

MICROBIOLOGÍA

UNIDAD VII EFECTO DE FACTORES AMBIENTALES FÍSICOS Y QUÍMICOS SOBRE EL CRECIMIENTO MICROBIANO Y ADAPTACIONES EN AMBIENTES EXTREMOS

Limitaciones abióticas del crecimiento microbiano: Ley del Mínimo y Ley de la Tolerancia. Determinantes ambientales: Nutrientes y adaptaciones en condiciones de escasez. Agua y actividad de agua (potencial hídrico). Actividad del agua y proliferación microbiana. Efectos de la presión osmótica. Tolerancia osmótica halófilos, osmófilos y xerófilos. Aplicaciones de la plasmólisis (deseccación). Acidez y pH. Proliferación microbiana y límite de pH. Concentración de protones y microorganismos acidófilos y alcalófilos. Relaciones con el oxígeno. Potencial redox y oxígeno. Anaerobios estrictos y anaerobios aerotolerantes. Microaerófilos. Temperatura de crecimiento (óptima y mínima). Microorganismos psicrófilos, obligados y facultativos, mesófilos y termófilos obligados y facultativos, hipertermófilos, termodúricos. Presión hidrostática y microorganismos barotolerantes y barófilos..



ACTIVIDADES DE LOS MICROORGANISMOS

Se ven afectadas de modo muy importante por las condiciones químicas y físicas del medio.

Se pueden considerar muchos factores ambientales, pero hay 4 factores que juegan un papel destacado en el control del crecimiento microbiano:

TEMPERATURA

pH

DISPONIBILIDAD DE H₂O

O₂

Otros factores también pueden afectar potencialmente al crecimiento

PRESIÓN

RADIACIÓN



LEY DEL MÍNIMO DE LIEBIG



- ❖ El crecimiento NO es controlado por el TOTAL de los RECURSOS DISPONIBLES, sino por el RECURSO MÁS ESCASO.
- ❖ Todos los organismos vivos requieren de concentraciones mínimas de elementos para sobrevivir.
- ❖ La ley dice que el nutriente que se encuentra menos disponible es el que limita la producción, aún cuando los demás estén en cantidades suficientes.
- ❖ Un ejemplo de esto sería la concentración mínima necesaria de la fórmula de un fertilizante (Nitrógeno, Fósforo, Potasio), el elemento menos disponible potasio, es el que limita la producción

Los rendimientos pasan a ser regulados por el siguiente factor limitante siendo así que el crecimiento solo se produce en la tasa permitida por el mas limitante.

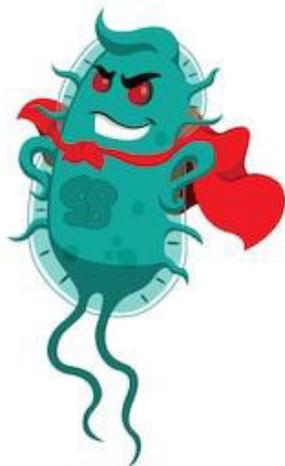
- ❖ Cuando un organismo recibe un elemento nutricional en exceso o de mala calidad, también pueden representar un factor limitante para su desarrollo, al igual que su escasez
- ❖ No solo la escasez, de algo puede ser un factor limitante, sino también el exceso de algo (luz, agua, temperatura).
- ❖ Los organismos tienen un mínimo y un máximo ecológico con un margen entre uno y otro que son los límites de tolerancia



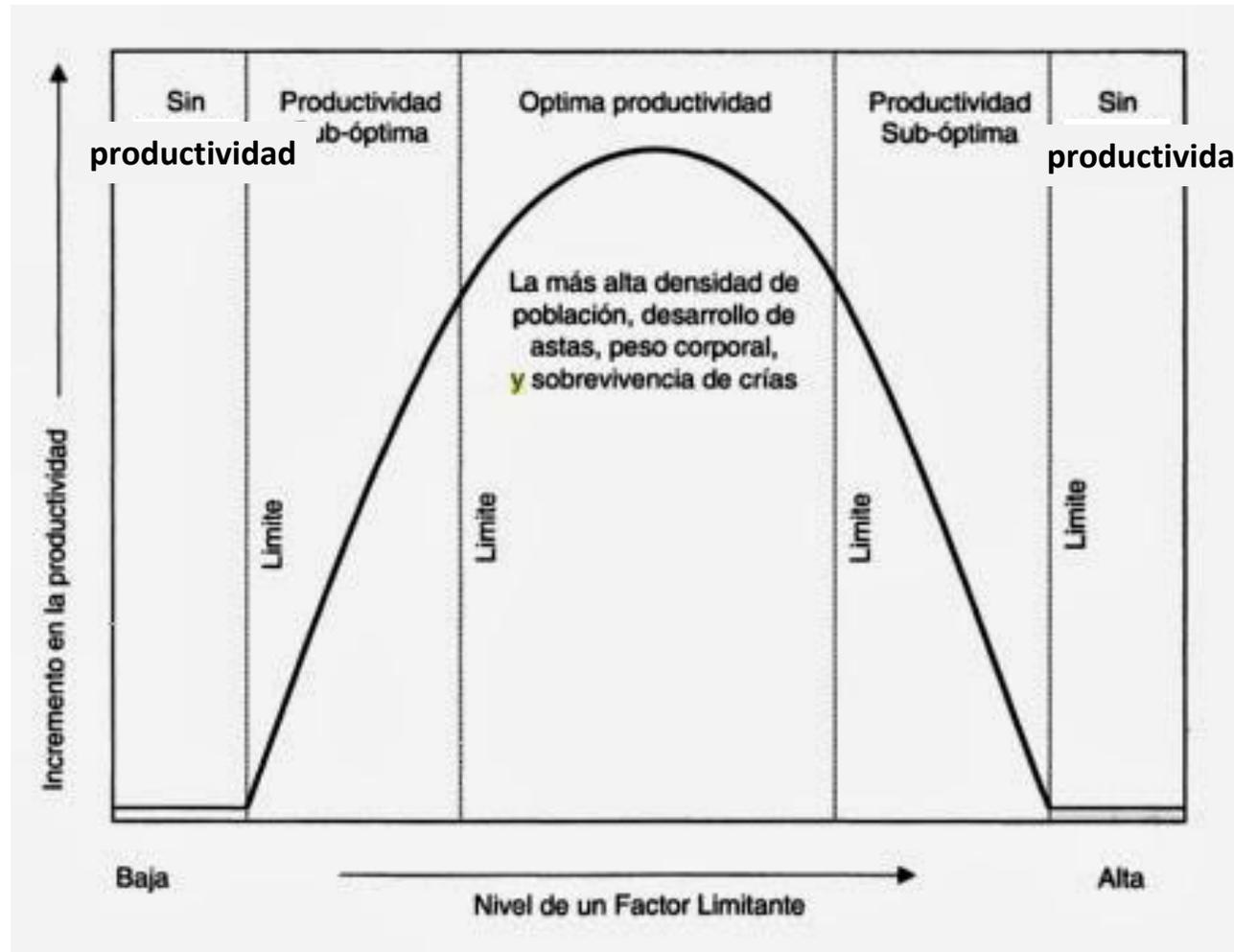
- ❖ Hay límites para los factores ambientales, por encima y por debajo de los cuales no es posible que los microorganismos sobrevivan.
- ❖ El éxito de un microorganismo en un ambiente concreto depende de que cada una de las condiciones este dentro del margen de tolerancia del organismo.
- ❖ Si una variable cualquiera (pH, T°, salinidad, etc.) excede del mínimo o del máximo, dicho organismo no prosperara en ese ambiente y será eliminado.

PRINCIPIOS ADICIONALES DE LA LEY DE TOLERANCIA

1. Un mismo organismo puede tener un margen amplio de tolerancia para un factor y un margen pequeño para otro.
2. Los organismos con márgenes amplios de tolerancia para todos los factores son los que tienen más posibilidades de estar extensamente distribuidos.
3. Cuando las condiciones no son óptimas para una especie con respecto a un determinado factor ecológico, los límites de tolerancia podrán reducirse con relación a otros factores ecológicos.
4. El periodo de reproducción suele ser un período crítico en que los factores ambientales tienen más posibilidades de ser limitativos.



El éxito de los microorganismos extremófilos depende de sus necesidades nutritivas (ley de Liebig) y de la tolerancia ambiental (ley de Shelford)



GENOTIPO

La información genética de cada individuo

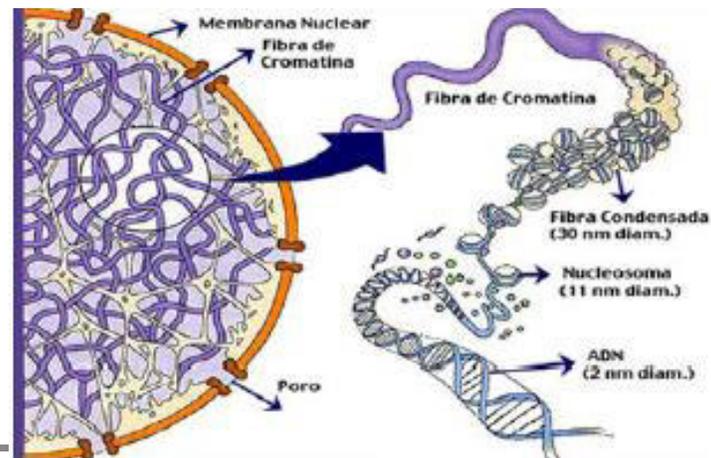
FENOTIPO

La expresión del genoma afectada por el medio ambiente

Los microorganismos se adaptan a los cambios temporales del ambiente

ADAPTACIÓN FENOTÍPICA

Determinada por el genotipo





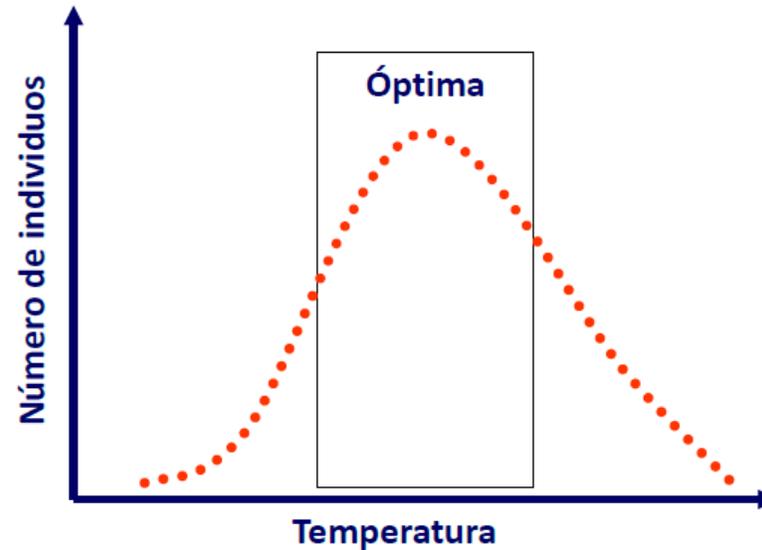
SOLO LOS MEJORES ADAPTADOS LOGRAN SOBREVIVIR



¿POR QUE?

Las condiciones ambientales determinan que diferentes tipos genéticos de microorganismos puedan competir con otros

La capacidad adaptativa está entre los límites del genotipo



La capacidad de un microorganismo de adaptarse al ambiente es hereditaria, pero el estado fenotípico que resulta de la adaptación, puede no ser heredado.



TIPOS DE ADAPTACIÓN

EVOLUTIVA

Cambios del genotipo por selección

Se lleva a cabo por:

- Mutaciones espontáneas o inducidas.
- Intercambio genético.

FENOTÍPICA O FISIOLÓGICA

Respuesta a cambios temporales

Se lleva a cabo entre los límites del genotipo.

ADAPTACIONES EN CONDICIONES DE ESCASEZ



Concentración de los nutrientes y velocidad de crecimiento

- ❖ Los recursos entran en un ecosistema normalmente de forma intermitente.
- ❖ Un gran aporte de nutrientes (entrada de hojarasca o el cadáver de un animal) puede ir seguido de un período de gran escasez de nutrientes.
- ❖ Los microorganismos en la naturaleza se enfrentan a una existencia que alterna entre **ABUNDANCIA** y **ESCASEZ**.
- ❖ Por lo tanto, resulta frecuente, cuando los recursos son abundantes, que sinteticen polímeros que servirán de material de reserva (poli-hidroxialcanoatos, polisacáridos, polifosfatos).
- ❖ Los períodos de crecimiento microbiano exponencial largos son raros en la naturaleza, y este se produce normalmente en brotes estrechamente ligados a la disponibilidad y la naturaleza de los recursos.
- ❖ Como es difícil que en la naturaleza todas las condiciones físico-químicas óptimas para el crecimiento microbiano se produzcan al mismo tiempo, la velocidad de crecimiento de los microorganismos en su ambiente normalmente están por debajo de lo registrado en el laboratorio.

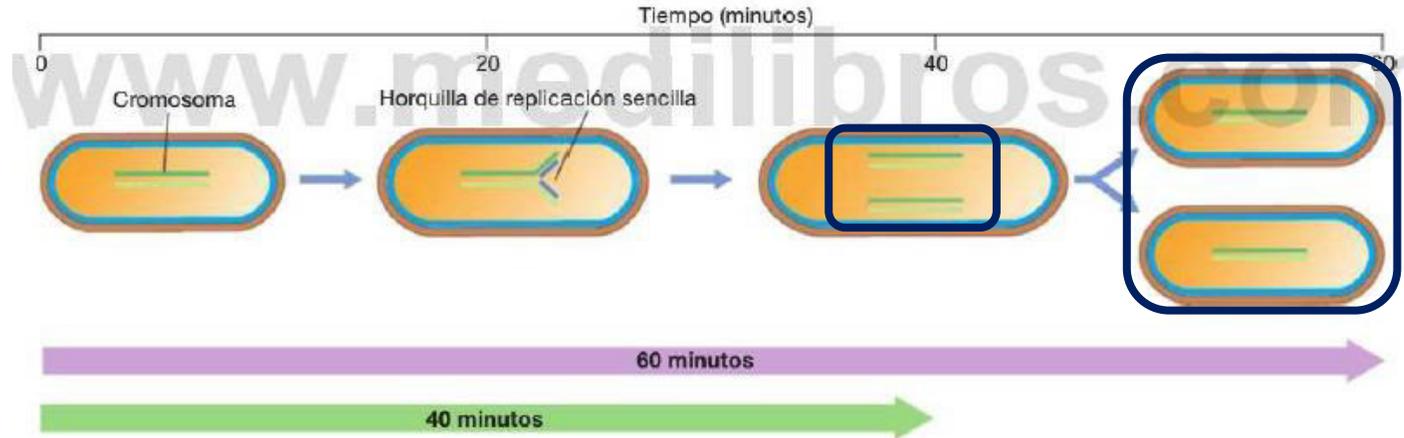


El tiempo de generación de *E. coli* en el intestino de un adulto sano que come a intervalos regulares es de 12 hr.

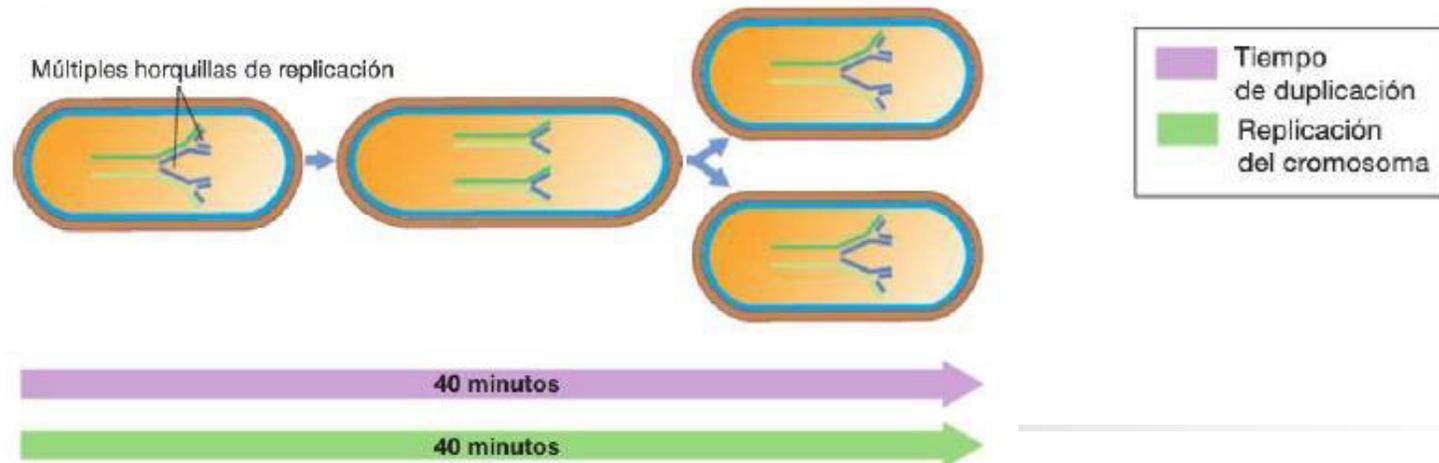
En cultivo axénico crece más rápido, con un tiempo de generación de 20 min en condiciones óptimas.

DIVISIÓN CELULAR FRENTE A DUPLICACIÓN CROMOSÓMICA

E. coli tarda aproximadamente 40 min en replicar el cromosoma y 20 min adicionales en la división celular.



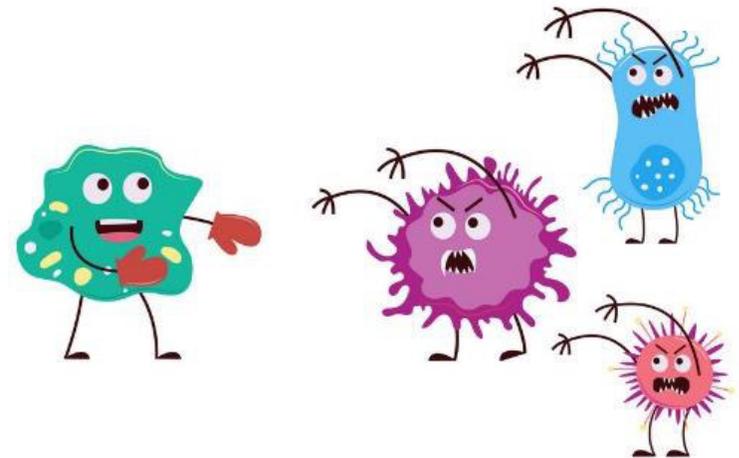
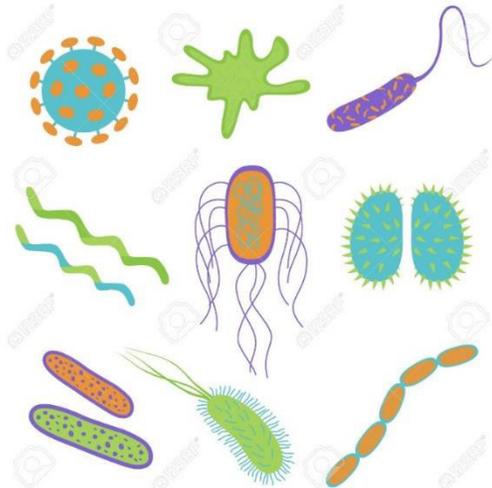
Cuando las células se duplican en menos de 60 min, un nuevo ciclo de replicación debe empezar antes de que termine el anterior.



Las bacterias del suelo típicas crecen en la naturaleza a menos del 1% de la velocidad de crecimiento máxima que alcanzan en el laboratorio.

La velocidad de crecimiento lenta refleja:

1. Los recursos o condiciones de crecimiento en la naturaleza son subóptimos.
2. La distribución de los nutrientes por todo el hábitat microbiano NO es uniforme.
3. Salvo raras excepciones, los microorganismos en la naturaleza crecen en poblaciones mixtas y no en cultivos axénicos.
4. Un organismo que crece rápidamente en el cultivo axénico puede crecer mucho más lento en un ambiente natural donde debe competir con otros organismos que están igual o mejor adaptados a los recursos y las condiciones de crecimiento disponibles



COMPETENCIA Y COOPERACIÓN MICROBIANA



La competencia entre microorganismos por los recursos de un hábitat puede ser intensa

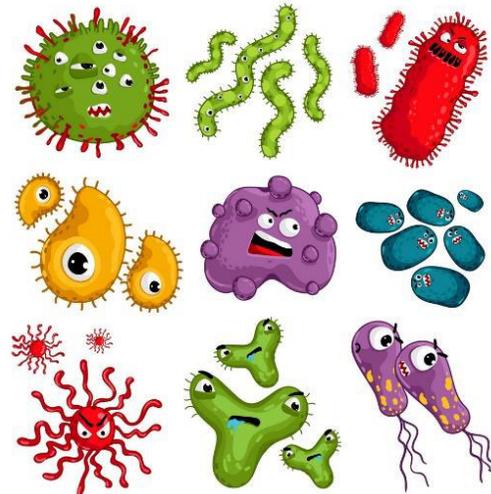
El resultado depende de varios factores

Tasa de captación de nutrientes

Tasa metabólica propia

Velocidad de crecimiento

- ❖ Un hábitat típico alberga una mezcla de especies diferentes.
- ❖ La densidad de cada población dependerá de lo que se parezca el nicho que habita a su nicho principal.

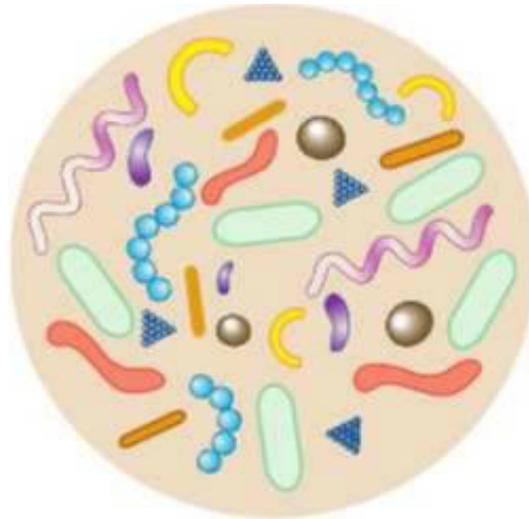


DIVERSIDAD DE ESPECIES MICROBIANAS

RIQUEZA FRENTE A ABUNDANCIA

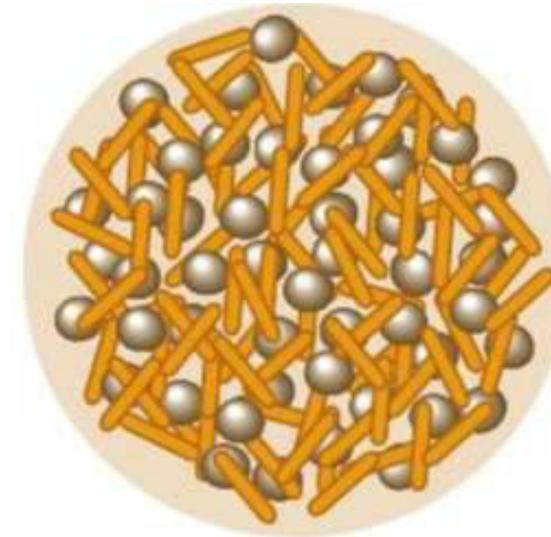
- ❖ Las diferentes formas celulares representan diferentes especies.
- ❖ **RIQUEZA:** N° de especies diferentes.
- ❖ **ABUNDANCIA:** N° de individuos de una especie.

COMUNIDAD 1



ELEVADA RIQUEZA de especies y BAJA a MODERADA ABUNDANCIA

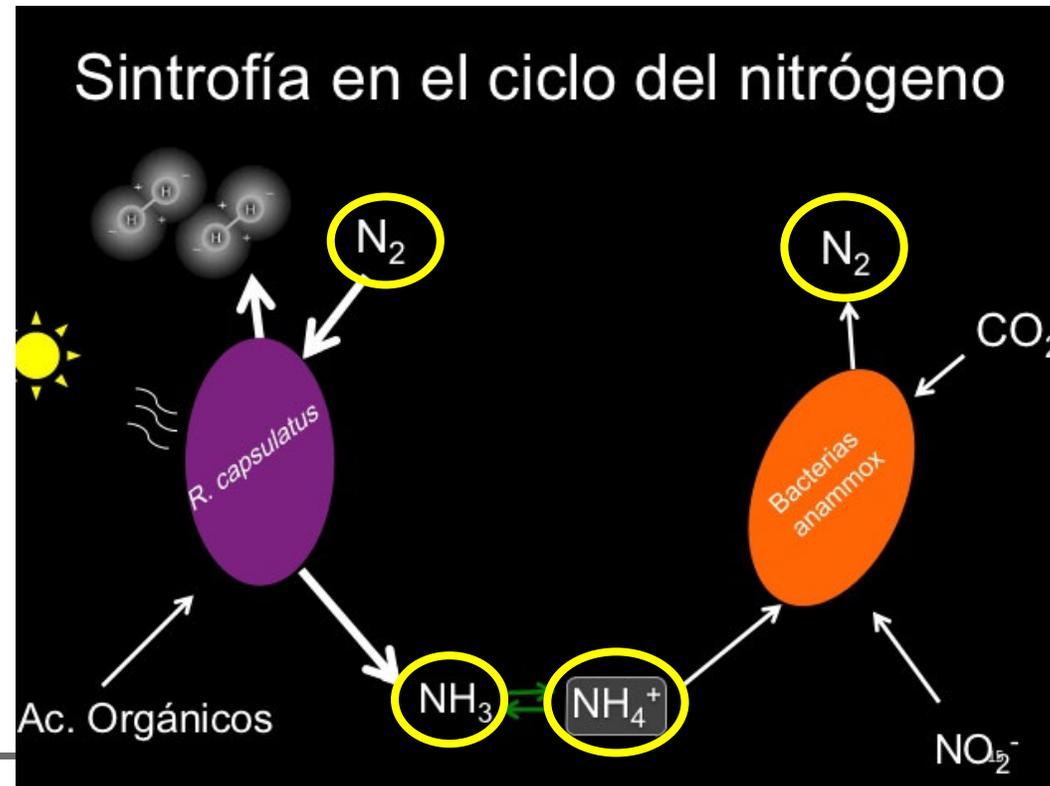
COMUNIDAD 2



BAJA RIQUEZA y ELEVADA ABUNDANCIA

- ❖ Algunos microorganismos trabajan juntos para llevar a cabo transformaciones que no podrían realizar por separado.
- ❖ Estos tipos de colaboración microbiana se denominan SINTROFIA

Por ej. 2 organismos diferentes se unen para degradar una sustancia, y conservar energía al hacerlo, que no podrían degradar por separado.





