Brock. Biología de los microorganismos

14.ª edición

Michael T. Madigan
John M. Martinko
Kelly S. Bender
Daniel H. Buckley
David A. Stahl

booksmedicos.org

ALWAYS LEARNING

PEARSON

BROCK

Biología de los microorganismos

BROCK

Biología de los microorganismos

14.ª edición

Michael T. Madigan
Southern Illinois University Carbondale

John M. Martinko
Southern Illinois University Carbondale

Kelly S. Bender
Southern Illinois University Carbondale

Daniel H. Buckley
Cornell University

David A. Stahl
University of Washington Seattle

booksmedicos.org

Traducción

Dirección:

Ricardo Guerrero
Universidad de Barcelona
Barcelona Knowledge Hub-Academia Europaea

Coordinación y revisión:

Carmen Chica, Rubén Duro y Mercè Piqueras
Revista International Microbiology

Traductores:

Coral Barrachina
Traductora científica

Mercedes Berlanga
Universidad de Barcelona

M. Gonzalo Claros y Cristina García López
Universidad de Málaga

Mariano Gacto
Universidad de Murcia

Isidre Gibert y Daniel Yero
Universidad Autónoma de Barcelona

Ignacio Moriyón, Raquel Conde y Maite Iriarte
Universidad de Navarra

Ana Prats
Traductora científica

Carmina Rodríguez
Universidad Complutense de Madrid

Francisco Ruiz Berraquero
Universidad de Sevilla

Victoria Tarrida
Traductora científica

Con la colaboración de la Sociedad Española de Microbiología

SEM

Y de la Asociación Latinoamericana de Microbiologia

ALAM

PEARSON

Cualquier forma de reproducción, distribución, comunicación pública o trasformación de esta obra solo puede ser realizada con la autorización de sus titulares, salvo excepción prevista por la ley.

Diríjase a CEDRO (Centro Español de Derechos Reprográficos), si necesita fotocopiar o escanear algún fragmento de esta obra. (www.conlicencia.com; 91 702 19 70 / 93 272 04 47)

Todos los derechos reservados.

© 2015 PEARSON EDUCACIÓN, S.A.
C/ Ribera del Loira, 28
28042 Madrid (España)
www.pearson.es

ISBN ebook: 9788490352809
Depósito Legal: M-25303-2015

Equipo editorial:
Editor: Miguel Martín-Romo

Diseñadora Senior: Elena Jaramillo

Equipo de producción:
Directora: Marta Illescas
Coordinadora: Tini Cardoso

Diseño de cubierta:
Composición: Copibook, S.L.
Impreso por: DZS GRAFIK, D.O.O.

IMPRESO EN SLOVENIA

Nota sobre enlaces a páginas web ajenas: este libro incluye enlaces a sitios web cuya gestión, mantenimiento y control son responsabilidad única y exclusiva de terceros ajenos a PEARSON EDUCACIÓN, S.A. Los enlaces u otras referencias a sitios web se incluyen con finalidad estrictamente informativa y se proporcionan en el estado en que se encuentran en el momento de publicación sin garantías, expresas o implícitas, sobre la información que se proporcione en ellas. Los enlaces no implican el aval de PEARSON EDUCACIÓN S.A. a tales sitios, páginas web, funcionalidades y sus respectivos contenidos o cualquier asociación con sus administradores. En consecuencia, PEARSON EDUCACIÓN S.A., no asume responsabilidad alguna por los daños que se puedan derivar de hipotéticas infracciones de los derechos de propiedad intelectual y/o industrial que puedan contener dichos sitios web ni por las pérdidas, delitos o los daños y perjuicios derivados, directa o indirectamente, del uso de tales sitios web y de su información. Al acceder a tales enlaces externos de los sitios web, el usuario estará bajo la protección de datos y políticas de privacidad o prácticas y otros contenidos de tales sitios web y no de PEARSON EDUCACIÓN S.A.

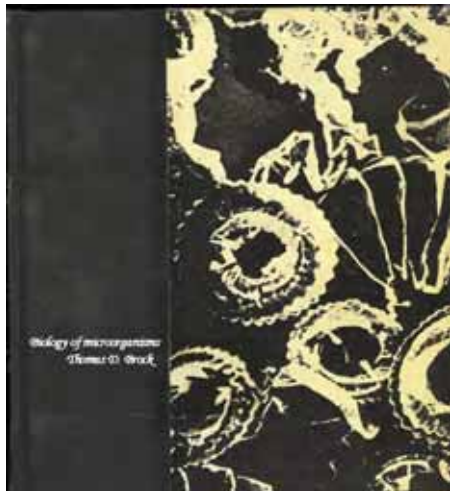
Este libro ha sido impreso con papel y tintas ecológicos

Introducción a la 14.ª edición en español

«A hombros de gigantes»

Esta traducción de la 14.ª edición norteamericana, está dedicada a dos grandes figuras de la microbiología, Thomas D. Brock, en los Estados Unidos, y Julio R. Villanueva, en España.

«Si he visto más lejos es porque estoy aupado sobre los hombros de gigantes». Esta conocida frase la escribió Isaac Newton en una carta que dirigió a Robert Hooke el 15 de febrero de 1676 (el 5 de febrero, en el calendario juliano de la época), refiriéndose probablemente a tres grandes astrónomos: Nicolás Copérnico, Galileo Galilei y Johannes Kepler. Pero la cita había sido utilizada por diversas personas antes. El primero, posiblemente, fue Bernardo de Chartres, filósofo neoplatónico del siglo XII, a quien un discípulo le atribuyó la frase en un poema escrito hacia 1130. La ciencia es una continua interacción entre hechos e ideas, donde los nuevos conocimientos nos conducen a conceptos. novedosos. Y en la microbiología se ve este proceso de una manera aún más palpable. Los nuevos descubrimientos están basados en conocimientos anteriores, e inducen nuevas y generalmente revolucionarias ideas.



La microbiología es una ciencia joven; desde los descubrimientos pioneros de los gigantes Louis Pasteur y Robert Koch, apenas tiene 150 años. Y en esta breve historia, pueden apreciarse tres Edades de Oro. La Primera es la de los grandes descubrimientos del último tercio del siglo XIX, donde se pone de manifiesto la etología microbiana de la mayoría de las enfermedades infecciosas, y, con ello, se da un paso de gigante en la lucha contra la enfermedad y la muerte. La Segunda podría ser la que abarca las décadas de los cuarenta a los setenta del siglo XX, donde se descubren y desarrollan una plétora de antibióticos, y donde se establecen las bases bioquímicas y genéticas de la estructura, metabolismo y herencia de los procariotas. La Tercera sería la de la biología molecular y la genómica, desarrolladas en los últimos veinte años del pasado siglo y primeros diez del presente. Pero estamos entrando en una Cuarta Edad de Oro, la del estudio y conocimiento del microbioma, tanto del cuerpo humano como del resto de hábitats de la Tierra. Los microorganismos ocupan todos los hábitats y controlan todos los ecosistemas. Los microorganismos establecieron los primeros reciclados de la materia y, con ello, permitieron la vida y la evolución de todos los organismos posteriores, los «macroorganismos». Los microorganismos dominaron nuestro planeta y fueron sus únicos habitantes durante casi tres mil millones de años. Y los microrganismos continuarán enseñoreándose de la Tierra cuando nuestra efímera especie, los humanos, hayamos desaparecido de su faz.

Esta traducción al español de la 14.ª edición del *Brock. Biology of Microorganisms*, el libro de texto de microbiología más usado en todo el mundo, tanto por alumnos como por profesores, quiere hacer llegar a los millones de hablantes del español, a ambos lados del Atlántico, esta ingente obra en su propia lengua. Una obra pionera que publicó Thomas D. Brock en 1970, y que ha orientado e inspirado a sucesivas generaciones de microbiólogos en muchos países del mundo. Uno de nosotros, RG, tradujo la primera edición recién acabada su tesis doctoral. Esta versión española fue también la primera traducción del original inglés a cualquier otra lengua. El otro de los firmantes de esta dedicatoria, MM, fue primero doctorando del autor, después su principal colaborador en la obra, y después, a su vez, primer autor de sucesivas ediciones a partir de la octava (1997). Fue MM quien recogió la antorcha y siguió publicando esta obra, siempre actualizada, a lo largo de diversas ediciones y con diversos autores. Esta 14.ª edición ha sido traducida por un equipo compuesto por profesores e investigadores de ocho universidades españolas, distribuidas a lo largo y a lo ancho de la Península Ibérica.

La obra pionera de Roger Y. Stanier, *The Microbial World*, publicada en 1957, marcó una nueva época en el conocimiento e interpretación de la microbiología en las universidades de todo el mundo. La temprana traducción al español de su segunda edición, *El mundo de los microbios*, por los jóvenes profesores Julio R. Villanueva, Isabel García Acha y Manuel Losada, en la década de los sesenta, fue fuente de inspiración y vocación para muchos jóvenes estudiantes en España, entre ellos, RG. Y la obra de Stanier también fue modelo, acicate, e incluso reto, porque parecía difícil de superar, para Brock, y para que escribiera la primera edición de *Biology of Microorganisms*, un texto, inspiración del actual, que ha mantenido a lo largo de décadas, y a través de catorce ediciones (!), su calidad, actualización y visión panóptica de lo que es y significa el inmenso mundo y biología de los microorganismos.

Ricardo Guerrero y Michael T. Madigan
Barcelona y Carbondale, Illinois, abril de 2015

Sobre los autores



Michael T. Madigan se licenció en Biología y Educación en 1971 por la Wisconsin State University, en Stevens Point, y obtuvo los grados de máster (1974) y doctorado en (1976) en Bacteriología, en la University of Wisconsin en Madison. Su trabajo de doctorado, dirigido por Thomas D. Brock, se centró en las bacterias fotótrofas de fuentes termales. Tras un período de tres años de postdoctorado en la Indiana University, se trasladó a la Illinois University en Carbondale, donde ha sido catedrático de Microbiología durante 33 años. En 1988 fue seleccionado como Docente de Excelencia, y en 1993 como Investigador de Excelencia. En 2003 recibió el Premio Carski a la excelencia en la docencia universitaria, que concede la American Society for Microbiology y es *Fellow* de la American Academy of Microbiology. Su investigación se ha centrado en las bacterias de ambientes extremos y durante los últimos 15 años ha estudiado la microbiología antártica. Además de publicar numerosos artículos de investigación, ha dirigido uno de los principales tratados sobre bacterias fotótrofas y durante 10 años fue director jefe de la revista *Archives of Microbiology*. En la actualidad es miembro del consejo editorial de las revistas *Environmental Microbiology* y *Antonie van Leeuwenhoek*. Entre sus otras aficiones se encuentran la actividad forestal, la natación, la lectura y el cuidado de sus perros y caballos. Vive junto a un lago tranquilo con su esposa Nancy, cuatro perros rescatados de perreras (Gaino, en la foto, que murió el 30 de septiembre de 2013; Pepto, Peanut y Merry), y tres caballos (Eddie, Gwen y Festus).



John M. Martinko se licenció en Biología por la Cleveland State University. Posteriormente trabajó en la Case Western Reserve University sobre la serología y epidemiología de *Streptococcus pyogenes*. Realizó su trabajo doctoral en la State University of New York, en Buffalo, estudiando la especificidad e idiotipos de los anticuerpos. Como investigador postdoctoral, trabajó en el New York Albert Einstein College of Medicine sobre la estructura de las proteínas del complejo principal de histocompatibilidad. Desde 1981 está en el Departamento de Microbiología de la Southern Illinois University Carbondale (SIUC) como profesor y director del programa de grado de biología molecular, microbiología y bioquímica. Sus intereses científicos se centran en las relaciones estructura-función en las proteínas del sistema inmunitario, como las inmunoglobinas, en las células receptoras T y en las proteínas del complejo principal de histocompatibilidad. Ha impartido cursos avanzados de inmunología, y también de entrenamiento de inmunología e inflamación a estudiantes de medicina. En 2007 recibió el Premio a la Excelencia en la Docencia de la Southern Illinois University. Ha participado activamente en programas de divulgación educativa para preuniversitarios y de actualización para profesores de enseñanza secundaria. Ha sido también profesor del Bard College, donde ha participado en su programa innovador de Ciencia para la Ciudadanía. Se trata de un currículum que incluye trabajo interactivo de laboratorio, informática, problemas científicos, dirigido a estudiantes de primer curso, en el que prima la discusión y el pensamiento crítico a través del descubrimiento y aplicación de los principios científicos. Fue director del comité institucional de uso y cuidado de animales de la SIUC y continúa como asesor en el área del cuidado animal. Le entusiasma el golf y el ciclismo. Vive en Carbondale con su esposa, Judy, profesora de ciencias de educación secundaria.



Kelly S. Bender se licenció en Biología por la Southeast Missouri State University en 1999, y obtuvo el doctorado en 2003 en Biología molecular, Microbiología y Bioquímica por la Southern Illinois University Carbondale. Su tesis doctoral se centró en la genética de las bacterias reductoras de perclorato. Trabajó como investigadora postdoctoral en la regulación genética de las bacterias reductoras de perclorato en el laboratorio de Judy Wall, en la University of Missouri-Columbia. Realizó una estancia en Suecia en la Universidad de Uppsala investigando los RNA no codificantes en bacterias. En el año 2006, Kelly regresó a su alma máter, la Southern Illinois University Carbondale, como profesora del Departamento de Microbiología, logrando el puesto de profesora asociada en 2012. En su laboratorio se investigan, entre otros temas, la regulación de las respuestas al estrés por medio de RNA no codificantes, la dinámica de las comunidades microbianas en lugares afectados por el drenaje ácido de minas, y la biorremediación de uranio por bacterias reductoras de sulfato y de metales. Kelly imparte cursos de genética microbiana y biología molecular, ha participado en numerosos paneles federales de evaluación y es miembro activo de la American Society for Microbiology. Entre sus intereses figuran el ciclismo, la cocina, y compartir su tiempo con familia, amigos y Pepper, su minúsculo perro Schnauzer.



Daniel H. Buckley es profesor asociado del Departamento de Agricultura y Edafología en la Cornell University. Se licenció en Microbiología en 1994 en la University of Rochester, y se doctoró en Biología en 2000 en la Michigan State University (MSU). Después de su licenciatura investigó la ecología de las comunidades microbianas del suelo en el laboratorio del Prof. Thomas M. Schdmit, que depende del Centro de Ecología Microbiana de MSU. En el curso de su investigación postdoctoral examinó las conexiones entre la diversidad microbiana y la biogeoquímica de los tapetes microbianos y estromatolitos marinos en el laboratorio de Pieter T. Visscher en la University of Connecticut. En el año 2003 empezó a trabajar en Cornell University, donde estudió la ecología y evolución de las comunidades microbianas de suelos, centrándose en las causas y consecuencias de la diversidad microbiana. Ha impartido cursos introductorios y avanzados de microbiología, y de diversidad y genómica microbianas. Obtuvo el premio CAREER 2005, que la National Science Foundation otorga a jóvenes investigadores de excelencia que integran investigación y docencia. Ha dirigido estudios de edafología y agronomía de la Cornell University y ha codirigido cursos de verano sobre diversidad microbiana del Marine Biological Laborotory de Woods Hole (Massachussetts). Es miembro del comité editorial de las revistas *Applied and Environmental Microbiology* y de *Environmental Microbiology*. Vive en Ithaca (New York), con su esposa Merry y sus hijos, Finn y Colin. Le gusta correr y otros deportes al aire libre, pero, por encima de todo, lo que prefiere es bajar con sus hijos al riachuelo vecino a capturar bichos.



David A. Stahl se licenció en Microbiología en la University of Washington en Seattle. y como postgraduado estudió filogenia y evolución microbianas con Carl Woese en el Departamento de Microbiología de la University of Illinois en Urbana-Champaign. Posteriormente, realizó una estancia postdoctoral como investigador asociado con Norman Pace, por entonces en el National Jewish Hospital de Colorado, estudiando las aplicaciones iniciales del análisis de secuencias basadas en el rRNA 16S al estudio de la comunidades microbianas naturales. En 1984 empezó a trabajar en la University of Illinois con responsabilidades en Microbiología, Medicina Veterinaria e Ingeniería Civil. En 1994 se trasladó al Departamento de Ingeniería Civil de la Northwestern University y en 2000 regresó a la University of Washington como catedrático del Departamento de Ingeniería Ambiental y Microbiología. Es conocido por su trabajo sobre evolución, ecología y sistemática microbianas. En 1999 recibió el Premio Bergey y en el 2006 el Premio Protert & Gamble de la ASM en Microbiología Aplicada y Ambiental. Es miembro de la American Academy of Microbiology, y de la National Academy of Engineering de los Estados Unidos. Su investigación abarca la biogeoquímica del nitrógeno y del azufre, y las comunidades microbianas que sostienen los ciclos asociados de nutrientes. Su laboratorio fue el primero en cultivar *Archea* oxidadoras de amoníaco, un grupo al que se atribuye una función clave como mediadores en este proceso del ciclo del nitrógeno. Ha impartido cursos de microbiología ambiental, y fue uno de los directores fundadores de la revista *Environmental Microbiology.* Ha participado en numerosos comités consultivos. Fuera del laboratorio disfruta practicando senderismo y ciclismo, pasando tiempo con su familia, leyendo un buen libro de ciencia ficción y, con su esposa Lin, restaurando una vieja granja que poseen en la isla de Bainbridge.

Dedicatorias

Michael T. Madigan
dedica este libro a la memoria de su viejo amigo, Snuffy. Cómo no echar de menos aquellas largas caminatas, solos tú y yo.

John M. Martinko
dedica este libro a la memoria de su madre, Lottie, que inspiró en todos sus hijos conseguir metas y excelencia en su actividad.

Kelly S. Bender
dedica este libro a la memoria de su abuela, Alberta, cuyo mayor pesar en la vida fue no haber podido seguir en la escuela más allá del quinto grado.

Daniel H. Buckley
dedica este libro a Merry. Gracias por compartir esta aventura y todas las otras.

David A. Stahl
dedica este libro a su esposa, Lin. Mi amor y quien me ayuda a mantener en perspectiva las cosas importantes.

Prefacio

La enseñanza y el aprendizaje evolucionan, y nosotros también. Simplificación, actualización, deferencia hacia la historia de la microbología e ilusión por el futuro caracterizan la 14.ª edición del libro *Brock Biología de los Microoganismos*. A lo largo de tres generaciones, estudiantes y profesores han confiado en la fidelidad, autoridad, consistencia y puesta al día de la ciencia en esta obra para aprender los principios básicos de la microbiología, e interesarse por el futuro de esta disciplina. Con la 14ª edición los estudiantes se beneficiarán del énfasis que pone el libro en la investigación de vanguardia, de una introducción integradora en la microbiología molecular moderna, y de la inclusión de imágenes impresionantes. Además, por primera vez, *Brock Biología de los Microroganismos* se ayuda de la tutoría MasteringMicrobiology online de Pearson, como instrumento de evaluación para estudiar desde casa.

Los autores de anteriores ediciones, Madigan, Martinko y Stahl, dan la bienvenida a dos nuevos coautores en esta 14.ª edición. Son Kelly S. Bender y Daniel H. Buckley. La biología molecular y la genética molecular han sido revisadas en profundidad por Kelly, que ha sido acreditada por la calidad de su labor docente y de asesoramiento a los estudiantes en la Southern Illinois University. En Cornell, Dan participa en los talleres de verano del Cornell Institute for Biology Teachers dirigidos a profesores de ciencia en centros de secundaria, y es codirector del famoso Curso de Verano sobre Diversidad Microbiana de Woods Hole. Los dos nuevos coautores han fortalecido la misión esencial de *Brock Biología de los Microroganismos*, que es continuar siendo el mejor recurso para el aprendizaje de la microbología para los estudiantes y profesores de hoy día.

¿Qué hay de nuevo en esta 14.ª edición?

Reorganizada con imaginación, esta edición guía al estudiante a través de los seis principales temas de la microbiología del siglo XXI, destacados por el Congreso sobre Enseñanza Universitaria de la American Society of Microbiology (ASMCUE). Estos seis temas son Evolución, Estructura y función celular, Vías metabólicas, Flujo de información y Genética, Sistemas microbianos, e Impacto de los microorganismos. Con un trabajo artístico mejorado y revisado con imágenes y con cerca de 200 fotografías nuevas en color, el libro presenta la microbiología como la ciencia visual que es. El nuevo inicio de cada, capítulo, titulado «Microbiología actual», hace partícipes a los estudiantes de la investigación avanzada del contenido de cada capítulo y conecta con las actividades evaluables de formación de MasteringMicrobiology. Explorando el mundo microbiano se centra en temas específicos que ayudan al estudiante a hacerse una idea del panorama general en microbiología, en tanto que, de manera simultánea, alimentan su curiosidad científica

La genómica y todas las «ómicas» a que ha dado lugar, están presentes en cada capítulo del libro, y reflejan cómo la revolución ómica ha transformado la biología. Lejos quedan los días de la microbiología como una ciencia descriptiva. Dominar hoy los principios del ámbito dinámico de la microbiología requiere una comprensión de la biología molecular subyacente a dicha ciencia. Como autores, somos conscientes de ello y hemos escrito *Brook Biología de los Microorganismos* de manera que muestre los fundamentos de la microbiología como ciencia, así como los de la propia ciencia. El resultado es un tratamiento completo, y sobre todo moderno, de la microbiología.

Para reforzar el aprendizaje, MasteringMicrobiology incluye, para cada capítulo y entre otros recursos, pruebas de comprensión de lectura, tutoriales MicroLab, actividades de formación en Microbiología actual, Caso Clínico y MicroCareer, juegos de animación cuestiones introductorias y numerosos elementos para el estudio y la evaluación. El contenido y presentación de *Brook Biología de los Microorganismos*, junto con los instrumentos de MasteringMicrobiology, constituyen una experiencia educativa en microbiología sin parangón.

A destacar

Capítulo 1

- El primer capítulo se ha revisado para proporcionar una introducción actualizada y sucinta de una visión global de la microbiología, incluyendo los elementos básicos de la estructura celular y del árbol filogenético de la vida.
- El poder de la genómica para resolver los misterios de la microbiología se revela en un nuevo relato de Explorando el Mundo Microbiano titulado «La Muerte Negra descifrada», sobre los estudios forenses de víctimas de la epidemia de peste negra en Europa hace unos 650 años.

Capítulo 2

- El tratamiento de la estructura y función celular microbianas combina ahora el material sobre *Bacteria* y *Arquea* con el de eucariotas microbianos, proporcionando al estudiante una introducción completa a la estructura celular comparada, y proporcionando al profesor los instrumentos necesarios para las presentaciones en clase.

Capítulo 3

- Con un nivel apropiado para estudiantes noveles, presenta la diversidad metabólica en una secuencia lógica, las características esenciales del metabolismo microbiano, necesarias para comprender la forma en que los microorganismos transforman la energía. Las nuevas imágenes resultan esenciales para comprender los principales tipos de metabolismo de manera más visual y atractiva.

Capítulo 4

- Los principios básicos de la microbiología molecular se han revisado a conciencia, y su atractiva presentación al principio del texto proporciona una base útil para los estudiantes a medida que avanzan en la lectura.
- Nuevas ilustraciones contribuyen de forma sencilla y consistente a facilitar el aprendizaje, la retención y la aplicación de conceptos moleculares complejos.

Capítulo 5

- Como resumen de la primera Unidad, este capítulo se basa en los cuatro anteriores para describir el resultado final de la fisiología y la biología molecular: la división celular y el crecimiento de poblaciones.
- Este capítulo incorpora los elementos básicos del control del crecimiento microbiano para permitir al profesorado vincular mejor el contenido práctico al fundamento del propio proceso de crecimiento.

Capítulo 6

- En esta edición aparece mucho antes que en la anterior un tratamiento completo de la genómica microbiana y de la revolución de las «ómicas» que hoy en día dirige la ciencia microbiológica. La tecnología, la biología y la evolución de los genomas se presentan de forma nueva y atractiva.
- Hay que maravillarse ante el poder de la genómica en el relato de Explorando el mundo microbiano sobre la genómica de la célula individual: «Genómica, una célula cada vez».

Capítulo 7

- Contiene las principales actualizaciones sobre la regulación de la expresión génica —una de las áreas de la microbiología actual que suscitan más interés— con un tratamiento extenso de la capacidad de percepción y de la transducción de señales.
- Explora aspectos nuevos de la regulación génica, como la importancia de los RNA no codificantes y la regulación de funciones especiales en bacterias modelo, como la esporulación en *Bacillus*, la diferenciación celular en *Caulobacter*, y la formación de heterocistos en la cianobacteria fijadora de nitrógeno *Anabaena*.

Capítulo 8

- Los principios básicos de la virología se presentan sin detalles innecesarios y usando el bacteriófago T4 como modelo representativo de los conceptos fundamentales de la virología.
- Un tratamiento nuevo de la virosfera y de la ecología de los virus revela su asombrosa diversidad genética.

Capítulo 9

- El tratamiento de la diversidad y de los genomas de los virus sigue directamente al capítulo básico de virología para una mejor vinculación con los dos temas estrechamente relacionados.
- Un enfoque nuevo de la evolución de los genomas víricos y una nueva organización que permite contrastar de forma más directa la biología de los virus DNA y RNA, facilitando una comprensión más consistente y conceptual de la diversidad vírica.

Capítulo 10

- Los principios fundamentales de la genética de las *Bacteria* y las *Archaea* se han colocado estratégicamente en este lugar del libro para incorporar mejor los conceptos complementarios de microbiología molecular, crecimiento, regulación y virología.

Capítulo 11

- Abarca al completo la biología molecular de la clonación génica y de las principales formas de manipulación genética. Constituye así una introducción a las aplicaciones de estos métodos en un campo, como el de la biotecnología, sometido a cambios continuos.
- Se adentra en el mundo de la biología sintética para aprender cómo esta área nueva y candente augura otra revolución en biología.

Capítulo 12

- La evolución y la sistemática microbianas se benefician de una extensa revisión de los mecanismos de esa evolución, y de la importancia de la evolución genómica y de la transferencia horizontal de genes.
- Considera cómo puede haberse generado la interdependencia metabólica en las comunidades microbianas y lo presenta en el relato «La hipótesis de la Reina Negra» de Explorando el mundo microbiano.

Capítulo 13

- Se dedica un único capítulo a la diversidad metabólica para comparar y contrastar mejor los principales tipos de metabolismo de las *Bacteria* y las *Archaea,* y para destacar cómo «la unidad de la bioquímica» ha impregnado el metabolismo microbiano.
- La diversidad metabólica se ha colocado estratégicamente para avanzar hacia el nuevo capítulo sobre diversidad funcional bacteriana.

Capítulos 14 y 15

- El Capítulo 14 «Diversidad funcional en *Bacteria*», explora ahora la diversidad bacteriana con respecto a las características morfológicas, fisiológicas y ecológicas de bacterias bien conocidas. El Capítulo 15 presenta la diversidad de la vida bacteriana en un contexto filogenético. Los nuevos árboles filogenéticos, a todo color y de fácil comprensión, resumen la diversidad bacteriana en ambos capítulos.

Capítulo 16

- La diversidad de las arqueas se ha revisado siguiendo un trazo filogenético potente e incluyendo los últimos filos descubiertos de *Thaumarchaeota*, *Nanoarchaeota* y *Korarchaeota*.

- Se puede ver cómo las anteriormente desconocidas *Thaumarchaeota* son probablemente las *Archaea* más comunes en la Tierra, y se revisan los límites fisicoquímicos para la vida, todos definidos en la actualidad por especies de *Archaea.*

Capítulo 17

- La diversidad microbiana eucariota se beneficia de un tratamiento filogenético nuevo en un capítulo que constitutye una introducción a la importancia de la endosimbiosis en la evolución de la célula eucariota.
- Se incluyen numerosas micrografías en color que muestran la belleza y diversidad de la vida microbiana eucariota.

Capítulo 18

- Los instrumentos modernos para el estudio de la ecología microbiana se describen con ejemplos de cómo cada uno de ellos ha modelado la ciencia. También conoceremos que la revolución de las ómicas ha simplificado problemas complejos de la ecología microbiana.
- En el nuevo relato «Cultivando lo incultivable» de Explorando el mundo microbiano, puede verse de qué manera los métodos ecológicos nuevos han producido cultivos de laboratorio de la bacteria marina *Pelagibacter*, el organismo más abundante de la Tierra.

Capítulo 19

- Con un enfoque atractivo, se comparan y contrastan las propiedades de la diversidad microbiana de los principales ecosistemas microbianos.
- Nuevos datos de censos ambientales de hábitats de agua dulce, y de la ecología microbiana de paisajes áridos, ilustran material nuevo para este capítulo, que también ofrece una visión reciente de los vínculos entre microorganismos marinos y cambio climático.

Capítulo 20

- Presenta un enfoque de las extraordinarias habilidades de los microorganismos para respirar óxidos metálicos sólidos en el ciclo del manganeso y en el del hierro.
- Expone la forma en que la actividad humana afecta profundamente los ciclos del carbono y del nitrógeno con las sobrecargas de nutrientes inorgánicos y otras formas de contaminación, y cómo influyen, en un sistema de retrolimentación, con el cambio climático.

Capítulo 21

- Un nuevo capítulo sobre el «ambiente antropizado» muestra cómo los humanos crean nuevos hábitats microbianos mediante la construcción de edificios, infraestructuras de apoyo y modificaciones del hábitat. Atestigua los efectos positivos y negativos de los microorganismos en infraestructuras humanas importantes, como el tratamiento de aguas residuales, la extracción minera y el drenaje ácido de las minas, la corrosión de metales, el biodeterioro de la piedra y el hormigón, y la presencia de patógenos en el agua destinada al consumo humano.

Capítulo 22

- Una cobertura amplia sobre el modo en que los microorganismos afectan profundamente la fisiología de plantas y animales por medio de asociaciones simbióticas; incluye el microbioma humano y su relaciones con la salud y la enfermedad.
- Muestra cómo un mecanismo común de bacterias y hongos para formar asociaciones simbióticas con las raíces de las plantas proporciona a estas nutrientes esenciales.

Capítulo 23

- Presenta los principales temas de la microbiología humana, incluyendo la microbiota normal, la patogénesis y los factores del hospedador en la infección y la enfermedad. Todo ello en un estilo que une estos conceptos y revela cómo inclinan la balanza hacia la enfermedad o la salud.

Capítulo 24

- Proporciona una visión general sencilla y concisa de la inmunología, que los profesores pueden emplear para enseñar los conceptos fundamentales de esta ciencia.
- Contiene información práctica sobre vacunas, inflamación y respuestas alérgicas en un formato muy adecuado para la enseñanza.

Capítulo 25

- Basado en el capítulo anterior, este ofrece una visión más completa de los mecanismos inmunitarios, haciendo hincapié en las interacciones celulares y moleculares que controlan la inmunidad innata y adaptativa.

Capítulo 26

- Es un breve capítulo que considera la inmunología desde una perspectiva completamente molecular, con las importantes interacciones receptor–ligando que desencadenan la respuesta inmunitaria, y la genética de las principales proteínas que rigen la inmunidad adaptativa.

Capítulo 27

- Reorganizado y actualizado, describe la función de la microbiología clínica e introduce los instrumentos para identificar y detectar las enfermedades infecciosas en el laboratorio clínico.
- Con un tratamiento nuevo de los agentes antimicrobianos y de su utilización clínica, destaca la importante función de la terapia farmacológica y de la resistencia a los medicamentos en la medicina actual.

Capítulo 28

- Un debate actualizado sobre epidemiología introduce el concepto del índice de transmisibilidad (*R*, del inglés *reproduction number*) y su influencia en la difusión de la enfermedad y en el control de la inmunidad de grupo.
- Presenta la cobertura puesta al día de las enfermedades infecciosas emergentes y de ls pandemias actuales, como las de HIV/AIDS, cólera y gripe, y el papel del professional de la epidemiología en la microbiología de la salud pública.

Capítulo 29

- El tratamiento de las enfermedades transmitidas de persona a persona se ha reorganizado y se ilustra con docenas de fotos nuevas en color que muestran síntomas y tratamientos. Para una mejor asimilación del material que trata un tema común, las enfermedades infecciosas se presentan en este capítulo y los tres siguientes según la taxonomía.

Capítulo 30

- Las enfermedades bacterianas y víricas transmitidas por insectos vectores o del suelo se presentan ilustradas con docenas de fotos nuevas en color.
- Trata de forma actualizada enfermedades víricas importantes, tales como la fiebre amarilla, y el dengue, y algunas enfermedades bacterianas, como el carbunco, el tétanos y la gangrena gaseosa.

Capítulo 31

- Las enfermedades de origen común relacionadas con alimentos y agua contaminados se presentan en un mismo capítulo para resaltar su modo similar de transmisión. El tratamiento del tema se hace desde la taxonomía —bacteriana o vírica— y se incluyen unas 30 fotografías nuevas en color.
- Se hace una presentación actualizada de la infección potencialmente letal trasmitida por alimentos y causada por la bacteria intracelular *Listeria*.

Capítulo 32

- Todas las enfermedades infecciosas causadas por microorganismos eucariotas —hongos y parásitos— se reúnen en un capítulo para mantener el aspecto taxonómico de la microbiología médica. La experiencia visual queda reforzada con 35 nuevas fotos en color que muestran los patógenos y los síntomas de las enfermedades. Ofrece un contenido más ámplio sobre las enfermedades parasitarias y las causadas por hongos. Por primera vez, el capítulo incluye también las principales infecciones helmínticas.

Otras herramientas de aprendizaje

- En dos apéndices se incluye una introducción al cálculo bioenergético y una lista de los taxones de orden superior descritos en el Manual de Bergey de Bacteriología Sistemática. Un glosario y un minucioso índice completan el conjunto de material didáctico de *Brock Biología de los microorganismos*, 14.ª edición.

Agradecimientos

Un libro de texto es una entidad compleja que resulta de las aportaciones de un equipo numeroso. Además de los autores, ese equipo está compuesto por personas pertenencientes y externas a Pearson. Kelsey Churchman y Nicole McFadden, director de compras y directora asociada, respectivamente, han sido los «caballos de batalla» en la editorial. Kelsey allanó el camino para la 14.ª edición de *Brock Biology of Microorganisms* (*BBOM* 14e) y sorteó muy diestramente los desafíos inherentes a cualquier proyecto de un libro de texto de gran envergadura. Nicole coordinó el día a día del trabajo procesando con mano experta el manuscrito y controlando todas las fases del proyecto. Los autores agradecen a Kelsey y Nicole su dedicación a *BBOM* y su profesionalidad a través de todo el proceso hasta completar la decimocuarta edición.

El equipo de producción y diseño de *BBOM* 14e en San Francisco ha estado formado por Michele Mangelli (Mangelli Productions), Yvo Riezebos (Tandem Creative, Inc.), y Elisheva Marcus (Pearson). Michele dirigió el equipo de producción, con cada componente en su labor y manteniendo el presupuesto. El prodigio artístico de Yvo se aprecia claramente en el diseño del texto y la cubierta. Elisheva (Elliei) ha sido nuestra editora artística y creadora de la nueva presentación del libro. Los lectores observarán de inmediato su claridad, consistencia y estilo moderno. La sólida formación de Ellie en ciencia y en arte queda patente en todo el libro y su contribución ha supuesto una mejora indudable de esta edición. Gracias, Michele, Yvo y Ellie. Los autores agradecen al equipo de Imagineering (Toronto) por ayudar a transmitir un mensaje educativo potente, y por sus magníficas sugerencias que mejoraron la parte artística.

Otras personas importantes en el equipo de producción han sido Karen Gulliver, Jean Lake, Kristin Piljay, Betsy Dietrich y Martha Ghent. Karen ha sido una excelente y eficiente directora de producción; eliminó cualquier problema en la sucesión de páginas y atendió las numerosas peticiones de los autores. Jean ha sido nuestra coordinadora artística, realizando el seguimiento, encauzando el trabajo artístico y controlando las interacciones entre el estudio de arte, los revisores artísticos y los autores, para asegurar el control de calidad y mantener los plazos de entrega. Betsy y Martha han trabajado con Jean y Karen para evitar los gazapos y el mínimo error, tanto en la parte artística como el texto. Kristin ha sido nuestra investigadora en el aspecto fotográfico y ha ayudado a los autores a adquirir las fotos que encajaban en los estándares de *BBOM*. Los autores están sumamente agradecidos a Karen, Jean, Kristin, Betsy y Martha por haber transformado miles de páginas de texto e imágenes en el excelente material educativo que tenemos entre las manos.

Un agradecimiento especial merecen otros dos miembros del equipo de producción. Anita Wagner ha sido una correctora de estilo absolutamente genial; los autores no hubieran podido tener una persona más cuidadosa y eficaz en esta tarea esencial. Anita mejoró la la exactitud, claridad y coherencia del texto y llevó a cabo su tarea con un estilo que, además de útil para los autores, les supuso un considerable ahorro de tiempo. Elizabeth McPherson (University of Tennessee) fue nuestra cuidadosa revisora; su vista de águila, extenso conocimiento en todas las áreas de la microbiología y su rapidez aseguraron la categoría del producto final.

Damos las gracias también a Joe Mochnick, de Pearson, así como a Ashley Williams por encargarse de las revisiones y organizar los complementos del texto. Y, como ningún libro tendría futuro de no ser por el mercado, agradecemos a Neena Bali sus esfuerzos en el estudio de mercado para nuestro título.

Los autores también quieren agradecer la excelente contribución de Matt Sattley (Indiana Wesleyan University), que compuso el manual de instrucciones que acompaña *BOOM* 14, y de Christopher Gulvik (Georgia Institute of Technology) y Sherry L. Seston (Alverno College) que revisaron el banco de preguntas. También agradecemos a los excelentes educadores que elaboraron el programa MásteringMicrobioloy que acompaña al libro. Son Ann Paterson, Narveen Jandu, Jennifer Hatchel, Susan Gibson, Ines Rauschenbach, Lee Kurtz, Vicky McKinley, Clifton Franklund, Benjamin Rohe, Ben Rowley y Helen Walter. Y, para finalizar, gracias a Nicolás Pinel (Institute for Systems Biology) por las hermosas figuras que resumen la diversidad microbiana de los principales hábitats microbianos.

Ningún libro de texto de microbiología podría publicarse sin revisión del manuscrito y sin la donación de fotos por parte de expertos en el campo. Por ello, estamos enormemente agradecidos por la amable ayuda de tantas personas que revisaron el libro y proporcionaron esas fotos. Estos son sus nombres:

Jill Banfield, *University of California, Berkeley*
Dennis A. Bazylinski, *University of Nevada, Las Vegas*
J. Thomas Beatty, *University of British Columbia*
Jaine Belnap, *US Geological Survey*
Karim Benzerara, *Centre National de la Recherche Scientifique, France*
Odile Berge, *INRA-PACA, France*
Robert Blankenship, *Washington University St. Louis*
F.C. Boogerd, *VU University of Amsterdam, The Netherlands*
Yan Boucher, *University of Alberta, Canada*
Don Bryant, *Penn State University*
Richard W. Castenholz, *University of Oregon*
Clara Chan, *University of Delaware*
Todd Ciche, *Michigan State University*
David P. Clark, *Southern Illinois University*
J. Collier, *University of Lausanne, Switzerland*
Patricia Domínguez-Cuevas, *Newcastle University, England*
Cheryl Drake, *Memorial Health System, Springfield, Illinois*
Kimberley D. Ellis, *Tufts University School of Medicine*
David Emerson, *Bigelow Laboratory*
Jeff Errington, *Newcastle University, England*
Katharina Ettwig, *Radboud University, The Netherlands*
Teresa Fischer, *Indian State College*

Derek J. Fisher, *Southern Illinois University*
Rachel Foster, *Max Plank Institute for Marine Microbiology, Germany*
Jed Fuhrman, *University of Southern California*
Sandra Gibbons, *University of Illinois at Chicago and Moraine Valley Community College*
Steve Giovannoni, *Oregon State University*
Eric Grafman, *Centers for Disease Control Public Health Image Library*
Claudia Gravekamp, *Albert Einstein College of Medicine*
A.D. Grossman, *Massachusetts Institute of Technology*
Ricardo Guerrero, *University of Barcelona, Spain*
Daniel P. Haeusser, *University of Houston-Downtown*
Markus Huettel, *Florida State University*
Michael Ibba, *The Ohio State University*
Vaughn Iverson, *University of Washington*
Shawna Johnston, *University of Calgary, Canada*
Megan Kempher, *Southern Illinois University*
Phil Kirchberger, *University of Alberta, Canada*
Susan Koval, *University of Western Ontario, Canada*
F. Leng, *Florida International University*
James Little, *Emory University*
Huub Loozen, *Merck Sharp & Dohme, The Netherlands*
Nicole B. Lopanik, *Georgia State University*
Derek R. Lovely, *University of Massachusetts*
Fritz E. Lower, *Southern Illinois University School of Medicine*
Thomas C. Marlovits, *Research Institute of Molecular Pathology, Austria*
Ann G. Matthysse, *University of Norh Carolina at Chapel Hill*
Carmody McCalley, *University of Arizona*
Vicky McKinley, *Roosevelt University*
Mary Ann Moran, *University of Georgia*
Alicia María Munro-Pastor, *Instituto Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis, Spain*
Alison E. Murray, *Desert Research Institute*
Gerard Muyzer, *University of Amsterdam, The Netherlands*
Jeffrey Nash, *Udon Thani Rajabhat University, Thailand*
Lars Peter Nielsen, *Aarhus University, Denmark*
Sean O'Connell, *Western Carolina University*
Norman Pace, *University of Colorado*
Ann V. Paterson, *Williams Baptist College*
C.O. Patterson, *Texas A & M University*
Jennifer Pett-Ridge, *Lawrence Livermore National Laboratory*
Niels Peter Revsbech, *University of Aarhus, Denmark*
Virginia Rich, *University of Arizona*
D. Rudner, *Harvard Medical School*
Verena Salman, *University of North Carolina*
Karin Sauer, *Binghamtom University*
Bernhard Schink, *University of Konstanz, Germany*
Gerald Schönknecht, *Oklahoma State University*
Matt Schrenk, *East Carolina University*
Kimberley Seed, *Tufts University School of Medicine*
Christine Sharp, *Wairakei Research Center, New Zealand*
Nancy L. Spear, *Murphysboro, Illinois*
S.R. Spilatro, *Marietta College*
K.O. Stetter, *Universität Regensburg, Germany*
Matthew Stott, *GNS Science, New Zealand*
Matthew Sullivan, *University of Arizona*
Andreas Teske, *University of North Carolina*
Tim Tolker-Nielsen, *University of Copenhagen, Denmark*
Tjisse van der Heide, *University of Groningen, The Netherlands*
Laura van Niftrik, *Radboud University, The Netherlands*
Claire Vieille, *Michigan State University*
Michael Wagner, *University of Vienna, Austria*
Susan C. Wang, *Washington State University*
David Ward, *Montana State University*
Peter K. Weber, *Lawrence Livermore National Laboratory*
James Weisshaar, *University of Wisconsin*
Angel White, *Oregon State University*
Kenneth H. Williams, *Lawrence Berkeley National Laboratory*
Mark Young, *Montana State University*
Davide Zannoni, *University of Bologna, Italy*
Lanying Zeng, *Texas A & M University*
Steve Zinder, *Cornell University*

Pearson expresa su agradecimiento a los siguientes colaboradores y revisores por su contribución al contenido de la edición global.

Colaboradores:
Luke Alderwick, *University of Birmingham*
Beatrix Fahnert, *University of Cardiff*
Mike Osta, *American University of Beirut*
Sumitra Datta

Revisores:
Jianzhong He, *National University of Singapore*
Stanley Lau, *Hong Kong University of Science and Technology*
Queck Choon Lau, *Ngee Ann Polytechnic*
Robin May, *University of Birmingham*
Stefan Schmidt, *University of KwaZulu Natal*
T. Satyanarayana, *Delhi University*

A pesar del esfuerzo de los autores y del equipo de publicación, ningún libro de texto está libre de errores. Cualquier error que se haya producido, sea por comisión o por omisión es responsabilidad de los autores. En las ediciones anteriores, los lectores han sido muy amables al ponerse en contacto con nosotros cuando han detectado algún error, para que podamos corregirlo en las siguientes reimpresiones. Les animamos a que continúen haciéndolo, poniéndose en contacto con los autores para subsanarlos y también para aportar sugerencias, comentarios, o plantear cualquier pregunta sobre el contenido del libro. Será para nosotros una gran satisfacción recibir sus aportaciones, que nos ayudarán a mejorar el libro.

Michael T. Madigan (madigan@micro.siu.edu)
John M. Martinko (martinko@micro.siu.edu)
Kelly S. Bender (bender@micro.siu.edu)
Daniel H. Buckley (dbuckley@cornell.edu)
David A. Stahl (dastahl@u.washington.edu)

Contenido breve

UNIDAD 1 Los fundamentos de la microbiología

- CAPÍTULO 1 Microorganismos y microbiología
- CAPÍTULO 2 Estructura y funciones de las células microbianas
- CAPÍTULO 3 Metabolismo microbiano
- CAPÍTULO 4 Microbiología molecular
- CAPÍTULO 5 Crecimiento y control microbianos

UNIDAD 2 Genómica, genética y virología

- CAPÍTULO 6 Genómica microbiana
- CAPÍTULO 7 Regulación del metabolismo
- CAPÍTULO 8 Virus y virología
- CAPÍTULO 9 Genomas víricos y diversidad
- CAPÍTULO 10 Genética de *Bacteria* y *Archaea*
- CAPÍTULO 11 Ingeniería genética y biotecnología

UNIDAD 3 Diversidad microbiana

- CAPÍTULO 12 Evolución y sistemática microbianas
- CAPÍTULO 13 Diversidad metabólica de los microorganismos
- CAPÍTULO 14 Diversidad funcional en *Bacteria*
- CAPÍTULO 15 Diversidad en *Bacteria*
- CAPÍTULO 16 Diversidad en *Archaea*
- CAPÍTULO 17 Diversidad de los microorganismos eucariotas

UNIDAD 4 Ecología microbiana y microbiología ambiental

- CAPÍTULO 18 Métodos de estudio en ecología microbiana
- CAPÍTULO 19 Ecosistemas microbianos
- CAPÍTULO 20 Ciclos de los nutrientes
- CAPÍTULO 21 Microbiología del ambiente antropizado
- CAPÍTULO 22 Simbiosis microbianas

UNIDAD 5 Patogenia e inmunología

- CAPÍTULO 23 Interacciones microbianas con los humanos
- CAPÍTULO 24 Inmunidad y defensa del hospedador
- CAPÍTULO 25 Mecanismos inmunitarios
- CAPÍTULO 26 Inmunología molecular
- CAPÍTULO 27 Microbiología diagnóstica

UNIDAD 6 Enfermedades infecciosas y su transmisión

- CAPÍTULO 28 Epidemiología
- CAPÍTULO 29 Enfermedades bacterianas y víricas de contagio persona a persona
- CAPÍTULO 30 Enfermedades bacterianas y víricas transmitidas por insectos vectores o de transmisión edáfica
- CAPÍTULO 31 El agua y los alimentos como vehículos de enfermedades bacterianas
- CAPÍTULO 32 Patógenos eucariotas: enfermedades fúngicas y parasitarias

Contenido

Introducción a la 14.ª edición en español V
Sobre los autores VII
Dedicatorias IX
Prefacio XI
Agradecimientos XV

UNIDAD 1 Los fundamentos de la microbiología

CAPÍTULO 1
Microorganismos y microbiología 1

microbiologíaactual
La vida microbiana está en todas partes 1

I Introducción y aspectos fundamentales de la microbiología 2
1.1 Qué estudia la microbiología y por qué es importante 2
1.2 Estructura y actividad de las células microbianas 2
1.3 Evolución y diversidad de las células microbianas 5
1.4 Los microorganismos y su ambiente 6
1.5 El impacto de los microorganismos en los seres humanos 9

II La microbiología en su contexto histórico 13
1.6 El descubrimiento de los microorganismos 13
1.7 Pasteur y la generación espontánea 14
1.8 Koch, las enfermedades infecciosas y los cultivos puros 17

EXPLORANDO EL MUNDO MICROBIANO
La Peste Negra descifrada 19

1.9 El aumento de la diversidad microbiana 21
1.10 La microbiología moderna y la genómica 22

CAPÍTULO 2
Estructura y funciones de las células microbianas 27

microbiologíaactual
La tortuga y la liebre arqueanas 27

I Microscopía 28
2.1 El descubrimiento de la estructura celular: el microscopio óptico 28
2.2 Mejora del contraste en el microscopio óptico 29
2.3 Imagen tridimensional de las células 31
2.4 Análisis de la estructura celular: la microscopía electrónica 32

II Las células de los dominios *Bacteria* y *Archaea* 34
2.5 Morfología celular 34
2.6 Tamaño celular y la importancia de ser pequeño 35

III La membrana citoplasmática y el transporte 37
2.7 Estructura de la membrana 37
2.8 Funciones de la membrana 39
2.9 Transporte de nutrientes 41

IV La pared celular en los dominios *Bacteria* y *Archaea* 43
2.10 El peptidoglicano 44
2.11 Lipopolisacáridos: la membrana exterior 46
2.12 La pared celular en *Archaea* 49

V Otras estructuras superficiales e inclusiones celulares 50
2.13 Estructuras de la superficie celular 50
2.14 Inclusiones celulares 52
2.15 Vesículas de gas 54
2.16 Endosporas 55

VI El movimiento microbiano 58
2.17 Los flagelos y la motilidad natatoria 58
2.18 Motilidad por deslizamiento 62
2.19 Quimiotaxia y otras taxias 63

VII Células microbianas eucariotas 66
2.20 El núcleo y la división celular 67
2.21 Mitocondrias, hidrogenosomas y cloroplastos 68
2.22 Otras estructuras importantes de las células eucariotas 70

CAPÍTULO 3
Metabolismo microbiano 77

microbiologíaactual
Una sorpresa metabólica 77

I El cultivo de microorganismos en el laboratorio 78
3.1 Química celular y nutrición 78
3.2 Medios de cultivo y laboratorios 80

II **Energética, enzimas y oxidación-reducción 83**

3.3 Clases de microorganismos según su fuente de energía 83
3.4 Bioenergética 84
3.5 Catálisis y enzimas 85
3.6 Donadores y aceptores de electrones 86
3.7 Compuestos de alta energía 89

III **La fermentación y la respiración 90**

3.8 La glicólisis 90
3.9 La diversidad fermentativa y la opción respiratoria 92
3.10 La respiración: transportadores de electrones 94
3.11 La respiración: la fuerza protonmotriz 95
3.12 La respiración: el ciclo del ácido cítrico y el ciclo del glioxilato 98
3.13 Diversidad catabólica 100

IV **Biosíntesis 101**

3.14 Azúcares y polisacáridos 101
3.15 Aminoácidos y nucleótidos 103
3.16 Ácidos grasos y lípidos 104
3.17 Fijación de nitrógeno 105

CAPÍTULO 4

Biología molecular de los microorganismos 111

microbiologíaactual
La esencia de la vida: microbiología molecular 111

I **El código de la vida: estructura del genoma bacteriano 112**

4.1 Macromoléculas y genes 112
4.2 La doble hélice 113
4.3 Elementos genéticos: cromosomas y plásmidos 115

II **Transmisión de la información genética: replicación del DNA 119**

4.4 Moldes y enzimas 119
4.5 La horquilla de replicación 120
4.6 La replicación bidireccional y el replisoma 122

III **Síntesis de RNA: la transcripción 125**

4.7 Transcripción 125
4.8 La unidad de transcripción 128
4.9 La transcripción en *Archaea* y *Eukarya* 129

IV **Síntesis de proteínas 132**

4.10 Polipéptidos, aminoácidos y el enlace peptídico 132
4.11 La traducción y el código genético 133
4.12 RNA de transferencia 136
4.13 Síntesis de proteínas 137
4.14 Plegamiento y secreción de las proteínas 140

CAPÍTULO 5

Crecimiento y control microbiano 149

microbiologíaactual
¿Tenían pared celular las primeras células? 149

I **La división celular bacteriana 150**

5.1 Fisión binaria 150
5.2 Las proteínas Fts y la división celular 150
5.3 La proteína MreB y la morfología celular 153
5.4 Biosíntesis del peptidoglicano 154

II **Crecimiento de las poblaciones 156**

5.5 Aspectos cuantitativos del crecimiento microbiano 156
5.6 El ciclo de crecimiento 157
5.7 Cultivo continuo 159

III **Medida del crecimiento microbiano 160**

5.8 Recuento por microscopía 161
5.9 Recuento de células viables 162
5.10 Espectrofotometría 164

IV **Efecto de la temperatura en el crecimiento microbiano 165**

5.11 Clases de microorganismos según la temperatura 165

EXPLORANDO EL MUNDO MICROBIANO
Pegarse o nadar 166

5.12 Vida microbiana a bajas temperaturas 167
5.13 Vida microbiana a altas temperaturas 170

V **Otros factores ambientales que afectan al crecimiento microbiano 172**

5.14 Efecto del pH en el crecimiento microbiano 172
5.15 Osmolaridad y crecimiento microbiano 174
5.16 Oxígeno y crecimiento microbiano 176

VI **Control del crecimiento microbiano 179**

5.17 Principios generales y control del crecimiento por el calor 179
5.18 Otros métodos físicos de control: radiación y filtración 181
5.19 Control químico del crecimiento microbiano 183

UNIDAD 2 Genómica, genética y virología

CAPÍTULO 6

Genómica microbiana 191

microbiologíaactual
La genómica y las nuevas *Archaea* 191

I La investigación del genoma 192
6.1 Introducción a la genómica 192
6.2 Secuenciación del genoma 192
6.3 Bioinformática y anotación del genoma 197

II Genomas microbianos 199
6.4 Tamaño y contenido del genoma 199
6.5 El genoma de los orgánulos 203
6.6 El genoma de los microorganismos eucariotas 206

III Genómica funcional 207
6.7 Micromatrices y el transcriptoma 207
6.8 La proteómica y el interactoma 210
6.9 La metabolómica y la biología de sistemas 212
6.10 Metagenómica 214

EXPLORANDO EL MUNDO MICROBIANO
Genómica, una célula a la vez 215

IV La evolución del genoma 216
6.11 Familias génicas, duplicaciones y deleciones 216
6.12 Transferencia horizontal de genes y estabilidad del genoma 218
6.13 Genoma esencial y pangenoma 219

CAPÍTULO 7

Regulación metabólica 225

microbiologíaactual
¿Luminiscencia o letalidad? 225

I Visión general de la regulación 226
7.1 Formas principales de regulación 226

II Proteínas de unión a DNA y regulación transcripcional 227
7.2 Proteínas de unión a DNA 227
7.3 Control negativo: represión e inducción 229
7.4 Control positivo: activación 230
7.5 Control global y el operón *lac* 232
7.6 Control de la transcripción en *Archaea* 234

III Percepción y transducción de señales 235
7.7 Sistemas reguladores de dos componentes 235
7.8 Regulación de la quimiotaxia 237
7.9 Percepción de quórum 238
7.10 Otras redes de control global 241

IV Regulación del desarrollo en bacterias modelo 243
7.11 Esporulación en *Bacillus* 243
7.12 Diferenciación de *Caulobacter* 244
7.13 Fijación de nitrógeno, nitrogenasa y formación de heterocistos 245

V Regulación basada en el RNA 247
7.14 RNA reguladores: RNA no codificante y RNA antisentido 247
7.15 Ribointerruptores 248
7.16 Atenuación 249

VI Regulación de enzimas y otras proteínas 251
7.17 Inhibición por retroalimentación 251
7.18 Regulación postraduccional 252

CAPÍTULO 8

Virus y virología 257

microbiologíaactual
¿De dónde vienen los virus? 257

I La naturaleza de los virus 258
8.1 Qué es un virus 258
8.2 Estructura del virión 259
8.3 Esquema del ciclo de vida de un virus 261
8.4 Cultivo, detección y recuento de virus 262

II Ciclo de vida de los bacteriófagos 263
8.5 Unión y penetración del bacteriófago T4 263
8.6 El genoma de T4 264
8.7 Replicación del bacteriófago T4 266
8.8 Bacteriófagos atemperados y lisogenia 267

III Diversidad vírica y ecología 270
8.9 Visión general de los virus bacterianos 270
8.10 Visión general de los virus de animales 271
8.11 La virosfera y la ecología vírica 274

CAPÍTULO 9

Genomas víricos y diversidad 279

microbiologíaactual
Diversidad vírica en expansión 279

I Genomas víricos y evolución 280
9.1 Tamaño y estructura de los genomas víricos 280
9.2 Evolución vírica 282

II Virus con genomas de DNA 284

9.3 Bacteriófagos con DNA de cadena simple: ϕX174 y M13 284
9.4 Bacteriófagos con DNA de cadena doble: T7 y Mu 286
9.5 Virus de *Archaea* 288
9.6 Virus animales de DNA con sistemas de replicación únicos 289
9.7 Oncovirus de DNA 291

III Virus con genomas de RNA 292

9.8 Virus de RNA de cadena positiva 292
9.9 Virus de animales de RNA de cadena negativa 294
9.10 Virus de RNA de doble cadena 296
9.11 Virus que usan transcriptasa inversa 298

IV Agentes subvíricos 300

9.12 Viroides 300
9.13 Priones 302

CAPÍTULO 10

Genética de los dominios *Bacteria* y *Archaea* 307

microbiologíaactual
¿Virus desaparecidos o agentes secretos de transferencia genética? 307

I Mutación 308

10.1 Mutaciones y mutantes 308
10.2 Bases moleculares de la mutación 310
10.3 Tasas de mutación y de reversión 311
10.4 Mutagénesis 313

II Transferencia genética en *Bacteria* 316

10.5 Recombinación genética 316
10.6 Transformación 318
10.7 Transducción 320
10.8 Conjugación 322
10.9 Formación de cepas Hfr y movilización cromosómica 323

III Transferencia genética en *Archaea* y otros fenómenos genéticos 326

10.10 Transferencia horizontal de genes en *Archaea* 326
10.11 DNA móvil: transposones 327
10.12 Mantenimiento de la integridad del genoma: interferencia por CRISPR 329

CAPÍTULO 11

Ingeniería genética y biotecnología 335

microbiologíaactual
De patógeno a asesino de tumores 335

I Métodos de manipulación del DNA 336

11.1 Enzimas de restricción y separación de los ácidos nucleicos 336
11.2 Hibridación de ácidos nucleicos 337
11.3 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) 339
11.4 Fundamentos de clonación molecular 341
11.5 Métodos moleculares de mutagénesis 343
11.6 Fusiones génicas y genes reporteros 345

II Clonación génica 346

11.7 Los plásmidos como vectores de clonación 347
11.8 Hospedadores de los vectores de clonación 349
11.9 Vectores lanzadera y vectores de expresión 350
11.10 Otros vectores de clonación 352

III Productos de microorganismos modificados genéticamente 354

11.11 Expresión de genes de mamíferos en bacterias 354
11.12 La somatotropina y otras proteínas de los mamíferos 356
11.13 Organismos transgénicos en agricultura y acuicultura 358
11.14 Vacunas obtenidas por ingeniería genética 360
11.15 Minería genética 362
11.16 Ingeniería genética de las vías metabólicas 363
11.17 Biología sintética 364

UNIDAD 3 Diversidad microbiana

CAPÍTULO 12

Evolución y sistemática microbianas 369

microbiologíaactual
Intercambio de genes y la evolución de los *Vibrio* marinos 369

I La Tierra primitiva y el origen y la diversificación de la vida 370

12.1 Formación e historia primitiva de la Tierra 370
12.2 Fotosíntesis y oxidación de la Tierra 373
12.3 Origen endosimbiótico de los eucariotas 375

II Fósiles vivientes: el DNA como registro de la historia de la vida 377
12.4 La filogenia molecular y el árbol de la vida 377
12.5 Filogenia molecular: el sentido de las secuencias moleculares 382

III Evolución microbiana 386
12.6 El proceso evolutivo 386
12.7 La evolución de los genomas microbianos 389

EXPLORANDO EL MUNDO MICROBIANO
La hipótesis de la Reina Negra 391

IV Sistemática microbiana 392
12.8 El concepto de especie en microbiología 392
12.9 Métodos taxonómicos en sistemática 393
12.10 Clasificación y nomenclatura 397

CAPÍTULO 13

Diversidad metabólica de los microorganismos 403

microbiologíaactual
Descifrando el metabolismo microbiano 403

I Fototrofia 404
13.1 Fotosíntesis y clorofilas 404
13.2 Carotenoides y ficobilinas 408
13.3 Fotosíntesis anoxigénica 409
13.4 Fotosíntesis oxigénica 412
13.5 Rutas autótrofas 414

II Quimiolitotrofia 417
13.6 Compuestos inorgánicos como donadores de electrones 417
13.7 Oxidación del hidrógeno (H_2) 418
13.8 Oxidación de compuestos reducidos del azufre 419
13.9 Oxidación del hierro (Fe^{2+}) 421
13.10 Nitrificación y anammox 423

III Fermentaciones 426
13.11 Consideraciones energéticas y redox 426
13.12 Fermentaciones del ácido láctico y ácido-mixta 427
13.13 Fermentaciones de los clostridios *Clostridium* y del ácido propiónico 430
13.14 Fermentaciones sin fosforilación a nivel de sustrato 432
13.15 Sintrofismo 434

IV Respiración anaeróbica 436
13.16 Principios de la respiración anaeróbica 436
13.17 Reducción de nitrato y desnitrificación 437
13.18 Reducción de sulfato y de azufre 439
13.19 Acetogénesis 441
13.20 Metanogénesis 443
13.21 Otros aceptores de electrones 447

V Metabolismo de los hidrocarburos 450
13.22 Metabolismo aeróbico de los hidrocarburos 450
13.23 Metanotrofia aeróbica 451
13.24 Metabolismo anóxico de los hidrocarburos 453

CAPÍTULO 14

Diversidad funcional en *Bacteria* 461

microbiologíaactual
Un cultivo más allá 461

I La diversidad funcional como concepto 462
14.1 El sentido de la diversidad microbiana 462

II Diversidad de las bacterias fotótrofas 463
14.2 Visión general de las bacterias fotótrofas 463
14.3 Cianobacterias 464
14.4 Bacterias rojas del azufre 468
14.5 Bacterias rojas no del azufre y fotótrofas anoxigénicas aerobias 470
14.6 Bacterias verdes del azufre 471
14.7 Bacterias verdes no del azufre 472
14.8 Otras bacterias fotótrofas 474

III Diversidad bacteriana en el ciclo del azufre 475
14.9 Bacterias desasimiladoras sulfatorreductoras 475
14.10 Bacterias desasimiladoras sulforreductoras 477
14.11 Bacterias desasimiladoras oxidadoras de azufre 478

IV Diversidad bacteriana en el ciclo del nitrógeno 481
14.12 Diversidad de las bacterias fijadoras de nitrógeno 482
14.13 Diversidad de las bacterias y las arqueas nitrificantes y desnitrificantes 483

V Diversidad de otras bacterias quimiótrofas características 485
14.14 Bacterias desasimiladoras reductoras del hierro 485
14.15 Bacterias desasimiladoras oxidadoras del hierro 487
14.16 Bacterias que metabolizan el hidrógeno 488
14.17 Bacterias metanótrofas y metilótrofas 489
14.18 Bacterias del ácido acético y acetógenas 491
14.19 Bacterias depredadoras 492

VI **Diversidad morfológica de las bacterias 496**
14.20 Espiroquetas y espirilos 496
14.21 Bacterias que forman yemas, con prostecas y pedunculadas 499
14.22 Bacterias con vaina 502
14.23 Bacterias magnéticas 504
14.24 Bioluminiscencia bacteriana 504

