregados métodos físicos, químicos e biológicos. Os métodos físicos empregados são: calor, frio, filtração, ressecamento, pressão osmótica e radiação. Os métodos químicos são: substâncias fenólicas (hexaclorofeno, triclosan, cloroxilenol e clorexidina), halogênios (iodo e cloro), álcool (etanol e isopropanol), metais pesados, água oxigenada, ozônio, detergentes, óxidos de etileno, formaldeído, glutaraldeído e conservantes de alimentos.

Referências

- MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M; PARKER, J. **Microbiologia de Brock** 10. ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2004. 608 p.
- PELCZAR JR, M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. **Microbiologia: Conceitos e Aplicações**. 2. ed. São Paulo: Makron Books, 1996. 524 p.
- PRESCOTT, L. M.; HARLEY, J. P.; KLEIN, D. A. **Microbiology**. 2. ed. Dubuque: W. C. Brown, 1993. 912 p.
- TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2000. 827 p.

CAPÍTULO 13



Microbiologia Industrial - Biotecnologia

Neste capítulo será estudada a Microbiologia Industrial, com destaque para os microrganismos, produtos, processos e aplicações da Biotecnologia.

13.1 Introdução

Se você conversar com muitas pessoas do seu cotidiano sobre micróbios, bactérias, fungos, vírus, etc, é bem provável que a maior parte delas vai realçar os aspectos negativos da microbiologia. Com certeza, doenças das mais diversas e contaminação de alimentos sejam os temas mais citados na preocupação de gente normal, rodeada de notícias alarmantes e que, no geral, assustam mesmo. Quem não ficou grilado com a vaca louca, a gripe aviária ou suína? Sem falar de tuberculose, de brucelose, de febre aftosa e de tantas outras.

Mas você sabia que o lado benéfico da microbiologia é muito maior do que esses negativos citados? Poucos são capazes de lembrar que vários alimentos são feitos por microrganismos, como é o caso do pão que comemos no café da manhã. As bebidas como a cerveja e o vinho são outros exemplos típicos da ação dos microrganismos. Se formos para o lado ambiental, toda vez que abastecemos nossos carros o fazemos graças também aos microrganismos que ajudam na produção dos combustíveis, tanto do álcool, como da própria gasolina, que tem o etanol misturado nela. Na questão do tratamento de esgotos, tão importantes em uma cidade, as bactérias e fungos fazem um papel fundamental na qualidade de vida da população.

Não faz muito tempo, foi perguntado para o Bill Gates, um dos homens mais ricos do mundo, o que ele faria se não atuasse na área de informática. Ele, sem vacilar, disse que trabalharia com biotecnologia, uma das áreas mais interessantes do conhecimento

atual. Você conseguiria definir o que é biotecnologia? Pare e pense e veja em quais contextos ela existe ao seu redor. Pois bem, biotecnologia, entre tantas definições, é uma ciência que utiliza o potencial dos microrganismos para fazer produtos em escala industrial. Em outras palavras, é uma parte aplicada da microbiologia para fabricar alimentos, medicamentos, processos industriais, produtos agropecuários e de meio ambiente.

Desde tempos remotos há relatos de que alguns desses produtos já eram feitos, como é o caso da fabricação do pão e da cerveja no antigo Egito (4.000 anos a.C.) e do vinho. Podemos imaginar que desde que o mundo é mundo, toda vez que uma fruta caia do pé de uma árvore, os microrganismos faziam as fermentações das mais diversas que estudamos com detalhes hoje.

A biotecnologia atual tem uma ênfase mais científica e é uma parte do conhecimento de ação multidisciplinar (Fig. 13.1.). Várias áreas são estudadas em biotecnologia como, por exemplo, a microbiologia em si, a imunologia, a genética, a bioquímica, as engenharias e tecnologias na fabricação de produtos e os assuntos de ordem ética que discutiremos mais pra frente.

Vale citar que a biotecnologia tem uma parte que é a engenharia genética, onde as características contidas nos genes de um organismo podem ser introduzidas em outro, alterando o seu material genético. Um exemplo curioso disso, entre tantos outros, é o caso da soja transgênica que recebe genes de bactérias do solo tolerantes a certos herbicidas, substâncias que matam o mato que compete com a planta de soja, e que acaba ficando também tolerante a esses produtos. Outro inusitado exemplo é o da utilização de genes do peixe linguado, que tolera baixas temperaturas de armazenamento, e que passam para a planta de morango, normalmente bastante suscetível ao frio. Hoje em dia, há estudos biotecnológicos sobre o potencial do uso de órgãos de animais transplantados para os seres humanos. Você concorda com tais mudanças? Acha que isso afeta o meio ambiente e é eticamente correto?