AGUA Y ACTIVIDAD DE AGUA (POTENCIAL HÍDRICO)

DISPONIBILIDAD DE AGUA

El H₂O es el disolvente de la vida



- ❖ Es un factor importante que determina el crecimiento de los microorganismos.
- ❖ NO solo es función del contenido en agua que está presente en un medio, de la humedad o sequedad de un determinado hábitat, sino que también depende de la concentración de solutos que puedan estar presentes en el agua (sales, azúcares y otras sustancias).
- ❖ Ya que las sustancias disueltas tienen una cierta afinidad por el agua que hace que el agua asociada a los solutos no esté disponible para los organismos.

ACTIVIDAD DE AGUA: a_w

Para ser utilizada en procesos metabólicos

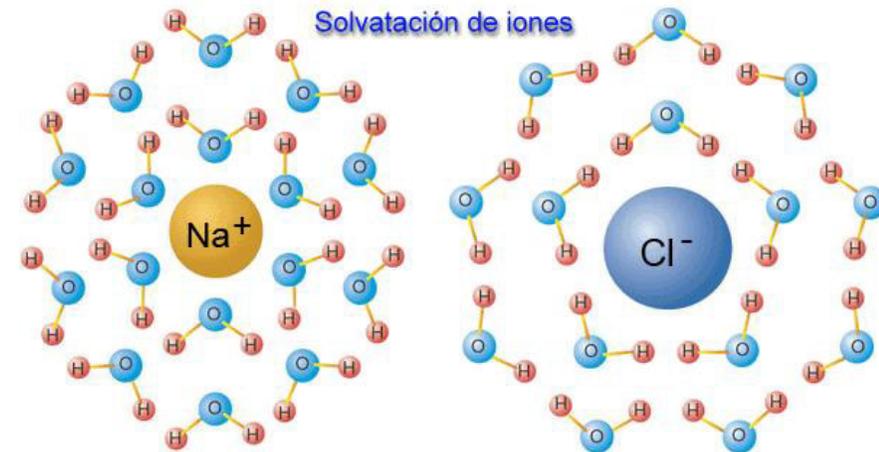
Relación entre la presión de vapor del aire en equilibrio con una sustancia o solución o sustrato (P) y la presión de vapor del agua pura (P_0), a la misma temperatura

$$0 < a_w = \frac{P}{P_0} < 1$$

La a_w de un alimento o solución es la relación entre la presión de vapor del agua del alimento o solución y la del agua pura, a la = T° .

$a_w \rightarrow$ medida de la cantidad de agua disponible

- Agua pura \rightarrow todas las moléculas disponibles: $\uparrow a_w$.
- Solución saturada de NaCl \rightarrow una parte importante de las moléculas de agua participa en la solvatación de los iones de la sal disuelta: $\downarrow a_w$.



a_w nos da la idea de la cantidad de agua disponible metabólicamente para que un microorganismo se desarrolle.

Si la \uparrow [solutos] en el medio \rightarrow \uparrow (osmolaridad) \rightarrow \downarrow aw:



Presión (a una T dada) en la que la fase líquida y el vapor se encuentran en equilibrio dinámico (= presión de saturación).

ACTIVIDAD DEL AGUA EN VARIAS SUSTANCIAS

Actividad del agua (aw)	Material	Ejemplo de organismo
1	Agua pura	<i>Caulobacter, Spirillum</i>
0,995	Sangre humana	<i>Streptococcus, Escherichia</i>
0,980	Agua marina	<i>Pseudomonas, Vibrio</i>
0,950	Pan	Muchos bacilos gram +
0,900	Jarabe de arce, jamón	Cocos gram + como <i>Staphylococcus</i>
0,850	Salamín	<i>Saccharomyces</i> (levadura)
0,800	Torta de frutas, mermelada	<i>Saccharomyces rouxii</i> (hongo)
0,750	Lagos salinos, pescado salado	<i>Halobacterium, Halococcus</i>
0,700	Cereales, caramelos, frutos secos	<i>Xeromyces bisporus</i> y otros hongos xerófilos



OSMÓFILOS



Organismos que viven en ambientes con \uparrow P osmótica

A_w 0,60 – 0,85

La reducción de a_w es usada como estrategia para limitar el crecimiento microbiano

De gran importancia en industria alimentaria:

- ✓ Almíbares
- ✓ Salmueras
- ✓ Salazones (desección con sal)



$\downarrow a_w$ del alimento



Evita el crecimiento de microorganismos

CONSERVACIÓN: DESECACIÓN



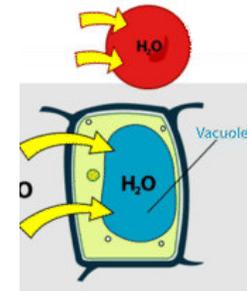
- Deshidratación
- Adición de solutos

- Frutos secos
- Carnes saladas
- Néctares de flores
- Desiertos
- Salinas

ADAPTACIÓN OSMÓTICA

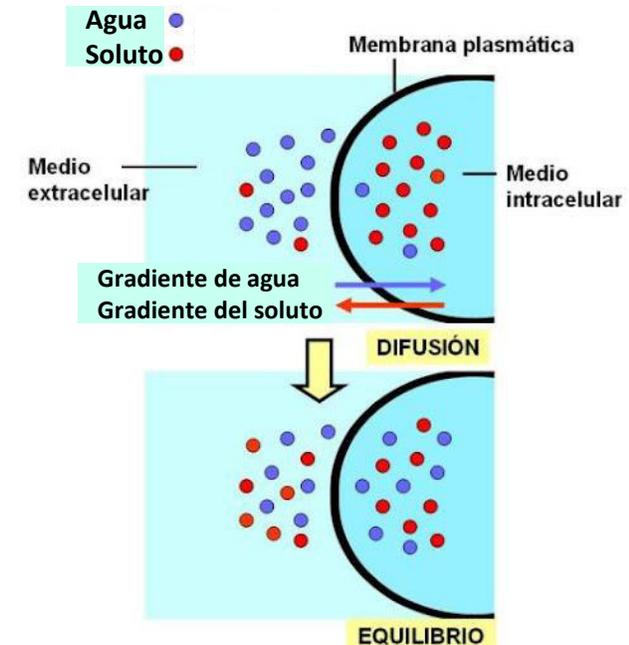


- ❖ Los microorganismos halotolerantes y halófilos poseen una gran diversidad de mecanismos que utilizan para soportar las enormes fluctuaciones osmóticas, ya que deben mantener su citoplasma isotónico con respecto a su entorno.
- ❖ Por esto las membranas celulares son permeables al agua, por lo que al momento de mantener una presión de turgencia, el citoplasma debe ser ligeramente HIPEROSMÓTICO.

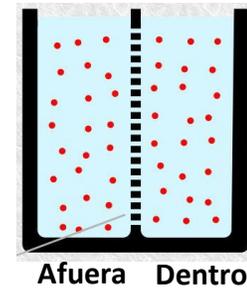
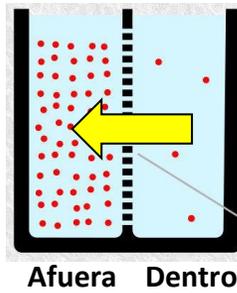


SOLUTOS COMPATIBLES

- ❖ Cuando un organismo crece en un medio con baja actividad hídrica sólo puede obtener agua del ambiente incrementando su concentración interna de solutos.
- ❖ Tal incremento puede llevarse a cabo a partir del medio ambiente aumentando el bombeo de iones inorgánicos hacia dentro de la célula, o bien sintetizando o concentrando un soluto orgánico.
- ❖ El soluto utilizado en el interior celular para ajustar la actividad hídrica del citoplasma no debe inhibir los procesos bioquímicos celulares.



- ❖ La estrategia de adaptación osmótica para proporcionar el equilibrio por medio de la acumulación de solutos orgánicos de bajo peso molecular, ya sea tomándolos del medio o sintetizándolos *de novo*, es acompañada por la eliminación de sales del citoplasma.
- ❖ Para esto utilizan una variedad de compuestos, desde el glicerol y otros alcoholes azucarados, aminoácidos, y sus derivados como la glicina, betaína y ectoína, hasta azúcares simples como la sacarosa y trehalosa

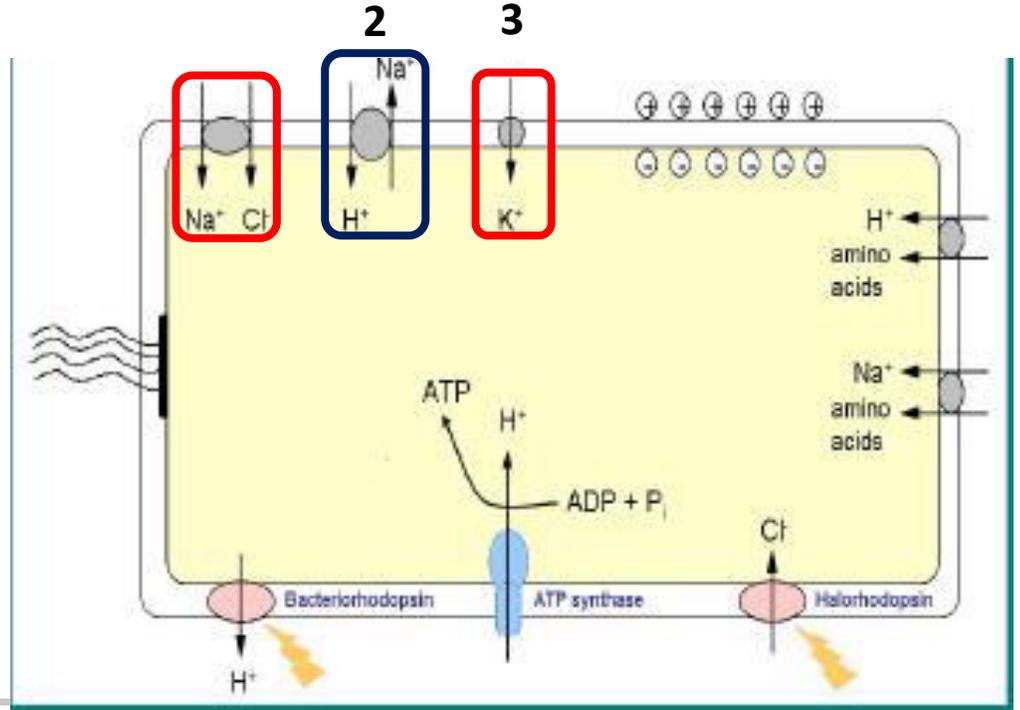


- ❖ Esta estrategia es utilizada ampliamente en los 3 dominios.
- ❖ El alga *Dunaliella* puede contener glicerol intracelular, mientras que los solutos más usados en *Bacteria* parecen ser ectoína y betaína, aunque también glicina, prolina y glutamato.
- ❖ Estos solutos orgánicos también fueron encontrados en arqueas halófilas metanógenas.



- ❖ Los halófilos contienen potentes mecanismos de transporte, generalmente sobre la base de antitransportadores Na^+/H^+ , para expulsar los Na^+ desde el interior de la célula.
- ❖ Usan diferentes estrategias para conseguir una alta presión osmótica en el citoplasma y mantener baja la concentración de Na^+ .
- ❖ Una estrategia utilizada por algunos halófilos implica la acumulación de iones K^+ y Cl^- para mantener el equilibrio osmótico.
- ❖ Las arqueas aerobias halófilas del orden *Halobacteriales* acumulan concentraciones tan altas de KCl como el NaCl del medio circundante.

- (1) Consumo activo de aminoácidos durante la entrada de Na^+ (simporte)
- (2) Excreción activa de Na^+ acoplada a la entrada de H^+ (antiporte)
- (3) entrada de K^+ en respuesta al gradiente electroquímico establecido por el paso (2)



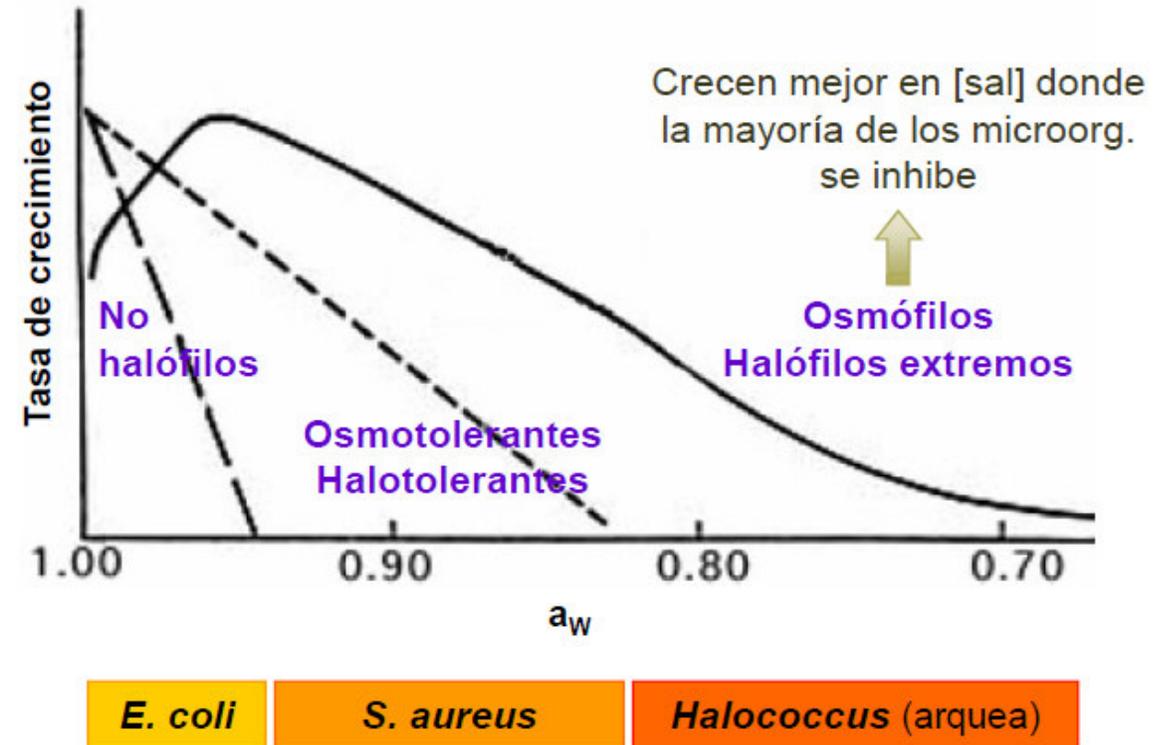
1

- ❖ En el Dominio *Bacteria*, esta estrategia de salinidad interna, solo se da en el orden *Haloanaerobiales*.
- ❖ Las altas concentraciones de KCl en el citoplasma requieren adaptaciones de las proteínas para permitir que todos los sistemas enzimáticos intracelulares sean activos a elevados niveles de salinidad y en términos bioenergéticos.
- ❖ Esta adaptación osmótica cuesta relativamente poca energía.



Relación entre osmofilia, halofilia y a_w

- ❖ La concentración intracelular de los solutos compatibles depende del nivel de los solutos externos, y para cada organismo la cantidad máxima que puede sintetizar o acumular es una característica genética.
- ❖ Esto origina que diferentes organismos puedan tolerar diferentes rangos de actividad de agua.
- ❖ En consecuencia, los microorganismos no halotolerantes, los halotolerantes, los halófilos y los halófilos extremos se definen en gran medida por su distinta capacidad genética para sintetizar o acumular solutos compatibles.





SOLUTOS COMPATIBLES DE MICROORGANISMOS



Organismo	Principales solutos acumulados	a_w mínima para crecimiento
Bacteria, no fotótrofas	Glicina betaína, prolina (principalmente gram +), glutamato (principalmente gram -)	0,97-0,90
Cianobacterias de agua dulce	Sacarosa, trehalosa	0,98
Cianobacterias marinas	α -glucosilglicerol	0,92
Algas marinas	Manitol, varios glicósidos, prolina, propionato de dimetilsulfonio	0,92
Cianobacterias de lagos salinos	Glicina betaína	0,90-0,75
Bacterias halófilas fotótrofas anoxigénicas (especies de <i>Ectothiorhodospira/Halorhodospira</i> y <i>Rhodovibrio</i>)	Glicina betaína, ectoína, trehalosa	0,90-0,75
Archaea halófilas extremas (<i>Halobacterium</i>) y algunas Bacteria (<i>Haloanaerobium</i>)	KCl	0,75
Dunaliella (alga verde halófila)	Glicerol	0,75
Levaduras xerófilas	Glicerol	0,83-0,62
Hongos filamentosos xerófilos	Glicerol	0,72-0,61

HALÓFILOS Y ORGANISMOS RELACIONADOS

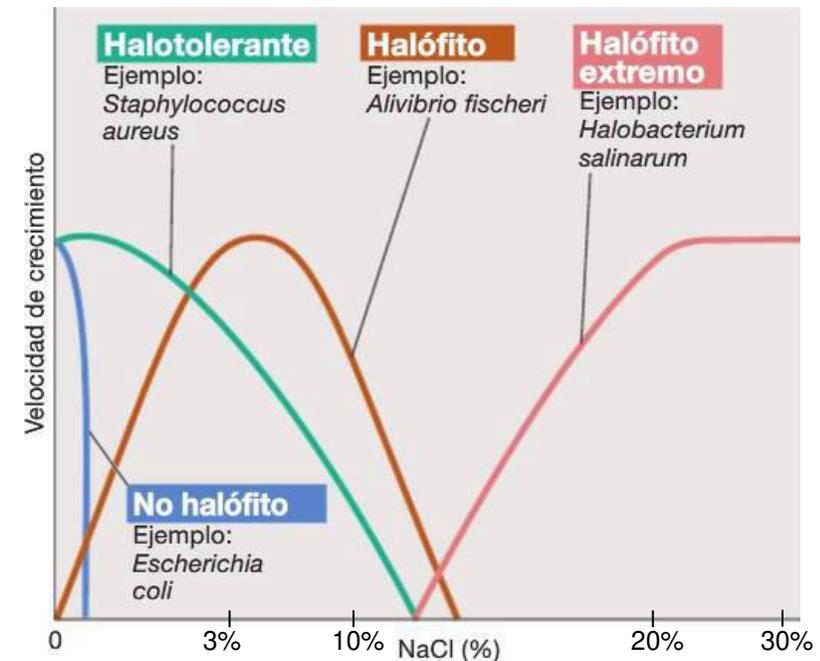


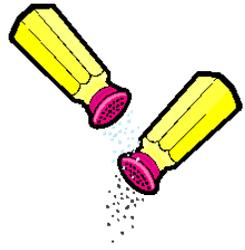
Los microorganismos marinos tienen generalmente una dependencia específica de NaCl y crecen de modo óptimo al valor de actividad hídrica propio del agua de mar.

Con base en la [NaCl] óptima de crecimiento → 4 grupos:

- ❖ No halófilos (≤ 0.1 M: 0.6%)
- ❖ Halotolerantes (0.6 M: 1-6%) → crecen mejor sin NaCl
- ❖ Halófilos (1.25 M: 6-15%) → necesitan NaCl
- ❖ Halófilos extremos (>4 M: 15 - 30%) → arqueas

Los halófilos son osmófilos





ADAPTACIONES A LA SALINIDAD



Contenido celular

- Gran concentración de KCl intracelular: Arqueas
- Acumulación de solutos orgánicos de bajo peso molecular (glicerol, glicina, betaína, ectoína): Bacterias y algas
 - *Dunaliella salina* (Eucariota) es conocida en una variedad de ambientes hipersalinos:
 - Es usada comercialmente para extracción de glicerol y β -caroteno que acumulan

HALÓFILOS OBLIGADOS

Crecimiento óptimo

[NaCl] > 3% (w/v)

"LEVE" [NaCl] 3% a 5% (0,34 a 0,85 M)

"MODERADO" [NaCl] 5% a 20% (0,85 a 3,4 M)

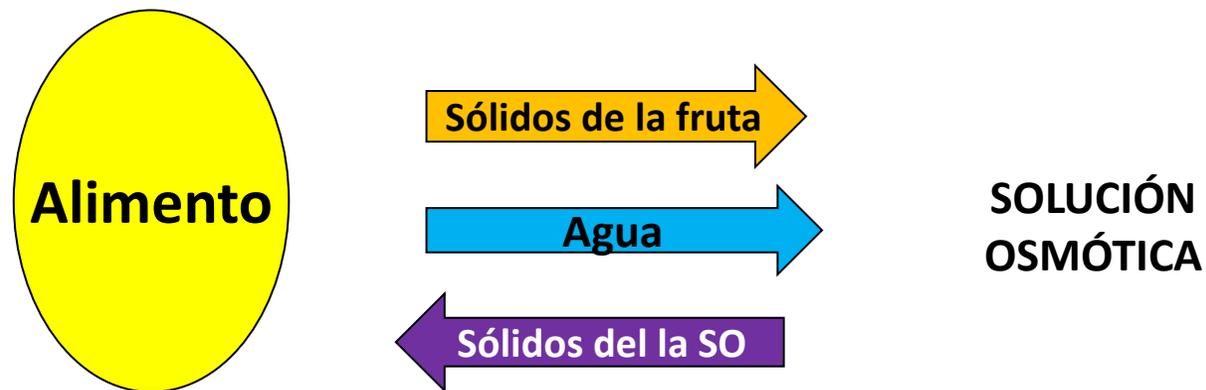
"EXTREMO" [NaCl] 20% a 30% (3,4 a 5,1 M)

La reducción de la a_w impide la proliferación microbiológica

- ❖ La deshidratación osmótica (DO) es una técnica que permite remover el agua de un alimento (frutas o vegetales) por inmersión en una solución de baja a_w : una solución osmótica (SO).
- ❖ La SO generalmente está compuesta por azúcares y/o sales.
- ❖ Una vez que el alimento y la SO se ponen en contacto, se establecen 2 flujos de materia simultáneos y en contracorriente:

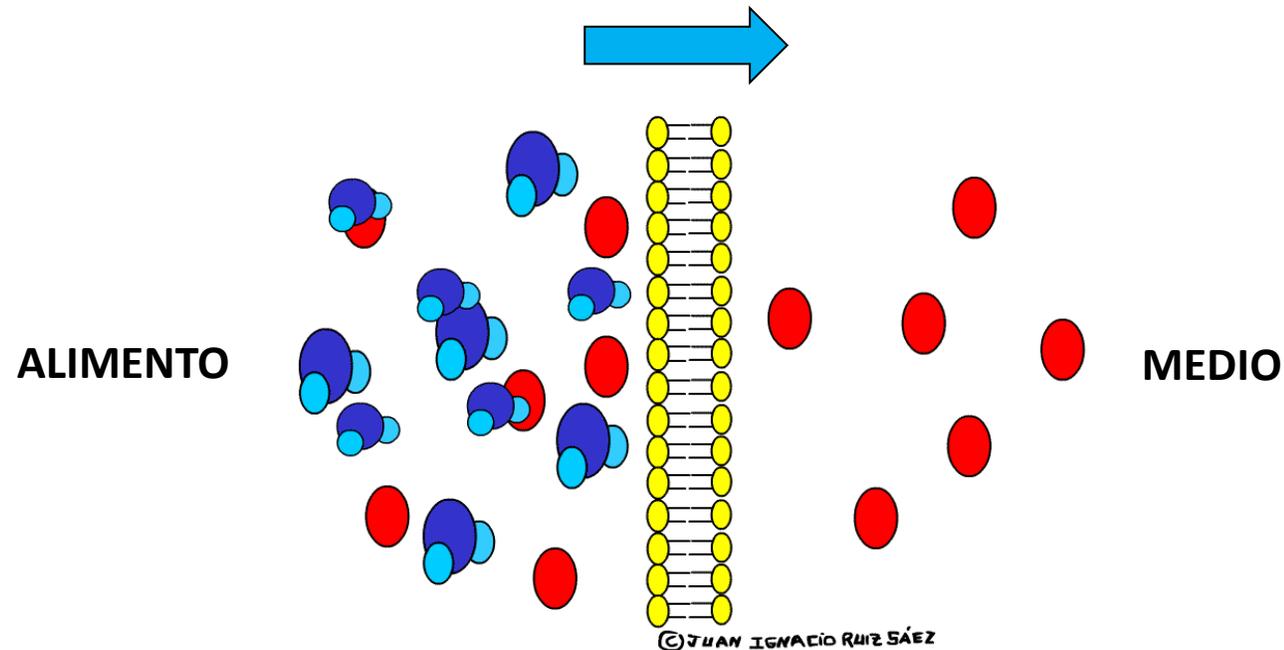
Flujo de agua desde el producto hacia la SO, acompañado de sustancias propias de la fruta (azúcares, vitaminas o pigmentos).

Flujo de los solutos de la SO, en sentido opuesto al flujo de agua, que se incorporan al tejido del alimento.

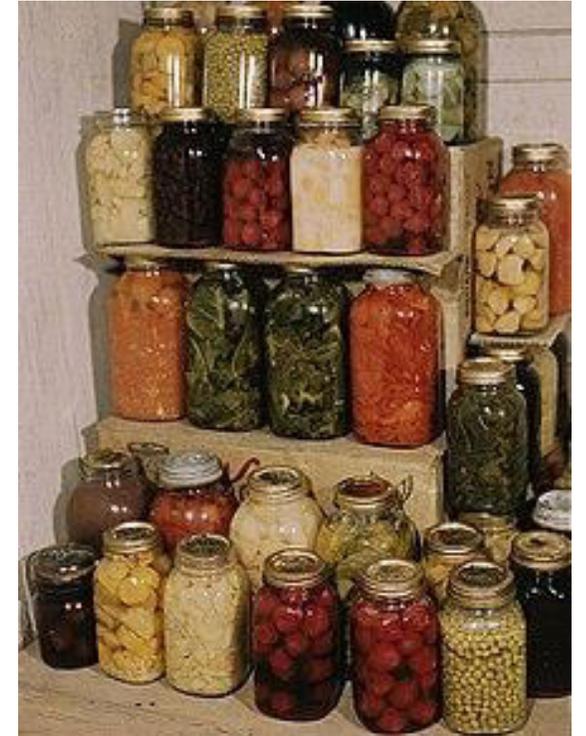


Transferencia de materia durante la DO

- ❖ Si el medio tiene una a_w más baja que la del alimento el agua fluirá espontáneamente desde el alimento hacia la solución deshidratante.
- ❖ La salida de agua a través de la membrana celular del alimento tendrá lugar hasta que los potenciales químicos del agua a ambos lados de la membrana alcancen el equilibrio.
- ❖ Los sólidos de la SO que ingresan al tejido vegetal, pueden ubicarse en los espacios extracelulares o bien, atravesar la pared celular y acumularse entre la pared y la membrana celular, donde forman una solución hipertónica que también promueve la salida del agua celular a través de la membrana.



- ❖ La mayoría de los microorganismos son incapaces de prosperar en ambientes con muy baja actividad hídrica y mueren, o bien se deshidratan y pasan a un estado de latencia.
- ❖ Los organismos HALOTOLERANTES pueden soportar alguna reducción en el valor a_w del medio, pero generalmente crecen mejor en ausencia de solutos añadidos.
- ❖ Por el contrario, algunos organismos se desarrollan a muy baja a_w , y son de gran interés no solo desde el punto de vista de su adaptación a la vida en dichas condiciones sino también desde el punto de vista aplicado en la industria alimentaria, donde solutos como la sal y la sacarosa se emplean frecuentemente como conservantes para inhibir el crecimiento microbiano.