CAPÍTULO 15

Diversidad en *Bacteria* 511

microbiologíaactual
Descubrimiento de nuevos filos microbianos 511

I ***Proteobacteria* 512**
15.1 *Alfaproteobacteria* 513
15.2 *Betaproteobacteria* 516
15.3 *Gammaproteobacteria-Enterobacteriales* 518
15.4 *Gammaproteobacteria-Pseudomonadales* y *Vibrionales* 521
15.5 *Deltaproteobacteria* y *Epsilonproteobacteria* 522

II ***Firmicutes, Tenericutes* y *Actinobacteria* 524**
15.6 *Firmicutes-Lactobacillales* 524
15.7 *Firmicutes- Bacillales* no formadores de endosporas 526
15.8 *Firmicutes-Bacillales* y *Clostridiales* no formadores de endosporas 527
15.9 *Tenericutes: Mycoplasma* 531
15.10 *Actinobacteria:* Bacterias corineformes y bacterias del ácido propiónico 532
15.11 *Actinobacteria: Mycobacterium* 534
15.12 *Actinobacteria* filamentosas: *Streptomyces* y géneros relacionados 535

III ***Bacteroidetes* 538**
15.13 Bacteroidales 538
15.14 *Cytophagales, Flavobacteriales* y *Sphingobacteriales* 539

IV ***Chlamydiae, Planctomycetes* y *Verrucomicrobia* 540**
15.15 *Chlamidiae* 540
15.16 *Planctomycetes* 542
15.17 *Verrucomicrobia* 543

V ***Bacteria* hipertermófilas 544**
15.18 *Thermotogae* y *Thermodesulfobacteria*
15.19 *Aquificae* 545

VI **Otras *Bacteria* 546**
15.20 *Deinococcus-Thermus* 546
15.21 Otros filos notables de *Bacteria* 547

CAPÍTULO 16

Diversidad en *Archaea* 553

microbiologíaactual
Las arqueas y el calentamiento global 553

I ***Euriarchaeota* 554**
16.1 *Archaea* halófilas extremas 555
16.2 *Archaea* metanógenas 559
16.3 *Thermoplasmatales* 562
16.4 *Thermococcales* y *Methanopyrus* 563
16.5 *Archaeoglobales* 564

II ***Thaumarchaeota, Nanoarchaeota* y *Korarchaeota* 565**
16.6 *Thaumarchaeota* y nitrificación en *Archaea* 565
16.7 *Nanoarchaeota* y la «bola de fuego hospitalaria» 567
16.8 *Korarchaeota* y el «filamento secreto» 568

III ***Crenarchaeota* 569**
16.9 Hábitats y metabolismo energético de los crenarqueotas 569
16.10 *Crenarchaeota* de hábitats volcánicos terrestres 571
16.11 *Crenarchaeota* de hábitats volcánicos submarinos 573

IV **Evolución y vida a altas temperaturas 575**
16.12 Un límite superior de temperatura para la vida microbiana 575
16.13 Adaptaciones moleculares a la vida a altas temperaturas 577
16.14 *Archaea* hipertermófilas, H_2 y evolución microbiana 578

CAPÍTULO 17

Diversidad de los microorganismos eucariotas 583

microbiologíaactual
Transferencia horizontal de genes en un eucariota extremófilo 583

I **Orgánulos y filogenia de los eucariotas microbianos 584**
17.1 La endosimbiosis y la célula eucariota 584
17.2 Linajes filogenéticos de *Eukarya* 585

II **Protistas 587**
17.3 Diplomónadas y parabasálidos 587
17.4 Euglenozoos 588

17.5 Alveolados 589
17.6 Estramenópilos 591
17.7 Cercozoos y radiolarios 593
17.8 Amebozoos 594

III Hongos 595
17.9 Fisiología, estructura y simbiosis de los hongos 597
17.10 Reproducción y filogenia de los hongos 599
17.11 Quitridiomicetos 600
17.12 Zigomicetos y Glomeromicetos 600
17.13 Ascomicetos 601
17.14 Setas y otros basidiomicetos 603

IV Algas rojas y verdes 604
17.15 Algas rojas 604
17.16 Algas verdes 605

UNIDAD 4 Ecología microbiana y microbiología ambiental

CAPÍTULO 18

Métodos de estudio en ecología microbiana 609

microbiologíaactual
Ensamblaje de genomas 609

I Análisis de las comunidades microbianas basados en técnicas de cultivo 610
18.1 Enriquecimiento 610
18.2 Aislamiento 614

EXPLORANDO EL MUNDO MICROBIANO
Cultivando lo no cultivado 616

II Análisis microscópico de comunidades microbianas no basados en técnicas de cultivo 617
18.3 Métodos generales de tinción 617
18.4 Hibridación fluorescente in situ (FISH) 620

III Análisis genético de comunidades microbianas no basados en técnicas de cultivo 621
18.5 Análisis de las comunidades microbianas mediante métodos basados en la PCR 621
18.6 Micromatrices para el análisis de la diversidad filogenética y funcional de los microorganismos 626
18.7 Genómica ambiental y métodos de estudio relacionados 627

IV Medición de la actividad microbiana en la naturaleza 630
18.8 Ensayos químicos, métodos radioisotópicos y microelectrodos 630
18.9 Isótopos estables 632
18.10 Vínculo de genes y funciones con organismos específicos: SIMS, citometría de flujo y MAR-FISH 634
18.11 Vínculo de genes y funciones con organismos específicos: sondeo de isótopos estables y genómica de células individuales 637

CAPÍTULO 19

Ecosistemas microbianos 643

microbiologíaactual
La vida en un mundo de limitaciones extremas de energía 643

I Ecología microbiana 644
19.1 Conceptos generales de ecología 644
19.2 Aportes de un ecosistema: biogeoquímica y ciclos de nutrientes 645

II El ambiente microbiano 646
19.3 Ambientes y microambientes 646
19.4 Superficies y biopelículas 648
19.5 Tapetes microbianos 652

III Ambientes terrestres 654
19.6 Suelos 654
19.7 El subsuelo 657

IV Ambientes acuáticos 660
19.8 Ambientes de agua dulce 660
19.9 El ambiente marino: los fotótrofos y la relación con el oxígeno 663
19.10 Principales fotótrofos marinos 665
19.11 Bacterias, arqueas y virus pelágicos 667
19.12 Las profundidades marinas y los sedimentos de las profundidades marinas 670
19.13 Las fumarolas hidrotermales 673

CAPÍTULO 20

Ciclos de nutrientes 679

microbiologíaactual
Líneas eléctricas microbianas 679

I Los ciclos del carbono, el nitrógeno y el azufre 680
20.1 El ciclo del carbono 680

20.2 Sintrofismo y metanogénesis 682
20.3 El ciclo del nitrógeno 685
20.4 El ciclo del azufre 686

II Otros ciclos de nutrientes 688
20.5 Los ciclos del hierro y del manganeso 688

EXPLORANDO EL MUNDO MICROBIANO
Cables microbianos 690

20.6 Los ciclos del fósforo, el calcio y el silicio 692

III Los humanos y los ciclos de nutrientes 694
20.7 Transformaciones del mercurio 694
20.8 Impacto de la actividad humana en los ciclos del carbono y del nitrógeno 695

CAPÍTULO 21

Microbiología del ambiente antropizado 699

microbiologíaactual
La red de transporte metropolitano: el aire que se respira 699

I Recuperación de minerales y drenaje ácido de minas 700
21.1 Uso de los microorganismos en la minería 700
21.2 Drenaje ácido de minas 702

II Biorremediación 703
21.3 Biorremediación de ambientes contaminados con uranio 703
21.4 Biorremediación de contaminantes orgánicos: hidrocarburos 704
21.5 Biorremediación de contaminantes orgánicos: plaguicidas y plásticos 706

III Tratamiento de las aguas residuales y del agua para consumo humano 708
21.6 Tratamiento primario y secundario de aguas residuales 708
21.7 Tratamiento avanzado de aguas residuales 711
21.8 Purificación y estabilización del agua para consumo humano 713
21.9 Sistemas de distribución de agua municipales y privados 715

IV Corrosión relacionada con los microorganismos 716
21.10 Corrosión de metales relacionada con los microorganismos 716
21.11 Biodeterioro de la piedra y el hormigón

CAPÍTULO 22

Simbiosis microbianas 723

microbiologíaactual
Un trío simbiótico mantiene los ecosistemas de las praderas marinas 723

I Simbiosis entre microorganismos 724
22.1 Líquenes 724
22.2 «*Chlorochromatium aggregatum*» 725

II Las plantas como hábitats microbianos 727
22.3 La simbiosis de los nódulos radicales de las leguminosas 727
22.4 *Agrobacterium* y la agalla de corona 732
22.5 Micorrizas 734

III Los mamíferos como hábitats microbianos 736
22.6 El intestino de los mamíferos 736
22.7 El rumen y los rumiantes 738
22.8 El microbioma humano 742

IV Los insectos como hábitats microbianos 746
22.9 Simbiontes hereditarios de los insectos 746

EXPLORANDO EL MUNDO MICROBIANO
Los múltiples simbiontes microbianos de las hormigas cultivadoras de hongos 749

22.10 Los termes 750

V Los invertebrados acuáticos como hábitats microbianos 752
22.11 Los sepiólidos 752
22.12 Invertebrados marinos de las fumarolas hidrotermales y las emanaciones frías 753
22.13 Las sanguijuelas 755
22.14 Los corales constructores de arrecifes 757

UNIDAD 5 Patogenia e inmunología

CAPÍTULO 23

Interacciones de los microorganismos con los humanos 763

microbiologíaactual
El microbioma fúngico de la piel 763

I Interacciones normales entre humanos y microorganismos 764
23.1 Interacciones beneficiosas entre humanos y microorganismos 764
23.2 Microbiota de la piel 765
23.3 Microbiota de la cavidad bucal 766
23.4 Microbiota del tubo digestivo 767
EXPLORANDO EL MUNDO MICROBIANO
Probióticos 770
23.5 Microbiota de las mucosas 771

II Patogenia 772
23.6 Patogenia y virulencia 772
23.7 Adherencia 773
23.8 Invasión, infección y factores de virulencia 776
23.9 Exotoxinas 779
23.10 Endotoxinas 783

III Factores del hospedador en la infección y la enfermedad 784
23.11 Resistencia innata a la infección 785
23.12 Factores de riesgo para la infección 786

CAPÍTULO 24
Inmunidad y defensa del hospedador 791
microbiologíaactual
¿Una cura para la alergia a los cacahuetes? 791

I Inmunidad 792
24.1 Células y órganos del sistema inmunitario 792
24.2 Inmunidad innata 795
24.3 Inmunidad adaptativa 796
24.4 Anticuerpos 797

II Defensas del hospedador 799
24.5 Inflamación 800
24.6 Inmunidad e inmunización 801
24.7 Estrategias de inmunización 806
EXPLORANDO EL MUNDO MICROBIANO
Vacunas y salud pública 807

III Enfermedades inmunitarias 808
24.8 Alergia, hipersensibilidad y autoinmunidad 808
24.9 Superantígenos: sobreactivación de los linfocitos T 811

CAPÍTULO 25
Mecanismos inmunitarios 817
microbiologíaactual
¿Por qué las vacunas llevan alumbre? 817

I Mecanismos inmunitarios básicos 818
25.1 Mecanismos de respuesta innata 818
25.2 Propiedades de la respuesta adaptativa 820

II Antígenos y presentación de antígenos 821
25.3 Inmunógenos y antígenos 822
25.4 Presentación de antígenos a los linfocitos T 823

III Linfocitos T e inmunidad 825
25.5 Células T citotóxicas y linfocitos citocidas naturales 826
25.6 Linfocitos T colaboradores 826

IV Anticuerpos e inmunidad 829
25.7 Estructura de los anticuerpos 830
25.8 Producción de anticuerpos 832
25.9 Anticuerpos, complemento y destrucción de patógenos 834

CAPÍTULO 26
Inmunología molecular 839
microbiologíaactual
Los antiguos homínidos ayudaron a conformar la inmunidad moderna 839

I Receptores e inmunidad 840
26.1 Inmunidad innata y reconocimiento de estructuras 840
EXPLORANDO EL MUNDO MICROBIANO
Los receptores Toll de Drosophila: una respuesta antigua a las infecciones 842
26.2 La inmunidad adaptativa y la superfamilia de las inmunoglobulinas 842

II El complejo principal de histocompatibilidad (MHC) 845
26.3 Proteínas MHC 845
26.4 Polimorfismo MHC, poligenia y unión del antígeno 846

III Anticuerpos y receptores de linfocitos T 847
26.5 Anticuerpos y unión a antígenos 847
26.6 Genes de los anticuerpos y diversidad 848
26.7 Los receptores de las células T: proteínas, genes y diversidad 850

IV Interruptores moleculares en la inmunidad 852
26.8 Selección clónica y tolerancia 852
26.9 Activación de las células T y B 854
26.10 Citocinas y quimiocinas 855

CAPÍTULO 27

Microbiología diagnóstica 861

microbiologíaactual
Los antibióticos y las abejas 861

I El ambiente clínico 862
27.1 Seguridad en el laboratorio de microbiología 862
27.2 Infecciones hospitalarias 863

II Identificación microbiológica de los patógenos 865
27.3 Detección directa de patógenos 865
27.4 Métodos de identificación dependientes del cultivo 870
27.5 Análisis de susceptibilidad a los fármacos antimicrobianos 870

III Métodos diagnósticos no dependientes del cultivo 872
27.6 Inmunoensayo para enfermedades infecciosas 872
27.7 Aglutinación 873
27.8 Inmunofluorescencia 874
27.9 Inmunoensayo enzimático, pruebas rápidas e inmunotransferencias 876
27.10 Amplificación de ácidos nucleicos 879

IV Fármacos antimicrobianos 880
27.11 Fármacos antimicrobianos sintéticos 880
27.12 Fármacos antimicrobianos naturales: antibióticos 883
27.13 Antibióticos β-lactámicos: penicilinas y cefalosporinas 883
27.14 Antibióticos producidos por bacterias 884
27.15 Antivíricos 886
27.16 Antimicóticos 887

V Resistencia a fármacos antimicrobianos 889
27.17 Mecanismos de resistencia y propagación 889
27.18 Nuevos fármacos antimicrobianos 893

UNIDAD 6 Las enfermedades infecciosas y su transmisión

CAPÍTULO 28

Epidemiología 899

microbiologíaactual
El síndrome respiratorio por coronavirus de Oriente Medio (MERS-CoV): una enfermedad emergente 899

I Principios de epidemiología 900
28.1 Fundamentos de la epidemiología 900
28.2 La comunidad de hospedadores 902
28.3 Transmisión de las enfermedades infecciosas 904

EXPLORANDO EL MUNDO MICROBIANO
SARS: Un modelo de éxito epidemiológico 907

28.4 Reservorios de las enfermedades y epidemias 908

II Epidemiología y salud pública 909
28.5 Salud pública y enfermedades infecciosas 909
28.6 Consideraciones sobre salud mundial 912

III Enfermedades infecciosas emergentes 913
28.7 Enfermedades infecciosas emergentes y reemergentes 913
28.8 Guerra biológica y armas biológicas 917

IV Pandemias actuales 920
28.9 La pandemia de sida 920
28.10 La pandemia de cólera 922
28.11 La pandemia de gripe 923

CAPÍTULO 29

Enfermedades bacterianas y víricas de transmisión persona a persona 929

microbiologíaactual
¿Se avecina otra pandemia de gripe? 929

I Enfermedades bacterianas de transmisión aérea 930
29.1 Patógenos que se propagan por el aire 930
29.2 Enfermedades estreptocócicas 931
29.3 Difteria y tosferina 934
29.4 Tuberculosis y lepra 936
29.5 Meningitis y meningococcemia 938

II Enfermedades víricas de transmisión aérea 939
29.6 Virus e infecciones respiratorias 939
29.7 Resfriados 941
29.8 Gripe 942

III Enfermedades por contacto directo 945
29.9 Infecciones por *Staphylococcus aureus* 945

29.10 Helicobacter pylori y las úlceras gástricas 947
29.11 Los virus de la hepatitis 947

IV Infecciones de transmisión sexual 949
29.12 La gonorrea y la sífilis 949
29.13 Chlamydia, herpes y virus del papiloma humano 952
29.14 Síndrome de inmunodeficiencia adquirida: VIH/sida 955

CAPÍTULO 30

Enfermedades bacterianas y víricas transmitidas por insectos vectores o de transmisión edáfica 963

microbiologíaactual
Los murciélagos vampiro y la rabia 963

I Enfermedades víricas transmitidas por animales 964
30.1 La rabia y el virus de la rabia 964
30.2 Síndromes por hantavirus 965

EXPLORANDO EL MUNDO MICROBIANO
Manejo de los virus de las fiebres hemorrágicas víricas 967

II Enfermedades bacterianas y víricas transmitidas por artrópodos 967
30.3 Enfermedades causadas por rickettsias 967
30.4 La enfermedad de Lyme y *Borrelia* 970
30.5 La fiebre amarilla y el dengue 972
30.6 La fiebre del Nilo occidental 973
30.7 La peste 974

III Enfermedades bacterianas de transmisión edáfica 976
30.8 El carbunco 976
30.9 El tétanos y la gangrena gaseosa 977

CAPÍTULO 31

El agua y los alimentos como vehículos de enfermedades bacterianas 983

microbiologíaactual
El «pruno» de la cárcel esconde un ponche mortal 983

I El agua como vehículo de enfermedades 984
31.1 Agentes y origen de las enfermedades transmitidas por el agua 984
31.2 Salud pública y calidad del agua 985

II Enfermedades transmitidas por el agua 986
31.3 *Vibrio cholerae* y cólera 986
31.4 La legionelosis 988
31.5 La fiebre tifoidea y la enfermedad causada por el norovirus 989

III Los alimentos como vehículos de enfermedades 990
31.6 Deterioro y conservación de los alimentos 990
31.7 Enfermedades de transmisión alimentaria y epidemiología alimentaria 992

IV Intoxicaciones alimentarias 994
31.8 Intoxicación alimentaria por estafilococos 994
31.9 Intoxicación alimentaria por clostridios 995

V Infecciones alimentarias 997
31.10 Salmonelosis 997
31.11 Cepas patógenas de *Escherichia coli* 998
31.12 *Campylobacter* 999
31.13 Listeriosis 1000
31.14 Otras enfermedades infecciosas de transmisión alimentaria 1001

CAPÍTULO 32

Patógenos eucariotas: enfermedades fúngicas y parasitarias 1007

microbiologíaactual
Hongos mortales 1007

I Infecciones fúngicas 1008
32.1 Hongos de importancia en medicina y mecanismos de producción de enfermedades 1008
32.2 Micosis 1010

II Infecciones parasitarias de las vísceras 1012
32.3 Amebas y ciliados: *Entamoeba, Naegleria* y *Balantidium* 1012
32.4 Otros parásitos viscerales: *Giardia, Trichomonas, Cryptosporidium, Toxoplasma* y *Cyclospora* 1013

III Infecciones parasitarias de la sangre y los tejidos 1015

32.5 *Plasmodium* y la malaria 1015
32.6 Leishmaniasis, tripanosomiasis y enfermedad de Chagas 1017
32.7 Helmintos parásitos: esquistosomiasis y filariasis 1018

Apéndice 1 Cálculo bioenergético microbiano 1023
Apéndice 2 *Manual de Bergey de Bacteriología Sistemática,* segunda edición 1027

Glosario 1029
Créditos de las fotografías 1051
Índice alfabético 1057

CAPÍTULO

1· Microorganismos y microbiología

microbiología **actual**

La vida microbiana está en todas partes

Cuando nos embarcamos en el viaje al mundo microbiano, nos quedamos atónitos al descubrir en qué regiones de la naturaleza viven los microorganismos. Para decirlo brevemente: viven en todas partes, incluso en sitios demasiado inhóspitos para ellos mismos. Por ejemplo, un equipo de investigación que estudiaba el lago Vida (en español, en el original), cubierto de hielos perpetuos, en los Valles Secos de McMurdo, en la Antártida (foto superior), encontró bacterias vivas inmersas en una solución salina ¡a –13 ºC!, muy por debajo del punto de congelación normal. Estos microorganismos resistentes fueron descubiertos por microbiólogos que llevaban ropa protectora para evitar contaminaciones durante el proceso de perforación (fotos inferiores).

Según se demostró, las bacterias del lago Vida, un grupo metabólico de organismos llamados psicrófilos (término que significa «amantes del frío») podían llevar a cabo diversas reacciones metabólicas a la temperatura de su helado hogar. Para clasificar aquellos organismos se usaron genes específicos aislados de las diversas bacterias del lago Vida. Los estudios futuros de sus huellas genéticas —sus genomas— pueden ayudar a descubrir los secretos ocultos en sus genes que permiten a estos organismos crecer tan bien en el frío perpetuo.

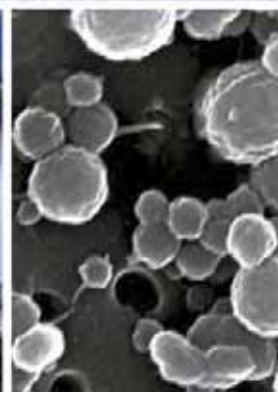
El lago Vida es atípico incluso entre los lagos antárticos, ya que su cubierta de hielo se extiende hasta el fondo. La luz del sol, presente solo durante la mitad del año, no puede penetrar hasta lo profundo del lago. Por tanto, probablemente las bacterias que viven allí crecen metabolizando, si bien muy lentamente, el carbono orgánico que quedó atrapado en el hielo cuando el lago se congeló, hace miles de años.

Los microbiólogos estudian las bacterias que habitan en ambientes extremos para descubrir los límites ambientales de la vida y encontrar productos exclusivos de esas bacterias que puedan resultar beneficiosos para los seres humanos y para nuestro planeta. Pero además de contribuir a la ciencia básica y aplicada, las bacterias del lago Vida son modelos de las formas de vida que podrían habitar otros mundos helados, como Marte o Europa, una de las lunas de Júpiter.

Murray, A. E., *et al.* Microbial life at –13 ºC in the brine of an ice-sealed Anctartic lake. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 109:* 20626-20631.







I Introducción y aspectos fundamentales de la microbiología 2

II La microbiología en su contexto histórico 13

I • Introducción y aspectos fundamentales de la microbiología

1.1 ¿Qué estudia la microbiología y por qué es importante?

La ciencia de la microbiología estudia los **microorganismos** y cómo funcionan, especialmente las bacterias, un grupo muy grande de células muy pequeñas (**Figura 1.1**) que tienen una importancia básica y práctica enorme. La microbiología también estudia la diversidad y la evolución de las células microbianas, cómo surgieron los diferentes tipos de microorganismos y por qué. La microbiología abarca la ecología, de manera que también estudia en qué lugares del planeta viven, cómo se asocian y cooperan los microorganismos entre sí, y qué influencia tienen en el mundo en general, en los suelos y las aguas, así como en los animales y las plantas.

La ciencia de la microbiología gira en torno a dos temas relacionados: (1) la comprensión de la naturaleza y el funcionamiento del mundo microbiano, y (2) la aplicación de nuestra comprensión del mundo bacteriano al beneficio de la humanidad y del planeta Tierra. Como ciencia biológica *básica*, la microbiología utiliza las células microbianas para investigar los procesos fundamentales de la vida. De esta manera, los microbiólogos han desarrollado un conocimiento complejo de las bases químicas y físicas de la vida, y han descubierto que todas las células tienen mucho en común. Como ciencia biológica *aplicada*, la microbiología está a la cabeza de muchos avances importantes en medicina, en veterinaria, en agricultura y en la industria. Desde las enfermedades infecciosas hasta la fertilidad de los suelos o el combustible que utilizamos en los automóviles, los microorganismos afectan a la vida diaria de los humanos de muy diversas maneras, tanto beneficiosas como perjudiciales.

Los microorganismos existían en la Tierra miles de millones de años antes de que aparecieran las plantas y los animales y, como veremos más adelante, la diversidad genética y fisiológica de la vida microbiana es inmensamente más grande que la de las plantas y los animales. Si bien los microorganismos son las formas de vida más pequeñas (Figura 1.1), en conjunto constituyen el grueso de la biomasa de la Tierra, y llevan a cabo muchas reacciones químicas necesarias para los organismos superiores. Sin los microorganismos, las formas de vida superiores no habrían aparecido nunca y no serían capaces de sobrevivir. De hecho, incluso el oxígeno que respiramos es el resultado de la actividad microbiana en el pasado. Además, tanto los humanos como los animales y las plantas dependen completamente de la actividad microbiana para reciclar los nutrientes fundamentales y degradar la materia orgánica. Así pues, podemos afirmar que no hay ninguna otra forma de vida más importante que los microorganismos para el mantenimiento de la vida en la Tierra.

En este capítulo comienza nuestro viaje al mundo microbiano. Empezaremos a descubrir qué son y qué hacen los microorganismos, y exploraremos su historia evolutiva y su influencia en la Tierra. También situaremos la microbiología en un contexto histórico, como proceso del descubrimiento científico. Iremos desplegando el mundo microbiano desde las contribuciones más importantes de los primeros microbiólogos hasta la de los científicos actuales.

MINIRREVISIÓN

- Si la vida microbiana no hubiera evolucionado, ¿estaríamos hoy aquí? Dé una buena razón de por qué sí o por qué no.
- ¿Por qué las células microbianas son herramientas útiles para la ciencia básica? ¿Por qué los microorganismos son importantes para los seres humanos?

1.2 Estructura y actividad de las células microbianas

Las células microbianas son compartimentos vivos que interaccionan con su entorno y con otras células de forma dinámica.

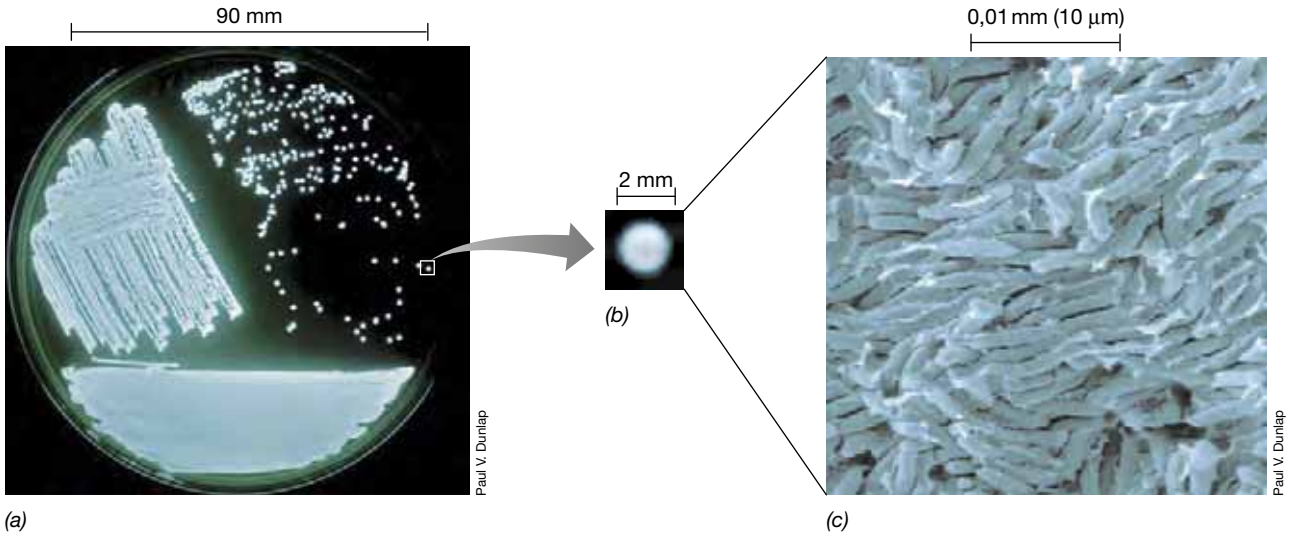


Figura 1.1 Células microbianas. *(a)* Colonias bioluminiscentes (que emiten luz) de la bacteria *Photobacterium* en un cultivo de laboratorio en una placa de Petri. *(b)* Una sola colonia puede contener más de 10 millones (10^7) de células individuales. *(c)* Micrografía electrónica de barrido de células de *Photobacterium*.

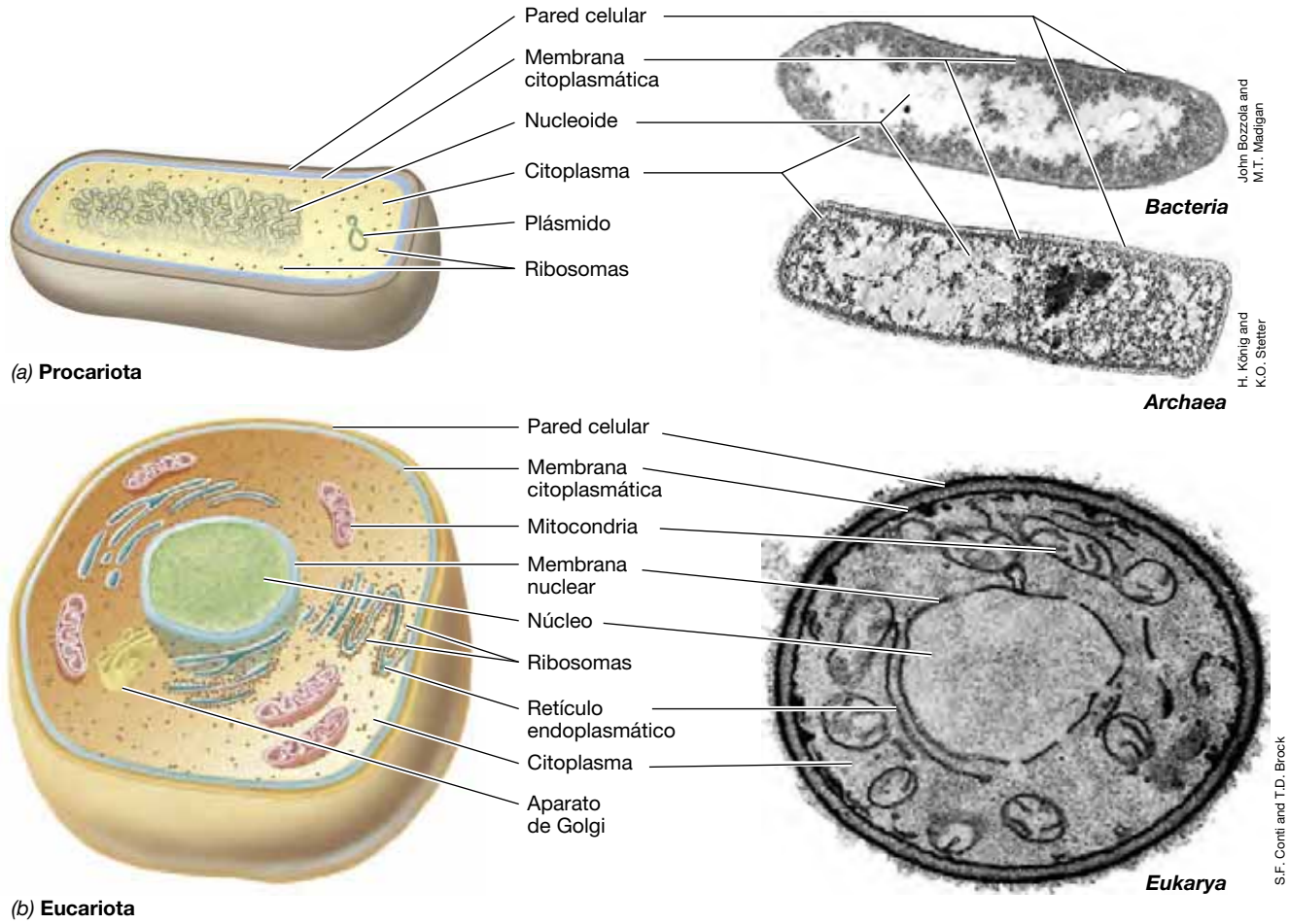


Figura 1.2 **Estructura de una célula microbiana.** *(a)* (Izquierda) Esquema de una célula procariota. (Derecha) Micrografía electrónica de *Heliobacterium modesticaldum* (*Bacteria*, la célula tiene un diámetro aproximado de 1 µm) y *Thermoproteus neutrophilus* (*Archaea*, célula con un diámetro aproximado de 0,5 µm). *(b)* (Izquierda) Esquema de una célula eucariota. (Derecha) Micrografía electrónica de una célula de *Saccharomyces cerevisiae* (*Eukarya*, célula con un diámetro aproximado de 8 µm).

En el Capítulo 2 examinaremos en detalle la estructura de las células, y asociaremos estructuras específicas a funciones concretas. Aquí mostraremos una panorámica de las estructuras y las actividades microbianas. Hemos excluido los virus a propósito, porque aunque parecen células en muchos aspectos, los virus no son células, sino una categoría especial de microorganismos. Su estructura, diversidad y actividad las estudiaremos en los Capítulos 8 y 9.

Elementos de la estructura microbiana

Todas las células tienen muchas cosas en común y contienen muchos componentes iguales (Figura 1.2). Todas tienen una barrera de permeabilidad llamada **membrana citoplasmática**, que separa el interior de la célula, el **citoplasma**, del exterior. El citoplasma es una mezcla acuosa de **macromoléculas** —proteínas, lípidos, ácidos nucleicos y polisacáridos—, pequeñas moléculas orgánicas (principalmente precursores de macromoléculas), diversos iones inorgánicos, y **ribosomas**, las estructuras celulares donde se sintetizan las proteínas. La **pared celular** aporta rigidez estructural a la célula; se trata de una estructura relativamente permeable ubicada en el exterior de la membrana, y es una capa mucho más resistente que la propia membrana. Las células vegetales y la mayoría de los microorganismos tienen pared celular, mientras que las células animales, con raras excepciones, carecen de ella.

Un análisis detallado de su estructura interna pone de manifiesto la existencia de dos tipos de células, las **procariotas** y las **eucariotas**. Las células procariotas son propias de *Bacteria* y *Archaea*; suelen ser pequeñas y de estructura bastante sencilla (Figura 1.2*a*). Las células eucariotas son típicamente mucho mayores que las procariotas y contienen una serie de estructuras citoplasmáticas, llamadas **orgánulos**, rodeadas por membranas (Figura 1.2*b*). Entre los orgánulos, los más importantes son el núcleo, que contiene el DNA, y las mitocondrias y los cloroplastos, orgánulos especializados en suministrar energía a la célula, aunque hay algunos otros. Los microorganismos eucariotas comprenden las algas, los protozoos y otros protistas, y los hongos. Las células de las plantas y las de los animales también son eucariotas. A pesar de las claras diferencias *estructurales* entre procariotas y eucariotas (Figura 1.2), la palabra «procariota» no implica ninguna relación *evolutiva*. Como veremos en la sección siguiente, aunque las especies de *Bacteria* y *Archaea* pueden *parecer* semejantes, no están estrechamente relacionadas en sentido evolutivo.

Genes, genomas, núcleo y nucleoide

Los procesos vitales de una célula están controlados por su conjunto de genes, el **genoma**. Un gen es un segmento de DNA que codifica una proteína o una molécula de RNA. El genoma es el proyecto de vida de un organismo; las características, actividades y la propia supervivencia de una célula están gobernadas por su genoma. Los genomas procariota y eucariota están organizados de forma diferente. En los eucariotas, el DNA está presente como moléculas lineales en el interior de un **núcleo** rodeado por una membrana. En cambio, el genoma de *Bacteria* y *Archaea* suele ser un cromosoma circular cerrado (aunque algunos procariotas tienen cromosomas lineales). El cromosoma se agrega en el interior de la célula formando el **nucleoide**, una masa visible bajo el microscopio electrónico (Figura 1.2*a*). La mayoría de los procariotas tienen un solo cromosoma, pero muchos contienen también uno o más círculos pequeños de DNA diferente al del cromosoma, que llamamos *plásmidos*. Los plásmidos normalmente contienen genes que confieren propiedades especiales a la célula (como un metabolismo especial, o la resistencia a algún antibiótico) en lugar de genes esenciales, necesarios en cualesquiera condiciones de crecimiento. Esto contrasta con los genes del cromosoma, la mayoría de los cuales son necesarios para la supervivencia básica de la célula.

¿Cuántos genes tiene una célula? Sabemos que este número es muy variable gracias a la gran cantidad de genomas que se han secuenciado. El genoma de la bacteria modelo *Escherichia coli* tiene un tamaño bastante típico; se trata de un solo cromosoma circular de 4.639.221 pares de bases de DNA, organizadas en 4.288 genes. Los genomas de algunos procariotas son el triple de grandes, mientras que los de otros contienen hasta veinte veces menos genes. Las células eucariotas normalmente tienen genomas mucho mayores que las procariotas. Una célula humana, por ejemplo, tiene unas mil veces más DNA que una célula de *E. coli*, y unas siete veces más genes.

Actividad de las células microbianas

¿Qué actividades realizan las células microbianas? Más adelante veremos que en la naturaleza las células microbianas suelen vivir en grupos llamados *comunidades microbianas*. En la Figura 1.3 se muestran algunas de las actividades celulares que se llevan a cabo en una comunidad microbiana. Todas las células presentan alguna forma de **metabolismo**, tomando nutrientes del medio y transformándolos en nuevo material celular y productos de desecho. Durante estas transformaciones, la energía se conserva y la célula puede utilizarla para la síntesis de nuevas estructuras. La producción de estas estructuras nuevas culmina con la división de la célula para dar lugar a dos células. En microbiología utilizamos el término **crecimiento** para referirnos al aumento del número de células como resultado de la división celular.

Durante el metabolismo y el crecimiento, en las células se realizan actividades tanto genéticas como metabólicas, se inicia el flujo de información biológica y se ponen en marcha las rutas metabólicas. Por lo que respecta a la genética, se replica el genoma de la célula y se sintetizan las proteínas necesarias para llevar a cabo el crecimiento en unas condiciones determinadas mediante los procesos secuenciales de *transcripción* y *traducción* (Figura 1.3). Para estas actividades es necesario que la maquinaria catalítica de la célula —sus **enzimas**— lleven a cabo las reacciones que suministran la energía y los precursores necesarios para la biosíntesis de todos los componentes celulares. Las actividades catalíticas y genéticas de una célula microbiana están coordinadas y minuciosamente reguladas para asegurar que el nuevo material celular se sintetiza en el orden y la concentración necesarios, y que la célula sigue óptimamente adaptada a su entorno.

Muchas células microbianas presentan **motilidad**, normalmente por autopropulsión (Figura 1.3). La motilidad permite a las células alejarse de condiciones desfavorables y explotar nuevos recursos y oportunidades de crecimiento. Algunas células microbianas experimentan **diferenciación**, que puede causar la formación de células modificadas especializadas para el crecimiento, la dispersión o la supervivencia. Las células responden a señales químicas de su entorno, como las producidas por otras células de la misma especie o de especies diferentes, y estas señales a menudo desencadenan nuevas actividades celulares. Así pues, las células microbianas presentan **comunicación** intercelular: son «conscientes» de sus vecinos y pueden responder en consecuencia. Muchas células procariotas también pueden transferir o aceptar genes de sus células vecinas, ya sean de la misma especie o de especies diferentes, en un proceso de **intercambio genético**.

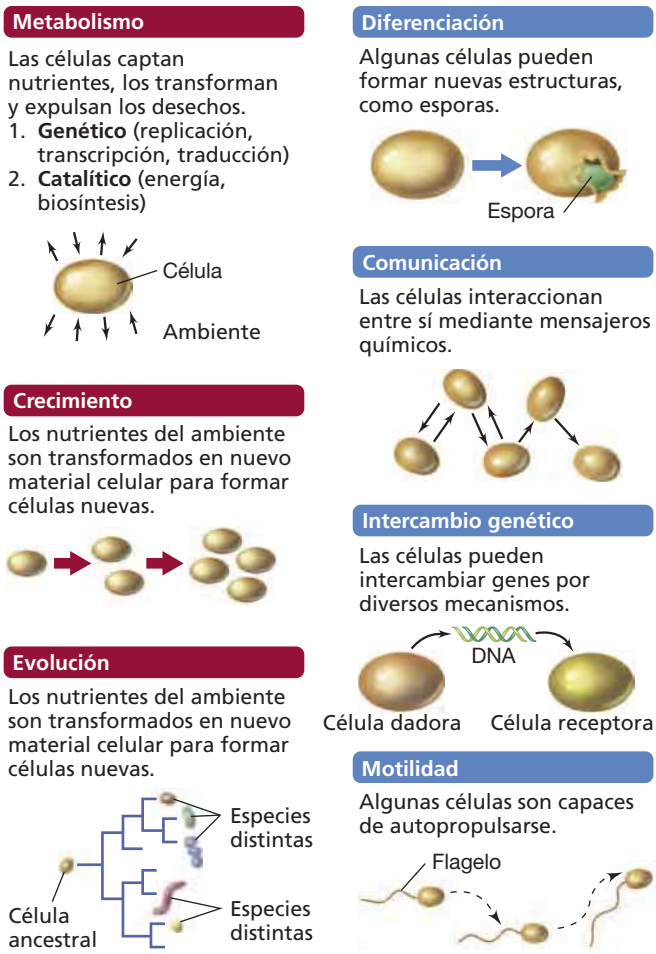


Figura 1.3 Propiedades de las células microbianas. Se muestran las principales actividades que tienen lugar en las células de las comunidades microbianas.

La **evolución** (Figura 1.3) es el proceso de descendencia con modificación en el que se seleccionan variantes genéticas (mutantes) en función de sus aptitudes reproductoras. Aunque sabemos por la biología elemental que la evolución es un proceso muy lento, en las células microbianas puede ser muy rápida cuando la presión selectiva es fuerte. Por ejemplo, en la actualidad estamos siendo testigos de cómo los genes que codifican resistencia a antibióticos en bacterias patógenas (que causan enfermedades) se han seleccionado y distribuido ampliamente por el uso indiscriminado de antibióticos en medicina y en veterinaria. El intercambio genético entre células procariotas, que es independiente de la evolución (Figura 1.3), también puede acelerar significativamente la adaptación de las células a nuevos hábitats o a condiciones que cambian rápidamente.

No todos los procesos mostrados en la Figura 1.3 se dan en todas las células. No obstante, el metabolismo, el crecimiento y la evolución son universales. Echemos ahora un vistazo a los resultados de la evolución microbiana representados por la enorme diversidad que la microbiología moderna nos ha desvelado.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué funciones importantes desempeñan las siguientes partes de una célula: membrana citoplasmática, ribosomas y pared celular?
- ¿Qué clase de células tienen núcleo? ¿Y nucleoide? ¿Qué es el genoma de una célula y por qué es importante?
- ¿Qué significan los términos *crecimiento* y *motilidad* en microbiología?

1.3 Evolución y diversidad de las células microbianas

Los microorganismos fueron las primeras entidades en la Tierra con las propiedades que asociamos con la vida. ¿Cómo se originaron las células microbianas y que relación tienen entre sí las actuales?

Las primeras células y el comienzo de la evolución

Como todas las células tienen una estructura similar, se piensa que todas ellas descienden de un ancestro común, el *último antepasado común universal* (LUCA, del inglés, «last universal common ancestor»). Tras la formación de las primeras células a partir de material inerte, un proceso que ocurrió a lo largo de cientos de millones de años, su crecimiento posterior formó poblaciones de células y estas empezaron a interaccionar con otras poblaciones de células para formar comunidades microbianas. Con el tiempo, la evolución y el intercambio genético proporcionaron variantes que se pudieron seleccionar por las mejoras que hicieron más probable su éxito y su supervivencia. Lo que vemos hoy en día es el increíble resultado de estos procesos, que llevan ocurriendo desde hace casi cuatro mil millones de años.

La vida en la Tierra a lo largo del tiempo

La Tierra tiene unos 4.600 millones de años, y hay pruebas que demuestran que las células microbianas aparecieron por vez primera hace entre 3.800 y 3.900 millones de años (Figura 1.4). Durante los primeros 2.000 millones de años de existencia de la Tierra, su atmósfera era anóxica (no había O_2) y solo había nitrógeno (N_2), dióxido de carbono (CO_2) y unos pocos gases más. Únicamente los microorganismos capaces de llevar a cabo metabolismos anaerobios podían sobrevivir en esas condiciones. Los microorganismos fotótrofos (organismos que captan la energía de la luz del sol) se originaron durante los primeros mil millones de años desde la formación de la Tierra. Los primeros fotótrofos eran relativamente simples, como las bacterias rojas o verdes y otros fotótrofos anoxigénicos (que no liberan oxígeno) (Figura 1.5*a*). Las cianobacterias (fotótrofos que liberan oxígeno) (Figura 1.5*b*) surgieron a partir de los fotótrofos anoxigénicos aproximadamente mil millones de años después y dieron inicio al lento proceso de oxigenar la atmósfera terrestre. El aumento de O_2 en la atmósfera desencadenó finalmente la aparición de formas de vida multicelulares que siguieron aumentando su complejidad hasta culminar en las plantas y los animales que

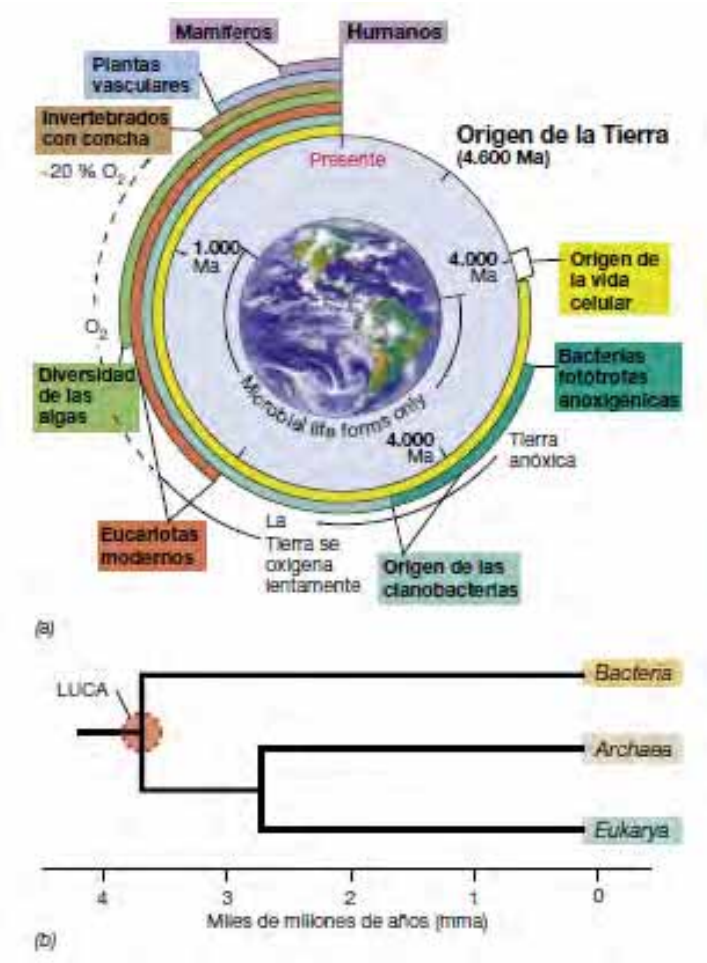
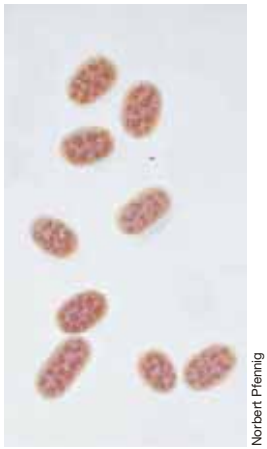
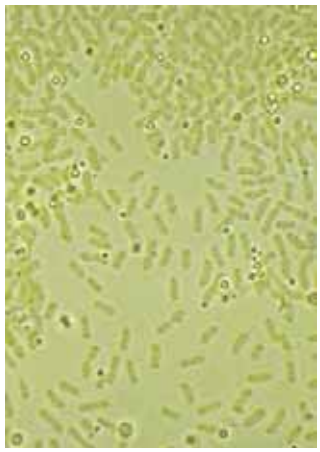


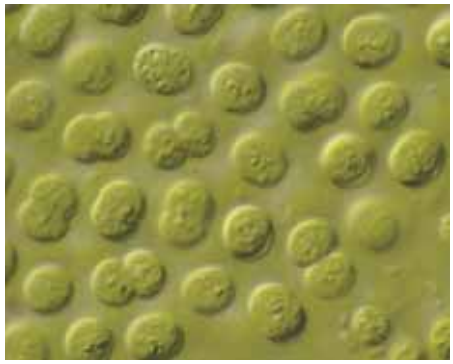
Figura 1.4 Resumen de la vida en la Tierra a lo largo del tiempo y origen de los dominios celulares. *(a)* La vida celular estaba presente en la Tierra como mínimo hace 3.800 millones de años (Ma). Las cianobacterias empezaron a oxigenar la Tierra lentamente hace unos 3.000 Ma, pero los niveles actuales de O_2 en la atmósfera no se alcanzaron hasta hace unos 500-800 Ma. Los eucariotas son células nucleadas (Figura 1.2*b*) e incluyen organismos microbianos y multicelulares. *(b)* Los tres dominios de organismos celulares son *Bacteria*, *Archaea* y *Eukarya*. *Archaea* y *Eukarya* divergieron mucho antes de que las células nucleadas con orgánulos (los «eucariotas modernos» en el apartado *a)* aparecieran en el registro fósil. LUCA, el último ancestro universal común.


Norbert Pfennig

(a)


Norbert Pfennig

(b)


Thomas D. Brock

(c)

Figura 1.5 Microorganismos fotótrofos. *(a)* Bacterias rojas del azufre y *(b)* bacterias verdes del azufre (ambas fotótrofas anoxigénicas). *(c)* Cianobacterias (fotótrofas oxigénicas). Las bacterias rojas y verdes aparecieron en la Tierra mucho antes de que evolucionaran los fotótrofos oxigénicos (véase la Figura 1.4*a*).

conocemos en la actualidad. Pero las plantas y los animales solo existen desde hace unos quinientos cincuenta millones. La línea cronológica de la vida en la Tierra (Figura 1.4*a*) muestra que el 80 % de la historia de la vida fue exclusivamente microbiana, de manera que, en muchos sentidos, la Tierra se puede considerar un planeta microbiano.

A medida que tenían lugar los acontecimientos evolutivos, se fueron distinguiendo tres grandes linajes de células microbianas: *Bacteria*, *Archaea* y *Eukarya* (Figura 1.4*b*); los microorganismos de *Eukarya* fueron los ancestros de las plantas y los animales. Estos grandes linajes reciben el nombre de **dominios**. A lo largo de períodos de tiempo enormes, la selección natural fue llenando todos los entornos aptos de la Tierra con microorganismos, el origen de cuya ascendencia puede rastrearse hasta uno de estos tres dominios.

Diversidad microbiana

La determinación de la historia filogenética del mundo microbiano —y, por tanto, la constatación de su verdadera diversidad— tuvo que esperar hasta la aparición de las herramientas con las que poder llevar a cabo la tarea. A diferencia de las plantas y los animales, de los que se podían utilizar huesos, fósiles, hojas y otros elementos para intentar reconstruir la filogenia, no existían restos de este tipo que pudieran utilizarse como guía en la construcción de un árbol evolutivo microbiano. No obstante, en los últimos cuarenta años se han llevado a cabo descubrimientos que demuestran claramente que cada célula contiene el registro de su historia evolutiva en sus genes. Por razones que presentaremos en capítulos sucesivos, los genes que codifican los *RNA ribosómicos* se han erigido en barómetros excelentes de la diversidad microbiana. Los RNA ribosómicos son componentes de los ribosomas (Figura 1.2), las estructuras que sintetizan proteínas nuevas como parte del proceso de traducción. La tecnología para obtener la filogenia de un microorganismo a partir de los genes de su RNA ribosómico está muy desarrollada, y con solo unas pocas células se puede construir un árbol filogenético que revele la posición de cualquier organismo respecto de sus vecinos (**Figura 1.6*a***).

A medida que el árbol filogenético del RNA ribosómico iba tomando cuerpo (Figura 1.6*b*), se hacía patente la existencia de miles de especies nuevas de *Bacteria* y *Archaea*, así como de cientos de especies de *Eukarya* microbianas (el árbol de la Figura 1.6*b* solo muestra unos cuantos linajes relevantes). El árbol de la vida también puso de manifiesto dos hechos importantes que previamente se desconocían: (1) *Bacteria* y *Archaea* son filogenéticamente diferentes a pesar de compartir muchas características estructurales (Figura 1.2*a*), y (2) las *Archaea* están más estrechamente emparentadas con *Eukarya* que con *Bacteria*. Desde el último ancestro universal común de todas las células (Figura 1.4*b*), la evolución siguió dos caminos para formar los dominios *Bacteria* y *Archaea*. Más tarde, el dominio *Archaea* divergió para separar a *Eukarya* de *Archaea* (Figuras 1.4*b* y 1.6*b*).

Las herramientas para generar las filogenias microbianas a partir de cultivos puros de microorganismos (Figura 1.6*a*) se han adaptado para su uso en ambientes naturales con el fin de investigar la diversidad de las comunidades microbianas. Estas técnicas han mejorado mucho nuestra imagen de la diversidad microbiana y nos han llevado a la asombrosa conclusión de que la mayoría de los microorganismos que existen en la Tierra todavía no se han cultivado en el laboratorio. Según parece, nuestra comprensión de la diversidad microbiana está todavía en sus inicios. No obstante, el árbol universal de la vida nos proporciona un mapa con el que guiarnos en el trabajo futuro sobre diversidad microbiana y nos ha desvelado el concepto previamente escondido de los tres dominios evolutivos de la vida.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cuántos años tiene la Tierra y cuándo aparecieron las primeras células?
- ¿Por qué las cianobacterias fueron tan importantes en la evolución de la vida en la Tierra?
- ¿Cómo se puede determinar la historia filogenética de los microorganismos?
- Nombre los tres dominios de la vida.

1.4 Los microorganismos y su ambiente

En la naturaleza, las células microbianas viven en asociación con otras células. Una *población* es un grupo de células derivadas de una sola célula parental por divisiones celulares sucesivas. El ambiente inmediato en el que vive una población microbiana es

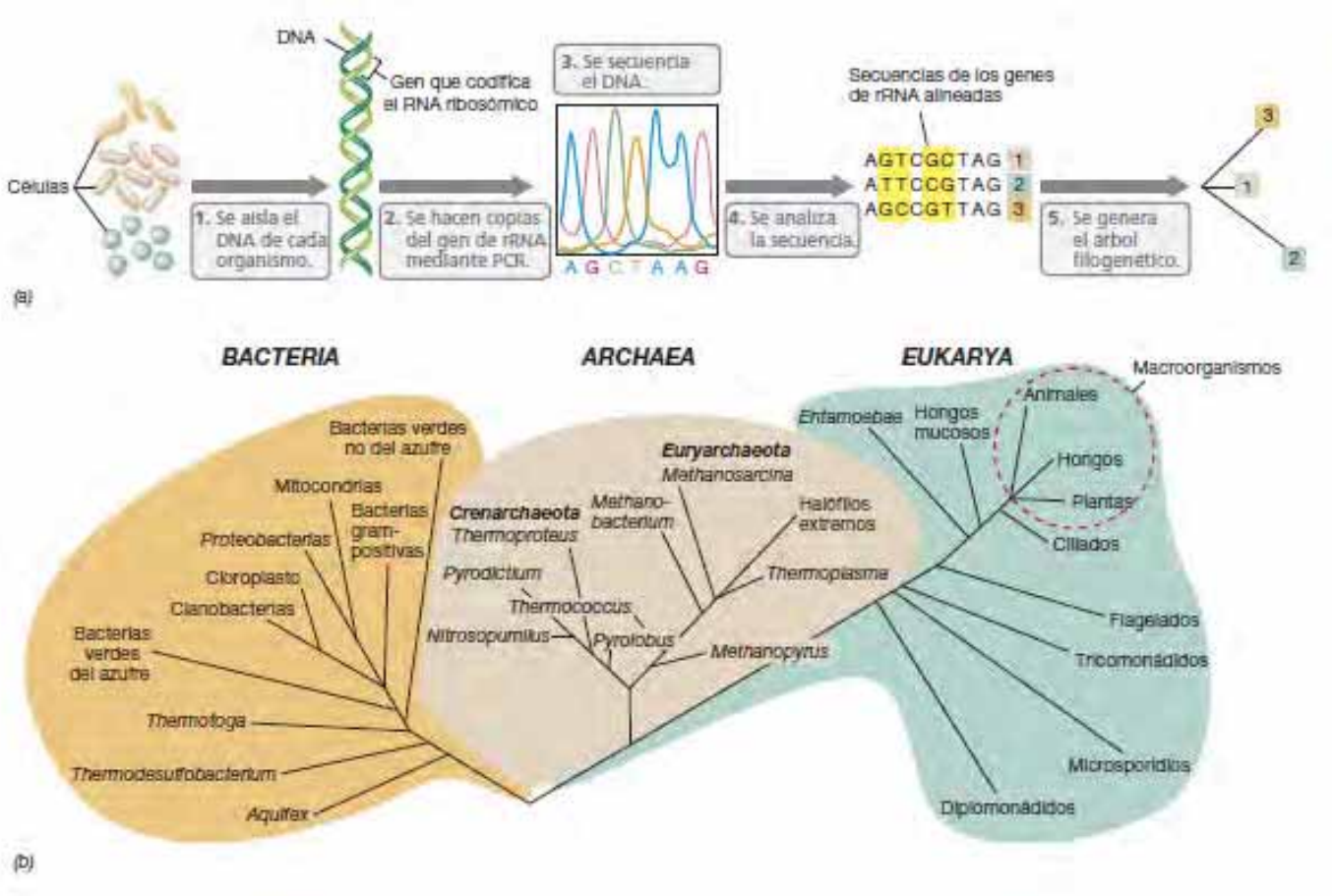


Figura 1.6 **Relaciones evolutivas y árbol filogenético de la vida.** *(a)* Tecnología con la que se construyen las filogenias basadas en genes de RNA ribosómico. 1. Se extrae el DNA de las células. 2. Se hacen copias del gen que codifica el rRNA mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR; ↪ Sección 11.3). 3,4. Se secuencia el gen y se alinea la secuencia con secuencias de otros organismos. Un algoritmo informático hace comparaciones a pares para cada base y genera un árbol filogenético, 5, que muestra las relaciones evolutivas. En el ejemplo, las diferencias entre secuencias están marcadas en amarillo y son las siguientes: organismo 1 frente a organismo 2, tres diferencias; 1 frente a 3, dos diferencias; 2 frente a 3, cuatro diferencias. Por tanto, los organismos 1 y 3 están más emparentados que 2 y 3 o 1 y 2 . *(b)* El árbol filogenético de la vida. El árbol presenta los tres dominios de organismos y algunos grupos representativos en cada dominio.

su **hábitat**. Las poblaciones de células interaccionan con otras poblaciones en **comunidades microbianas** (Figura 1.7). La abundancia y diversidad de cualquier comunidad microbiana está estrictamente controlada por los *recursos* (alimentos) disponibles y por las *condiciones* (temperatura, pH, presencia o ausencia de oxígeno, etcétera) que prevalecen en la comunidad.

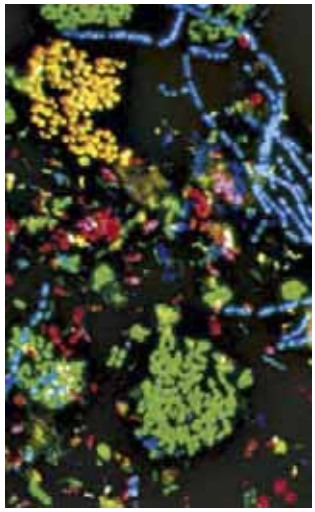
Ecosistemas microbianos

Las poblaciones microbianas pueden interaccionar entre sí de manera beneficiosa, neutra o perjudicial. Por ejemplo, los desechos metabólicos producidos por un grupo de organismos pueden ser nutrientes o venenos para otros. Las características de los hábitats difieren notablemente, y un hábitat que es favorable para el crecimiento de un organismo puede ser perjudicial para otro. Colectivamente, llamamos **ecosistema** a todos los organismos vivos de un ambiente, junto con los componentes físicos y químicos de dicho ambiente. Los principales ecosistemas microbianos son *acuáticos* (el mar, estanques, lagos, corrientes, hielo, fuentes termales), *terrestres* (suelos superficiales, subsuelo profundo), y *organismos superiores* (superficie o interior de plantas y animales).

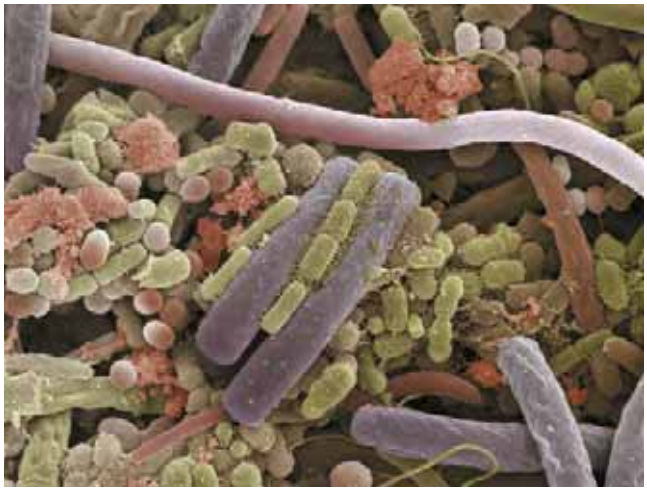
La actividad microbiana ejerce una gran influencia sobre los ecosistemas. Los microorganismos llevan a cabo procesos metabólicos que toman nutrientes del ecosistema y los utilizan para construir células nuevas. Al mismo tiempo, excretan productos de desecho al ambiente. Así, los ecosistemas microbianos se expanden y se contraen en función de los recursos y las condiciones disponibles y de las diferentes poblaciones de organismos que pueden soportar. Con el tiempo, las actividades metabólicas de los microorganismos pueden modificar gradualmente sus ecosistemas tanto química como físicamente. Por ejemplo, el oxígeno molecular (O_2) es un nutriente vital para algunos microorganismos pero un veneno para otros. Si los microorganismos aerobios (que consumen oxígeno) eliminan el O_2 de un hábitat y lo vuelven anóxico (sin O_2), el cambio en las condiciones puede favorecer el crecimiento de microorganismos anaerobios que estaban presentes en el hábitat pero eran incapaces de crecer. En otras palabras, a medida que los recursos y las condiciones de un hábitat microbiano cambian, las poblaciones de células crecen y disminuyen de manera que cambian la composición de la comunidad y redefinen el ecosistema. En capítulos posteriores volveremos a considerar las formas en que los microorganismos afectan a


D. E. Caldwell

(a)


Jiri Snaidr

(b)



(c)

Figura 1.7 **Comunidades microbianas.** *(a)* Comunidad microbiana que se desarrolló en las profundidades de un pequeño lago en Michigan, donde se muestran células verdes y rojas de diversas bacterias fotótrofas (células grandes con gránulos de azufre). *(b)* Comunidad bacteriana en una muestra de lodos residuales. La muestra se tiñó con diversas tinciones, cada una de las cuales teñía un grupo bacteriano específico. De: *Journal of Bacteriology 178:* 3496-3500. Fig. 2b. © 1996. American Society for Microbiology. *(c)* Micrografía electrónica de barrido de una comunidad microbiana procedente del raspado de una lengua humana.

los animales, las plantas y todo el ecosistema global. Su estudio recibe el nombre de **ecología microbiana** y es, quizás, la subdisciplina más apasionante de la microbiología hoy en día.

Los microorganismos en ambientes naturales

Los microorganismos están presentes en cualquier lugar de la Tierra propicio para mantener la vida. Esto incluye hábitats con los que estamos familiarizados —el suelo, el agua, los animales y las plantas— así como prácticamente cualquier estructura fabricada por los seres humanos. Solo en el cuerpo humano, las células microbianas son diez veces más numerosas que nuestras células corporales. La esterilidad (ausencia de formas de vida) en cualquier muestra natural es extremadamente rara.