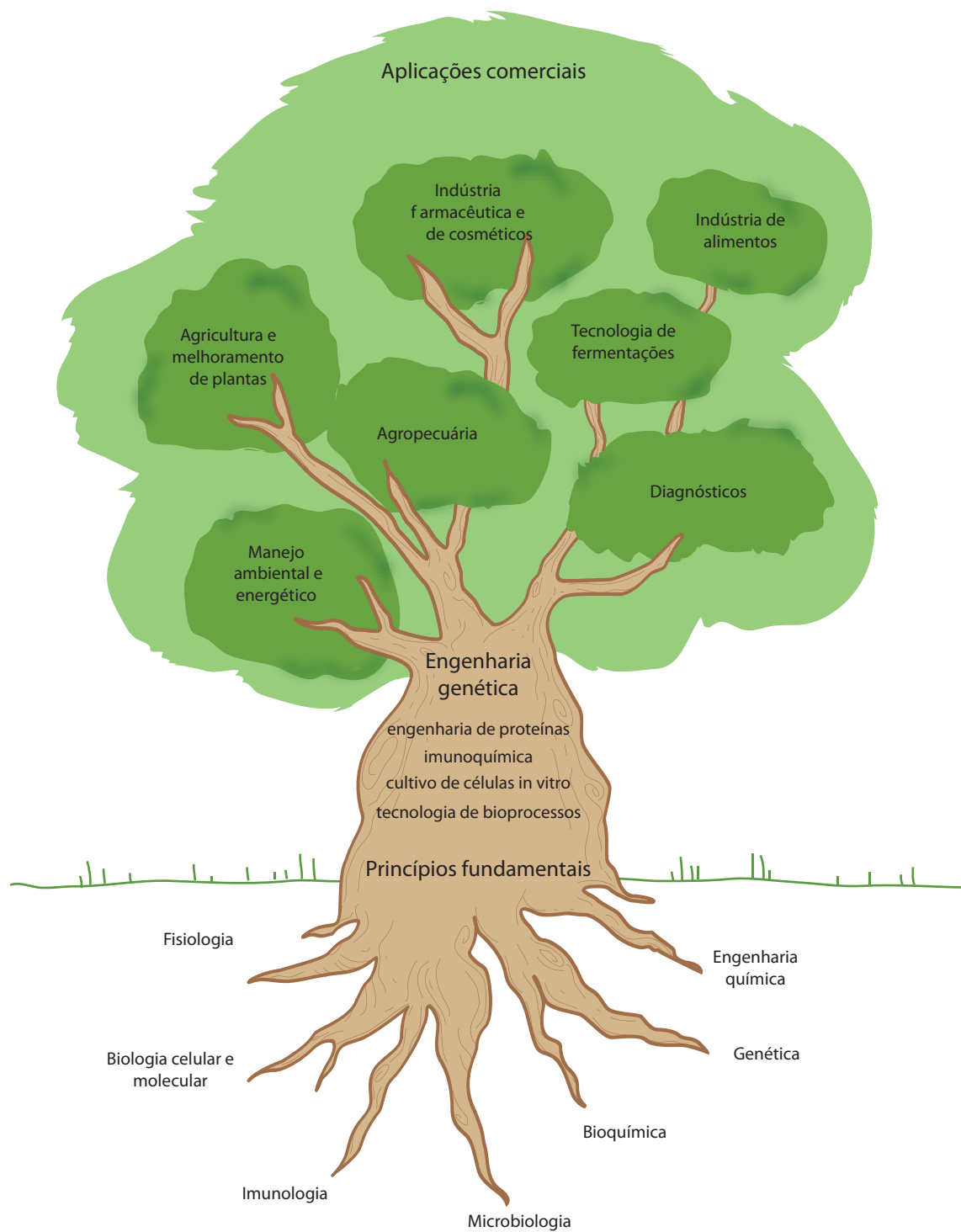


Fig. 13.1. Áreas do conhecimento em biotecnologia. FONTE: Modificado de Smith (1996, p. 15).