XERÓFILOS



Organismos adaptados para la vida en un medio seco

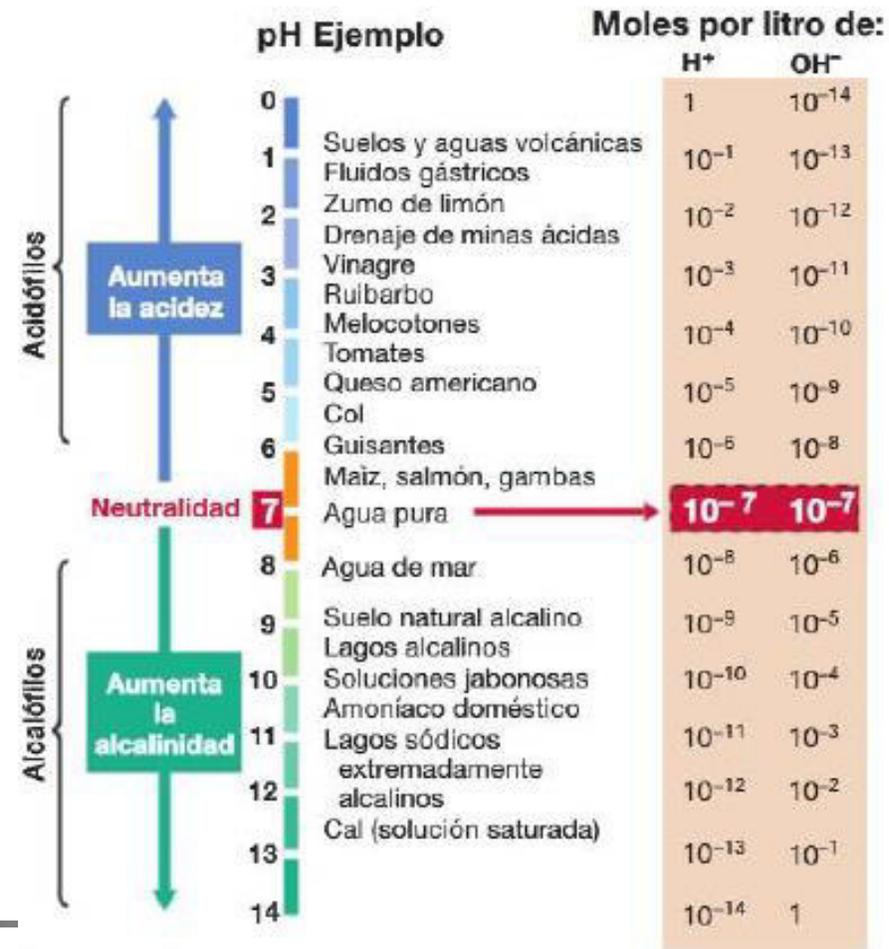
Mecanismos que ayudan a combatir la desecación:

- ❖ Algunos microorganismos son capaces de crecer mejor con a_w reducida, e incluso algunos requieren elevados niveles salinos para crecer.
- ❖ La a_w de un hábitat microbiano está controlada por la concentración de soluto disuelto en el medio.
- ❖ Acumulación de osmoprotectores (solutos compatibles) en el citoplasma → protección de membranas y proteínas (↓ potencial hídrico).
- ❖ Prolina (*Salmonella typhimurium* y *Staphylococcus aureus*), Betaína (cianobacterias y algunas Gram-positivas), Colina (*E. coli*), Ectoína en enterobacterias.
- ❖ Producción de polisacáridos extracelulares que retienen H_2O .
- ❖ Diferenciación → estructuras resistentes a la desecación.
- ❖ MC con permeabilidad restringida → mantiene sales fuera y solutos orgánicos dentro.



CRECIMIENTO MICROBIANO Y pH

- ❖ El pH es una función logarítmica, por ello, un cambio en una unidad de pH representa un cambio de 10 veces en la concentración de hidrogeniones (H^+).
- ❖ El vinagre (con pH cercano a 2) y el amoníaco doméstico (con pH próximo a 11) difieren 1.000 millones de veces (1.000.000.000) en la concentración de H^+ .





pH ACIDEZ Y ALCALINIDAD



- ❖ Unas pocas especies pueden crecer a pH extremos.
- ❖ La mayoría de los ambientes naturales tienen pH entre 4 y 9, y los organismos con pH óptimos de este orden son los más comunes.

Según su tolerancia al pH:

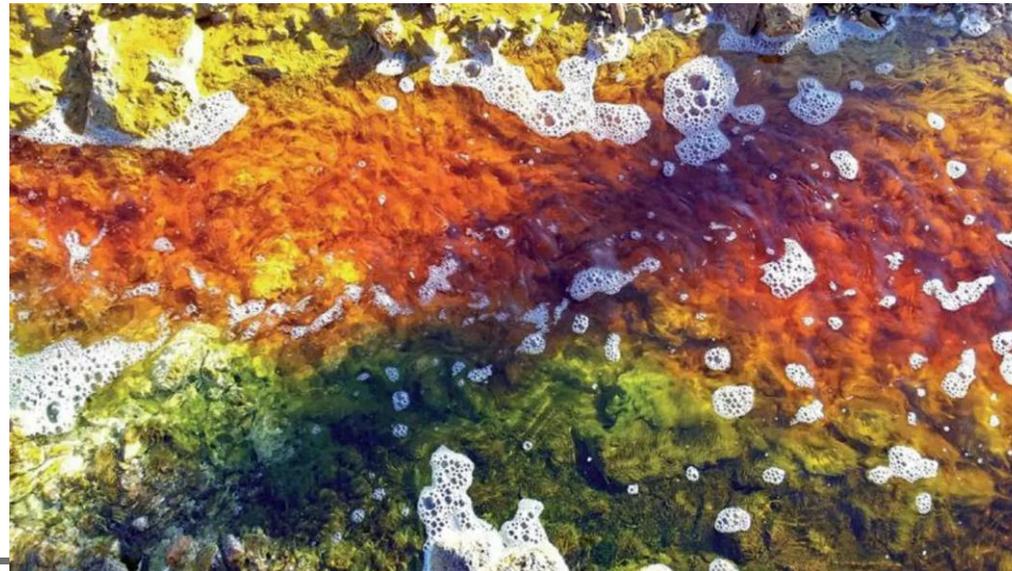
ACIDÓFILOS	→	crecen a pH ácidos	→	1 - 5,5
NEUTRÓFILOS	→	crecen a pH neutro	→	5,5 - 7
ALCALÓFILOS	→	crecen a pH básicos	→	8,5 - 11,5

- ❖ Cada microorganismo tiene un rango de pH dentro del cual es posible el crecimiento y poseen un pH óptimo bien definido.
- ❖ La mayoría se desenvuelve en un margen de pH de 2-3 unidades.
- ❖ La mayoría cambian el pH de su hábitat acidificándolo o alcalinizándolo y con ello facilitan o impiden la supervivencia de otras especies microbianas.
- ❖ **ACIDÓGENAS:** acidifican su entorno al liberar productos ácidos.
- ❖ **ACIDÚRICAS:** crecen en un medio ácido y son capaces de hacerlo más ácido.
- ❖ Sólo unas cuantas especies pueden crecer por debajo de 3 o por encima de 9, aunque el pH intracelular permanece próximo a la neutralidad.

ACIDÓFILOS

Crecen mejor a pH bajo

- ❖ Los hongos suelen ser más acidófilos que las bacterias.
- ❖ Muchos hongos crecen de modo óptimo a pH 5 o inferior y unos cuantos crecen bien incluso a pH 2.
- ❖ Hay bacterias que son acidófilas obligadas, incapaces de crecer a pH neutro como *Acidithiobacillus* y varias *Archaea* como *Sulfolobus*, *Thermoplasma* y *Ferroplasma*.
- ❖ El factor crítico más importante para el carácter acidófilo obligado es la estabilidad de la membrana plasmática.
- ❖ Cuando el pH es neutro, la membrana plasmática de las bacterias acidófilas se destruye y las células se lisan.
- ❖ Estos organismos no son simplemente tolerantes al ácido sino que REQUIEREN altas concentraciones de iones hidrógeno (H^+) para su estabilidad.



MICROORGANISMOS ACIDÓFILOS

Requieren para su crecimiento $\text{pH} < 5$ (óptimo 2-4)

Ambientes naturales

Gases sulfurosos de
fuentes hidrotermales



Actividades
geoquímicas

Actividad
metabólica

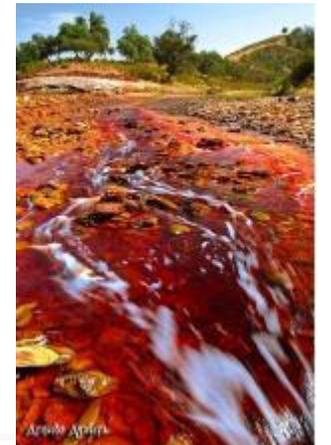


Microorganismos

Forma artificial



Actividad humana



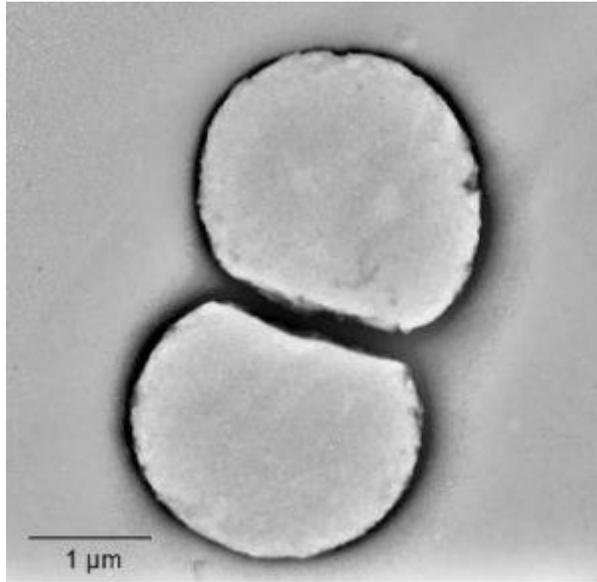
[C org dis] <20 mg/L



oligotróficos

ORGANISMO	HÁBITAT	pH		
		Mínimo	Óptimo	Máximo
<i>Thiobacillus thiooxidans</i>	Áreas ricas en azufre (ácidas)	0.5	2.0-2.8	4.0-6.0
<i>Sulfolobus acidocaldarius</i>	Manantiales ácidos de azufre	1.0	2.0-3.0	5.0
<i>Bacillus acidocaldarius</i>	Manantiales ácidos calientes	2.0	4.0	6.0
<i>Zymomonas lindneri</i>	Ambientes con alta [azúcar]	3.5	5.5-6.0	7.5
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Animales, MO en descomposición	4.0-4.6	5.8-6.6	6.8
<i>Staphylococcus aureus</i>	Animales, cavidad nasal, piel	4.2	7.0-7.5	9.3
<i>Escherichia coli</i>	Intestinos de animales	4.4	6.0-7.0	9.0
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Patógeno de animales	6.5	7.8	8.3
<i>Natronoarchaeum</i> (arquea)	Lagos y suelos sódicos, salinas	6.0	8.0-9.0	9.5

PROCARIOTA MÁS ACIDÓFILO CONOCIDO



Picrophilus oshimae (arquea)
pH óptimo de 0,7 (mínimo 0,06)

Fuentes hidrotermales de Hokkaido

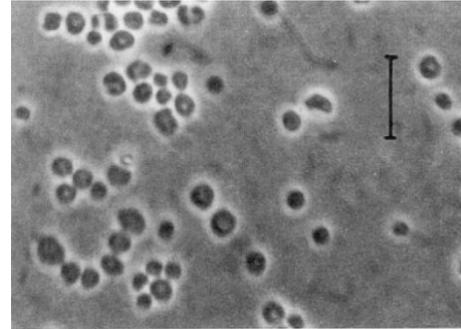
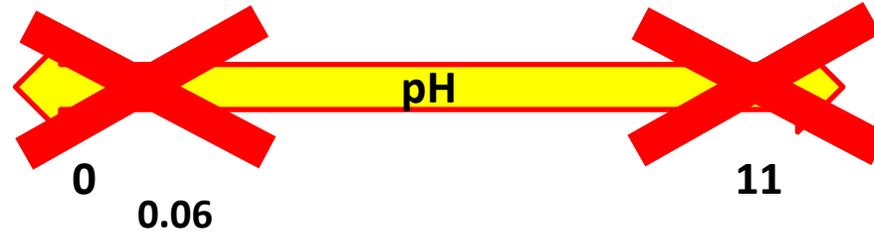


- ❖ Cuando el pH se eleva por encima de 4, sus células se lisan.
- ❖ Vive en suelos muy calientes (opt. 58–60°C) y extremadamente ácidos asociados con actividades volcánicas (cráteres volcánicos ricos en azufre y pH de 2).

Picrophilus oshimaes

Picrophilus torridus

60°C

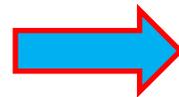


Invierten el potencial de membrana para desviar parcialmente el flujo de H^+ hacia adentro

Un mecanismo para generarlo es el transporte de K^+

Predominio de ATPasas que transportan K^+

Membranas celulares



Altamente impermeables para retrasar la afluencia de H^+ a la célula

Biominería, lixiviación de tanques y pilas, tratamiento de concentrados de sulfuro mineral que contienen Au refractario, aguas ácidas de minas.

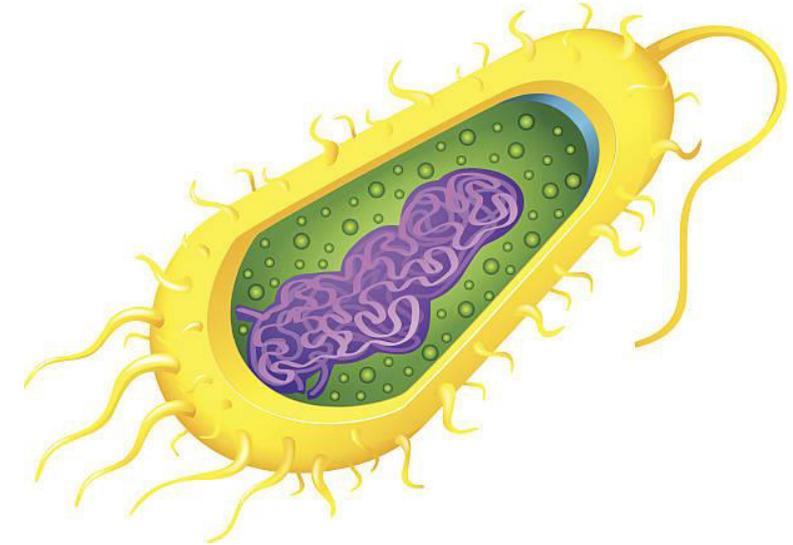
ALCALÓFILOS

- ❖ Microorganismos que crecen en hábitats de pH muy básicos (lagos alcalinos o suelos ricos en carbonatos), con pH óptimos de 9 o más.
- ❖ Los alcalófilos mejor estudiados son especies de *Bacillus*, (*B. firmus*).
- ❖ Este organismo es alcalófilo pero tiene un amplio poco usual rango de crecimiento, a pH de 7.5 a 11 .
- ❖ Algunos microorganismos alcalófilos extremos son también halófilos, y la mayor parte de éstos pertenecen a *Archaea*.
- ❖ Algunos alcalófilos tienen aplicación industrial porque producen enzimas hidrolíticas, como proteasas y lipasas, que funcionan bien a pH alcalino y se usan como aditivos de los detergentes domésticos.



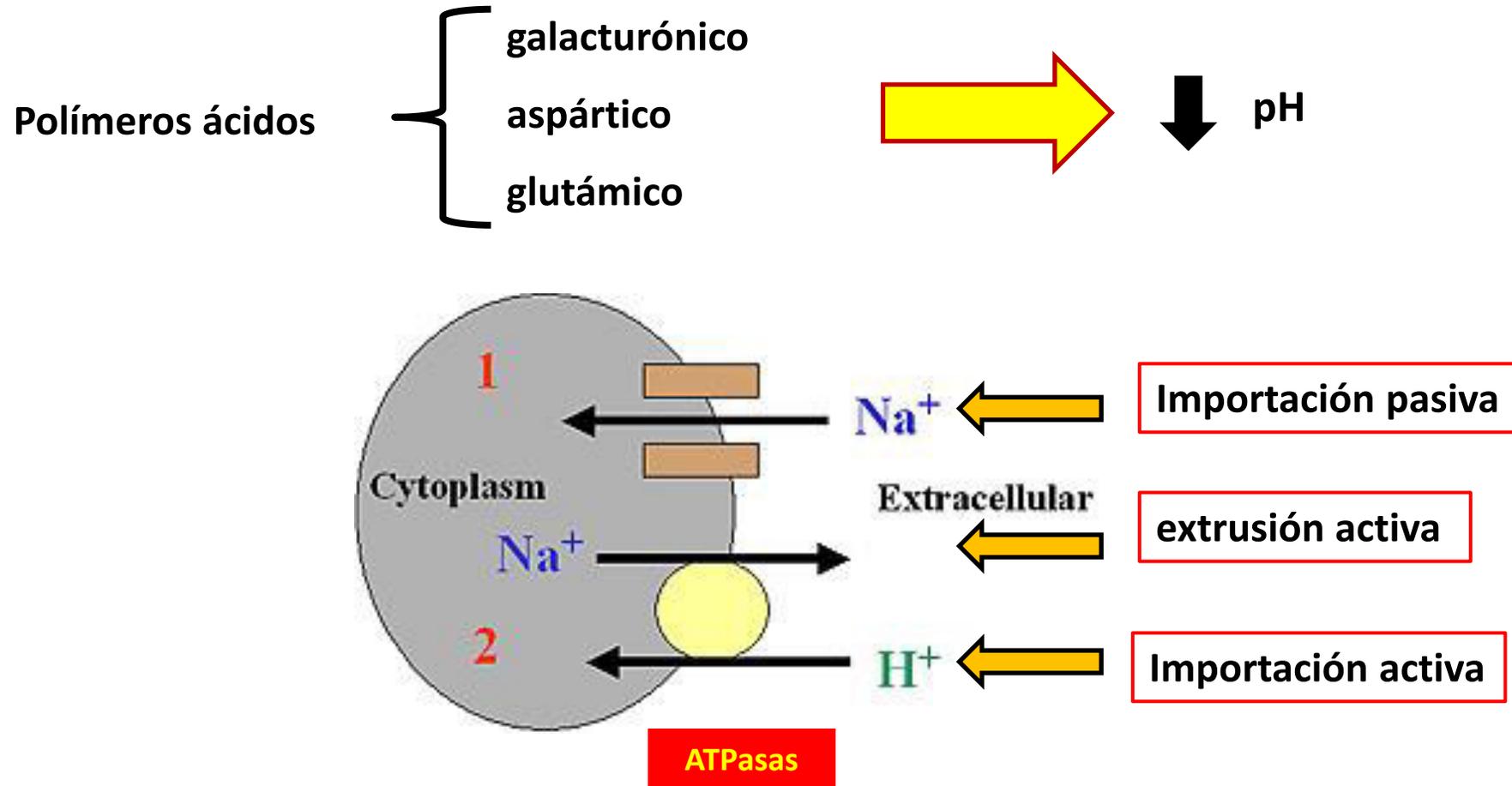
pH INTRACELULAR

- ❖ El pH óptimo para el crecimiento de un organismo representa solo el pH del medio EXTRACELULAR.
- ❖ El pH INTRACELULAR debe permanecer próximo a la neutralidad para evitar la destrucción de macromoléculas celulares.
- ❖ En la mayor parte de los microorganismos cuyo pH óptimo para el crecimiento está entre 6 y 8, los llamados neutrófilos, el citoplasma permanece neutro o muy próximo a la neutralidad.
- ❖ En los acidófilos y alcalófilos el pH interno puede variar.
- ❖ En el acidófilo *P. oshimae*, el pH intracelular es 4,6 y en alcalófilos extremos se han logrado medir valores de pH intracelular de hasta 9,5.
- ❖ No se sabe con certeza si estos valores representan respectivamente los valores más bajos y más altos de pH intracelular, pero tales límites deben de ser muy próximos a éstos, pues el ADN es lábil al ácido y el ARN es lábil al álcali; si una célula no pudiera mantener la estabilidad de estas macromoléculas esenciales no podría sobrevivir.



ADAPTACIÓN A LA ALCALINIDAD

La superficie celular es clave para mantener el pH intracelular entre 7 y 8,5



HABITATS ALCALINOS

En algunos lagos se producen entornos extremadamente alcalinos donde ocurren altas tasas de evaporación en cuencas endorreicas.



El agua contiene cantidades escasas de Mg^{2+} y Ca^{2+} y está casi saturada con sales de Na^+ , especialmente Cl^- , CO_3^{2-} y HCO_3^- , con un $pH \geq 10$ debido a los altos niveles de Na_2CO_3 .

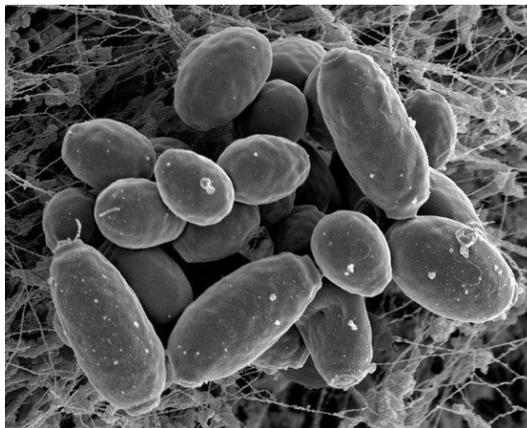
HALOALCALÓFILOS: DOMINIO ARQUEA



Natrialba sp.



Natronomonas sp.



Natronobacterium sp.

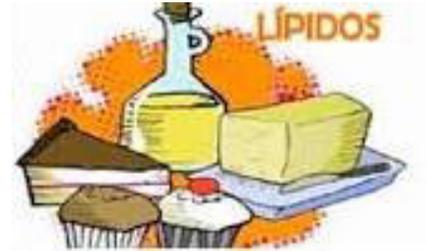


Haloquadratum sp.

UTILIDAD



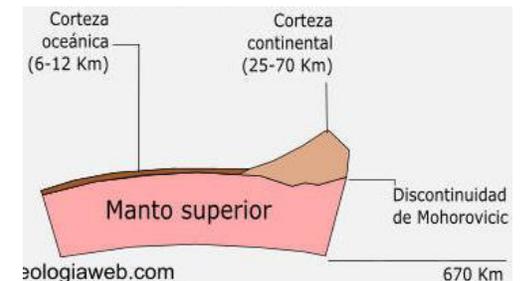
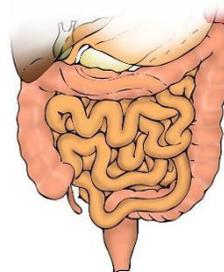
- Proteasas alcalinas y celulasas en detergentes para lavandería.
- Xilanasas para uso en la industria de pulpa / papel.
- Lipasas en bioprocesamiento de lípidos.
- Enzimas para depilar pieles en el curtido del cuero, fabricación de aditivos alimentarios y fabricación de medicamentos.
- Producción de ciclodextrina para su uso en productos alimenticios, productos químicos y productos farmacéuticos, utilizando ciclotomaltodextrina glucanotransferasa alcalina.
- Procesamiento del tinte de plantas índigo.



OXÍGENO Y CRECIMIENTO MICROBIANO



- ❖ Como los animales tienen necesidad absoluta de oxígeno molecular (O_2), resulta fácil suponer que TODAS las formas de vida también lo requieren.
- ❖ Sin embargo muchos microorganismos PUEDEN, y algunos DEBEN, vivir en AUSENCIA TOTAL de O_2 .
- ❖ El oxígeno es débilmente soluble en agua y puede desaparecer rápidamente debido a las actividades respiratorias de los microorganismos en los hábitats acuáticos y húmedos.
- ❖ Existen en nuestro planeta abundantes HÁBITATS MICROBIANOS ANÓXICOS, como fangos y otros sedimentos, pantanos o ciénagas, suelos forestales inundados, tracto intestinal de los animales, vertidos de aguas negras, zonas profundas de la subcorteza terrestre.
- ❖ En estos hábitats anóxicos proliferan MICROORGANISMOS, particularmente PROCARIOTAS.





TIPOS DE MICROORGANISMOS CON RELACIÓN AL O₂



- ❖ Los microorganismos son muy variados en cuanto a la necesidad o tolerancia del O₂
- ❖ Se pueden dividir en varios grupos dependiendo del efecto del O₂.
- ❖ Los AEROBIOS son especies capaces de crecer a tensiones normales de oxígeno (21% O₂ en el aire) y respiran oxígeno en su metabolismo.
- ❖ Muchos aerobios pueden incluso tolerar concentraciones más elevadas de oxígeno (oxígeno hiperbárico).

MICROAERÓFILOS

Aerobios que pueden usar el O₂ sólo cuando está presente a niveles mas bajos que en el aire (condiciones microóxicas 2-10%), normalmente a causa de su limitada capacidad para respirar o porque contienen alguna molécula sensible al O₂ como enzimas que son lábiles en su presencia.



FACULTATIVOS

Muchos aerobios que bajo las apropiadas condiciones nutritivas y de cultivo pueden crecer tanto en condiciones óxicas como anóxicas.

ANAEROBIOS

Microorganismos que **NO PUEDEN** respirar O_2 .
2 clases :

AEROTOLERANTES

Toleran el O_2 y crecer en su presencia aunque **NO PUEDEN** usarlo.

OBLIGADOS o ESTRUCTOS

Son **INHIBIDOS** o incluso **MUEREN** en presencia de O_2 .



NECESIDADES DE OXIGENO



- El O_2 es tóxico para algunos porque NO tienen las enzimas SOD y catalasa, que degradan a los radicales libres del oxígeno que son TÓXICOS.
- Al tener estas enzimas, los microorganismos PUEDEN VIVIR con O_2 .
- El consumo de O_2 es necesario para la respiración celular (para obtener ATP).