En algunos hábitats microbianos los organismos superiores no pueden sobrevivir porque el hábitat es demasiado caliente o demasiado frío, demasiado ácido o demasiado cáustico, demasiado salado u osmóticamente estresante, o bien está sometido a una presión enorme. Aunque en principio podemos predecir que estos «ambientes extremos» plantean dificultades a cualquier forma de vida, estos hábitats rigurosos suelen estar repletos de microorganismos. Estos microorganismos reciben el nombre de **extremófilos**, y comprenden un grupo grande y notable principalmente de *bacterias* y *arqueas,* cuyas propiedades colectivas definen los límites fisicoquímicos de la vida (Tabla 1.1).

Los extremófilos abundan en ambientes tan rigurosos como las fuentes termales volcánicas; o en el hielo que cubre los lagos (véase la página 1), glaciares o mares polares; en masas de agua extremadamente saladas; en suelos y aguas con pH bajísimos, incluso de 0, o altísimos, de hasta 12; y en las profundidades marinas o terrestres, donde las presiones pueden ser hasta mil veces más altas que la presión atmosférica. Sorprendentemente, estos procariotas no solo *toleran* sus extremos ambientales concretos, sino que en realidad *los necesitan* para crecer. Por eso se llaman extremófilos (el sufijo *-filo* quiere decir «amante de»). En la Tabla 1.1 se enumeran los extremófilos que actualmente «tienen los récords», se dan los términos utilizados para describir cada clase y se dan ejemplos de sus hábitats. En capítulos posteriores volveremos a hablar de muchos de estos organismos y descubriremos las propiedades estructurales y bioquímicas especiales que les permiten prosperar en condiciones extremas.

Las estimaciones del número total de células microbianas en la Tierra las cifran en $2{,}5 \times 10^{30}$ (Tabla 1.2). La cantidad total de carbono presente en todas estas células microbianas equivale a la de todas las plantas de la Tierra, y el carbono de las plantas excede, en gran medida, el carbono animal. Además, el contenido de nitrógeno y fósforo en el conjunto de todas las células microbianas es diez veces mayor que el de toda la biomasa vegetal. Por tanto, por muy pequeñas que sean las células microbianas, no son en absoluto intrascendentes, sino que constituyen la fracción principal de la biomasa de la Tierra y son reservorios fundamentales de los nutrientes esenciales para la vida. Más adelante veremos cómo este enorme número de células pequeñísimas también desempeña funciones importantes en muchos temas candentes a escala global como el cambio climático, la productividad de la agricultura, los combustibles y muchos otros importantes para los humanos.

La mayoría de las células microbianas residen en unos pocos hábitats muy grandes y, por extraño que pueda parecer, muchas de ellas no viven en la *superficie* terrestre, sino en el mar o en el subsuelo, a profundidades de hasta unos 10 km (Tabla 1.2). En comparación con las grandes profundidades, los suelos y las aguas superficiales contienen un porcentaje relativamente pequeño del total de células microbianas de la Tierra. Los animales (incluidos los humanos), que están ampliamente colonizados por los microorganismos, contienen en conjunto solo una reducida parte de la población microbiana total de la Tierra (Tabla 1.2). Puesto que prácticamente todo lo que sabemos de la vida microbiana lo hemos descubierto a partir del estudio de microorganismos que viven en la superficie, es muy probable que queden muchos descubrimientos por hacer cuando los futuros microbiólogos se adentren en los hábitats microbianos más poblados: los que no podemos ver.

Tabla 1.1 Clases y ejemplos de extremófilos[a]

Extremo	*Término descriptivo*	*Género/especie*	*Dominio*	*Hábitat*	*Mínimo*	*Óptimo*	*Máximo*
Temperatura							
Alta	Hipertermófilo	*Methanopyrus kandleri*	*Archaea*	Fumarolas hidrotermales submarinas	90 °C	106 °C	122 °C[b]
Baja	Psicrófilo	*Psychromonas ingrahamii*	*Bacteria*	Hielo marino	–12 °C	5 °C	10 °C
pH							
Bajo	Acidófilo	*Picrophilus oshimae*	*Archaea*	Fuentes termales ácidas	–0,06	0,7[c]	4
Alto	Alcalófilo	*Natronobacterium gregoryi*	*Archaea*	Lagos alcalinos	8,5	10[d]	12
Presión	Barófilo (piezófilo)	*Moritella yayanosii*	*Bacteria*	Sedimentos oceánicos	500 atm	700 atm[e]	>1.000 atm
Sal (NaCl)	Halófilo	*Halobacterium salinarum*	*Archaea*	Salinas	15 %	25 %	32 % (saturación)

[a]Los organismos citados «tienen los récords» actualmente de crecimiento en cultivo de laboratorio en las condiciones extremas indicadas.
[b]Anaerobio que presenta crecimiento a 122 °C solo a varias atmósferas de presión.
[c]*P. oshimae* también es termófilo, y su temperatura óptima de crecimiento es de 60 °C.
[d]*N. gregory* también es halófilo extremo, creciendo de manera óptima a 20 % de NaCl.
[e]*M. yayanosii* también es psicrófilo, y su temperatura óptima de crecimiento está cerca de 4 °C.

Tabla 1.2 Distribución de microorganismos en la Tierra[a]

Hábitat	*Porcentaje del total*
Profundidades marinas	66
Subsuelo	26
Suelo	4,8
Océanos	2,2
Resto de hábitats[b]	1,0

[a]Datos recogidos por William Whitman, University of Georgia, EE. UU.; porcentajes sobre la cantidad total (estimada en $2{,}5 \times 10^{30}$ células) de *Bacteria* y *Archaea*. Este enorme número de células contiene, de manera colectiva, unos 5×10^{17} gramos de carbono.
[b]Incluye, en orden decreciente: lagos de agua dulce y lagos salados, animales domésticos, hielos marinos, termes, seres humanos, y aves domésticas.

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué se diferencian una comunidad microbiana y una población microbiana?
- ¿Qué es un hábitat? ¿Cómo pueden los microorganismos cambiar las características de su hábitat?
- ¿Qué es un extremófilo?
- ¿Dónde viven la mayoría de los microorganismos en la naturaleza?

1.5 El impacto de los microorganismos en los seres humanos

A lo largo de los años, los microbiólogos han hecho grandes progresos en el descubrimiento de las formas de vida de los microorganismos, y la aplicación de este conocimiento ha mejorado muchísimo la salud y el bienestar humanos. Además de entender los microorganismos como agentes de las enfermedades, la microbiología ha avanzado mucho en la comprensión de la importante función que desempeñan los microorganismos en la agricultura y la alimentación. De esta manera, los microbiólogos han podido explotar las actividades microbianas para obtener valiosos productos humanos, generar energía y limpiar el medio ambiente.

Los microorganismos como agentes de enfermedades

Las estadísticas que se detallan en la **Figura 1.8** muestran cómo se han unido en los últimos cien años la microbiología y la medicina clínica para vencer las enfermedades infecciosas. A principios del siglo xx, las principales causas de muerte en los seres humanos eran las enfermedades infecciosas provocadas por **patógenos** bacterianos y víricos. Por aquel entonces, los niños y los ancianos, sobre todo, sucumbían en gran número a las enfermedades microbianas. En la actualidad, sin embargo, las enfermedades infecciosas son mucho menos mortales, al menos en los países desarrollados. El control de las enfermedades infecciosas viene de la mano de una combinación de avances, como la mayor comprensión de los procesos de la enfermedad, la mejora de las prácticas sanitarias y de salud pública, las campañas activas de vacunación y el uso generalizado de agentes antimicrobianos como los antibióticos. Como veremos en la segunda parte de este capítulo, el desarrollo de la microbiología como ciencia se remonta hasta los estudios pioneros de las enfermedades infecciosas.

Si bien en la actualidad muchas enfermedades infecciosas están controladas, otras muchas siguen siendo una amenaza, especialmente en los países en vías de desarrollo. Por ejemplo, enfermedades como la malaria, la tuberculosis, el cólera, la enfermedad del sueño africana, el sarampión, la neumonía y otras dolencias respiratorias, así como los síndromes diarreicos son habituales en aquellos países. Además, en todo el mundo se está bajo la amenaza de enfermedades que podrían emerger rápidamente como la gripe aviar o la porcina, o la fiebre hemorrágica del ébola; se trata de enfermedades eminentemente animales que bajo ciertas condiciones se pueden transmitir a los seres humanos y propagarse rápidamente por toda una población. Así pues, los microorganismos siguen siendo una amenaza

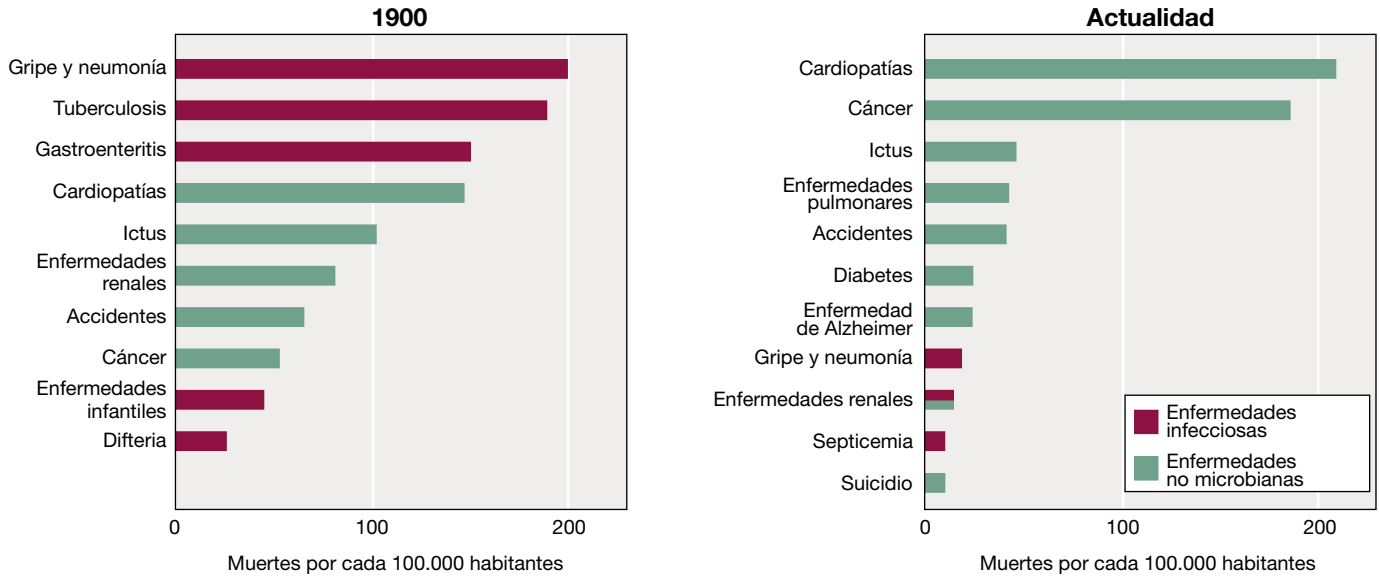


Figura 1.8 Índice de de mortalidad para las principales causas de muerte en los Estados Unidos: en 1900 y en la actualidad. Las enfermedades infecciosas eran la principal causa de muerte en 1900, mientras que en la actualidad causan relativamente pocas muertes. Las enfermedades renales pueden estar causadas por infecciones microbianas o ser de origen sistémico (diabetes, cáncer, toxicidad, enfermedades metabólicas, etcétera). Los datos proceden del Centro Nacional de Estadística Sanitaria y de los Centros para el Control y la Prevención de las Enfermedades de los Estados Unidos.

seria para la salud de los seres humanos en todas las partes del mundo.

Aunque debemos tener en cuenta la poderosa amenaza de los microorganismos patógenos, en realidad la mayoría de los microorganismos no son perjudiciales para los seres humanos. De hecho, la mayor parte no solo no provocan ningún daño, sino que son beneficiosos, y en muchos casos incluso esenciales para el bienestar humano y para el funcionamiento del planeta. Vamos a centrarnos en ellos.

Microorganismos, agricultura y nutrición humana

La agricultura se beneficia del ciclo de los nutrientes que llevan a cabo los microorganismos. Por ejemplo, algunas de las principales plantas cultivadas que sirven de alimento a los seres humanos y a los animales domésticos son leguminosas. Son plantas que viven en estrecha asociación con bacterias que forman unas estructuras llamadas *nódulos* en sus raíces. En los nódulos, estas bacterias convierten el nitrógeno atmosférico (N_2) en amoniaco (NH_3, el proceso de *fijación de nitrógeno*) que las plantas utilizan como fuente de nitrógeno para crecer (**Figura 1.9**).

La fijación de nitrógeno también elimina la necesidad de los agricultores de aplicar abonos nitrogenados, costosos y contaminantes. Otras bacterias participan en el ciclo del azufre, oxidando compuestos tóxicos de azufre como el sulfuro de hidrógeno (o ácido sulfhídrico, H_2S) a sulfato (SO_4^{2-}), que es inocuo y un nutriente esencial para las plantas (Figura 1.9*c*).

Otros microorganismos de gran importancia en la agricultura son los que habitan en el *rumen* de los rumiantes como las vacas y las ovejas. El rumen es un ecosistema microbiano en el que grandes poblaciones de microorganismos digieren y fermentan la celulosa, un polisacárido que es el componente principal de la pared celular de las plantas (Figura 1.9*d*). Sin estos microorganismos simbióticos, los rumiantes no podrían alimentarse adecuadamente solo con alimentos ricos en celulosa (aunque pobres en nutrientes) como la hierba y el heno. Muchos mamíferos herbívoros domésticos y salvajes, como los ciervos, los bisontes, los camellos, las jirafas y las cabras, son también rumiantes.

El tubo digestivo humano carece de rumen, y cantidades de microorganismos comparables a las del rumen (unas 10^{11} células microbianas por gramo de contenido) solo se dan en el colon (intestino grueso). El colon (**Figura 1.10**) sigue al estómago y el intestino delgado en el tubo digestivo, pero a diferencia del rumen, el colon carece de cantidades significativas de microorganismos capaces de degradar la celulosa. La cantidad de células microbianas es baja en el estómago (unas 10^4 por gramo), que es muy ácido (pH 2) , pero aumentan hasta 10^8 por gramo cerca del final del intestino delgado (pH 5) y después alcanzan la cantidad máxima en el colon (pH 7) (Figura 1.10). Los microorganismos del colon ayudan en el proceso digestivo sintetizando determinadas vitaminas y otros nutrientes esenciales, pero también compiten por el espacio y los recursos con microorganismos patógenos que pueden entrar en el tubo digestivo a través de alimentos o agua contaminados. Así pues, ya solamente por cuestión de número, la microbiota del colon ayuda a impedir que los patógenos se establezcan.

Los microorganismos son beneficiosos para la agricultura, pero también tienen efectos negativos en el sector. Las enfermedades microbianas de las plantas y los animales utilizados en la alimentación humana provocan grandes pérdidas económicas cada año. De vez en cuando, un producto alimentario causa una enfermedad humana importante, como cuando *Escherichia coli* o *Salmonella* patógenos se transmiten a partir de carne infectada o cuando otros patógenos microbianos se ingieren con frutas y verduras frescas contaminadas. Así pues, los microorganismos tienen una influencia significativa en la agricultura, tanto positiva como negativa.

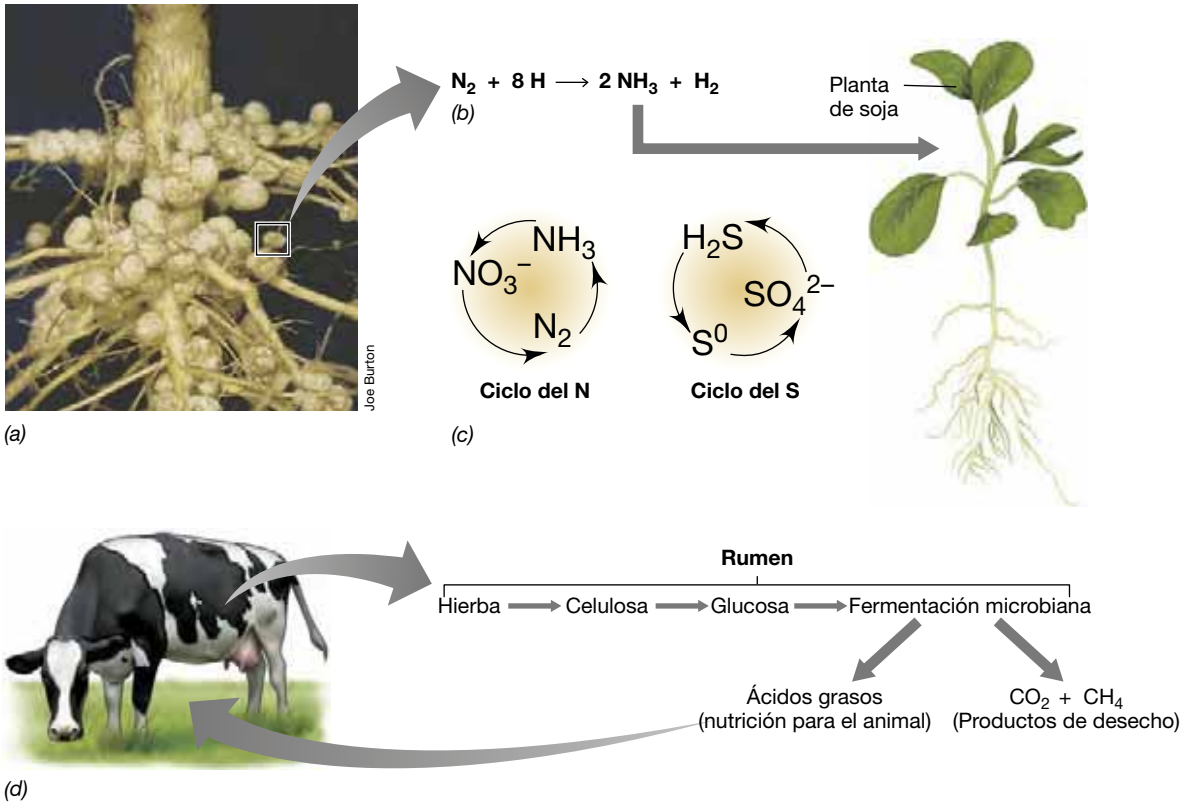


Figura 1.9 **Los microorganismos en la agricultura moderna.** *(a, b)* Los nódulos radicales en esta planta de soja contienen bacterias que fijan el nitrógeno molecular (N_2) para que la planta pueda utilizarlo. *(c)* Los ciclos del nitrógeno y del azufre, ciclos de nutrientes fundamentales en la naturaleza. *(d)* Rumiantes. Los microorganismos del rumen de la vaca convierten la celulosa de la hierba en ácidos grasos que pueden ser utilizados por el animal. Los otros productos no son tan deseables, ya que el CO_2 y el CH_4 son los principales gases causantes del calentamiento global.

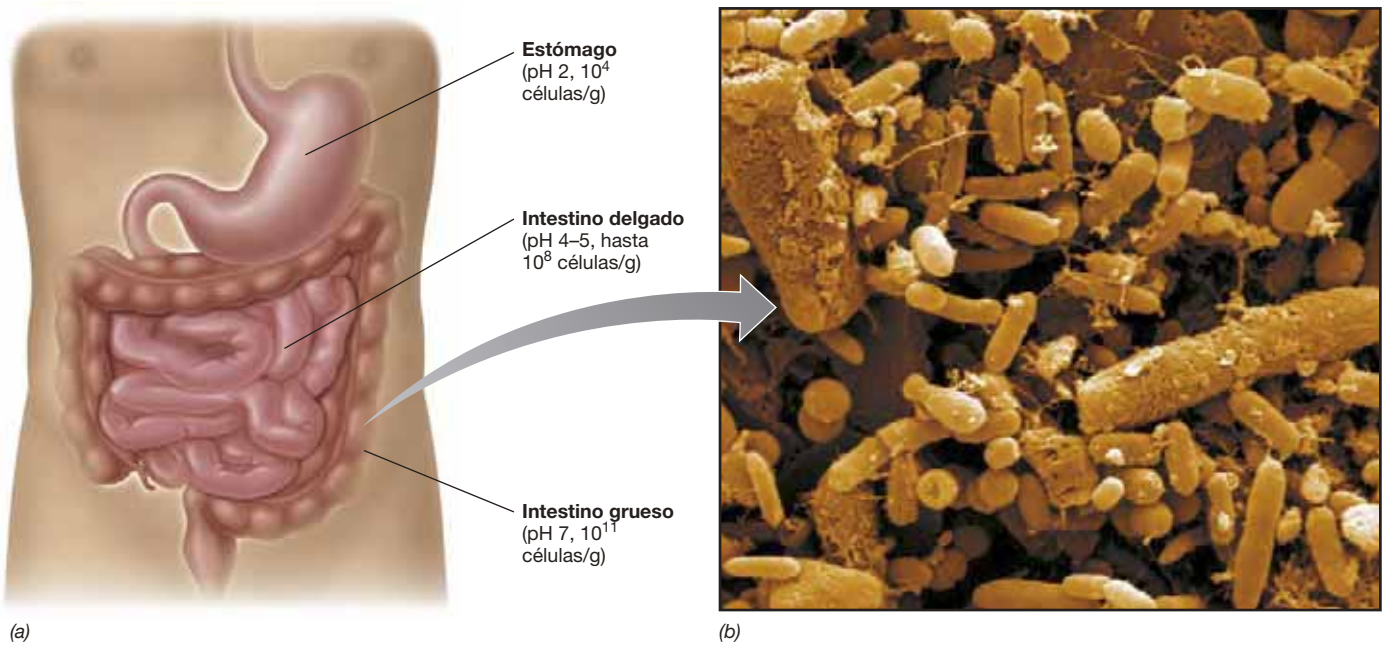


Figura 1.10 **El tubo digestivo humano.** *(a)* Esquema del tubo digestivo humano con sus órganos principales. *(b)* Micrografía electrónica de barrido de células microbianas del colon humano (intestino grueso). El número de células del colon puede llegar a ser de 10^{11} por gramo. Al igual que la *cantidad*, también la *diversidad* microbiana es bastante elevada.

Microorganismos, alimentos, energía y medio ambiente

Los microorganismos desempeñan funciones importantes en la industria alimentaria, como el deterioro, la seguridad y la producción de los alimentos. El deterioro de los alimentos por sí solo causa grandes pérdidas económicas cada año, y los sectores de la comida enlatada, congelada y seca se desarrollaron como formas de conservar los alimentos que, de otro modo, sufrirían el deterioro microbiano. La seguridad alimentaria requiere el control constante de los productos alimentarios para asegurar la ausencia de patógenos y la trazabilidad de los brotes de enfermedad para identificar el origen de los patógenos. Los alimentos frescos como la carne, la fruta y la verdura son más vulnerables a la contaminación microbiana y tienen una vida útil breve por la única razón de que la contaminación es prácticamente imposible de prevenir.

Aunque la seguridad es un problema importante para la industria alimentaria, no todos los microorganismos presentes dañan los alimentos o a quienes los consumen. Muchos son deseables o incluso esenciales, como los que crecen en los alimentos fermentados (**Figura 1.11**). Por ejemplo, muchos productos lácteos dependen de la actividad de los microorganismos para producir ácidos fundamentales característicos de los productos, como en las fermentaciones que producen quesos, yogur y mantequilla. El chucrut, los encurtidos y algunas salchichas también están sometidos a fermentaciones microbianas. Además, los alimentos de panadería y las bebidas alcohólicas se basan en la actividad fermentadora de la levadura, que genera como ingredientes fundamentales, respectivamente, dióxido de carbono (CO_2) para hacer subir la masa y alcohol (Figura 1.11). Estos productos de fermentación no solo son sustancias deseables, sino que funcionan también como conservantes de los alimentos frente al crecimiento de microorganismos perjudiciales.

Algunos microorganismos producen *biocombustibles*. Por ejemplo, el gas natural (metano, CH_4) es un producto del metabolismo anaeróbico de un grupo de arqueas llamadas *metanógenos*. El alcohol etílico (etanol), producido por la fermentación microbiana de la glucosa obtenida de materias primas como la caña de azúcar, el maíz o las hierbas de crecimiento rápido, es uno de los principales combustibles o complementos de combustible para motor (**Figura 1.12**). Los materiales de desecho como los residuos domésticos, los residuos animales o la celulosa también se pueden convertir en etanol y metano; y la soja (Figura 1.9) contiene aceites que se pueden convertir en combustible para motores diésel.

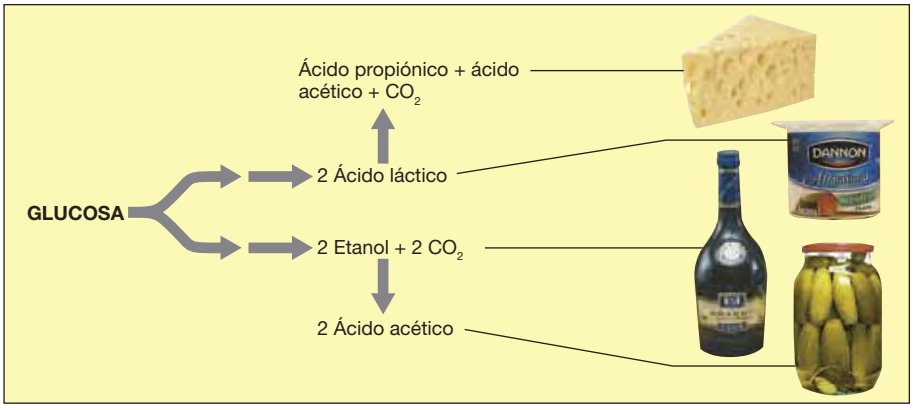
Los microorganismos se pueden utilizar para eliminar la polución en un proceso conocido como *biorremediación*. En la biorremediación se utilizan los microorganismos para consumir vertidos de petróleo, disolventes, plaguicidas y otros contaminantes tóxicos para el ambiente. En la biorremediación se acelera la eliminación del contaminante añadiendo al ambiente contaminado microorganismos especiales o nutrientes que estimulan la degradación de los contaminantes por parte de microorganismos autóctonos. En cualquier caso, el objetivo es acelerar la desaparición del contaminante.

Los microorganismos también pueden servir para obtener productos comercialmente valiosos. La *microbiología industrial* trata del cultivo a gran escala de microorganismos que crecen de manera natural para obtener grandes cantidades de productos de relativamente bajo costo, como antibióticos, enzimas y determinados productos químicos. La *biotecnología*, en cambio, utiliza microorganismos modificados genéticamente para sintetizar productos de gran valor, como insulina u otras proteínas humanas, normalmente a pequeña escala. La genómica ha mejorado notablemente tanto la microbiología industrial como la biotecnología al hacer posible la inspección del genoma de prácticamente cualquier organismo en busca de genes de interés comercial.

Como se muestra en la explicación anterior, la influencia de los microorganismos en los humanos es enorme, y sus actividades son esenciales para el funcionamiento del planeta. O, como dijo tan acertadamente el eminente químico y microbiólogo francés Louis Pasteur: «En la naturaleza, el papel de lo infinitamente pequeño es infinitamente grande». En la segunda mitad de este capítulo seguimos con nuestra introducción al mundo de los microorganismos con un resumen histórico de las contribuciones de Pasteur y otros grandes científicos que resultaron fundamentales para el desarrollo de la ciencia de la microbiología.

MINIRREVISIÓN

- Cite dos razones por las que los microorganismos son importantes en las industrias alimentaria y agrícola.
- Dé algunos ejemplos de biocombustibles. ¿Cómo puede la fijación de nitrógeno en los nódulos radiculares contribuir a la producción de biocombustible?
- ¿Qué es la biotecnología y cómo puede mejorar la vida de los seres humanos?



(a) **Fermentaciones** (b) **Alimentos fermentados**

Figura 1.11 Alimentos fermentados. *(a)* Principales fermentaciones en diversos alimentos fermentados. El producto de la fermentación (etanol o ácido láctico, propiónico o acético) conserva el alimento y le da su sabor característico. *(b)* Foto de varios alimentos fermentados en la que se muestra el producto de fermentación característico de cada uno de ellos.

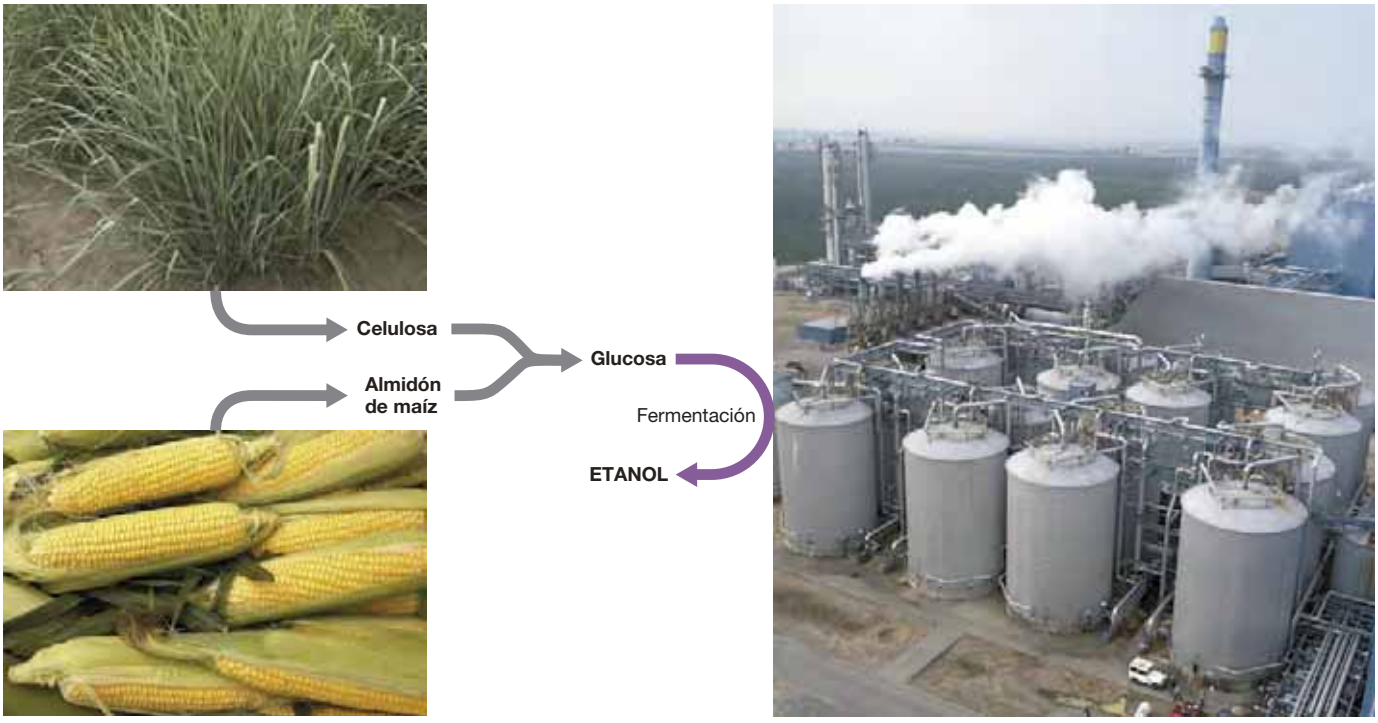


Figura 1.12 **El etanol como biocombustible.** *(a)* Principales cultivos utilizados como materia prima para la producción de etanol biocombustible. Arriba: Pasto varilla, fuente de celulosa. Abajo: Maíz, fuente de almidón de maíz. Tanto la celulosa como el almidón están compuestos de glucosa, que la levadura fermenta a etanol. *(b)* Planta de producción de etanol en los Estados Unidos. El etanol producido por fermentación es destilado y posteriormente almacenado en los tanques.

II • La microbiología en su contexto histórico

El futuro de cualquier ciencia tiene sus raíces en sus éxitos pasados. Si bien la microbiología reivindica unos inicios muy tempranos, lo cierto es que la ciencia no se desarrolló de manera sistemática hasta el siglo XIX, ya que la tecnología de los microscopios y las técnicas de cultivo iban muy por detrás de la ya fuerte curiosidad científica. Durante los últimos ciento cincuenta años aproximadamente, la microbiología ha avanzado con una rapidez sin precedentes en cualquier otra ciencia biológica, y ha generado diversos campos nuevos de la biología moderna. A continuación describimos algunos de los hitos de la historia de la microbiología y recordamos a algunas de las personas que más han contribuido a ella.

1.6 El descubrimiento de los microorganismos

Aunque la existencia de criaturas demasiado pequeñas para ser observadas a simple vista se sospechaba desde hacía siglos, su descubrimiento tuvo que esperar hasta la invención del microscopio. El matemático y naturalista inglés Robert Hooke (1635-1703) fue un excelente microscopista. En su famoso libro *Micrographia* (1665), el primer libro dedicado a las observaciones microscópicas, Hooke ilustró, entre otras muchas cosas, los cuerpos fructificantes de los mohos (**Figura 1.13**). Fue la primera descripción conocida de un microorganismo.

El primero que observó las bacterias, las células microbianas más pequeñas, fue Antoni van Leeuwenhoek (1632-1723), un holandés vendedor de telas y aficionado a la microscopía. Van Leeuwenhoek construía microscopios muy simples con una sola lente para examinar diversas sustancias naturales en busca de microorganismos (**Figura 1.14**). Estos microscopios eran muy rudimentarios para la tecnología actual, pero mediante una cuidadosa manipulación y un enfoque preciso, van Leeuwenhoek pudo observar bacterias. Las descubrió en 1676 mientras estudiaba infusiones de pimienta, e informó de sus investigaciones en una serie de cartas a la prestigiosa Royal Society de Londres, que las publicó en inglés en 1684. En la Figura 1.14*b* se muestran los dibujos de algunos de los «diminutos animálculos» de van Leeuwenhoek, como él los llamó, y en la Figura 1.14*c* se puede ver una fotografía de una observación realizada con su microscopio.

Durante los ciento cincuenta años siguientes se hicieron pocos progresos en la comprensión de la naturaleza y la importancia de las bacterias, porque los instrumentos experimentales para estudiar los microorganismos eran muy rudimentarios. No obstante, a mediados del siglo XIX, la microbiología experimentó un nuevo auge. Uno de los principales causantes de ello fue Ferdinand Cohn, científico germano-polaco. Cohn (1828-1898) era botánico, y su interés por la microscopía le llevó a estudiar las algas unicelulares y, más tarde, las bacterias,



Figura 1.13 Robert Hooke y los primeros microscopios. Dibujo del microscopio utilizado por Robert Hooke en 1664. La lente se fijaba al extremo de un fuelle ajustable (G) y la luz se proyectaba sobre la muestra mediante una lente independiente (1). Inserción: Dibujo de Hooke de un moho azulado degradando la superficie de un trozo de cuero; las estructuras redondeadas contienen las esporas del moho.

entre ellas *Beggiatoa*, una bacteria del azufre de gran tamaño (**Figura 1.15**). Cohn estaba especialmente interesado en la resistencia de las bacterias al calor, y su investigación le condujo al descubrimiento de la formación de *endosporas* por parte de algunas bacterias. Ahora sabemos que las endosporas bacterianas se forman por diferenciación de la célula madre (vegetativa) y son estructuras extremadamente resistentes al calor. Cohn describió el ciclo vital de la bacteria formadora de endosporas *Bacillus* (célula vegetativa → endospora → célula vegetativa) y demostró que las células vegetativas morían al someterlas a ebullición, pero no las endosporas, que eran resistentes.

Cohn también sentó las bases de un sistema de clasificación bacteriana, y concibió muchos métodos eficaces para prevenir la contaminación de los medios de cultivo, como el uso del algodón para cerrar tubos y matraces. Estos métodos fueron adoptados más tarde por Robert Koch, el primer microbiólogo médico, y le permitieron hacer rápidos avances en el aislamiento y la caracterización de varias bacterias causantes de enfermedades. Cohn también fue contemporáneo de Louis Pasteur. En las dos secciones siguientes hablaremos de las contribuciones de Pasteur y Koch.

MINIRREVISIÓN

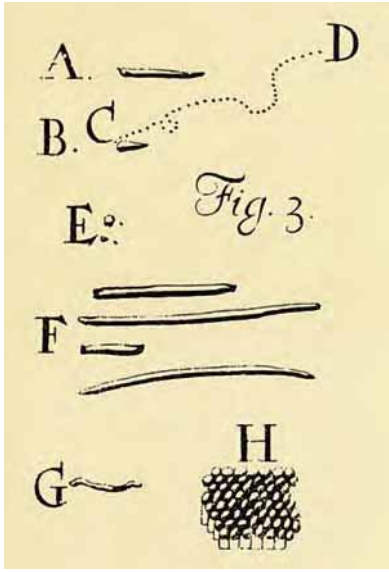
- ¿Qué impidió que la ciencia de la microbiología se desarrollara antes de la era de Hooke y van Leeuwenhoek?
- ¿Qué gran descubrimiento realizó Cohn gracias a su estudio de la resistencia de los microorganismos al calor?

1.7 Pasteur y la generación espontánea

Durante el siglo XIX se hicieron grandes avances en microbiología debido al interés por dos cuestiones importantes en



(a)



(b)



(c)

Figura 1.14 Microscopio de van Leeuwenhoek. *(a)* Réplica del microscopio de Antoni van Leeuwenhoek. *(b)* Dibujos de bacterias de van Leeuwenhoek, publicados en 1684. Ya en estos sencillos dibujos podemos reconocer varias formas de bacterias comunes: A, C, F y G, bacilos; E, cocos; H, grupos de cocos. *(c)* Micrografía de un frotis de sangre humana tomada a través de un microscopio de van Leeuwenhoek. Se aprecian con toda claridad los eritrocitos.

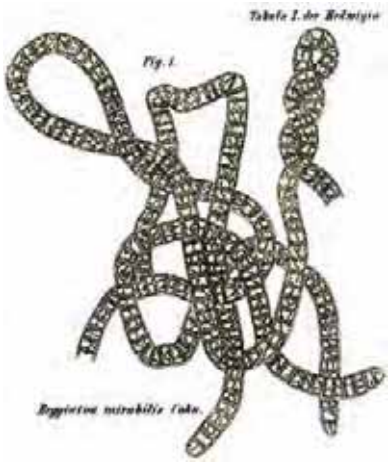


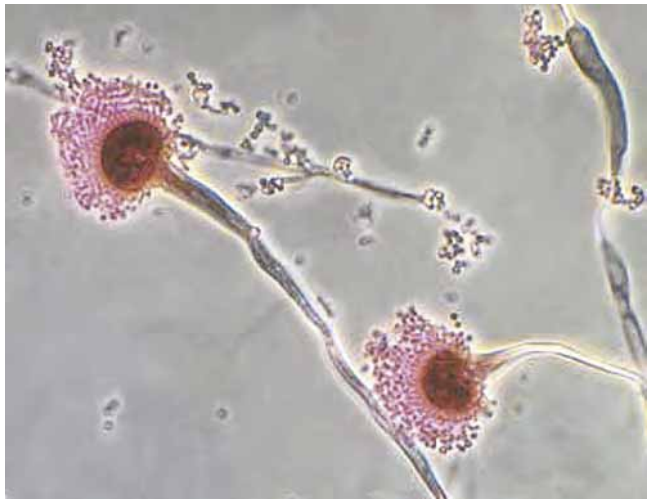
Figura 1.15 **Dibujo de Ferdinand Cohn de *Beggiatoa*, bacteria grande y filamentosa que oxida el azufre.** Los pequeños gránulos en el interior de las células son azufre elemental, producido por la oxidación de sulfuro de hidrógeno (H_2S). Cohn fue el primero en identificar los gránulos como azufre en 1866. Una célula de *Beggiatoa* tiene unos 15 µm de diámetro. *Beggiatoa* se desplaza por las superficies sólidas mediante un mecanismo de deslizamiento, de manera que a menudo las células se retuercen unas alrededor de otras. Compárese este dibujo con los que hizo Winogradsky de *Beggiatoa*, en la Figura 1.24*b*.

la época: (1) ¿Existe la generación espontánea?, y (2) ¿Cuál es la naturaleza de las enfermedades infecciosas? Las respuestas a estas preguntas trascendentales surgieron del trabajo de dos de los gigantes del incipiente campo de la microbiología: el químico francés Louis Pasteur y el médico alemán Robert Koch. Empezaremos estudiando el trabajo de Pasteur.

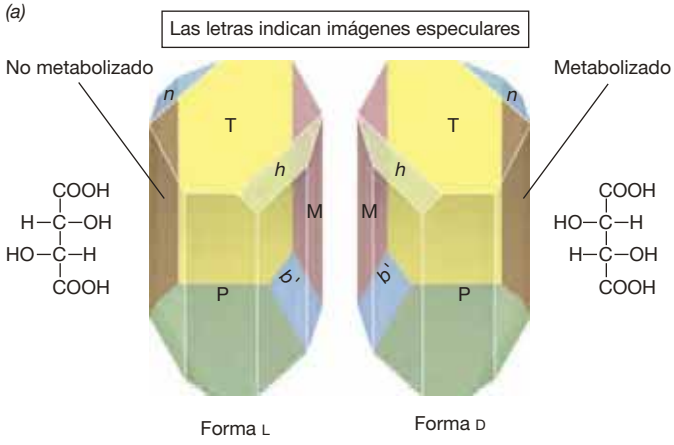
Isómeros ópticos y fermentaciones

Pasteur era químico de formación y fue uno de los primeros en reconocer la importancia de los *isómeros ópticos*. Una molécula es ópticamente activa si una solución pura o un cristal de dicha molécula provoca la difracción de la luz en una sola dirección. Pasteur estudiaba los cristales de ácido tartárico, que separó a mano en los que desviaban un rayo de luz polarizada hacia la izquierda y los que la desviaban a la derecha, y descubrió que el moho *Aspergillus* metabolizaba el D-tartrato, que desviaba la luz hacia la derecha, pero no su isómero óptico, el L-tartrato (**Figura 1.16**). Que un organismo vivo pudiera distinguir isómeros ópticos no pasó desapercibido para Pasteur, quien empezó a sospechar que, en realidad, algunas actividades químicas estaban catalizadas por microorganismos, y que podían diferenciarse de las reacciones puramente químicas.

Pasteur empezó a estudiar el mecanismo de la fermentación alcohólica, que a mediados del siglo XIX se consideraba un proceso estrictamente químico. Se pensaba que las células de levadura del caldo de fermentación eran una especie de sustancia química formada por fermentación. Sin embargo, la observación al microscopio y otros experimentos sencillos pero rigurosos convencieron a Pasteur de que la fermentación alcohólica estaba catalizada por microorganismos vivos, las células de levadura. A partir de estos estudios fundacionales, Pasteur empezó una serie de experimentos clásicos sobre la generación espontánea, experimentos que quedarán ligados para siempre a su nombre y a la ciencia de la microbiología.



(a)



(b)

Figura 1.16 **Louis Pasteur y los isómeros ópticos.** *(a)* Micrografía óptica de células del moho *Aspergillus*. *(b)* Dibujos de Pasteur de cristales de ácido tartárico. Los cristales levógiros con forma L polarizan la luz hacia la izquierda, mientras que los cristales dextrógiros la polarizan hacia la derecha. Obsérvese que los dos cristales son imágenes especulares, una característica distintiva de los isómeros ópticos. Pasteur descubrió que solo el D-tartrato era metabolizado por *Aspergillus*.

Generación espontánea

El concepto de **generación espontánea** ha existido desde los tiempos bíblicos, y su principio básico es fácil de entender: si se deja durante algún tiempo comida o algún otro material perecedero a la intemperie se pudre. Cuando se examina al microscopio, el material putrefacto rebosa de microorganismos. ¿De dónde han salido estos microorganismos? Algunos decían que se habían desarrollado de semillas o gérmenes que llegaban al alimento por el aire. Otros decían que surgían espontáneamente a partir de material inerte, es decir, por *generación espontánea*. Para resolver el problema era necesario estudiarlo con agudeza, y este era exactamente el tipo de desafíos que le gustaban a Pasteur.

Pasteur se opuso firmemente a la generación espontánea. A partir de sus descubrimientos sobre el ácido tartárico y las fermentaciones alcohólicas, Pasteur predijo que los microorganismos de la materia putrefacta procedían de células que habían llegado por el aire o de células que habían estado en el material en descomposición desde el principio. Además, argumentaba que si los alimentos

se trataran de manera que se destruyeran todos los organismos vivos presentes —es decir, si se hicieran **estériles**— y después se protegieran de contaminación posterior, no se pudrirían.

Para matar los microorganismos contaminantes Pasteur usó calor, y descubrió que si se calentaba considerablemente una solución nutritiva y después se precintaba, esta no se pudría. Los partidarios de la generación espontánea criticaron estos experimentos porque declaraban que para que se produjera el fenómeno era necesario «aire fresco». En 1864, Pasteur replicó a esta objeción de manera sencilla y brillante mediante la construcción de un matraz de «cuello de cisne», que hoy se conoce como *matraz de Pasteur* (**Figura 1.17**). En este matraz se podía calentar hasta ebullición la solución nutritiva y esterilizarla. No obstante, cuando el matraz se enfriaba, el aire podía volver a entrar, pero la curva en el cuello impedía que la materia particulada (como los microorganismos) entrara en la solución nutritiva e iniciara la putrefacción. Las soluciones nutritivas en estos matraces continuaban estériles indefinidamente.

El crecimiento microbiano se observaba únicamente cuando se permitía que la materia particulada del cuello del matraz entrase en el líquido (Figura 1.17*c*), lo que resolvió para siempre la controversia de la generación espontánea. El trabajo de Pasteur sobre la generación espontánea llevó de manera natural al desarrollo de procedimientos eficaces de esterilización que, con el tiempo, se estandarizaron y se pusieron en práctica tanto en investigación microbiológica básica y aplicada como en medicina clínica. La industria alimentaria también se benefició del trabajo de Pasteur, ya que sus principios se adaptaron rápidamente a la conservación de la leche y de muchos otros alimentos mediante tratamientos de calor (pasteurización).

Otros logros de Pasteur

A partir de su famoso trabajo sobre la generación espontánea, Pasteur siguió cosechando triunfos en microbiología y medicina. Algunos de estos logros incluyen su desarrollo de las vacunas contra el carbunco, el cólera aviar y la rabia. El trabajo de Pasteur sobre la rabia fue su mayor éxito, y culminó en julio de 1885 con la administración de la primera vacuna contra la rabia a un ser humano, un joven francés llamado Joseph Meister a quien había mordido un perro rabioso. En aquella época, la mordedura de un animal rabioso era mortal de necesidad. La noticia del éxito de la vacunación de Meister se extendió rápidamente, así como la de otra vacuna administrada poco después a un joven pastor, Jean-Baptiste Jupille (**Figura 1.18*a***). En el plazo de un año, varios miles de personas que habían sido mordidas por animales rabiosos viajaron a París para ser tratadas con la vacuna de Pasteur contra la rabia.

La fama de Pasteur por su investigación de la rabia se hizo legendaria y llevó al gobierno francés a fundar el Instituto Pasteur en París en 1888 (Figura 1.18*b*). Inicialmente se creó como una clínica para el tratamiento de la rabia y otras enfermedades contagiosas, pero hoy en día el Instituto Pasteur es un importante centro de investigación biomédica cuyo objetivo principal es la investigación y producción de antisuero y vacunas. Los descubrimientos médicos y veterinarios de Pasteur no solo fueron importantes por sí mismos, sino que también ayudaron a consolidar el concepto de la teoría microbiana de la enfermedad, cuyos principios estaban siendo desarrollados casi al mismo tiempo por otro gigante de la época, Robert Koch.

MINIRREVISIÓN

- Defina el término *estéril*. ¿Cómo refutó Pasteur la teoría de la generación espontánea con los experimentos de los matraces de cuello de cisne?
- Además de terminar con la controversia de la generación espontánea, ¿qué otros avances atribuimos a Pasteur?

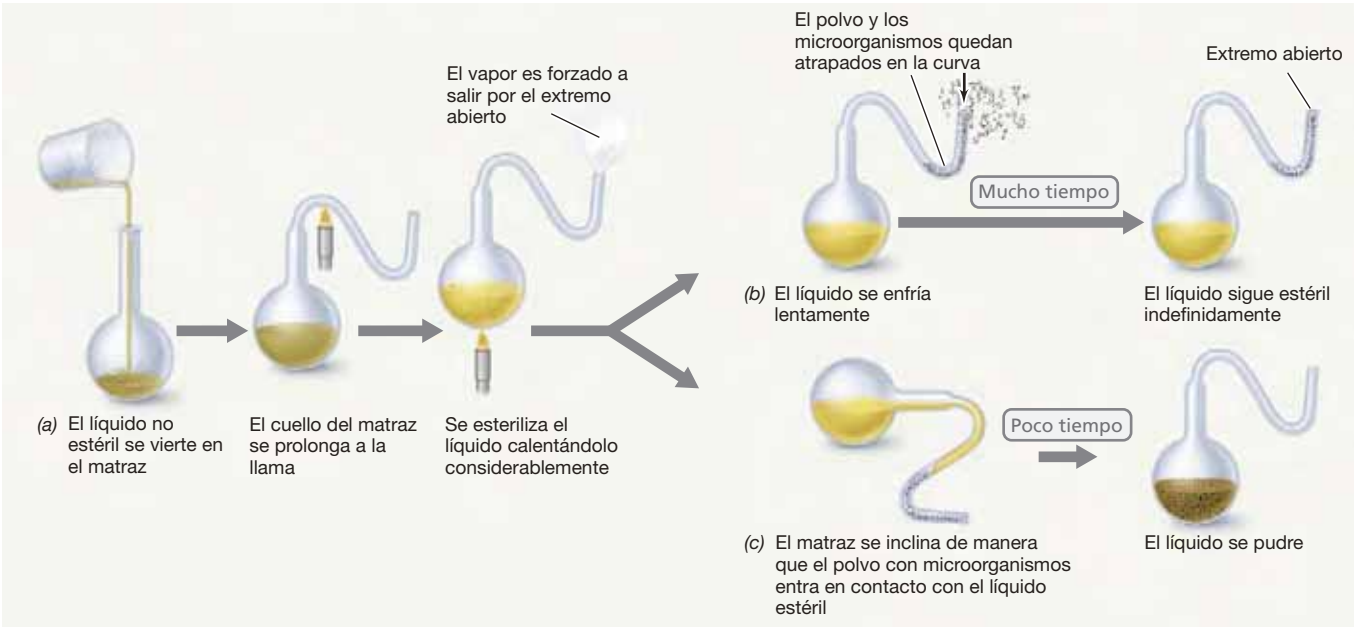


Figura 1.17 La derrota de la generación espontánea: experimento del matraz de cuello de cisne de Pasteur. En *(c)* el líquido se pudre porque los microorganismos entran con el polvo. La curva del cuello permite el paso del aire (una objeción importante a los matraces sellados de Pasteur) pero impide que entren los microorganismos.



(a)



M.T. Madigan

(b)

Figura 1.18 Louis Pasteur y algunos símbolos de su contribución a la microbiología. *(a)* Billete francés de 5 francos en memoria de Pasteur. El pastorcillo Jean-Baptiste Jupille aparece matando a un perro rabioso que había atacado a unos niños. La vacuna de la rabia de Pasteur salvó la vida a Jupille. *(b)* Parte del Instituto Pasteur, en París (Francia). Hoy en día, este edificio, construido para Pasteur por el gobierno francés, alberga un museo que muestra algunos de los matraces de cuello de cisne originales usados en sus experimentos y una capilla con la tumba de Pasteur.

1.8 Koch, las enfermedades infecciosas y los cultivos puros

La demostración de que algunos microorganismos causan enfermedades dio el impulso definitivo al desarrollo de la microbiología como ciencia biológica independiente. Ya en el siglo XVI se pensaba que había algo que inducía la enfermedad y se podía transmitir de una persona enferma a otra sana. Una vez descubiertos los microorganismos, se generalizó la creencia de que eran los responsables, pero faltaba la prueba definitiva. Las mejoras higiénicas introducidas por el médico húngaro Ignaz Semmelweis (quien intentó controlar las infecciones hospitalarias en 1847) y el médico británico Joseph Lister (que introdujo las técnicas de asepsia en la cirugía en 1867) aportaron pruebas indirectas de la importancia de los microorganismos en el origen de las enfermedades humanas. Pero hubo que esperar a los trabajos del médico alemán Robert Koch (1843-1910) (**Figura 1.19**) para que se desarrollara el concepto de enfermedad infecciosa y se contase con pruebas experimentales directas.



Figura 1.19 Robert Koch. El médico y microbiólogo alemán es conocido por ser el fundador de la microbiología médica y por sus famosos postulados.

La teoría microbiana de la enfermedad y los postulados de Koch

En sus primeros trabajos, Koch estudió el carbunco, una enfermedad del ganado y, ocasionalmente, humana. El carbunco está causado por *Bacillus anthracis* una bacteria que forma endosporas. Mediante cuidadosas técnicas de microscopía y tinción, Koch estableció que las bacterias siempre estaban presentes en la sangre de los animales que sucumbían a la enfermedad. Sin embargo, Koch argumentaba que la mera *asociación* de la bacteria con la enfermedad no era una demostración real de relación *causa-efecto*, y aprovechó la oportunidad de estudiar experimentalmente dicha relación usando carbunco en animales de laboratorio. Los resultados de esta investigación sentaron las bases del estudio de las enfermedades infecciosas desde entonces.

Koch utilizó ratones como animales experimentales. Con los controles adecuados, demostró que cuando se inyectaba una gotita de sangre de un ratón infectado con carbunco en un ratón sano, este desarrollaba carbunco rápidamente. Tomó sangre de este segundo animal, la inyectó en un tercero y de nuevo observó los síntomas característicos de la enfermedad. Sin embargo, Koch dio un nuevo paso fundamental en sus experimentos. Descubrió que la bacteria del carbunco se podía cultivar en caldo nutritivo *fuera del hospedador*, e incluso después de muchas transferencias de cultivo en laboratorio la bacteria seguía causando la enfermedad al ser inoculada en un animal sano.

Sobre la base de estos experimentos y de otros sobre el agente causante de la tuberculosis, Koch formuló un conjunto de criterios rigurosos, conocidos hoy en día como **postulados de Koch**, que vinculan definitivamente la causa y el efecto en una enfermedad infecciosa. Dichos postulados, resumidos en la Figura 1.20, subrayaban la importancia de *cultivar en el laboratorio* el presunto agente infeccioso y a continuación introducirlo en animales no infectados, así como de recuperar el patógeno de animales enfermos o muertos. Con estos postulados como guía, Koch, sus estudiantes y los que les siguieron descubrieron los agentes causantes de la mayoría de las enfermedades infecciosas importantes de los humanos y los animales domésticos. Estos descubrimientos también llevaron al desarrollo de tratamientos adecuados para la prevención y la cura de muchas de estas enfermedades, lo que mejoró de manera notable las bases científicas de la medicina clínica y la salud y el bienestar humanos (Figura 1.8).

La moderna era de la genómica también ha aportado su grano de arena en la cuestión de la causa y el efecto en las enfermedades infecciosas gracias al desarrollo de métodos moleculares para identificar posibles patógenos. Mediante estos métodos se puede identificar un patógeno aunque no se pueda cultivar o aunque el propio patógeno lleve tiempo muerto (véase «Explorando el mundo microbiano: La peste negra descifrada»). Estos métodos han revolucionado el diagnóstico y el tratamiento de las enfermedades infecciosas.

Koch, cultivos puros y taxonomía microbiana

El segundo de los postulados de Koch establece que el patógeno sospechoso debe aislarse y cultivarse separado de otros microorganismos en un cultivo de laboratorio (Figura 1.20); en microbiología, decimos que se trata de un cultivo *puro*. Para conseguir este importante objetivo, Koch y sus colaboradores desarrollaron métodos sencillos pero ingeniosos para obtener y

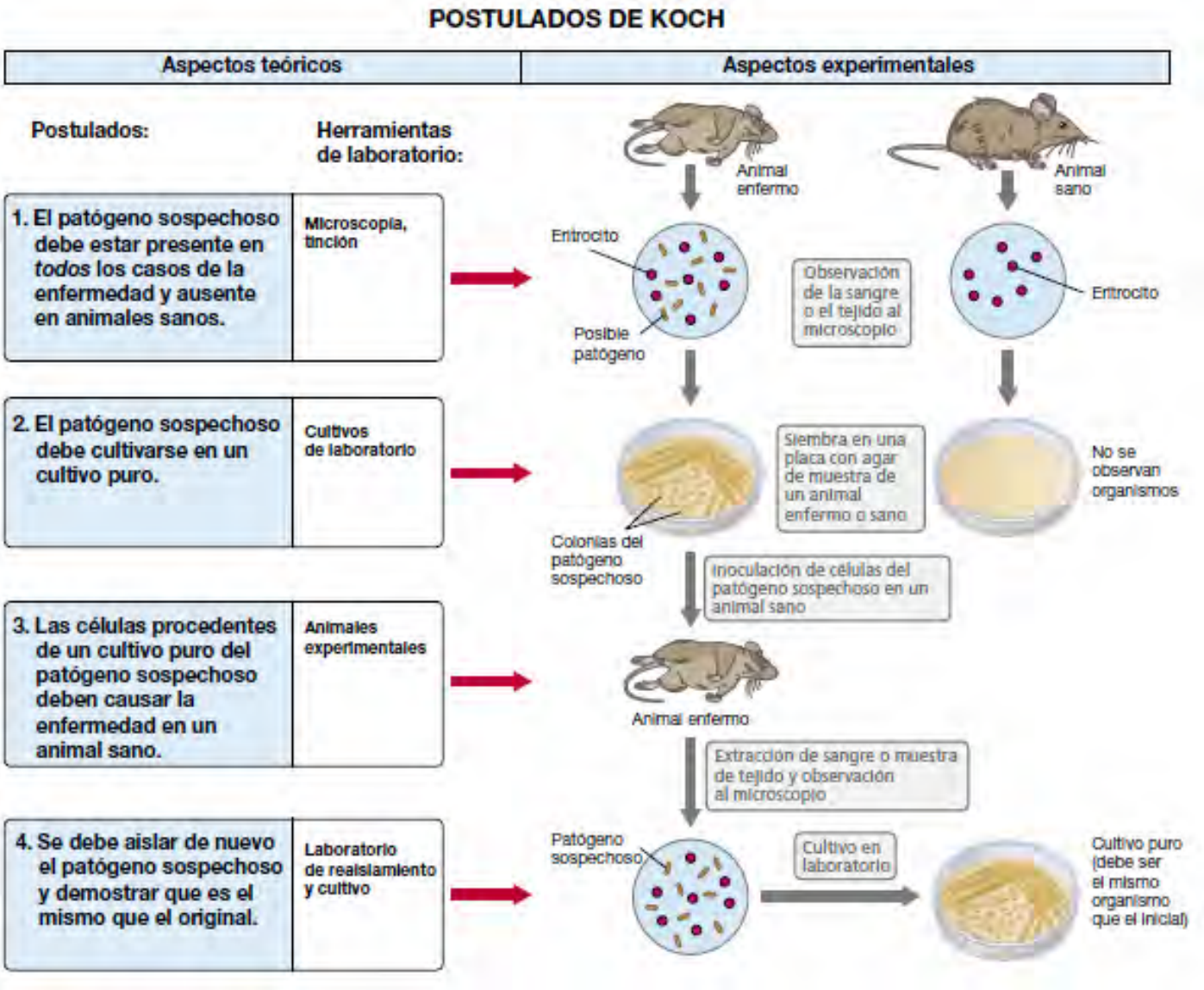


Figura 1.20 Postulados de Koch para demostrar la relación de causa y efecto en las enfermedades infecciosas. Obsérvese que tras el aislamiento de un cultivo puro del posible patógeno, el organismo cultivado debe iniciar la enfermedad y se debe poder recuperar del animal enfermo. Es esencial establecer las condiciones de crecimiento del patógeno o no podrá ser aislado.

En ocasiones es imposible cumplir los postulados de Koch, y en esos casos puede que la genómica establezca la relación causa-efecto de una forma diferente. Se han secuenciado miles de genomas microbianos, y estos han puesto de manifiesto que los patógenos a menudo contienen unos genes distintivos que pueden usarse para identificarlos inequívocamente en una muestra clínica sin necesidad de cultivarlos en el laboratorio. Esta tecnología ha mejorado notablemente la rapidez y la precisión de los diagnósticos. Aunque los métodos basados en la genómica se han utilizado principalmente para diagnosticar enfermedades en pacientes enfermos pero todavía vivos, también sirven para resolver misterios médicos antiguos en los que tanto los enfermos como el patógeno a recuperar hacía tiempo que habían desaparecido. Un ejemplo excelente es el estudio que reveló el agente causante de la peste negra.

La «peste negra» arrasó Europa a mediados del siglo XIV procedente de la península de Crimea (en la actual Ucrania). Durante mucho tiempo se pensó que se había tratado de un brote masivo de peste bubónica, una enfermedad normalmente mortal cuyo agente causante, *Yersinia pestis* (**Figura 1**) fue descubierto por el microbiólogo suizo Alexandre Yersin en 1894 y solo más tarde vinculado a la enfermedad mediante estudios con animales modelo. Sin embargo, en el caso de la peste negra, la conexión con *Y. pestis* no estaba clara, al menos por dos razones de peso. En primer lugar, este brote mortal y generalizado de la enfermedad (la peste negra mató aproximadamente a un tercio de la población europea) se produjo hace unos 650 años, y en segundo lugar, con frecuencia las descripciones históricas de los síntomas de las víctimas eran ambiguas, lo que dejaba abierta la posibilidad de que otros patógenos pudieran ser los responsables. Los estudios genómicos confirmaron que la peste negra fue un grave brote de peste, y el estudio publicado[1] se ha convertido en un modelo de cómo la genómica puede contribuir a la investigación de las enfermedades.

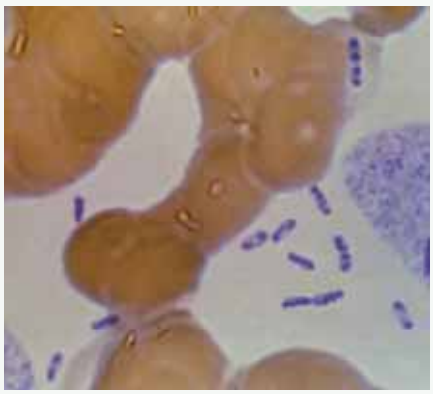


Figura 1 **Micrografía óptica de células de la bacteria *Yersinia pestis* en un frotis sanguíneo. Esta bacteria es el agente causante de la peste bubónica.**

¿Cómo se confirmó el vínculo entre la peste negra y la peste bubónica? En el tiempo de la peste negra, en el año 1349, se construyó un nuevo cementerio en East Smithfield (Inglaterra). De acuerdo con los registros de enterramientos, aquel cementerio se hizo específicamente para acoger a las víctimas de la peste negra, y en poco más de un año albergaba más de 2.500 cuerpos. No se hicieron más enterramientos. Un equipo de investigadores examinó los cadáveres extraídos del cementerio de East Smithfield sabiendo a ciencia cierta que todos los cuerpos habían sido víctimas de la peste negra. Gracias a ello, los científicos pudieron descartar otras causas de muerte[1].

La peste bubónica es una infección del sistema linfático causada por células de *Y. pestis* y transmitida a una persona por la mordedura de una pulga infectada. Las bacterias se multiplican en los nódulos linfáticos y forman dolorosas hinchazones llamadas *bubones,* y desde allí las células viajan por todo el cuerpo y provocan la hemorragia de los tejidos, que, en consecuencia, se ennegrecen (de ahí el nombre *peste negra*) (**Figura 2**). A partir de muestras de dientes y huesos de restos humanos desenterrados de East Smithfield, y usando un método para la «captura de DNA» de *Y. pestis* desarrollado a partir de estudios genómicos previos del patógeno, un equipo internacional de investigación[1] obtuvo DNA antiguo suficiente para reconstruir el genoma de la bacteria que causó la peste negra. Al comparar este genoma con el procedente de colonias de *Y. pestis* obtenidas de brotes recientes se resolvió el misterio que había detrás de esta devastadora enfermedad medieval: la peste negra era en realidad peste bubónica.