13.2 Substratos em biotecnologia

Há uma gama imensa de produtos fabricados ou com potencial de fabricação, pelos microrganismos.

Para que essas células microbianas possam crescer e fazer o seu trabalho é importante que haja substrato, que são os materiais de origem animal e vegetal. Estimativas de biomassa de produtos fotossintetizantes são da ordem de 120 bilhões de toneladas de matéria seca por ano em terras e cerca de 50 bilhões nos oceanos, com o grande potencial de crescimento para a exploração das algas nessa enorme superfície de água no planeta.

Os produtos que podem ser utilizados como substratos são provenientes da agricultura e das indústrias florestais, de alimentos, da saúde e do meio ambiente. No ramo agrícola há a biomassa de plantas cultivadas em larga escala (soja, trigo, milho, cana de açúcar, cevada, arroz, feijão, café, algodão etc.) e outros vegetais como é o caso de frutas e produtos de hortas (legumes e hortaliças). Na indústria florestal há as cascas, serragem e demais materiais provenientes da fabricação de papel e celulose. Outras biomassas de grandes destaques são as advindas da indústria de alimento, incluindo as atividades de pesca e de produção animal. No meio ambiente podemos citar os enormes volumes de lixo e esgotos, tanto domésticos como industriais, produzidos nas cidades.

13.3 Produtos e processos da biotecnologia

Após a escolha dos microrganismos, dos substratos e dos processos industriais, vários produtos são elaborados e listados a seguir, em diferentes áreas de aplicação:

Indústria de alimentos

A fermentação láctica que é feita a partir da transformação do açúcar do leite, a lactose, em ácido láctico, através da enzima lactase, é uma das mais antigas e importantes em biotecnologia em termos econômicos. Os microrganismos associados nesse grupo são: *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus bulgaricus* e *Lactococcus thermophilus*

e são de grande importância na indústria de laticínios, com produção dos derivados do leite (queijos, iogurtes e manteiga). Recentemente, bactérias do gênero *Bifidobacterium* têm sido empregadas em certos iogurtes com ótimos benefícios para a saúde humana, como regulação da flora intestinal e potencial de ajudar no sistema a imunológico. Em queijos maturados, dos tipos gorgonzola e roquefort, o fungo (*Penicillium roqueforti*) é utilizado no processo de maturação que realça o sabor e aparência esverdeada.

Outros exemplos interessantes de produtos fermentados e de grande consumo são as azeitonas verdes e o chucrute, este último a partir do repolho, por *Leuconostoc mesenteroides* e *Lactobacillus plantarum*. Os pickles, feitos de vários vegetais, são fermentados por *Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus cerevisiae*.

Outros produtos na indústria de alimentos incluem o molho de soja, pelos microrganismos *Aspergillus orizae*, *Aspergillus soyae* e *Lactobacillus delbrueckii*. O aminoácido, ácido glutâmico, para realçar sabores em diversos produtos é feito via várias bactérias, como, por exemplo, a *Corynebacterium glutamicum*. O ácido cítrico, um antioxidante natural das frutas, pode também ser elaborado através da utilização do fungo *Aspergillus niger*. A vitamina B12 é produzida por espécies de *Pseudomonas* e *Propionibacterium*. Vitamina C pode ser feita pela bactéria *Acetobacter*.

Enzimas podem também ser produzidas via microrganismos em fermentadores e alguns exemplos são listados:

- **Beta-amilase** por *Bacillus subtilis*, na produção de cerveja;
- **Celulase** por *Trichoderma viride*, em sucos de frutas e café;
- **Invertase** por *Saccharomyces cerevisiae*, em doces;
- **Pectinase** por *Aspergillus niger*, em sucos de frutas;
- **Proteases** por *Aspergillus orizae*, em amaciador de carne; e
- **Renina** por *Mucor* e *Escherichia coli*, em queijos.

Indústria de bebidas alcoólicas

Vários microrganismos estão presentes na fermentação alcoólica que é feita a partir da glicose e com produção de etanol.

