

# **Você ilumina minha vida: bactérias bioluminescentes e simbiose**

Tradução livre para o Português da dinâmica originalmente desenvolvida pela American Society for Microbiology (ASM)

Originalmente elaborada por:

Caitlyn Bingaman

Corinne Hoffman

Jane Zelenkov

Yan Zhang

**Tradução realizada pelo projeto de extensão “ASM/UFRJ International Student Chapter” da Universidade Federal do Rio de Janeiro, com a colaboração de:**

Laura Maria Andrade de Oliveira – Doutora em Ciências (Microbiologia) pela UFRJ

## **Descrição**

Essa atividade visa ensinar aos alunos que algumas bactérias se comunicam entre si para promover uma vantagem de crescimento para um organismo superior que também beneficia as próprias bactérias.

## **Resumo**

Essa atividade introduz os alunos ao estudo das bactérias através da investigação de relações simbióticas exercidas por esse grupo de microrganismos. Apesar das relações simbióticas poderem ser benéficas ou prejudiciais, essa atividade se concentra nas bactérias benéficas para mostrar que nem todas as bactérias causam infecções. A bactéria de estudo nessa atividade é a *Photobacterium* (antigamente *Vibrio*) *fischeri*. *P. fischeri*, famosa pelo filme “Procurando Nemo”, é encontrada no interior de certos peixes e permite que os peixes atraiam presas para sobreviver. Consequentemente, a

bactéria se beneficia alimentando-se dos resíduos da presa. O sucesso desse circuito de alimentação envolve a comunicação entre células de *P. fischeri*.

### **Principais temas abordados**

Biologia celular microbiana

Microrganismos e o meio ambiente

### **Temas interdisciplinares abordados**

Ciência ambiental

### **Palavras-chave**

Microrganismos, simbiose, sinalização bacteriana, bioluminescência.

### **Objetivos de aprendizado**

Ao final dessa atividade, o aluno vai ser capaz de:

1. Definir um microrganismo e os tipos de simbiose.
2. Explicar como o peixe-pescador e *P. fischeri* estão em uma relação mutualística.
3. Demonstrar que células de *P. fischeri* podem estar próximas umas das outras e utilizar a sinalização química para produzir luminescência.

### **Conhecimento prévio do aluno**

Antes da atividade interativa, os alunos devem conhecer a definição básica de microrganismo, bactéria e o conceito de simbiose, especificamente o mutualismo. Além disso, é importante lembrar aos alunos que os organismos utilizam estratégias eficientes de obtenção de energia para manutenção da sua sobrevivência e que essas estratégias são afetadas pelo ambiente.

### **Informações prévias do professor**

Microrganismos são organismos vivos que podem ser vistos somente através de um microscópio. Muitos são unicelulares, formados por uma membrana celular que envolve a maquinaria necessária para realização das atividades metabólicas, de reprodução e sobrevivência. Os microrganismos são bactérias, arqueas, fungos e algas. Bactérias e arqueas são procariotos que se

caracterizam por serem células sem núcleo definido, o material genético encontra-se disperso no citoplasma. Protistas, fungos e algas são eucariotos e possuem uma estrutura celular mais complexa, possuem núcleo definido e organelas membranosas como retículo endoplasmático, complexo de Golgi, etc. Bactérias podem viver como células únicas, em uma comunidade multicelular ou em outro organismo exercendo uma relação simbiótica.

**Simbiose** pode ser descrita como a relação entre dois ou mais organismos de diferentes espécies vivendo em associação próxima uns com os outros.

**Parasitismo** é um tipo de simbiose, no qual um organismo se beneficia às custas do seu hospedeiro. No **mutualismo**, por outro lado, todos os organismos envolvidos se beneficiam de alguma forma. Como bactérias são normalmente lembradas por sua capacidade de causar infecções, a existência de relações mutualísticas entre bactérias e outros organismos prova que as bactérias podem exercer funções importantes e úteis. Um exemplo de mutualismo é a relação entre as bactérias bioluminescentes e certos tipos de peixes que habitam o fundo do mar e lulas.

