

ESTUDO COMPARATIVO DA ATIVIDADE RESPIRATÓRIA DE BACTÉRIAS DO GÊNERO **CHROMOBACTERIUM** *

CLEOMENES REIS ** MARIA DO CARMO MOREIRA DE SOUZA ****
ISAAC ROITMAN ****

RESUMO

Utilizando possível nova espécie de **Chromobacterium**, uma análise comparativa da atividade respiratória foi realizada com a utilização de outras amostras de **Chromobacterium**, através do método polarográfico. Os resultados demonstraram diferenças na atividade respiratória de **Chromobacterium violaceum** (amostra Goiás) em comparação com outras **Chromobacterium** em presença de vários substratos. Esses resultados sugerem que **C. violaceum** (amostra Goiás) seja uma espécie nova, ou, no mínimo, uma sub-espécie.

milhação de compostos como fonte de energia, assim como sobre vias metabólicas relacionadas com o metabolismo oxidativo destes compostos.

Tendo sido isolada uma possível espécie nova mesofílica de **Chromobacterium** de águas poluídas², pretendeu-se neste trabalho analisar a atividade respiratória deste microorganismo e compará-la com amostras mesofílicas de **C. violaceum** e uma amostra psicrófila (**C. lividum**).

MATERIAL E MÉTODOS

INTRODUÇÃO

Para a diferenciação de espécies em microorganismos, critérios morfológicos e fisiológicos têm sido empregados. O estudo da bioquímica comparada tem servido para os estudos da filogenia microbiana como também para diferenciação de espécies¹. O estudo do metabolismo oxidativo, através da determinação do consumo de O₂, pode fornecer informações importantes sobre a assi-

Microorganismos utilizados.

Foram utilizados os seguintes microorganismos:

1. **Chromobacterium violaceum**, amostra mesofílica (amostra Goiás)².
2. **Chromobacterium violaceum**, amostra mesofílica K C 531, proveniente da Unidade Bacteriológica do Public Health Service, Atlanta, Georgia, U.S.A.
3. **Chromobacterium violaceum**, mesofílica, proveniente do

* Trabalho realizado no Instituto de Patologia Tropical (IPT) da Universidade Federal de Goiás (UFGO).

** Prof. Titular do Departamento de Microbiologia — IPT — UFGO.

*** Prof. Adjunto do Departamento de Parasitologia — IPT — UFGO.

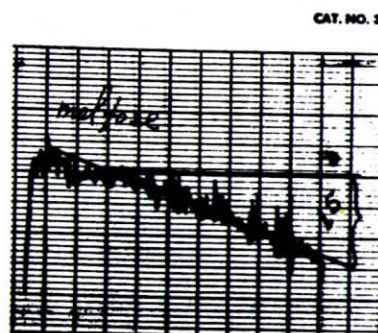
**** Prof. Titular do Departamento de Biologia Celular, Universidade de Brasília-DF.

Instituto Pasteur, Paris — França.

4. *Chromobacterium lividum*, amostra psicofílica, proveniente do Instituto Pasteur.

5,0; pH 7,4. Após 24 horas de incubação a 37°C para as amostras mesofílicas e em temperatura ambiente (22 a 28°C) para a amostra psicofílica, as células fo-

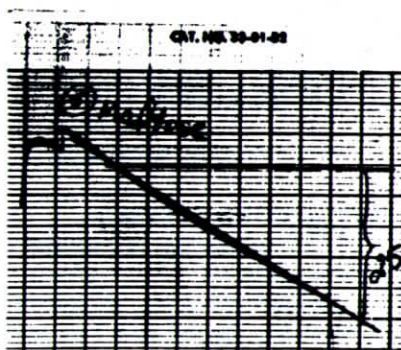
MALTOSE



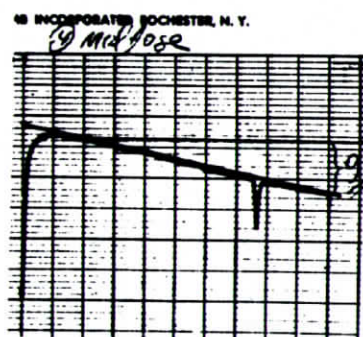
C. violaceum (Goiás)