Análisis posteriores del genoma de *Y. pestis* de la peste negra mostraron que la cepa de la peste negra era el ancestro de todas las cepas modernas de *Y. pestis*, y que los genomas de las cepas modernas han evolucionado muy poco respecto de la cepa que causó la peste negra durante los 660 años transcurridos desde entonces. Esto indica la gran importancia de otros factores —la escasísima higiene, una llegada de ratas (las ratas transportan las pulgas portadoras de *Y. pestis*) y la malnutrición— en la intensificación del brote de peste negra en comparación con otras oleadas de peste menos extensas que azotaron Europa en otras épocas. De hecho, la peste negra es la pandemia de peste más devastadora que ha sufrido el mundo. Y al afectar a un área geográfica tan amplia, la cepa de *Y. pestis* de la peste negra pudo infectar una grandísima población de pulgas y ratas y quedó firmemente arraigada, de manera que ha resurgido periódicamente desencadenando brotes localizados de peste bubónica, cuya trazabilidad se alcanza hasta la bacteria de la peste negra que hizo estragos hace más de medio milenio.



Figura 2 **Síntomas de la peste bubónica.** El ennegrecimiento de la piel de los dedos del pie de esta víctima de la peste está causado por el sangrado interno (hemorrágico) debido a la infección sistémica con *Yersinia pestis*.

En los países desarrollados, cada año se registran unos cuantos casos de peste. No obstante, hoy en día la peste entraña dos preocupaciones: además de tener que luchar con la enfermedad natural, ¡debemos estar también en guardia frente al uso de *Y. pestis* como agente de bioterrorismo!

[1]Bos, K. I. *et al.* 2011. A draft genome of *Yersinia pestis* from victims of the Black Death. *Nature 478:* 506-510.

cultivar bacterias en **cultivo puro**, y muchos de estos métodos siguen usándose hoy en día.

Koch empezó utilizando superficies naturales, como una rodaja de patata, para obtener cultivos puros, pero muy pronto desarrolló medios de cultivo más fiables y reproducibles mediante el uso de soluciones nutritivas líquidas solidificadas con gelatina, y más tarde con agar, un polisacárido producido por unas algas, con propiedades excelentes para este propósito. Con ayuda de su colega Walther Hesse, Koch observó que cuando una superficie sólida se incubaba al aire se desarrollaban masas de células bacterianas, llamadas *colonias*, cada una de ellas con una forma y un color característicos (**Figura 1.21**). Koch supuso que cada colonia procedía de una sola célula bacteriana que había crecido para producir la masa de células. Así, cada colonia albergaría una población de células idénticas, es decir, un *cultivo puro*, y en seguida comprendió que los medios sólidos proporcionaban una forma fácil de obtener cultivos puros. En 1887, Richard Petri, otro colaborador de Koch, inventó las placas transparentes de dos caras conocidas como *placas de Petri*, que se convirtieron rápidamente en la herramienta estándar para obtener cultivos puros.

Koch era plenamente consciente de las implicaciones que sus métodos de cultivo puro tenían en la clasificación de microorganismos. Observó que las colonias que diferían en color y tamaño (Figura 1.21) se perpetuaban y que las células de colonias diferentes siempre diferían en forma y tamaño, y a menudo también en sus necesidades nutricionales. Se dio cuenta de que estas diferencias eran análogas a los criterios que los taxónomos habían establecido para la clasificación de organismos de mayor tamaño, como las especies de plantas y animales, así que sugirió que los diferentes tipos de bacterias deberían ser considerados «especies, variedades, formas o alguna otra designación adecuada». Este enfoque tan perspicaz resultó trascendental para la rápida aceptación de la microbiología como nueva ciencia biológica, basada, al igual que la biología de la época, en la clasificación.

Koch y la tuberculosis

El logro científico más importante de Koch fue su descubrimiento del agente causante de la tuberculosis. Cuando Koch empezó esta investigación (1881) una de cada siete muertes registradas estaba causada por la tuberculosis (Figura 1.8). Existía la fuerte sospecha de que la tuberculosis era una enfermedad contagiosa, pero el supuesto agente no se había visto nunca, ni en tejidos enfermos ni en cultivo. Después de su éxito en el estudio del carbunco, Koch se dispuso a demostrar la causa de la tuberculosis, y para ello combinó todos los métodos que tan cuidadosamente había desarrollado en sus investigaciones anteriores con el carbunco: la microscopía, la tinción, el aislamiento en cultivo puro y um sistema de modelos animales (Figura 1.20).

La bacteria que causa la tuberculosis, *Mycobacterium tuberculosis*, es muy difícil de teñir porque sus células contienen grandes cantidades de lípidos cerosos en la pared celular. A pesar de ello, Koch ideó un procedimiento de tinción para las células de esta bacteria en muestras de tejido pulmonar. Con este método, observó las células azules en forma de bastoncillo de *M. tuberculosis* en tejidos tuberculosos, pero no en tejidos sanos (**Figura 1.22**). No era fácil obtener cultivos de *M. tuberculosis*, pero al fin Koch consiguió cultivar colonias de este organismo en una solución nutritiva solidificada que contenía suero sanguíneo. Incluso en condiciones idóneas, *M. tuberculosis* crece lentamente en cultivo, pero la persistencia y la paciencia de Koch dieron sus frutos y este consiguió finalmente cultivos puros del organismo procedente de muestras humanas y animales.

A partir de aquí, Koch utilizó sus postulados (Figura 1.20) para obtener pruebas definitivas de que el organismo que había aislado era el causante de la tuberculosis. Los conejillos de indias se infectan fácilmente con *M. tuberculosis* y finalmente sucumben a la tuberculosis sistémica. Koch demostró que los



Figura 1.21 Fotografía tomada por Walther Hesse y coloreada a mano de colonias formadas sobre agar. Se observan colonias de mohos y de bacterias obtenidas durante los estudios de Hesse del contenido microbiano del aire en Berlín (Alemania) en 1882. De: Hesse, W. 1884. «Über die quantitative Bestimmung der in der Luft enthaltenen Mikroorganismen.» *Mittheilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte 2*:182-207.

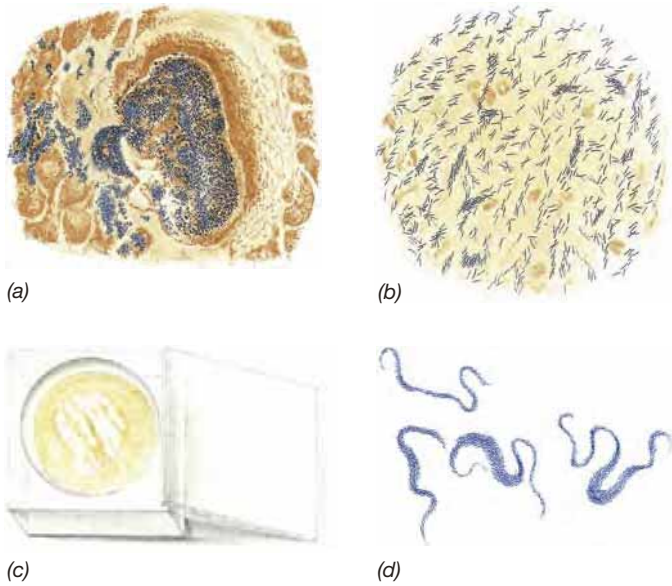


Figura 1.22 Dibujos de Robert Koch de *Mycobacterium tuberculosis*. *(a)* Sección de un tejido pulmonar infectado que muestra células de *M. tuberculosis* (en azul). *(b)* Células de *M. tuberculosis* en una muestra de esputo de un paciente tuberculoso. *(c)* Cultivo de *M. tuberculosis* en una placa de vidrio de suero de sangre coagulada guardada en una caja de vidrio para impedir su contaminación. *(d)* Células de *M. tuberculosis* tomadas de la placa de *(c)* y observadas al microscopio; las células tienen forma alargada, de cordel. Dibujos originales de: Koch, R. 1884. «Die Aetiologie der Tuberkulose.» *Mittheilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte 2*: 1-88.

conejillos de indias tuberculosos contenían masas de células de *M. tuberculosis* en los pulmones y que los cultivos puros obtenidos de estos animales transmitían la enfermedad a animales sanos. De este modo, Koch cumplió con éxito los cuatro postulados y la causa de la tuberculosis fue desentrañada. Anunció su descubrimiento de la causa de la tuberculosis en 1882, y en 1905 recibió el Premio Nobel de Fisiología o Medicina por ello. Koch tuvo muchos más triunfos en el creciente campo de las enfermedades infecciosas, como el descubrimiento del agente causante del cólera (la bacteria *Vibrio cholerae*) y el desarrollo de métodos para diagnosticar la infección por *M. tuberculosis* (la prueba cutánea de la tuberculina).

MINIRREVISIÓN

- ¿De qué manera aseguran los postulados de Koch que la causa y el efecto de una enfermedad determinada están claramente diferenciados?
- ¿Qué ventajas ofrecen los medios sólidos para el aislamiento de microorganismos?
- ¿Qué es un cultivo puro?

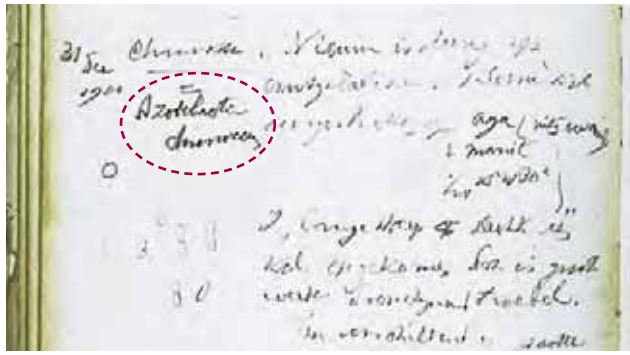
1.9 El aumento de la diversidad microbiana

En el siglo xx el enfoque inicial de la microbiología en los principios, métodos y aspectos médicos básicos se amplió para incluir el estudio de la diversidad microbiana del suelo y del agua y de los procesos metabólicos que los microorganismos llevan a cabo en esos hábitats. En esta época destacan las aportaciones del holandés Martinus Beijerinck y el ruso Sergei Winogradsky.

Martinus Beijerinck y la técnica del cultivo de enriquecimiento

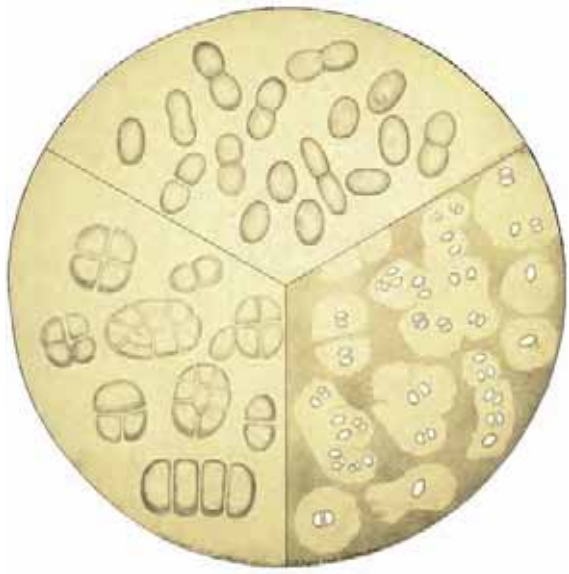
Martinus Beijerinck (1851-1931) fue profesor en la Escuela Politécnica de Delft (Holanda). Había estudiado botánica, de manera que empezó su carrera en microbiología estudiando las plantas. La mayor contribución de Beijerinck al campo de la microbiología fue su clara formulación de la **técnica del cultivo de enriquecimiento**. En ese tipo de cultivos, los microorganismos se aíslan de muestras naturales mediante nutrientes y condiciones de incubación muy selectivos para favorecer un grupo metabólico concreto de organismos. La habilidad de Beijerinck con el método de enriquecimiento se hizo patente en seguida cuando tras el descubrimiento de Winogradsky del proceso de fijación de nitrógeno se aisló del suelo *Azotobacter*, una bacteria aerobia fijadora de nitrógeno (**Figura 1.23**). Las bacterias que fijan nitrógeno pueden utilizar el nitrógeno atmosférico (N_2) para sintetizar importantes sustancias nitrogenadas en la célula, como aminoácidos para las proteínas y nucleótidos para los ácidos nucleicos.

Con la técnica del cultivo de enriquecimiento, Beijerinck aisló los primeros cultivos puros de muchos microorganismos edáficos y acuáticos, como las bacterias reductoras de sulfato y las oxidantes de azufre, las bacterias fijadoras de nitrógeno de los nódulos radiculares (Figura 1.9), las bacterias del ácido láctico, las algas verdes, diversas bacterias anaerobias y



Lesley Robertson and the Kluyver Laboratory Museum, Delft University of Technology

(a)



Lesley Robertson and the Kluyver Laboratory Museum, Delft University of Technology

(b)

Figura 1.23 **Martinus Beijerinck y *Azotobacter*.** *(a)* Página del cuaderno de laboratorio de M. Beijerinck fechada el 31 de diciembre de 1900, en la que se describe la bacteria aerobia fijadora de nitrógeno *Azotobacter chroococcum* (con el nombre rodeado en rojo). Compárense los dibujos de los pares de células de *A. chroococcum* con la micrografía de células de *Azotobacter* de la Figura 14.32. *(b)* Dibujo de la hermana de M. Beijerinck, Henriëtte Beijerinck, en el que se ven células de *Azotobacter chroococcum*. Beijerinck utilizó estos dibujos para ilustrar sus clases.

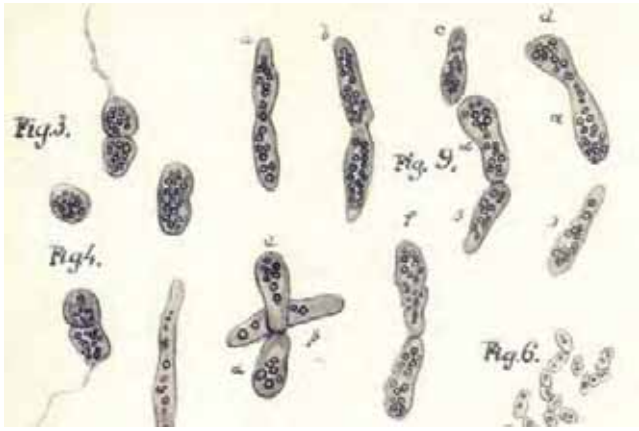
muchos más. Además, en sus estudios clásicos de la enfermedad del mosaico del tabaco, Beijerinck utilizó filtros selectivos para demostrar que el agente infeccioso de esta enfermedad (un virus) era más pequeño que una bacteria y que, de algún modo, se incorporaba a las células de la planta hospedadora viva. En este brillante trabajo, Beijerinck no solo describió el primer virus, sino también los principios de la virología, que explicamos en el Capítulo 8.

Sergei Winogradsky, la quimiolitotrofia y la fijación de nitrógeno

Al igual que Beijerinck, Sergei Winogradsky (1856-1953) estaba interesado en la diversidad bacteriana del suelo y del agua, y aisló con éxito diversas bacterias importantes de muestras naturales. Winogradsky estaba especialmente interesado en las bacterias que usan compuestos de nitrógeno y azufre, como las bacterias

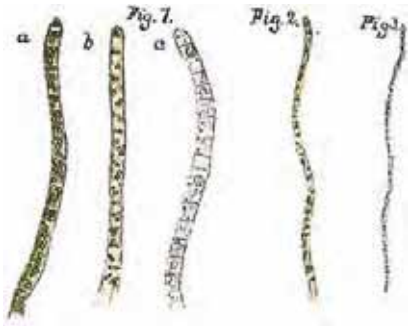
nitrificantes y las bacterias del azufre (Figura 1.24). Demostró que estas bacterias catalizan transformaciones químicas específicas en la naturaleza, y propuso el importante concepto de **quimiolitotrofia**, la oxidación de compuestos *inorgánicos* para obtener energía. Además, Winogradsky demostró que estos organismos, a los que llamó *quimiolitótrofos* (que quiere decir, literalmente, «comedores de tierra»), están muy extendidos en la naturaleza y obtienen el carbono del CO_2. Así pues, descubrió que las bacterias quimiolitótrofas, al igual que los organismos fotosintéticos, son *autótrofas*.

Winogradsky fue el primero en aislar una bacteria fijadora de nitrógeno, el anaerobio *Clostridium pasteurianum*, y como hemos dicho, Beijerinck se basó en este descubrimiento años después para aislar a su vez las bacterias fijadoras de nitrógeno *aerobias* (Figura 1.23). Winogradsky vivió casi hasta los cien años y publicó muchos artículos científicos y una notable monografía, *Microbiologie du Sol (Microbiología del suelo)*. Este trabajo, un hito en la microbiología, contiene dibujos de muchos de los organismos que Winogradsky estudió durante su larga carrera (Figura 1.24).



From *Microbiologie du Sol*, used with permission

(a)



From Winogradsky, S. 1949. *Microbiologie du Sol.* Masson, Paris.

(b)

Figura 1.24 Bacterias del azufre. Los dibujos originales fueron realizados por Sergei Winogradsky a finales de la década de 1880 y después copiados y coloreados a mano por su mujer Hèléne. *(a)* Bacterias fotótrofas rojas del azufre. Las Figuras 3 y 4 muestran células de *Chromatium okenii* (compárense con las micrografías de *C. okenii* de las Figuras 1.5*a* y 1.7*a*). *(b) Beggiatoa*, un quimiolitótrofo del azufre (compárese con las Figuras 1.15 y 14.27).

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué significa el término *cultivo de enriquecimiento*?
- ¿Qué significa el término *quimiolitotrofia*? ¿En qué sentido los quimiolitótrofos son como las plantas?

1.10 La microbiología moderna y la genómica

En el siglo xx el campo de la microbiología se desarrolló rápidamente, ya que se inventaron muchas herramientas nuevas de laboratorio y la ciencia maduró y abarcó nuevas subdisciplinas. Muchas de estas subdisciplinas tenían tanto componentes de descubrimiento (básicos) como de resolución de problemas (aplicados) (Tabla 1.3). A mediados de siglo, con los estudios sobre las propiedades genéticas de los microorganismos, la microbiología experimentó un nuevo impulso. A partir de estas bases de genética microbiana se desarrollaron los nuevos campos de la biología molecular, la ingeniería genética y la genómica. Estas subdisciplinas moleculares han revolucionado las ciencias de la vida y han engendrado nuevas generaciones de herramientas experimentales con las que atacar los problemas más complejos y desafiantes de la biología.

Muchos de los avances actuales de la microbiología están impulsados por la **genómica**, que es el mapeo, la secuenciación y el análisis de los genomas. Los nuevos métodos de secuenciación del DNA y la mejora de la capacidad de los ordenadores han generado grandes cantidades de datos genómicos que pueden servir para resolver problemas en medicina, agricultura y medio ambiente. El vertiginoso campo de la genómica por sí solo ha generado varias subdisciplinas de gran especificidad, como la *transcriptómica*, la *proteómica* y la *metabolómica*, que exploran los patrones de expresión del RNA, las proteínas y las rutas metabólicas, respectivamente. Los conceptos de genómica, transcriptómica, proteómica, metabolómica y otras «-ómicas» se presentan en el Capítulo 6.

En la actualidad, la genómica se encuentra muy cerca de definir la mínima dotación genética necesaria para que una célula viva. Con esta información, los microbiólogos deberían ser capaces de definir los requisitos biológicos para la vida en términos genéticos precisos. Cuando llegue ese día, y probablemente no falte demasiado, debería ser posible la creación en el laboratorio de una célula viva a partir de componentes inertes —en esencia, por generación espontánea. Obviamente, hay todavía mucha ciencia apasionante aguardando a la nueva generación de microbiólogos, y si el lector sigue su viaje por este libro podrá entenderla y apreciarla. Buena suerte y bienvenido al sorprendente mundo de la microbiología.

MINIRREVISIÓN

- Identifique la subdisciplina de la microbiología relacionada con cada uno de estos temas: metabolismo, enzimología, síntesis de ácidos nucleicos y proteínas, microorganismos y sus ambientes naturales, clasificación microbiana, herencia de caracteres, dotación genética de diferentes organismos.

Tabla 1.3 Principales subdisciplinas de la microbiología

Subdisciplina	*Tema*
I. Aspectos básicos[a]	
Fisiología microbiana	Nutrición, metabolismo
Genética microbiana	Genes, herencia y variación genética
Bioquímica microbiana	Enzimas y reacciones químicas en las células
Sistemática microbiana	Clasificación y nomenclatura
Virología	Virus y partículas subvíricas
Biología molecular	Ácidos nucleicos y proteínas
Ecología microbiana	Diversidad microbiana y actividad en hábitats naturales; biogeoquímica
Genómica	Secuenciación genómica y análisis comparativos
II. Aspectos aplicados[a]	
Microbiología médica	Enfermedades infecciosas
Inmunología	Sistemas inmunitarios
Microbiología agrícola/edáfica	Diversidad microbiana y procesos edáficos
Microbiología industrial	Producción a gran escala de antibióticos, alcohol y otras sustancias químicas
Biotecnología	Producción de proteínas humanas mediante microorganismos modificados genéticamente
Microbiología acuática	Procesos microbianos en aguas y aguas residuales; seguridad del agua potable

[a]Ninguna de estas subdisciplinas está dedicada por completo a la ciencia básica o a la ciencia aplicada. No obstante, las subdisciplinas citadas en I suelen estar más enfocadas hacia el descubrimiento y las citadas en II hacia la resolución de problemas o la creación de productos comerciales.

IDEAS PRINCIPALES

1.1 • Los microorganismos son organismos microscópicos unicelulares esenciales para el bienestar y el funcionamiento de otras formas de vida en el planeta. Como ciencia, la microbiología tiene sus vertientes básica y aplicada; la básica genera nuevo conocimiento y la aplicada resuelve problemas.

1.2 • Como las casas, las células están formadas por muchas partes, y todas ellas interaccionan entre sí para formar el organismo vivo. Las células procariotas y eucariotas se diferencian entre sí en la arquitectura celular, y las características de un organismo están definidas por su dotación genética, es decir, su genoma. Hay actividades que todas las células realizan: el metabolismo, el crecimiento y la evolución.

1.3 • Poblaciones microbianas diversas se extendieron por la Tierra millones de años antes de que aparecieran los organismos superiores, y las cianobacterias en concreto fueron importantes porque oxigenaron la atmósfera. Los principales linajes (dominios) filogenéticos de las células son *Bacteria*, *Archaea* y *Eukarya*.

1.4 • Los microorganismos viven en poblaciones que interaccionan con otras poblaciones para formar comunidades microbianas. Las actividades de los microorganismos en las comunidades microbianas pueden afectar notablemente a las propiedades químicas y físicas de sus hábitats. La biomasa microbiana en la Tierra supera la de los organismos superiores, aunque la mayoría de las células microbianas en realidad residen en el subsuelo y en las profundidades marinas.

1.5 • Hay microorganismos beneficiosos y otros perjudiciales para los seres humanos, aunque hay muchos más microorganismos beneficiosos (o incluso esenciales) que perjudiciales. La agricultura, la alimentación y el medio ambiente reciben una influencia fundamental de los microorganismos.

1.6 • Robert Hooke fue el primero en describir un microorganismo, y Antoni van Leeuwenhoek el primero en describir las bacterias. Ferdinand Cohn fundó el campo de la bacteriología y descubrió las endosporas bacterianas.

1.7 • Louis Pasteur diseñó ingeniosos experimentos que demostraron que los organismos vivos no surgen espontáneamente de la materia inerte. Pasteur desarrolló muchos conceptos y técnicas fundamentales para la ciencia de la microbiología, como la esterilización, y desarrolló importantes vacunas para los humanos y otros animales.

1.8 • Robert Koch desarrolló un conjunto de criterios, llamados postulados de Koch, para indentificar la causa y el efecto de las enfermedades infecciosas. Koch también desarrolló el primer método fiable y reproducible para obtener y mantener los microorganismos en cultivos puros.

1.9 • Martinus Beijerinck y Sergei Winogradsky exploraron el suelo y el agua en busca de los microorganismos que llevan a cabo importantes procesos naturales, como los ciclos de los nutrientes y la biodegradación de determinadas sustancias. De su trabajo surgieron la técnica del cultivo de enriquecimiento y los conceptos de quimiolitotrofia y fijación de nitrógeno.

1.10 • Durante la segunda mitad del siglo xx surgieron diversas subdisciplinas básicas y aplicadas de la microbiología que allanaron el camino para la era actual de la microbiología molecular, con las ciencias genómicas como elemento central.

MasteringMicrobiology®

Revise lo que sabe y descubra lo que ha aprendido con MasteringMicrobiology. Acceda a material de estudio, revisiones de los capítulos, animaciones y tutoriales de microbiología práctica en el Área de Estudio y asegúrese de que ha asimilado todo el contenido de este capítulo.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Citoplasma: parte fluida de la célula, rodeada por la membrana citoplasmática.
Comunicación: interacciones entre células mediante señales químicas.
Comunidad microbiana: dos o más poblaciones de células que coexisten e interaccionan en un hábitat.
Crecimiento: en microbiología, aumento del número de células con el tiempo.
Cultivo puro: cultivo que contiene un solo tipo de microorganismo.
Diferenciación: modificación de los componentes celulares para formar una estructura nueva, por ejemplo una espora.
Dominio: cada uno de los tres linajes evolutivos principales de las células: *Bacteria*, *Archaea* y *Eukarya*.
Ecología microbiana: estudio de los microorganismos en su ambiente natural.
Ecosistema: los organismos más su ambiente no vivo.
Enzima: proteína (o, en algunos casos, RNA) catalizadora que funciona acelerando las reacciones químicas.
Estéril: sin organismos vivos (células) ni virus.
Eucariota: célula con un núcleo envuelto por una membrana y con otros orgánulos con membrana; *Eukarya*.
Evolución: descendencia con modificación que da lugar a nuevas formas o especies.
Extremófilos: microorganismos que habitan en ambientes no aptos para las formas de vida superiores, como los que son extremadamente fríos o calientes, o ambientes ácidos, alcalinos o extremadamente salados.
Generación espontánea: hipótesis según la cual los organismos vivos se pueden originar a partir de materia inerte.
Genoma: dotación completa de genes de un organismo.
Genómica: mapeo, secuenciación y análisis de genomas.
Hábitat: ambiente en el que vive una población microbiana.
Intercambio genético: transferencia de genes o aceptación de genes entre células procariotas.
Macromolécula: polímero de unidades monoméricas como las proteínas, los ácidos nucleicos, los polisacáridos o los lípidos.
Membrana citoplasmática: barrera semipermeable que separa el interior de la célula (citoplasma) del ambiente.
Metabolismo: todas las reacciones bioquímicas de una célula.
Microorganismo: organismo microscópico formado por una sola célula o un conjunto de ellas, o virus.
Motilidad: movimiento de las células mediante alguna forma de autopropulsión.
Núcleo: estructura envuelta por una membrana en las células eucariotas que contiene el genoma de DNA de la célula.
Nucleoide: masa agregada de DNA que constituye el material genético de las células procariotas.
Orgánulo: estructura envuelta por una bicapa de membrana, como la mitocondria, presente en las células eucariotas.
Patógeno: microorganismo que causa enfermedades.
Pared celular: capa rígida presente en el exterior de la membrana citoplasmática; confiere rigidez estructural a la célula e impide su lisis osmótica.
Postulados de Koch: conjunto de criterios para demostrar que un microorganismo determinado causa una enfermedad concreta.
Procariota: célula que carece de núcleo envuelto por una membrana y otros orgánulos; *Bacteria* o *Archaea*.
Quimiolitotrofia: forma de metabolismo en la que la energía se genera por oxidación de compuestos inorgánicos.
Ribosoma: estructura compuesta por RNA y proteínas en la que se sintetizan las proteínas nuevas.
Técnica del cultivo de enriquecimiento: método para aislar microorganismos específicos de la naturaleza mediante medios de cultivo y condiciones de incubación específicos.

PREGUNTAS DE REPASO

1. ¿Cuáles son los dos temas principales de la microbiología y en qué se diferencia su enfoque? (Sección 1.1)
2. ¿En qué se diferencian las células procariotas de las eucariotas? Enumere las principales actividades que realizan las células y, en cada caso, describa por qué se lleva a cabo la actividad. (Sección 1.2)
3. ¿Por qué la evolución de las cianobacterias cambió la Tierra para siempre? ¿Cuántos dominios de la vida hay y cómo están relacionados? (Sección 1.3)
4. ¿Qué es un ecosistema? ¿Qué efectos pueden tener los microorganismos sobre sus ecosistemas? (Sección 1.4)
5. ¿Cómo convencería a un amigo de que los microorganismos son mucho más que simples agentes de enfermedades? (Sección 1.5)
6. ¿Por qué contribuciones se recuerda principalmente a Robert Hooke y a Antoni van Leeuwenhoek en microbiología? ¿En qué época trabajaron estos científicos? (Sección 1.6)
7. Explique el principio subyacente al matraz de Pasteur en sus estudios sobre la generación espontánea. ¿Por qué sus resultados contradecían la teoría de la generación espontánea? (Sección 1.7)
8. ¿Qué es un cultivo puro y cómo se puede obtener? ¿Por qué son importantes los cultivos puros para la microbiología médica y otras áreas de la microbiología? (Sección 1.8)
9. ¿Qué son los postulados de Koch y cómo influyeron en el desarrollo de la microbiología? ¿Por qué siguen siendo importantes hoy en día? (Sección 1.8)
10. ¿Cuáles fueron los principales intereses microbiológicos de Martinus Beijerinck y Sergei Winogradsky? Se puede decir que ambos descubrieron la fijación de nitrógeno. Explíquelo. (Sección 1.9)
11. Escoja una de las grandes subdisciplinas de la microbiología de cada una de las dos categorías principales de la Tabla 1.3. ¿Por qué cree que esa subdisciplina es básica o aplicada? (Sección 1.10)

EJERCICIOS PRÁCTICOS

1. Los experimentos de Pasteur sobre la generación espontánea contribuyeron a afianzar los métodos experimentales de la microbiología, a la comprensión del origen de la vida y a instaurar técnicas para la conservación de los alimentos. Explique brevemente la repercusión de los experimentos de Pasteur en estos temas.
2. Describa las diferentes pruebas que Robert Koch usó para asociar la bacteria *Mycobacterium tuberculosis* con la enfermedad de la tuberculosis. ¿Podría haber realizado estas pruebas si no hubiera desarrollado las herramientas para estudiar las enfermedades bacterianas?
3. Imagine que todos los microorganismos desaparecen de repente de la Tierra. Con lo que ha aprendido en este capítulo, ¿por qué cree que los animales terminarían por desaparecer también? ¿Por qué desaparecerían las plantas? Por el contrario, si todos los organismos superiores desaparecieran de repente, ¿qué parte de la Figura 1.4*a* nos dice que no les ocurriría lo mismo a los microorganismos?

CAPÍTULO

2 · Estructura y funciones de las células microbianas

microbiología **actual**

La tortuga y la liebre arqueanas

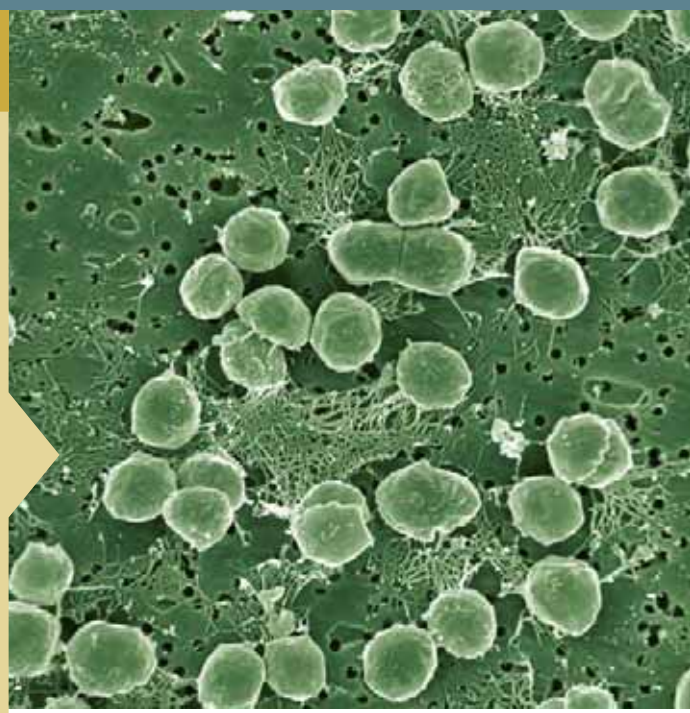
La motilidad es importante para los microorganismos porque la capacidad de moverse permite a las células explorar nuevos hábitats y explotar sus recursos. Hace más de cincuenta años que se estudia la motilidad en la bacteria flagelada *Escherichia coli*; en este organismo se vio por vez primera que el flagelo bacteriano funciona por rotación, y que cuando la velocidad se expresa en términos de longitud corporal recorrida por segundo, en realidad las células de *E. coli* se mueven con más rapidez que el más veloz de los animales.

Los estudios con la arquea *Halobacterium* mostraron que sus flagelos también rotan, pero son más delgados que los bacterianos y están compuestos por una proteína diferente de la flagelina, la proteína de la que están hechos los flagelos bacterianos. Además, la observación de las células natatorias mostró que *Halobacterium* es lenta como una tortuga, ya que se mueve a menos de la décima parte de la velocidad de *E. coli*. Esto suscitó la interesante cuestión que, si lo mismo se cumplía para todas las *Archaea,* ¿son estos microorganismos trotadores naturales, en lugar de velocistas?

Recientemente, los microbiólogos se han centrado en los movimientos de las *Archaea* nadadoras y han demostrado que *Halobacterium* es la más lenta de todas las especies examinadas[1]. Por el contrario, las células de la arquea *Methanocaldococcus* (en la foto, las células con penachos de flagelos) nadan unas cincuenta veces más rápido que las células de *Halobacterium* y diez veces más que las células de *E. coli. Methanocaldococcus* recorre aproximadamente quinientas veces la longitud celular por segundo, lo que la convierte en el organismo más rápido de la Tierra.

Obviamente, el pequeño diámetro del flagelo arqueano no obliga a que la velocidad de natación sea lenta como algunos predijeron a partir del trabajo con *Halobacterium*. En realidad, la velocidad natatoria de las *Archaea* puede variar mucho[1]. De hecho, la existencia tanto de una «tortuga» como de una «liebre» dentro de las *Archaea* muestra que todavía tenemos mucho que aprender sobre la estructura y el funcionamiento de las células microbianas.

[1] Herzog, B. y R. Wirth. 2012. Swimming behavior of selected species of Archaea. *Appl. Environ. Microbiol. 78:* 1670-1674.



I Microscopía 28
II Las células de *Bacteria* y *Archaea* 34
III La membrana citoplasmática y el transporte 37
IV La pared celular en *Bacteria* y *Archaea* 43
V Otras estructuras superficiales e inclusiones celulares 50
VI El movimiento microbiano 58
VII Células microbianas eucariotas 66

I • Microscopía

Históricamente, los mayores avances de la microbiología han coincidido con el desarrollo de nuevas herramientas y mejora de las tradicionales existentes para el estudio de los microorganismos. El microscopio es el instrumento más antiguo y más básico para el estudio de las estructuras microbianas. Existen muchos tipos de microscopios, y algunos de ellos son extremadamente potentes. Por tanto, como preludio de nuestro estudio de las estructuras celulares revisaremos algunas de las herramientas habituales para visualizar las células con el fin de entender cómo funcionan y qué pueden enseñarnos.

2.1 El descubrimiento de la estructura celular: el microscopio óptico

Para ver microorganismos se necesita un microscopio, ya sea *óptico* o *electrónico*. En general, los microscopios ópticos se usan para examinar células a relativamente pocos aumentos, y los electrónicos para examinar células y estructuras celulares a muchos aumentos.

Todos los microscopios utilizan lentes que amplifican la imagen. No obstante, el aumento no es el factor limitante en nuestra capacidad para ver objetos pequeños; es la **resolución** —la capacidad para identificar dos objetos adyacentes como distintos e independientes— lo que regula nuestra habilidad para ver lo muy pequeño. Si bien los aumentos se pueden aumentar prácticamente sin límite, con la resolución no ocurre lo mismo, ya que es una función de las propiedades físicas de la luz.

Para empezar estudiaremos el microscopio óptico, cuyo límite de resolución es, aproximadamente, de 0,2 µm (µm es la abreviatura de micrómetro, 10^{-6} m). A continuación seguiremos con el microscopio electrónico, cuya resolución es considerablemente mayor.

El microscopio óptico compuesto

El microscopio óptico utiliza la luz visible para iluminar las estructuras celulares. En microbiología se usan distintos tipos de microscopios ópticos: de *campo claro*, *contraste de fases*, *contraste por interferencia diferencial*, *campo oscuro* y *fluorescencia*.

Con el microscopio de campo claro, las muestras se visualizan por las pequeñas diferencias de contraste que existen entre ellas y el medio que las rodea, y estas diferencias son debidas a que las células absorben o dispersan la luz en distinto grado. El microscopio óptico compuesto moderno consta de dos lentes, *objetivo* y *ocular*, que actúan combinadas para formar la imagen. La fuente de luz se enfoca sobre la muestra mediante el condensador (**Figura 2.1**). Normalmente las células bacterianas son difíciles de observar con el microscopio de campo claro, porque no tienen un contraste significativo con el medio circundante. Al observarlas con un tipo de microscopio óptico llamado *de contraste de fases* (Sección 2.2; véase la Figura 2.1), se evita el problema. Los microorganismos pigmentados son una excepción, porque el propio color del organismo añade contraste, lo que lo hace más fácil de visualizar mediante la óptica de campo claro (**Figura 2.2**).

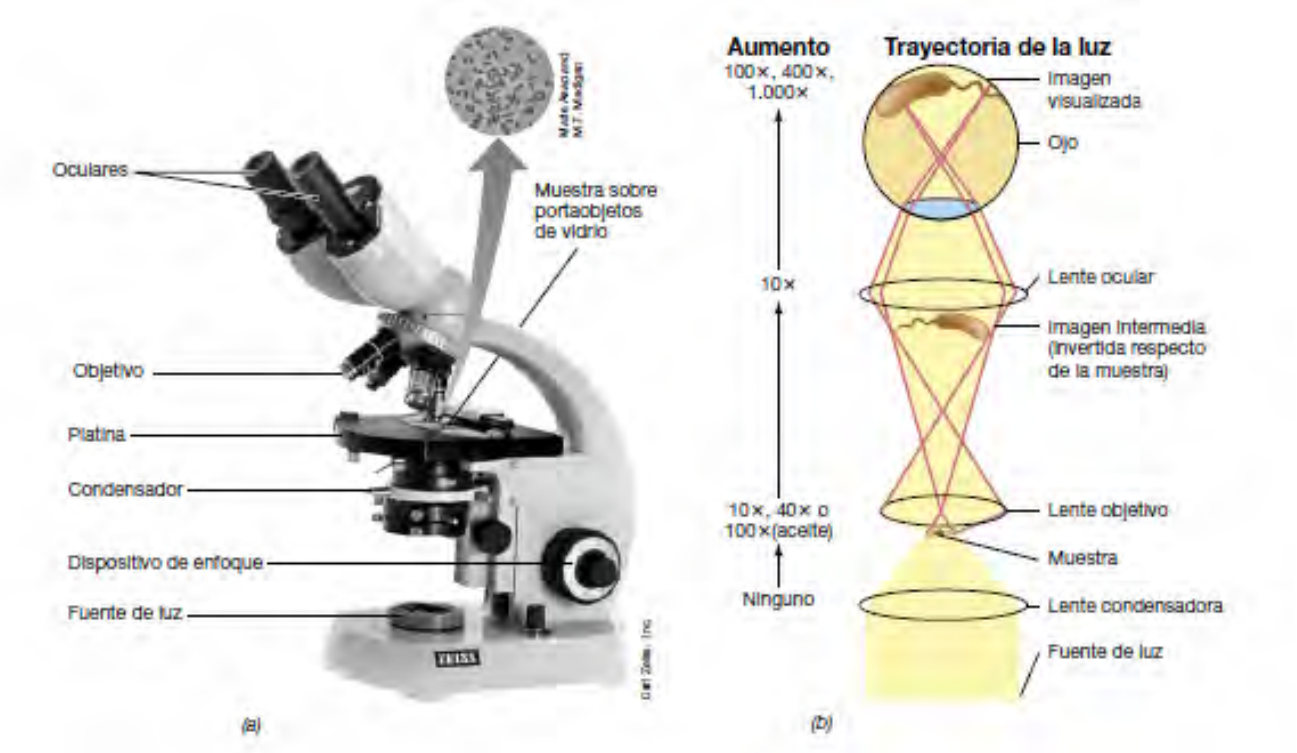
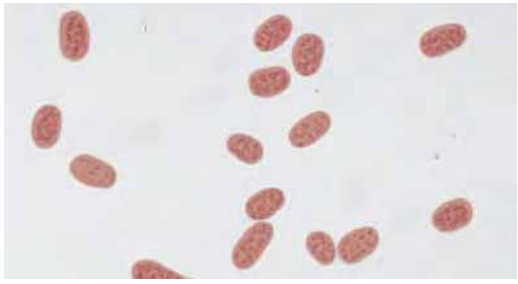


Figura 2.1 **Microscopio**. *(a)* Microscopio óptico compuesto (la inserción es una micrografía de células sin teñir tomada a través de un microscopio óptico de contraste de fases). *(b)* Trayectoria de la luz a través de un microscopio óptico compuesto. Además de la lente de 10 aumentos, existen lentes oculares de 15-30 aumentos. En la Figura 2.5 se comparan células visualizadas con las técnicas de campo claro y contraste de fases.



T. D. Brock

(a)



Norbert Pfennig

(b)

Figura 2.2 Micrografías de microorganismos pigmentados mediante microscopía de campo claro. *(a)* Alga verde (eucariota); las estructuras verdes son cloroplastos. *(b)* Bacterias rojas fotótrofas (procariotas). Las células del alga tienen unos 15 µm de ancho, y las células bacterianas unos 5 µm.

Para las células que no tienen pigmentos hay diversas maneras de crear contraste; se estudiarán estos métodos en la sección siguiente.

Aumento y resolución

El aumento total de un microscopio de luz compuesto es el *producto* del aumento del objetivo por el del ocular (Figura 2.1*b*). El límite superior de los microscopios ópticos es de unos 2.000 aumentos, y a aumentos superiores la resolución no mejora. La resolución es una función de la longitud de onda de la luz utilizada, y es una característica de la lente del objetivo conocida como *apertura numérica*, que es una medida de la capacidad de la lente para captar la luz. Hay una correlación entre el aumento de una lente y su apertura numérica; las lentes con más aumentos normalmente tienen una apertura numérica más alta. El diámetro del objeto más pequeño que se puede distinguir con cualquier lente es igual a $0{,}5\lambda$/apertura numérica, donde λ es la longitud de onda de la luz utilizada. Esta fórmula demuestra que la resolución es máxima cuando se utiliza luz azul para iluminar la muestra (la luz azul tiene una longitud de onda más corta que la luz blanca o roja) y el objetivo tiene una apertura numérica muy grande.

Como hemos dicho, la mayor resolución posible en un microscopio óptico compuesto es de unos 0,2 µm. Esto significa que dos objetos que estén a menos de 0,2 µm uno del otro no se pueden identificar como distintos e independientes. Los microscopios que se utilizan en microbiología tienen lentes oculares de 10-20 aumentos y objetivos de 10-100 aumentos (Figura 2.1*b*). A 1.000 aumentos los objetos con un diámetro de 0,2 µm se pueden distinguir con dificultad. Con el objetivo de 100 aumentos y algunos otros de apertura numérica muy alta, se coloca un aceite de calidad óptica entre el portaobjetos del microscopio y el objetivo. Las lentes en las que se utiliza aceite se llaman *lentes de inmersión en aceite*. El aceite de inmersión aumenta la capacidad de una lente para captar la luz al permitir que algunos de los rayos de luz que salen de la muestra formando un ángulo (y que, de otra forma, el objetivo no captaría) sean captados y vistos.

MINIRREVISIÓN

- Defina los términos *aumento* y *resolución*.
- ¿Cuál es el límite superior de aumento para un microscopio de campo claro? ¿Por qué?

2.2 Mejora del contraste en el microscopio óptico

En el microscopio óptico, la mejora del contraste favorece la imagen final. La tinción es un método fácil y rápido de mejorar el contraste, pero hay muchas otras formas de hacerlo.

Tinción: aumento del contraste en el microscopio de campo claro

Se pueden usar colorantes para teñir las células y mejorar el contraste, de modo que sea más fácil observarlas al microscopio de campo claro. Los colorantes son compuestos orgánicos, y cada clase de colorante tiene una afinidad por materiales celulares concretos. Muchos de los usados en microbiología tienen carga positiva, y por esta razón reciben el nombre de *colorantes básicos*. Ejemplos de ellos son el azul de metileno, el cristal violeta y la safranina. Los colorantes básicos se unen fuertemente a los componentes celulares cargados negativamente, como los ácidos nucleicos y los polisacáridos ácidos. Como las superficies celulares suelen estar cargadas negativamente, estos colorantes también tienen gran afinidad por dichas superficies, de modo que son muy útiles para un estudio general.

Para realizar una tinción simple se toma una preparación de células previamente secadas (**Figura 2.3**). Sobre un portaobjetos de vidrio limpio con la suspensión de células secadas se vierte una solución diluida de un colorante básico y se deja durante uno o dos minutos, se enjuaga varias veces con agua y se seca. Como las células son tan pequeñas, las preparaciones secadas y teñidas de *Bacteria* y *Archaea* se suelen observar con una lente de inmersión en aceite muy potente.

Tinciones diferenciales: la tinción de Gram

Las tinciones que tiñen de colores diferentes tipos distintos de células se llaman *tinciones diferenciales*. Un proceso de tinción diferencial muy importante que se usa en microbiología es la **tinción de Gram** (**Figura 2.4**). Según sea el resultado de esta tinción, las bacterias se pueden dividir en dos grandes grupos: las **grampositivas** y las **gramnegativas**. Una vez teñidas, las bacterias grampositivas se muestran de color morado y las gramnegativas de color rosa (Figura 2.4*b*). La diferencia de color en la tinción de Gram se debe a diferencias en la estructura de la pared celular de las células, como veremos más adelante. Si se utiliza un colorante básico como el cristal violeta, que tiñe las células de morado, el tratamiento posterior con etanol decolora las células gramnegativas pero no las grampositivas. Si luego



Figura 2.3 **Tinción de células para su observación microscópica.** Los colorantes mejoran el contraste entre las células y su entorno. Centro: las mismas células que en la inserción de la Figura 2.1 pero teñidas con un colorante básico.

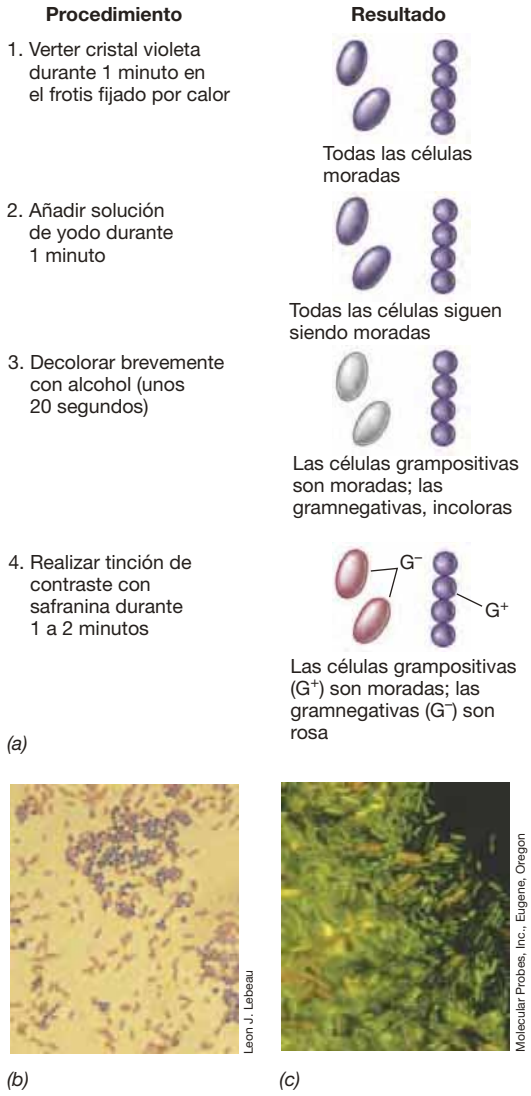


Figura 2.4 **Tinción de Gram.** *(a)* Pasos de la tinción. *(b)* Observación al microscopio de bacterias grampositivas (moradas) y gramnegativas (rosa); son *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, respectivamente. *(c)* Células de *Pseudomonas aeruginosa* (gramnegativa, verde) y *Bacillus cereus* (grampositiva, naranja) teñidas con un método fluorescente de un solo paso. Este método permite diferenciar las células grampositivas de las gramnegativas en un solo paso.

realizamos una tinción de contraste con un colorante diferente, normalmente la safranina, de color rojo, se pueden distinguir los dos tipos de células al microscopio por su color (Figura 2.4*b*).

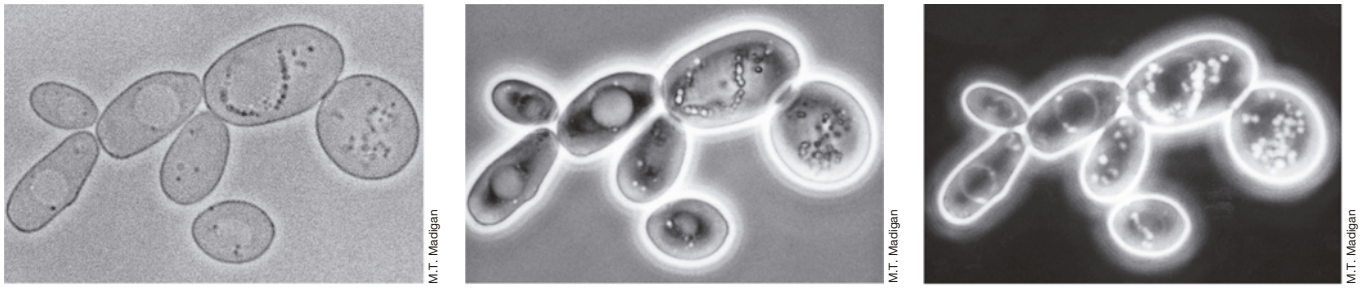
La tinción de Gram es el procedimiento más habitual de tinción en microbiología, y normalmente se usa como primer paso para la caracterización de bacterias recién aisladas. Si se dispone de un microscopio de fluorescencia, la tinción de Gram se puede reducir a un solo paso, porque las células grampositivas y las gramnegativas emiten fluorescencia de distinto color cuando se tratan con una sustancia especial (Figura 2.4*c*).

Microscopía de contraste de fases y de campo oscuro

Aunque los colorantes se usan mucho en microscopía óptica, la tinción mata las células y puede alterar sus características. Hay dos formas de microscopía óptica que mejoran el contraste de la imagen de células sin teñir (y, por tanto, vivas). Se trata de la microscopía de contraste de fases y la microscopía de campo oscuro (**Figura 2.5**). En concreto, el microscopio de contraste de fases se usa mucho en docencia y en investigación para la observación de preparaciones vivas.

La microscopía de contraste de fases se basa en el principio según el cual las células tienen un índice de refracción (un factor por el cual la luz es más lenta cuando pasa a través de un material) diferente al del medio que la rodea. Así pues, la luz que atraviesa una célula tiene una fase distinta de la que atraviesa el líquido circundante. Esta sutil diferencia es amplificada colocando un dispositivo en el objetivo del microscopio de contraste de fases llamado *anillo de fases*, que genera una imagen oscura sobre un fondo claro (Figura 2.5*b*; véase también la inserción de la Figura 2.1). El anillo consiste en una placa de fases que amplifica las variaciones de fase y produce una imagen de mayor contraste.

En el microscopio de campo oscuro, la luz llega a la muestra únicamente desde los lados. La única luz que recibe la lente es la que dispersa la muestra, de modo que esta aparece clara en un fondo oscuro (Figura 2.5*c*). La resolución en la microscopía de campo oscuro suele ser mejor que la de la microscopía óptica, y algunos objetos que no se pueden distinguir en un microscopio de campo claro o incluso en uno de contraste de fase tienen buena resolución en los microscopios de campo oscuro. Es un método excelente para observar la motilidad microbiana, ya



(a) (b) (c)

Figura 2.5 Células visualizadas por diferentes tipos de microscopía óptica. El mismo campo de células de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* visualizado por *(a)* microscopía de campo claro, *(b)* microscopía de contraste de fases y *(c)* microscopía de campo oscuro. Las células tienen una anchura media de 8-10 µm.

que los penachos de flagelos (las estructuras responsables de la motilidad natatoria) suelen poder distinguirse con esta técnica (véase la Figura 2.50*a*).

Microscopía de fluorescencia

La microscopía de fluorescencia se utiliza para visualizar muestras que emiten fluorescencia, es decir, que emiten luz de un color diferente al de la luz que han absorbido (**Figura 2.6**). Las células emiten fluorescencia porque contienen sustancias fluorescentes naturales, como la clorofila u otros componentes fluorescentes (autofluorescencia, Figura 2.6*a, b*), o bien porque están teñidas con un colorante fluorescente (Figura 2.6*c*). El DAPI (4′,6-*d*iamidino-2-*f*enilindol) es un colorante fluorescente muy usado que tiñe las células de color azul brillante porque forma complejos con el DNA (Figura 2.6*c*). Este colorante puede utilizarse para visualizar células en sus hábitats naturales como el suelo, el agua y los alimentos, o en muestras clínicas. Por tanto, la microscopía de fluorescencia con DAPI se usa mucho para el diagnóstico clínico microbiológico, así como en ecología microbiana para contar bacterias en un ambiente natural o en una suspensión celular.

MINIRREVISIÓN

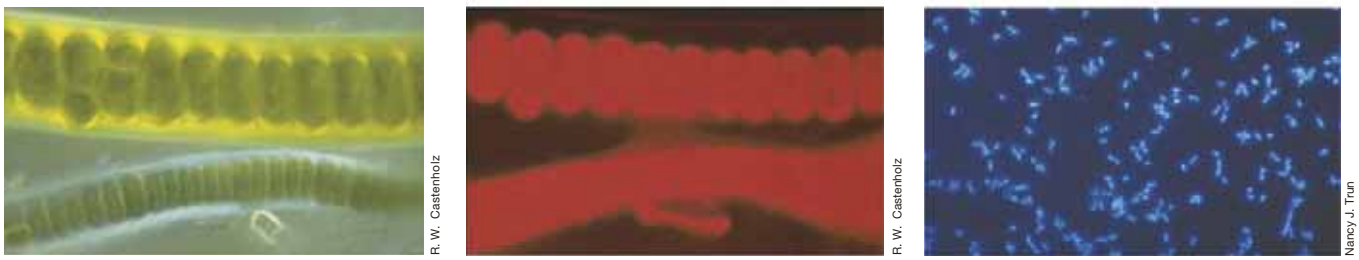
- ¿De qué color se verá una célula gramnegativa después de una tinción de Gram por el método convencional?
- ¿Qué gran ventaja tiene la microscopía de contraste de fases respecto de la tinción?
- ¿Cómo se puede hacer que las células emitan fluorescencia?

2.3 Imagen tridimensional de las células

Hasta aquí hemos visto formas de microscopía en las que las imágenes obtenidas son bidimensionales. ¿Cómo podemos superar esta limitación? En la sección siguiente veremos que el microscopio electrónico de barrido ofrece una solución a este problema, aunque ciertas formas de microscopía óptica también pueden mejorar la perspectiva tridimensional de una imagen.

Microscopía de contraste por interferencia diferencial

La microscopía de contraste por interferencia diferencial (DIC, del inglés «differential interference contrast») es un tipo de microscopía óptica que utiliza un polarizador en el condensador para producir luz polarizada (luz en un solo plano). Esta luz polarizada pasa después por un prisma que genera dos haces distintos, que atraviesan la muestra y entran en el objetivo, donde se vuelven a unir en uno solo. Como los dos haces atraviesan sustancias con índices de refracción diferentes, los haces combinados no están completamente en fase, sino que interfieren entre sí, y este efecto realza las sutiles diferencias de la estructura celular. Así, con la microscopía DIC, estructuras celulares como el núcleo de las células eucariotas (**Figura 2.7**) o las endosporas, vacuolas e inclusiones de las células bacterianas adquieren un aspecto más tridimensional. La microscopía DIC se usa normalmente con células sin teñir, ya que puede poner de manifiesto estructuras celulares internas que son



(a) (b) (c)

Figura 2.6 Microscopía de fluorescencia *(a, b)* Cianobacterias. Las mismas células se observan por microscopía de campo claro en *a* y por microscopía de fluorescencia en *b*. Las células emiten fluorescencia roja porque contienen clorofila *a* y otros pigmentos. *(c)* Micrografía de fluorescencia de células de *Escherichia coli* teñidas con el colorante fluorescente DAPI, que se une al DNA.



Linda Barnett and James Barnett

Figura 2.7 Microscopía de contraste por interferencia diferencial. Con este tipo de microscopía, las células de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* adquieren un efecto tridimensional. Las células de levadura tienen un ancho aproximado de 8 µm. Obsérvese el núcleo bien visible y compárese con la imagen de células de levadura por microscopía de campo claro de la Figura 2.5*a*.

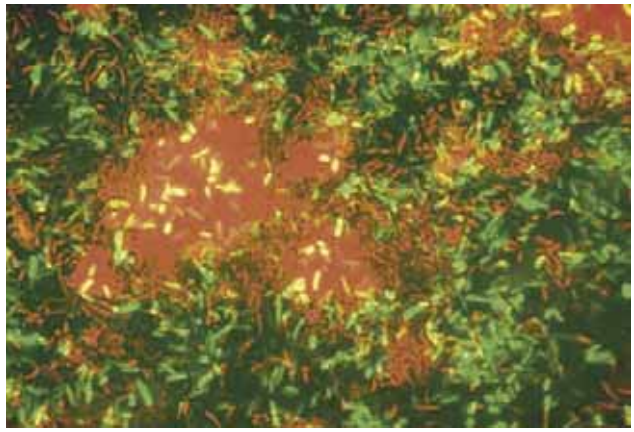
prácticamente invisibles en campo claro (compárese la Figura 2.5*a* con la Figura 2.7).

Microscopio confocal de barrido con láser

Un microscopio confocal de barrido con láser (CSLM, del inglés «confocal scanning laser microscope») es un microscopio controlado por ordenador en el que se acopla un láser a un microscopio de fluorescencia. El láser genera una imagen tridimensional brillante y permite al observador acceder a la muestra desde diversos planos de enfoque (**Figura 2.8**). Para ello, el rayo láser se ajusta de manera precisa para que haya solo una capa concreta de muestra enfocada completamente. Mediante la iluminación exacta de un solo plano, el CSLM elimina la luz parásita de otros planos focales. Así, cuando se observa una muestra relativamente gruesa como un biofilm bacteriano (Figura 2.8*a*), no solo se pueden observar las células de la superficie, como ocurre con el microscopio óptico convencional, sino que, ajustando el plano del foco del rayo láser, también son visibles las células de las distintas capas. Con el CSLM se ha mejorado el límite de resolución del microscopio óptico compuesto, de 0,2 µm hasta 0,1 µm, aproximadamente.

En las preparaciones para CSLM las células se pueden teñir con colorantes fluorescentes para facilitar su visualización (Figura 2.8*a*). Alternativamente, se puede añadir color falso a preparaciones sin teñir, de manera que diferentes capas de la muestra tengan colores distintos (Figura 2.8*b*). Un CLSM utiliza un ordenador para ensamblar imágenes digitales para el consiguiente procesado. Las imágenes obtenidas de las diferentes capas pueden reconstruirse digitalmente para obtener una imagen tridimensional de la muestra completa.

El CSLM se utiliza mucho en ecología microbiana, sobre todo para identificar poblaciones específicas de células en un hábitat microbiano o para distinguir los diferentes componentes de una comunidad microbiana estructurada, como un biofilm (Figura 2.8*a*) o un tapete microbiano. El CSLM es especialmente útil cuando se necesita examinar en profundidad el contenido microbiano de una muestra gruesa.



Subramanian Karthikeyan

(a)



Gernot Arp and Christian Boeker, Carl Zeiss, Jena

(b)

Figura 2.8 Microscopía confocal de barrido con láser. *(a)* Imagen confocal de la comunidad microbiana en un biofilm. Las células verdes con forma de bacilo son *Pseudomonas aeruginosa* introducidas de manera experimental en el biofilm. Las células de diferentes colores se encuentran a profundidades distintas en el biofilm. *(b)* Imagen confocal de una cianobacteria filamentosa en un lago alcalino. Las células tienen un ancho aproximado de 5 µm.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué estructura de las células eucariotas es más fácil de ver por DIC que por microscopía de campo claro? (*Ayuda:* Compare las Figuras 2.5*a* y 2.7).
- ¿Por qué con el CSLM se pueden ver distintas capas de una preparación gruesa y en la microscopía de campo claro no?

2.4 Análisis de la estructura celular: la microscopía electrónica

Los microscopios electrónicos utilizan electrones en lugar de luz visible (fotones) para generar imágenes de células y estructuras celulares. En el microscopio electrónico las lentes son electromagnéticas y todo el equipo trabaja en un sistema de vacío (**Figura 2.9**). Los microscopios electrónicos están equipados con cámaras para poder tomar fotografías, llamadas *micrografías electrónicas*. Normalmente, en microbiología se usan dos tipos de microscopio electrónico: el de transmisión y el de barrido.

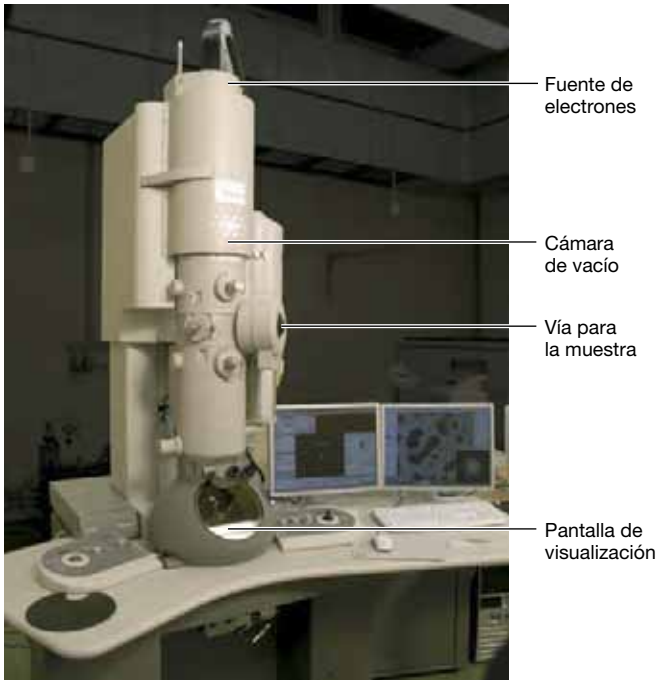
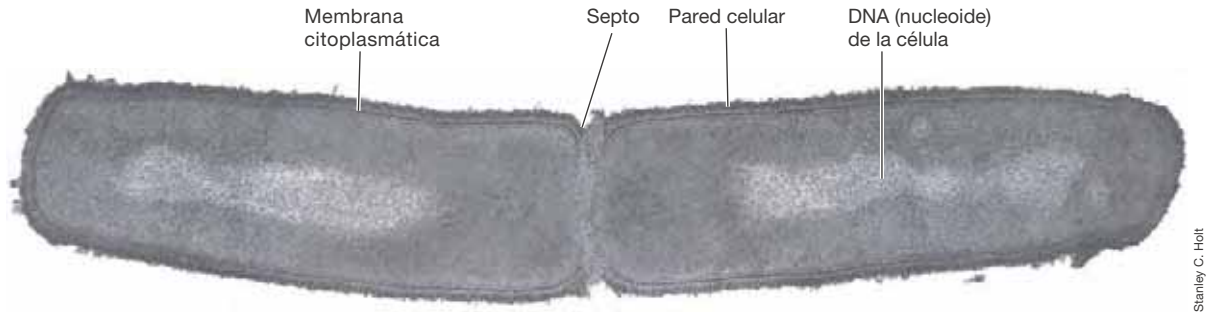


Figura 2.9 **Microscopio electrónico.** Este instrumento realiza tanto microscopía de transmisión como de barrido.