Os gêneros *Vibrio* e *Photobacterium* possuem bactérias bioluminescentes que exercem relações mutualísticas com peixes que habitam o fundo do mar e/ou lulas. Mais especificamente, bactérias como *Photobacterium* residem em fêmeas de uma espécie de peixe conhecida como peixe-pescador ou tamboril. Esse peixe desenvolveu um órgão carnudo que fica pendurado acima de sua cabeça e apresenta um brilho em sua ponta. *Photobacterium* habitam e multiplicam-se na ponta desse órgão produzindo uma bioluminescência azul-esverdeada. Como resultado, a luz emitida pelas bactérias atrai a presa para o peixe e pode ajudar na comunicação com outros peixes da mesma espécie. Em troca, *Photobacterium* reside em um local seguro para sua reprodução. Dessa forma, os dois organismos, peixe e bactérias, se beneficiam.

Para que a bactéria produza bioluminescência devem existir certas condições no ambiente. Primeiro, *Photobacterium* deve crescer em uma alta densidade celular em um órgão especializado. A medida que as células aumentam em número elas liberam um sinal químico chamado autoindutor. O sinal se difunde facilmente pela membrana celular da bactéria e é excretado para o meio extracelular, dentro do órgão. Quando uma quantidade suficiente desse sinal é acumulada, a população de *Photobacterium* no órgão é ativada para transcrever genes que

codificam bioluminescência. Esse processo tem sido chamado de “quorum sensing”, uma vez que as bactérias literalmente “sentem” quando há uma concentração suficiente de bactérias baseada no acúmulo do autoindutor.

### **Tempo de aula**

São necessários aproximadamente vinte minutos para introduzir o material de suporte e executar a atividade interativa. O tempo total pode variar dependendo do nível de participação dos estudantes na abertura e encerramento das discussões.

### **Tempo para a preparação do professor**

#### Materiais que precisam ser preparados e/ou providenciados com antecedência:

- *Photobacterium fischeri* é uma bactéria marinha que emite bioluminescência. Pode ser adquirida com o nome de *Vibrio fischeri*. É necessário inocular e incubar a bactéria por 18-24h em local escuro antes de começar a atividade. Esse tempo é necessário para visualização da bioluminescência.
- Será necessário providenciar uma sala escura para visualização da bioluminescência da *P. fischeri*. Caso uma sala completamente escura não esteja disponível para a realização da atividade, uma forma fácil de se criar um ambiente escuro é colocar a cultura de bactérias dentro de uma pequena caixa de papelão com um pequeno orifício aberto para visualização. Essa será a caixa de observação.

### **Materiais e equipamentos**

1. Uma sala que possa ficar escura.
2. A caixa de observação (se a sala não puder ficar completamente escura).
3. Cultura de *P. fischeri*.
4. Meio de crescimento para *P. fischeri*.
5. Placas de Petri.
6. Alças bacteriológicas.
7. Descarte para a cultura.
8. Uma lanterna para cada aluno (para a atividade interativa)

## Métodos

1. Obtenha a cultura de *P. fischeri*.
2. No dia da aula, introduza os tópicos.
3. Exiba vídeo de “Procurando Nemo” do peixe-pescador emitindo luz.
4. Encoraje e estimule a discussão sobre o tema entre os alunos.
5. Permaneça com as luzes desligadas, deixe que os alunos olhem dentro da caixa de observação contendo a placa de *P. fischeri*.
6. Realize a atividade interativa
7. Os alunos podem fazer o estudo dirigido.

## Discussão final

### Sugestões:

1. Perguntar aos alunos o que eles sabem sobre microrganismos.
2. Junte suas informações.
  - Pergunte aos alunos alguns exemplos de microrganismos. Se bactérias não forem mencionadas, dê dicas que os levem a perceber que bactérias são microrganismos.
  - Os alunos irão mencionar muito provavelmente que bactérias são prejudiciais ao seu hospedeiro. Explique aos alunos que nessa atividade o foco será o comportamento benéfico das bactérias.
3. Pergunte aos alunos o que eles sabem sobre simbiose. Explique que algumas relações simbióticas são prejudiciais, porém o foco da atividade de hoje será naquelas em que ambos os organismos se beneficiam e isso é conhecido como mutualismo.
4. Exiba o clipe de “Procurando Nemo”.
5. Peça aos alunos para pensar sobre o que neste clipe demonstra a relação de mutualismo. Pergunte por que a luz do peixe é benéfica para ele, e discuta a estrutura básica do órgão especializado. Os alunos provavelmente irão responder que a luz ajuda o peixe a enxergar debaixo d’água. Peça para que continuem pensando nos possíveis benefícios. Eles eventualmente irão concluir que a luz atrai as presas.
6. Explique que bactérias chamadas *Photobacteria* estão produzindo a luz e que elas vivem dentro do órgão de fêmeas de peixe-pescador (como visto no vídeo de “Procurando Nemo”).