• Toxicidad del O_2 : elementos tóxicos:

- H_2O_2 : Peróxido de Hidrógeno
- O_2^- : radical superóxido
- OH^- : radical hidroxilo

• Enzimas que intervienen:

• SUPERÓXIDO DISMUTASA (SOD): $2O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$

O = $-\frac{1}{2}$

• CATALASA o PEROXIDASA: $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$

SUPERÓXIDO Y OTRAS FORMAS TÓXICAS DEL OXÍGENO



Además del singlete, existen otras formas altamente tóxicas del oxígeno:

- Anión superóxido (O_2^-),
- Peróxido de hidrógeno (H_2O_2)
- Radical hidroxilo (OH^*)

Cada uno de los cuales se produce como un producto 2rio durante la reducción de O_2 a H_2O_2 en la respiración

Con tantas formas TÓXICAS derivadas del oxígeno, no resulta sorprendente que los organismos hayan desarrollado enzimas para destruir estos compuestos



SUPERÓXIDO DISMUTASA Y OTRAS ENZIMAS QUE DESTRUYEN FORMAS TÓXICAS DE OXÍGENO



- ❖ El SUPERÓXIDO (O_2^-) y el PERÓXIDO DE HIDRÓGENO (H_2O_2) son las formas tóxicas más frecuentes, de modo que las enzimas que destruyen estos compuestos tienen una amplia distribución.
- ❖ La CATALASA ataca al H_2O_2 formando O_2 y H_2O .
- ❖ Otra enzima que destruye el H_2O_2 es la PEROXIDASA, que difiere de la catalasa en que requiere un reductor, normalmente NADH, para originar sólo H_2O como producto.
- ❖ El O_2^- es destruido por la SUPERÓXIDO DISMUTASA (SOD) que combina 2 moléculas de O_2^- para formar una molécula de H_2O_2 y una molécula de O_2 .
- ❖ La acción conjunta de superóxido dismutasa y catalasa convierte el O_2^- en O_2 y H_2O .

	REACTIVOS	PRODUCTOS
Catalasa	$2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$	Agua y oxígeno
SOD	$2O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$	peróxido de hidrógeno y oxígeno
Peroxidasa	$H_2O_2 + NADH + H^+ \rightarrow 2H_2O + NAD^+$	Agua
	$O_2 + e^- \rightarrow O_2^-$	Superóxido
SOD/catalasa	$4 O_2^- + 4 H^+ \rightarrow 2H_2O + 3O_2$	Agua y oxígeno
	$O_2^- + e^- + 2 H^+ \rightarrow H_2O_2$	Peróxido de hidrógeno
	$H_2O_2 + e^- + H^+ \rightarrow H_2O + OH^*$	Radical hidroxilo
	$OH^* + e^- + H^+ \rightarrow H_2O$	Agua

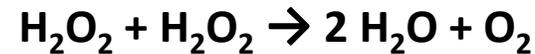
Enzimas que destruyen especies tóxicas derivadas del oxígeno, (a) Las catalasas y (b) las peroxidasas son proteínas que contienen porfirinas, aunque también algunas flavoproteínas pueden consumir especies tóxicas de oxígeno.

(c) Las superóxido dismutasas son proteínas que contienen metales, fundamentalmente cobre y zinc, manganeso o hierro.

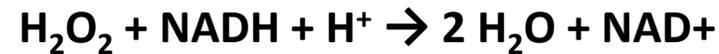
(d) Reacción combinada de la superóxido dismutasa y la catalasa.

(e) La superóxido reductasa cataliza la reducción por un electrón de O_2^- a H_2O_2 .

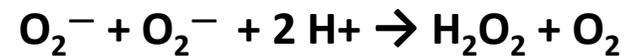
(a) Catalasa



(b) Peroxidasa



(c) Superóxido dismutasa



(d) Superóxido dismutasa/catalasa en combinación

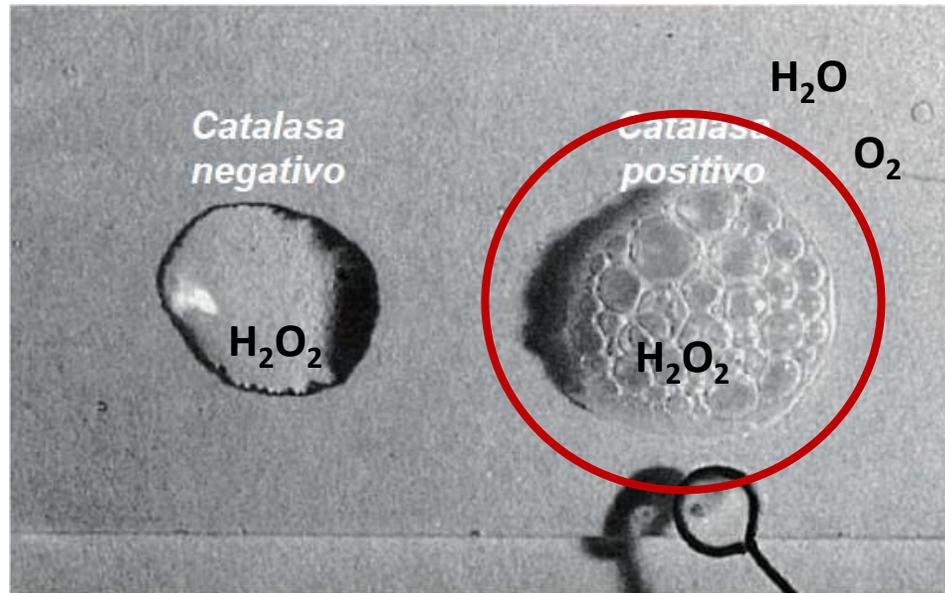


(e) Superóxido reductasa



ENSAYO DE LA PRESENCIA DE CATALASA

Un ansa de cultivo cargada con células recogidas de la superficie de un cultivo microbiano sólido se mezcla con una gota de agua oxigenada al 30% sobre un porta.



La inmediata aparición de burbujas indica la presencia de catalasa

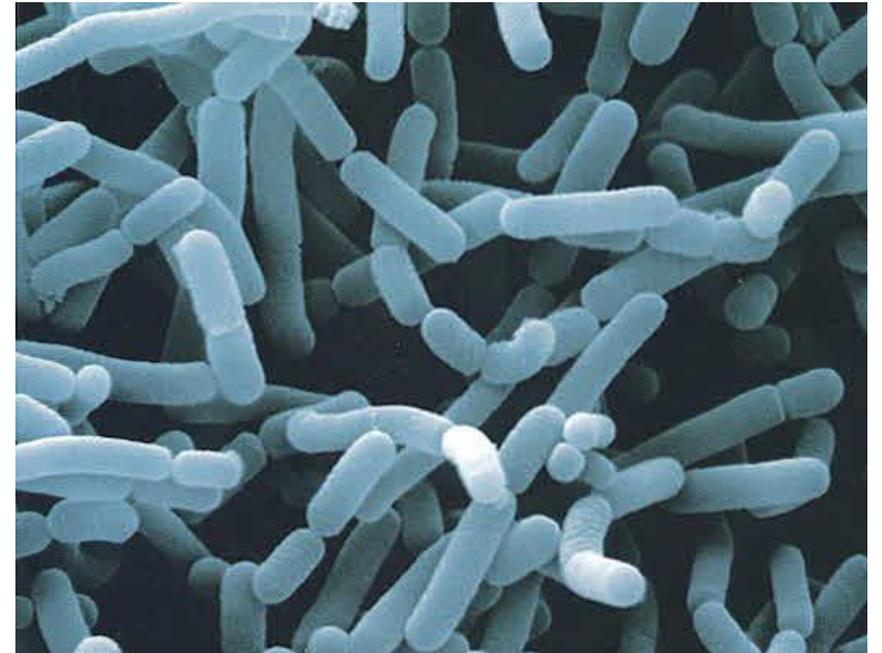
RELACIONES MICROBIANAS CON EL OXÍGENO

Grupo	Relación con el O ₂	Tipo de metabolismo	Ejemplo	Hábitat
AEROBIOS				
OBLIGADOS	Necesario	Respiración aerobia	<i>Micrococcus luteus</i> (B)	Piel, polvo
FACULTATIVOS	No necesario, pero crecen mejor con O ₂	Respiración aerobia, anaerobia, fermentación	<i>Escherichia coli</i> (B)	Intestino grueso de mamíferos
MICROAERÓFILOS	Necesario pero a bajas tensiones	Respiración aerobia	<i>Spirillum volutans</i> (B)	Lagos
ANAEROBIOS				
AEROTOLERANTES	No necesario, no crecen mejor con O ₂	Fermentación	<i>Streptococcus pyogenes</i> (B)	Tracto respiratorio superior
OBLIGADOS	Dañino o letal	Fermentación o respiración anaerobia	<i>Methanobacterium formicicum</i> (A)	Digestores de aguas negras, sedimentos lacustres anóxicos

- ❖ La razón por la que los anaerobios obligados mueren en presencia de oxígeno es desconocida, pero puede deberse a que son INCAPACES de ELIMINAR algunos productos tóxicos que se originan en el metabolismo del oxígeno.
- ❖ La ANAEROBIOSIS OBLIGADA ocurre solo en 3 clases de microorganismos: una amplia variedad de procariontes, unos cuantos hongos y unos cuantos protozoos.
- ❖ En las metanógenas y otras muchas especies de *Archaea*, las bacterias sulfatoredutoras y las homoacetogénicas, así como muchas de las bacterias y arqueas intestinales y de la cavidad oral.
- ❖ Dentro de *Bacteria*, uno de los grupos mejor conocidos de anaerobios obligados es el género *Clostridium*, formado por bacilos Gram + que forman endosporas.
- ❖ Son frecuentes en el suelo, en sedimentos lacustres y en el tracto intestinal, y a menudo son los responsables del deterioro de alimentos enlatados.



- ❖ Los **AEROBIOS** y los **FACULTATIVOS** contienen por lo general tanto **SOD** como **CATALASA**.
- ❖ La **SOD** es imprescindible en las células **AEROBIAS** y su **AUSENCIA** en los **ANAEROBIOS OBLIGADOS** se pensó que era la causa por la que el O_2 resulta **TÓXICO** para estas células.
- ❖ Algunos **ANAEROBIOS AEROTOLERANTES**, como las bacterias del ácido láctico, **CARECEN** de la **SOD** pero usan complejos no proteicos de Mn^{2+} libre para lograr la dismutación de O_2^- a H_2O_2 y O_2 .
- ❖ Dicho sistema no es tan eficaz como la **SOD** pero tal reacción puede haber funcionado como una forma primitiva de **SOD** en los organismos anaerobios primigenios que se enfrentaron por primera vez al O_2 cuando aparecieron las cianobacterias sobre la Tierra.



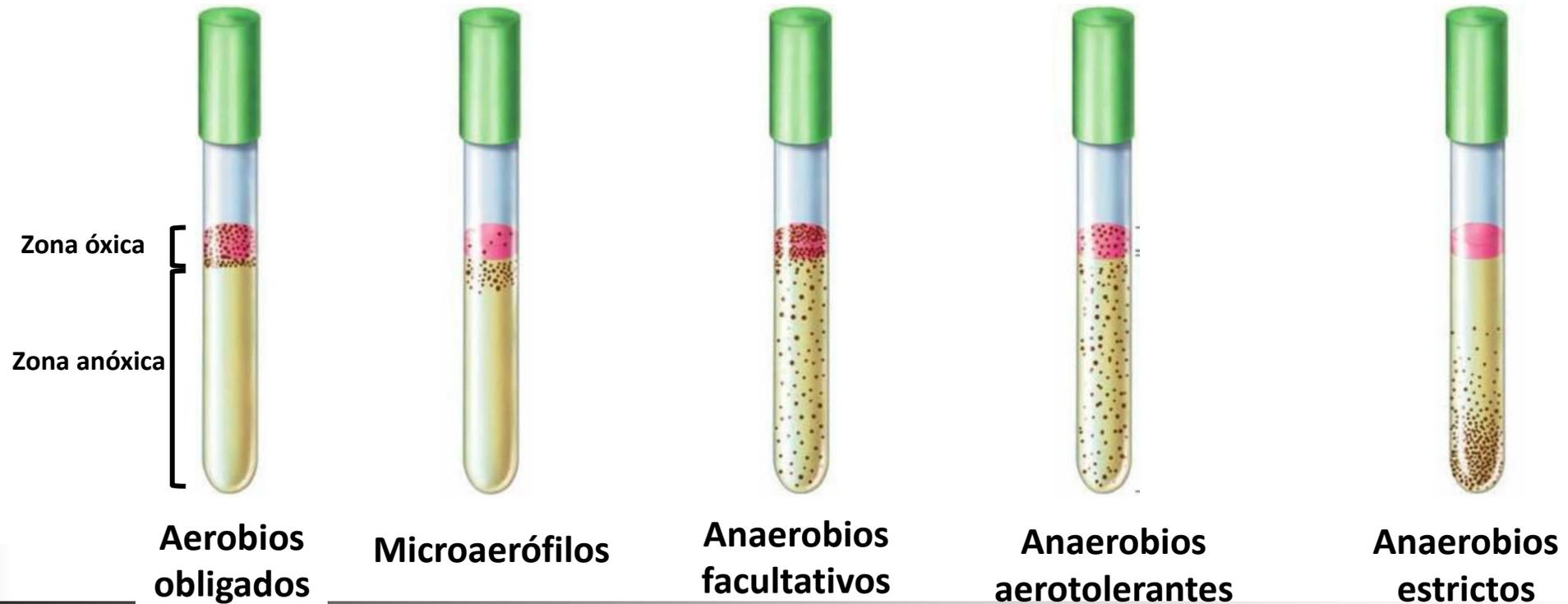
CULTIVO PARA AEROBIOS Y ANAEROBIOS



- ❖ Para el crecimiento de muchos microorganismos aerobios es necesario suministrar una intensa aireación.
- ❖ Esto se debe a que el O_2 es poco soluble en agua y el O_2 usado por los organismos durante el crecimiento no se reemplaza lo suficientemente rápido por difusión a partir del aire.
- ❖ Se realiza una aireación forzada de los cultivos, bien sea por agitación de los matraces o tubos en una bandeja de agitación o bien por burbujeo de aire esterilizado a través del medio mediante un tubo fino de vidrio o un disco poroso.
- ❖ Normalmente los aerobios crecen mejor con aireación forzada que cuando se suministra el O_2 por simple difusión.



- ❖ En el caso de los cultivos de ANAEROBIOS el problema es excluir el O_2 , no suministrarlo.
- ❖ Los anaerobios obligados varían en cuanto a su sensibilidad al O_2 , y existen diversos procedimientos para reducir el contenido en O_2 de los cultivos.
- ❖ Para los organismos que no son demasiado sensibles a pequeñas cantidades de O_2 , se obtienen condiciones anóxicas adecuadas llenando las botellas o tubos con medio de cultivo completamente hasta arriba y cerrando con tapones herméticos.



	Aerobios estrictos	Micro-aerófilos	Anaerobios facultativos	Aero-tolerantes	Anaerobios estrictos
	Crecim. aerobio: solo donde hay \uparrow $[O_2]$	Crecim. aerobio: solo donde hay \downarrow $[O_2]$	Crecim. aerobio y anaerobio; > crecim. en presencia de O_2	Crecim. uniforme: el O_2 no tiene efecto	Crecim. anaerobio: solo donde no hay O_2
<p>Alta $[O_2]$ Baja</p>					
	Utilizan O_2	$[O_2]$ normales \rightarrow [ERO] letales	Utilizan O_2	Toleran O_2	No toleran O_2
	SOD+ CAT+	SOD+ CAT \downarrow nivel	SOD+ CAT+	SOD+ CAT-	SOD- CAT-

CULTIVOS EN ANAEROBIOSIS



JARRA ANÓXICA

- ❖ Para eliminar completamente toda traza de O_2 del cultivo de anaerobios, puede colocarse un gas que reaccione con el O_2 o agregar un agente reductor capaz de reaccionar con el O_2 y reducirlo a H_2O .
 - ❖ El dispositivo más sencillo es la jarra anóxica para anaerobios.
 - ❖ Es un contenedor con una tapa hermética dentro del cual se colocan los tubos o placas que se van a incubar.
-
- ✓ El aire del recipiente se reemplaza por una mezcla de H_2 y CO_2 y, en presencia de paladio (Pd) como catalizador, las trazas de O_2 que pudieran quedar en el contenedor se consumen formando agua ($H_2 + O_2 \rightarrow H_2O$) y se establecen así condiciones ANÓXICAS.
 - ✓ Otra forma es mediante una reacción química producida por un sobre en el interior de la jarra genera $H_2 + CO_2$.
 - ✓ El H_2 reacciona con el O_2 para formar H_2O_2 sobre la superficie de un catalizador de Pd presente en la jarra.
 - ✓ La atmósfera final contiene N_2 , H_2 y CO_2 .



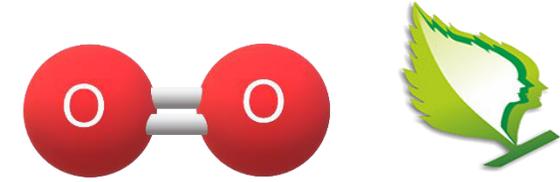
- ❖ Para el cultivo de anaerobios estrictos no sólo es necesario eliminar todas las trazas de O_2 sino además realizar todas las manipulaciones del cultivo en una atmósfera ANÓXICA, ya que estos microorganismos pueden morir por una breve exposición al O_2 .
- ❖ En estos casos, el medio de cultivo se hierve primero para liberar el O_2 y luego se añade un agente reductor como H_2S y se sella la muestra en una atmósfera de gas libre de O_2 .
- ❖ Todas las manipulaciones hay que realizarlas bajo una corriente gaseosa de hidrógeno o nitrógeno, libres de O_2 , que se dirige al recipiente de cultivo cada vez que se abre, evitando así que el O_2 pueda entrar.
- ❖ Para llevar a cabo investigaciones con ANAEROBIOS ERICTOS es necesario disponer de CÁMARAS ANÓXICAS que son dispositivos especiales diseñados con guantes incorporados que permiten trabajar desde fuera con cultivos abiertos en ATMÓSFERAS TOTALMENTE ANÓXICAS.

Cámara anóxica con guantes para manipular e incubar cultivos bajo condiciones anaerobias. La compuerta de la derecha, que puede vaciarse y llenarse con gas libre de O_2 , permite introducir o extraer materiales de la cámara con guantes.





FORMAS TÓXICAS DEL OXÍGENO



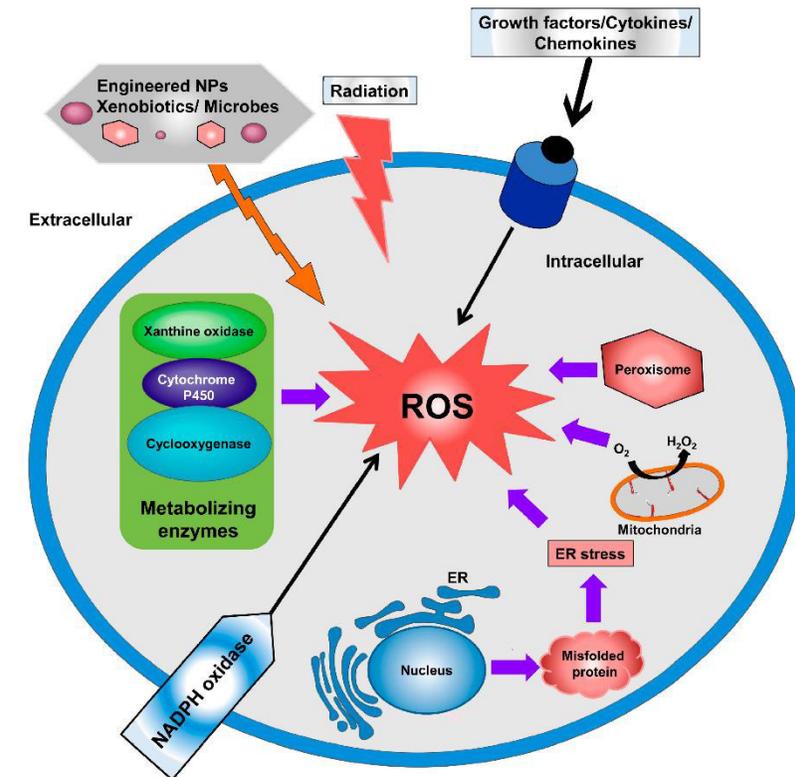
- ❖ El oxígeno es un poderoso oxidante y el mejor aceptor de e^- en la respiración.
- ❖ Pero también puede ser un VENENO para los ANAEROBIOS OBLIGADOS.
- ❖ El oxígeno por sí mismo NO ES LETAL, pero forma derivados tóxicos que pueden dañar a las células.

QUÍMICA DEL OXÍGENO

- ❖ El oxígeno en su estado basal normal se llama TRIPLETE de oxígeno (3O_2). $\cdot\ddot{O}:\ddot{O}\cdot$
- ❖ Sin embargo, son posibles otras configuraciones electrónicas, y la mayoría son tóxicas para las células.
- ❖ Una forma tóxica importante del oxígeno es el denominado SINGLETE de oxígeno (1O_2), que representa una forma mucho más energética, en la que la capa electrónica externa que rodea al núcleo es muy reactiva y es capaz de llevar a cabo espontáneamente una gran variedad de oxidaciones indeseables para la célula. $\ddot{O}::\ddot{O}$
- ❖ El singlete de oxígeno se produce tanto fotoquímicamente como bioquímicamente.
- ❖ En este último caso a través de la acción de varias enzimas llamadas PEROXIDASAS.
- ❖ Los organismos que frecuentemente se encuentran con singletes de oxígeno, como las bacterias del aire y los microorganismos fotótrofos, a menudo contienen pigmentos llamados carotenoides cuya función es convertir los singletes de oxígeno en formas no tóxicas.



Fuentes de generación de ERO



- ❖ Las flavoproteínas, quinonas, tioles, y proteínas con hierro y azufre que se encuentran prácticamente en todas las células, también pueden llevar a cabo la reducción de O₂ a O₂⁻ (anión superóxido). $\cdot\ddot{O}:\ddot{O}^-$
- ❖ Es decir que, se respire o no oxígeno, una célula puede estar expuesta ocasionalmente a especies tóxicas del oxígeno.
- ❖ El superóxido y el radical hidroxilo son agentes muy oxidantes y pueden oxidar prácticamente cualquier compuesto orgánico de la célula, incluyendo las macromoléculas.
- ❖ Los peróxidos como el H₂O₂ también pueden dañar los componentes celulares, pero generalmente no son tan tóxicos para la célula como el anión superóxido o los radicales hidroxilo. $H:\ddot{O}^\cdot$
- ❖ Éstos últimos son los más reactivos de todas las especies tóxicas del oxígeno pero son solo formas transitorias que se eliminan rápidamente en otras reacciones.



SUPERÓXIDO REDUCTASA

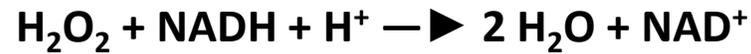


- ❖ Algunas *Archaea* anaerobias obligadas presentan otro método de eliminar el superóxido.
- ❖ En el hipertermófilo *Pyrococcus furiosus* no existe SOD pero está presente un enzima particular, la SUPERÓXIDO REDUCTASA, que se encarga de la eliminación del superóxido.
- ❖ A diferencia de la SOD, la superóxido reductasa reduce el anión superóxido a H₂O₂ SIN la producción de O₂ con lo que se evita la exposición del organismo a éste.

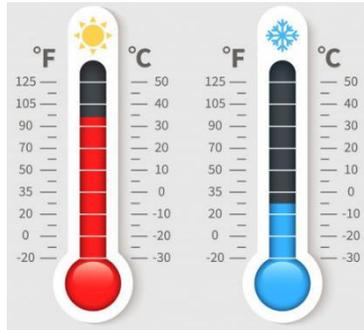




- ❖ *P. furiosus* también CARECE de CATALASA, una enzima, que como la SOD, también genera O₂.
- ❖ El H₂O₂ producido por la superóxido reductasa se elimina por la actividad de enzimas semejantes a las peroxidasas que producen H₂O como producto final.

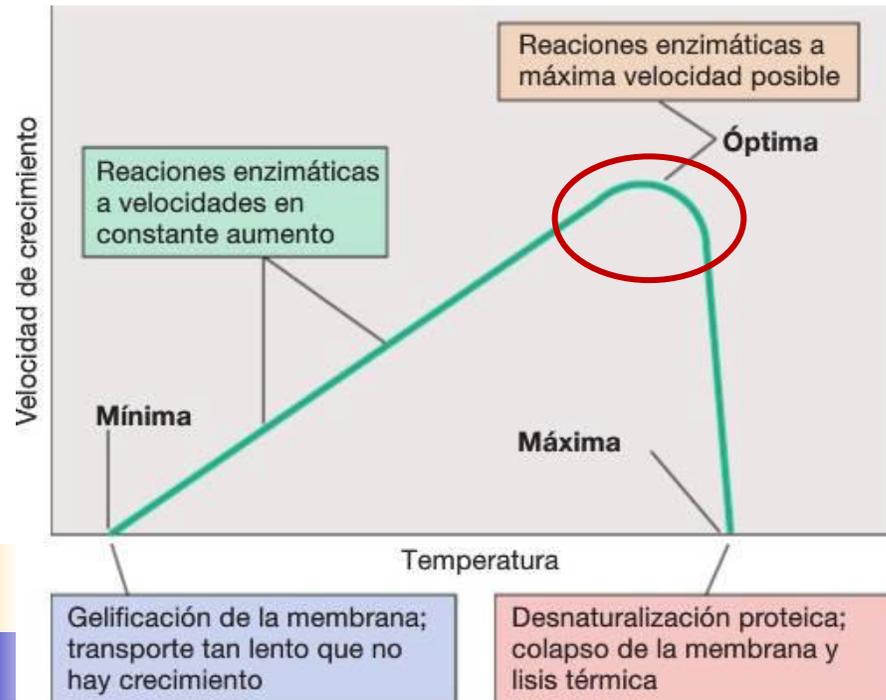


- ❖ Muchos anaerobios e hipertermófilos obligados, como *Pyrococcus*, viven en chimeneas hidrotermales oceánicas pero son muy tolerantes a condiciones óxicas.
- ❖ Aunque no crecen en tales condiciones, se supone que la superóxido reductasa evita su muerte cuando se exponen al O₂.
- ❖ La tolerancia al O₂ puede ser un factor importante que permite el transporte de estos organismos en aguas marinas óxicas desde un escape geotérmico a otro.
- ❖ En la célula se pueden originar varias formas tóxicas del oxígeno, pero existen enzimas que pueden neutralizar la mayor parte de ellas.
- ❖ En particular, el superóxido (O₂⁻) parece ser una forma tóxica muy frecuente.



- ❖ Probablemente es el factor más importantes que afecta al crecimiento y a la supervivencia de los microorganismos.
- ❖ A temperaturas muy frías o muy calientes los microorganismos no crecerán y pueden incluso morir.
- ❖ Los valores absolutos de estas temperaturas mínimas o máximas varían mucho entre microorganismos diferentes y por lo general reflejan el rango de la temperatura media de sus hábitats naturales
- ❖ A medida que se eleva la temperatura, las reacciones químicas y enzimáticas de la célula son más rápidas, y el crecimiento se acelera; sin embargo, por encima de una cierta temperatura algunas proteínas particulares pueden sufrir daños de modo irreversible.

- ❖ Un aumento de temperatura acarrea un aumento en el crecimiento y en el funcionamiento metabólico hasta que las reacciones de inactivación se ponen en marcha.
- ❖ Por encima de tal punto, las reacciones celulares caen a 0.
- ❖ Para cada microorganismo existe una temperatura **MÍNIMA** por debajo de la cual no produce crecimiento, una temperatura **ÓPTIMA** a la que se produce el crecimiento más rápido, y una temperatura **MÁXIMA** por encima de la cual no es posible el crecimiento.