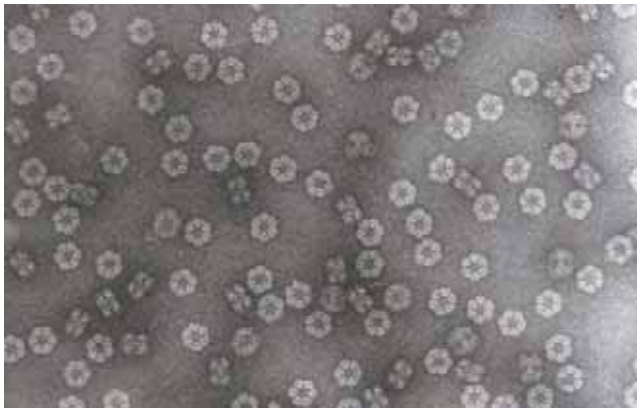
Microscopía electrónica de transmisión

El *microscopio electrónico de transmisión* (TEM, del inglés «transmission electron microscope») se utiliza para examinar células y estructuras celulares a muchos aumentos y gran resolución. El poder de resolución de un TEM es mucho mayor que el del microscopio óptico, y permite incluso ver estructuras a escala molecular (**Figura 2.10**). Esto es debido a que la longitud de onda de los electrones es mucho más corta que la de la luz visible y, como hemos visto, la longitud de onda influye en la resolución (Sección 2.1). Por ejemplo, mientras que el poder de resolución de un microscopio óptico es de unos *0,2 micrómetros*, el de un TEM es de unos *0,2 nanómetros*, mil veces más. Con una resolución tan potente, se pueden visualizar objetos tan pequeños como una molécula individual de proteína o de ácido nucleico (Figura 2.10).

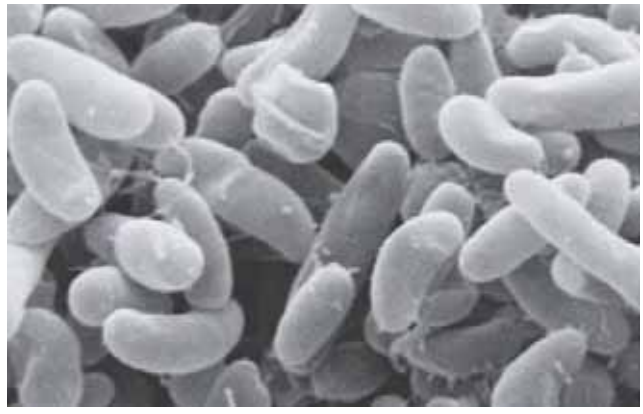
Sin embargo, a diferencia de los fotones, los electrones tienen muy poco poder de penetración; incluso una sola célula es demasiado gruesa para atravesarla con un haz de electrones. En consecuencia, para observar la estructura interna de una célula es necesario obtener *secciones finas* de ella, y luego estabilizarlas y teñirlas con distintos productos químicos para hacerlas visibles. Una sola célula bacteriana, por ejemplo, se divide en cortes extremadamente finos (20-60 nm), que después se examinan individualmente por TEM (Figura 2.10*a*). Para obtener suficiente contraste, se tratan las secciones con un colorante



(a)



(b)



(c)

Figura 2.10 **Micrografías electrónicas.** *(a)* Micrografía de un corte fino de una célula bacteriana en división, tomada por microscopía electrónica de transmisión (TEM). Cada célula mide unos 0,8 μm de ancho. *(b)* TEM de moléculas de hemoglobina teñidas por tinción negativa. Cada molécula hexagonal tiene unos 25 nm de diámetro, y está formada por dos anillos con forma de rosquilla; la anchura total es de 15 μm. *(c)* Micrografía.

como ácido ósmico, permanganato, o sales de uranio, lantano o plomo. Estas sustancias están compuestas por átomos de gran peso atómico que, por tanto, desvían los electrones y mejoran el contraste. Si solo interesan las características *externas* de un organismo no es necesario obtener secciones finas y se pueden observar directamente células o componentes celulares intactos mediante una técnica llamada *tinción negativa* (Figura 2.10*b*).

Microscopía electrónica de barrido

Para obtener una imagen tridimensional óptima de una célula se utiliza el *microscopio electrónico de barrido* (SEM, del inglés «scanning electron microscopy») (Figura 2.9). En la microscopía electrónica de barrido, la muestra se cubre con una capa fina de un metal pesado, normalmente oro. A continuación, un haz de electrones barre una y otra vez la muestra. Los electrones son desviados por la capa de metal y recogidos y proyectados en un monitor para producir una imagen (Figura 2.10*c*). En el microscopio electrónico de barrido se pueden observar también muestras bastante grandes, y la profundidad de campo (la porción de la imagen que queda enfocada) es extremadamente buena. Con estos microscopios se puede obtener un amplio rango de aumentos, desde solo 15 hasta 100.000 aumentos, pero normalmente solo se visualiza la *superficie* del objeto.

Las micrografías tomadas por microscopía electrónica de transmisión o de barrido son originalmente en blanco y negro. No obstante, aunque las imágenes originales contienen la máxima información científica que se puede obtener, a menudo se les añade color mediante ordenador, pero este falso color no mejora la resolución de las micrografías; su valor principal es aumentar el valor artístico de la imagen para el público de los medios de comunicación. El máximo contenido científico y detalle de una micrografía electrónica quedan fijados en el momento de tomarla, de manera que en este libro usaremos raramente micrografías en color, con el fin de presentarlas en su contexto científico original.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué es una micrografía electrónica? ¿Por qué las micrografías electrónicas tienen mayor resolución que las micrografías ópticas?
- ¿Qué tipo de microscopio electrónico usaría para observar un grupo de células? ¿Y para observar la estructura interna de una célula?

II • Las células de *Bacteria* y *Archaea*

Hay dos características de las células procariotas que se perciben inmediatamente en un examen microscópico: su forma y su pequeño tamaño. Existe toda una variedad de formas posibles, y en general las células procariotas son muchísimo más pequeñas que las eucariotas. La forma de la célula puede resultar útil para distinguir células diferentes, e indudablemente tiene cierta importancia ecológica, pero raramente posee relevancia filogenética. Por el contrario, el tamaño típicamente pequeño de los procariotas afecta a muchos aspectos de su biología.

2.5 Morfología celular

En microbiología, el término **morfología** significa la forma de la célula. Para los procariotas se conocen diversas morfologías, y las más comunes se describen con términos que forman parte del léxico esencial de la microbiología.

Principales tipos de morfología celular

En la **Figura 2.11** se muestran algunos ejemplos de morfología bacteriana. Una célula de morfología esférica u ovoide se conoce como *coco*. Una de forma cilíndrica es un *bacilo*. Algunos bacilos forman espirales y se llaman *espirilos*. Las células de algunos procariotas se unen en grupos tras la división celular y a menudo forman disposiciones características. Por ejemplo, algunos cocos forman cadenas largas (como la bacteria *Streptococcus*), otros se disponen formando cubos tridimensionales (*Sarcina*), mientras que otros se agrupan en racimos (*Staphylococcus*).

Algunos grupos bacterianos son reconocibles inmediatamente por las formas inusuales de sus células individuales. Entre ellos están las espiroquetas, que son bacterias superenrrolladas; bacterias pedunculadas, con extensiones de sus células en forma de tubos largos o tallos; y bacterias filamentosas, que forman células o cadenas de células largas y finas (Figura 2.11).

Las morfologías celulares descritas aquí solo constituyen ejemplos; se conocen muchas variaciones de estas formas. Por ejemplo, existen bacilos gruesos, bacilos finos, bacilos cortos y bacilos largos: un bacilo simplemente es una célula alargada. Como veremos, existen incluso bacterias cuadradas y bacterias estrelladas. Así pues, las morfologías celulares forman un continuo en el que algunas formas, como los bacilos, son muy comunes y otras son más atípicas.

Morfología y biología

Aunque la morfología de una célula se determina fácilmente, es un mal indicador de otras propiedades. Por ejemplo, al microscopio muchas *Archaea* en forma de bacilo parecen idénticas a las bacterias con la misma forma, pero sabemos que pertenecen a diferentes dominios filogenéticos (↔ Sección 1.3). Con raras excepciones, es imposible predecir la fisiología, la ecología, la filogenia, el potencial patogénico o casi cualquier otra propiedad de una célula procariota simplemente por su morfología.

¿Por qué una célula adopta una forma determinada? Aunque conocemos algunos detalles sobre *cómo* se controla la forma de la célula, sabemos muy poco sobre *por qué* una célula concreta evolucionó hasta la morfología actual. Indudablemente, algunas fuerzas selectivas ayudaron a configurar la morfología de una especie determinada. Algunos ejemplos de ello son la optimización para captar nutrientes (células pequeñas u otras con gran relación superficie/volumen, como las células con apéndices), la

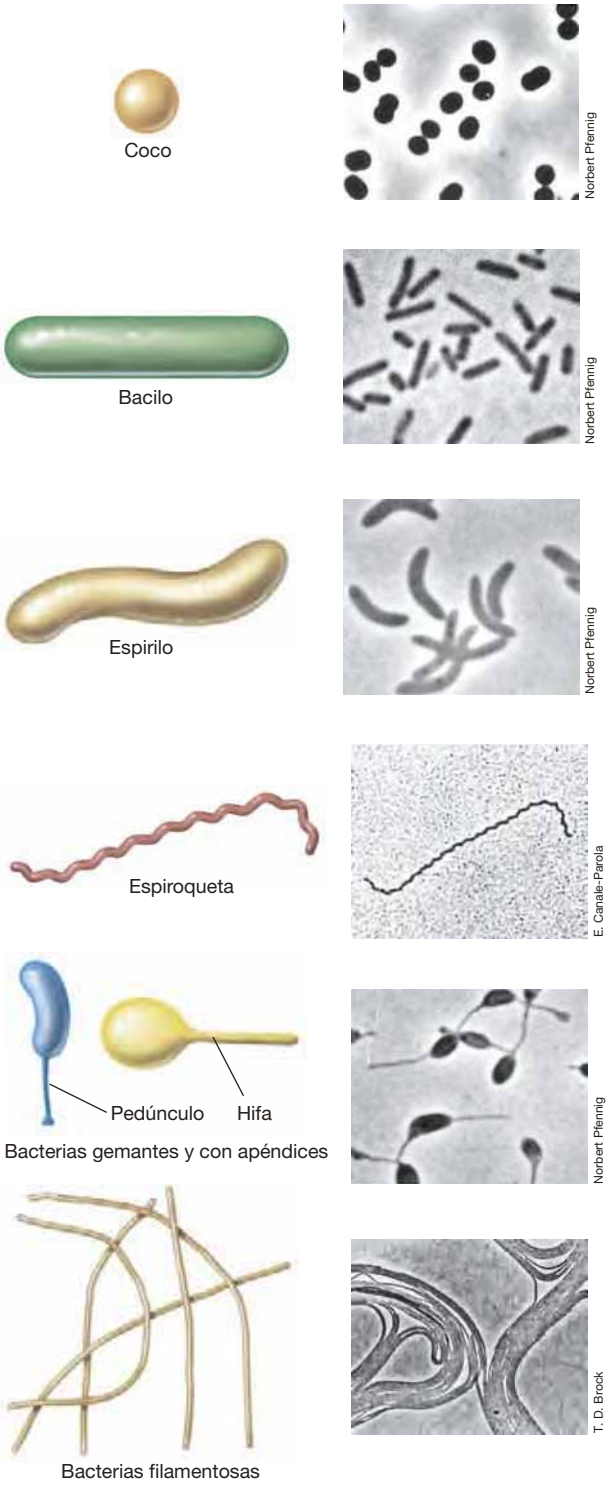


Figura 2.11 Morfologías celulares. Junto a cada dibujo hay una micrografía por contraste de fases en la que se muestra la morfología. Coco (diámetro celular en la micrografía: 1,5 µm); bacilo (1 µm); espirilo (1 µm); espiroqueta (0,25 µm); gemadora (1,2 µm); filamentosa (0,8 µm). Todas las micrografías son de especies de *Bacteria*. No todas estas morfologías se conocen en *Archaea*.

motilidad natatoria en ambientes viscosos o cerca de superficies (células de forma helicoidal o espiral), la motilidad por deslizamiento (bacterias filamentosas), etcétera. La morfología no es un aspecto trivial de una célula microbiana, sino una propiedad codificada genéticamente que aumenta la aptitud del organismo para el éxito en su hábitat concreto.

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué se diferencia la morfología de los cocos y los bacilos?
- ¿La morfología celular es un buen indicador de otras propiedades de la célula?

2.6 Tamaño celular y la importancia de ser pequeño

El tamaño de los procariotas varía desde células de tan solo 0,2 µm de diámetro hasta otras con diámetros de más de 700 µm (**Tabla 2.1**). La inmensa mayoría de los procariotas bacilares que pueden cultivar tienen entre 0,5 y 4 µm de ancho y menos de 15 µm de largo, pero se conocen algunos procariotas muy grandes, como *Epulopiscium fishelsoni*, con células de más de 600 µm (0,6 milímetros) (**Figura 2.12**). Esta bacteria, filogenéticamente relacionada con la bacteria formadora de endosporas *Clostridium* y que se ha encontrado en el intestino de un pez tropical marino llamado pez cirujano, contiene muchas copias de su genoma. Aparentemente, todas estas copias son necesarias porque el volumen celular de *Epulopiscium* es tan grande (Tabla 2.1) que una sola copia de su genoma sería insuficiente para atender sus demandas de transcripción y traducción.

Las células del mayor procariota conocido, el quimiolitótrofo del azufre *Thiomargarita* (Figura 2.12*b*), son todavía más grandes que las de *Epulopiscium*, con un diámetro de unos 750 µm y son células visibles a simple vista. No se sabe a ciencia cierta por qué son tan grandes, aunque en las bacterias del azufre el tamaño puede ser un mecanismo para almacenar las inclusiones de azufre (una fuente de energía). Se supone que el límite superior para el tamaño de las células procariotas está relacionado con la disminución de la capacidad de las células más grandes para transportar nutrientes (su relación superficie/volumen es muy pequeña, véase la subsección siguiente). Como el índice metabólico de una célula es inversamente proporcional al cuadrado de su tamaño, para células muy grandes la ingesta de nutrientes limitará el metabolismo, hasta el punto de que una célula muy grande dejará de ser competitiva frente a otras más pequeñas.

Las células muy grandes son poco habituales en el mundo procariota. A diferencia de *Thiomargarita* o *Epulopiscium* (Figura 2.12), las dimensiones de un procariota bacilar medio, por ejemplo la bacteria *E. coli*, son aproximadamente de 1×2 µm; estas dimensiones son las típicas de las células de la mayoría de procariotas. Las células eucariotas, sin embargo, pueden tener un diámetro desde 2 hasta más de 600 µm si bien los eucariotas muy pequeños son infrecuentes, y la mayoría tienen un diámetro de 8 µm o más. En general se puede decir que las células procariotas son muy pequeñas en comparación con las eucariotas.

Relación superficie/volumen, velocidad de crecimiento y evolución

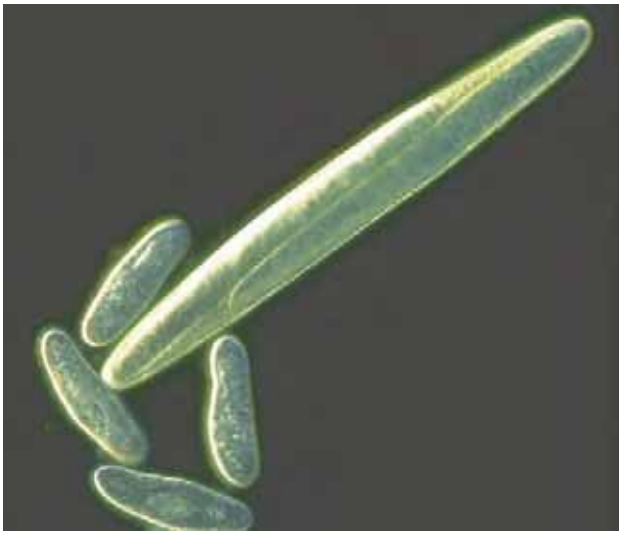
Ser pequeño tiene ventajas significativas. Las células pequeñas tienen mayor superficie respecto al volumen celular que las grandes; es decir, tienen una *relación superficie/volumen* mayor. Tomemos, por ejemplo, un coco. El volumen de un coco es una

Tabla 2.1 Tamaño y volumen celular de algunas células de Bacteria, de las más grandes a las más pequeñas

Organismo	*Características*	*Morfología*	*Tamaño[a] (μm)*	*Volumen celular (μm³)*	*Volúmenes de E. coli*
Thiomargarita namibiensis	Quimiolitótrofo del azufre	Cocos en cadenas	750	200.000.000	100.000.000
Epulopiscium fishelsoni[a]	Quimioorganótrofo	Bacilos con extremos ahusados	80 × 600	3.000.000	1.500.000
Especie de Beggiatoa[a]	Quimiolitótrofo del azufre	Filamentos	50 × 160	1.000.000	500.000
Achromatium oxaliferum	Quimiolitótrofo del azufre	Cocos	35 × 95	80.000	40.000
Lyngbya majuscula	Cianobacteria	Filamentos	8 × 80	40.000	20.000
Thiovulum majus	Quimiolitótrofo del azufre	Cocos	18	3.000	1.500
Staphylothermus marinus[a]	Hipertermófilo	Cocos en grupos irregulares	15	1.800	900
Magnetobacterium bavaricum	Bacteria magnetotáctica	Bacilos	2 × 10	30	15
Escherichia coli	Quimioorganótrofo	Bacilos	1 × 2	2	1
Pelagibacter ubique[a]	Quimioorganótrofo marino	Bacilos	0,2 × 0,5	0,014	0,007
Mycoplasma pneumoniae	Bacteria patógena	Pleomórfica[b]	0,2	0,005	0,0025

[a]Donde solo se da un número, se trata del diámetro de células esféricas. Los valores corresponden a las células más grandes observadas en cada especie. Por ejemplo, para *T. namibiensis*, el diámetro de una célula de tamaño medio es de solo 200 μm, pero ocasionalmente se han observado células gigantes de 750 μm. Asimismo, una célula de *S. marinus* mide de promedio 1 μm de diámetro. La especie de *Beggiatoa* que se indica aquí no está del todo clara, y *E. fishelsoni*, *Magnetobacterium bavaricum* y *P. ubique* no son nombres reconocidos formalmente en taxonomía.
[b]*Mycoplasma* es una bacteria sin pared celular, de manera que puede adoptar muchas formas (pleomórfica significa «con muchas formas»).

Fuente: Datos obtenidos de Schulz, H. N., y B. B. Jørgensen. 2001. *Annu. Rev. Microbiol. 55:* 105-137.



Esther R. Angert, Harvard University

(a)



Heide Schulz-Vogt

(b)

Figura 2.12 **Algunos procariotas muy grandes.** Micrografía en campo oscuro de dos procariotas gigantes, especies de *Bacteria*. *(a) Epulopiscium fishelsoni*; un bacilo que tiene unos 600 μm (0,6 mm) de largo y 75 μm de ancho, y se muestra con cuatro células del protista *Paramecium* (un eucariota), cada una de las cuales mide unos 150 μm de largo. *(b) Thiomargarita namibiensis*, un gran quimiolitótrofo del azufre, y actualmente el mayor procariota conocido; su anchura varía entre 400 y 750 μm.

función del cubo de su radio ($V = 4/3\pi r^3$), mientras que su superficie es una función del cuadrado del radio ($S = 4\pi r^2$). Por tanto, la relación S/V de un coco es $3/r$ (**Figura 2.13**). A medida que una célula aumenta de tamaño, su relación S/V disminuye. Para ilustrar esto, veamos la relación S/V de algunas de las células de diferentes tamaños de la Tabla 2.1: *Pelagibacter ubique*, 22; *E. coli*, 4,5; y *E. fishelsoni* (Figura 2.12*a*), 0,05.

La relación S/V de una célula afecta a algunos aspectos de su biología, incluso a su evolución. Puesto que la velocidad de crecimiento de una célula depende, entre otras cosas, de su velocidad de intercambio de nutrientes, la mayor relación S/V de las células más pequeñas permitirá un intercambio más rápido de nutrientes por unidad de volumen celular que en células más grandes. Por tanto, las células más pequeñas suelen crecer más

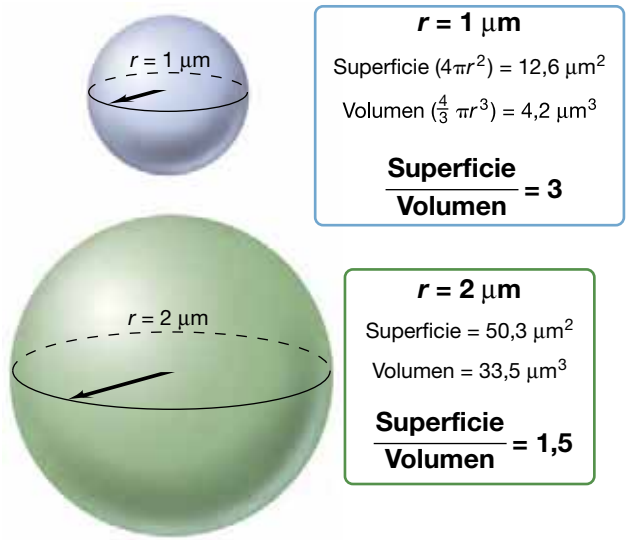


Figura 2.13 Relación entre la superficie y el volumen en las células. A medida que el tamaño de una célula aumenta, su relación *S/V* disminuye.

rápidamente que las más grandes, y para una cantidad determinada de recursos (nutrientes disponibles para permitir el crecimiento) la población de células pequeñas será mayor que la de células grandes. Esto, a su vez, afecta a la evolución.

Cada vez que una célula se divide, su cromosoma se replica. Al replicar el DNA se producen errores ocasionales, llamados *mutaciones*. Como las tasas de mutación parecen ser aproximadamente iguales en todas las células, sean grandes o pequeñas, cuanto más replicaciones cromosómicas se produzcan mayor será el número total de mutaciones en la población celular. Las mutaciones son la «materia prima» de la evolución; cuanto mayor sea el grupo de mutaciones, mayores serán las posibilidades evolutivas. Así pues, como las células procariotas son bastante pequeñas y además son haploides (lo que permite que las mutaciones se expresen inmediatamente), en general tienen capacidad para crecer y evolucionar más rápidamente que las células más grandes y diploides. En estas últimas, no solo la relación *S*/*V* es menor, sino que los efectos de una mutación en un gen pueden verse enmascarados por una segunda copia del gen sin mutar. Esta diferencia fundamental en tamaño y genética entre las células procariotas y las eucariotas es un motivo primordial de por qué los procariotas se adaptan más rápidamente a los cambios en las condiciones ambientales y explotan más fácilmente los nuevos hábitats que los eucariotas. En capítulos posteriores ilustraremos este concepto cuando analicemos, por ejemplo, la enorme diversidad de los procariotas (Capítulos 13-16) y la rapidez de su evolución (↪ Sección 12.6).

Límites inferiores del tamaño celular

De la explicación anterior se podría inferir que cuanto más pequeñas sean las bacterias más ventajas selectivas tendrán en la naturaleza. Sin embargo, esto no es cierto, porque existen límites inferiores al tamaño de las células. Si consideramos el volumen necesario para albergar los componentes esenciales de una célula viva en estado libre —proteínas, ácidos nucleicos, ribosomas, etcétera—, una estructura con un diámetro de 0,1 µm o menos resulta insuficiente, y las estructuras con diámetros de 0,15 µm están en el límite. Por tanto, las estructuras observadas en muestras naturales que tienen 0,1 µm o incluso menos y «parecen» células bacterianas, casi con toda seguridad no lo son. A pesar de ello, se conocen algunas células procariotas muy pequeñas, y muchas se han cultivado en el laboratorio. Las aguas oceánicas, por ejemplo, contienen entre 10^5 y 10^6 células procariotas por mililitro, y estas células suelen ser muy pequeñas, de entre 0,2 y 0,4 µm de diámetro. Más adelante veremos que muchas bacterias patógenas también son muy pequeñas. Cuando se examina el genoma de estos patógenos se ve que son extremadamente simples y que carecen de muchos genes, cuyas funciones son suplidas por sus hospedadores.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué propiedad física de las células aumenta al disminuir el tamaño?
- ¿De qué manera el tamaño reducido y el estado haploide de los procariotas aceleran su evolución?
- ¿Cuáles son aproximadamente los límites inferiores de tamaño de una célula? ¿Por qué?

III • La membrana citoplasmática y el transporte

A continuación estudiaremos la estructura y la función de una de las estructuras más importantes de una célula: la membrana citoplasmática. La membrana citoplasmática ejerce muchas funciones, entre las que destaca la de «portero» de las sustancias disueltas que entran y salen de la célula.

2.7 Estructura de la membrana

La **membrana citoplasmática** rodea el citoplasma y lo separa del entorno. Si la membrana citoplasmática se rompe, se destruye la integridad celular, el contenido del citoplasma se escapa al exterior y la célula muere. La membrana citoplasmática es estructuralmente débil y confiere poca protección frente a la lisis osmótica, pero es una estructura idónea para su función principal: la permeabilidad selectiva.

Composición de la membrana

La estructura general de la membrana citoplasmática es una bicapa fosfolipídica. Los fosfolípidos están formados por componentes hidrófobos (ácidos grasos) e hidrófilos (glicerol-fosfato) (Figura 2.14). Como los fosfolípidos se agregan en solución acuosa, tienden a formar bicapas de manera natural. En una membrana fosfolipídica, los ácidos grasos se colocan orientados hacia el interior, unos frente a otros, formando un ambiente hidrófobo, mientras que los fragmentos hidrófilos quedan expuestos al medio exterior o al citoplasma (Figura 2.14*b*). Los

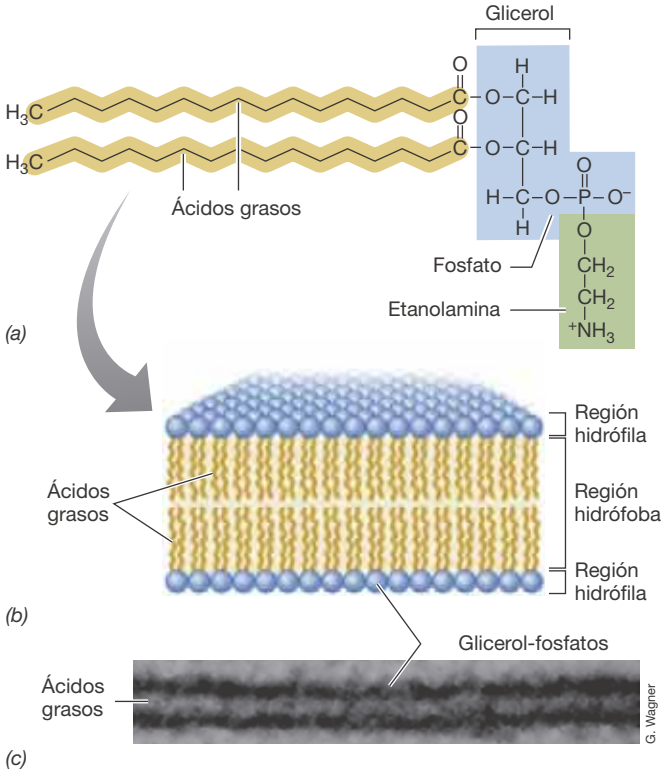


Figura 2.14 **Bicapa fosfolipídica de la membrana.** *(a)* Estructura del fosfolípido fosfatidiletanolamina. *(b)* Arquitectura general de la bicapa de la membrana; las esferas azules representan el glicerol con fosfato u otros grupos hidrófilos. *(c)* Micrografía electrónica de transmisión de una membrana. El área interior clara es la región hidrófoba de la membrana modelo de la parte *b*.

ácidos grasos de la membrana citoplasmática tienen normalmente de 14 a 20 átomos de carbono.

La membrana citoplasmática tiene solamente de 8 a 10 nm de ancho, pero se puede ver en el microscopio electrónico de transmisión en forma de dos líneas oscuras separadas por una línea clara (Figura 2.14*c*). Esta *membrana unitaria*, como se la denomina (porque cada capa de fosfolípidos forma la mitad de la «unidad»), está formada por una bicapa fosfolipídica con proteínas embebidas en ella (**Figura 2.15**). Aunque en las representaciones la membrana parece rígida, en realidad tiene cierta fluidez, con una consistencia que recuerda a la de un aceite poco viscoso. Así pues, las proteínas embebidas en la membrana tienen libertad de movimiento. Las membranas citoplasmáticas de algunas bacterias tienen unas moléculas similares a los esteroles, llamadas *hopanoides*, que les confieren rigidez. Los esteroles son moléculas rígidas y planas que aportan resistencia a las membranas de la célula eucariota, y los hopanoides cumplen una función parecida en *Bacteria*.

Proteínas de membrana

El contenido proteico de la membrana citoplasmática es bastante elevado. Las proteínas de membrana tienen, normalmente, una superficie hidrófoba en las regiones que atraviesan la membrana, y una superficie hidrófila en las regiones en contacto con el medio y el citoplasma (Figuras 2.14 y 2.15). La superficie *exterior* de la membrana citoplasmática está en contacto con el medio, y en las bacterias gramnegativas interacciona con diversas proteínas que se unen a sustratos o procesan moléculas más grandes para transportarlas al interior de la célula (proteínas periplasmáticas, Sección 2.11). La superficie *interior* de la membrana citoplasmática está en contacto con el

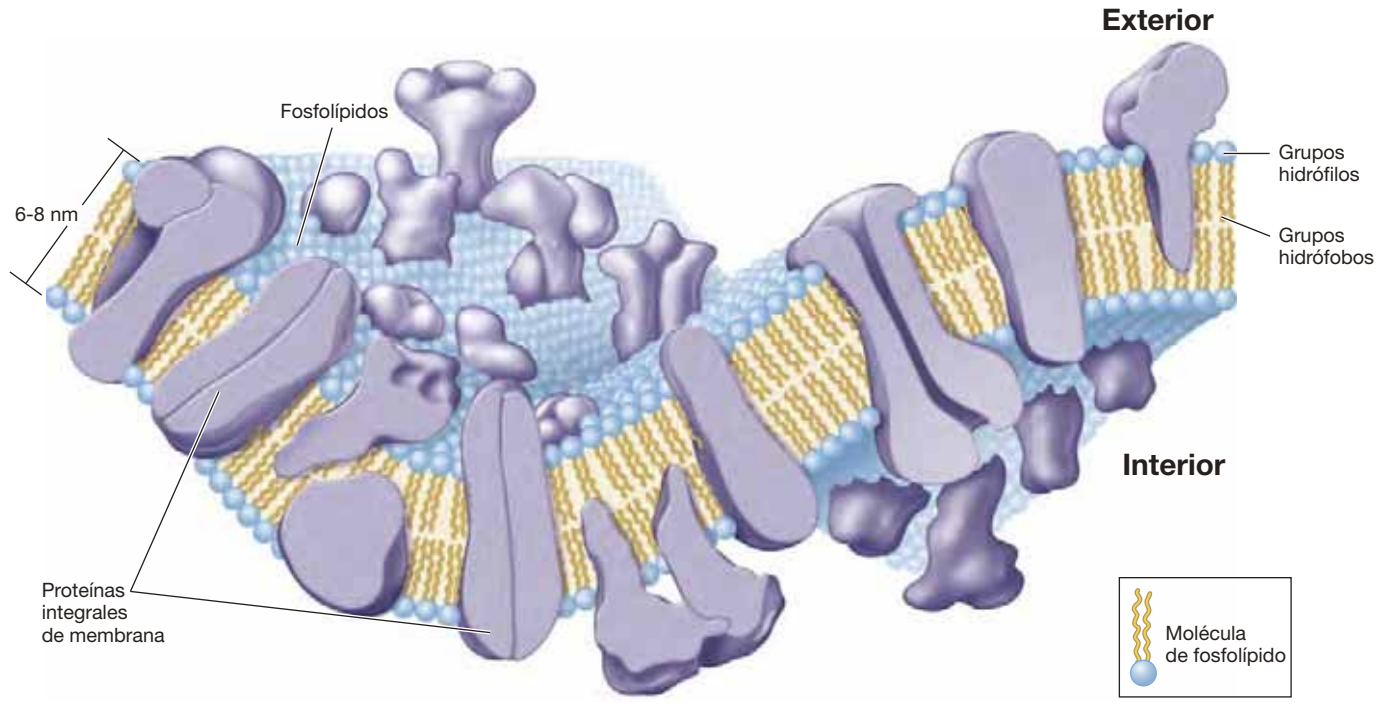


Figura 2.15 **Estructura de la membrana citoplasmática.** La superficie interior (**Interior**) está en contacto con el citoplasma, y la superficie exterior (**Exterior**) está en contacto con el medio. Los fosfolípidos componen la matriz de la membrana citoplasmática con proteínas embebidas o asociadas a la superficie. La arquitectura general de la membrana citoplasmática es similar en procariotas y eucariotas, aunque existen diferencias químicas.

citoplasma e interacciona con proteínas y otras moléculas de este entorno.

Muchas proteínas de membrana se encuentran firmemente embebidas en la membrana y reciben el nombre de *proteínas integrales de membrana*. Otras tienen un fragmento anclado a la membrana y regiones externas a la membrana orientadas hacia el interior o el exterior de la célula (Figura 2.15). Otras, llamadas *proteínas periféricas de membrana*, no están embebidas en la membrana, aunque siguen asociadas a la superficie de esta. Algunas de estas proteínas periféricas de membrana son lipoproteínas, moléculas que contienen una cola lipídica que ancla la proteína a la membrana. Las proteínas periféricas de membrana suelen interaccionar con las proteínas integrales en importantes procesos celulares como el metabolismo energético y el transporte. Normalmente, las proteínas de membrana que interaccionan entre sí en algunos procesos están agrupadas para poder permanecer adyacentes en el entorno semifluido de la membrana.

Membranas arqueanas

A diferencia de los lípidos de *Bacteria* y *Eukarya*, en los que los enlaces *éster* unen los ácidos grasos y el glicerol, los lípidos de *Archaea* contienen enlaces *éter* entre el glicerol y sus cadenas laterales hidrófobas (**Figura 2.16**). Los lípidos arqueanos, por tanto, carecen de ácidos grasos per se, pero las cadenas laterales hidrófobas cumplen el mismo papel funcional que aquellos. Los lípidos arqueanos están formados por múltiples unidades de isopreno, un hidrocarburo de cinco carbonos (Figura 2.16*c*).

La membrana citoplasmática de las *Archaea* está formada por diéteres de glicerol, con cadenas laterales de 20 átomos (la unidad 20-C recibe el nombre de grupo *fitanilo* y está compuesta por 5 unidades de isopreno), o por tetraéteres de glicerol, con cadenas laterales de 40 carbonos (**Figura 2.17**). En los lípidos con tetraéter, los extremos de las cadenas laterales de fitanilo orientados hacia dentro de cada molécula de glicerol están unidos covalentemente formando una *monocapa* lipídica en lugar de una *bicapa* (Figura 2.17*d*, *e*). A diferencia de las bicapas lipídicas, las membranas de monocapa lipídica son extremadamente resistentes al calor, de manera que se encuentran ampliamente distribuidas entre los hipertermófilos del dominio *Archaea*, organismos que crecen mejor a temperaturas superiores a 80 °C. También es posible encontrar membranas con una mezcla de bicapa y monocapa, en las que algunos de los grupos hidrófobos encarados están unidos covalentemente y otros no.

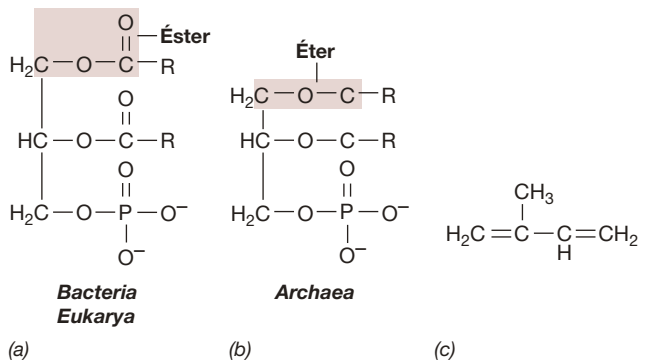


Figura 2.16 **Estructura general de los lípidos.** *(a)* Enlace éster y *(b)* enlace éter. *(c)* Isopreno, estructura precursora de las cadenas laterales de los lípidos arqueanos. En cambio, las cadenas laterales de los lípidos en *Bacteria* y *Eukarya* están compuestas de ácidos grasos (véase la Figura 2.14*a*).

Muchos lípidos arqueanos contienen anillos en las cadenas laterales hidrocarbonadas. Por ejemplo, el *crenarqueol*, un lípido muy extendido entre especies de *Thaumarchaeota*, uno de los principales fílum de *Archaea*, contiene cuatro anillos de 5 carbonos (ciclopentilo) y un anillo de 6 carbonos (ciclohexilo) (Figura 2.17*c*). Los anillos de las cadenas laterales hidrocarbonadas afectan a las propiedades químicas de los lípidos y, por extensión, a toda la funcionalidad de la membrana. También puede haber azúcares en los lípidos arqueanos. Por ejemplo, los lípidos de membrana predominantes en muchas *Euryarchaeota*, un grupo importante de *Archaea* que comprende a los metanógenos y a los halófilos extremos (↻ Figura 1.6*b*), son diéteres de glicerol.

A pesar de las diferencias químicas entre las membranas citoplasmáticas de *Archaea* y las de los organismos de otros dominios, la estructura fundamental de la membrana citoplasmática arqueana —superficies interna y externa hidrófilas e interior hidrófobo— es la misma que la de las membranas de *Bacteria* y *Eukarya*. La evolución ha seleccionado este diseño como la mejor solución para la función principal de la membrana citoplasmática, la permeabilidad, que estudiaremos a continuación.

MINIRREVISIÓN

- Trace la estructura básica de una bicapa lipídica y señale las regiones hidrófila e hidrófoba.
- ¿En qué se parecen los lípidos de membrana de *Bacteria* y *Archaea* y en qué se diferencian?

2.8 Funciones de la membrana

La membrana citoplasmática tiene diversas funciones. En primer lugar, la membrana es una barrera de permeabilidad que evita la filtración pasiva de solutos hacia el interior y el exterior de la célula (**Figura 2.18**). En segundo lugar, la membrana es un punto de anclaje para muchas proteínas. Algunas de ellas son enzimas ocupadas en la conservación de la energía y otras transportan solutos dentro y fuera de la célula. La membrana citoplasmática es un centro principal de conservación de energía en la célula procariota. La membrana puede existir en forma cargada energéticamente, en la que los protones (H^+) se encuentran separados de los iones hidroxilo (OH^-) a través de la superficie de la membrana (Figura 2.18*c*). La separación de las cargas genera un estado de energía análogo a la energía potencial de una batería cargada. Esta fuente de energía, llamada *fuerza protonmotriz*, es responsable de muchas de las funciones de la célula que requieren energía, como muchas reacciones de transporte, la motilidad natatoria y la biosíntesis de ATP.

Permeabilidad

El citoplasma es una solución de sales, azúcares, aminoácidos, nucleótidos y muchas otras sustancias. La porción hidrófoba de la membrana citoplasmática (Figuras 2.14 y 2.15) es una barrera hermética a la difusión de estas sustancias. Si bien algunas

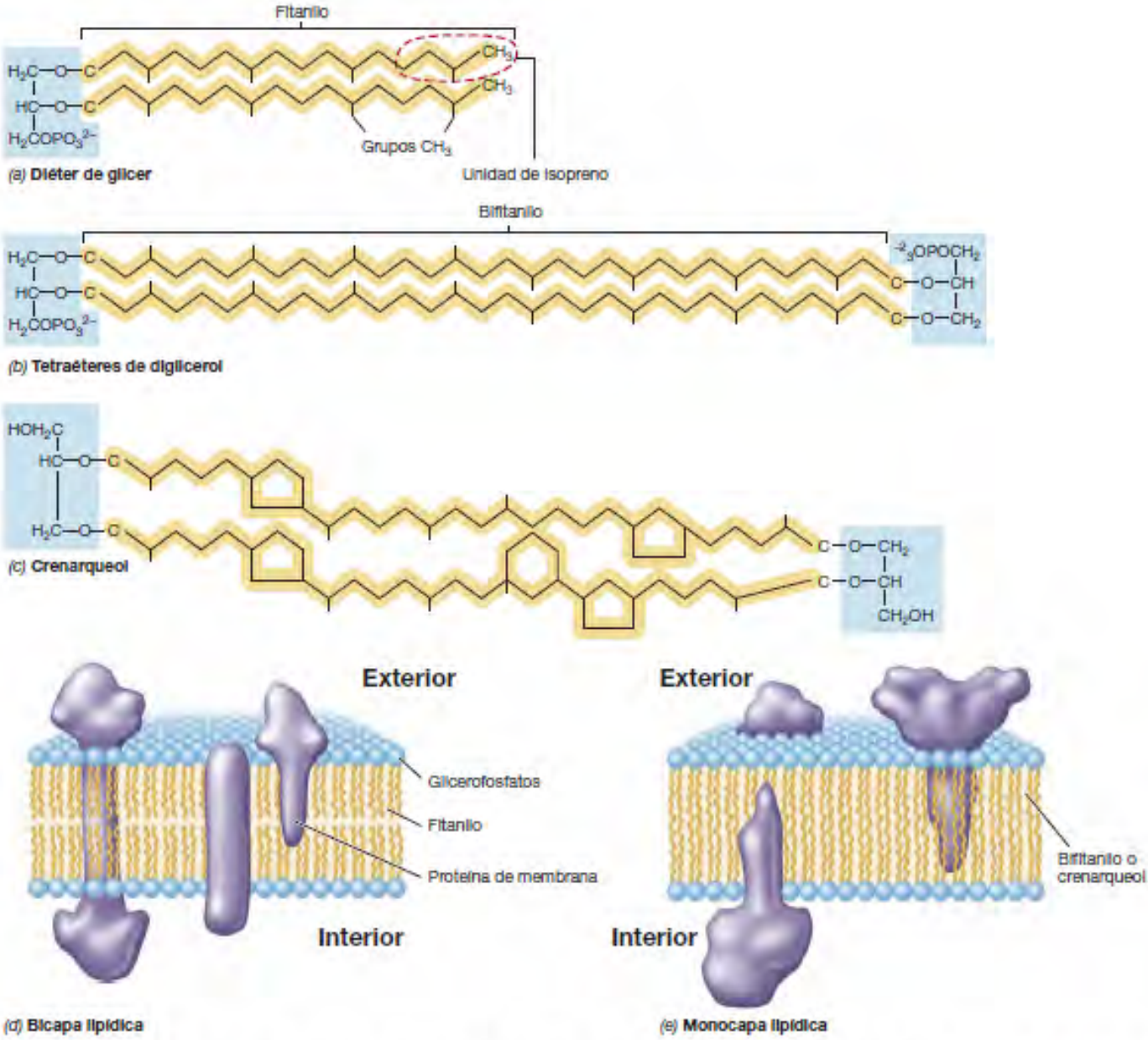


Figura 2.17 **Lípidos principales de *Archaea* y arquitectura de las membranas arqueanas.** *(a, b)* Obsérvese que el hidrocarburo del lípido está unido al glicerol por un enlace éter en ambos casos. El hidrocarburo es un fitanilo (C_{20}) en *a* y un bifitanilo (C_{40}) en *b*. *(c)* Un lípido importante de *Thaumarchaeota* es el crenarqueol, un lípido que contiene anillos de 5 y 6 carbonos. *(d, e)* La estructura de la membrana en *Archaea* puede ser una bicapa o una monocapa (o una mezcla de ambas).

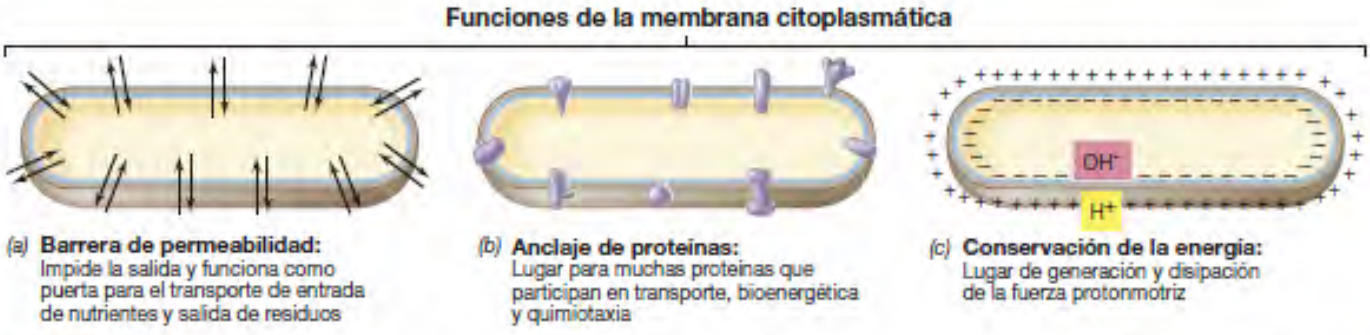


Figura 2.18 **Funciones principales de la membrana citoplasmática.** La membrana citoplasmática, aunque es estructuralmente débil, realiza muchas funciones importantes.

pequeñas moléculas hidrófobas atraviesan la membrana por difusión, las moléculas polares y cargadas no se difunden, sino que deben ser transportadas. Ni siquiera una sustancia tan pequeña como un protón (H^+) puede difundirse a través de la membrana. En la **Tabla 2.2** se muestra la permeabilidad relativa de la membrana a algunas sustancias biológicamente relevantes. Como se puede ver, la mayoría de las sustancias no pueden difundirse a la célula, por lo que deben ser transportadas.

Una sustancia que atraviesa libremente la membrana en ambas direcciones es el agua, una molécula con cierta polaridad pero lo suficientemente pequeña para pasar entre las moléculas de fosfolípidos de la bicapa lipídica (Tabla 2.2). Además del agua que entra por difusión, las proteínas de la membrana llamadas *acuaporinas* funcionan acelerando el movimiento del agua a través de la membrana. Por ejemplo, la acuaporina AqpZ de *Escherichia coli* importa o exporta agua hacia o desde el citoplasma, según sean las condiciones osmóticas.

Proteínas transportadoras

Las proteínas transportadoras no solo transportan solutos a través de la membrana: también los *acumulan* en el interior de la célula contra el gradiente de concentración. La necesidad de un transporte mediado es fácil de entender. Si la difusión fuera el único mecanismo de entrada de solutos en la célula, la concentración intracelular de nutrientes nunca superaría la concentración extracelular, que para la mayoría de los nutrientes es bastante baja en la naturaleza (**Figura 2.19**) y resultaría insuficiente para que las células llevaran a cabo las reacciones bioquímicas. Las reacciones de transporte mueven los nutrientes de zonas de baja concentración a otras de alta concentración y, como veremos en la sección siguiente, esto conlleva un coste energético.

Los sistemas de transporte presentan diversas propiedades características. En primer lugar, a diferencia de lo que ocurre en la difusión, los sistemas de transporte tienen *efecto de saturación*. Si la concentración de un sustrato es lo bastante alta para saturar al transportador, lo que suele ocurrir a concentraciones muy bajas de sustrato, la velocidad de entrada alcanza un máximo y la adición de más sustrato no aumenta dicha velocidad (Figura 2.19). Esta característica de las proteínas transportadoras es esencial para concentrar nutrientes a partir de ambientes muy diluidos. Una segunda característica del transporte mediado por transportadores es su *alta especificidad*. Muchas proteínas transportadoras se unen solo un tipo de molécula, mientras que unas pocas transportan moléculas relacionadas entre sí, como algunos azúcares diferentes o algunos aminoácidos diferentes. Esta economía reduce la necesidad de proteínas transportadoras diferentes para cada aminoácido o azúcar. Una tercera característica fundamental de los sistemas transportadores es que su síntesis suele estar *estrictamente regulada* por la célula. Es decir, la dotación específica de los transportadores presentes en la membrana citoplasmática de una célula es función tanto de la naturaleza como de la concentración de los recursos en su entorno. Algunos nutrientes son transportados por un transportador cuando se encuentran en alta concentración, y por otro diferente, normalmente de mayor afinidad, cuando la concentración es muy baja.

Tabla 2.2 Comparación de la permeabilidad de las membranas a diversas moléculas

Sustancia	*Tasa de permeabilidad*[a]	*Potencial de difusión en una célula*
Agua	100	Excelente
Glicerol	0,1	Buena
Triptófano	0,001	Bueno/bajo
Glucosa	0,001	Bueno/bajo
Ion cloruro (Cl^-)	0,000001	Muy bajo
Ion potasio (K^+)	0,0000001	Extremadamente bajo
Ion sodio (Na^+)	0,00000001	Extremadamente bajo

[a] Escala relativa de permeabilidad respecto a la permeabilidad al agua, considerada como 100. La permeabilidad de la membrana al agua puede alterarse por las acuaporinas.

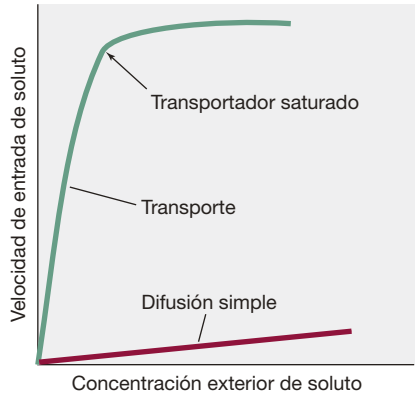


Figura 2.19 **Transporte frente a difusión.** En el transporte, la velocidad de entrada presenta saturación a una concentración exterior relativamente baja.

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué una célula no puede depender solamente de la difusión simple como forma de adquirir sus nutrientes?
- ¿Por qué el daño físico a la membrana citoplasmática puede ser mortal para la célula?

2.9 Transporte de nutrientes

Para impulsar el metabolismo y mantener el crecimiento, las células necesitan importar nutrientes y exportar residuos de manera continua. Para cumplir esos requisitos, en los procariotas existen varios mecanismos de transporte, cada uno de ellos con características propias.

Mecanismos de transporte y transportadores

En los procariotas se han caracterizado al menos tres mecanismos de transporte. Del **transporte simple,** se encarga una sola proteína transmembranaria de transporte, la **translocación de grupo** utiliza una serie de proteínas en el transporte, y los **sistemas de transporte ABC** están formados por tres componentes: una proteína de unión a sustrato, un transportador integrado en la membrana y una proteína que hidroliza ATP (**Figura 2.20**). Todos estos sistemas impulsan el acto real de transporte mediante la fuerza protonmotriz, el ATP o algún otro compuesto orgánico rico en energía.

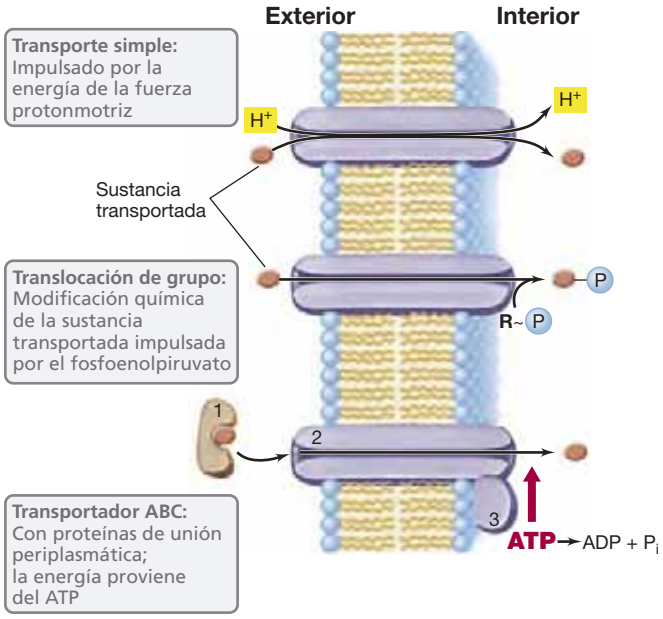


Figura 2.20 **Las tres clases de sistemas de transporte.** Obsérvese que los transportadores simples y el sistema ABC transportan sustancias sin modificarlas químicamente, mientras que la translocación de grupo provoca una modificación química (en este caso la fosforilación) de la sustancia transportada. Las tres proteínas del sistema ABC están marcadas como 1, 2 y 3.

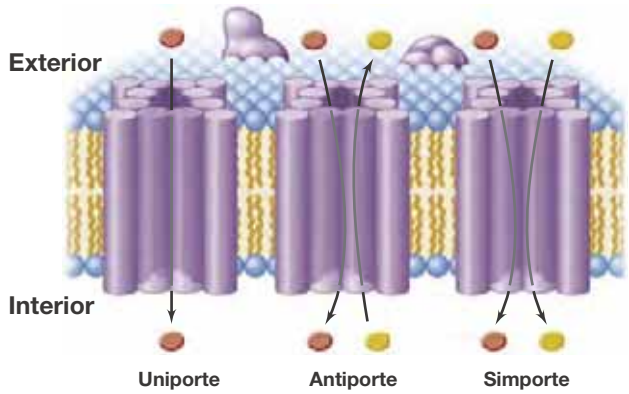


Figura 2.21 **Estructura de los transportadores transmembranarios y tipos de procesos de transporte.** Los transportadores transmembranarios están formados por 12 hélices α (representadas como cilindros) que se agregan para formar un canal a través de la membrana. Se muestran ejemplos de tres procesos de transporte diferentes: uniporte, antiporte y simporte. Los discos rojos representan la molécula transportada; los discos amarillos representan la molécula cotransportada.

Los transportadores de membrana están compuestos normalmente de doce polipéptidos que atraviesan la membrana formando un canal; a través de ese canal es por donde realmente se transporta el soluto hacia la célula. Para que se produzca el transporte es necesario que las proteínas transportadoras experimenten un cambio conformacional tras la unión del soluto. Igual que una puerta giratoria, el cambio conformacional introduce el soluto en la célula.

Independientemente del *mecanismo*, los procesos de transporte pueden ser de tres tipos: *uniporte*, *simporte* y *antiporte*, cada uno de ellos catalizado por una proteína denominada *portadora* (Figura 2.21). Las uniportadoras son proteínas que transportan una sustancia unidireccionalmente a través de la membrana, ya sea hacia dentro o hacia fuera. Las simportadoras son cotransportadoras; transportan una molécula junto con una segunda sustancia, normalmente un protón. Las antiportadoras son proteínas que transportan una sustancia hacia la célula y, simultáneamente, una segunda sustancia hacia el exterior de la célula.

Transportadores simples y translocación de grupo

La bacteria *Escherichia coli* metaboliza la lactosa, un disacárido que es transportado al interior de las células de *E. coli* gracias a la actividad de una proteína transportadora simple llamada *permeasa lac*, un tipo de simportadora. Cada vez que una molécula de lactosa es transportada al interior de la célula, la energía de la fuerza protonmotriz disminuye ligeramente por el cotransporte de un protón al citoplasma (Figura 2.21). La membrana recupera la energía mediante reacciones de conservación de la energía que se describen en el Capítulo 3. El resultado neto de la actividad de la permeasa lac es la acumulación de lactosa contra el gradiente de concentración a expensas de un consumo de energía. Una vez en el citoplasma, la lactosa se rompe y se utiliza para la síntesis de ATP y para sintetizar nuevos esqueletos de compuestos de carbono.

La translocación de grupo difiere del transporte simple en dos aspectos: 1) la sustancia transportada se modifica químicamente durante el proceso de transporte, y 2) el transporte se lleva a cabo a costa de un compuesto orgánico rico en energía en lugar de a expensas de la fuerza protonmotriz. Uno de los sistemas de translocación de grupo mejor estudiados es el que transporta los azúcares glucosa, manosa y fructosa en *E. coli*. Estos compuestos son fosforilados por el *sistema fosfotransferasa* durante su transporte. Dicho sistema está formado por una familia de proteínas que trabajan coordinadas; para transportar cada azúcar son necesarias cinco proteínas. Antes del transporte, las mismas proteínas del sistema fosfotransferasa son fosforiladas y desfosforiladas en cascada hasta llegar a la transportadora real, el enzima II_c, que fosforila el azúcar durante el transporte (Figura 2.22). Una proteína llamada *HPr*, el enzima que fosforila a HPr (Enzima I), y el enzima II_a son todas proteínas citoplasmáticas. En cambio, el enzima II_b se encuentra en la superficie interior de la membrana, y el enzima II_c es una proteína integral de membrana.

HPr y el Enzima I son componentes inespecíficos del sistema fosfotransferasa y participan en la captación de diversos azúcares distintos. Existen varias versiones del enzima II, una para cada azúcar diferente que es transportado (Figura 2.22). La energía para impulsar el sistema fosfotransferasa procede del fosfoenolpiruvato, una molécula intermedia de la glicólisis rica en energía (↻ Sección 3.8).

Proteínas periplasmáticas de unión y sistema ABC

Veremos más adelante que las bacterias gramnegativas contienen una región llamada *periplasma*, situada entre la membrana citoplasmática y una segunda capa de membrana llamada *membrana externa*, que forma parte de la pared celular gramnegativa (Sección 2.11). El periplasma contiene muchas proteínas diferentes, algunas de las cuales intervienen en el transporte y reciben el nombre de *proteínas periplasmáticas de unión*. Los sistemas de transporte que utilizan proteínas periplasmáticas de unión junto con un transportador de membrana y proteínas

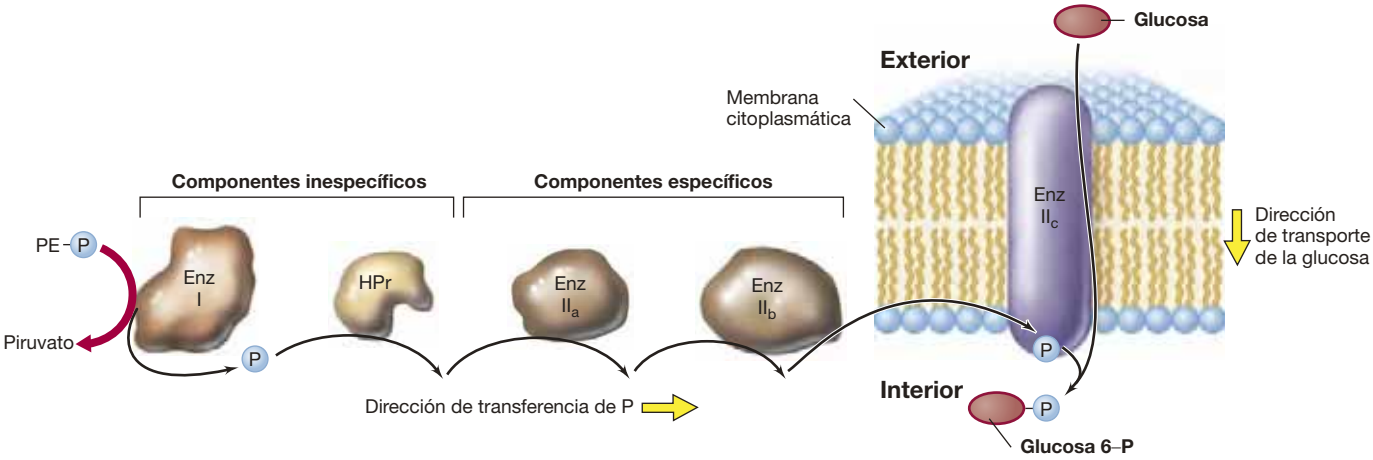


Figura 2.22 **Mecanismo del sistema fosfotransferasa de *B.*** Para la captación de glucosa, el sistema está formado por cinco proteínas: Enzima (Enz) I, enzimas II_a, II_b y II_c, y HPr. Se produce una cascada de fosfato desde el fosfoenolpiruvato (PE-P) hasta el enzima II_c y este último en realidad transporta y fosforila el azúcar. Las proteínas HPr y Enz I son inespecíficas y transportan cualquier azúcar. Los componentes Enz II son específicos para cada azúcar concreto.

que hidrolizan ATP se llaman sistemas de transporte ABC (del inglés *ATP-binding cassette*) (Figura 2.23). En los procariotas se han identificado más de 200 sistemas ABC de transporte diferentes. Los transportadores ABC captan compuestos orgánicos como azúcares y aminoácidos, nutrientes inorgánicos como sulfato y fosfato, y algunos metales.

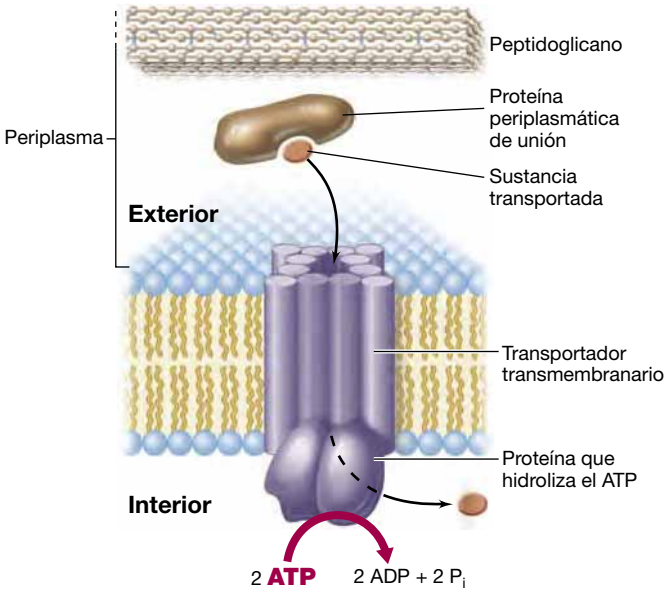


Figura 2.23 **Mecanismo de acción de un transportador ABC.** La proteína periplasmática de unión tiene gran afinidad por el sustrato, las proteínas transmembranarias forman el canal de transporte, y las proteínas que hidrolizan el ATP citoplasmático suministran la energía para el transporte.

Una propiedad característica de las proteínas periplasmáticas de unión es su alta afinidad por el sustrato. Estas proteínas pueden unirse a su(s) sustrato(s) incluso cuando este está presente a concentraciones extremadamente bajas; por ejemplo, menos de 1 micromolar (10^{-6} M). Una vez se ha unido al sustrato, la proteína periplasmática de unión interacciona con su respectivo transportador de membrana para llevar el sustrato al interior de la célula gracias a la energía del ATP (Figura 2.23).

Aunque las bacterias grampositivas carecen de periplasma, también cuentan con sistemas de transporte ABC. Sin embargo, en estas bacterias las proteínas de unión a sustrato (el equivalente funcional de las proteínas periplasmáticas de unión) están ancladas a la superficie externa de la membrana citoplasmática. Una vez se han unido a su sustrato, estas proteínas interaccionan con un transportador de membrana para catalizar la entrada de sustrato impulsada por ATP.

MINIRREVISIÓN

- Compare los transportadores simples, el sistema fosfotransferasa y los transportadores ABC en cuanto a 1) fuente de energía, 2) cambios químicos del soluto durante el transporte, y 3) número de proteínas necesarias.
- ¿Qué característica principal de las proteínas periplasmáticas de unión las hace adecuadas para organismos que viven en ambientes pobres en nutrientes?