7. Proceder com a atividade interativa:

- Distribua uma lanterna para cada aluno participante. Explique que cada lanterna representa uma bactéria do gênero *Photobacterium* e que as baterias representam os sinais químicos (autoindutor) que elas secretam.
- Deixe a sala o mais escura possível e diga para que a metade dos alunos se distribuam aleatoriamente pela sala de forma que fiquem o mais separado possível. Os outros estudantes podem apenas assistir. A escuridão é para simular estar no fundo do oceano. A dispersão dos alunos representa bactérias que não estão em associação próxima.
- Peça aos alunos que tirem as baterias de suas lanternas e coloquem-nas no chão. Essa ação simula a ação das bactérias liberando seu sinal químico na água do oceano.
- Diga aos alunos que eles têm 5 segundos para encontrar duas novas baterias para colocar em suas lanternas. Devido ao fato de que os alunos estão muito separados uns dos outros, a maioria não vai encontrar duas novas baterias nesse período de tempo, porque eles estão muito “diluídos” na água do oceano.
- Acenda as luzes da sala, deixe que os alunos encontrem as baterias e coloquem em suas lanternas.
- Apague as luzes.
- Reuna todos os alunos em um pequeno círculo e peça para que eles tirem as baterias novamente. O pequeno círculo simula a bactéria confinada no órgão do peixe-pescador.
- Diga aos alunos que eles têm 5 segundos para encontrar duas novas baterias. Cinco segundos deve ser tempo mais que suficiente para os alunos encontrarem duas novas baterias na área delimitada.
- Peça para que todos os alunos liguem suas lanternas e apontem para o teto simultaneamente. Essa ação representa a comunicação entre as bactérias para produzir bioluminescência através da liberação de um sinal químico em um espaço delimitado.

8. Encoraje os alunos na discussão sobre o que eles aprenderam na atividade e, então, discuta como essa atividade explica a relação entre *Photobacterium* e o peixe. Mais especificamente, comente sobre por que as bactérias não se iluminaram desde o início. Isto ocorreu porque as bactérias não se encontravam densamente concentradas, em uma área delimitada e então, por isso, elas têm uma menor probabilidade de encontrar o sinal químico. Os alunos vivenciaram essa situação quando não foram capazes de ligar suas lanternas depois dos 5 segundos devido ao pequeno número e dispersão dos alunos. No entanto, em um ambiente delimitado (como o órgão do peixe-pescador) a população bacteriana aumenta, o sinal bacteriano se acumula, as bactérias “sentem” a presença desse sinal e responde produzindo bioluminescência. Os estudantes vivenciaram isso quando estavam juntos e todos participaram da simulação do mecanismo de sinalização bacteriana (*quorum sensing*).
9. Mostre aos estudantes a cultura de *P. fischeri* que foi inoculada 18-24 horas antes da atividade. Apesar das bactérias não estarem no órgão do peixe-pescador elas são capazes de produzir bioluminescência porque estão próximas umas das outras na placa.
10. Os alunos podem fazer o estudo dirigido.

### **Microrganismos**

*Photobacterium fischeri* não é uma bactéria patogênica. Pode ser adquirida comercialmente, mas ainda é muitas vezes referida como *Vibrio fischeri*. A amostra de *V. fischeri* de ser inoculada em meio de cultura e incubada a 20-25°C no escuro por 18-24 horas antes do início da atividade.

Ao final da atividade, descarte as placas com os microrganismos de forma adequada e de acordo com as instruções de biossegurança.

### **Problemas de segurança**

A atividade interativa envolve alunos se movendo por uma sala completamente escura, então retire ou mova a mobília para evitar colisões.

## **Avaliação da atividade**

Após a realização da atividade interativa, estimule uma discussão para ajudar os alunos a assimilarem os conceitos apresentados. Peça aos alunos para explicarem o que eles aprenderam e o que eles acreditam que a atividade demonstrou. Dessa forma, para reforçar o conhecimento adquirido, os alunos devem completar um estudo dirigido que aborda definições básicas, mas também requer o desenvolvimento de pensamento crítico e reflexivo.

## **Estudo dirigido e respostas**

1. Defina microrganismo.

Resposta: São organismos vivos que podem ser vistos somente com o auxílio de um microscópio. Os microrganismos podem ser bactérias, arqueias, fungos, protistas e algas. Eles podem ser encontrados em muitos habitats diferentes.