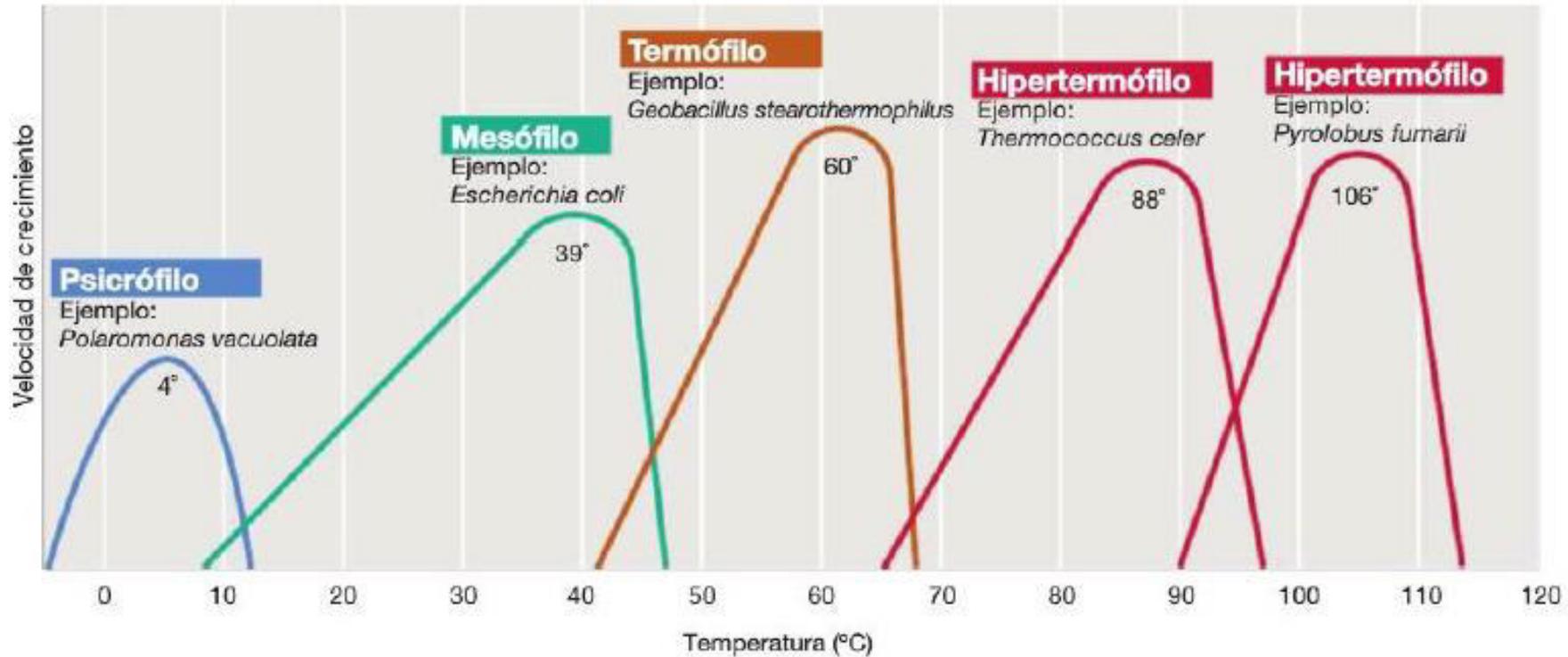


- La temperatura óptima está siempre más cerca de la máxima que de la mínima
- Las temperaturas cardinales: mínima, óptima y máxima son específicas para cada organismo
- Difieren mucho entre sí; algunos muestran temperaturas óptimas tan bajas como 4°C y otros tan altas como más de 100°C.



- ❖ El rango de temperaturas en el que ocurre crecimiento es más amplio que el margen del agua líquida, desde temperaturas por debajo del punto de congelación hasta temperaturas superiores a las de ebullición.
- ❖ Pero no hay ningún microorganismo que ocupe todo este intervalo de temperaturas que, para el caso de un organismo determinado, suele ser de unos 25-40°C.
- ❖ La temperatura MÁXIMA de crecimiento de un organismo determinado refleja probablemente la inactivación de una o más proteínas celulares que son esenciales.
- ❖ Sin embargo, los factores que determinan la temperatura MÍNIMA de crecimiento de un organismo no están tan claros.
- ❖ La membrana plasmática debe estar en un estado fluido para su correcto funcionamiento y tal vez la temperatura mínima de crecimiento sea el resultado de la CONGELACIÓN de esas funciones de la membrana en cuanto a transporte de nutrientes o a la formación del gradiente de H⁺.
- ❖ La TEMPERATURA ÓPTIMA de crecimiento refleja un estado en que todos o la mayor parte de los componentes celulares están funcionando a su máxima velocidad.

Se pueden distinguir al menos 4 grupos de microorganismos con relación a su temperatura óptima:

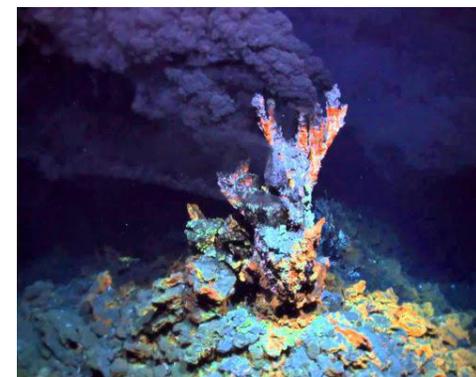


- **PSICRÓFILOS:** con temperaturas óptimas bajas 0-20°C
- **MESÓFÍLOS:** con temperaturas óptimas moderadas 20-45°C
- **TERMÓFILOS:** con altas temperaturas óptimas 40- 70°C
- **HIPERTERMÓFILOS:** con temperaturas óptimas muy elevadas 70-115°C

❖ Los **MESÓFILOS** tienen una amplia distribución en la naturaleza, se encuentran en animales de sangre caliente y en medios acuáticos y terrestres de latitudes templadas y tropicales.



❖ Los **PSICRÓFILOS** y los **TERMÓFILOS** se encuentran en ambientes muy fríos o muy calientes, respectivamente.



❖ Los **HIPERTERMÓFILOS** son típicos de ambientes concretos extremadamente calientes como fuentes termales, géiseres y emisiones hidrotermales submarinas.

CRECIMIENTO MICROBIANO A BAJAS TEMPERATURAS



Los seres humanos vivimos en la superficie de nuestro planeta en lugares donde las temperaturas son generalmente moderadas, y por ello consideramos que los ambientes muy calientes y muy fríos son EXTREMOS.



Los hábitats normales de muchos microorganismos pueden ser extremadamente calientes o extremadamente fríos.

EXTREMÓFILOS

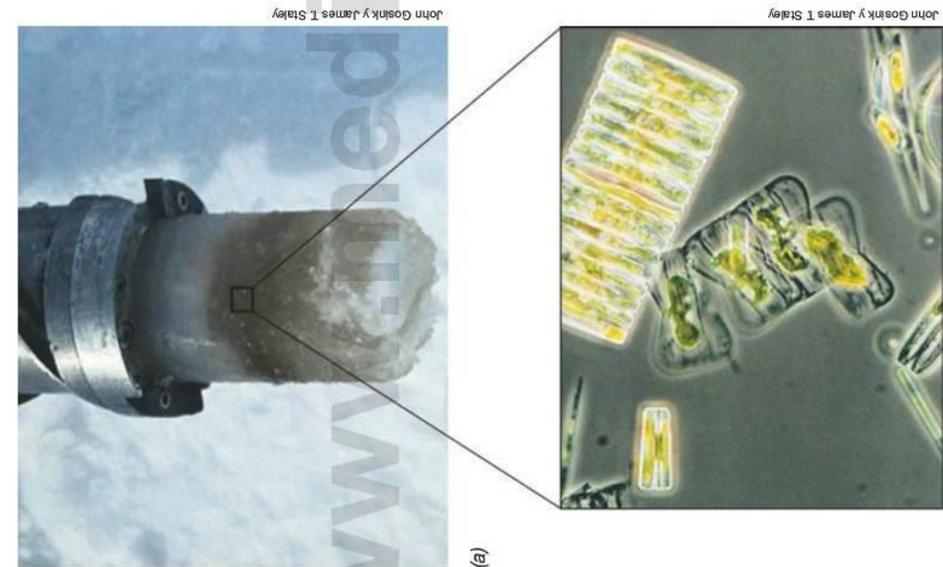
Evolucionaron hasta crecer de modo óptimo en esas condiciones.



- ❖ Gran parte de la superficie terrestre experimenta bajas temperaturas.
- ❖ Los océanos, que representan más de la mitad de la superficie terrestre, tienen una temperatura media de 5°C y las profundidades marinas tienen temperaturas constantes de 1-3°C.
- ❖ En el Ártico y en el Antártico hay vastas áreas permanentemente congeladas o que se descongelan sólo durante algunas semanas al año en el verano.
- ❖ Estos ambientes fríos raramente son estériles y en ellos se encuentran microorganismos vivos y creciendo a cualquier temperatura baja a la que aún exista agua líquida.

muestra de agua de mar permanentemente helada de la Antártida.

La intensa coloración es debida a microorganismos pigmentados



La mayoría son diatomeas o algas verdes (todos microorganismos fotótrofos eucariotas)

- ❖ Las sales y otros solutos, por ejemplo, rebajan el punto de congelación del agua y permiten el crecimiento microbiano por debajo de la temperatura de congelación del agua pura: 0°C.
- ❖ Incluso en muchos materiales congelados normalmente existen pequeñas zonas microscópicas con agua líquida donde se concentran solutos que los microorganismos pueden metabolizar y por tanto usar para crecer.
- ❖ Dentro de los glaciares existe una malla de canales de agua líquida en donde los procariotas se desarrollan y se reproducen.



***Polaromonas*, una bacteria con vesículas de gas que vive en los hielos marinos y tiene crecimiento óptimo a 4°C.**



MICROORGANISMOS PSICRÓFILOS



Organismos con temperatura óptima baja

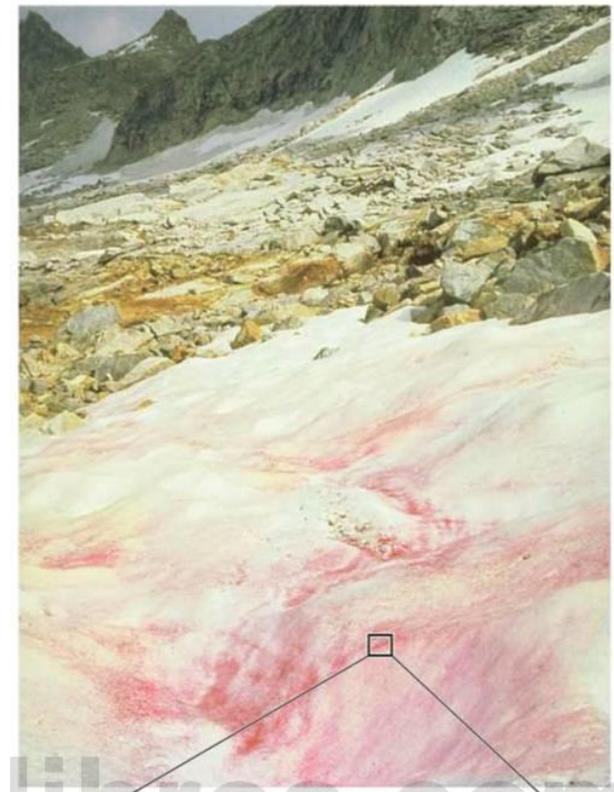
- ❖ Temperatura óptima de crecimiento de $\leq 15^{\circ}\text{C}$, una temperatura máxima de crecimiento $< 20^{\circ}\text{C}$ y una temperatura mínima de crecimiento de $\leq 0^{\circ}\text{C}$.
- ❖ Se encuentran en ambientes permanentemente fríos y mueren rápidamente si se exponen a tan solo 20°C .



Las algas psicrófilas crecen en masas densas entre, o bajo el hielo de las regiones polares y se observan a menudo sobre la superficie de zonas nevadas y glaciares en número tan elevado que prestan un color rojo o verde a la superficie

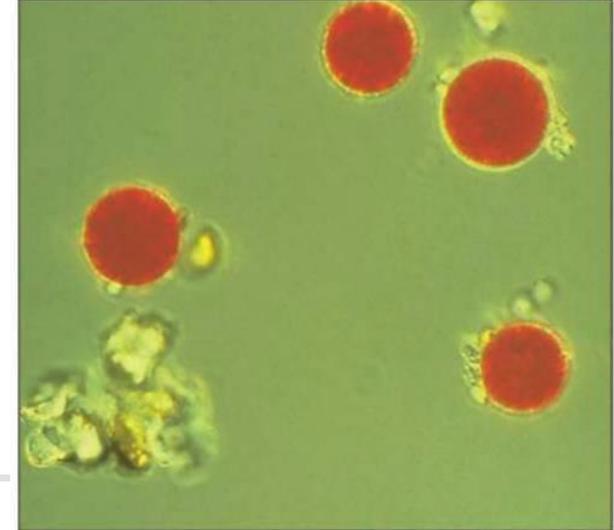
El alga de las nieves más común es *Chlamydomonas nivalis*, cuyas esporas de color rojo brillante son las responsables del ocasional color rojizo de la nieve

Esporas pigmentadas de *Chlamydomonas nivalis*.
Las esporas germinan originando células del alga verdes y móviles.



Katherine M. Brock

(a) fibros.com



T. D. Brock

MICROORGANISMOS PSICROTOLERANTES

- ❖ Organismos que crecen a 0°C pero tienen temperaturas óptimas de 20-40°C.
- ❖ Tienen una distribución mucho más amplia que los psicrófilos y se pueden aislar de suelos y aguas de climas templados así como de carnes, leche y productos derivados, sidra, vegetales y fruta almacenada bajo refrigeración (4°C).
- ❖ Capaces de crecer a 0°C, pero no lo hacen muy bien a esa temperatura, y se debe esperar a veces varias semanas antes de que se pueda apreciar el crecimiento de colonias en medios de cultivo en el laboratorio.
- ❖ Son los principales microorganismos implicados en el deterioro de los alimentos en refrigeración.
- ❖ Son traídos en los alimentos de sus hábitats mesófilos y continúan creciendo en el ambiente refrigerado, aunque de forma más lenta.
- ❖ Dentro de los microorganismos psicrotolerantes, las bacterias son las principales responsables del deterioro de los alimentos refrigerados de origen animal, mientras los mohos y verduras lo son en frutas y hortalizas.



ARQUEAS PSICRÓFILAS



- Crecen de 0 hasta 10°C
- Metabolismo en el hielo -20°C (-40°C)
- sobreviven entre -45 y 25 °C.

➤ Dos grupos:

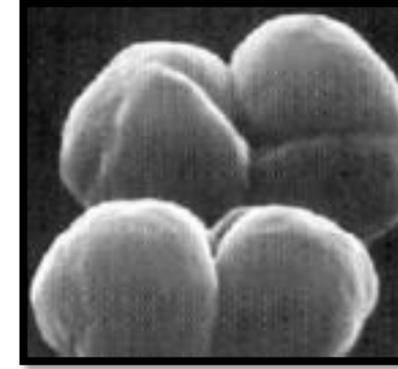
- Euripsicrofilas (permanentemente fríos pero con tolerancia)
- Estenopsicrofilas (psicrófilos estrictos).

➤ Ambientes marinos:

- aguas marinas frías, océanos congelados, aguas costeras, océanos abiertos, lagos helados y en los sedimentos marinos

➤ Ambientes no marinos:

- Thaumarchaeota: Rizosfera, lagos alpinos, hielo glacial y ríos.
- Metanógenas





GÉNEROS DE BACTERIAS Y ARQUEAS Y MICROORGANISMOS EUCARIOTAS



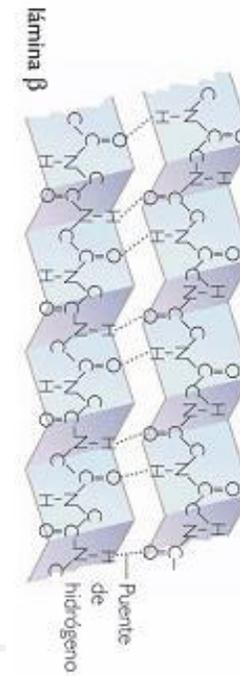
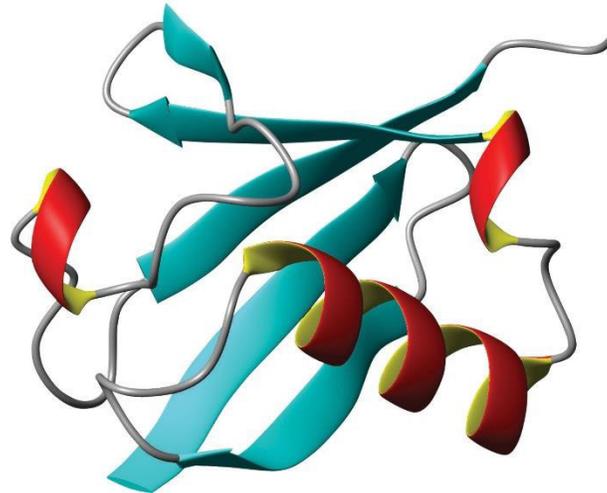
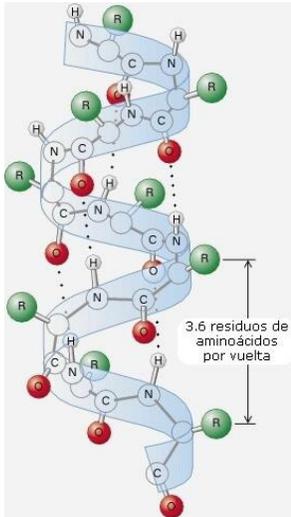
Aeromonas, Acinetobacter, Alcaligenes, Psychrobacter, Brochothrix, Enterobacter, Microbacterium, Moraxella, Carnobacterium, Shewanella, Campylobacter, Yersinia, Pseudomonas, Serratia, Achromobacter, Streptococcus, Leuconostoc, Pediococcus, Lactobacillus, Lactococcus, Flavobacterium, Alcaligenes, Klebsiella, Escherichia, Proteus, Hafnia y Clostridium.

Además, del deterioro de los alimentos, ciertos patógenos del ser humano pueden crecer a temperaturas de refrigeración, como *Clostridium botulinum* tipo E y no proteolíticos de los tipos B y F, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolitica*, algunas cepas de *Bacillus cereus* y de *Escherichia coli*, y *Aeromonas hydrophila*.

ADAPTACIONES MOLECULARES A LA PSICROFILIA



- ❖ Los psicrófilos producen enzimas que funcionan de modo óptimo en el frío y que con frecuencia se desnaturalizan o inactivan incluso a temperaturas muy moderadas.
- ❖ Las bases moleculares de este hecho no se conocen por completo pero se ha observado que, en general, las enzimas activas en frío tienen en su estructura secundaria mayor cantidad de HÉLICES- α y menor cantidad de HOJAS- β que las enzimas que son inactivas en frío.
- ❖ La disposición en hoja- β tiende a ser una estructura más rígida, y la mayor cantidad de hélice- α en las enzimas activas en frío puede permitir a estas proteínas mayor flexibilidad en esas condiciones.





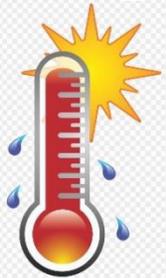
- La congelación evita el crecimiento microbiano.
- NO causa necesariamente la muerte celular.
- Las células microbianas pueden continuar metabolizando a temperaturas muy inferiores a las que permiten el crecimiento.
- Por ejemplo, se ha demostrado respiración con producción de CO₂ en suelos de tundra a temperaturas tan bajas como -39 °C.
- Por tanto, hay enzimas que continúan funcionando a temperaturas muy inferiores a las que limitan el crecimiento.

CRIOPROTECTORES

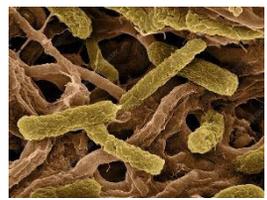
Conservan cultivos microbianos a temperaturas muy bajas

- ❖ Para mantener células durante largo tiempo, las células se suelen suspender en un medio con 10% de DMSO o glicerol que bajan el punto de congelación y se congelan rápidamente de -70 a -196°C.
- ❖ Estos solutos penetran en las células y las protegen de los efectos de la deshidratación a la vez que evitan la formación de cristales de hielo.
- ❖ Las células congeladas, preparadas adecuadamente y que no hayan sido congeladas y descongeladas repetidamente, pueden permanecer viables por largo tiempo, al menos por décadas.

CRECIMIENTO MICROBIANO A ALTAS TEMPERATURAS



- ❖ La vida microbiana florece en ambientes de elevada temperatura, incluso en el agua hirviendo.
- ❖ Por encima de 65°C solo viven formas procariotas, pero en esas condiciones existe una enorme diversidad de microorganismos pertenecientes a *Bacteria* y *Archaea*.

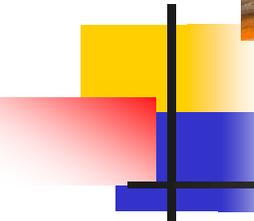
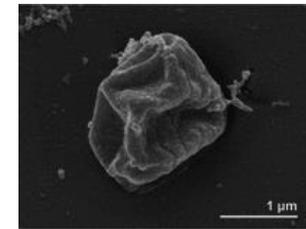


TERMÓFILOS

Temperatura óptima > 45°C

HIPERTERMÓFILOS

Temperatura óptima > de 80°C



En la naturaleza se encuentran temperaturas tan altas sólo en áreas muy restringidas.

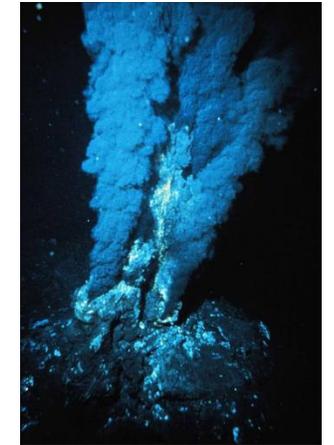
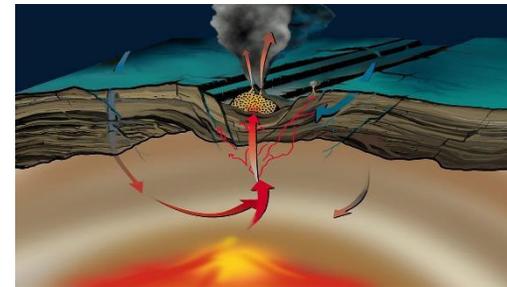
Suelos muy expuestos a la luz solar, donde al mediodía se alcanzan temperaturas $> 50^{\circ}\text{C}$, e incluso se puede llegar a los 70°C .



Materiales en fermentación, como los compost pueden alcanzar temperaturas de 70°C .



Las temperaturas más altas en la naturaleza están asociadas con fenómenos volcánicos con las fuentes termales.



- ❖ Muchas fuentes de agua caliente tienen temperaturas próximas a la de ebullición y las fumarolas pueden alcanzar los 150-500°C.
- ❖ Las emisiones hidrotermales de los fondos marinos tienen temperaturas de 350°C o superiores.
- ❖ Las fuentes termales se encuentran distribuidas por todo el mundo.
- ❖ La zona de mayor concentración de este tipo de emisiones es el Parque Nacional de Yellowstone.



HIPERTERMÓFILOS



- ❖ En muchas fuentes termales se presenta una gran variedad de hipertermófilos típicos, tanto especies quimioorganótrofas como quimiolitótrofas.
- ❖ Las velocidades de crecimiento son notablemente rápidas con tiempos de generación tan cortos como 1 hora.
- ❖ Algunas arqueas hipertermófilas presentan temperaturas óptimas por encima de los 100°C y por tanto sólo crecen en cámaras presurizadas que permiten alcanzar en el laboratorio temperaturas superiores al punto de ebullición.
- ❖ Ninguna especie conocida de bacterias es capaz de crecer por encima de 95°C.

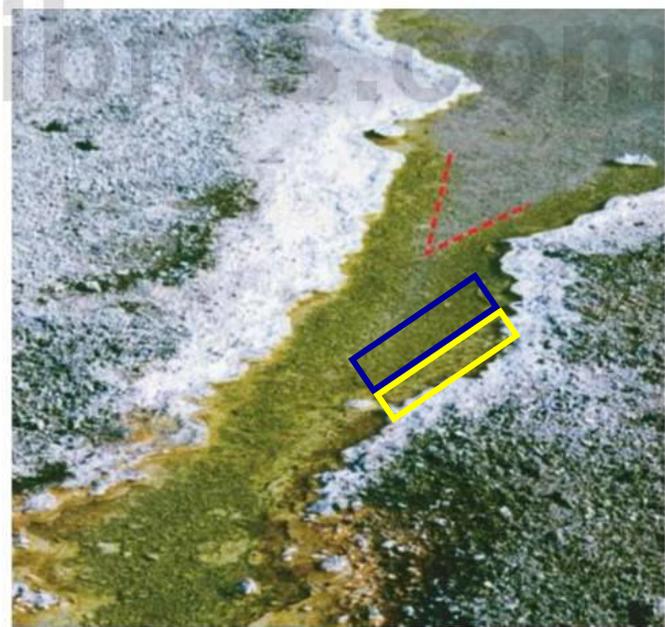


Agua hirviendo en el parque nacional de Yellowstone.



Micrografía de una microcolonia de procariotas desarrollada sobre un porta inmerso en el agua del cauce de una fuente termal.

- ❖ En las fuentes termales, a medida que el agua hirviendo fluye y corre por los bordes, se enfría gradualmente y origina un gradiente de temperatura.
- ❖ A lo largo de este gradiente, crecen varios microorganismos y cada especie diferente crece en un margen distinto de temperaturas.