IV • La pared celular en *Bacteria* y *Archaea*

El citoplasma de las células procariotas mantiene una alta concentración de solutos disueltos, y en una célula típica esto genera una presión osmótica significativa, de unas 2 atmósferas (203 kPa); es, aproximadamente, la presión de un neumático de coche. Para soportar estas presiones e impedir la explosión (lisis celular), la mayoría de las células de *Bacteria* y *Archaea* tienen una pared. Además de impedir la lisis osmótica, la pared celular confiere forma y rigidez a la célula. El conocimiento de

la estructura y las funciones de la pared celular es importante, no solo para entender cómo funcionan las células procariotas, sino también porque determinados antibióticos tienen como objetivo la síntesis de la pared celular, de manera que dejan a la célula expuesta a la lisis. Como las células humanas carecen de pared celular, estos antibióticos presentan beneficios obvios en el tratamiento de las infecciones bacterianas.

2.10 Peptidoglicano

Como hemos visto, las especies del dominio *Bacteria* se pueden dividir en dos grandes grupos, *grampositivas* y *gramnegativas*. La distinción entre bacterias grampositivas y gramnegativas se basa en la reacción a la tinción de Gram (Sección 2.2), y las diferencias en la estructura de la pared celular son un factor fundamental en esta reacción. La superficie de las células grampositivas vista al microscopio electrónico difiere notablemente de la de las células gramnegativas, como se aprecia en la **Figura 2.24**. La pared celular de las bacterias gramnegativas, o *cubierta celular*, como se la llama a menudo, tiene al menos dos capas, mientras que la pared de las células grampositivas suele ser mucho más gruesa y está formada fundamentalmente por un solo tipo de molécula.

Nos centraremos a continuación en el componente polisacarídico de las paredes celulares de las bacterias, tanto las grampositivas como las gramnegativas. En la sección siguiente

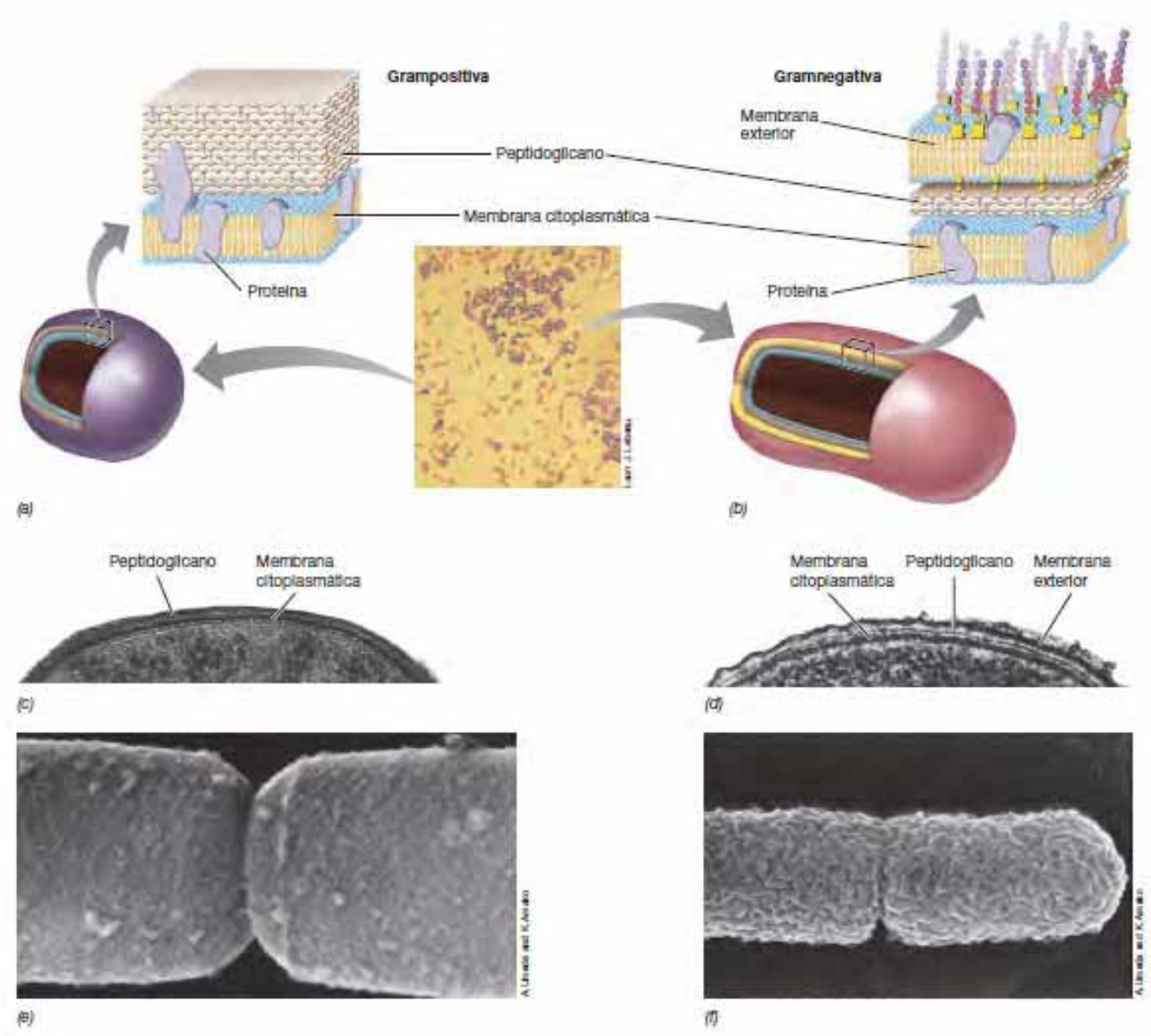


Figura 2.24 Paredes celulares de las bacterias. *(a, b)* Representación esquemática de las paredes celulares grampositivas y gramnegativas. La foto de la tinción de Gram en el centro muestra células de *Staphylococcus aureus* (de color violeta, grampositivas) y *Escherichia coli* (de color rosa, gramnegativas). *(c, d)* Micrografías electrónicas de transmisión (TEM) que muestran la pared celular de una bacteria grampositiva y de una bacteria gramnegativa. *(e, f)* Micrografías electrónicas de barrido de bacterias grampositivas y gramnegativas, respectivamente. Obsérvese las diferencias en la textura superficial. Cada célula tiene aproximadamente 1 μm de ancho.

describiremos los componentes especiales de las paredes celulares presentes en las bacterias gramnegativas. En la Sección 2.12 describiremos las paredes celulares de las *Archaea*.

La química del peptidoglicano

Las paredes de las bacterias tienen una capa rígida que es la responsable principal de la resistencia de la célula. Esta capa rígida, llamada **peptidoglicano**, es un polisacárido compuesto por dos derivados de azúcares, la *N*-*acetilglucosamina* y el *ácido N-acetilmurámico*, y unos pocos aminoácidos, L-alanina, D-alanina, D-ácido glutámico y L-lisina o una molécula de estructura similar, el ácido diaminopimélico (DAP). Estos constituyentes están conectados formando una estructura repetitiva llamada *tetrapéptido de glicano* (**Figura 2.25**).

En la biosíntesis, las cadenas largas de peptidoglicano se colocan adyacentes entre sí para formar una lámina que rodea a la célula. Las cadenas individuales están conectadas por entrecruzamientos entre aminoácidos. Los enlaces glicosídicos que conectan los azúcares en las cadenas de glicano son covalentes, pero proporcionan rigidez solamente en una dirección. Solo después del entrecruzamiento el peptidoglicano es lo bastante fuerte en las direcciones X e Y (**Figura 2.26**). El entrecruzamiento se produce en distintos grados en especies diferentes de *Bacteria*, y cuanto más extenso es, mayor es la rigidez que aporta.

En las bacterias gramnegativas, el entrecruzamiento del peptidoglicano está formado por un enlace peptídico entre el grupo amino de DAP de una cadena de glicano y el grupo carboxilo de la D-alanina terminal de la cadena de glicano adyacente (Figura 2.26). En las bacterias grampositivas, el entrecruzamiento se produce normalmente a través de un pequeño puente peptídico, en el que la clase y el número de aminoácidos varían de una especie a otra. En la bacteria grampositiva *Staphylococcus aureus*, cuya bioquímica de la pared celular se conoce bien,

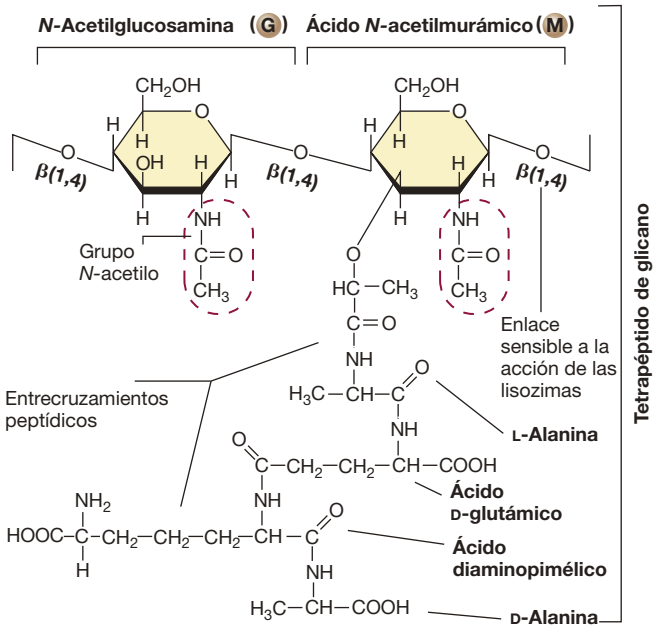


Figura 2.25 Estructura de la unidad repetitiva en el peptidoglicano, el tetrapéptido de glicano. La estructura que se muestra es la que presentan *Escherichia coli* y la mayoría de las bacterias gramnegativas. En algunas bacterias hay otros aminoácidos, como se describe en el texto.

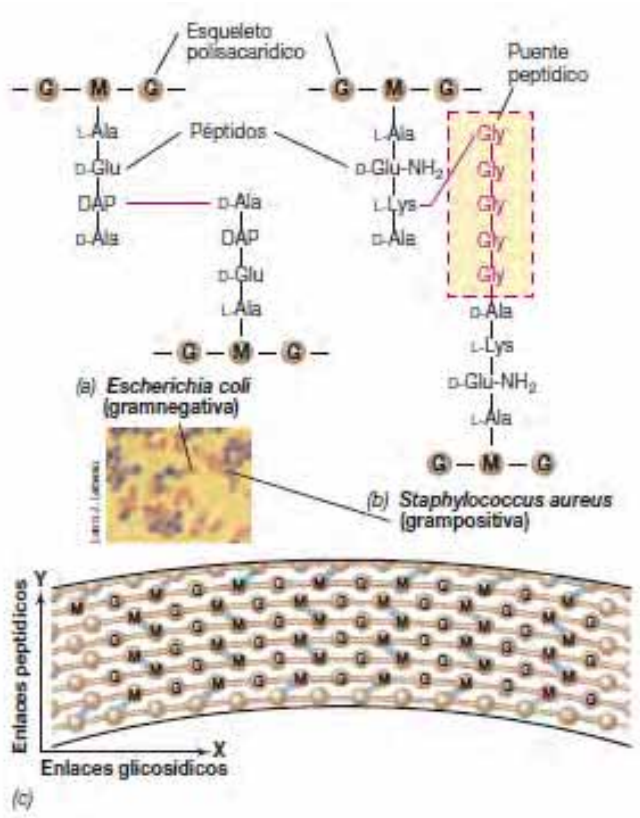


Figura 2.26 Peptidoglicano de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. *(a)* En el peptidoglicano de *Escherichia coli* y en el de las otras bacterias gramnegativas no se observan puentes peptídicos. *(b)* Puente de glicinas en *S. aureus* (grampositiva). *(c)* Estructura completa del peptidoglicano. G, *N*-acetilglucosamina; M, ácido *N*-acetil murámico. Obsérvese que los enlaces glicosídicos confieren resistencia al peptidoglicano en dirección X, mientras que los enlaces peptídicos lo hacen en dirección Y.

el puente está formado por cinco residuos de glicina (Figura 2.26*b*). En la Figura 2.26*c* se muestra la estructura completa del peptidoglicano.

Algunos agentes pueden destruir el peptidoglicano. Uno de ellos es la *lisozima*, un enzima que corta el enlace glicosídico β-1,4 entre la *N*-acetilglucosamina y el ácido *N*-acetilmurámico en el peptidoglicano (Figura 2.25), con el consiguiente debilitamiento de la pared celular. Cuando esto ocurre, el agua puede entrar en la célula y provocar la lisis celular. La lisozima está presente en algunas secreciones animales, como las lágrimas, la saliva y otros líquidos corporales, y funciona como línea de defensa principal frente a las infecciones bacterianas. Cuando estudiemos la biosíntesis del peptidoglicano en el Capítulo 5 veremos que el antibiótico penicilina también ataca al peptidoglicano, pero de manera diferente a las lisozimas. Mientras que las lisozimas destruyen el peptidoglicano existente, la penicilina impide su biosíntesis, de manera que debilita la pared y favorece la lisis osmótica.

El peptidoglicano se encuentra solamente en el dominio *Bacteria*; el ácido *N*-acetilmurámico y el aminoácido análogo DAP nunca se han encontrado en las paredes celulares de *Archaea* o *Eukarya*. No obstante, tampoco todas las bacterias examinadas tienen DAP en su peptidoglicano; algunas tienen lisina

en su lugar. Una característica inusual del peptidoglicano es la presencia de dos aminoácidos del estereoisómero D: D-alanina y ácido D-glutámico. Las proteínas, en cambio, siempre están formadas únicamente por L-aminoácidos. Se han descrito más de cien peptidoglicanos químicamente distintos que varían en sus entrecruzamientos peptídicos y/o en sus puentes. Sin embargo, la porción de glicano es la misma en todos los peptidoglicanos; solo está formada por *N*-acetilglucosamina y ácido *N*-acetilmurámico, y siempre enlazados por enlaces β-1,4 (Figuras 2.25 y 2.26).

La pared celular grampositiva

Hasta un 90 % de la pared celular grampositiva está compuesta de peptidoglicano. Y, aunque algunas bacterias tienen una sola capa de peptidoglicano, muchas bacterias grampositivas presentan varias láminas de peptidoglicano apiladas (Figura 2.26*a*). Se cree que el peptidoglicano se sintetiza en forma de «cables» de unos 50 nm de ancho (**Figura 2.27*a***), formados cada uno por varios filamentos de glicano entrecruzados. A medida que se sintetiza el peptidoglicano, los cables se van entrecruzando para formar una estructura de pared todavía más fuerte.

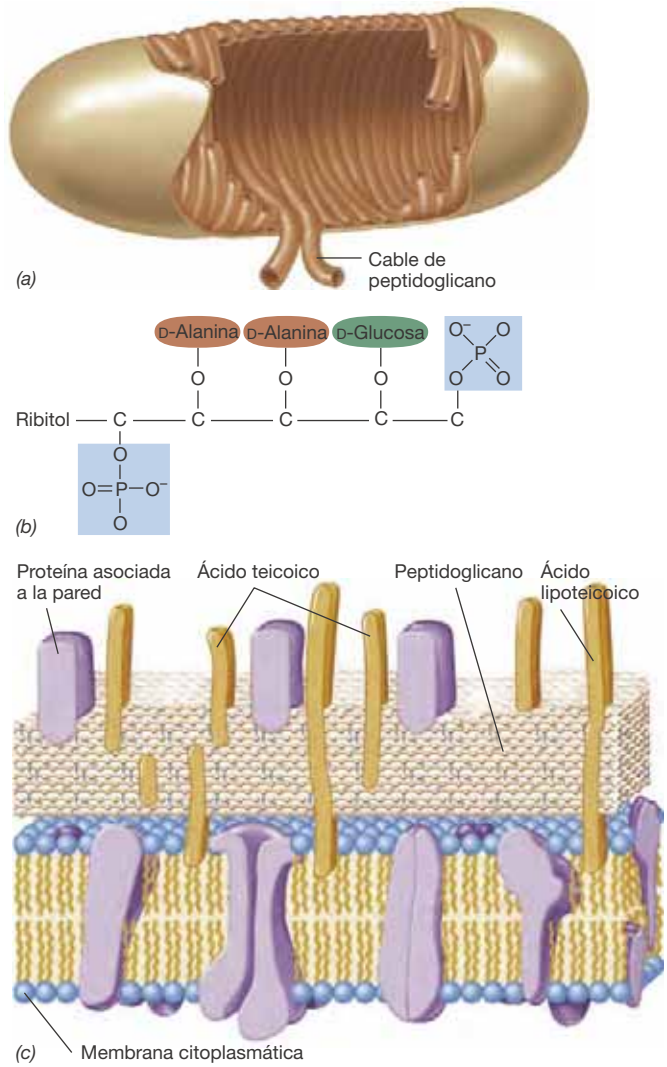


Figura 2.27 Estructura de la pared celular de las bacterias grampositivas. *(a)* Dibujo de un bacilo grampositivo que muestra la arquitectura interna de los «cables» de peptidoglicano. *(b)* Estructura de un ácido ribitolteicoico. El ácido teicoico es un polímero de la unidad repetitiva de ribitol que se muestra aquí. *(c)* Esquema resumen de la pared celular de las bacterias grampositivas.

Muchas bacterias grampositivas tienen moléculas ácidas, llamadas **ácidos teicoicos**, embebidas en la pared celular. El término «ácidos teicoicos» comprende todos los polímeros formados por glicerol-fosfato o ribitol-fosfato de la pared celular, la membrana citoplasmática y la cápsula. Estos polialcoholes están conectados por ésteres fosfato y normalmente contienen azúcares o D-alanina (Figura 2.27*b*) y están unidos covalentemente al ácido murámico del peptidoglicano de la pared. Como los fosfatos están cargados negativamente, los ácidos teicoicos son en parte responsables de la carga eléctrica total negativa de la superficie celular. Los ácidos teicoicos también unen Ca^{2+} y Mg^{2+} para transportarlos al interior de la célula. Algunos ácidos teicoicos están unidos covalentemente a lípidos de membrana, y en ese caso reciben el nombre de *ácidos lipoteicoicos*. En la Figura 2.27 se resume la estructura de la pared celular de las bacterias grampositivas y se muestra cómo se disponen los ácidos teicoicos y lipoteicoicos en la estructura global de la pared.

La mayoría de los procariotas no pueden sobrevivir en la naturaleza sin pared celular, pero hay algunos que sí lo hacen. Entre ellos están los micoplasmas, bacterias patógenas relacionadas con las grampositivas que causan enfermedades a los seres humanos y a otros animales, y el grupo de *Thermoplasma*, especies de *Archaea* que carecen de pared celular de manera natural. Estos organismos son capaces de sobrevivir sin pared porque contienen una membrana citoplasmática inusualmente resistente o porque viven en hábitats protegidos osmóticamente, como el cuerpo de los animales. La mayoría de los micoplasmas tienen, en la membrana citoplasmática, esteroles, que aportan fuerza y rigidez a la membrana igual que lo hacen en las membranas citoplasmáticas de las células eucariotas. Las membranas de *Thermoplasma* contienen moléculas llamadas *lipoglicanos* que cumplen una función de fortalecimiento similar.

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué las células bacterianas necesitan pared celular? ¿Todas las bacterias tienen pared celular?
- ¿Por qué el peptidoglicano es una molécula tan fuerte?
- ¿Qué acción realizan las lisozimas?

2.11 Lipopolisacáridos (LPS): la membrana externa

En las bacterias gramnegativas, solo una pequeña fracción de la pared celular es peptidoglicano, ya que la mayor parte la constituye la **membrana externa**. Esta capa es, a todos los efectos, una segunda bicapa lipídica, pero no solo está formada por fosfolípidos y proteínas como la membrana citoplasmática (Figura 2.15); en cambio, la membrana externa contiene también polisacáridos, y los lípidos y los polisacáridos están unidos formando un complejo. Por ello, se la suele llamar capa de **lipopolisacárido** o **LPS**.

Química y actividad del LPS

Se conoce la estructura del LPS de algunas bacterias. Como se ve en la **Figura 2.28**, la porción polisacarídica del LPS consta de dos componentes, el *núcleo del polisacárido* y el *polisacárido O específico*. En las especies de *Salmonella*, en las que el LPS está bien estudiado, el núcleo del polisacárido está formado por cetodesoxioctonato (KDO, del inglés *ketodeoxyoctonate*), diversos azúcares de siete átomos de carbono (heptosas), glucosa, galactosa y *N*-acetilglucosamina. El polisacárido O específico está unido al núcleo, y normalmente contiene galactosa, glucosa, ramnosa y manosa, así como una o más didesoxihexosas como abecuosa, colitosa, paratosa y tivelosa. Estos azúcares están unidos en secuencias de cuatro o cinco miembros, a menudo ramificados. Cuando las secuencias se repiten, se forma el largo polisacárido O específico.

En la **Figura 2.29** se muestra la relación de la capa de LPS con toda la pared celular gramnegativa. La porción lipídica del LPS, llamada *lípido A*, no es un lípido típico, derivado del glicerol (véase la Figura 2.14*a*), sino que los ácidos grasos están unidos mediante los grupos amino de un disacárido compuesto por dos unidades de fosfato de glucosamina. El disacárido está unido al núcleo del polisacárido a través de KDO (Figura 2.28). Los ácidos grasos que se encuentran normalmente en el lípido A son el caproico (C_6), el láurico (C_{12}), el mirístico (C_{14}), el palmítico (C_{16}) y el esteárico (C_{18}). El LPS sustituye a muchos de los fosfolípidos en la mitad exterior de la membrana externa, y sirve de anclaje para unir la membrana externa al peptidoglicano. Así, aunque técnicamente la membrana externa sea una bicapa lipídica, su estructura es diferente al de la membrana citoplasmática.

Aunque su función principal es aportar resistencia a la célula gramnegativa, una importante propiedad biológica del LPS es su toxicidad para los animales. Entre las bacterias gramnegativas patógenas para los humanos más conocidas se encuentran especies de *Salmonella*, *Shigella* y *Escherichia*, y algunos de los síntomas gastrointestinales que provocan estos patógenos se deben a la toxicidad de los componentes de la membrana externa; toxicidad que está asociada a la capa LPS, y en particular al lípido A. El término *endotoxina* se refiere a este componente tóxico del LPS. Algunas endotoxinas causan violentos síntomas en humanos, como flatulencias, diarrea y vómitos, y las endotoxinas producidas por *Salmonella* y las cepas enteropatógenas de *E. coli* que se transmiten mediante alimentos contaminados son ejemplos típicos (Secciones 23.10 y 31.10).

El periplasma y las porinas

Aunque es permeable a las moléculas pequeñas, la membrana externa es impermeable a las proteínas y las moléculas más grandes. En realidad, una de sus funciones principales es impedir que las proteínas que llevan a cabo su actividad fuera de la membrana citoplasmática escapen de la célula por difusión. Estas proteínas se encuentran en una zona denominada **periplasma**. Este espacio, ubicado entre la superficie exterior de la membrana citoplasmática y la cara interior de la membrana externa, tiene unos 15 nm de ancho (Figura 2.29). El periplasma tiene una consistencia gelatinosa a causa de la gran concentración de proteínas que contiene.

Dependiendo del organismo, el periplasma puede contener varias clases diferentes de proteínas. Pueden ser enzimas hidrolíticos, que se ocupan de la degradación inicial de las moléculas de los alimentos; proteínas de unión, que empiezan el proceso de transporte de sustancias (Sección 2.9); o quimiorreceptores, que son proteínas que dirigen la respuesta quimiotáctica (Sección 2.19). La mayoría de estas proteínas llegan al periplasma por la acción de un sistema de exportación de proteínas presente en la membrana citoplasmática (Sección 4.14).

La membrana exterior es relativamente permeable a las moléculas pequeñas (incluso a moléculas hidrófilas) por la presencia de unas proteínas llamadas *porinas*, que funcionan como canales para la entrada y salida de solutos (Figura 2.29*a, c*). Se conocen varias porinas, tanto específicas como inespecíficas. Las porinas inespecíficas forman canales llenos de agua, a través de los cuales puede pasar cualquier sustancia pequeña. Por el contrario, las porinas específicas tienen un sitio de unión para una sola sustancia o para un grupo reducido de sustancias estructuralmente relacionadas. Las porinas son proteínas transmembranarias formadas por tres subunidades idénticas. Además del canal presente en cada barril de la porina, los barriles de las tres proteínas de una porina se asocian de manera que se forma un pequeño hueco de 1 nm de diámetro en la membrana externa a través del cual pueden pasar moléculas muy pequeñas (Figura 2.29*c*).

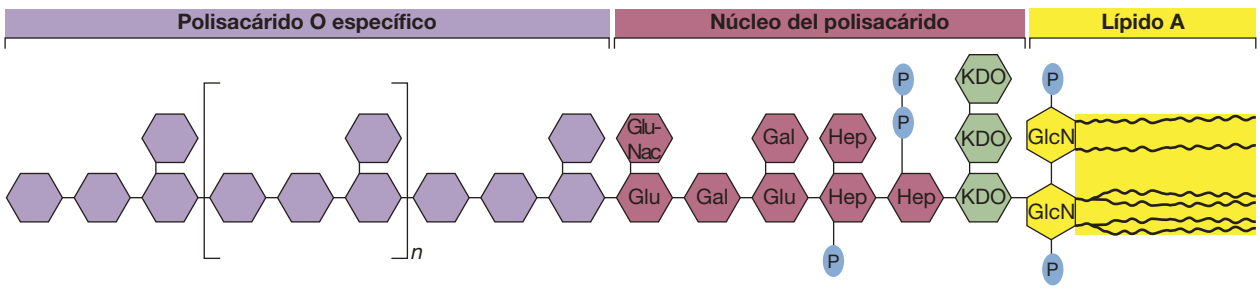


Figura 2.28 Estructura del polisacárido de las bacterias gramnegativas. La composición química del lípido A y de los componentes polisacarídicos varía entre las especies gramnegativas de *Bacteria*, pero los componentes principales (lípido A—KDO—núcleo—O-específico) son normalmente los mismos. El polisacárido O específico varía mucho entre especies. KDO, cetodesoxioctonato; Hep, heptosa; Glu, glucosa; Gal, galactosa; GluNac, *N*-acetilglucosamina; GlcN, glucosamina; P, fosfato. La glucosamina y los ácidos grasos del lípido A están unidos por los grupos amino. El lípido A del LPS puede ser tóxico para los animales y constituye el complejo de la endotoxina. Compárese esta figura con la Figura 2.29; el código de colores de los componentes del LPS es el mismo.

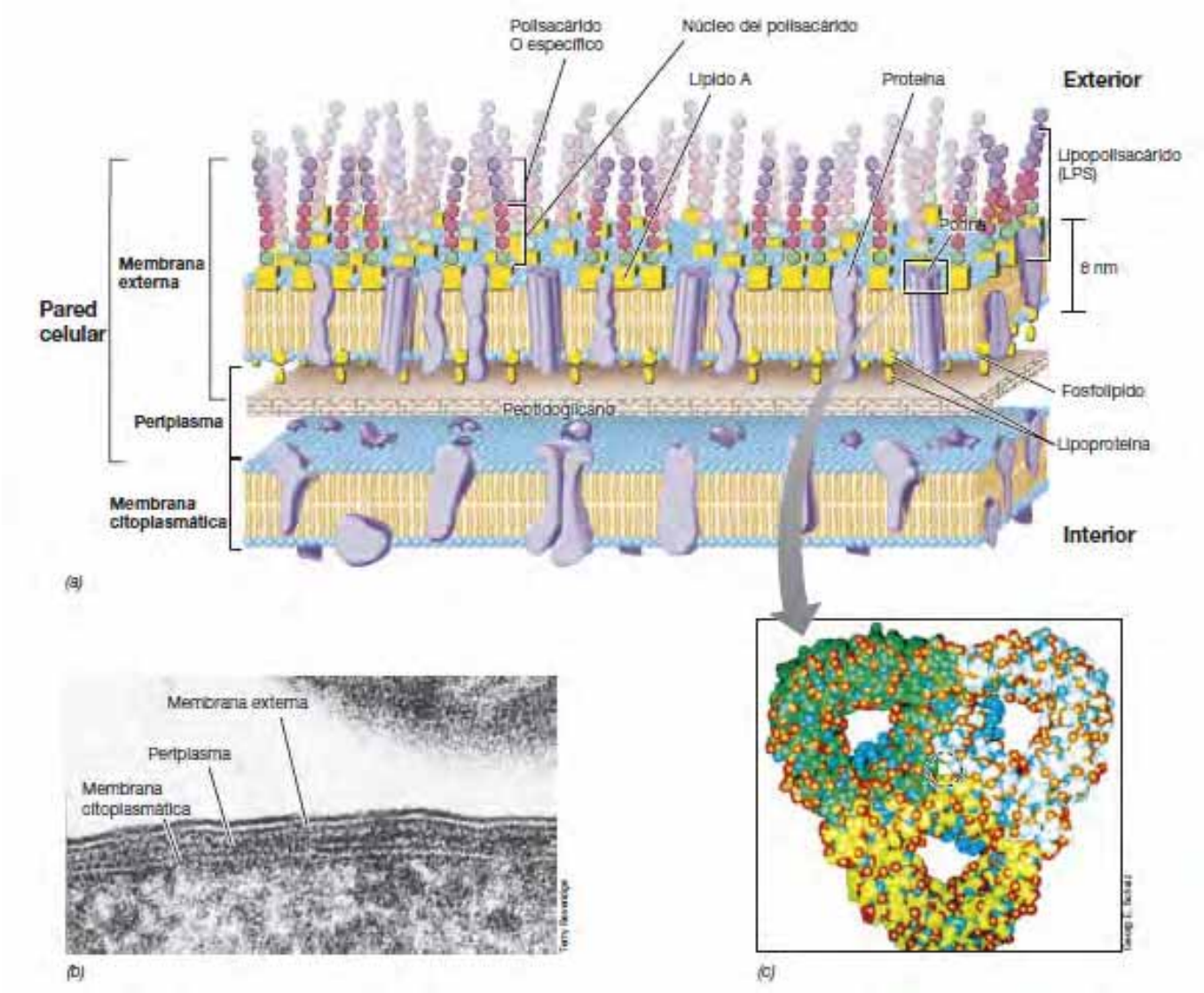


Figura 2.29 **Pared celular gramnegativa.** *(a)* Disposición del lipopolisacárido, el lípido A, los fosfolípidos, las porinas y las lipoproteínas en la membrana externa. (En la Figura 2.28 se muestran los detalles de la estructura del LPS.) *(b)* Micrografía electrónica de transmisión de una célula de *Escherichia coli* en la que se aprecia la membrana citoplasmática y la pared celular. *(c)* Modelo molecular de las porinas. Obsérvense los cuatro poros presentes, uno en cada una de las proteínas que forman una molécula de porina y un poro central más pequeño (rodeado) entre las proteínas de la porina. La vista es perpendicular al plano de la membrana.

Relación de la estructura de la pared celular con la tinción de Gram

La diferencia estructural entre la pared celular de las bacterias grampositivas y la de las gramnegativas es la causa de las diferencias en la reacción con el colorante de Gram. Recordemos que en la tinción de Gram se forma un complejo insoluble entre el cristal violeta y el yodo en el interior de la célula. En las bacterias gramnegativas, este complejo se extrae con alcohol, pero no en las grampositivas (Sección 2.2). Como hemos visto, las bacterias grampositivas tienen una pared muy gruesa formada fundamentalmente por peptidoglicano. Durante la tinción de Gram, la pared celular grampositiva es deshidratada por el alcohol, que hace que los poros de las paredes se cierren e impide así que se escape el complejo insoluble de cristal violeta y yodo. En las bacterias gramnegativas, por el contrario, el alcohol penetra rápidamente a través de la membrana externa rica en lípidos y extrae el complejo cristal violeta-yodo de la célula. Después del tratamiento con alcohol, las células gramnegativas son prácticamente invisibles a menos que se vuelvan a teñir con un segundo colorante, un procedimiento estándar en la tinción de Gram (Figura 2.4).

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué componentes químicos se encuentran en la membrana externa de las bacterias gramnegativas?
- ¿Cuál es la función de las porinas y dónde están ubicadas en una pared celular gramnegativa?
- ¿Qué componente de la célula gramnegativa tiene propiedades de endotoxina?
- ¿Por qué el alcohol decolora rápidamente las bacterias gramnegativas, pero no las grampositivas?

2.12 La pared celular en *Archaea*

El peptidoglicano, un biomarcador clave de *Bacteria*, está ausente de la pared celular de las *Archaea*, y normalmente tampoco encontramos en ellas membrana externa. En cambio, cuentan con una amplia variedad de tipos de pared celular, que pueden contener polisacáridos, proteínas y glicoproteínas.

Pseudomureína y otras paredes de polisacáridos

La pared celular de ciertas *Archaea* metanógenas contiene una molécula con un parecido notable al peptidoglicano, un polisacárido llamado *pseudomureína* (el término «mureína» procede del latín y significa «pared», «muro», y es el término antiguo para peptidoglicano) (**Figura 2.30**). El esqueleto de la pseudomureína está formado por unidades repetitivas alternantes de *N*-acetilglucosamina (también presente en el peptidoglicano) y ácido *N*-acetiltalosaminurónico; este último sustituye al ácido *N*-acetilmurámico del peptidoglicano. La pseudomureína también se diferencia del peptidoglicano en que los enlaces glicosídicos entre los azúcares son β-1,3 en lugar de β-1,4, y los aminoácidos son todos estereoisómeros L (Figura 2.30). Se piensa que el peptidoglicano y la pseudomureína surgieron por evolución convergente después de que divergieran *Bacteria* y *Archaea* o, más probablemente, por evolución a partir de un polisacárido común presente en la pared celular del ancestro común de los dominios *Bacteria* y *Archaea*.

Las pareces celulares de otras *Archaea* carecen de pseudomureína y en su lugar tienen otros polisacáridos. Por ejemplo, las especies de *Methanosarcina* tienen una pared polisacarídica gruesa compuesta por polímeros de glucosa, ácido glucurónico, el ácido urónico de la galactosamina y acetato. Las *Archaea* halófilas extremas como *Halococcus*, que están emparentadas con *Methanosarcina*, tienen la pared celular similar, también muy sulfatada. Las cargas negativas del ion sulfato (SO_4^{2-}) se unen al Na^+ presente en los hábitats de *Halococcus* —estanques de evaporación de sal y mares y lagos salados— en grandes cantidades.

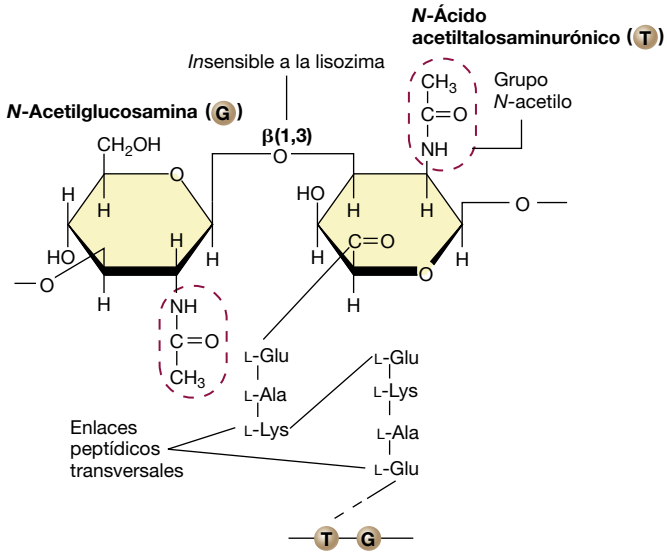


Figura 2.30 Pseudomureína. Estructura de la pseudomureína, el polímero de la pared celular de diversas especies de *Methanobacterium*. Pueden apreciarse las similitudes y diferencias entre la pseudomureína y el peptidoglicano (Figura 2.25).

El complejo sulfato-sodio ayuda a estabilizar la pared celular de *Halococcus* en estos ambientes tan iónicos.

Capas S

El tipo más habitual de pared celular en *Archaea* es la capa superficial paracristalina o **capa S**, formada por moléculas entrelazadas de proteínas o glicoproteínas (**Figura 2.31**). La estructura paracristalina de las capas S puede crear simetrías hexagonales, tetragonales o triméricas, en función del número y la clase de subunidades que la componen. Se han encontrado capas S en organismos de todos los linajes principales de *Archaea*, así como en algunas especies de *Bacteria* (Figura 2.31).

La pared celular de algunas *Archaea*, como el metanógeno *Methanocaldococcus jannaschii*, está formada solo por capa S. Por tanto, las capas S son lo suficientemente fuertes para resistir presiones osmóticas por sí solas. No obstante, en muchos organismos las capas S están presentes junto a otros componentes de pared, normalmente polisacáridos. Por ejemplo, en *Bacillus brevis*, una especie de *Bacteria*, hay una capa S junto con peptidoglicano. Sin embargo, cuando hay una capa S junto a otros componentes de la pared, aquella siempre es la capa *más externa*, la que está en contacto directo con el medio.

Además de servir como protección frente a la lisis osmótica, las capas S pueden cumplir otras funciones. Por ejemplo, como interfase entre la célula y su entorno, es probable que la capa S actúe de filtro selectivo, permitiendo el paso de solutos de bajo peso molecular y excluyendo las moléculas o estructuras más grandes (como los virus). La capa S también puede

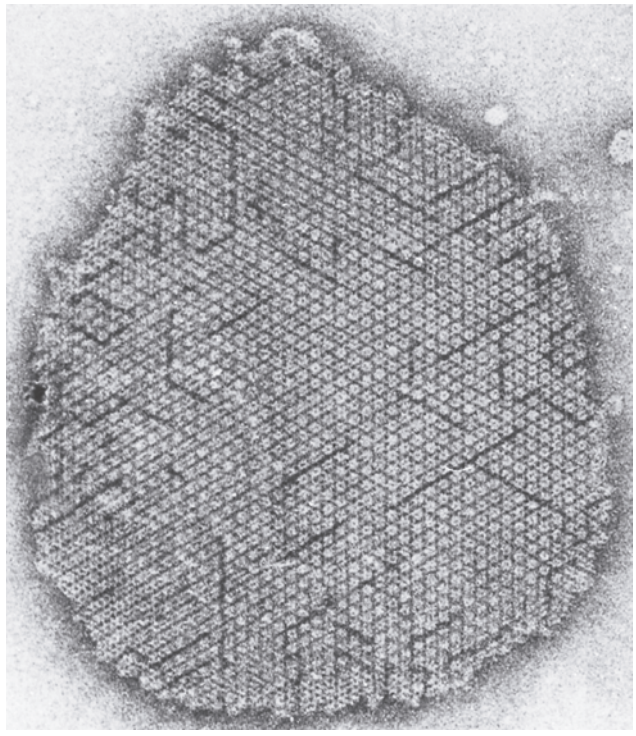


Figura 2.31 La capa S. Micrografía electrónica de transmisión de un fragmento de capa S en la que se muestra la estructura paracristalina. Se trata de la capa S de *Aquaspirillum* (una especie de *Bacteria*), y esta capa S presenta simetría hexagonal, habitual en las capas S de *Archaea*.

actuar reteniendo proteínas cerca de la superficie celular, en gran medida como lo hace la membrana externa (Sección 2.11) en las bacterias gramnegativas.

Como vemos, existen diferentes estructuras de pared en las especies de *Archaea*, desde las que se parecen mucho al peptidoglicano hasta las que carecen totalmente de polisacáridos. Pero, con raras excepciones, todas las *Archaea* poseen una pared celular de alguna clase y, como ocurre con las bacterias, la pared celular arqueana impide la lisis osmótica y le da a la célula su forma. Al carecer de peptidoglicano, las *Archaea* son resistentes de manera natural a las lisozimas (Figura 2.30) y a la penicilina, agentes que destruyen el peptidoglicano o interrumpen su biosíntesis (Sección 2.10).

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué se parecen la pseudomureína y el peptidoglicano? ¿En qué se diferencian?
- ¿Cuál es la composición de una capa S?
- ¿Por qué las *Archaea* son resistentes a la penicilina?

V • Otras estructuras superficiales e inclusiones celulares

Además de la pared celular, las células de las bacterias y las *Archaea* pueden tener otras capas o estructuras en contacto con el medio, y a menudo contienen uno o más tipos de inclusiones celulares. A continuación estudiaremos algunas de ellas.

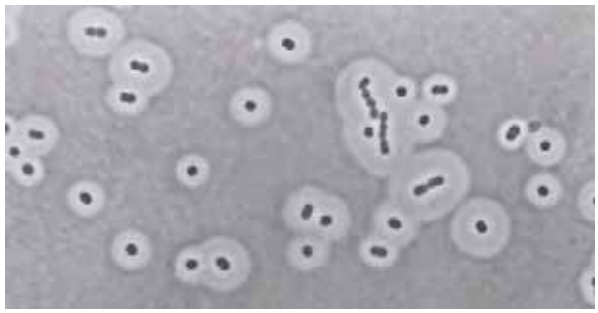
2.13 Estructuras de la superficie celular

Muchos procariotas secretan a la superficie celular materiales pegajosos o viscosos formados por polisacáridos o por proteínas. No se consideran parte de la pared porque no aportan una resistencia estructural significativa a la célula. Para describir estas capas se utilizan los términos «cápsula» y «capa mucosa».

Cápsulas y capas mucosas

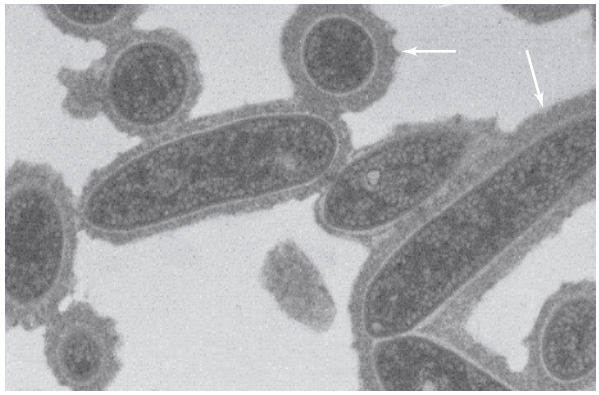
Los términos cápsula y capa mucosa suelen usarse indistintamente, pero en realidad no se refieren a lo mismo. Tradicionalmente, si la capa está organizada como una matriz tensa que impide el paso a las partículas pequeñas como la tinta china, recibe el nombre de **cápsula**. Esta estructura es visible fácilmente al microscopio óptico si se tratan las células con tinta china, y también se puede ver al microscopio electrónico (**Figura 2.32**). Si, por el contrario, la capa se deforma más fácilmente, no impide el paso de partículas y es más difícil de ver, entonces se llama *capa mucosa*. Normalmente, las cápsulas se adhieren con fuerza a la pared celular, e incluso se unen covalentemente al peptidoglicano. Las capas mucosas, por el contrario, se unen débilmente y se pueden separar de la superficie celular.

Las capas superficiales externas tienen varias funciones. Los polisacáridos de la superficie ayudan en la unión de los microorganismos a las superficies sólidas. Como veremos más adelante,



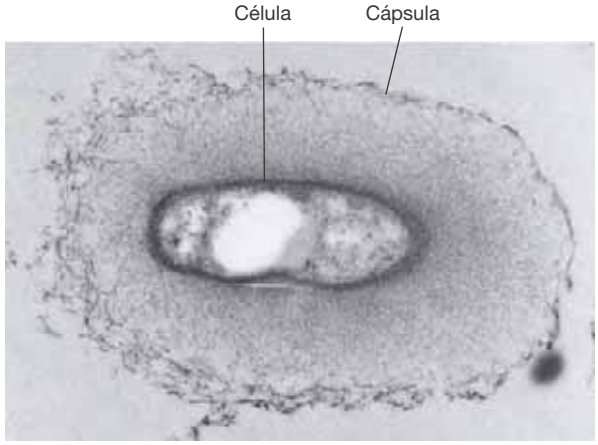
Elliot Juni

(a)



M.T. Madigan

(b)



Frank Dazzo and Richard Heinzen

(c)

Figura 2.32 Cápsulas bacterianas. *(a)* Cápsulas de *Acinetobacter* observadas por microscopía de contraste de fases tras tinción negativa con tinta china. La tinta china no atraviesa la cápsula, de manera que esta aparece como una zona clara alrededor de la célula, de color negro. *(b)* Micrografía electrónica de transmisión de una sección fina de células de *Rhodobacter capsulatus* con cápsulas (flechas) muy evidentes; las células tienen aproximadamente 0,9 µm de ancho. *(c)* Micrografía electrónica de transmisión de *Rhizobium trifolii* teñido con rojo de rutenio para poner de manifiesto la cápsula. La célula tiene unos 0,7 µm de ancho.

los microorganismos patógenos que entran en el cuerpo por rutas específicas suelen hacerlo uniéndose primero de manera específica a los componentes superficiales de los tejidos hospedadores; normalmente, esta unión está mediada por polisacáridos de la superficie de la célula bacteriana (↬ Sección 23.1). Cuando surge la oportunidad, las bacterias de todas clases suelen unirse a las superficies sólidas, a menudo formando una capa gruesa de células llamado *biofilm*. Los polisacáridos extracelulares tienen un papel muy importante también en el desarrollo y el mantenimiento de los biofilms.

Además de la fijación, estas capas de la superficie externa pueden tener otras funciones, entre ellas la de actuar como factores de virulencia en determinadas enfermedades bacterianas y la de impedir que las células se deshidraten. Por ejemplo, los agentes causantes del carbunco y de la neumonía bacteriana —*Bacillus anthracis* y *Streptococcus pneumoniae*, respectivamente— contienen ambos una gruesa cápsula, de proteínas en el caso de *B. anthracis* y de polisacáridos en el de *S. pneumoniae*. Las células encapsuladas de estas bacterias eluden su destrucción por parte del sistema inmunitario del hospedador porque las células inmunitarias, que de otro modo reconocerían a estos patógenos como extraños y los destruirían, son bloqueadas en su acción por la cápsula bacteriana. Además de esta función en las enfermedades, las capas superficiales de prácticamente cualquier tipo unen las moléculas de agua y probablemente protegen a la célula de la desecación en períodos de sequía.

Fimbrias y pelos

Las fimbrias y los pelos son proteínas filamentosas que se extienden desde la superficie de una célula y pueden tener muchas funciones. Las *fimbrias* (**Figura 2.33**) permiten a las células adherirse a las superficies, incluidos los tejidos animales en el caso de las bacterias patógenas, o formar películas (capas finas de células sobre una superficie líquida) o biofilms sobre superficies sólidas. Entre los patógenos humanos más conocidos en los que las fimbrias participan en el desarrollo de la enfermedad se encuentran especies de *Salmonella* (salmonelosis) y *Bordetella pertussis* (tos ferina).

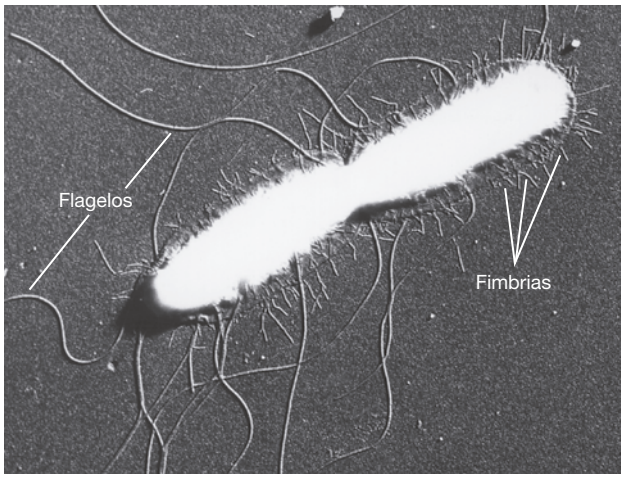


Figura 2.33 Fimbrias. Micrografía electrónica de una célula de *Salmonella typhi* en división en la que se muestran los flagelos y las fimbrias. Una célula individual tiene unos 0,9 µm de ancho.

Los **pelos** o **pili** son parecidos a las fimbrias, pero normalmente más largos y solo hay uno o unos pocos en la superficie de cada célula. Como los pelos pueden ser receptores de determinados tipos de virus, la mejor forma de verlos al microscopio electrónico es cuando están cubiertos de partículas víricas (**Figura 2.34**). Se conocen muchas clases de pelos, diferentes por estructura y función. Dos de las funciones principales de los pelos son facilitar el intercambio genético entre células en un proceso conocido como *conjugación*, y permitir la adherencia de patógenos a tejidos hospedadores específicos a los que posteriormente invaden. Esta última función ha sido estudiada sobre todo en patógenos gramnegativos como *Neisseria*, algunas de cuyas especies causan la gonorrea o la meningitis, pero los pelos están presentes también en algunos patógenos grampositivos como *Streptococcus pyogenes*, causante de la faringitis estreptocócica y de la escarlatina.

Una clase importante de pelos, llamados *pelos de tipo IV*, participan en la adhesión de las células, pero también son los responsables de una forma poco habitual de motilidad celular llamada *motilidad a tirones*. Los pelos de tipo IV están presentes únicamente en los polos de los bacilos que los contienen. La motilidad a tirones es un tipo de motilidad por deslizamiento que se realiza a lo largo de una superficie sólida (Sección 2.18). La extensión de los pelos seguida de su retracción arrastra a la célula por la superficie sólida, gracias a la energía suministrada por el ATP. Algunas especies de *Pseudomonas* y *Moraxella* son bien conocidas por su motilidad a tirones.

Los pelos de tipo IV también son factores de colonización fundamentales de ciertos patógenos humanos, como *Vibrio cholerae* (cólera) y *Neisseria gonorrhoeae* (gonorrea). Presumiblemente, la motilidad a tirones de estos patógenos ayuda al organismo a localizar sitios de unión específicos para iniciar el desarrollo de la enfermedad. También se cree que los pelos de tipo IV median en la transferencia genética mediante el proceso de transformación en algunas bacterias, que junto con la conjugación y la transducción son los tres métodos de transferencia genética horizontal conocidos en procariotas (Capítulo 10).

MINIRREVISIÓN

- ¿Podría una célula bacteriana vivir sin pared celular pero con cápsula? ¿Por qué sí o por qué no?
- ¿En qué se diferencian las fimbrias de los pelos, en cuanto a estructura y función?

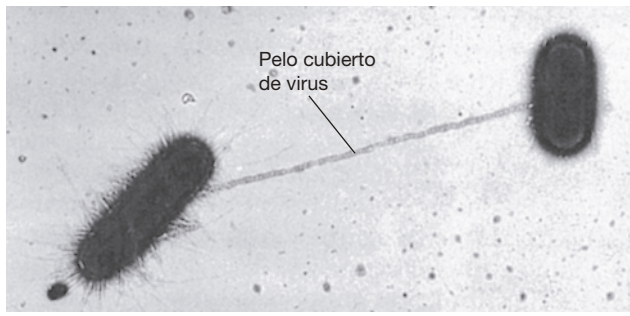


Figura 2.34 Pelos. Pelo de una célula de *Escherichia coli* en un proceso de conjugación (una forma de transferencia genética) con una segunda célula. Se ve mejor porque tiene virus adheridos a él. Las células tienen unos 0,8 µm de ancho.

2.14 Inclusiones celulares

Las células procariotas suelen presentar inclusiones. Las inclusiones actúan como reservas energéticas y reservorios de carbono, pero también pueden tener funciones especiales. A menudo se pueden ver directamente con el microscopio óptico, y suelen estar envueltas por una membrana de una sola capa (no unitaria) que deja la inclusión fuera de la célula. Almacenar carbono y otras sustancias en forma insoluble es una ventaja para las células, porque reduce el estrés osmótico que se produciría si la misma cantidad de sustancia estuviera disuelta en el citoplasma.

Polímeros de almacenamiento de carbono

Uno de los cuerpos de inclusión más comunes en los organismos procariotas es el **ácido poli-β-hidroxibutírico (PHB)**, un lípido que se forma a partir de unidades de ácido β-hidroxibutírico. Los monómeros del PHB se polimerizan mediante enlaces éster, y después el polímero se agrega en forma de gránulos, visibles al microscopio óptico y al microscopio electrónico (Figura 2.35).

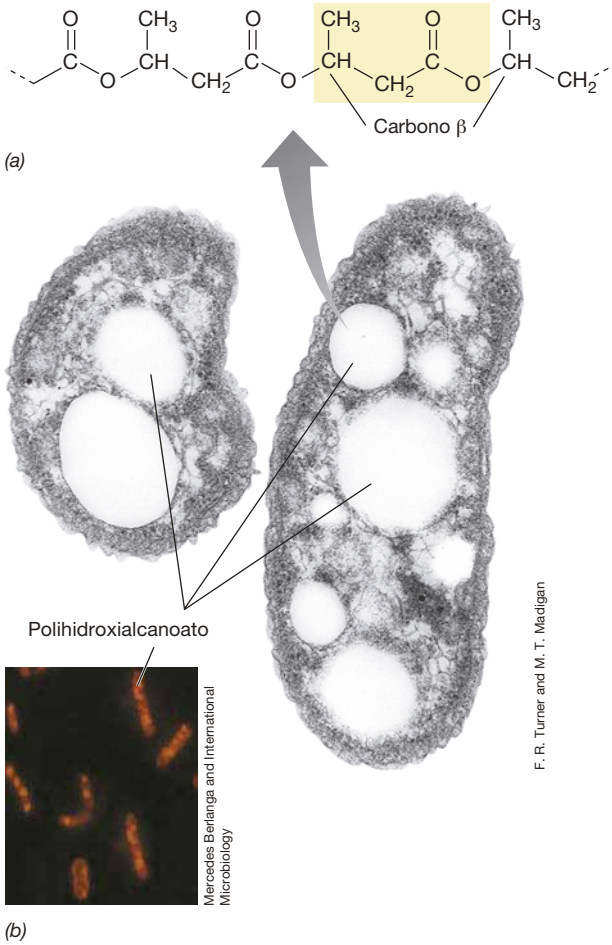


Figura 2.35 Poli-β-hidroxialcanoatos. *(a)* Estructura química del poli-β-hidroxibutirato, un PHA frecuente. Se muestra una unidad monomérica en color. Otros PHA se sintetizan sustituyendo el grupo —CH_3 del carbono β por hidrocarburos de cadena más larga. *(b)* Micrografía electrónica de una sección fina de células de una bacteria que contiene gránulos de PHB. Foto en color: Células de una bacteria que contiene PHB teñidas con rojo Nilo.

Los monómeros que forman el polímero suelen ser hidroxibutirato (C_4), pero pueden variar desde C_3 hasta C_{18}. Por eso, normalmente se utiliza en término genérico *poli-β-hidroxialcanoato* (PHA) para describir esta clase de polímeros de almacenamiento de carbono y energía. Los PHA son sintetizados por las células cuando tienen un exceso de carbono, y son degradados como fuentes de carbono o de energía cuando las condiciones lo exigen. Muchas bacterias y *Archaea* producen PHA.

Otro producto de almacenamiento es el *glucógeno*, que es un polímero de glucosa y, como los PHA, un depósito de carbono y energía que se sintetiza cuando hay exceso de carbono. El glucógeno se parece al almidón, la principal reserva de carbono de las plantas, pero los enlaces entre las unidades de glucosa son ligeramente diferentes.

Polifosfato, azufre y minerales de carbonato

Muchos microorganismos acumulan fosfato inorgánico (PO_4^{3-}) en forma de gránulos de *polifosfato* (Figura 2.36*a*). Estos gránulos pueden ser degradados y utilizados como fuentes de fosfato para la biosíntesis de ácidos nucleicos y de fosfolípidos, y

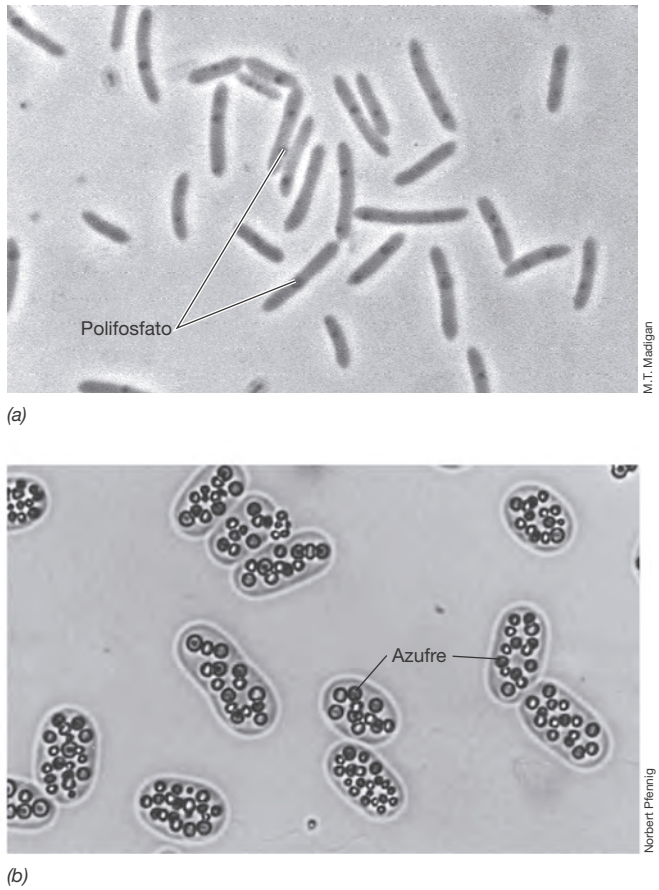


Figura 2.36 Productos de almacenamiento de polifosfato y azufre. *(a)* Micrografía de contraste de fases de células de *Heliobacterium modesticaldum* en las que se ve el polifosfato como gránulos oscuros; una célula tiene aproximadamente 1 µm de ancho. *(b)* Micrografía de campo claro de células de la bacteria roja del azufre *Isochromatium buderi*. Las inclusiones intracelulares son glóbulos de azufre formados por oxidación del sulfuro de hidrógeno (H_2S). Una célula tiene unos 4 µm de ancho.

algunos organismos los pueden usar directamente para sintetizar ATP, un compuesto rico en energía. El fosfato suele ser un nutriente limitante en ambientes naturales, de manera que si una célula tiene un exceso de fosfato, le resulta útil almacenarlo como polifosfato para usarlo más adelante.

Muchos procariotas gramnegativos pueden oxidar compuestos de azufre reducido, como el sulfuro de hidrógeno (H_2S); estos organismos son las «bacterias del azufre», descubiertas por el gran microbiólogo Sergei Winogradsky (↻ Sección 1.9). La oxidación del sulfuro está ligada a la necesidad de electrones para impulsar reacciones del metabolismo energético (quimiolitotrofia) o de fijación de CO_2 (autotrofia). En cualquier caso, el *azufre elemental* (S^0) procedente de la oxidación del sulfuro puede acumularse en la célula en gránulos visibles al microscopio (Figura 2.36*b*) que persisten mientras exista la fuente del azufre reducido. No obstante, cuando la fuente de azufre reducido se vuelve limitante, el azufre de los gránulos es oxidado a sulfato (SO_4^{2-}) y aquellos desaparecen lentamente a medida que procede la reacción. Es interesante observar que aunque los glóbulos de azufre parecen estar en el citoplasma, en realidad se encuentran en el periplasma (Sección 2.11). En estas células, el periplasma se expande hacia fuera para acomodar los glóbulos a medida que el H_2S es oxidado a S^0, y después se contrae cuando el S^0 es oxidado a SO_4^{2-}.

Las cianobacterias filamentosas (véase la Figura 2.55) son conocidas desde hace tiempo por su capacidad para formar minerales de carbonato en la superficie externa de sus células. No obstante, algunas cianobacterias también pueden formarlos *dentro* de la célula, como inclusiones celulares. Por ejemplo, la cianobacteria *Gleomargarita* forma gránulos intracelulares de benstonita, un mineral de carbonato que contiene bario, estroncio y magnesio (**Figura 2.37**). El proceso microbiológico de formación de minerales recibe el nombre de *biomineralización*. No está del todo claro por qué estas cianobacterias forman este mineral en concreto, pero podría servir a las células como lastre para mantenerlas en su hábitat, en las profundidades de un lago alcalino en México. Varios procariotas catalizan la biomineralización de diferentes minerales (↻ Sección 13.21), pero solo en el caso de *Gleomargarita* y los magnetosomas (que veremos a continuación) se han observado inclusiones intracelulares como resultado del proceso.

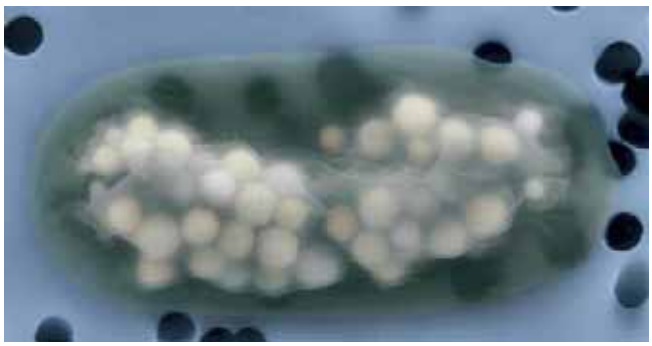


Figura 2.37 Biomineralización por una cianobacteria. Micrografía electrónica de una célula de la cianobacteria *Gleomargarita* que contiene gránulos del mineral benstonita [$(Ba,Sr,Ca)_6Mg(CO_3)_{13}$]. Una célula tiene unos 2 μm de ancho.

Inclusiones de almacenamiento magnéticas: magnetosomas

Algunas bacterias pueden orientarse en un campo magnético porque contienen **magnetosomas**. Estas estructuras son partículas intracelulares de magnetita (Fe_3O_4), mineral de óxido de hierro (**Figura 2.38**). En algunas bacterias magnetotácticas se forma el mineral de azufre greigita (Fe_3S_4). Tanto la magnetita como la greigita son minerales magnéticos. Los magnetosomas crean un dipolo magnético en las células, lo que les permite orientarse en un campo magnético. Las bacterias que producen magnetosomas presentan *magnetotaxia*, la propiedad de desplazarse a lo largo de las líneas magnéticas de la Tierra. Se han encontrado magnetosomas en varios organismos acuáticos que crecen mejor a bajas concentraciones de O_2. Así, se piensa que una de las funciones de los magnetosomas podría ser la de guiar a estas células fundamentalmente acuáticas hacia abajo (en la dirección del campo magnético de la Tierra), hacia los sedimentos en los que la concentración de O_2 es menor. Un productor de greigita es una bacteria reductora de sulfato, y estos organismos son anaerobios estrictos, de modo que es especialmente importante para estas especies magnetotácticas permanecer en zonas anóxicas.