2. Defina bactéria.

Resposta: São microrganismos procariotos cuja célula caracteriza-se pela presença de uma membrana celular e não apresentam núcleo celular.

3. Defina uma relação simbiótica.

Resposta: Um relacionamento íntimo entre duas ou mais espécies de organismos.

4. Como o peixe pescador se beneficia da associação com *Photobacterium*?  
E como *Photobacterium* é beneficiado nessa relação?

Resposta: *Photobacterium* está presente no órgão especializado feminino do peixe-pescador e produz a luz necessária para atrair as presas. Em contrapartida, o peixe-pescador fornece nutrientes para a bactéria e um ambiente estável para o seu crescimento.

5. Como o “*quorum sensing*” é importante nessa relação mutualística?

Resposta: À medida que as bactérias se multiplicam no peixe, elas liberam um sinal químico, o autoindutor. O sinal então vai se acumulando no ambiente em que as bactérias se encontram, e quando atinge um nível de



concentração elevado, as bactérias “sentem” esse aumento de concentração e produzem a bioluminescência. A importância do sistema de sinalização *quorum sensing* se dá pelo fato de que é esse sistema o responsável pela comunicação entre as bactérias que culmina na produção de bioluminescência. Para se obter uma resposta, deve haver células bacterianas suficientes no ambiente, o que é indicado pelo nível do sinal (autoindutor).

6. O peixe dragão (também chamado de “mandíbulas soltas”) também usa bioluminescência, entretanto a cor que ele emite é vermelha. Curiosamente, a maioria dos peixes é insensível à luz vermelha e apenas detectam luz azul-esverdeada. Isso poderia ser uma vantagem ou desvantagem para o peixe-dragão?

Resposta: A habilidade de produzir luz vermelha confere ao peixe-dragão uma enorme vantagem no fundo do mar, seu habitat natural. A luz vermelha permite que os peixes-dragão vejam suas presas sem que elas ou qualquer outro predador percebam a sua presença. Nota: A bioluminescência vermelha produzida não é devido a presença de bactérias, mas à capacidade do peixe-dragão de produzir pigmentos especiais.

7. Você consegue imaginar maneiras criativas de usar a bioluminescência para beneficiar a vida humana?

Resposta: Uma possível resposta é o uso da bioluminescência para gerar luz em lâmpadas.

8. Você consegue pensar em outros organismos que usam bioluminescência?

Resposta: Vagalumes usam a bioluminescência para atrair parceiros. Lulas podem usar a bioluminescência para se camuflar em áreas iluminadas pelo sol nas águas do oceano.

## Referências

Informação adicional pode ser encontrada acessando as seguintes fontes:

- “Procurando Nemo” clipe de peixe-pescador (avance para o tempo do vídeo de 30”):

[https://www.youtube.com/watch?v=q0GKSYs\\_fBE](https://www.youtube.com/watch?v=q0GKSYs_fBE)

- Informações sobre bioluminescência e varias relações simbióticas:

Nacional Geographic Education. Encyclopedic entry – bioluminescence

[http://education.nationalgeographic.com/education/encyclopedia/bioluminescence/?ar\\_a=1#page=4](http://education.nationalgeographic.com/education/encyclopedia/bioluminescence/?ar_a=1#page=4)

- Uma aplicação de bioluminescência:

Swain, F. 2010. Glowing trees could light up city streets. New Scientist Magazine. Issue 2788.

<http://www.newscientist.com/article/mg20827885.000-glowing-trees-could-light-up-city-streets.html#.U8UFnxCZiSo>

- Imagens de bioluminescência e outras informações:

Nealson, K. 2002. Luminescent bacteria: An Introduction. ASM Microbe Library

<http://www.microbelibrary.org/library/bacteria/2730-luminescent-bacteria-an-introduction>

## Possível Modificação

Para entender os objetivos do currículo investigativo, os estudantes poderiam ler sobre o efeito da temperatura na bioluminescência. Depois de completar as atividades os estudantes poderiam pensar sobre as condições ambientais no mar profundo. O peixe pescador vive em uma zona mesopelagica que fica abaixo da zona fótica, então a luz do sol que penetra nessa zona é mínima. Também é muito fria; a temperatura varia de 3°C a -1,8°C. Também existe uma grande pressão nesta profundidade. Depois do desenvolvimento de algumas hipóteses sobre a temperatura, os estudantes poderiam crescer *P. fischeri* no meio em diferentes temperaturas, e então checar por luminescência ao longo do tempo.