Na produção de cerveja, que tem como base a fermentação dos grãos de cevada em uma substância chamada malte, os microrganismos de destaque são as leveduras *Saccharomyces cerevisiae* e *Saccharomyces carlsbergensis*. Vale lembrar que leveduras são fungos, organismos mais evoluídos, e não bactérias como muita gente confunde. O malte produzido na germinação dos grãos libera amido e a enzima amilase para ajudar a fermentar os açúcares pelas leveduras, que convertem o açúcar em álcool e dióxido de carbono. O sabor amargo, característico das cervejas, é pela adição de lúpulo, uma planta. Normalmente, as cervejas têm uma concentração de álcool que varia entre 4% e 6%.

Curiosamente, a levedura *Saccharomyces cerevisiae* é também a responsável pelo pão caseiro. Os tabletes de fermentos biológicos são células desse organismo que estão compactas e acondicionadas em ambientes refrigerados. Em temperatura de meio ambiente elas crescem e fazem com que a massa de trigo e água estufe, através de sua respiração.

Outras bebidas de grande consumo e feitas por essas leveduras são o vinho, o conhaque e o uísque. No caso do vinho, que tem de 12% a 14% de álcool, os açúcares das uvas, ou de outras frutas, são convertidos em etanol. O vinagre é, em linhas gerais, um subproduto do vinho, azedado pela ação de bactérias do gênero *Acetobacter*, com a produção de ácido acético.

O conhaque e o uísque são, após o processo de fermentação, destilados e o álcool concentrado de tal forma a ter entre 40-43% e 50-95% de álcool, respectivamente. A cachaça, que tem entre 40-55% de álcool, é uma bebida destilada e feita por leveduras a partir da glicose da cana de açúcar. A vodka é feita a partir da fermentação e destilação de cereais e tubérculos (batata ou beterraba) e tem cerca de 40% de álcool. O saquê, uma famosa bebida japonesa, é feito pela fermentação de arroz pelo microrganismo *Aspergillus oryzae* e tem de 14-16% de álcool.

A fermentação alcoólica tem, além das bebidas citadas, a produção de etanol para a indústria de combustíveis que é uma das mais rentáveis e de grande impacto na sociedade. A gasolina brasileira tem aproximadamente 24% de etanol e tende a crescer pelo lado mais econômico e menos poluente desse produto da fermentação de *Saccharomyces cerevisiae*.

Indústria farmacêutica

Uma das mais rentáveis atividades econômicas da indústria de produtos de biotecnologia é a utilização de microrganismos na produção de medicamentos, vacinas e hormônios.

Em 1929, com a descoberta de penicilina pelo médico escocês Alexander Fleming, ocorreu um marco que modificou grandemente a ideia do controle de doenças infecciosas. Até então muitas pessoas morriam com ferimentos e tiros, como o foi na Primeira Guerra Mundial. Através de estudos em placas de Petri, verificou-se que o fungo *Penicillium notatum* inibia o crescimento de células bacterianas. Essa substância antibiótica foi isolada e publicada, dando o prêmio Nobel ao relevante cientista. A partir desse caso, muitos outros antibióticos têm sido produzidos pelos mais variados microrganismos e empregados mundialmente. Alguns exemplos de produtos e respectivas bactérias são listados a seguir: estreptomicina, por *Streptomyces griseus*; novobiocina, por *Streptomyces niveus*; bacitracina, por *Bacillus licheniformis*; e cefalosporina, pelo fungo *Cephalosporium acremonium*.

Em adição aos antibióticos, exemplos de medicamentos produzidos por células microbianas são: enzima estreptoquinase, por bactérias do gênero *Streptococcus*, e empregada em pacientes que tiveram ataques cardíacos. Temos também a glicose polimerase, por bactérias dos gêneros *Streptomyces* e *Bacillus*, no emprego de xaropes e estirpes de *Escherichia coli* na produção de insulina, um importante hormônio humano no combate de diabetes. Muitas doenças como: tuberculose, por *Mycobacterium bovis*; coqueluche, por *Bordetella pertussis*; tétano, por *Clostridium tetani*; e pneumonia, por *Streptococcus pneumoniae* são combatidas através do uso de vacinas que são fabricadas com tecnologias biotecnológicas.