LÍMITES DE TEMPERATURA CONOCIDOS EN LA ACTUALIDAD PARA EL CRECIMIENTO DE SERES VIVOS

Grupo		Límites térmicos superiores (°C)
MACROORGANISMOS		
Animales	Peces y otros vertebrados acuáticos	38
	Insectos	45-50
	Ostrácodos (crustáceos)	49-50
Plantas	Plantas vasculares	45
	Musgos	50
MICROORGANISMOS		
Eucariotas	Protozoos	56
	Algas	55-60
	Hongos	60-62
Procariotas	<i>Bacteria</i>	
	Cianobacterias	73
	Fotótrofos anoxigénicos	70-73
	Bacterias quimiorganótrofas/quimiolitótrofas	95
	<i>Archaea</i>	
	Archaea quimiorganótrofas/quimiolitótrofas	121

Los organismos NO FOTÓTROFOS son capaces de crecer a temperatura más elevada que los fotótrofos



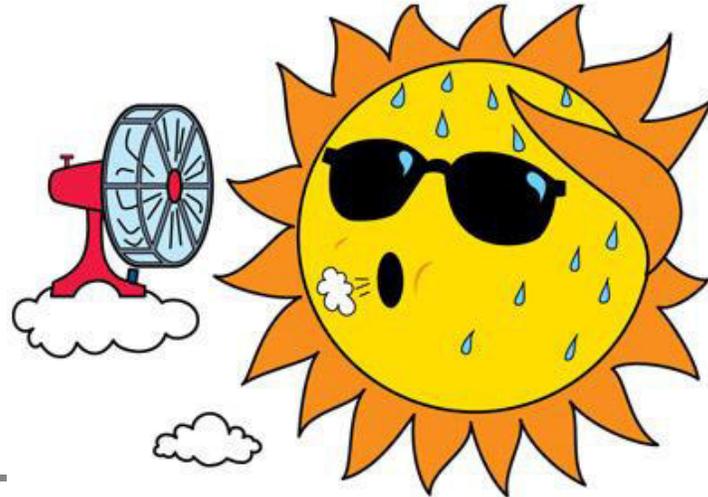
- ❖ Los procariotas termófilos se encuentran también con frecuencia en ambientes artificiales.
- ❖ Los calentadores de agua domésticos o industriales presentan temperaturas de 60-80°C y constituyen por tanto un hábitat favorable para el crecimiento de estos procariotas termófilos.
- ❖ Se ha aislado de calentadores de agua a *Thermus aquaticus*, un termófilo común en arroyos de agua caliente.
- ❖ Las centrales eléctricas, las industrias que usan agua caliente y otras fuentes artificiales de naturaleza térmica son sitios donde pueden crecer los termófilos.
- ❖ Muchos de ellos se pueden aislar fácilmente utilizando medios complejos incubados a la temperatura del hábitat de la muestra original.



ESTABILIDAD DE LAS PROTEÍNAS A ELEVADAS TEMPERATURAS

¿Cómo pueden los termófilos y los hipertermófilos prosperar a tan altas temperaturas?

- ❖ Sus enzimas y otras proteínas son mucho más estables frente a la temperatura que las de los mesófilos y sus macromoléculas funcionan de modo óptimo a altas temperaturas.
- ❖ Enzimas termoestables indican que a menudo su secuencia difiere en muy pocos aminoácidos de la de las enzimas que llevan a cabo reacciones análogas en las mesófilas.
- ❖ Unos cuantos cambios en puntos clave permiten un plegamiento diferente de la cadena polipeptídica, que es responsable de la termoestabilidad.



LAS MEMBRANAS CITOPLÁSMICAS DE LOS TERMÓFILOS Y DE LOS HIPERTERMÓFILOS NECESITAN SER TERMOESTABLES

- ❖ Presentan típicamente lípidos muy ricos en ácidos grasos SATURADOS, permitiendo a las membranas permanecer funcionalmente estables a elevadas temperaturas.
- ❖ Los **ÁCIDOS GRASOS SATURADOS** forman un microambiente más **HIDROFÓBICO** que los **NO SATURADOS** favoreciendo la estabilidad de la membrana.

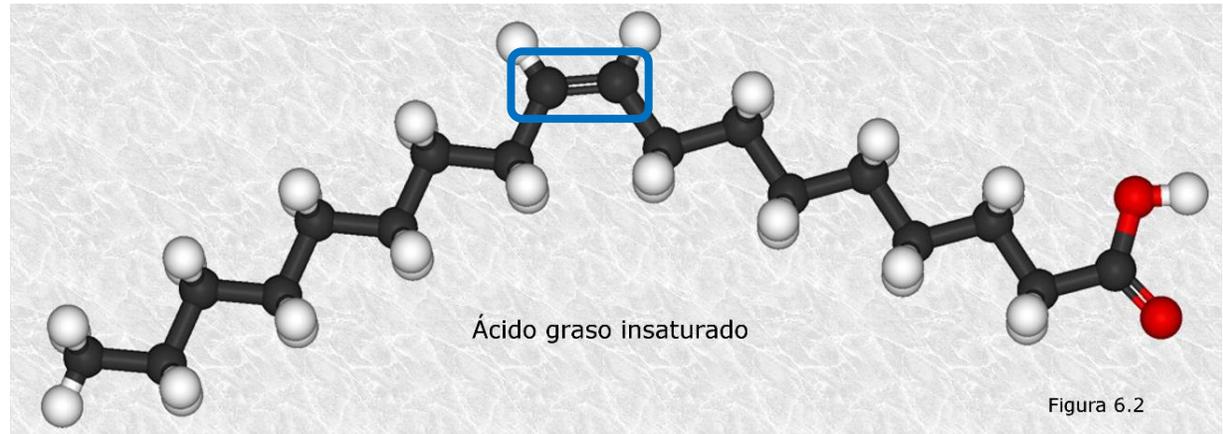
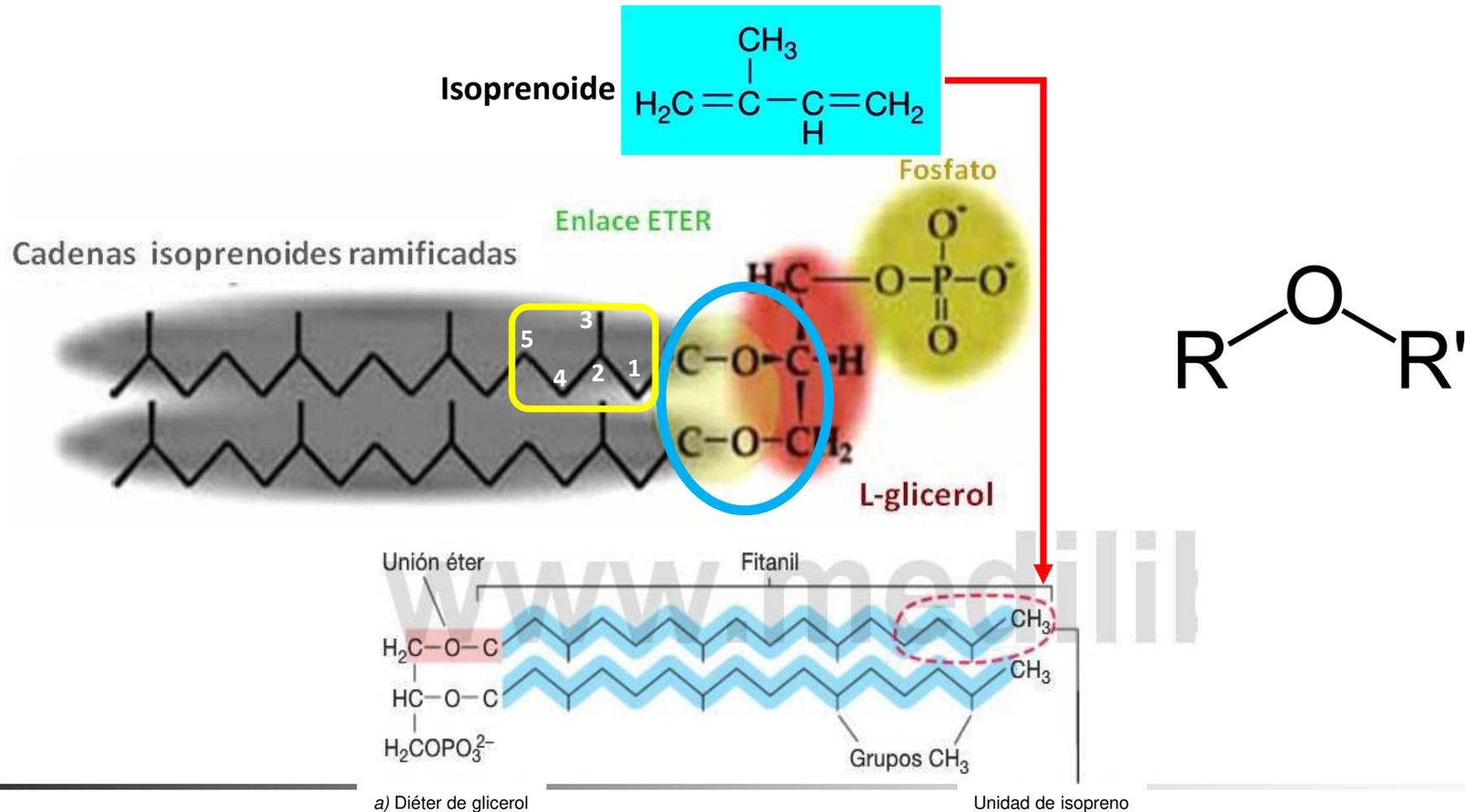
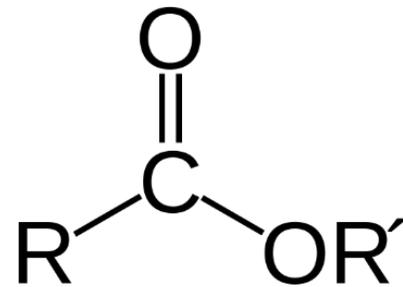
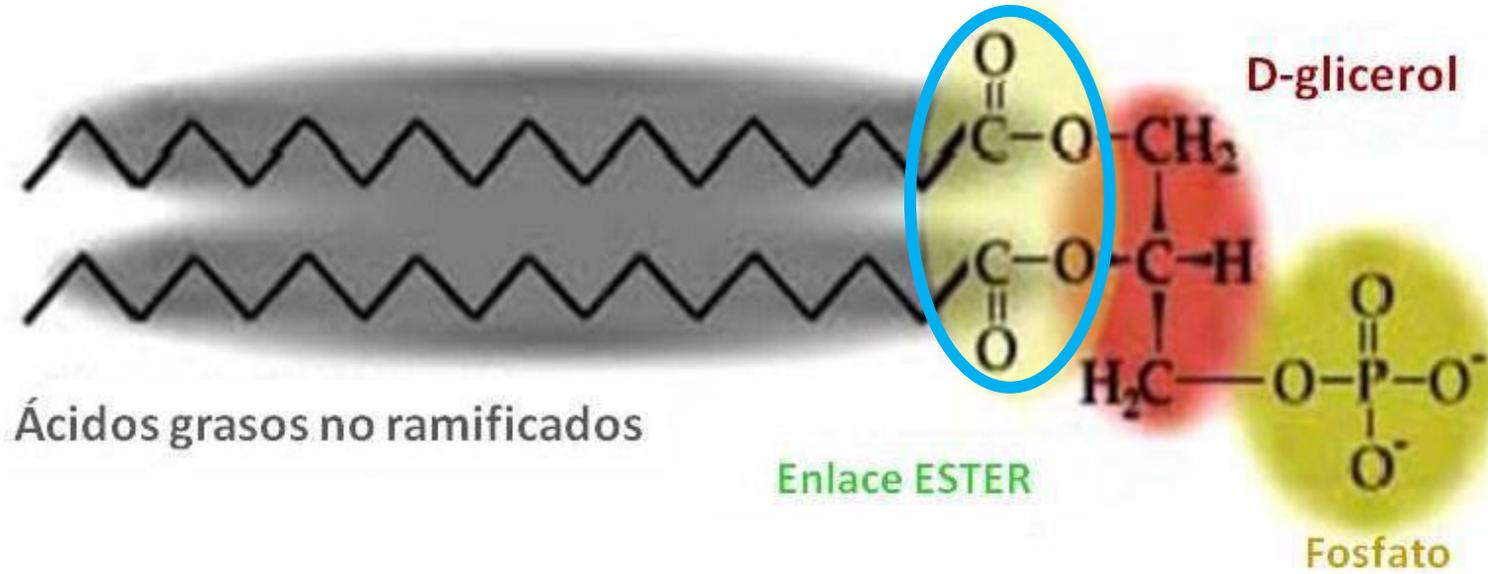


Figura 6.2

- ❖ Los HIPERTERMÓFILOS, en su mayoría ARQUEAS, NO presentan ÁCIDOS GRASOS en sus membranas.
- ❖ Presentan HIDROCARBUROS de tipo C₂₀ llamado FITANIL, formados por unidades ISOPRENOIDES repetitivas de 5 átomos de carbono que se unen por enlace ÉTER al glicerol fosfato.

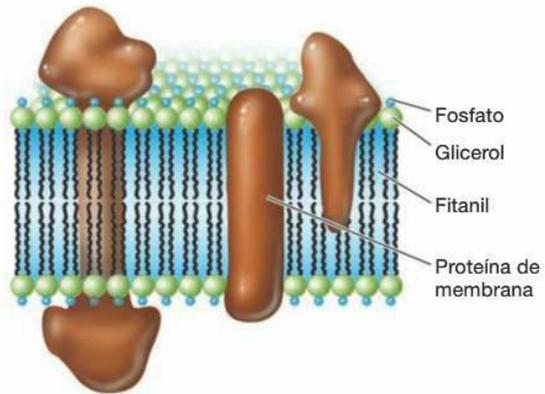


Bacteria y Eukarya tienen unión ESTER

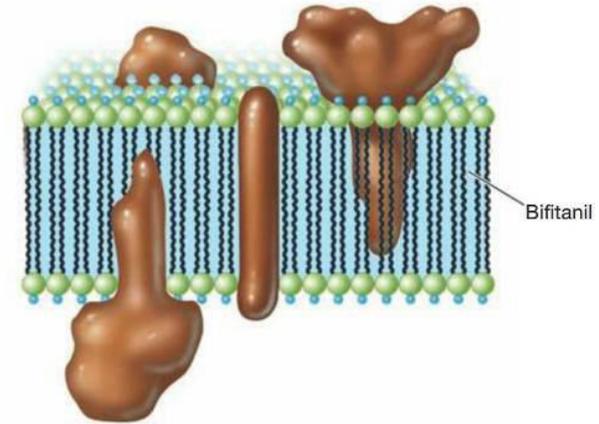


ESTRUCTURA GLOBAL DE LAS MEMBRANAS DE HT

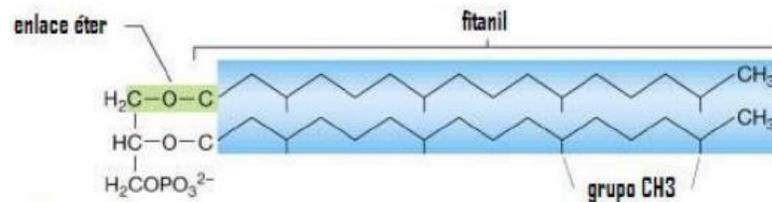
- ❖ Es una MONOCAPA lipídica en vez de bicapa lipídica.
- ❖ Esta estructura mejora la capacidad de las membranas para RESISTIR la disgregación a las temperaturas vitales tan ALTAS de los HT.



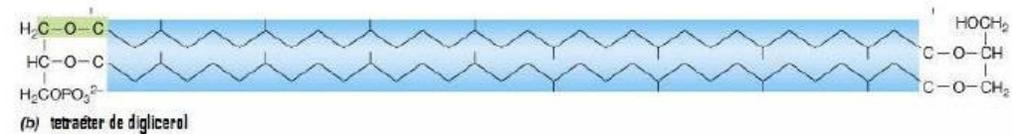
BICAPA LIPÍDICA



MONOCAPA LIPÍDICA



FITANIL: C₂₀



BIFITANIL: C₄₀

Ejemplos de organismos HT recientes

Aquifex pyrophilus



Bacilo móvil Quimilitoautótrofo
Anaerobio facultativo

En anaerobiosis



Reduce NO_3^- , con H_2 y S^0 como dadores de \bar{e}

En microaerofilia

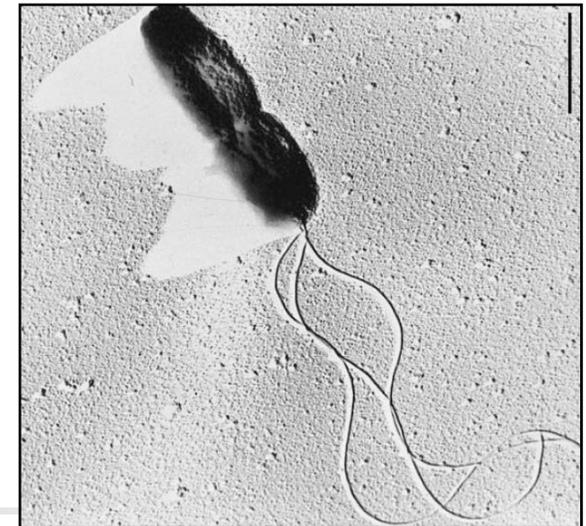


Oxida H_2 y S^0 , con O_2 como receptor de \bar{e}

Produce H_2O (de ahí su nombre)

Crece arriba de los 95°C

La T° de crecimiento mas alta en *Bacteria*



Pyrolobus fumarii esta adaptado a T° de agua supercalentada



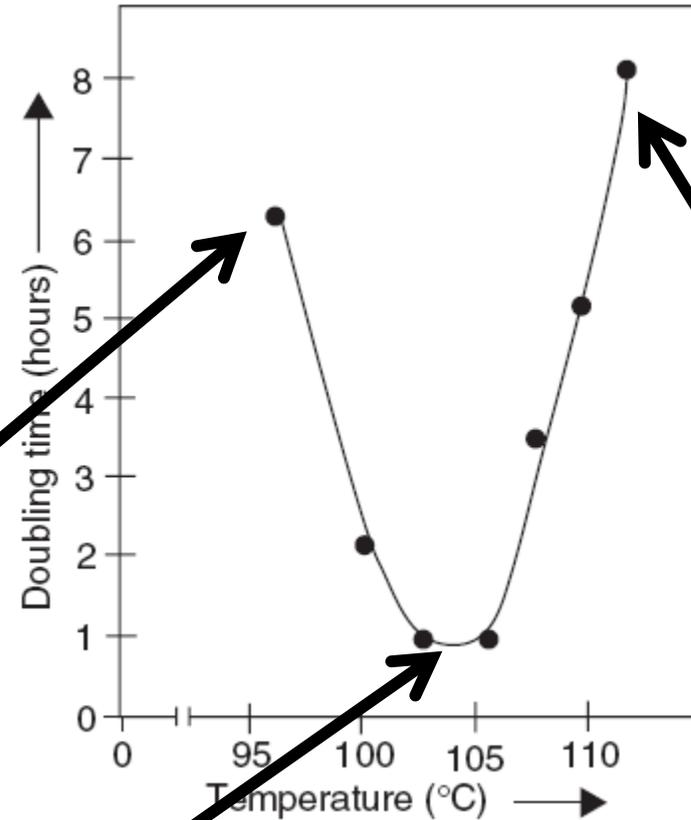
➤ Anaerobiosis

Reduce NO_3^- a NH_3

o tiosulfatos $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ a H_2S

➤ Microaerofilia

Oxida H_2



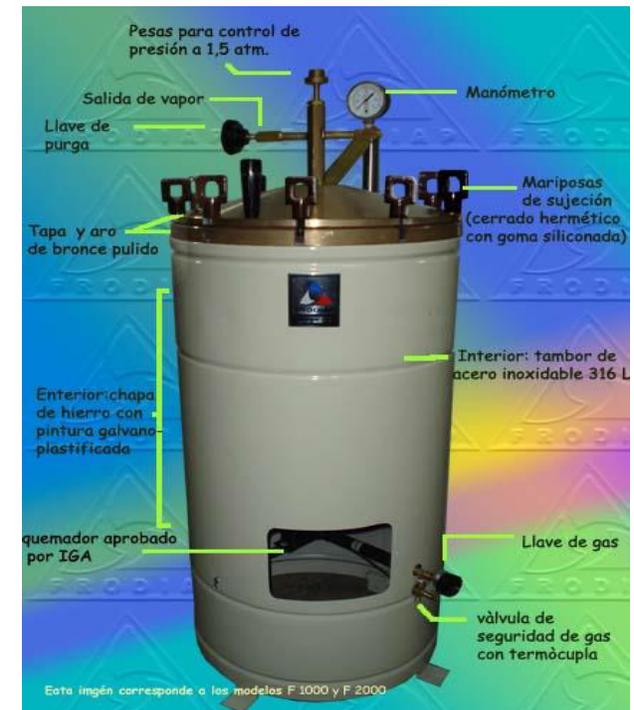
Incapaz de crecer a menos de 90°C

Limite de T° de crecimiento a 113°C

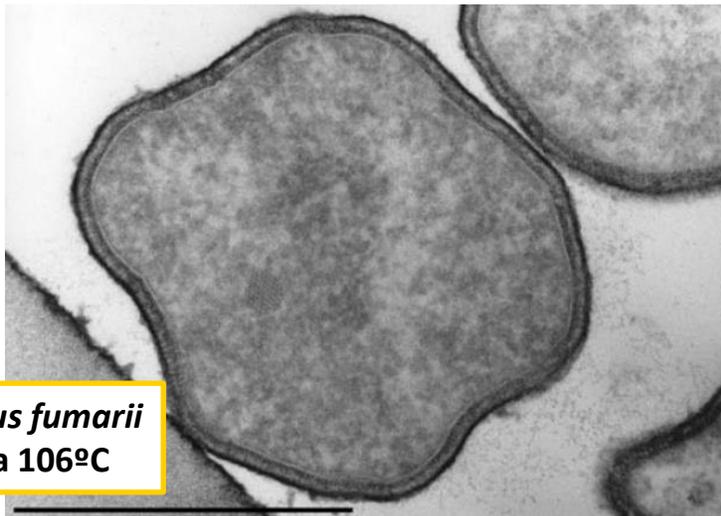
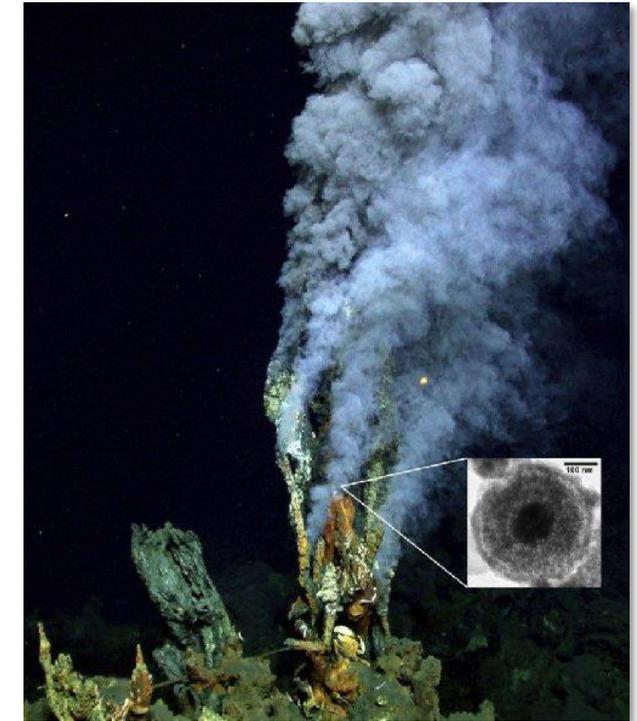
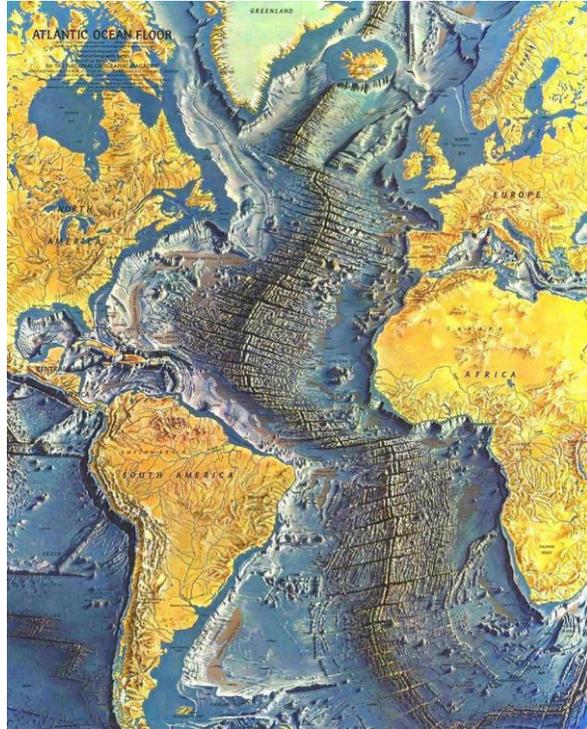
Crecimiento óptimo (tiempo de duplicación de 50 min. aprox.) entre 103 y 106°C

- Cepas de *Pyrolobus fumarii*, son capaces de sobrevivir una hora en autoclave a 121°C.
- La cepa 121 (NE Oc. Pacífico, Resp. Finn: 3-400°C), con un 96% de similitud con *Pyrodictium occultum* →80-105°C se reportó que crece lentamente incluso a 121°C.

- Sin embargo, el record está en manos de *Methanopyrus kandleri* cepa 116 aislada del océano profundo cerca de Japón con una T. máx. de 122°C bajo presión atmosférica alta.
- Proliferación celular de 116°C a 0,4 MPa y a 122°C a 20 MPa.



FUMAROLAS NEGRAS EN LA DORSAL MESOATLÁNTICA



Pyrolobus fumarii
Optima 106°C

HABITAT

Algunos suelos de origen volcánico, ricos en S^0 o minerales sulfurosos, la mayoría son debido a la actividad humana (extracción de metales y C).