# Instruções aos Estudantes

## Introdução

Microrganismos são organismos unicelulares que vivem na Terra. Embora sejam tão pequenos que em sua forma unicelular são invisíveis ao olho humano, os microrganismos dominam o mundo. Essas pequenas criaturas podem ser encontradas em todos os lugares: água, solo, e outros organismos vivos como plantas e animais. As relações entre microrganismos e animais ou plantas são complicadas. Alguns microrganismos podem ser benéficos, enquanto outros podem causar doenças.

Nessa atividade, você vai aprender como alguns microrganismos interagem em uma relação simbiótica com outros organismos. Especificamente, esta atividade será focada nas relações em que ambos os organismos envolvidos se beneficiam, chamada de mutualismo. Com o objetivo de entender melhor essa relação, você irá participar de uma atividade que te ajudará a compreender os mecanismos envolvidos nessa interação benéfica entre dois organismos vivos.

## Conhecimento prévio do aluno

Antes de começar a atividade você precisa conhecer a definição básica de microrganismo, bactéria, e o conceito de simbiose, mais especificamente o mutualismo. Além disso, é importante que você saiba que os organismos utilizam estratégias bastante eficientes para obtenção de energia, que é necessária para a sua sobrevivência, e que essas estratégias são afetadas pelo ambiente.

## Vocabulário

Microrganismo - pequenos organismos vivos unicelulares.

Relação simbiótica - uma relação íntima e frequentemente de longa duração entre dois ou mais organismos.

Mutualismo - uma relação simbiótica na qual ambos os organismos se beneficiam.

Peixe-pescador - um tipo de peixe que habita o fundo do mar e que possui um órgão alongado que suporta em sua extremidade um outro órgão produtor de luz. O termo “pescador” se refere ao órgão alongado do peixe que atua como uma isca iluminada.

Bioluminescência – produção e emissão de luz por um organismo vivo

*Quorum sensing* – um sistema de comunicação entre bactérias

### **Considerações de segurança**

Hoje nós iremos trabalhar em uma sala escura para observar a bioluminescência produzida pela bactéria *Photobacterium fischeri*. Tenha cuidado para evitar colisões com colegas e móveis à medida que você se desloca durante a atividade.

### **Lista de Materiais**

Folhetos

Uma lanterna por pessoa (com bateria)

Papel e canetas para tomar notas e completar a avaliação

### **Procedimento**

1. Discuta sobre os conceitos de microrganismo, bactéria e simbiose. Em seguida, assista ao vídeo de “Procurando o Nemo” e comente sobre ele.
2. Depois, participe da atividade sobre o sistema *quorum sensing* de *P. fischeri*.
  - Pegue uma lanterna com bateria
  - Leia as instruções abaixo. Seu professor irá dizer se você estará incluído na primeira rodada.

Se você irá participar da primeira rodada, afaste-se dos seus demais colegas dentro da sala. Depois que as luzes estiverem apagadas, retire as baterias/pilhas da sua lanterna e role as baterias pelo chão de modo que elas estejam fora de alcance. Sem sair do seu lugar, encontre duas novas baterias e ligue a sua lanterna.

Na segunda rodada, todos os alunos se reúnem no centro da sala para formar um pequeno círculo. Quando o círculo estiver formado, role suas baterias em direção ao centro do círculo. Sem sair do seu lugar, encontre duas novas baterias e ligue a sua lanterna.

- Discuta a atividade realizada para aprender mais sobre o sistema de comunicação bacteriana *quorum sensing*.

## **Resultados**

Complete o estudo dirigido.

## Estudo dirigido

1. Defina microrganismo.
2. Defina bactéria.
3. Defina o que é uma relação simbiótica.
4. Quais são os diferentes tipos de simbioses?
5. Como o peixe-pescador se beneficia da presença da bactéria *Photobacterium*? Como *Photobacterium* se beneficia da relação com o peixe-pescador?
6. Como o “*quorum sensing*” é importante nessa relação mutualística?
7. O peixe-dragão (também chamado de “mandíbulas soltas”) também produz bioluminescência, entretanto a cor que ele emite é vermelha. Curiosamente, a maioria dos peixes é insensível à luz vermelha e apenas detectam luz azul-verde. Isso poderia ser uma vantagem ou desvantagem para o peixe-dragão?
8. Você consegue imaginar maneiras criativas de usar a bioluminescência para beneficiar a vida humana?
9. Você consegue pensar em outros organismos que usam bioluminescência?