Indústria agropecuária

Outra área de grande aplicação de microrganismos em biotecnologia é a de produtos agropecuários. Um dos primeiros exemplos de estudos é no controle biológico de insetos na agricultura. O emprego de genes da bactéria *Bacillus thuringiensis* em plantas transgênicas foi pioneiro e se estendeu para outros exemplos. Essa bactéria tem genes que produzem uma toxina que controla a cigarrinha em pastagens. Fungos podem também atuar em controle biológico, como é o caso de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* em pragas de batata e cana de açúcar.

Outros exemplos de duas bactérias largamente utilizadas na agricultura são as dos gêneros *Rhizobium* e *Bradyrhizobium*. Elas fazem a fixação biológica de nitrogênio, economizando adubos nitrogenados em lavouras de leguminosas como feijão e soja. Vale lembrar que, além desse aspecto econômico, há o benefício ambiental da não utilização (ou da redução) de fertilizantes à base de nitrogênio que podem contaminar o solo e a água subterrânea. Os fungos micorrízicos, que fazem associação simbiótica com as plantas, são também exemplos do potencial de produtos na agricultura. Eles ajudam as plantas na absorção de nutrientes, como é o caso do fósforo, um elemento químico muito importante para o desenvolvimento vegetal, mas de pouca mobilidade e disponibilidade nos solos. As hifas desses fungos atuam aumentando a área de exploração radicular e o potencial de emprego da biotecnologia de produtos ocorre nas culturas que têm produção de mudas, como é o caso de plantas frutíferas, plantas ornamentais e florestais.

O estudo de microrganismos, de forma semelhante ao que ocorre nos seres humanos, tem uma vasta aplicação na fabricação de vacinas em animais. É o caso, por exemplo, da febre aftosa que é transmitida por vírus e cuja prevenção é muito importante para a comercialização de carnes. Vale lembrar que países que estão livres dessa doença podem vender seus produtos para mercados exigentes e lucrar com essa atividade de grande rentabilidade.

13.4 Aplicações em meio ambiente

Uma das áreas de maior potencial de crescimento nos próximos anos é a da biotecnologia no meio ambiente. Com o aumento da poluição pelas mais variadas atividades humanas é imprescindível que os estudos de microrganismos no controle dessas fontes poluidoras sejam intensificados.

Um exemplo interessante e de grande repercussão mundial, e que causou grande impacto ambiental, foi o vazamento de petróleo pelo navio Exxon Valdez em 1989, no Alasca, Estados Unidos (Figuras 13.2; 13.3; 13.4; e 13.5). Apenas para você ter uma ideia, a quantidade de óleo que foi derramada nesse acidente, de dimensões catastróficas, daria para encher 125 piscinas olímpicas. Você



Figura 13.2. Tanque de biorremediação de água contaminada com petróleo que chega dos navios, no porto de Valdez, Alasca. Após o tratamento a água de lastro é lançada ao mar. FONTE: Foto de Alexandre Verzani Nogueira – (arquivo pessoal - Alasca, EUA, junho de 2001).

pode imaginar os danos ambientais nas praias, regiões de pesca e os animais mortos. Sem falar dos prejuízos econômicos, tanto das pessoas que deixaram de trabalhar, como do dinheiro empregado para os trabalhos de despoluição (Figura 13.6).

A partir desse caso vários cientistas em todo o mundo intensificaram os estudos para se entender o papel de microrganismos na recuperação de áreas contaminadas. Esse processo, que também inclui outras formas de descontaminação, chama-se **remediação**. Outra técnica muito estudada, e que se utiliza de plantas e de microrganismos, é o da fitorremediação, em áreas contaminadas por petróleo, metais pesados e outros poluentes.

O termo biorremediação é empregado quando organismos vivos são utilizados nos processos, como é o caso de bactérias do gênero Pseudomonas, entre tantas outras estudadas.



Figura 13.3. Petroleiro no porto de Valdez, Alasca. FONTE: Foto de Alexandre Verzani Nogueira – (arquivo pessoal - Alasca, EUA, junho de 2001).



Figura 13.4. Equipamentos utilizados nos trabalhos de remediação quando do vazamento do petróleo Exxon Valdez, em 1989, no Alasca. FONTE: Foto de Alexandre Verzani Nogueira – (arquivo pessoal - Alasca, EUA, junho de 2001).



Figura 13.5. Boia do petroleiro Exxon Valdez, no Alasca. FONTE: Foto de Alexandre Verzani Nogueira – (arquivo pessoal - Alasca, EUA, junho de 2001).