C. lividum (Pasteur)



C. violaceum (Atlanta)



C. violaceum (Pasteur)

Pelo Gráfico acima observa-se semelhança no consumo da maltose pelas *C. violaceum* (Goiás) — mesofílica e *C. lividum* (Pasteur) — psicofílica e grande diferença do mesmo pelas amostras mesofílicas de *C. violaceum* (Atlanta) e *C. violaceum* Pasteur, tendo-se em vista a igualdade dos endógenos.

Obtenção da massa de células

O seguinte meio foi utilizado para o cultivo das 4 amostras de *Chromobacterium*: (g/l) extrato de carne 3,0; peptona 10,0; NaCl

ram separadas por centrifugação e lavadas 3 vezes com NaCl 0,85%, sendo a suspensão final feita em tampão fosfato 0,1 M; pH 7,0 até alcançar um valor de

turvação de 300 a 400 unidades Klett, medido em foto colorímetro Klett-Summerson.

valos de 12 horas até peso constante.

RESULTADOS

Na tabela 1 estão expressos os resultados de consumo de O₂ em presença de carboidratos, ácidos orgânicos e ácidos aminados pelas 4 amostras utilizadas no presente trabalho.

As amostras mesofílicas de *C. violaceum*, originárias do P.H.S. de Atlanta e do Instituto Pasteur, não se comportaram de maneira semelhante, principalmente em presença de ácidos aminados. Foram inibidores da respiração endógena nestas 2 amostras: triptofano, leucina e tirosina; acusando para a amostra de Atlanta, histidina, metionina e alanina. Os

Medida da atividade respiratória

Foi utilizado um monitor biológico de oxigênio YSI modelo 53 da Yellow Spring Inst. Co. acoplado a um circulador de temperatura constante Heaoke modelo FJ E e a um registrador VOM-7 da Bausch & Lomb. Os sistemas foram montados em um volume final de 3,0 ml, constando de: 1,8 ml de tampão fosfato 0,1M; pH 7,0; 1,0ml de substrato (200 u moles/ml) e 0,2 ml da suspensão de células. O peso seco foi determinado após secagem da 1,0 ml da suspensão celular a 80°C. As determinações foram em inter-

TABELA I

ATIVIDADE RESPIRATÓRIA DE BACTÉRIAS DO GÊNERO CHROMOBACTERIUM

SUBSTRATOS	ml oxigênio/horas/mg de peso seco *			
	<i>C. violaceum</i> (Pasteur)	<i>C. violaceum</i> (Atlanta)	<i>C. violaceum</i> (Goiás)	<i>C. lividum</i> (Pasteur)
Sem adição	13,2	13,2	13,2	13,2
Glicose	21,0	18,0	16,2	24,4
Sacarose	20,4	18,6	17,4	23,4
Lactose	14,4	13,8	18,0	12,6
Maltose	13,2	21,6	19,8	13,8
Ácido Cítrico	15,6	12,0	13,2	14,4
Ácido Succínico	15,0	8,2	19,8	7,8
Ácido Málico	15,6	4,6	18,6	15,0
Ácido Pirúvico	19,8	22,2	18,0	25,8
Ácido Aspártico	13,2	13,0	25,2	22,8
Ácido Glutâmico	25,8	19,5	22,8	25,2
Asparagina	17,4	12,0	22,8	21,0
Glutamina	22,8	13,8	28,8	23,4
Triptofano	6,0	3,6	15,0	24,5
Histidina	17,4	8,4	13,2	5,4
Leucina	9,0	2,6	19,2	17,4
Metionina	15,6	2,6	13,8	7,2
Alanina	13,8	2,6	12,6	9,8
Tirosina	10,2	2,6	13,8	12,0