Cada magnetosoma individual está rodeado por una fina membrana formada por fosfolípidos, proteínas y glicoproteínas

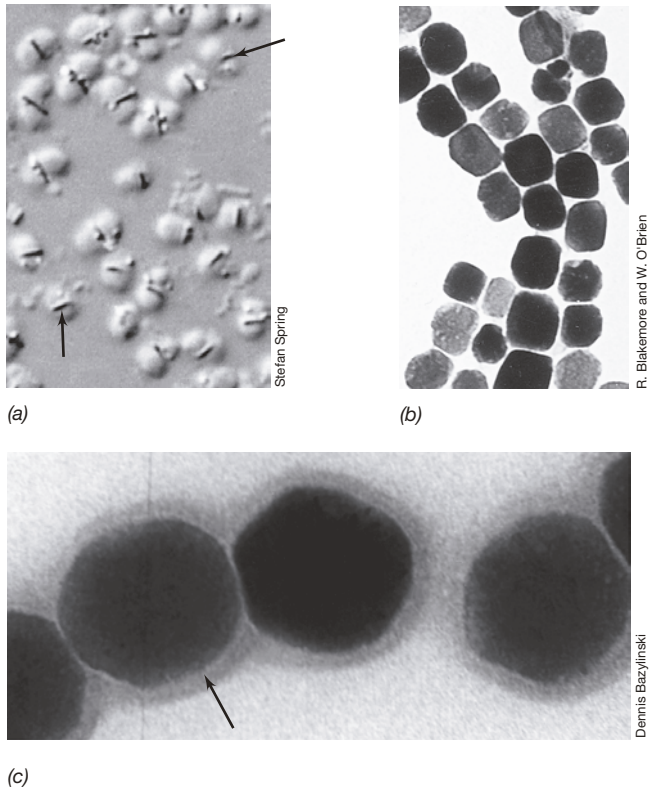


Figura 2.38 Bacterias magnetotácticas y magnetosomas. *(a)* Micrografía de contraste por interferencia diferencial de bacterias magnetotácticas cocoidales en la que se aprecian las cadenas de magnetosomas (flechas). Una célula tiene 2,2 μm de ancho. *(b)* Magnetosomas aislados de la bacteria magnetotáctica *Magnetospirillum magnetotacticum*; cada partícula mide unos 50 nm de ancho. *(c)* Micrografía electrónica de transmisión de magnetosomas de un coco magnético. La flecha señala la membrana que rodea cada magnetosoma. Un magnetosoma mide unos 90 nm de ancho.

(Figura 2.38*b, c*). Aunque esta membrana no es una verdadera unidad (una bicapa como la membrana citoplasmática), las proteínas de las membranas de los magnetosomas son funcionales y catalizan la precipitación de Fe^{3+} durante la síntesis de estos. Una membrana no unitaria similar rodea los gránulos de PHA y los glóbulos de azufre. La morfología de los magnetosomas parece ser específica de la especie, y su forma puede ser cuadrada, rectangular o puntiaguda. No se han descubierto todavía *Archaea* con magnetosomas.

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué condiciones esperaría que se sintetizara PHA o glucógeno?
- ¿Por qué es imposible que las bacterias grampositivas almacenen azufre como lo hacen los quimiolitótrofos gramnegativos que oxidan el azufre?
- ¿En qué se parecen y en qué se diferencian los magnetosomas y las inclusiones de *Gleomargarita*?

2.15 Vesículas de gas

Algunos procariotas son *planctónicos*, es decir, viven flotando en la columna de agua de los lagos y los océanos. Muchos organismos planctónicos pueden flotar porque contienen **vesículas de gas**, estructuras que confieren flotabilidad a las células y les permiten posicionarse en ubicaciones concretas en una columna de agua.

Los ejemplos más llamativos de bacterias con vesículas de gas son las cianobacterias que forman acumulaciones masivas llamadas *floraciones* en lagos y otras masas acuáticas (**Figura 2.39**). Las cianobacterias son bacterias fotótrofas oxigénicas (↬ Secciones 1.3, 13.4 y 14.3). Las células con vesículas de gas suben a la superficie del lago y son arrastradas por los vientos en grandes masas. Otros procariotas pertenecientes a *Bacteria* y a *Archaea*, fundamentalmente acuáticos, tienen también vesículas de gas; sin embargo, no se ha encontrado esta propiedad en eucariotas microbianos.


T. D. Brock

Figura 2.39 Cianobacterias flotantes. Flotación de cianobacterias con vesículas de gas que han desarrollado una floración en un lago de agua dulce. Lago Mendota, Madison (Wisconsin, EE. UU.).

Estructura de las vesículas de gas

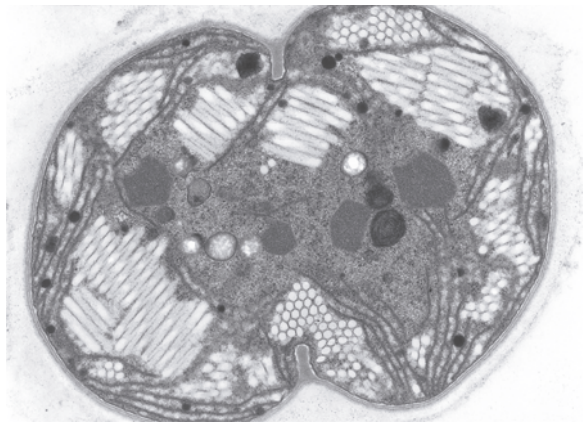
Las vesículas de gas son estructuras de forma cónica constituidas por proteínas. Son estructuras huecas pero rígidas, de longitud y diámetro variables (**Figura 2.40**). En especies diferentes, la longitud de las vesículas de gas varía desde unos 300 hasta más de 1.000 nm, y su anchura va de 45 a 120 nm, pero para una especie determinada el tamaño es constante. El número de vesículas puede variar de unas pocas a varios centenares por célula, y son impermeables al agua y a los solutos, pero permeables a los gases. La presencia de vesículas en las células se puede detectar por microscopía óptica, que muestra los grupos de vesículas, llamados *vacuolas*, como inclusiones irregulares brillantes (Figura 2.40*a*), o por microscopía electrónica de transmisión de secciones celulares finas (Figura 2.40*b*).

Las vesículas de gas están compuestas por dos proteínas diferentes. La proteína principal, llamada *GvpA*, es pequeña, hidrófoba y muy rígida, y forma la cubierta impermeable de la vesícula. Las moléculas de GvpA se alinean para formar una especie de nervios paralelos. La rigidez es esencial para que la estructura resista la presión ejercida desde el exterior. La proteína minoritaria, *GvpC* refuerza la cubierta de la vesícula de gas mediante entrecruzamientos y uniones a los nervios formando ángulo para mantener unidas varias moléculas de GvpA (**Figura 2.41**).

La composición y la presión del gas en el interior de una vesícula son las existentes en el medio en que está suspendido el organismo; sin embargo, la densidad de una vesícula de gas


A. E. Walsby

(a)


S. Pellegrini and M. Grilli Caiola

(b)

Figura 2.40 Vesículas de gas de las cianobacterias *Anabaena* y *Microcystis*. *(a)* Micrografía de contraste de fases de *Anabaena*; grupos de vesículas de gas forman vacuolas de gas que se observan en fase clara (flechas). *(b)* Micrografía electrónica de transmisión de *Microcystis*; las vesículas de gas se disponen en forma de haces, que se observan longitudinalmente y en corte transversal. Ambas células miden unos 5 μm de ancho.

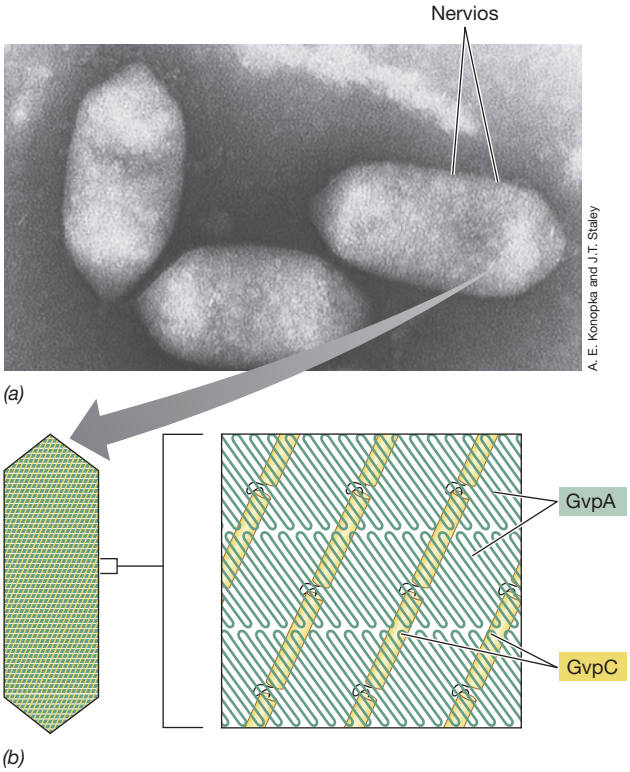


Figura 2.41 **Arquitectura de las vesículas de gas.** *(a)* Micrografía electrónica de transmisión de vesículas de gas purificadas de la bacteria *Ancylobacter aquaticus* y examinadas en preparaciones de tinción negativa. Cada vesícula tiene un diámetro aproximado de 100 nm. *(b)* Modelo de interacción de las proteínas que forman una vesícula de gas, GvpA y GvpC, para formar una estructura impermeable al agua pero permeable al gas. GvpA, una lámina β, forma los nervios, y GvpC, con estructura de hélice α, actúa como elemento de entrecruzamiento.

hinchada es solo una décima parte a la de la propia célula, de modo que las vesículas de gas hinchadas disminuyen la densidad total de la célula y aumentan su flotabilidad; después, cuando las vesículas se colapsan, la flotabilidad se pierde. Los procariotas fotótrofos se benefician especialmente de este sistema porque les permite ajustar su posición vertical en la columna de agua para hundirse o subir a regiones en las que las condiciones (por ejemplo la intensidad de la luz) son óptimas para la fotosíntesis.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué gas se encuentra en una vesícula de gas? ¿En qué beneficia a una célula poder controlar su flotabilidad?
- ¿Cómo se disponen las dos proteínas que conforman una vesícula de gas, GvpA y GvpC, para formar una estructura tan impermeable?

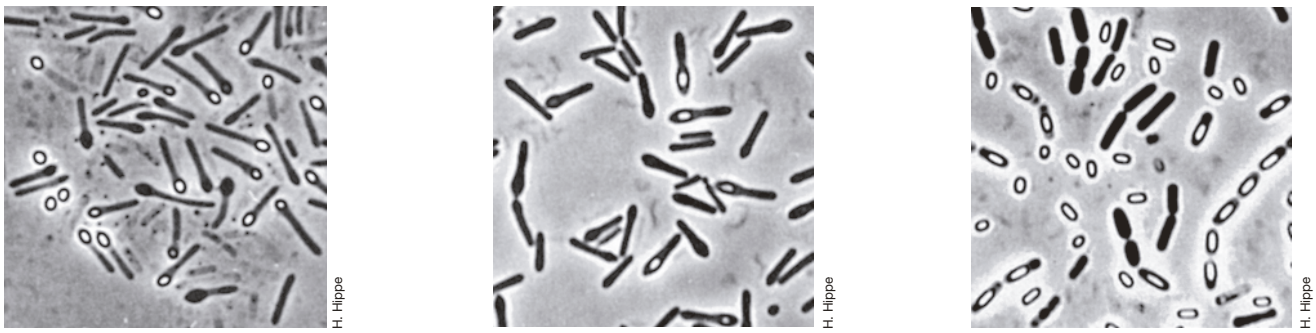
2.16 Endosporas

Algunas especies de *Bacteria* producen estructuras llamadas **endosporas** (Figura 2.42) durante un proceso denominado *esporulación*. Las endosporas (el prefijo *endo* significa «interior») son células muy diferenciadas extremadamente resistentes al calor, a las sustancias químicas agresivas y a la radiación. Son estructuras de supervivencia y permiten al organismo soportar condiciones de crecimiento desfavorables, entre otras temperaturas extremas, la sequedad o la carencia de nutrientes. Así, las endosporas pueden considerarse la etapa durmiente del ciclo vital de una bacteria: célula vegetativa → endospora → célula vegetativa. Además, son dispersadas con facilidad por el viento, por el agua o en el intestino de los animales. Las bacterias que forman endosporas se encuentran habitualmente en el suelo, y las mejor estudiadas son las especies del género *Bacillus*.

Formación de endosporas y germinación

Durante la formación de una endospora, una célula vegetativa se convierte en una estructura inerte, resistente al calor y refractante a la luz (Figura 2.43). Las células no esporulan cuando están creciendo activamente; lo hacen solamente cuando el crecimiento cesa a causa del agotamiento de un nutriente esencial. Así, las células de *Bacillus*, una bacteria formadora de esporas típica, detienen su crecimiento vegetativo y empiezan a esporular cuando, por ejemplo, un nutriente fundamental como el carbono o el nitrógeno se convierte en un factor limitante.

Una endospora puede permanecer en reposo durante años, pero puede revertir a célula vegetativa rápidamente. Este proceso consta de tres pasos: *activación*, *germinación* y *crecimiento* (Figura 2.44). La activación se produce cuando se calientan las endosporas durante varios minutos a una temperatura elevada pero subletal. En esas condiciones las endosporas quedan activadas para germinar cuando se les suministren determinados nutrientes, como ciertos aminoácidos. La germinación, que es



(a) **Endosporas terminales** *(b)* **Endosporas subterminales** *(c)* **Endosporas centrales**

Figura 2.42 **Las endosporas bacterianas.** Micrografías de contraste de fases que ilustran la morfología y la localización intracelular de las endosporas en diferentes especies de bacterias. En la microscopía de contraste de fases las endosporas se ven brillantes

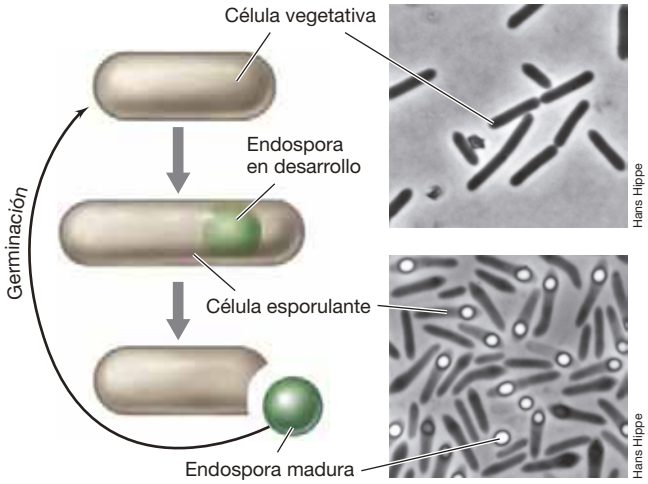


Figura 2.43 **Ciclo vital de una bacteria formadora de endosporas.** Las micrografías de contraste de fases muestran células de *Clostridium pascui*. Cada célula tiene unos 0,8 µm de ancho.

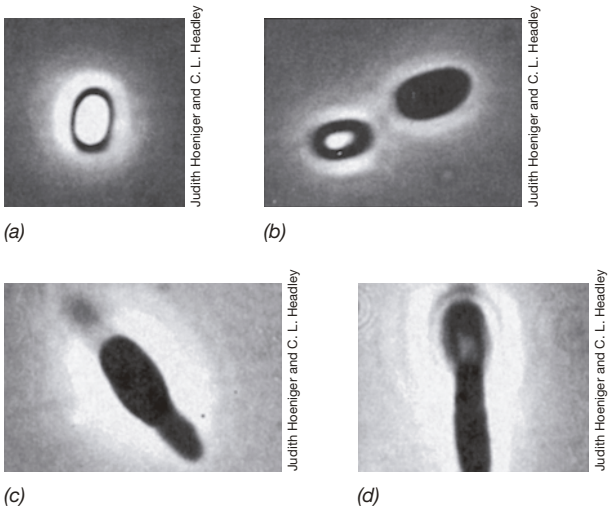


Figura 2.44 **Germinación de endosporas en *Bacillus*.** Conversión de una endospora en una célula vegetativa. La serie de micrografías de contraste de fases muestra la secuencia del proceso que empieza en *(a)* una endospora libre muy refringente. *(b)* Activación: se está perdiendo la refringencia. *(c, d)* Crecimiento: emergencia de una nueva célula vegetativa.

normalmente un proceso rápido (del orden de minutos) implica pérdida de refringencia de la endospora, aumento de la capacidad de tinción por colorantes y pérdida de la resistencia al calor y las sustancias químicas. La etapa final, el crecimiento, se caracteriza por un hinchamiento visible debido a la captación de agua y por la síntesis de RNA, proteínas y DNA. La célula vegetativa emerge de la endospora rota, empieza a crecer y mantiene su crecimiento vegetativo hasta que las señales ambientales vuelven a desencadenar la esporulación.

Estructura de la endospora

Las endosporas son visibles al microscopio óptico como estructuras fuertemente refractantes (Figura 2.42). Como son impermeables a la mayoría de los colorantes, en ocasiones se han visto como regiones sin teñir en el interior de células teñidas con colorantes básicos como el azul de metileno. Para teñir endosporas es necesario utilizar colorantes y procedimientos especiales. En el protocolo clásico de tinción de endosporas se utiliza el colorante verde malaquita, que se introduce en la espora por infusión con vapor.

Al microscopio electrónico, la estructura de la endospora difiere enormemente a la de la célula vegetativa (**Figura 2.45**). La endospora contiene muchas capas que no están en la célula vegetativa. La capa más externa es el *exosporio*, una cobertura proteica fina. Hacia el interior se observan varias capas de *cubierta*, o *cutícula*, formadas por proteínas específicas de la espora (Figura 2.45*b*). Por debajo de la cubierta está el *córtex*, formado por peptidoglicano con entrecruzamientos laxos, y en el interior del córtex encontramos el *núcleo*, constituido por la pared, la membrana citoplasmática, el citoplasma, el nucleoide, los ribosomas y otros orgánulos celulares esenciales. Así pues, la endospora se diferencia estructuralmente de la célula vegetativa sobre todo en el tipo de estructuras que tiene en el exterior de la pared del núcleo.

Un compuesto químico encontrado en las endosporas pero ausente de las células vegetativas es el **ácido dipicolínico** (**Figura 2.46**), que se acumula en el núcleo. Las endosporas también contienen grandes cantidades de calcio (Ca^{2+}), la mayor

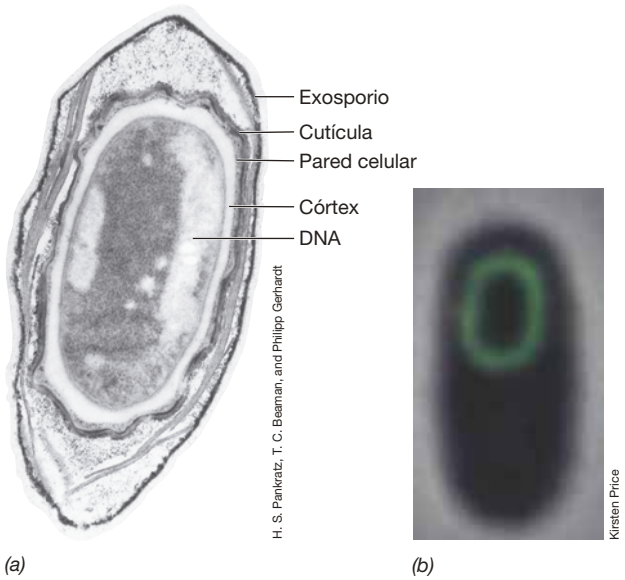


Figura 2.45 **Estructura de una endospora bacteriana.** *(a)* Micrografía electrónica de transmisión de un corte fino de una endospora de *Bacillus megaterium*. *(b)* Micrografía de fluorescencia de una célula de *Bacillus subtilis* en proceso de esporulación. El color verde es un colorante específico para una proteína que aparece en la cutícula durante la esporulación.

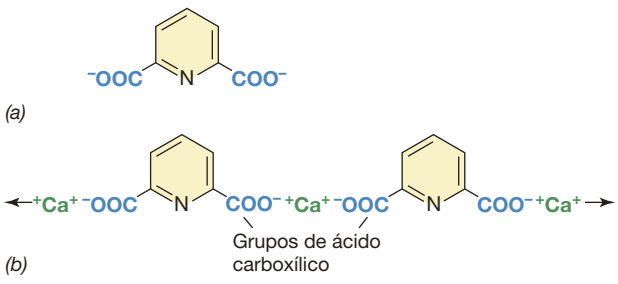


Figura 2.46 **Ácido dipicolínico (DPA).** *(a)* Estructura del DPA. *(b)* Entrecruzamientos de las moléculas de DPA con Ca^{2+} formando un complejo.

parte formando complejos con el ácido dipicolínico (Figura 2.46*b*). El complejo calcio-ácido dipicolínico representa cerca del 10 % del peso seco de la endospora y capta el agua libre del interior de la endospora, lo que contribuye a su deshidratación. Además, el complejo se introduce entre las bases del DNA y favorece su estabilidad frente a la desnaturalización por calor.

El núcleo de la endospora se diferencia significativamente del citoplasma de la célula vegetativa de la que procede. El núcleo de una endospora contiene menos de una cuarta parte del agua que se encuentra en una célula vegetativa, de manera que su citoplasma tiene la consistencia de un gel. La deshidratación del núcleo aumenta en gran medida la resistencia al calor de las macromoléculas de su interior. Algunas endosporas bacterianas sobreviven a temperaturas de hasta 150 °C, aunque a 121 °C, el estándar de esterilización microbiológica (la temperatura del autoclave son 121 °C, ↻ Sección 5.17), las endosporas de la mayoría de las especies mueren. Se ha observado que la deshidratación también confiere resistencia a las sustancias químicas tóxicas, como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), e inactiva los enzimas del núcleo. Además del bajo contenido en agua de la endospora, el pH del núcleo es aproximadamente una unidad inferior al del citoplasma de la célula vegetativa.

El núcleo de la endospora contiene grandes cantidades de *pequeñas proteínas solubles en ácido* (SASP). Estas proteínas se sintetizan únicamente durante el proceso de esporulación, y tienen al menos dos funciones. Las SASP se unen con fuerza al DNA en el núcleo y lo protegen del daño potencial de la radiación ultravioleta, la desecación y el calor seco. La resistencia a la radiación ultravioleta se adquiere porque las SASP cambian la estructura molecular del DNA de la forma normal «B» a la «A», más compacta. El DNA en forma A es más resistente a la formación de dímeros de pirimidina por radiación UV, que pueden provocar mutaciones (↻ Sección 10.4), y resiste los efectos desnaturalizantes del calor seco. Además, las SASP actúan como fuentes de carbono y de energía para el crecimiento de una nueva célula vegetativa a partir de la endospora durante la germinación.

El ciclo de esporulación

La esporulación es un ejemplo de diferenciación celular (↻ Figura 1.3). Durante la conversión de célula con crecimiento vegetativo a célula esporulante se producen muchos cambios dirigidos genéticamente. En la **Figura 2.47** se muestran los cambios estructurales en las células esporulantes de *Bacillus*. La esporulación se puede dividir en varias etapas. En *Bacillus subtilis*, que se ha estudiado en detalle, dura unas 8 horas y empieza con una división celular asimétrica (Figura 2.47). Estudios genéticos de mutantes de *Bacillus*, cada uno bloqueado en una de las etapas de la esporulación, muestran que existen más de 200 genes específicos de las esporas.

Para el proceso de esporulación es necesaria la síntesis diferencial de proteínas. Esto se consigue mediante la activación de varias familias de genes específicos de las esporas y la desactivación de muchas funciones de la célula vegetativa. Las proteínas codificadas por genes específicos de la esporulación catalizan la serie de procesos que llevan de la célula vegetativa húmeda y metabólicamente activa a la endospora relativamente seca, metabólicamente inerte, pero muy resistente (**Tabla 2.3**). En la Sección 7.11 examinaremos algunos de los procesos moleculares que tienen lugar durante la esporulación.

Diversidad y aspectos filogenéticos de la formación de endosporas

Cerca de 20 géneros de *Bacteria* forman endosporas, aunque el proceso se ha estudiado en detalle en solo unas pocas especies de *Bacillus* y *Clostridium*. No obstante, la mayor parte de los secretos subyacentes a la biología de las esporas, como la formación de complejos de dipicolinato cálcico y la producción de SASP específicas de endosporas, parecen ser universales. Desde un punto de vista filogenético, la capacidad para producir endosporas se encuentra únicamente en un sublinaje concreto de las bacterias grampositivas. Aun así, la fisiología de las distintas bacterias formadoras de endosporas es muy variada, e incluye anaerobios, aerobios, fotótrofos y quimiolitótrofos. A la luz de su diversidad fisiológica, los desencadenantes reales para la formación de endosporas pueden variar entre especies y podrían incluir otras señales además del simple agotamiento de los nutrientes, que es el principal desencadenante de la formación de endosporas en *Bacillus*. No se han encontrado *Archaea* formadoras de endosporas, lo que sugiere que la capacidad para producir endosporas se habría originado después de que los linajes procarióticos divergieran, hace unos 3.500 millones de años (↻ Figura 1.4*b*).

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué es el ácido dipicolínico y dónde se encuentra?
- ¿Qué son las SASP y qué función tienen?
- ¿Qué se forma cuando germina una endospora?

Tabla 2.3 Diferencias entre las endosporas y las células vegetativas

Característica	*Célula vegetativa*	*Endospora*
Aspecto microscópico	No refringente	Refringente
Contenido en calcio	Bajo	Alto
Ácido dipicolínico	Ausente	Presente
Actividad enzimática	Alta	Baja
Tasa de respiración	Alta	Baja o nula
Síntesis de macromoléculas	Presente	Nula
Resistencia al calor	Baja	Alta
Resistencia a la radiación	Baja	Alta
Resistencia a productos químicos	Baja	Alta
Lisozima	Sensible	Resistente
Contenido de agua	Alto, 80-90 %	Bajo, 10-25 % en el núcleo
Proteínas pequeñas solubles en ácido	Ausentes	Presentes

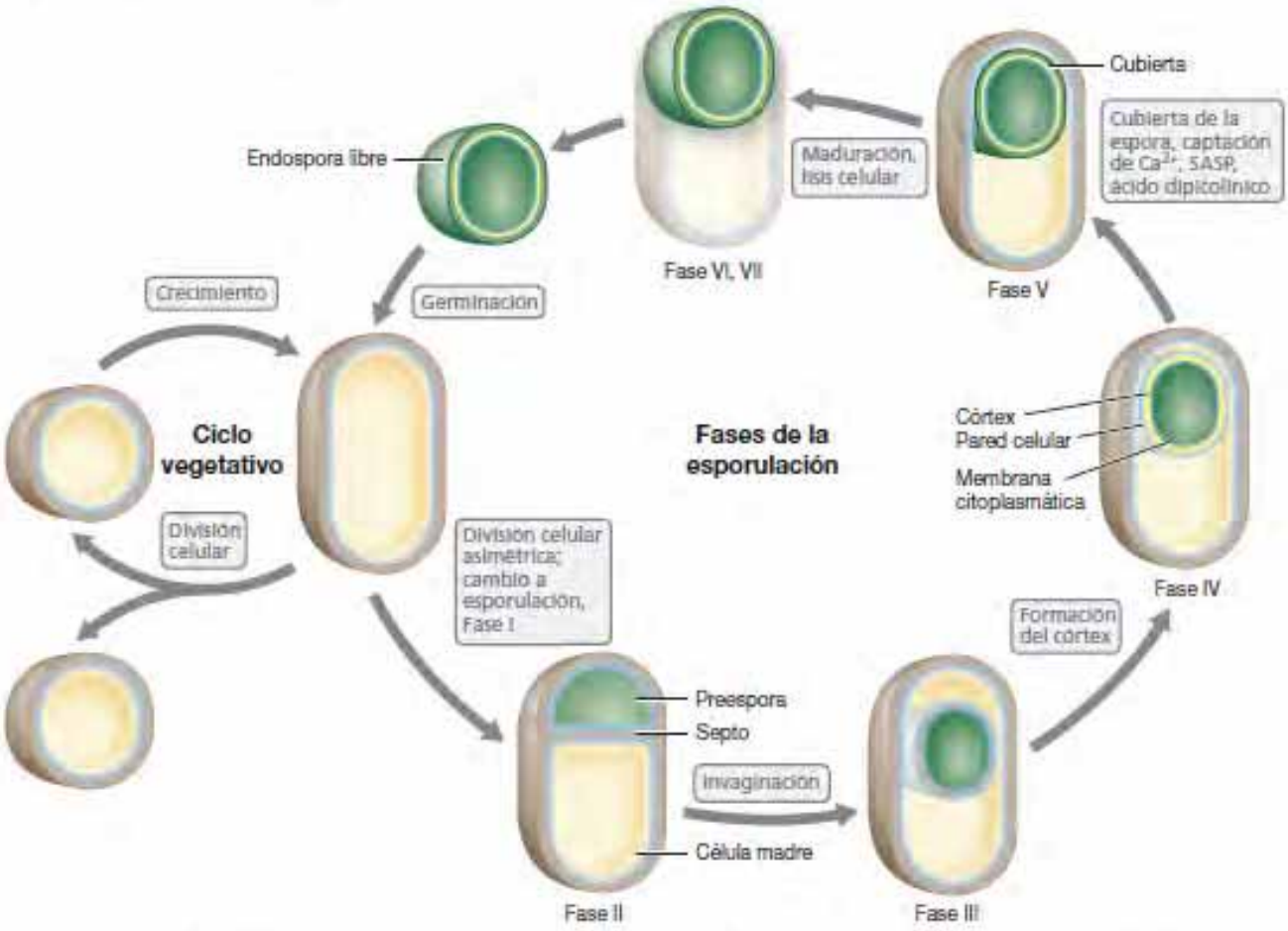


Figura 2.47 **Fases de la formación de una endospora.** Las fases se han definido a partir de análisis genéticos y microscópicos de esporulación en *Bacillus subtilis*, el organismo modelo para los estudios de esporulación.

VI • El movimiento microbiano

Terminamos nuestro estudio de la estructura y el funcionamiento de los procariotas examinando el movimiento celular. Muchas células microbianas pueden moverse por sí solas. La motilidad permite a las células llegar a distintas partes de su entorno, y en la naturaleza, el movimiento puede aportar nuevas oportunidades y recursos para una célula y marcar la diferencia entre la vida y la muerte.

Analizaremos los dos tipos principales de movimiento celular eucariótico, la *natación* y el *deslizamiento*. A continuación estudiaremos cómo pueden, las células móviles, desplazarse de manera dirigida hacia estímulos concretos, o escapar de ellos (fenómenos llamados *taxias*) y daremos ejemplos de estas sencillas respuestas de comportamiento.

2.17 Los flagelos y la motilidad natatoria

Muchos procariotas pueden moverse nadando gracias a una estructura llamada **flagelo** (Figura 2.48). El flagelo funciona tirando de la célula o empujándola en un medio líquido.

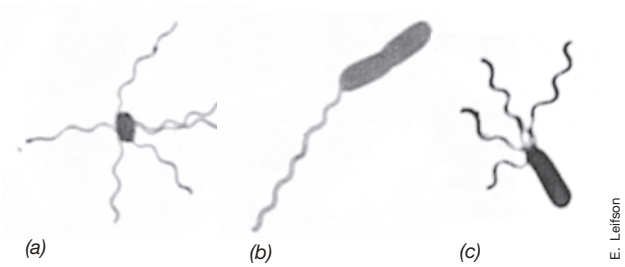
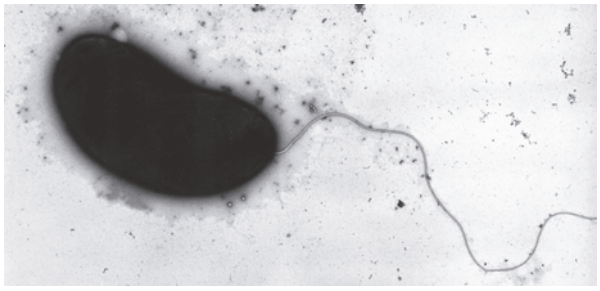


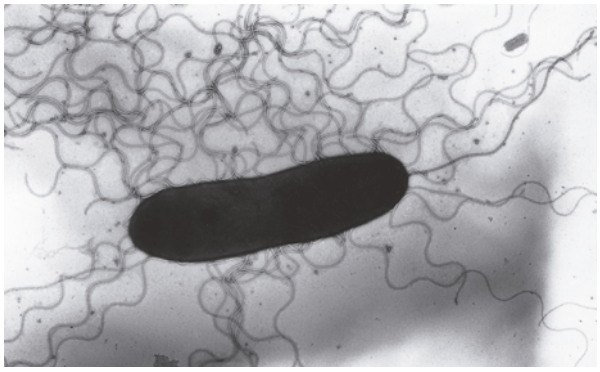
Figura 2.48 **Flagelos bacterianos.** Micrografías ópticas de bacterias con diferentes disposiciones de flagelos, tomadas por Einar Leifson. Las células están teñidas con el colorante para flagelos de Leifson. *(a)* Perítrica. *(b)* Polar. *(c)* Lofótrica.

Flagelos de *Bacteria*

Los flagelos bacterianos son apéndices finos y largos, libres en un extremo y unidos a la célula por el otro. Son tan finos (entre 15 y 20 nm, según la especie) que uno solo no puede verse en el microscopio óptico a menos que esté teñido para aumentar su diámetro (Figura 2.48). En cambio, en el microscopio electrónico se ven sin problemas (Figura 2.49).



(a)



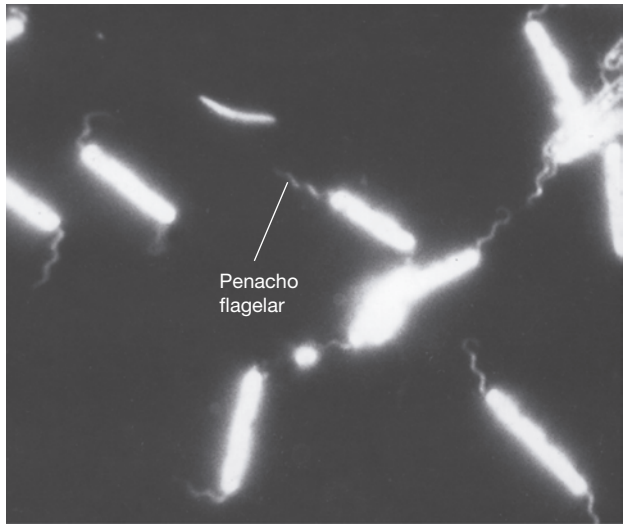
(b)

Figura 2.49 Flagelos bacterianos observados mediante tinción negativa en el microscopio electrónico de transmisión. *(a)* Un solo flagelo polar. *(b)* Flagelos perítricos. Ambas micrografías son de células de la bacteria fotótrofa *Rhodospirillum centenum*, de 1,5 µm de ancho. Las células de *R. centenum* suelen tener flagelos polares, pero en determinadas condiciones de crecimiento forman flagelos perítricos. Véase en la Figura 2.59*b* una foto de colonias de células de *R. centenum* que se mueven en un gradiente creciente de luz (fototaxia).

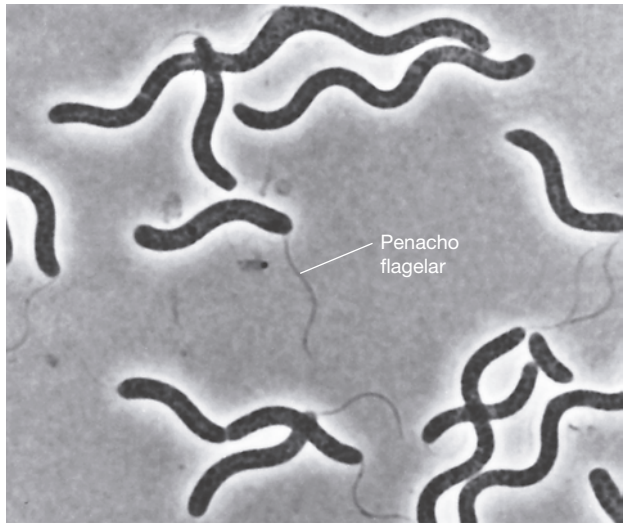
Los flagelos pueden estar unidos a las células en diferentes sitios. En la **flagelación polar**, los flagelos se unen a uno o ambos extremos de una célula. En ocasiones, de un extremo de la célula puede salir un *penacho* de flagelos, un tipo de flagelación llamada *lofótrica* (Figura 2.48*c*). Normalmente los penachos de flagelos se pueden ver en células sin teñir por microscopía de campo oscuro o de contraste de fases (Figura 2.50). Cuando de ambos extremos de una célula emerge un penacho de flagelos, la flagelación se llama *anfítrica*. En la **flagelación peritrica** (Figuras 2.48*a* y 2.49*b*), los flagelos se insertan en muchos sitios alrededor de la superficie celular. El tipo de flagelación —polar o peritrica— es una característica que se utiliza para la clasificación de las bacterias.

Estructura flagelar

Los flagelos no son rectos, sino helicoidales. Al aplanarlos, presentan una distancia constante entre giros adyacentes, llamada *longitud de onda*, que es característica para los flagelos de cada especie. El filamento de un flagelo bacteriano está formado por muchas copias de una proteína llamada *flagelina*. La forma y la longitud de onda del flagelo están determinadas en parte por la estructura de la flagelina y también, en cierto modo, por la dirección de rotación del filamento. La secuencia de aminoácidos de la flagelina está altamente conservada en las especies de *Bacteria*, lo que sugiere que la motilidad flagelar se originó hace mucho tiempo y tiene raíces muy profundas en este dominio.



(a)



(b)

Figura 2.50 Flagelos bacterianos observados en células vivas. *(a)* Micrografía de campo oscuro de un grupo de bacilos grandes con penachos flagelares en ambos polos (flagelación anfítrica). Cada célula tiene unos 2 µm de ancho. *(b)* Micrografía de contraste de fases de células de la gran bacteria roja fotótrofa *Rhodospirillum photometricum* con un penacho de flagelos lofótricos que emanan de uno de los polos. Cada célula mide unos 3 × 30 µm.

Un flagelo está formado por varios componentes y se mueve por rotación, al igual que el propulsor del motor de una lancha. La base del flagelo es estructuralmente diferente del filamento. En la base del filamento hay una región más ancha llamada *gancho*. El gancho está formado por un solo tipo de proteína y conecta el filamento al motor del flagelo, en la base (Figura 2.51).

El motor del flagelo se encuentra anclado en la membrana citoplasmática y la pared celular. Consiste en un cilindro central que atraviesa una serie de anillos. En las bacterias gramnegativas, un anillo exterior, el *anillo L*, está anclado en la capa de lipopolisacárido. Hay un segundo anillo, el *anillo P*, anclado en la capa de peptidoglicano de la pared celular. Un tercer grupo de anillos,

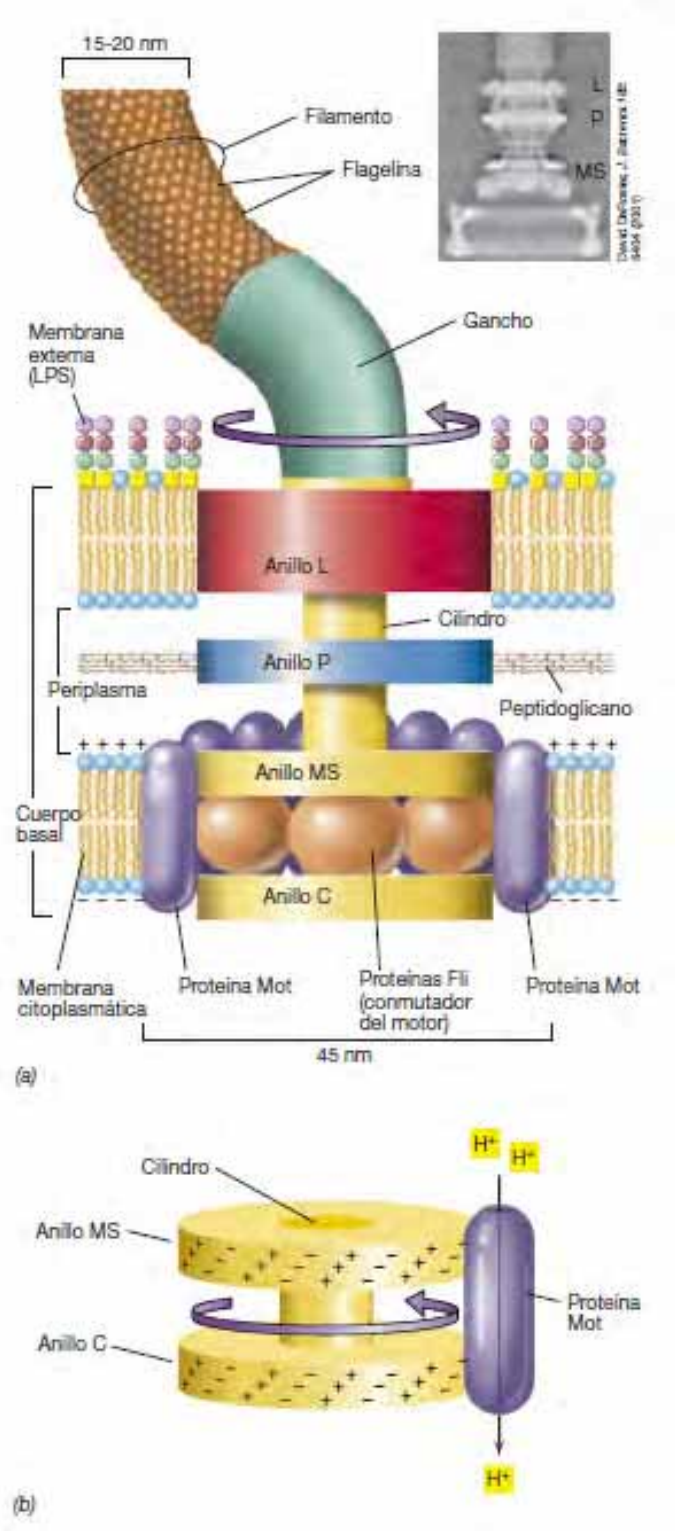


Figura 2.51 Estructura y funcionamiento del flagelo de las bacterias gramnegativas. *(a)* Estructura: el anillo L se encuentra embebido en el LPS, y el anillo P en el peptidoglicano. El anillo MS está embebido en la membrana citoplasmática, y el anillo C en el citoplasma. En el cilindro y el filamento hay un estrecho canal a través del cual se difunden las moléculas de flagelina hasta alcanzar el sitio de síntesis flagelar. Las proteínas Mot actúan de motor flagelar, y las proteínas Fli, de conmutador del motor. El motor flagelar rota el filamento para impulsar la célula a través del medio. Inserción: Micrografía electrónica de transmisión de un cuerpo basal flagelar de *Salmonella enterica* con los distintos anillos identificados. *(b)* Funcionamiento: se ha propuesto un modelo de «turbina protónica» para explicar la rotación del flagelo. Los protones, que fluyen a través de las proteínas Mot, ejercen fuerzas sobre las cargas presentes sobre los anillos C y MS y hacen girar el rotor.

llamados *anillos MS* y *C*, están situados en la membrana citoplasmática y el citoplasma, respectivamente (Figura 2.51*a*). Las bacterias grampositivas, que carecen de membrana externa, solo presentan el par de anillos interiores. Rodeando el anillo interior y ancladas a la membrana citoplasmática hay una serie de proteínas llamadas *proteínas Mot*. Por último, hay otro grupo de proteínas, llamadas *proteínas Fli* (Figura 2.51*a*), que funcionan como un conmutador del motor flagelar, cambiando el sentido de la rotación de los flagelos en respuesta a las señales intracelulares.

Movimiento flagelar

El flagelo es un pequeño motor de rotación. Los motores de rotación están formados por dos componentes principales: el *rotor* y el *estator*. En el motor flagelar, el rotor consta de un cilindro central y los anillos L, P, C y MS. En conjunto, estas estructuras constituyen el **cuerpo basal**. El estator está formado por las proteínas Mot que rodean el cuerpo basal y actúan generando un par de torsión.

La rotación del flagelo está impulsada por el cuerpo basal. La energía necesaria para la rotación del flagelo procede de la fuerza protonmotriz (Sección 2.8). El movimiento protónico a través de la membrana citoplasmática por medio del complejo Mot impulsa la rotación del flagelo; es necesario el paso de unos 1.000 protones para generar una rotación. En la Figura 2.51*b* se muestra cómo funciona el sistema. En este modelo de turbina protónica, los protones que fluyen a través de los canales de las proteínas Mot ejercen fuerzas electrostáticas en cargas dispuestas de forma helicoidal sobre las proteínas del rotor. La atracción entre las cargas positivas y las negativas hace que el cuerpo basal rote a medida que los protones fluyen a través de las proteínas Mot.

Flagelos arqueanos

Al igual que en *Bacteria*, la motilidad flagelar está muy extendida entre las especies del dominio *Archaea*; los principales géneros de metanógenos, halófilos extremos, termoacidófilos e hipertermófilos (↻ Figura 1.6*b*) tienen todos motilidad natatoria. Los flagelos arqueanos tienen un diámetro de entre 10 y 13 nm, que es aproximadamente la mitad del de las bacterias (**Figura 2.52**), pero aportan movimiento a la célula por rotación, al igual que ellos. No obstante, a diferencia de los flagelos bacterianos, en los que el filamento flagelar está constituido por un solo tipo de proteína, en *Archaea* se conocen varios tipos de flagelinas diferentes, y la secuencia de sus aminoácidosa y los genes que las codifican guardan poca relación con los de la flagelina bacteriana.

Los estudios de las células natatorias del halófilo extremo *Halobacterium* muestran que nada a una velocidad diez veces menor que las células de *Escherichia coli*. Se desconoce si se trata de una velocidad generalizada entre todas las *Archaea*, pero el diámetro significativamente menor del flagelo arqueano respecto del bacteriano reduciría naturalmente el par de torsión y la potencia del motor flagelar, de manera que no resulta sorprendente que la velocidad de natación sea menor. Además, a partir de experimentos bioquímicos



Figura 2.52 **Flagelos arqueanos.** Micrografía electrónica de transmisión de flagelos aislados del metanógeno *Methanococcus maripaludis*. Cada flagelo mide unos 12 nm de ancho.

con *Halobacterium* se desprende que los flagelos arqueanos están impulsados directamente por ATP en lugar de por la fuerza protonmotriz, la fuente de energía de los flagelos bacterianos (Figura 2.51*b*). Si esto es así para los flagelos de todas las *Archaea*, significaría que los motores flagelares de *Archaea* y *Bacteria* utilizan mecanismos de acoplamiento de energía fundamentalmente diferentes. Esto, combinado con las diferencias patentes en la estructura de las proteínas flagelares entre *Archaea* y *Bacteria*, sugiere que al igual que las endosporas, la motilidad flagelar evolucionó por separado cuando los procariotas divergieron hace unos 3.500 millones de años (↻ Figura 1.4*b*).

Síntesis del flagelo

Las proteínas del flagelo de *Bacteria* están codificadas por varios genes. En *Escherichia coli* y en *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, en los que se ha estudiado extensamente la motilidad, existen unos cincuenta genes asociados a ella. Estos genes codifican las proteínas estructurales del flagelo y del aparato motor, obviamente, pero también codifican proteínas que exportan las proteínas estructurales a través de la membrana citoplasmática al exterior de la célula, así como las proteínas que regulan la multitud de procesos bioquímicos que rodean la síntesis de nuevos flagelos.

Un filamento flagelar no crece desde su base, como lo hace el pelo de los animales, sino desde la punta. Primero se sintetiza el anillo MS y se inserta en la membrana citoplasmática. A continuación se sintetizan otras proteínas de anclaje junto con el gancho antes de que se forme el filamento (**Figura 2.53**). Las moléculas de flagelina sintetizadas en el citoplasma atraviesan un canal de 3 nm en el interior del filamento y se añaden al extremo del flagelo en crecimiento. En el extremo del flagelo hay una proteína «cap». Estas proteínas ayudan a las moléculas de flagelina que han difundido a través del filamento a ensamblarse de la forma correcta al final de la estructura (Figura 2.53). Para construir un filamento son necesarias unas 20.000 moléculas de flagelina. El flagelo crece de manera más o menos continua hasta que alcanza su longitud final. Los flagelos rotos siguen rotando y pueden repararse con nuevas unidades de flagelina que llegan a través del canal del filamento para sustituir a las que se han dañado.

Velocidad celular y movimiento

En *Bacteria*, los flagelos no rotan a una velocidad constante, sino que la aumentan o la disminuyen en relación con la fuerza protonmotriz. Los flagelos pueden rotar hasta 300 revoluciones por segundo, y propulsar las células a través de un líquido hasta 60 veces la longitud de una célula por segundo. Por otro lado, el animal más rápido que se conoce, el guepardo, se mueve a una velocidad máxima de unas 25 veces la longitud de su cuerpo por segundo. Por tanto, si tenemos en cuenta el tamaño, una célula bacteriana nadando a 60 veces su longitud por segundo en realidad se mueve más del doble de rápido que el más rápido de los animales.

Los movimientos natatorios de los organismos con flagelos polares y lofótricos son diferentes a los de los organismos con flagelos perítricos, y estos se pueden distinguir microscópicamente (**Figura 2.54**). Los organismos con flagelos perítricos se mueven normalmente en línea recta de manera pausada y lenta. Los organismos con flagelos polares, en cambio, se mueven con más rapidez y van dando vueltas de un lado a otro. En la Figura 2.54 se ilustra el comportamiento de los flagelos de los organismos polares y perítricos, y las diferencias en la reversibilidad del flagelo.

La velocidad de natación es una propiedad determinada genéticamente, porque especies diferentes, incluso aunque tengan el

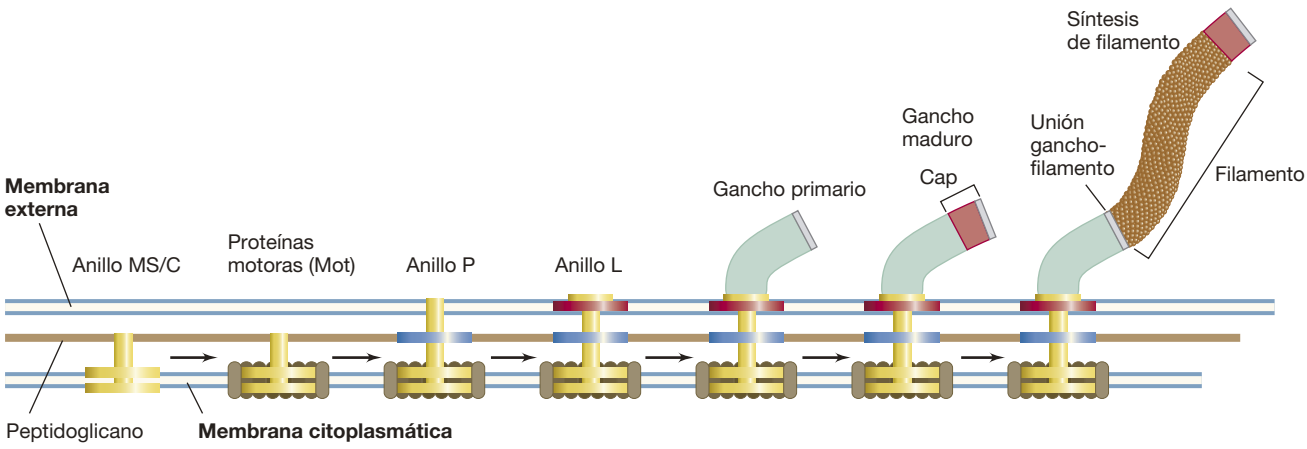


Figura 2.53 **Biosíntesis del flagelo.** La síntesis empieza con el ensamblaje de los anillos MS y C en la membrana citoplasmática, seguido de la formación de los otros anillos, el gancho y la proteína cap. A continuación las moléculas de flagelina atraviesan el gancho para formar el filamento y se colocan en su posición guiadas por las proteínas cap.

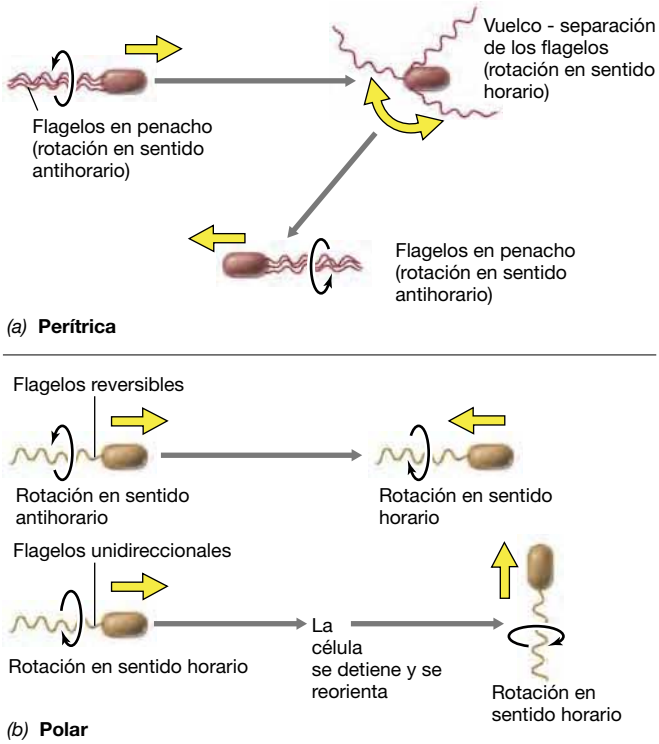


Figura 2.54 **Movimiento en procariotas con flagelación perítrica y polar.** *(a)* Perítrica: el movimiento hacia delante es producido por la rotación de todos los flagelos en sentido antihorario en penacho. La rotación en sentido horario hace que la célula dé un vuelco y después, la vuelta a la rotación en sentido antihorario dirige a la célula hacia una nueva dirección. *(b)* Polar: las células cambian de dirección invirtiendo la rotación flagelar (es decir, tirando en lugar de empujar) o, en los flagelos unidireccionales, parando periódicamente para reorientarse y después moviéndose hacia delante por rotación en sentido horario de los flagelos.

mismo tamaño celular, pueden nadar a velocidades máximas diferentes. Cuando se evalúa la capacidad de una bacteria para nadar y su velocidad máxima en un cultivo de laboratorio, conviene hacerlo con cultivos jóvenes, porque en los cultivos viejos las células a menudo dejan de nadar y puede parecer que los organismos son inmóviles.

MINIRREVISIÓN

- Las células de *Salmonella* tienen flagelación peritrica, las de *Pseudomonas*, polar, y las de *Spirillum*, lofótrica. Muestre de manera esquemática cómo veríamos cada organismo al teñir los flagelos.
- Compare la estructura y el funcionamiento de los flagelos de *Bacteria* y *Archaea*.

2.18 Motilidad por deslizamiento

Algunos procariotas pueden moverse pero no tienen flagelos. La mayoría de ellos son bacterias que no nadan, sino que se mueven por *deslizamiento*. A diferencia de la motilidad flagelar, en la que la célula se detiene y vuelve a empezar en una dirección diferente, la motilidad por deslizamiento es una forma de movimiento más lenta y más suave y se produce normalmente en la dirección del eje mayor de la célula.

Diversidad del movimiento por deslizamiento

La motilidad por deslizamiento está ampliamente distribuida en *Bacteria*, pero solo se ha estudiado en profundidad en unos pocos grupos. El movimiento de deslizamiento en sí —hasta 10 µm/s en algunas bacterias— es considerablemente más lento que la propulsión por flagelos, pero aun así ofrece a la célula una forma de desplazarse en su hábitat.

Los procariotas que se mueven por deslizamiento son células filamentosas o bacilos, y el proceso de deslizamiento requiere que las células estén en contacto con una superficie sólida (**Figura 2.55**). La morfología típica de una colonia de bacterias

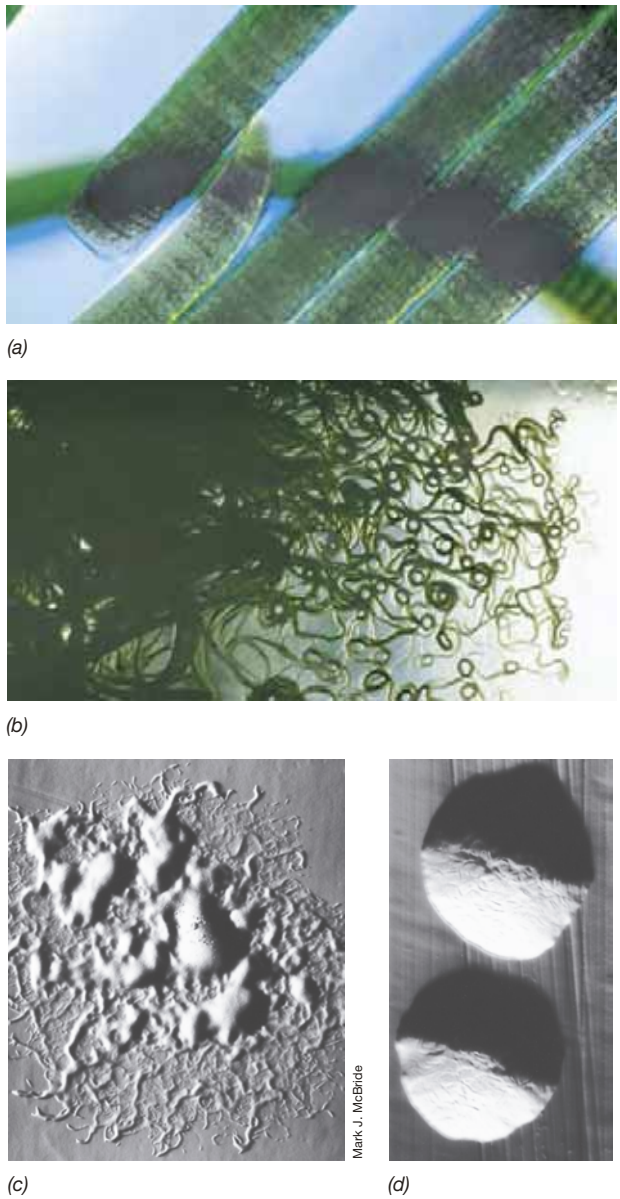


Figura 2.55 **Bacterias deslizantes.** *(a, b)* Las células de la gran cianobacteria *Oscillatoria* miden unos 35 µm de ancho. *(b)* Filamentos de *Oscillatoria* deslizándose sobre una superficie de agar. *(c)* Masas de células de la bacteria *Flavobacterium johnsoniae* alejándose por deslizamiento desde el centro de la colonia (la colonia tiene unos 2,7 mm de ancho). *(d)* Cepa mutante de *F. johnsoniae* en la que se ve la morfología típica de una colonia no deslizante (las colonias tienen un diámetro de entre 0,7 y 1 mm). Véase también la Figura 2.56.

deslizantes es peculiar, porque las células se deslizan alejándose del centro de la colonia (Figura 2.55*c*). Las bacterias deslizantes mejor estudiadas son las cianobacterias filamentosas (Figura 2.55*a, b*), ciertas bacterias gramnegativas como *Myxococcus* y otras mixobacterias, y algunas especies de *Cytophaga* y *Flavobacterium* (Figura 2.55*c, d*). Sin embargo, no se conocen *Archaea* deslizantes.

Mecanismos de motilidad por deslizamiento

Existe más de un mecanismo responsable de la motilidad por deslizamiento. Las cianobacterias se deslizan secretando un polisacárido mucoso por unos poros que se abren la superficie externa de la célula. Este polisacárido está en contacto a la vez con la superficie celular y con la superficie sólida sobre la que se mueve la célula. A medida que se adhiere a la superficie, la célula se desplaza por tracción. La bacteria deslizante no fotótrofa *Cytophaga* también se mueve gracias a la secreción de un polisacárido, rotando en torno a su eje mayor a medida que avanza.

Las células que se mueven «por tirones» también presentan una forma de motilidad por deslizamiento mediante un mecanismo por el cual la extensión y retracción repetitivas de pelos de tipo IV (Sección 2.13) arrastran la célula sobre una superficie. La mixobacteria deslizante *Myxococcus xanthus* presenta dos formas de motilidad por deslizamiento. Una de ellas está dirigida por los pelos de tipo IV, pero la otra es diferente tanto del método de los pelos de tipo IV como del de secreción de polisacárido. En esta segunda forma de motilidad de *M. xanthus*, se forma un complejo proteico de adhesión en uno de los polos de un bacilo, y permanece en una posición fija sobre la superficie mientras la célula se desliza hacia delante; esto significa que el complejo de adhesión se mueve en el sentido opuesto a la de la célula, presumiblemente impulsado por algún tipo de mecanismo de motilidad citoplasmático.

Hay otras bacterias que se mueven por deslizamiento utilizando otros mecanismos. Es el caso del género *Flavobacterium* (Figura 2.55*c*), que no secreta polisacáridos y cuyas células carecen de pelos de tipo IV. En lugar de usar uno de estos mecanismos de deslizamiento, es el movimiento de las proteínas sobre la superficie celular de *Flavobacterium* el que provoca el deslizamiento en este organismo. Se cree que unas proteínas específicas de la motilidad ancladas en las membranas citoplasmática y externa impulsan las células de *Flavobacterium* hacia delante mediante un mecanismo de rueda dentada (**Figura 2.56**). El movimiento de las proteínas específicas del deslizamiento en la membrana citoplasmática está impulsado por la energía de la fuerza protonmotriz, y después este movimiento se transmite a proteínas complementarias en la membrana externa. El movimiento de las proteínas de la membrana externa sobre la superficie sólida es el que empuja la célula hacia delante (Figura 2.56).

Al igual que otras formas de motilidad, la motilidad por deslizamiento tiene relevancia ecológica. El deslizamiento permite a una célula explotar nuevos recursos e interaccionar con otras células. Por ejemplo, las mixobacterias como *Myxococcus xanthus* tienen un tipo de vida muy social y cooperativo, y la motilidad por deslizamiento cumple seguramente una función muy importante en las interacciones intercelulares necesarias para completar su ciclo de vida (↬ Sección 14.19).

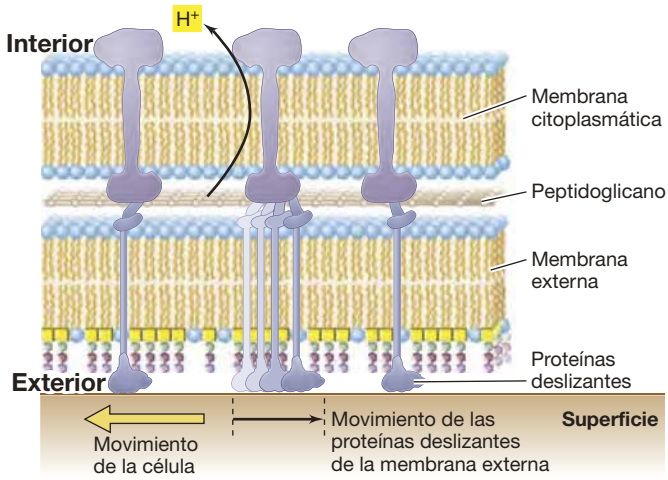


Figura 2.56 Motilidad por deslizamiento en *Flavobacterium johnsoniae*. En el peptidoglicano existen canales (amarillo) que conectan las proteínas citoplasmáticas con las proteínas deslizantes de la membrana exterior e impulsan estas últimas a lo largo de la superficie sólida. Obsérvese que las proteínas deslizantes y la propia célula se mueven en sentidos opuestos.

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué mecanismos y requisitos se diferencian la motilidad por deslizamiento de la motilidad por flagelos?
- Compare el mecanismo de motilidad por deslizamiento de una cianobacteria filamentosa con el de *Flavobacterium*.

2.19 Quimiotaxia y otras taxias

En la naturaleza los procariotas encuentran a menudo gradientes de agentes físicos y químicos y han desarrollado medios para responder a ellos acercándose o alejándose. Estos movimientos dirigidos se llaman *taxias* o *tactismos*. La **quimiotaxia** es la respuesta a agentes químicos, y la **fototaxia**, la respuesta a la luz, y ambas son casos muy conocidos de taxias. En esta sección hablaremos de las taxias en general, y en la Sección 7.8 examinaremos el mecanismo molecular de la quimiotaxia y su regulación en *Escherichia coli* como modelo para todas las taxias en *Bacteria*.

La quimiotaxia se ha estudiado con detalle en las bacterias flageladas, y se sabe mucho a nivel genético sobre el modo en que se comunica al flagelo la información sobre el estado químico del medio. Por tanto, aquí trataremos solamente las bacterias flageladas. No obstante, algunas bacterias deslizantes (Sección 2.18) son también quimiotácticas, y las cianobacterias filamentosas (Figura 2.55*a, b*) tienen movimientos fototácticos. Además, muchas especies de *Archaea* son también quimiotácticas, y muchos de los tipos de proteínas que controlan la quimiotaxia en *Bacteria* están presentes también en las *Archaea* con motilidad.