Figura 13.6. Solo contaminado com petróleo próximo à cidade de Fairbanks, Alasca. FONTE: Foto de Alexandre Verzani Nogueira – (arquivo pessoal - Alasca, EUA, junho de 2001).



Figura 13.7. Experimento de biorremediação de solo contaminado com petróleo em Saskatchewan, Canadá. FONTE: Foto de Alexandre Verzani Nogueira – (arquivo pessoal - Alasca, EUA, junho de 2001).



Figura 13.8. Experimento de biorremediação de solo contaminado com petróleo em Saskatchewan, Canadá, com destaque para plantas leguminosas e gramíneas sobreviventes. FONTE: Foto de Alexandre Verzani Nogueira – (arquivo pessoal - Alasca, EUA, junho de 2001).

Basicamente, há dois tipos de biorremediação: uma natural, com recursos do próprio local, e outra com a introdução de microrganismos exóticos, essa com grande potencial de descontaminação através de células isoladas e avaliadas em condições de laboratório. No primeiro caso, que também recebe o nome de atenuação natural, o estudo de microrganismos no ambiente natural é importante para se saber quais os tipos presentes e quais os fatores físicos e químicos que os afetam. No caso do Alasca, que é bastante frio, a temperatura é um fator importante e que limita a atividade dos microrganismos de degradar compostos poluentes. É de se esperar que um derramamento de petróleo nessas condições leve muito mais tempo para ser remediado do que em uma área tropical, por exemplo. Outro fator limitante, e que pode ser corrigido, é o da adição de nutrientes, como o nitrogênio, o fósforo e o potássio. Em áreas de baixa oxigenação, a introdução desses elementos facilita a descontaminação, uma vez que a maior parte dos microrganismos que fazem esse trabalho é aeróbica.

Outro exemplo da utilização de microrganismos no meio ambiente é o emprego das bactérias *Thiobacillus thiooxidans* e *T. ferrooxidans*. Elas, em contato com certos minérios, produzem ácidos e causam oxidação, ajudando na liberação e aproveitamento de ferro, cobre e zinco.

Um exemplo mais recente e também interessante é o da utilização da bactéria *Caulobacter crescentus*, que vive em rios e se aloja em rochas. Ela produz substâncias fixadoras e que podem ser usadas como colas cirúrgicas. Em outras aplicações, estudos recentes mostram o potencial de algas na produção de combustíveis menos poluentes, como é o caso do biodiesel que está em franca fase de desenvolvimento.

Outros exemplos do potencial de microrganismos na biotecnologia são os ligados à engenharia sanitária, no desenvolvimento de produtos que aceleram a decomposição da matéria orgânica dos esgotos e fossas assépticas. Alguns deles estão sendo testados para reduzir os odores característicos e indesejáveis dessas transformações bioquímicas.

Outra área interessante nessa linha biotecnológica é a do estudo de microrganismos na corrosão de encanamentos e degradação de estátuas, prédios e monumentos. Nesse caso, a ideia é evitar que eles danifiquem essas estruturas e preservem os patrimônios industriais, residenciais e culturais.

Em conclusão, as aplicações da microbiologia em biotecnologia são inumeráveis e irão crescer muito nos próximos anos. Com certeza será difícil citar exemplos onde os microrganismos não poderão atuar.

Resumo

Desde tempos remotos os microrganismos participam de vários processos na obtenção de alimentos e nas transformações do meio ambiente. A biotecnologia é uma ciência multidisciplinar que agrega conhecimentos para explorar o potencial dos microrganismos nas indústrias: alimentícia, de bebidas, farmacêutica e de produtos ambientais. Produtos transgênicos e engenharia genética são duas áreas de grande crescimento e com potencial de desenvolvimento nos próximos anos.

Referências

- MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. **Microbiologia de Brock**. 10. ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2004. 608 p.
- PELCZAR JR, M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. **Microbiologia**. Conceitos e Aplicações. 2. ed. São Paulo: Makron Books, 1996. 524 p.
- PRESCOTT, L. M.; HARLEY, J. P.; KLEIN, D. A. **Microbiology**. 2. ed. Dubuque: W. C. Brown, 1993. 912 p.
- SMITH, J. E. **Biotechnology**. 3. ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1996. 236 p.
- TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2000. 827 p.