Fumarolas



Solfataras

Pilas de desechos de carbón; ejes de minas abandonados o pozos; vertederos de lixiviación de cobre; y suelos, ríos o lagos contaminados por la escorrentía ácida de estos sitios

OTRAS ADAPTACIONES A HIPERtermOFILIA

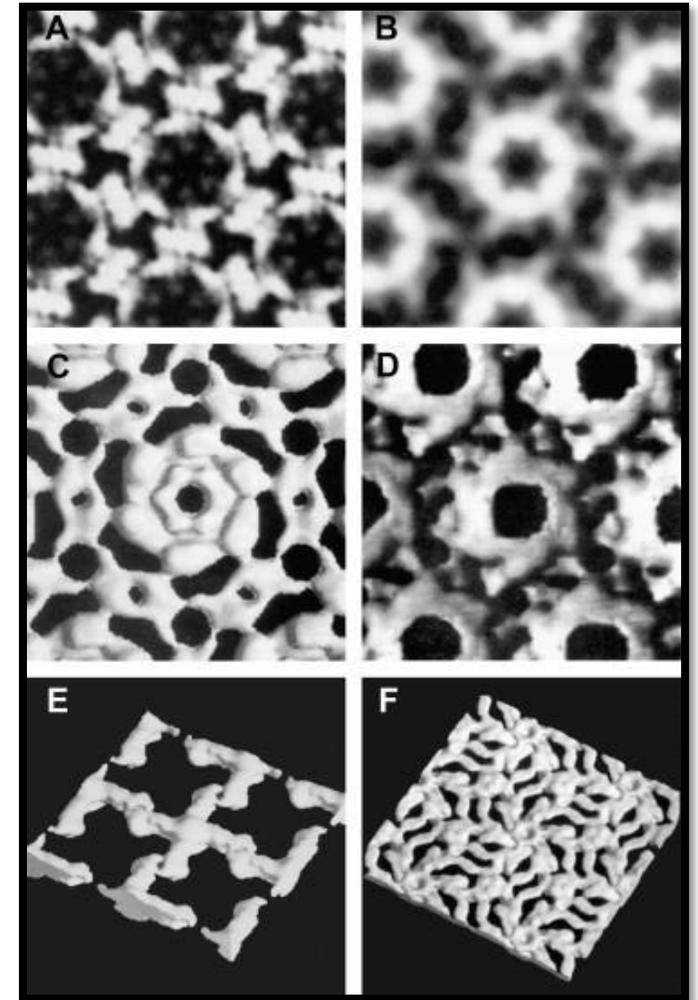
PARED CELULAR:

Capa de naturaleza proteica denominada Capa S

MEMBRANA CITOPLÁSMICA:

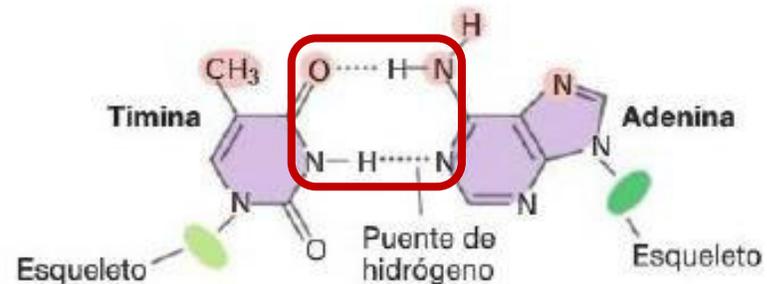
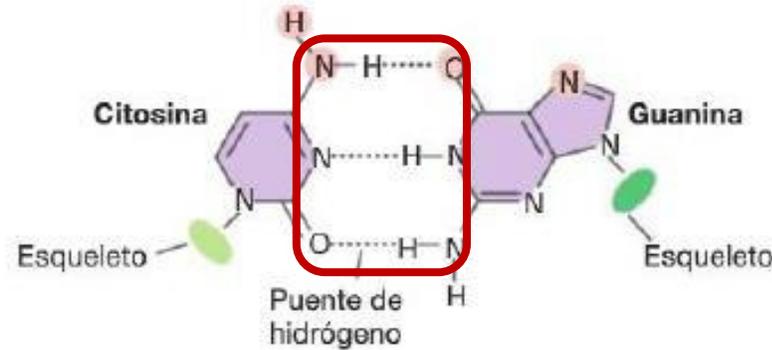
Monocapa lipídica

Los lípidos son éteres de glicerol con cadenas isopropenoides de 40 Carbonos



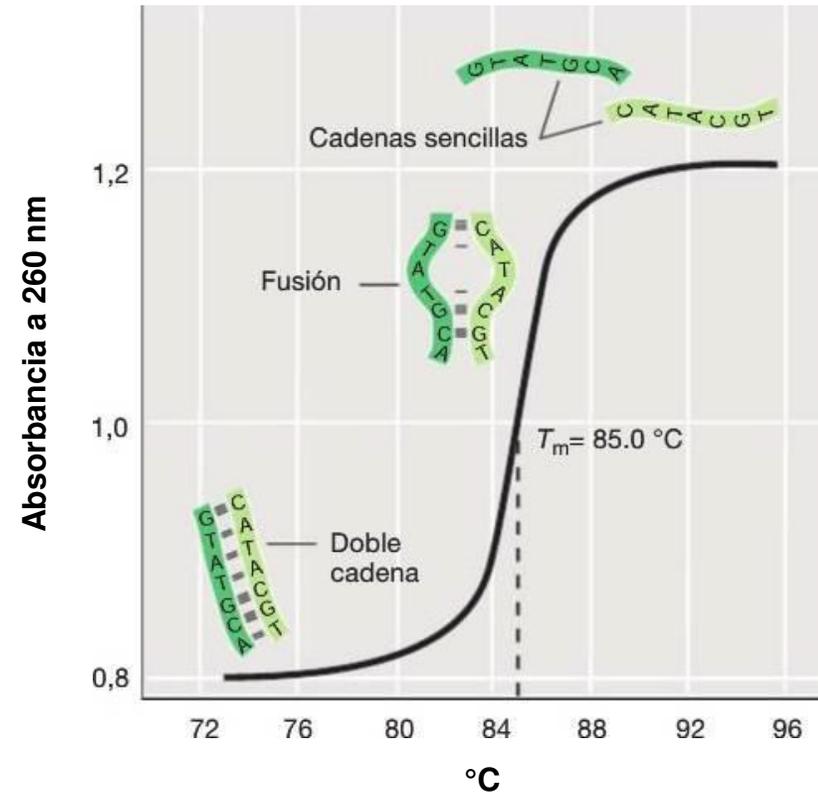
EFEECTO DE LA TEMPERATURA EN LA ESTRUCTURA DEL ADN

- ❖ Los puentes de hidrógeno entre los pares de bases son muy débiles tomados de forma individual.
- ❖ Muchos de estos enlaces en una molécula larga de ADN mantienen juntas de una manera eficaz las 2 cadenas.
- ❖ Puede haber cientos de millones de puentes de hidrógeno en una molécula de ADN, según el número de pares de bases presentes.



los pares de bases GC son más fuertes que los AT.

- ❖ Al elevar la temperatura, los PUENTES DE HIDRÓGENO SE ROMPERÁN pero los ENLACES COVALENTES que mantienen cada una de las cadenas NO LO HARÁN, de manera que las 2 cadenas se SEPARARÁN.
- ❖ Este proceso recibe el nombre de DESNATURALIZACIÓN (o fusión) y se puede medir experimentalmente porque las cadenas sencillas y las dobles de los ácidos nucleicos difieren en su capacidad para absorber radiación ultravioleta a 260 nm



SUPER ENROLLAMIENTO

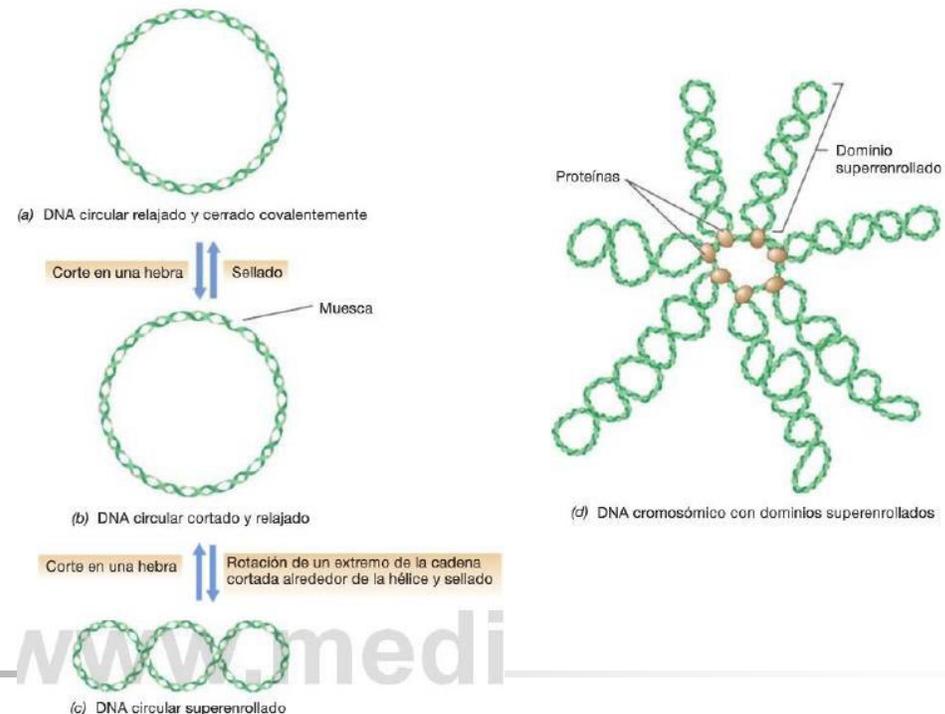
- ❖ Si lo extendiéramos, el cromosoma de *Escherichia coli* tendría una longitud de más de 1 mm, unas 400 veces más que la propia célula.
- ❖ ¿Cómo es posible empaquetar tanto ADN en un espacio tan pequeño? La solución es la imposición de una estructura de ORDEN SUPERIOR en el ADN, en la que el ADN de doble cadena es retorcido aún más en un proceso llamado SUPERENROLLAMIENTO.
- ❖ El superenrollamiento coloca la molécula de ADN bajo torsión, de forma muy similar a la tensión que se añade a una cinta de goma cuando se gira

En (a), (b) y (c) el ADN circular está superenrollado y el ADN circular cortado y relajado.

Una muesca es un corte en un enlace fosfodiéster de una hebra.

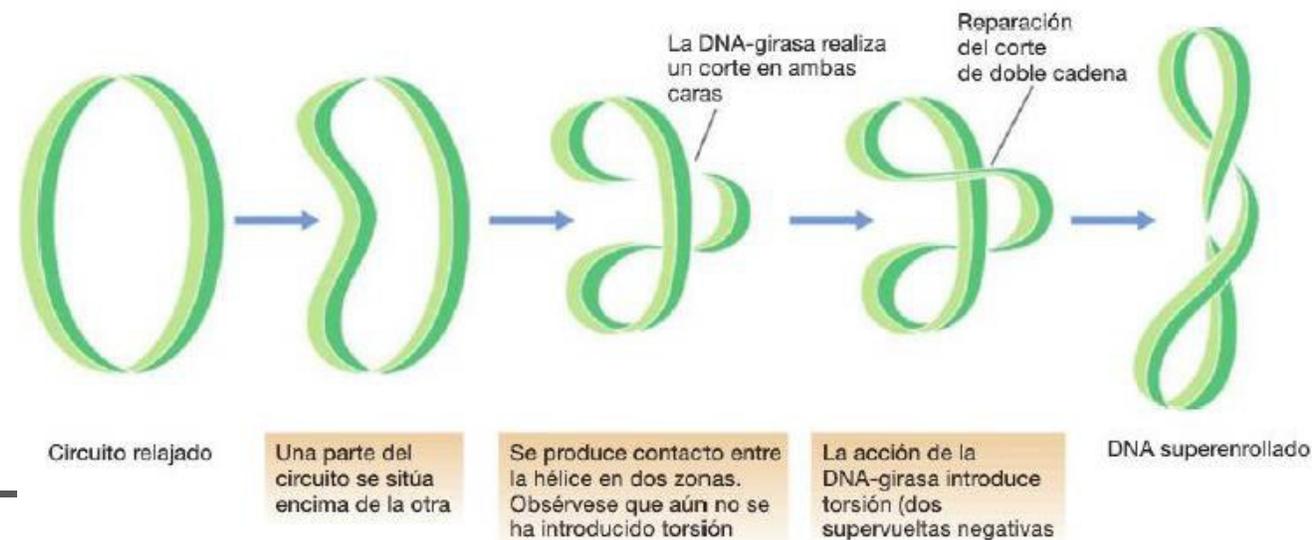
(d) En realidad el ADN de doble cadena del cromosoma bacteriano no se organiza en un solo dominio, sino en varios dominios superenrollados.

ADN SUPERENROLLADO



- ❖ En las bacterias y en la mayoría de las arqueas existe una enzima, la ADN-GIRASA que introduce SUPERENROLLAMIENTO negativo en el ADN.
- ❖ La ADN-girasa pertenece al grupo de topoisomerasas de tipo II.
- ❖ Su función se realiza en varias etapas:
 - ✓ Primero, la molécula de ADN circular se retuerce
 - ✓ Después, cuando las 2 cadenas se tocan, se hace un corte en una de ellas.
 - ✓ A continuación se pasa la cadena intacta a través del corte
 - ✓ Por último se resella la doble hélice rota

Algunos de los antibióticos que afectan a las bacterias, como la quinolona ácido nalidíxico, la fluoroquinolona ciprofloxacina y la novobiocina inhiben la actividad de la ADN-girasa.





TOPOISOMERASAS: ADN-GIRASA

Enzimas que introducen o eliminan supervueltas

Existen 2 clases principales y cada una de ellas tiene un mecanismo diferente.

DE CLASE I

- ❖ Realizan un corte en 1 sola hebra del ADN, lo que permite la rotación de una cadena de la doble hélice sobre la otra.
- ❖ Cada una de estas rotaciones añade una supervuelta al ADN.
- ❖ Luego el corte se repara.

DE CLASE II

- ❖ Realizan cortes en ambas cadenas de ADN.
- ❖ Pasan la doble hélice intacta a través del corte.
- ❖ Luego reparan el corte.

Cada operación añade o suprime 2 supervueltas.

La inserción de supervueltas en el ADN requiere energía procedente de ATP.

Mientras que la eliminación de supervueltas no precisa energía.



TOPOISOMERASA I



- ❖ Elimina el superenrollamiento adicional en el ADN.
- ❖ Introduce un corte en 1 sola hebra del ADN y provoca la rotación de 1 hebra de la doble hélice alrededor de la otra.
- ❖ Un corte (una muesca) en el esqueleto de una de las cadenas permite al ADN volver al estado relajado.
- ❖ Sin embargo, para evitar que todo el cromosoma bacteriano se relaje cada vez que se realiza una muesca, dicho cromosoma se organiza en dominios de superenrollamiento.
- ❖ De este modo, una muesca en el ADN en 1 de estos dominios NO RELAJA el ADN en los otros.
- ❖ Mediante la actividad de éstas, la molécula de ADN puede superenrollarse y relajarse.
- ❖ Como el superenrollamiento es necesario para empaquetar el ADN en el interior de la célula y la relajación es necesaria para la replicación y la transcripción del ADN, los procesos complementarios de superenrollamiento y relajación juegan un papel muy importante en la biología de la célula.
- ❖ En la mayoría de los procariotas, el grado de superenrollamiento negativo es el resultado del equilibrio entre la actividad de la ADN-girasa y de la topoisomerasa I.
- ❖ Además de la replicación, el superenrollamiento afecta también a la expresión génica.
- ❖ Algunos genes se transcriben de manera más activa cuando el ADN está superenrollado, mientras que en otros la transcripción se ve inhibida por el superenrollamiento excesivo.

- ❖ Estos microorganismos ofrecen importantes ventajas para procesos industriales y biotecnológicos, muchos de los cuales funcionan de modo más rápido y eficaz a altas temperaturas.
- ❖ Las enzimas de los termófilos y de los hipertermófilos se usan ampliamente en microbiología industrial porque son capaces de catalizar reacciones bioquímicas a temperaturas elevadas y son más estables que las de los mesófilos, de modo que la vida media de estas preparaciones enzimáticas es más prolongada.
- ❖ Un ejemplo clásico de enzima resistente al calor y de gran importancia biológica es la ADN polimerasa aislada del termófilo *Thermus aquaticus*.
- ❖ Esta enzima, conocida como *Taq* polimerasa, se usa para la repetición automática de los pasos que tienen lugar en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR: *polymerase chain reaction*), una técnica muy importante en biología.
- ❖ Se conocen otros usos de enzimas termorresistentes y de otros productos celulares estables al calor que están siendo desarrollados para aplicaciones industriales.



**Aplicaciones
biotecnológicas
de
extremófilos**

**Extracción de
metales de aguas de
minas**



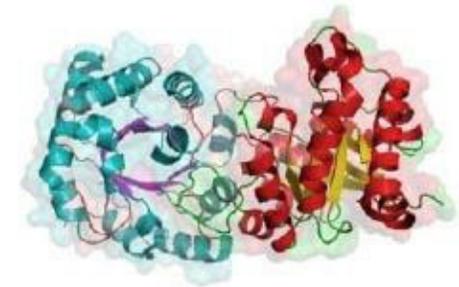
**Efluentes pueden contaminar
el agua de consumo humano**



**Fuente de
productos génicos**



enzimas



**Aditivos en los
piensos animales**

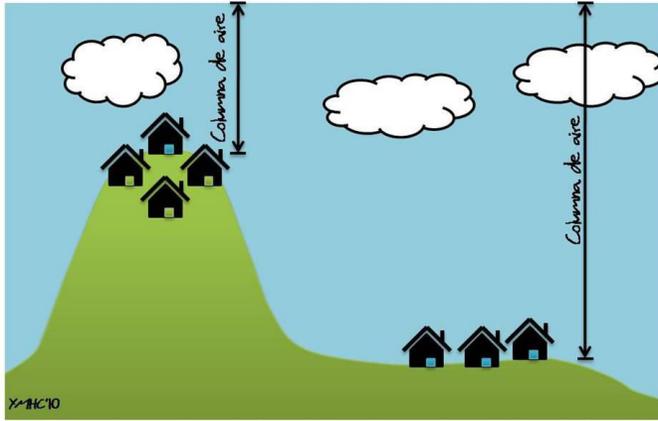


facilitan la absorción de los mismos

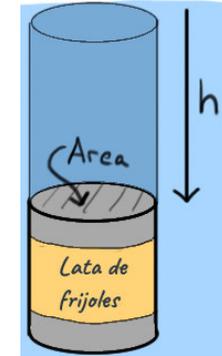
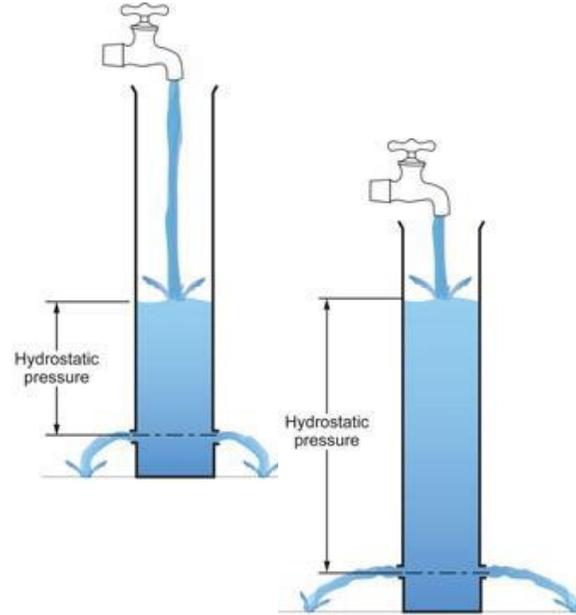


EFECTO DE LA PRESION HIDROSTATICA

- ❖ Es la presión que ejerce un líquido sobre un cuerpo sumergido en él.
- ❖ Es la parte de la presión debida al peso de un fluido en reposo.



PRESION ATMOSFERICA



- Provoca una fuerza perpendicular a las paredes del envase o a la superficie del objeto.
- El peso ejercido por el líquido aumenta a medida que incrementa la profundidad

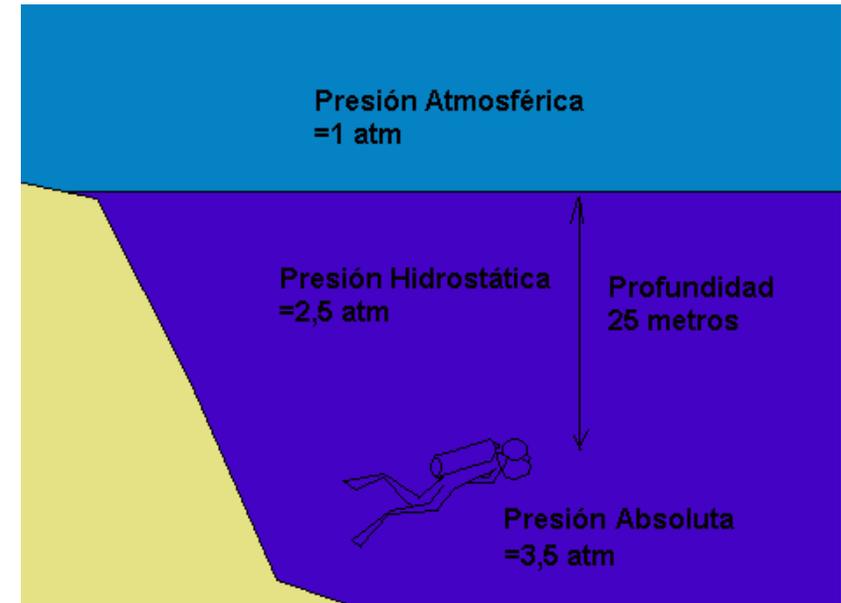
La mayor parte de los microorganismos de hábitats continentales no pueden crecer (e incluso mueren) cuando son sometidos a altas presiones (unos $600 \text{ Kg/cm}^2 = 6.000 \text{ m}$ de profundidad).

EFECTOS ADVERSOS DE LA PROFUNDIDAD

- ❖ Aumento de la viscosidad del citoplasma.
- ❖ Disminución de la capacidad de las enzimas de unirse a sus respectivos sustratos.
- ❖ Posiblemente interferencia en procesos de transporte a nivel de membrana.
- ❖ Posiblemente interferencia en la biosíntesis de proteínas.
- ❖ Interferencia en la división celular: las bacterias se alargan, se filantan, pero sin producción de tabique transversal (crecimiento sin división celular).

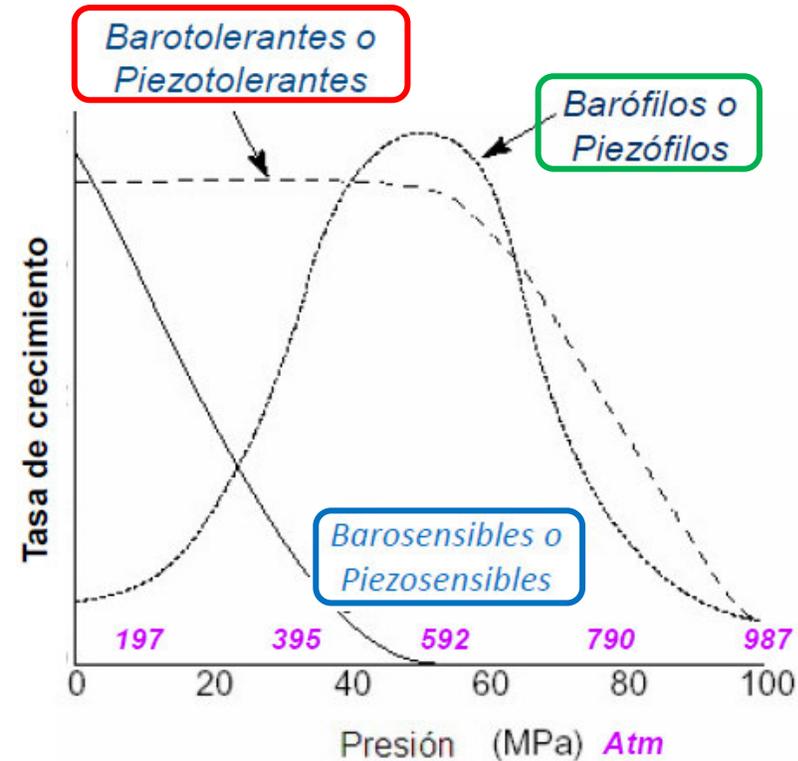
Sin embargo, existen bacterias (sobre todo marinas) que toleran o requieren altas presiones

BAROTOLERANTES y BARÓFILAS respectivamente



CON BASE EN LA PRESIÓN ÓPTIMA, LOS ORGANISMOS SE CLASIFICAN EN 3 GRUPOS

- ❖ Piezosensibles ($P_{atm} \rightarrow 1 atm$)
- ❖ Piezotolerantes ($\leq 600 atm$)
- ❖ Piezófilos ($P \text{ óptima: } 500 atm$)



1 MPa = 9.9 Atm



Piezofilos

NO pueden crecer a una presión <50MPa, pero que pueden crecer bien a 100MPa

Profundidades oceánicas

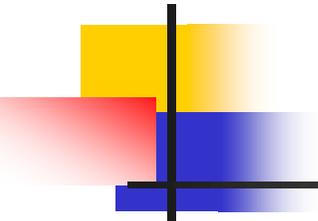
bajo una enorme presión por el peso de la columna de agua hasta 1.100 atm (107 Mpa) parte más profunda de la Fosa de las Marianas

gamma-proteobacterias: *Photobacterium*, *Shewanella*, *Colwellia*, *Moritella*, *Psychromonas*

Methanopyrus kandleri bajo alta presión puede crecer a 122 ° C

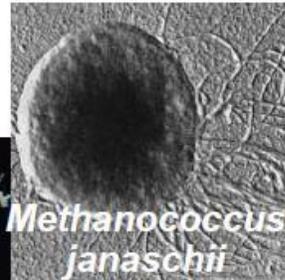
Composición lipídica de la membrana en respuesta a presiones elevadas

Mantiene la fluidez adecuada de la membrana



MECANISMOS DE ADAPTACIÓN DE PIEZÓFILOS

- ❖ Lípidos de la MC con moléculas más apretadas → ↓ en la fluidez.
- ❖ ↑ proporción de AG insaturados



Methanococcus janaschii

Piezófilo-termófilo
(óptimos: 75 MPa, 90°C)

8,059 km de profundidad



Profundidades del océano
(psicrófilos)

Respiraderos hidrotermales
(termófilos)



CONDICIONES EN LAS PROFUNDIDADES MARINAS

Los organismos que habitan en las profundidades marinas se enfrentan a 3 extremos medioambientales

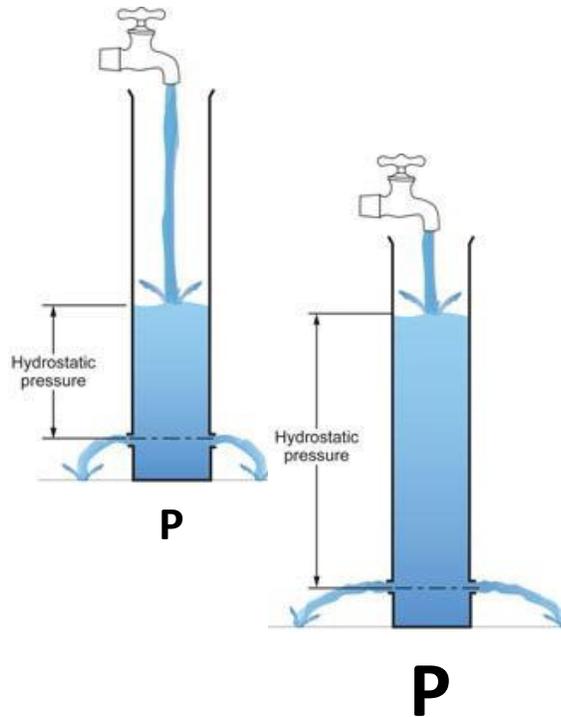
**BAJA
TEMPERATURA**

**PRESIÓN
ELEVADA**

**BAJOS NIVELES DE
NUTRIENTES**

- ❖ Además, las aguas de las profundidades marinas son completamente **OSCURAS**, de tal forma que resulta imposible realizar **FOTOSÍNTESIS**.
- ❖ Por lo tanto, los microorganismos que habitan en las profundidades marinas son **QUIMIÓTROFOS** y son capaces de crecer en **ALTAS PRESIONES** y condiciones **OLIGÓTROFAS** en el **FRÍO**.
- ❖ Por debajo de unos 100 m la temperatura del agua marina permanece constante entre 2 y 3°C.