* Experiência conduzida a 37°C segundo material e métodos.

seguintes substratos apresentaram um bom estímulo da respiração endógena: glicose, sacarose, asparagina, ácido glutâmico, ácido pirúvico e glutamina; outros substratos apresentaram um menor estímulo: lactose, ácido cítrico, ácido succínico, ácido málico, histidina, metionina e alanina. Ácido aspártico não estimulou a respiração endógena. Maltose não estimulou a respiração endógena da amostra do I. Pasteur, e, efeito contrário produziu para a amostra de Atlanta.

Para *C. lividum*, amostra psicrófila, foram estimulantes da respiração endógena: glicose, sacarose, ácido aspártico, asparagina, ácido pirúvico, ácido glutâmico, glutamina, triptofano, leucina e maltose.

Para a amostra mesófila, isolada em Goiás², foram estimulantes: glicose, sacarose, lactose, maltose, ácido aspártico, ácido succínico, ácido málico, ácido pirúvico, asparagina, ácido glutâmico, glutamina, triptofano e leucina. Os outros substratos não estimularam a respiração endógena.

COMENTÁRIOS

Todas as experiências foram conduzidas a 37°C sendo que mesmo nesta temperatura a amostra psicrófila de *C. lividum* apresentou uma respiração endógena semelhante aos encontrados com a utilização das amostras mesófilas. Ficou patente uma diferença qualitativa e quantitativa quanto ao consumo de O₂ entre *C. violaceum* (amostra Goiás) com as outras duas amostras de

C. violaceum provenientes de Atlanta e do Instituto Pasteur, assim como também da amostra psicrófila em presença de vários substratos.

Lactose e maltose que praticamente não estimularam a respiração endógena da amostra rotulada como *C. violaceum* (Pasteur) apresentaram um valor alto de consumo de O₂ quando em presença da amostra de Goiás. Ácido succínico, ácido málico, asparagina e glutamina apresentaram um maior consumo de O₂ para a amostra Goiás, quando comparados com os valores obtidos para as outras duas *C. violaceum*. Triptofano e leucina que inibiram a respiração endógena das duas amostras de *C. violaceum* estimularam a respiração endógena da amostra Goiás.

As diferenças assinaladas acima entre as amostras rotuladas como *C. violaceum* e a amostra Goiás de *C. violaceum* sugerem que este último microrganismo seja uma espécie nova do gênero *Chromobacterium*. Baseando-se apenas na presente experiência, poderia se pensar também que a amostra de *C. violaceum* de Atlanta seja uma sub-espécie do gênero *Chromobacterium violaceum* rotulada pelo I. Pasteur de Paris. A capacidade de estímulo do consumo de O₂, na amostra Goiás, na presença de um número maior de substratos, em comparação com as outras duas amostras de *C. violaceum* sugere também o maior potencial da amostra em Goiás de utilizar substratos, em seu habitat normal, como fonte de carbono e energia.

SUMMARY

By using a polarographic method, a comparative study of the respiratory activity between the strain Goiás of *Chromobacterium violaceum* and others 3 *Chromobacterium*, showed differences in the O₂ uptake, in presence of several substrates. These results point out that *Chromobacterium violaceum* (Strain Goiás) is a new species

or a subspecies in the genus *Chromobacterium*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AARONSON, S. & HUTNER, S.H. — Biochemical markers and microbial phylogeny. *Quart. Rev. Biol.* 41: 13-46, 1966.
 REIS, C.; PEREIRA, E.; DINIZ, M.; MUNIZ, M. A.; CAETANO DE SOUZA, O. & KOLEILAT, M. N. M. — Isolamento de uma possível nova espécie de *Chromobacterium* em águas poluídas. *Rev. Pat. Trop.* 1: 28-3, 1972.