- ❖ La presión aumenta en torno a 1 atm cada 10 m de profundidad en una columna de agua.
- ❖ Un organismo que viva a una profundidad de 5.000 m deben ser capaz de resistir presiones de 500 atm.
- ❖ Los microorganismos son extraordinariamente tolerantes a las presiones hidrostáticas elevadas y muchas especies pueden resistir presiones de 500 atm y en algunos casos mucho más.





BAROTOLERANTES

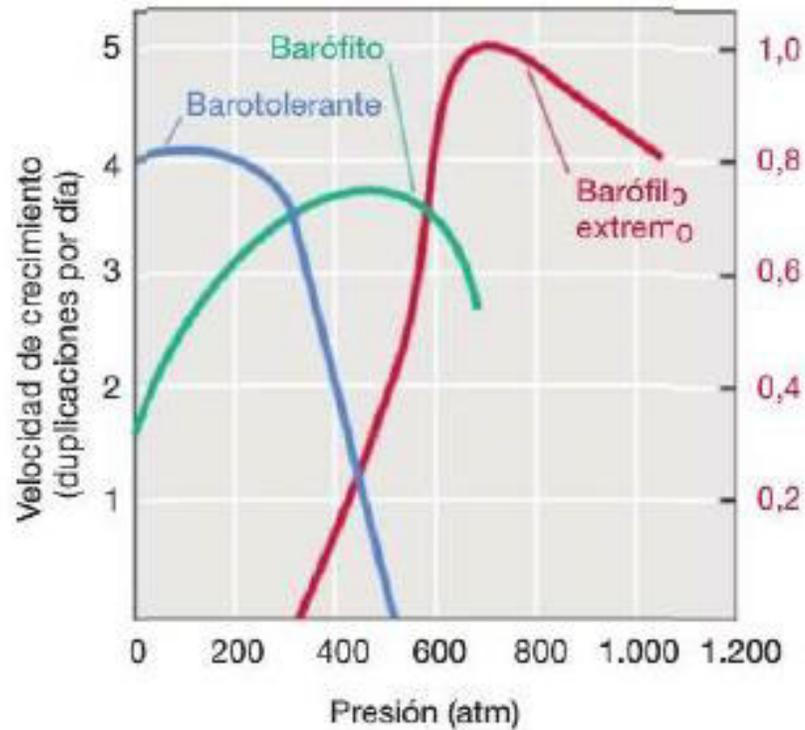


- ❖ Organismos que toleran la presión elevada, pero no crecen mejor bajo ésta.
- ❖ Organismos aislados de las aguas entre la superficie y unos 3.000 m de profundidad son normalmente **BAROTOLERANTES** y tienen mayores tasas metabólicas a 1 atm que a 300 atm.
- ❖ Aguantan hasta unas 500 atmósferas, **NO** crecen a presiones > 500 atm.

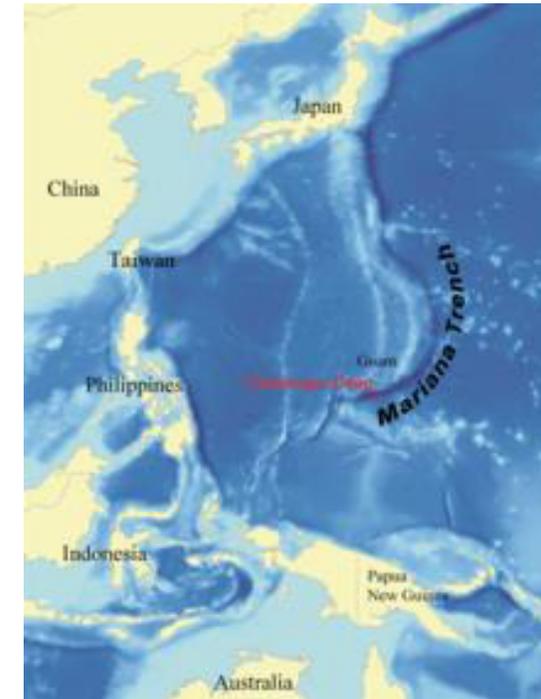
BARÓFILOS

- ❖ Crecen mejor bajo elevada presión.
- ❖ Su hábitat son las aguas oceánicas, entre los 2.000 y los 4.000 m de profundidad.
- ❖ Las barófilas moderadas son aquellas bacterias que pueden crecer a presión atmosférica, aunque su óptimo está a unas 400 atmósferas.
- ❖ Habitan profundidades entre los 5.000 y 7.000 metros.

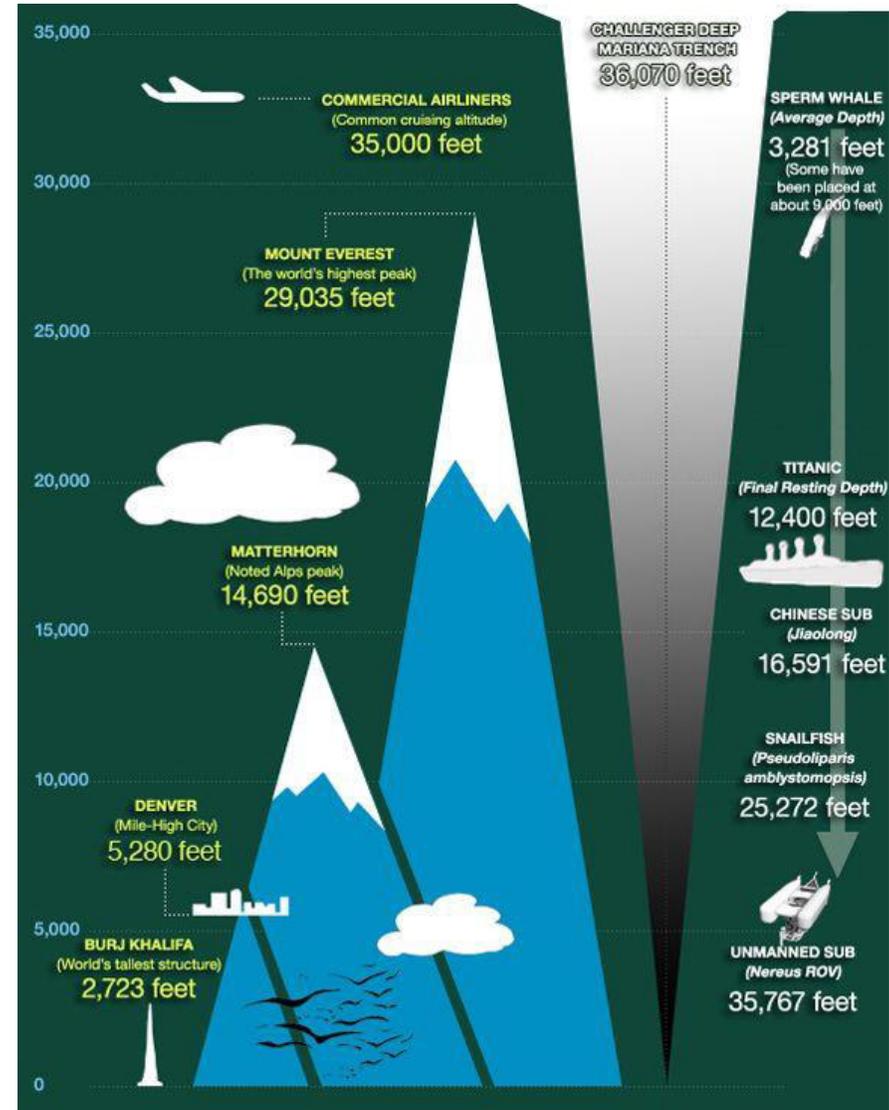
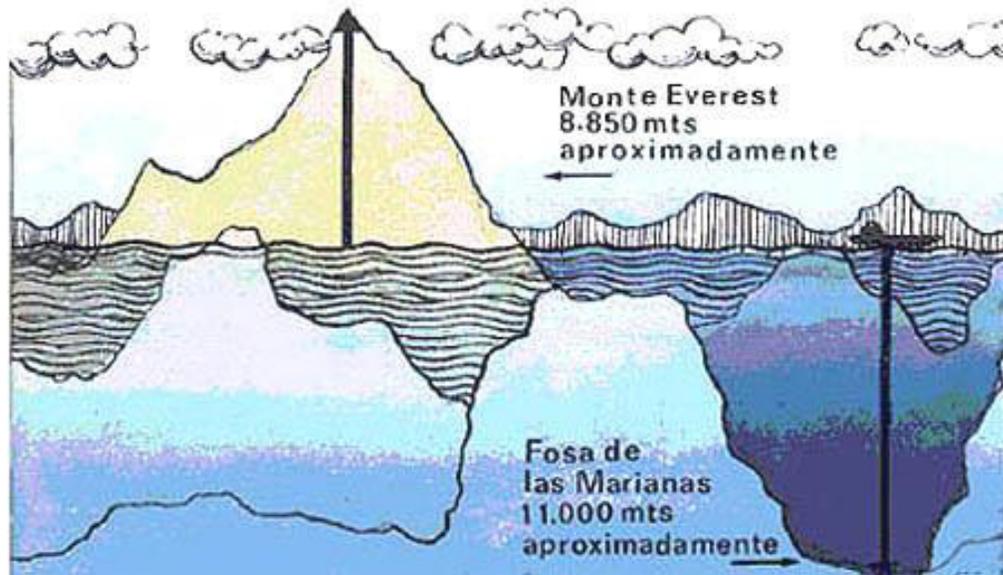
Crecimiento de bacterias barotolerantes, barófilas y barófilas extremas



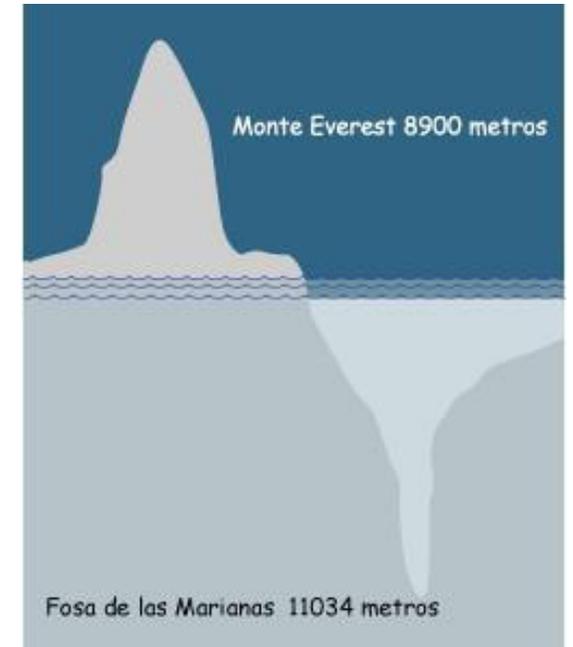
El barófilo extremo *Moritella* aislado de la Fosa de las Marianas



El barófilo extremo tiene menor velocidad de crecimiento cuando se compara con las bacterias barotolerantes y barófilas y su incapacidad para crecer a bajas presiones.



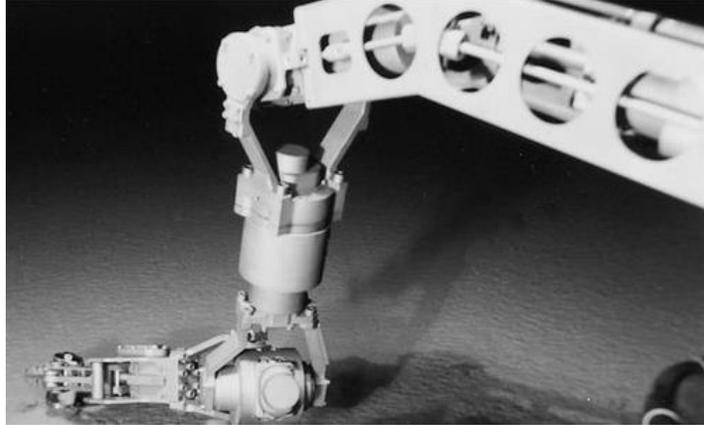
- ❖ Cultivos obtenidos de muestras tomadas a unas profundidades mayores, de 4.000 a 6.000 m, son normalmente **BARÓFILOS** y crecen óptimamente a presiones de 300 a 400 atm.
- ❖ En aguas incluso más profundas (10.000 m) se han hallado los **BARÓFILOS EXTREMOS**.
- ❖ Estos organismos tienen unos **REQUISITOS** de **PRESIÓN** absolutos y mayores para el crecimiento.
- ❖ *Moritella*, aislada de la Fosa de las Marianas crece óptimamente a una presión de 700 a 800 atm y podría crecer incluso a 1.035 atm y **NO CRECE** a una presión < 400 atm: tiene un **REQUISITO** de **PRESIÓN OBLIGADO**.
- ❖ Su temperatura óptima de crecimiento es su temperatura ambiental (2°C) y las temperaturas por encima de 10°C alteran la viabilidad de manera significativa
- ❖ Debido a que a esas profundidades la temperatura del agua es de sólo 2-3°C, suelen ser simultáneamente criófilas.
- ❖ **INCAPACES** de crecer a **PRESIÓN ATMOSFÉRICA**.



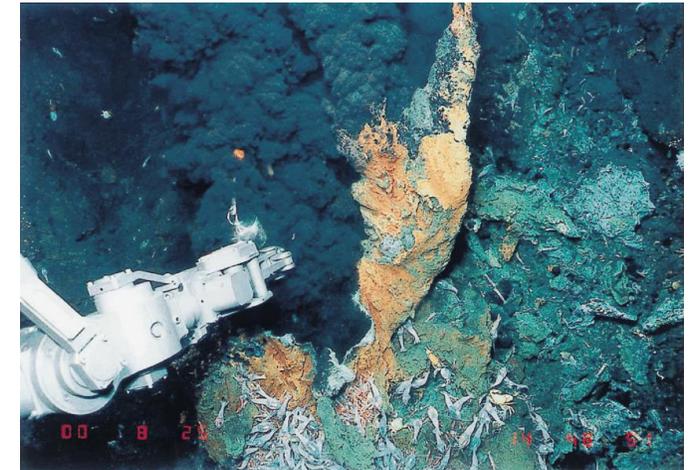
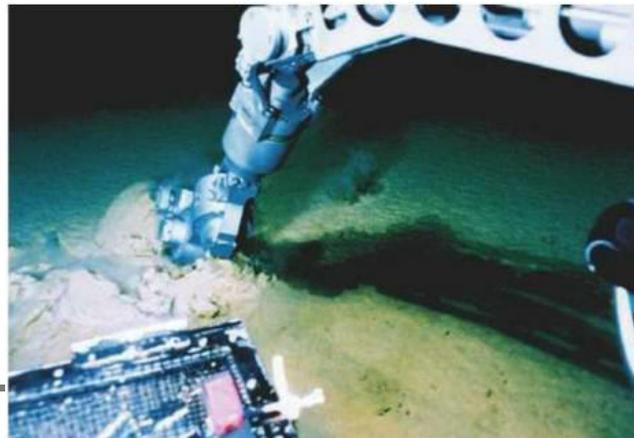
MUESTREO DE LAS PROFUNDIDADES MARINAS



- Recogiendo muestras de sedimento del fondo marino de la Fosa de las Marianas a 10.897 m.
- Los tubos de sedimento se utilizan para el enriquecimiento y el aislamiento de bacterias barófilas.



Sumergible teledirigido Kaiko





EFECTOS MOLECULARES DE LAS ALTAS PRESIONES

- ❖ La presión disminuye la afinidad de las EZ por sus ST.
- ❖ Las EZ de los barófilos extremos deben PLEGARSE de tal modo que minimicen los efectos de la presión.
- ❖ Tienen una MAYOR proporción de ÁCIDOS GRASOS INSATURADOS en la membrana citoplasmática que uno que crece a 1 atm.
- ❖ Los ácidos grasos insaturados permiten que las membranas permanezcan FUNCIONALES y NO se GELIFIQUEN a presiones elevadas o a temperaturas bajas
- ❖ Una proteína de la membrana exterior específica, la OmpH (*outer membrane protein H*, proteína H de la membrana externa) SE SINTETIZA en células que crecen a una PRESIÓN ELEVADA, pero NO a 1 atm.
- ❖ La OmpH es una PORINA (proteínas) que forman canales para la difusión de moléculas orgánicas a través de la membrana externa y hacia el periplasma

EXTREMÓFILO

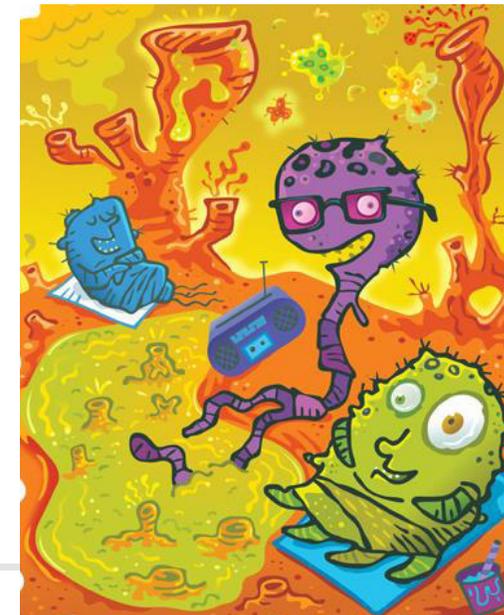
Organismo capaz de vivir y crecer en condiciones extremas, con parámetros fisicoquímicos nocivos para la mayoría de los seres vivos

- ❖ FÍSICOS (temperatura, radiación, presión)
- ❖ GEOQUÍMICOS (deseccación, salinidad, pH, ERO, potencial redox)

ANTROPOCÉNTRICO

Ambiente hostil para los humanos y la mayoría de los organismos conocidos. Ej.: Protozoos, algas y hongos, la mayoría de los extremófilos son procariotas.

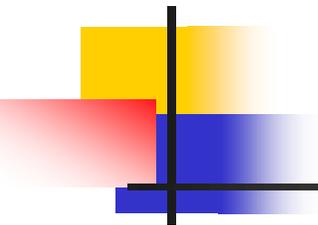
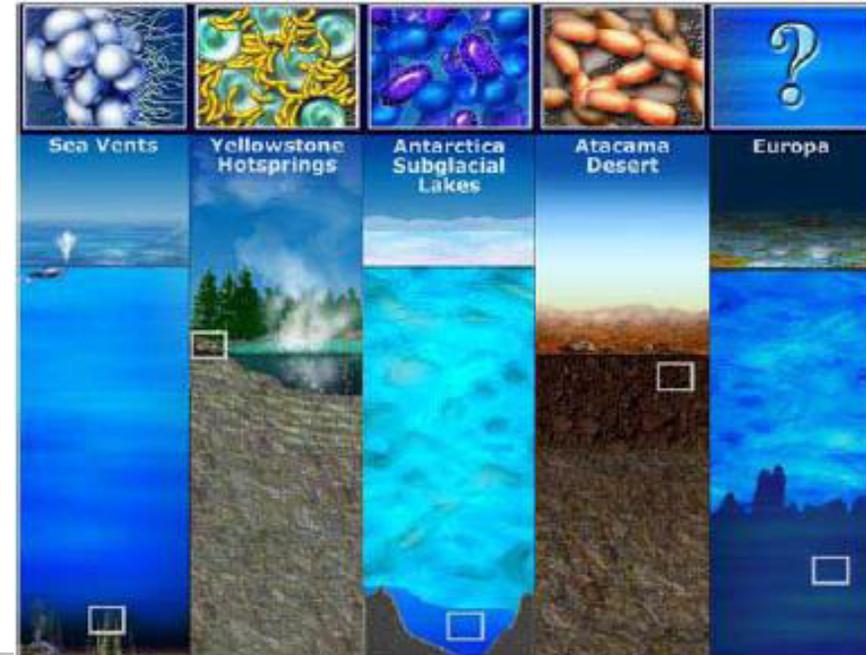
<p><i>Glaciar Perito Moreno, Argentina</i></p> 	<p>Psicrófilos</p> <p>$T < 15^{\circ}\text{C}$</p>	<p>Termófilos</p> <p>$T 60 - 80^{\circ}\text{C}$ $T > 80^{\circ}\text{C}$</p>	<p><i>Géiseres del Tatio, Chile</i></p> 
<p><i>Salina en Guerrero Negro, México</i></p> 	<p>Halófilos</p> <p>$[\text{NaCl}] > 3.5\%$</p>	<p>Xerófilos</p> <p>$a_w < 0.85$</p>	<p><i>Desierto de Atacama, Chile</i></p> 
<p><i>Lago alcalino Ascotan, Chile</i></p> 	<p>Alcalófilos</p> <p>$\text{pH} > 9$</p>	<p>Acidófilos</p> <p>$\text{pH} < 5$</p>	<p><i>Laguna ácida, Costa Rica</i></p> 



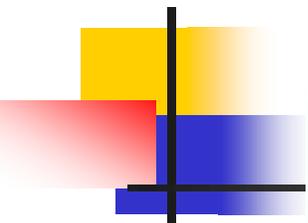
AMBIENTES EXTREMOS



- ❖ Hábitats caracterizados por presión hidrostática, aridez, radiaciones, temperaturas elevadas, valores extremos de pH, altas concentraciones de sal, altas concentraciones de metal, etc.
- ❖ Fuentes termales y zonas volcánicas submarinas, lagos salados y salinas, hábitats con extremos de pH, suelos y aguas de zonas polares, fondo de los océanos, desiertos, etc.
- ❖ Usualmente los microorganismos extremófilos viven en hábitats POLIEXTREMOS: en las fuentes termales se combinan las altas temperaturas y bajo pH, en las profundidades de océanos se combinan las bajas temperaturas y altas presiones o en las salinas existe una elevada concentración de sales junto a una alta radiación solar y altas temperaturas.
- ❖ Exclusivamente poblados por procariotas.



PROCESO INDUSTRIAL	PRODUCTO	VENTAJAS	ORGANISMO
Hidrólisis de almidón: dextrinas y jarabe de maíz	α -amilasa	↑ estabilidad	<i>Bacillus stearothermophilus</i>
Blanqueo de papel	Xilanasas	↓ cantidad de blanqueador	Termófilos
Procesado de alimentos, pan, cerveza, detergentes	Proteasas	Estable a ↑ T°	Termófilos
Maduración de quesos, producción de leche	Proteasas neutras	Estable a ↓ T°	Psicrófilos
Biorremediación	Surfactantes, limpieza de derrames	Eficientes en ↓ T°	Psicrófilos
Degradación de polímeros en detergentes	Proteasas, amilasas, lipasas	Detergentes mejorados	Psicrófilos
Degradación de polímeros en detergentes	Celulasas, proteasas, amilasas, lipasas	Estables a ↑ pH	Alcalófilos
Productos farmacéuticos	Glicerol, solutos compatibles	Producción a ↓ \$	Halófilos (<i>Dunaliella</i>)
Surfactantes para farmacéuticos	Membranas		Halófilos



ASTROBIOLOGÍA

ORIGEN

EVOLUCIÓN

DISTRIBUCIÓN

FUTURO

VIDA EN EL UNIVERSO

BIOLOGÍA

GEOLOGÍA

ASTROFISICA

ASTRONOMÍA

QUÍMICA



CUESTIONES QUE TRATA DE RESPONDER LA ASTROBIOLOGÍA



¿Qué es la vida?

¿Cómo surgió la vida en la Tierra?

¿Cómo evoluciona y se desarrolla?

¿Hay vida en otros lugares del Universo?

¿Cuál es el futuro de la vida en la Tierra y en otros lugares?

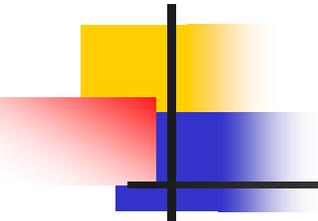
- La pregunta de si la vida se extiende más allá de la Tierra era una pregunta que solía responderse principalmente en base a la imaginación humana que refleja nuestras pasiones y miedos.
- Filósofos, científicos e incluso políticos, como Winston Churchill, han argumentado sobre la existencia (o inexistencia) de vida extraterrestre en el Universo.
- Para los científicos, este ambicioso esfuerzo comienza con la Tierra, ya que representa el único ejemplo conocido de vida en el Universo.
- Comprender la Tierra es, por lo tanto, el primer paso para comprender los requisitos para que surja la vida y haga un mundo habitable.



RAZONES PARA EL ESTUDIO DE EXTREMOFILOS:



- ❖ **Preservación de alimentos**
- ❖ **Investigación básica; Organismos modelos para investigación básica (microbiota con unas características únicas)**
- ❖ **Armas biológicas**
- ❖ **Potencial biotecnológico**
- ❖ **Uso futuro en el espacio**
- ❖ **Biodiversidad sobre la Tierra**
- ❖ **Mecanismos de supervivencia de los extremófilos**
- ❖ **Orígenes de la vida**
- ❖ **Limites para la vida en el universo**





QUE NOS PUEDEN APORTAR ?



- ❖ **Uso en Astrobiología para el descubrimiento de vida extraterrestre (Ej.: Hielo profundo terrestre).**
- ❖ **Modelo de la arqueas aisladas: comprensión de modelos funcionales a temperaturas bajas.**
- ❖ **Futuras investigación en la biosfera fría proporcionando el aumento en número y tipos las arqueas aisladas en esas condiciones.**
- ❖ **Posibles reliquias que envuelven aspectos de la vida en sus orígenes (Proterozoico-Precámbrico).**
- ❖ **Los extremófilos son ciertamente modelos prometedores para ampliar nuestra comprensión de la evolución funcional de la adaptación al estrés y tal vez nos lleven a explorar una biodiversidad hasta ahora no revelada.**
- ❖ **Usar el conocimiento de las bases bioquímicas de los extremófilos, junto con considerar la T° , presión, RUV, composición atmosférica, acides, etc. para considerar la posible evolución de organismos capaces de tolerar el ambiente de planetas como Venus.**





- ❖ **Estudiar la biología y la ecología de los extremófilos es esencial para definir los límites de la vida tal como la conocemos y para estudiar ambientes extremos análogos a los de la Tierra primitiva y/o posibles hábitats extraterrestres y para probar tecnologías para detectarlos.**
- ❖ **Un planeta con solo condiciones extremas podría mantener la vida o en la Tierra éstos son alimentados por nutrientes provenientes de ambientes "normales" provocados por vientos, lluvias, etc.**
- ❖ **Entender la biología de los extremófilos y sus ecosistemas nos permiten desarrollar hipótesis acerca de las condiciones necesarias para el origen y la diversificación de la vida en un planeta (incluyendo la Tierra), sobre la posibilidad de la Panspermia, y de los hábitats potenciales de vida pasada o presente en el sistema solar, como en Marte, Europa (luna de Júpiter), las nubes de Venus y Titán (luna de Saturno), o incluso en sistemas exoplanetarios (planetas que orbitan una estrella diferente al Sol).**



GRACIAS



POR SU ATENCION