La quimiotaxia en las bacterias flageladas perítricas

Gran parte de las investigaciones sobre quimiotaxia se han realizado con la bacteria flagelada perítrica *E. coli*. Para entender cómo afecta la quimiotaxia al comportamiento de esta bacteria,

consideremos una situación en la que una célula se encuentra con un gradiente de algún producto químico en el ambiente (**Figura 2.57**). En ausencia de gradiente, la célula se mueve de una forma aleatoria que incluye *carreras*, en las que la célula nada suavemente, y *vuelcos*, cuando la célula se detiene y gira al azar. Durante el movimiento en una carrera, el motor flagelar gira en sentido antihorario. Cuando los flagelos giran en sentido horario, el penacho de flagelos se separa, el movimiento hacia delante cesa y la célula da un vuelco (Figura 2.57).

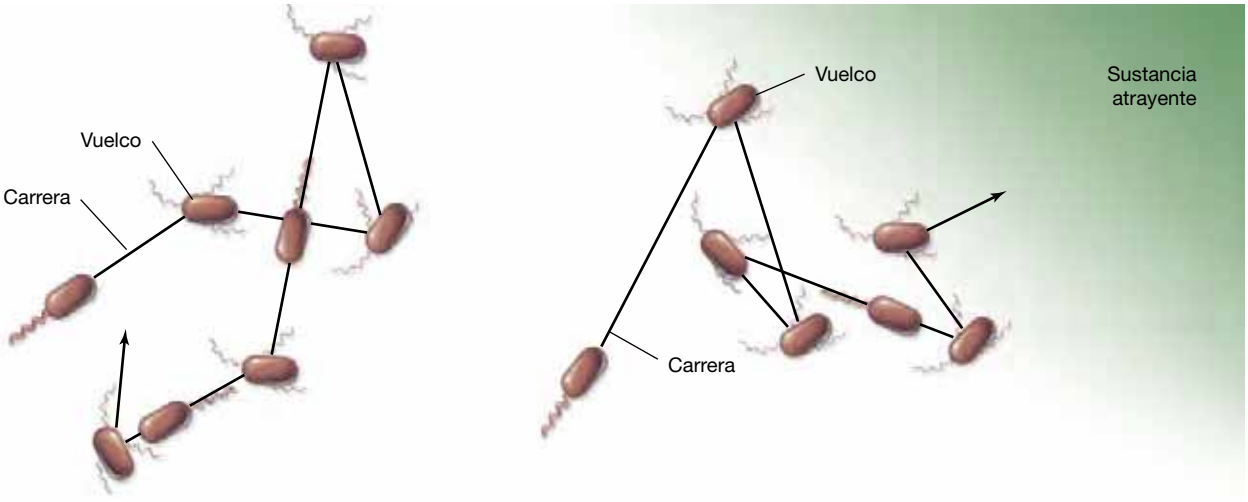
Tras un vuelco, la dirección de la siguiente carrera es al azar. De esta manera, mediante carreras y vuelcos la célula se mueve al azar en su entorno, pero en realidad no va a ninguna parte. Sin embargo, si existe un gradiente de una sustancia química atrayente, estos movimientos al azar cambian. Si el organismo percibe que se está moviendo hacia concentraciones más altas de la sustancia atrayente, las carreras se alargan y los vuelcos se hacen menos frecuentes. El resultado de esta respuesta del comportamiento es que el organismo se mueve hacia concentraciones más elevadas de la sustancia atrayente (Figura 2.57*b*). Si el organismo advierte la presencia de un repelente, se aplica el mismo mecanismo general, aunque en este caso es la *disminución* de la concentración del repelente (en lugar de su aumento) lo que promueve las carreras.

¿Cómo se detectan los gradientes químicos? Las células procariotas son demasiado pequeñas para detectar un gradiente químico a lo largo de una célula aislada. En cambio, mientras se mueven las células examinan su entorno tomando muestras de sustancias químicas periódicamente y comparando la concentración con la detectada momentos antes. Así pues, las células bacterianas responden a diferencias *temporales* en lugar de *espaciales* en la concentración de una sustancia química cuando nadan. La información sensorial se alimenta mediante una elaborada cascada de proteínas que finalmente influyen en la dirección de rotación del motor flagelar. Las sustancias atrayentes y repelentes son detectadas mediante una serie de proteínas de membrana llamadas *quimiorreceptores*. Estas proteínas se unen a las sustancias químicas y empiezan el proceso de transducción sensorial al flagelo (↻ Sección 7.8). La quimiotaxia, por tanto, se puede considerar un tipo de sistema de respuesta sensorial, análogo a las respuestas sensoriales del sistema nervioso de los animales.

Quimiotaxia en bacterias con flagelación polar

La quimiotaxia en células con flagelación polar es similar a la de las células con flagelación perítrica como las de *E. coli*, pero existen algunas diferencias. Muchas bacterias con flagelación polar, como *Pseudomonas*, pueden invertir el sentido de rotación de sus flagelos y, así, invertir inmediatamente el sentido de su movimiento (Figura 2.54*b*). Sin embargo, algunas bacterias con flagelación polar, como la bacteria roja fotótrofa *Rhodobacter sphaeroides*, tienen flagelos que solo giran en sentido horario. ¿Cómo cambian estas células de sentido? ¿Son quimiotácticas?

En las células de *R. sphaeroides*, que tienen un único flagelo insertado en la zona subpolar, la rotación de dicho flagelo se detiene periódicamente. Cuando esto sucede, la célula se reorienta al azar (Figura 2.54*b*). Cuando el flagelo vuelve a girar, la célula se mueve en una dirección diferente. Aun así, las células de *R. sphaeroides* son fuertemente quimiotácticas a determinados compuestos orgánicos, y también presentan respuestas tácticas al oxígeno y a la luz. *R. sphaeroides* no puede invertir su motor flagelar y dar un vuelco como lo hace *E. coli*, pero las células mantienen carreras durante el tiempo en que detectan un aumento de la concentración de una sustancia atrayente. Si las células detectan un descenso de la concentración de sustancia atrayente, el movimiento cesa. Con este mecanismo de arrancar y detenerse, al final la célula encuentra el camino hacia el aumento de sustancia atrayente y mantiene el movimiento hasta que sus quimiorreceptores se saturan o hasta que empieza a detectar una disminución de la concentración de sustancia atrayente.



(a) **Sin presencia de sustancia atrayente: movimiento al azar**

(b) **En presencia de sustancia atrayente: movimiento dirigido**

Figura 2.57 **Quimiotaxia en una bacteria flagelada perítrica como *Escherichia coli*.** *(a)* En ausencia de una sustancia química atrayente, la célula nada al azar a lo largo de carreras y cambiando su dirección mediante vuelco. *(b)* En presencia de una sustancia atrayente, las carreras se favorecen y la célula se mueve hacia concentraciones crecientes de la sustancia atrayente. El gradiente de la sustancia atrayente se muestra en verde; la intensidad de color indica la concentración.

Medición de la quimiotaxia

La quimiotaxia bacteriana se puede demostrar introduciendo un pequeño capilar de vidrio que contenga una sustancia atrayente en una suspensión de bacterias móviles que no contenga dicha sustancia. Desde la punta del capilar se forma un gradiente en el medio circundante, en el que la concentración de la sustancia disminuye gradualmente al aumentar la distancia a la punta (**Figura 2.58**). Ante la presencia de alguna sustancia atrayente, las bacterias quimiotácticas se moverán hacia ella y formarán un enjambre alrededor de la punta abierta (Figura 2.58*c*); muchas bacterias incluso entrarán dentro del capilar. Por supuesto, a causa de los movimientos al azar, algunas bacterias quimiotácticas entrarán en el capilar incluso aunque contenga una solución de la misma composición que el medio (solución control, Figura 2.58*b*). Sin embargo, cuando haya una sustancia atrayente, la cantidad de bacterias dentro del capilar será mucho mayor que en el exterior. Si, transcurrido un tiempo, se saca el capilar, se cuentan las células y se compara con el control, se identificará fácilmente la sustancia atrayente (Figura 2.58*e*).

Si se introduce un capilar con un repelente ocurre justo lo contrario; las células detectan un gradiente creciente de repelente y los quimiorreceptores adecuados modifican la rotación de los flagelos para alejar gradualmente las células del repelente. En este caso, el número de bacterias en el interior del capilar será menor que en el control (Figura 2.58*d*). Con el método del capilar es posible determinar si una sustancia es atrayente o repelente para una bacteria en concreto.

La quimiotaxia también se puede observar al microscopio. Mediante una videocámara que capture la posición de las células bacterianas con el tiempo y muestre la trayectoria de cada célula, se pueden ver los movimientos quimiotácticos de las células (Figura 2.58*f*). Este método se ha adaptado a estudios de quimiotaxia de bacterias en ambientes naturales. Se piensa que, en la naturaleza, los principales agentes quimiotácticos para las bacterias son los nutrientes excretados por células microbianas más grandes o por macroorganismos vivos o muertos. Las algas, por ejemplo, producen compuestos orgánicos y oxígeno (O_2, de la fotosíntesis) que pueden desencadenar movimientos quimiotácticos de las bacterias hacia las células del alga (Figura 2.58*f*).

Fototaxia

Muchos microorganismos fotótrofos se desplazan hacia la luz por un proceso llamado *fototaxia*. La ventaja de la fototaxia para un organismo fotótrofo es que le permite orientarse de manera más eficiente para recibir la luz necesaria para la fotosíntesis. Este fenómeno se puede observar si se extiende un espectro luminoso sobre el portaobjetos de un microscopio en el que tenemos bacterias rojas fotótrofas. En este caso, las bacterias se acumularán en las longitudes de onda a las que absorben sus pigmentos fotosintéticos (**Figura 2.59**; en las ↻ Secciones 13.1-13.4 se explica la fotosíntesis). Estos pigmentos comprenden, en concreto, las bacterioclorofilas y los carotenoides.

En las bacterias fotótrofas existen dos taxias diferentes mediadas por la luz. Una de ellas, llamada *escotofobotaxia*, solo se observa al microscopio, y se produce cuando una bacteria fotótrofa nada fuera del campo de visión iluminado del microscopio hacia la oscuridad. Su entrada en la oscuridad afecta negativamente a la fotosíntesis y, por tanto, al estado energético de la célula, lo que determina que realice un vuelco, invierta la dirección y vuelva a nadar en una carrera de nuevo hacia la zona

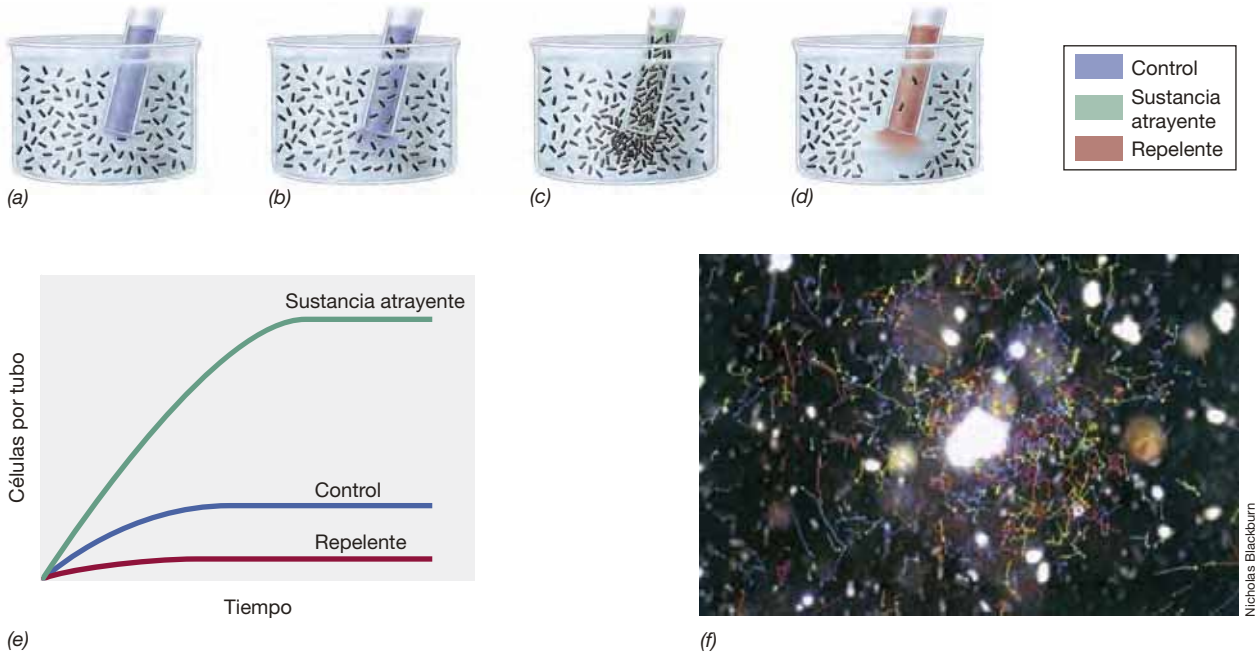
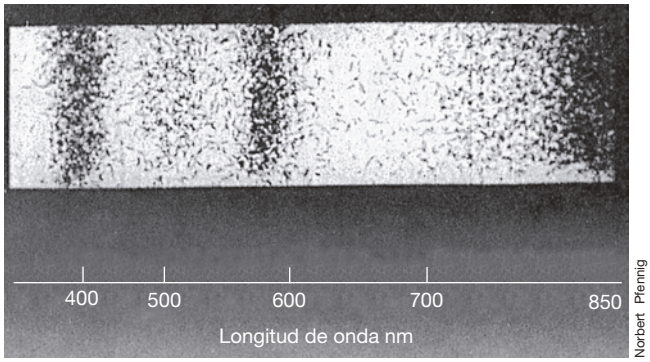
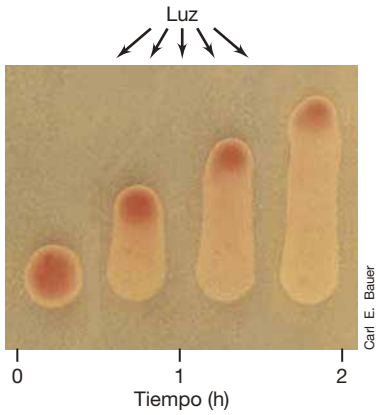


Figura 2.58 Medición de la quimiotaxia con un tubo de ensayo capilar. *(a)* Introducción del capilar en una suspensión bacteriana; al introducir el capilar empieza a formarse un gradiente de la sustancia. *(b)* El capilar de control contiene una solución salina que no es atrayente ni repelente; la concentración de células en el interior del capilar es la misma que fuera. *(c)* Acumulación de bacterias en un capilar que contiene una sustancia atrayente. *(d)* Repulsión de bacterias por un repelente. *(e)* Evolución temporal de la cantidad de células en capilares con distintas sustancias. *(f)* Rastros de bacterias móviles en agua de mar nadando alrededor de una célula de una alga (mancha blanca grande central) detectados mediante un sistema de vídeo acoplado a un microscopio. Las células bacterianas presentan aerotaxia positiva y se mueven hacia la célula del alga productora de oxígeno. El alga tiene unos 60 μm de diámetro.



(a)



(b)

Figura 2.59 Fototaxia de las bacterias fotótrofas. *(a)* Acumulación escotofóbica de la bacteria roja fotótrofa *Thiospirillum jenense* a longitudes de onda a las que sus pigmentos absorben la luz. Se proyectó un espectro de luz en un portaobjetos de microscopio que contenía una suspensión densa de las bacterias; tras un tiempo se tomó la micrografía y se observó que las bacterias se habían acumulado selectivamente. Las longitudes de onda a las que se acumularon las bacterias son aquellas a las que absorbe el pigmento fotosintético bacterioclorofila *a* (compárese con la Figura 13.3*b*). *(b)* Fototaxia de una colonia entera de bacterias rojas fotótrofas *Rhodospirillum centenum*. Estas células, intensamente fototácticas, se mueven al unísono hacia la fuente de luz superior. Véanse, en la Figura 2.49, micrografías electrónicas de células flageladas de *R. centenum*.

iluminada. La escotofobotaxia es, presumiblemente, el mecanismo por el cual las bacterias rojas fotótrofas evitan entrar en hábitats oscuros cuando se están moviendo en una zona iluminada, y probablemente mejora su éxito competitivo.

La verdadera fototaxia difiere de la escotofobotaxia; en la fototaxia las células se mueven en un gradiente de luz, desde intensidades menores hacia mayores. La fototaxia es análoga a la quimiotaxia, excepto porque el atrayente en este caso es la luz en lugar de una sustancia química. En algunas especies, como *Rhodospirillum centenum,* una bacteria roja fotótrofa y de gran motilidad (Figura 2.49), colonias enteras de células presentan fototaxia y se mueven al unísono hacia la luz (Figura 2.59*b*).

Algunos componentes del sistema regulador que dirige la quimiotaxia controlan también la fototaxia. Esta conexión se ha descubierto a partir del estudio de mutantes de bacterias fotótrofas deficientes en fototaxia; estos mutantes presentan también sistemas quimiotácticos deficientes. El sensor inicial de la respuesta fototáctica es un *fotorreceptor*, una proteína que funciona de manera similar a un quimiorreceptor pero detecta el gradiente de luz en lugar de un gradiente químico. A continuación el fotorreceptor interacciona con las mismas proteínas citoplasmáticas que controlan la rotación de los flagelos en la quimiotaxia, y mantienen a la célula en un movimiento de carrera, si ya está nadando hacia la intensidad creciente de luz. Por tanto, aunque los estímulos de la quimiotaxia y de la fototaxia son diferentes —sustancia química y luz, respectivamente— la respuesta tras la recepción de dicho estímulo está controlada por un grupo de proteínas en común. En la Sección 7.8 estudiaremos con más detalle la actividad de estas proteínas.

Otras taxias

Entre los diversos procariotas flagelados se conocen otras taxias, como el movimiento para acercarse o alejarse del oxígeno (*aerotaxia*, véase la Figura 2.58*f*) o para acercarse o alejarse de estados de alta fuerza iónica (*osmotaxia*). En algunas cianobacterias deslizantes también se ha observado una taxia inusual, la *hidrotaxia* (movimiento hacia el agua). La hidrotaxia permite a las cianobacterias deslizantes que viven en ambientes secos, como los suelos del desierto, deslizarse hacia gradientes de hidratación creciente.

Del estudio de las taxias microbianas, se hace evidente que los procariotas con motilidad «sintonizan» con el estado físico y químico de sus hábitats. Y desde un punto de vista mecanicista, resulta interesante que estas células procesen el resultado de sus análisis ambientales mediante un sistema común que, en última instancia, controla la actividad flagelar. Al ser capaces de acercarse o alejarse de los diversos estímulos, las células procariotas mejoran sus posibilidades de competir por los recursos y evitar los efectos perjudiciales de las sustancias que pueden dañarlas o incluso matarlas.

MINIRREVISIÓN

- Defina la palabra quimiotaxia. ¿En qué se diferencia la quimiotaxia de la aerotaxia?
- ¿Qué hace que la célula efectúe una carrera en lugar de un vuelco?
- ¿Cómo se puede medir cuantitativamente la quimiotaxia?
- ¿En qué se diferencia la escotofobotaxia de la fototaxia?

VII • Células microbianas eucariotas

Comparadas con las células procariotas, las células de los eucariotas microbianos suelen ser células estructuralmente más complejas y más grandes (↻ Figura 1.2). Terminamos nuestro estudio de la estructura y las funciones de las células microbianas con una consideración sobre la estructura y las funciones de los eucariotas microbianos, que son modelos habituales para el estudio de la biología eucariota. Los eucariotas microbianos comprenden los hongos, las algas, y los

protozoos y otros protistas. En el Capítulo 17 hablaremos de su diversidad.

2.20 El núcleo y la división celular

Las células eucariotas varían en cuanto a la dotación de orgánulos que contienen, pero lo que tienen todas, y además es el elemento distintivo de la célula eucariota, es el núcleo rodeado por una membrana unitaria. Las mitocondrias son prácticamente universales entre las células eucariotas, mientras que los cloroplastos pigmentados solo se encuentran en las células fotótrofas. Otras estructuras son el aparato de Golgi, los lisosomas, los retículos endoplasmáticos, y los microtúbulos y microfilamentos (**Figura 2.60**). Algunos eucariotas microbianos tienen flagelos o cilios, que son los orgánulos responsables de la motilidad, y otros no. Los eucariotas microbianos también pueden tener componentes extracelulares, como la pared celular de los hogos y las algas (mientras que la mayoría de protozoos carecen de pared).

Núcleo

El **núcleo** contiene los cromosomas de la célula eucariota. El DNA que hay en el interior del núcleo está enrollado alrededor de proteínas básicas (cargadas positivamente) llamadas **histonas**, que empaquetan firmemente el DNA, cargado negativamente, para formar los nucleosomas (**Figura 2.61*b***) y, a partir de ellos, los cromosomas. El núcleo está rodeado por un par de membranas, cada una con una función, separadas entre sí por un espacio. La membrana interna es simplemente un saco, mientras que la membrana externa es continua en muchos sitios con el retículo endoplasmático. Las membranas nucleares interna y externa están especializadas en interacciones con el nucleoplasma y el citoplasma, respectivamente, pero tienen poros (Figuras 2.60 y 2.61*a*), formados por huecos en los que se unen ambas membranas. Los poros permiten el transporte de proteínas y ácidos nucleicos hacia dentro y hacia fuera del núcleo, en un proceso llamado *transporte nuclear*.

En el interior del núcleo se encuentra el *nucléolo* (Figura 2.60), el lugar de síntesis del RNA ribosómico (rRNA). El nucléolo es rico en RNA, y las proteínas ribosómicas sintetizadas en el citoplasma son transportadas hasta él, donde se combinan con el rRNA para formar las subunidades pequeñas y grandes de los ribosomas eucarióticos. Estos, a continuación, se exportan al citoplasma, donde se asocian para formar los ribosomas intactos y realizar la síntesis proteica.

División celular

Las células eucariotas se dividen mediante un proceso por el cual los cromosomas se replican, el núcleo se desensambla, los cromosomas se segregan en dos grupos y en cada célula hija se ensambla un núcleo nuevo. Muchos eucariotas microbianos pueden existir en dos estados genéticos: *haploides* o *diploides*. Las células diploides tienen dos copias de cada cromosoma, y

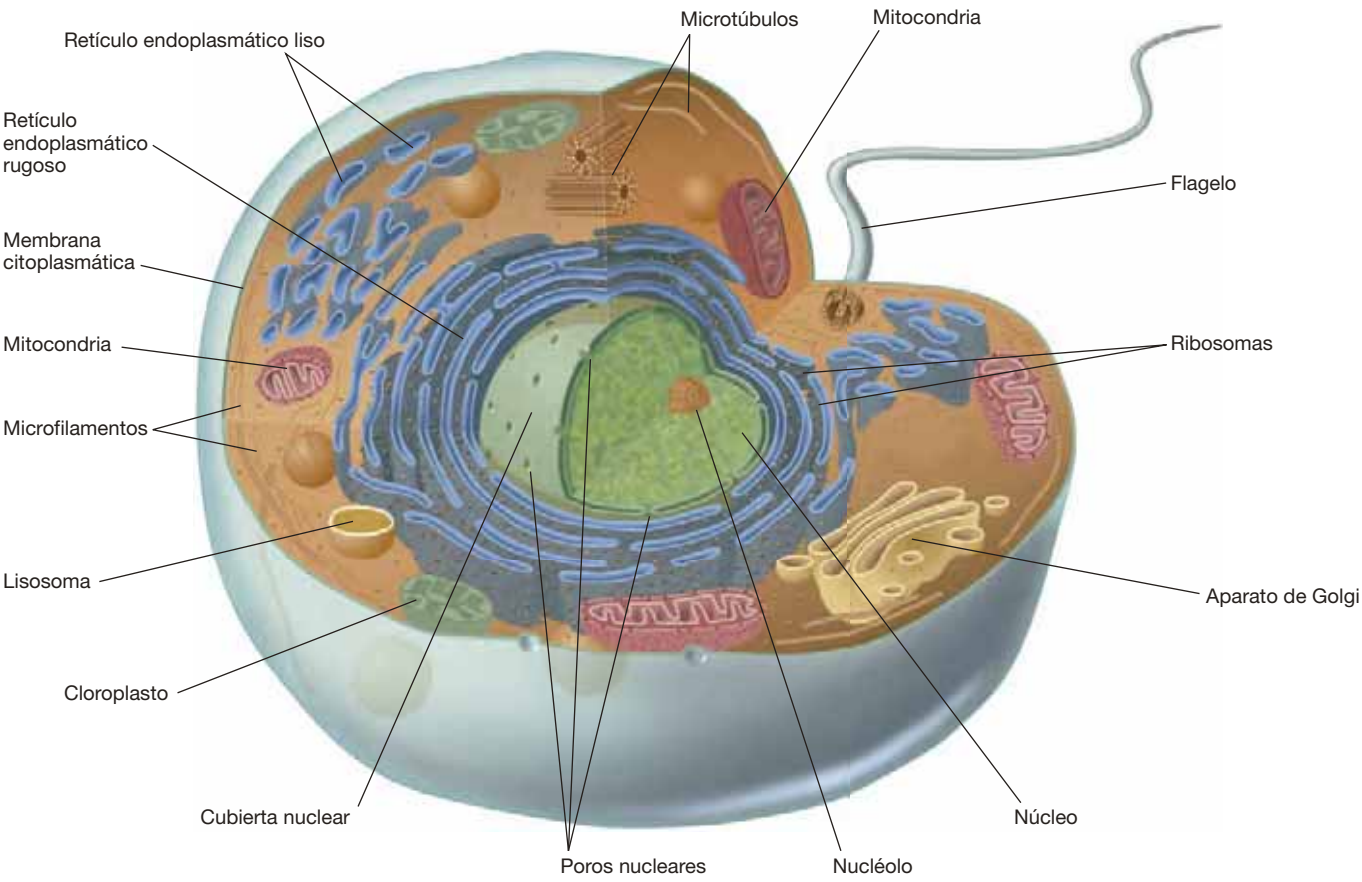


Figura 2.60 **Dibujo de la sección de un eucariota microbiano.** Todas las células eucariotas poseen un núcleo, pero no todos los orgánulos y resto de estructuras están presentes en todos los eucariotas microbianos. No se muestra la pared celular, que se encuentra en hongos, algas, plantas y algunos protistas.

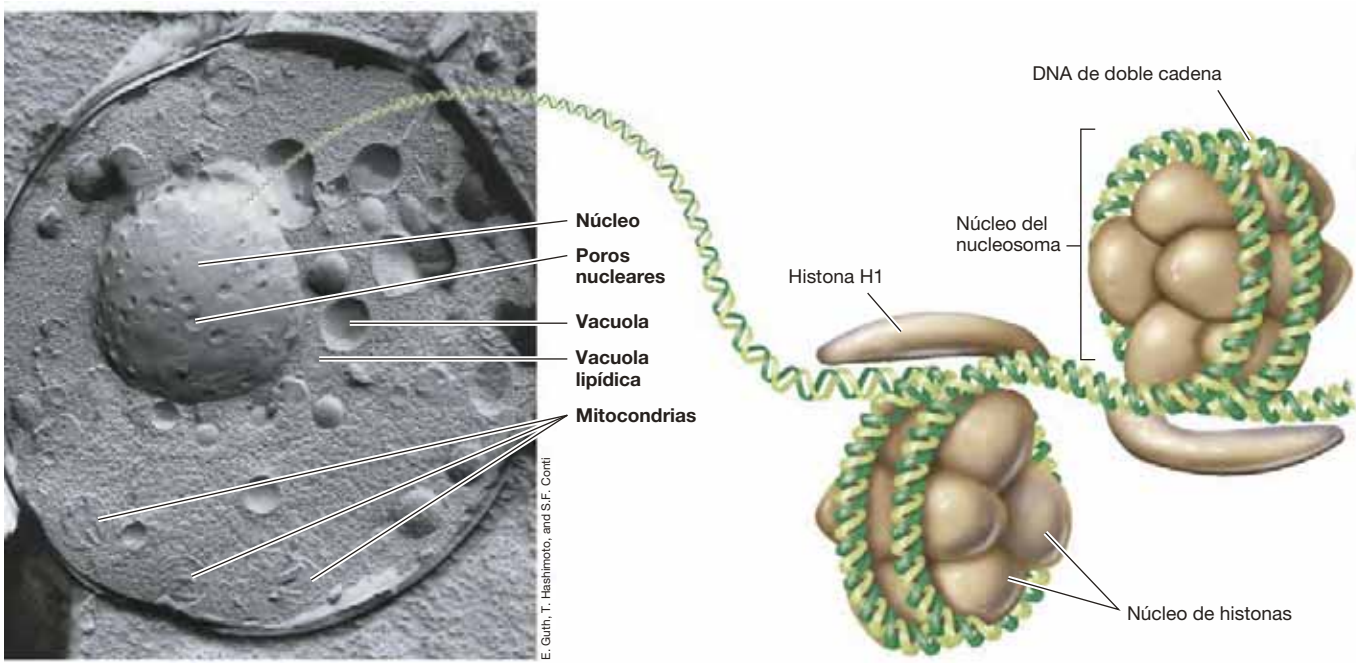


Figura 2.61 **El núcleo y el empaquetamiento del DNA en eucariotas.** *(a)* Micrografía electrónica de una célula de levadura preparada para visualizar la superficie del núcleo. La célula tiene unas 8 µm de ancho. *(b)* Empaquetamiento del DNA rodeando las histonas (proteínas) para formar el nucleosoma. Los nucleosomas se disponen a lo largo de la cadena de DNA como las cuentas de un rosario, y se agrupan en cromosomas durante la mitosis (véase la Figura 2.62).

las haploides solo una. Por ejemplo, la levadura de la cerveza, *Sacchararomyces cerevisiae* puede existir en estado haploide (16 cromosomas) y en estado diploide (32 cromosomas). No obstante, independientemente de su estado genético, durante la división celular el número de cromosomas se duplica primero y luego se divide por la mitad para dar a cada célula hija la dotación correcta de cromosomas. Es el proceso de **mitosis**, exclusivo de las células eucariotas. Durante la mitosis, los cromosomas se condensan, se dividen y se separan en dos conjuntos, uno para cada célula hija (Figura 2.62).

A diferencia de la mitosis, la **meiosis** es el proceso de conversión del estado diploide al haploide. La meiosis consiste en dos divisiones celulares. En la primera división meiótica, los cromosomas homólogos se segregan en células separadas que, así, pasan al estado haploide. La segunda división meiótica es, esencialmente, igual que una mitosis, en la que las dos células haploides se dividen y forman un total de cuatro células haploides llamadas *gametos*. En los organismos superiores los gametos son los óvulos y los espermatozoides; en los microorganismos eucariotas son esporas o estructuras relacionadas.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cómo se dispone el DNA en las células eucariotas?
- ¿Qué son las histonas y qué función tienen?
- Enumere las principales diferencias entre la mitosis y la meiosis.

2.21 Mitocondrias, hidrogenosomas y cloroplastos

En los eucariotas, los orgánulos especializados en el metabolismo energético son las mitocondrias, los hidrogenosomas y, en los eucariotas fotótrofos, los cloroplastos.

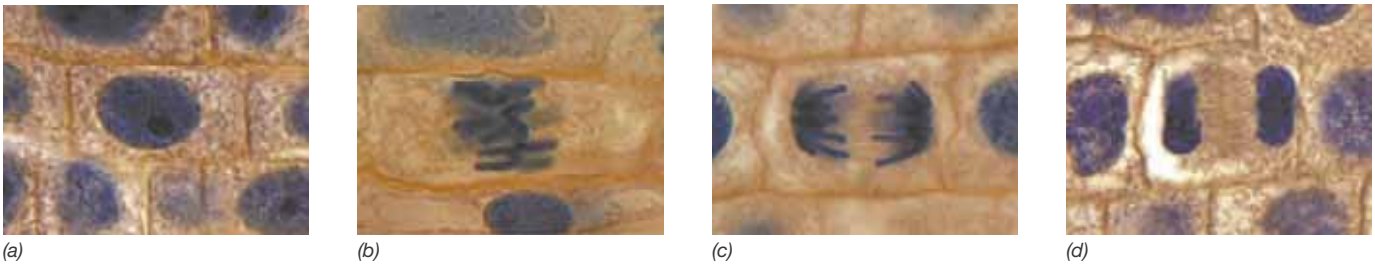


Figura 2.62 **Micrografía óptica de células vegetales durante la mitosis.** *(a)* Interfase; no se distinguen los cromosomas. *(b)* Metafase; los cromosomas homólogos se alinean en el centro de la célula. *(c)* Anafase; cromosomas homólogos se separan. *(d)* Telofase; los cromosomas se han separado en las dos células hijas recién formadas.

Mitocondrias

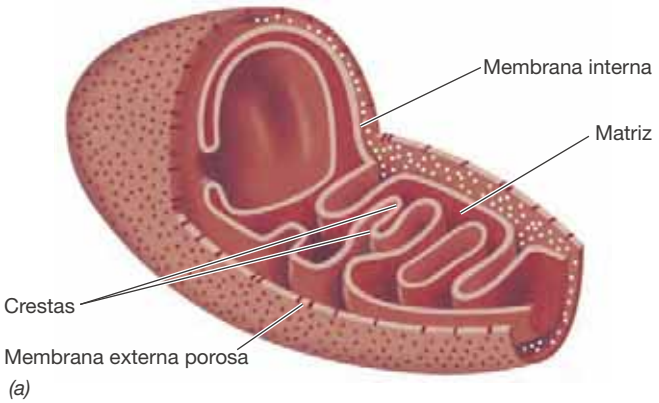
En las células eucariotas aerobias, la respiración se lleva a cabo en la micocondria. Las **mitocondrias** son de dimensiones bacterianas y pueden adoptar muchas formas (Figura 2.63). La cantidad de mitocondrias por célula depende en cierto modo del tipo y el tamaño de la célula. Una célula de levadura puede tener solamente unas pocas mitocondrias (Figuras 2.60 y 2.61*a*), mientras que una célula animal puede llegar a tener mil. La mitocondria está rodeada por un sistema de doble membrana. Al igual que la membrana nuclear, la membrana externa de la mitocondria es relativamente permeable y contiene poros que permiten el paso de pequeñas moléculas. La membrana interna es menos permeable, y su estructura se parece más a la membrana citoplasmática de las bacterias.

Las mitocondrias también contienen membranas internas plegadas, llamadas **crestas**. Estas crestas, formadas por invaginación de la membrana interna, contienen los enzimas necesarios para la respiración y la producción de ATP, la principal función de la mitocondria. Las crestas contienen también proteínas de transporte que regulan el paso de moléculas fundamentales como el ATP dentro y fuera de la *matriz*, el compartimento más interno de la mitocondria (Figura 2.63*a*). La matriz contiene enzimas para la oxidación de compuestos orgánicos, en concreto enzimas del ciclo del ácido cítrico, la principal ruta de combustión de compuestos orgánicos a CO_2 (↻ Sección 3.12).

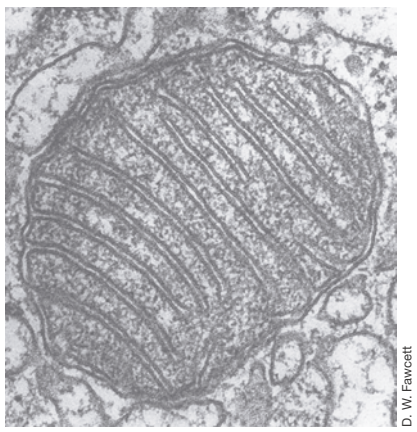
Hidrogenosomas

Algunos organismos eucariotas mueren en presencia de O_2 y, como muchos procariotas, tienen un estilo de vida anaeróbico. Estas células carecen de mitocondrias, y algunas de ellas contienen unas estructuras llamadas **hidrogenosomas** (Figura 2.64). Aunque tienen un tamaño similar al de las mitocondrias, los hidrogenosomas carecen de las enzimas del ciclo del ácido cítrico y de crestas. Los eucariotas microbianos que tienen hidrogenosomas llevan a cabo un metabolismo fermentativo estricto. Entre los ejemplos tenemos el parásito humano *Trichomonas* (↻ Secciones 17.3 y 32.4) y varios protistas que habitan en el rumen de los rumiantes (↻ Secciones 1.5 y 22.7) o en lodos anóxicos y sedimentos lacustres.

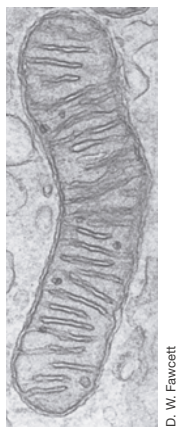
La principal reacción bioquímica que tiene lugar en el hidrogenosoma es la oxidación del piruvato a H_2, CO_2 y acetato (Figura 2.64*b*). Algunos eucariotas anaerobios tienen en su citoplasma metanógenos consumidores de H_2. Estas *Archaea*



(a)

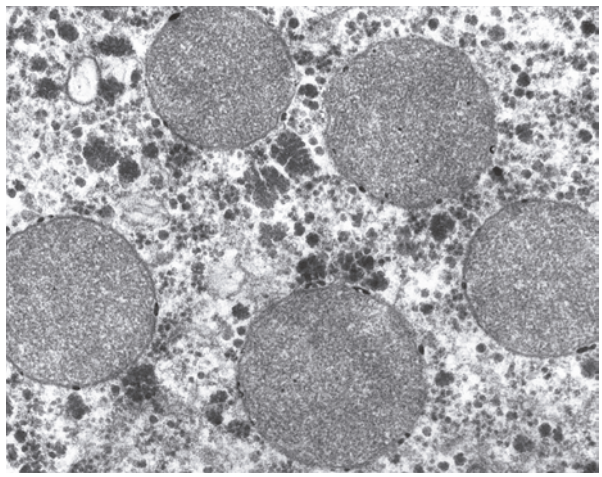


(b)

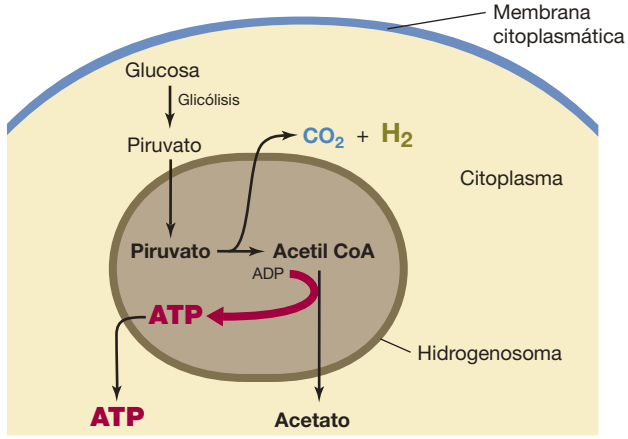


(c)

Figura 2.63 Estructura de la mitocondria. *(a)* Esquema en el que se muestra la estructura completa de la mitocondria; obsérvese la existencia de una membrana interna y una externa. *(b, c)* Micrografías electrónicas de transmisión de mitocondrias de tejido de rata que muestran la variabilidad de su morfología; se pueden distinguir las crestas.



(a)



(b)

Figura 2.64 El hidrogenosoma. *(a)* Micrografía electrónica de la sección fina de una célula del protista anaerobio *Trichomonas vaginalis* en el que se ven cinco hidrogenosomas en corte transversal. Compárese su estructura interna con la de las mitocondrias de la Figura 2.63. *(b)* Bioquímica del hidrogenosoma; el hidrogenosoma toma piruvato y produce H_2, CO_2, acetato y ATP.

consumen el H_2 y el CO_2 producido por los hidrogenosomas y lo usan para generar metano (CH_4). Como no pueden respirar, los hidrogenosomas no pueden oxidar el acetato producido por la oxidación del piruvato como hacen las mitocondrias. Por tanto, el acetato es excretado del hidrogenosoma al citoplasma de la célula hospedadora (Figura 2.64*b*).

Cloroplastos

Los **cloroplastos** son los orgánulos de los eucariotas microbianos fotótrofos que contienen clorofila, y llevan a cabo la fotosíntesis. Los cloroplastos son relativamente grandes y fáciles de ver al microscopio óptico (**Figura 2.65**), y su cantidad por célula varía entre especies.

Al igual que las mitocondrias, los cloroplastos tienen una membrana externa permeable y una interna mucho menos permeable. La membrana interna rodea el **estroma**, análogo a la matriz de la mitocondria (Figura 2.65*c*). El estroma contiene la enzima *ribulosa bisfosfato-carboxilasa* (RubisCO), enzima fundamental del **ciclo de Calvin**, que es la serie de reacciones biosintéticas mediante las cuales la mayoría de los fotótrofos convierten CO_2 en compuestos orgánicos (↔ Sección 13.5). La permeabilidad de la membrana externa del cloroplasto permite que la glucosa y el ATP producidos durante la fotosíntesis se difundan hacia el citoplasma de la célula, donde pueden ser usados en la biosíntesis.

Orgánulos y endosimbiosis

Hace aproximadamente un siglo, basándose en la relativa autonomía, tamaño y semejanzas morfológicas de las mitocondrias con las bacterias, se propuso que las mitocondrias y los cloroplastos eran descendientes de células bacterianas respiratorias y fotosintéticas, respectivamente. Al asociarse con hospedadores eucariotas no fotótrofos, estos últimos habrían adquirido una nueva forma de metabolismo energético, mientras que las células bacterianas simbiontes habrían recibido un medio de crecimiento estable y propicio dentro del hospedador. Gradualmente, con el tiempo estos simbiontes inicialmente libres se habrían convertido en una parte inseparable de la célula eucariota. Esta idea de las bacterias simbióticas como antepasados de la mitocondria, del hidrogenosoma y del cloroplasto se llama **hipótesis endosimbiótica** del origen de las células eucariotas (↔ Secciones 12.3 y 17.1), y en la actualidad está ampliamente aceptada en biología.

Diversas líneas experimentales apoyan la hipótesis endosimbiótica. Entre ellas, destaca el hecho de que las mitocondrias, los hidrogenosomas y los cloroplastos contengan su propio genoma y sus ribosomas. Los genomas están dispuestos de manera circular, como los cromosomas bacterianos, y la secuencia de genes que codifican el RNA ribosómico (↔ Figura 1.6*a*) de los orgánulos señala claramente su origen bacteriano. Así pues, la célula eucariota es una quimera genética que contiene genes de dos dominios de la vida: genes de la célula hospedadora (*Eukarya*) y genes del endosimbionte (*Bacteria*).

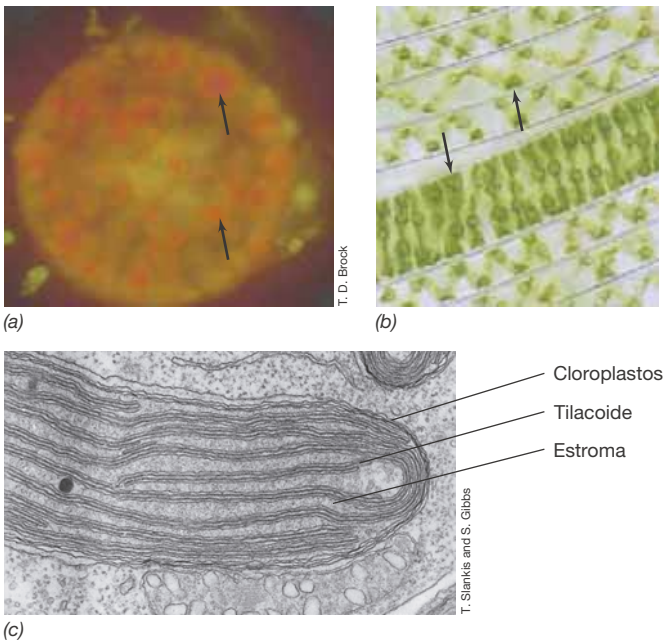


Figura 2.65 Cloroplastos de una diatomea y una célula de una alga verde. *(a)* Micrografía de fluorescencia de una diatomea que muestra la clorofila fluorescente (compárese con la Figura 2.6); las flechas indican los cloroplastos. La célula mide unos 40 µm de ancho. *(b)* Micrografía de contraste de fases del alga verde filamentosa *Spirogyra* que muestra los característicos cloroplastos en forma de espiral (flechas) de este fotótrofo. Una célula mide unos 20 µm de ancho. *(c)* Micrografía electrónica de transmisión de un cloroplasto de una diatomea; se pueden ver los tilacoides.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué reacciones fundamentales ocurren en la mitocondria y el cloroplasto, y qué producto fundamental se obtiene de ellas?
- Compare el metabolismo del piruvato en la mitocondria y en el hidrogenosoma.
- ¿Qué es la hipótesis endosimbiótica y qué pruebas la respaldan?

2.22 Otras estructuras importantes de las células eucariotas

Además del núcleo y la mitocondria (o el hidrogenosoma), y los cloroplastos en las células fotosintéticas, podemos encontrar otras estructuras citoplasmáticas en los eucariotas microbianos: el retículo endoplasmático, el aparato de Golgi, los lisosomas, una serie de estructuras tubulares, y estructuras que aportan motilidad. No obstante, a diferencia de las mitocondrias y los cloroplastos, estas estructuras carecen de DNA y no son de origen endosimbiótico. Las paredes celulares también están presentes en algunos eucariotas microbianos, y cumplen la misma función que en las células procariotas, dando forma y protegiendo la célula de la lisis osmótica. La estructura exacta de la pared celular varía de unos organismos a otros, pero hay polisacáridos y proteínas comunes.

Retículo endoplasmático, aparato de Golgi y lisosomas

El retículo endoplasmático (RE) es una red de membranas continuas con la membrana nuclear. Existen dos tipos de retículo endoplasmático: *rugoso*, que contiene ribosomas unidos, y *liso*, sin ribosomas (Figura 2.60). El RE liso participa en la síntesis de lípidos y en algunos aspectos del metabolismo de los carbohidratos. El RE rugoso, mediante la actividad de sus ribosomas, es

un gran productor de glicoproteínas y también sintetiza nuevo material de membrana que es transportado por toda la célula para ampliar los distintos sistemas membranosos antes de la división celular.

El aparato de Golgi es un conjunto de membranas apiladas (**Figura 2.66**) que se crean a partir de cuerpos de Golgi preexistentes y funcionan en coordinación con el RE. En el aparato de Golgi se modifican químicamente los productos del RE y se clasifican entre los destinados para secreción o los que actuarán en otras estructuras membranosas de la célula. Muchas de estas modificaciones son glicosilaciones (adición de residuos de azúcar) que convierten las proteínas en diversas glicoproteínas que, después, pueden destinarse a ubicaciones específicas en la célula.

Los **lisosomas** (Figura 2.60) son compartimentos rodeados por una membrana que contienen enzimas digestivos que hidrolizan proteínas, grasas y polisacáridos. El lisosoma se funde con las vacuolas que introducen los nutrientes a la célula, y libera sus enzimas digestivos que los degradan para su uso en la biosíntesis y la generación de energía. Los lisosomas actúan también hidrolizando componentes celulares dañados y reciclando estos materiales para nuevas biosíntesis.

El lisosoma, por tanto, permite aislar del citoplasma las actividades líticas de la célula. Tras la hidrólisis de macromoléculas en el lisosoma, los nutrientes resultantes pasan al citoplasma para su uso por los enzimas citoplasmáticos.

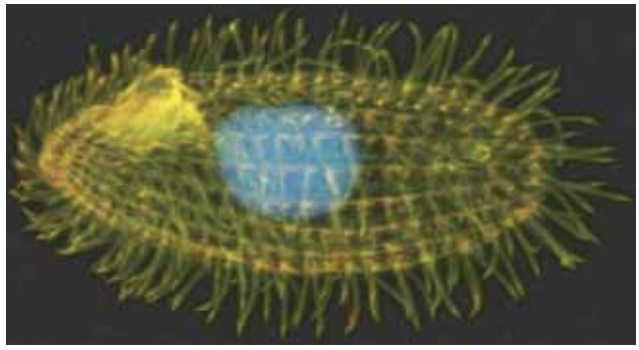
Microtúbulos, microfilamentos y filamentos intermedios

Igual que los edificios se construyen con un refuerzo estructural, el gran tamaño de las células eucariotas y su capacidad para moverse hace que requieran de refuerzos estructurales. Esta red de soporte interno está formada por *microtúbulos*, *microfilamentos* y *filamentos intermedios*; en conjunto, estas estructuras forman el **citoesqueleto** de la célula (Figura 2.60).

Los **microtúbulos** son tubos de unos 25 nm de diámetro con un centro hueco y compuestos por las proteínas *α-tubulina* y *β-tubulina*. Los microtúbulos tienen muchas funciones: mantener la forma de la célula y su motilidad mediante cilios y flagelos (**Figura 2.67***a*), mover los cromosomas durante la mitosis (Figura 2.67*b*) y permitir el movimiento de los orgánulos en

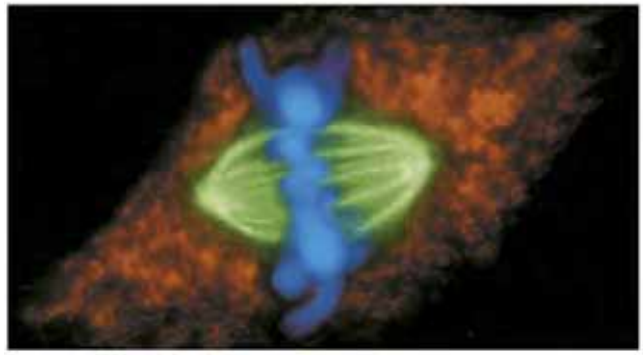


Figura 2.66 El aparato de Golgi. Micrografía electrónica de transmisión de una porción de una célula eucariota en la que se muestra el aparato de Golgi (coloreado con oro). Obsérvense las múltiples membranas plegadas del aparato de Golgi (los apilamientos de membrana tiene un diámetro de 0,5-1,0 μm).



Rupal Thazhath and Jacek Gaertig

(a)



(b)



Ohad Medalia and Wolfgang Baumeister

(c)

Figura 2.67 Tubulina y microfilamentos. *(a)* Micrografía de fluorescencia de una célula de *Tetrahymena* con anticuerpos antitubulina (rojo/verde) y con DAPI, que tiñe el DNA (azul, núcleo). Una célula tiene unos 10 μm de ancho. *(b)* Célula animal en la que se aprecia el papel de la tubulina (verde) en la separación de los cromosomas durante la metafase de la mitosis. *(c)* Imagen de microscopía electrónica del hongo mucoso *Dictyostelium discoideum* en la que se muestra la red de microfilamentos de actina que, junto con los microtúbulos, actúan como citoesqueleto de la célula. Los microfilamentos tienen un diámetro de unos 7 nm. En el dominio *Bacteria* existen homólogos de la tubulina y los microfilamentos, que son las proteínas FtsZ y MreB, respectivamente (↻ Sección 5.3).

el interior de la célula. Los **microfilamentos** (Figura 2.67*c*) son más pequeños, con un diámetro de unos 7 nm, y son polímeros de dos cadenas entrelazadas de la proteína actina. Los microfilamentos actúan manteniendo o cambiando la forma de la célula, en la motilidad celular de células que se desplazan con movimientos ameboides, y durante la división celular. Los **filamentos intermedios** son proteínas fibrosas de queratina que forman fibras de entre 8 y 12 nm de diámetro y actúan manteniendo la forma de la célula y la posición de los orgánulos en su interior.

Flagelos y cilios

Los flagelos y los cilios están presentes en muchos microorganismos eucariotas, y actúan como orgánulos de motilidad, permitiendo a las células desplazarse por natación. La motilidad es un recurso para la supervivencia, ya que la capacidad para moverse permite a los organismos desplazarse por su hábitat y explotar nuevos recursos. Los *cilios* son fundamentalmente flagelos cortos que se mueven de manera sincronizada para propulsar la célula —normalmente con bastante rapidez— por el medio. Los *flagelos*, en cambio, son apéndices largos presentes individualmente o en grupos que impulsan a la célula —normalmente más lentamente que los cilios— mediante un movimiento similar al de un látigo (**Figura 2.68*a***). Estructuralmente, los flagelos de las células eucariotas son bastante diferentes de los flagelos bacterianos, y no rotan como ellos (Sección 2.17).

Si los observamos en un corte transversal, los cilios y los flagelos se parecen. Cada uno contiene un haz de nueve pares de microtúbulos rodeando otro par central (Figura 2.68*b*). Una proteína llamada *dineína* se une a los microtúbulos y utiliza el ATP para impulsar la motilidad. El movimiento de los flagelos y el de los cilios son similares; en ambos casos, es el resultado de un deslizamiento coordinado de unos microtúbulos contra otros en el mismo sentido o en sentido contrario a la base de la célula. Este movimiento confiere la sacudida de tipo latigazo en el flagelo o el cilio que tiene como resultado la propulsión de la célula.

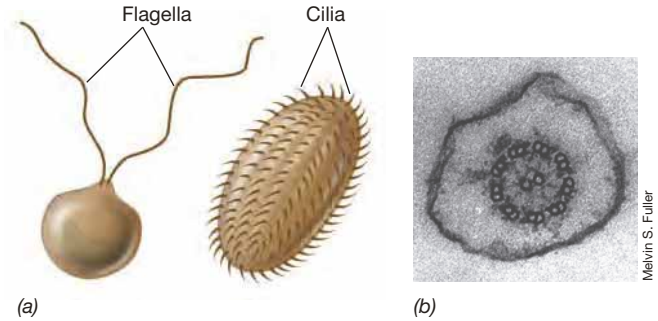


Figure 2.68 Motility organelles in eukaryotic cells: Flagella and cilia. *(a)* Flagella can be present as single or multiple filaments. Cilia are structurally very similar to flagella but much shorter. Eukaryotic flagella move in a whiplike motion. *(b)* Cross section through a flagellum of the fungus *Blastocladiella* showing the outer sheath, the outer nine pairs of microtubules, and the central pair of microtubules.

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué es mejor que la actividad del lisosoma esté separada del citoplasma propiamente dicho?
- ¿Cómo se mantiene unido el citoesqueleto celular?
- ¿En qué se diferencian los flagelos eucarióticos de los procarióticos desde un punto de vista funcional?

IDEAS PRINCIPALES

2.1 • Los microscopios son esenciales para el estudio de los microorganismos. El microscopio de campo claro, el más común, tiene una serie de lentes que amplifican y resuelven la imagen.

2.2 • Una limitación inherente a la microscopía de campo claro es la falta de contraste entre las células y su entorno. Este problema se puede solucionar utilizando colorantes o mediante formas alternativas de microscopía óptica, como la de contraste de fases o la de campo oscuro.

2.3 • La microscopía de contraste por interferencia diferencial (DIC) y la microscopía confocal láser de barrido permiten obtener imágenes tridimensionales mejoradas o imágenes a través de muestras gruesas.

2.4 • La capacidad de resolución de los microscopios electrónicos, con un límite de resolución de unos 0,2 nm, es mucho mayor que la de los microscopios ópticos. Las dos formas principales de microscopía electrónica son la de transmisión, utilizada especialmente para observar la estructura interna de la célula, y la de barrido, para estudiar la superficie de los especímenes.

2.5 • Las células procariotas tienen muchas formas diferentes; los bacilos, los cocos y los espirilos son morfologías celulares comunes. La morfología es un mal indicador de otras propiedades celulares, y se trata de una característica condicionada genéticamente que ha evolucionado para facilitar la ecología de la célula.

2.6 • Los procariotas son normalmente más pequeños que los eucariotas, pero se conocen algunos procariotas muy grandes. El tamaño pequeño de las células procariotas influye en su fisiología, velocidad de crecimiento, ecología y evolución. El límite inferior para el diámetro de un coco es de unos 0,15 µm.

2.7 • La membrana citoplasmática es una barrera de permeabilidad sumamente selectiva constituida por lípidos y proteínas que forman una bicapa, hidrófoba en su interior e hidrófila hacia el exterior. A diferencia de las membranas

de bacterias y eucariotas, en las que los ácidos grasos están unidos por enlaces éster al glicerol, las *Archaea* contienen lípidos unidos por enlaces éter y algunas forman monocapas en lugar de bicapas.

2.8 • Las principales funciones de la membrana citoplasmática son la permeabilidad, el transporte y la conservación de la energía. Para acumular nutrientes en contra de un gradiente de concentración se utilizan sistemas de transporte que son característicos por su especificidad y su efecto de saturación.

2.9 • Se conocen al menos tres tipos de transportadores de nutrientes: simples, de translocación de grupo y sistemas ABC. En el transporte es necesaria la energía, bien de un compuesto rico en energía como el ATP, bien de la fuerza protonmotriz, para acumular solutos en contra del gradiente de concentración.

2.10 • El peptidoglicano es un polisacárido que se encuentra únicamente en *Bacteria* y consiste en la repetición de unidades alternas de *N*-acetilglucosamina y ácido *N*-acetilmurámico, con entrecruzamientos de tetrapéptidos entre moléculas de este último de cadenas adyacentes. Tanto el enzima lisozima como la penicilina atacan específicamente el peptidoglicano y provocan la lisis celular.

2.11 • Las bacterias gramnegativas tienen una membrana externa formada por LPS, proteínas y lipoproteínas. Las porinas permiten la permeabilidad a través de la membrana externa. El espacio entre la membrana externa y la citoplasmática se llama periplasma y contiene proteínas que intervienen en el transporte, la detección de sustancias químicas y otras funciones importantes.

2.12 • Las paredes celulares en *Archaea* son de varios tipos: de pseudomureína, de diversos polisacáridos y de capas S, compuestas por proteínas o glicoproteínas. Al igual que en *Bacteria*, las paredes de *Archaea* protegen la célula de la lisis osmótica.

2.13 • Muchas células procariotas poseen cápsulas, capas mucosas, pelos o fimbrias. Estas estructuras cumplen diversas funciones como la unión, el intercambio genético y la motilidad por tirones.

2.14 • Las células procariotas pueden contener inclusiones de azufre, polifosfato o polímeros de carbono, o minerales que forman partículas magnéticas (magnetosomas). Estas sustancias actúan como material de almacenamiento o en la magnetotaxia.

2.15 • Las vesículas de gas son estructuras llenas de gas que confieren flotabilidad a las células. Están formadas por dos proteínas diferentes dispuestas constituyendo una estructura permeable a los gases pero impermeable al agua.

2.16 • La endospora es una célula bacteriana muy resistente y diferenciada producida por determinadas bacterias grampositivas. Las endosporas están deshidratadas y contienen dipicolinato cálcico y pequeñas proteínas solubles en ácido, que no se encuentran en las células vegetativas. Pueden permanecer durmientes indefinidamente, pero germinan con rapidez cuando las condiciones son adecuadas.

2.17 • La motilidad por natación es provocada por los flagelos. El flagelo está compuesto por diversas proteínas y anclado a la pared celular y a la membrana citoplasmática. En *Bacteria*, el filamento del flagelo está formado por la proteína flagelina y rota gracias a la fuerza protonmotriz. Los flagelos de *Archaea* y *Bacteria* se diferencian en la estructura y en el modo de acoplar la energía a la rotación.

2.18 • Las bacterias que se mueven por deslizamiento no utilizan flagelos rotatorios, sino que se arrastran por una superficie sólida utilizando diversos mecanismos, como la secreción de polisacáridos, los tirones o las proteínas deslizantes por rotación.

2.19 • Las bacterias móviles responden a gradientes físicos y químicos ambientales controlando la longitud de sus carreras y la frecuencia de sus vuelcos. Los vuelcos son controlados por el sentido de rotación del flagelo, que a su vez está controlado por una red de proteínas sensoriales y de respuesta.

2.20 • Los eucariotas microbianos contienen varios orgánulos como el núcleo, que es universal, las mitocondrias o los hidrogenosomas, y los cloroplastos. El núcleo contiene los cromosomas de la célula en forma de DNA lineal enrollado alrededor de unas proteínas llamadas histonas. Los eucariotas microbianos se dividen mediante el proceso de mitosis y pueden experimentar meiosis si se produce un ciclo vital haploide/diploide.

2.21 • La mitocondria y el hidrogenosoma son orgánulos generadores de energía de las células eucariotas. Las mitocondrias llevan a cabo la respiración aeróbica, y los hidrogenosomas fermentan el piruvato a H_2, CO_2 y acetato. Los cloroplastos son el lugar de producción de energía fotosintética y fijación de CO_2 en las células eucariotas. Estos orgánulos eran inicialmente bacterias independientes que establecieron su residencia permanente en el interior de células de *Eukarya* (endosimbiosis).

2.22 • Los retículos endoplasmáticos (RE) son estructuras membranosas eucarióticas que pueden tener adheridos ribosomas (RE rugoso) o no (RE liso). Los flagelos y los cilios son elementos de motilidad, y los lisosomas están especializados en degradar moléculas grandes. Los microtúbulos, los microfilamentos y los filamentos intermedios funcionan como andamios internos de la célula.

MasteringMicrobiology®

Revise lo que sabe y descubra lo que ha aprendido con MasteringMicrobiology. Acceda a material de estudio, revisiones de los capítulos, animaciones y tutoriales de microbiología práctica en el Área de Estudio y asegúrese de que ha asimilado todo el contenido de este capítulo.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Ácido dipicolínico: sustancia exclusiva de las endosporas que confiere resistencia a estas estructuras.

Ácido poli-β-hidroxibutírico (PHB): material de almacenamiento habitual en las células procariotas que consiste en un polímero de β-hidroxibutirato u otro ácido β-alcanoico, o mezclas de ácidos β-alcanoicos.

Ácido teicoico: polialcohol fosforilado que se encuentra en la pared celular de algunas bacterias grampositivas.

Capa S: la capa superficial más externa de la célula, compuesta por proteínas o glicoproteínas, presente en algunas bacterias y *Archaea*.

Cápsula: capa exterior de polisacáridos o proteínas, normalmente bastante viscosa, presente en algunas bacterias.

Ciclo de Calvin: serie de reacciones biosintéticas mediante las cuales la mayoría de los organismos fotosintéticos convierten el CO_2 en compuestos orgánicos.

Citoesqueleto: andamio celular típico de las células eucariotas, en el que los microtúbulos, los microfilamentos y los filamentos intermedios definen la forma de la célula.

Cloroplasto: orgánulo fotosintético de los eucariotas fotótrofos.

Crestas: membranas internas de una mitocondria.

Cuerpo basal: porción «motora» del flagelo bacteriano, embebida en la membrana citoplasmática y en la pared celular.

Endospora: estructura diferenciada con una pared gruesa y sumamente resistente al calor, producida por ciertas bacterias grampositivas.

Estroma: lumen del cloroplasto, rodeado por la membrana interna.

Filamento intermedio: polímero filamentoso de proteínas fibrosas de queratina, superenrrolladas en fibras más gruesas, que actúa manteniendo la forma de la célula y la posición de algunos orgánulos en la célula eucariota.

Flagelación perítrica: flagelos localizados en muchos lugares alrededor de la superficie celular.

Flagelación polar: flagelos localizados en uno o ambos polos de la célula.

Flagelo: apéndice celular largo y fino que rota (en las células procariotas) y es el responsable de la motilidad por natación.

Fototaxia: movimiento de un organismo hacia la luz.

Gramnegativa: célula bacteriana con una pared celular que contiene pequeñas cantidades de peptidoglicano y una membrana externa de lipopolisacáridos, lipotroteínas y otras macromoléculas complejas.

Grampositiva: célula bacteriana cuya pared celular está formada principalmente por peptidoglicano. Carece de la membrana externa de las células gramnegativas.

Hidrogenosoma: orgánulo de origen endosimbiótico presente en ciertos eucariotas microbianos, que oxida el piruvato a H_2, CO_2 y acetato, y acopla estas reacciones a la síntesis de ATP.

Hipótesis endosimbiótica: idea según la cual las mitocondrias y los cloroplastos se originaron a partir de bacterias.

Histonas: proteínas muy básicas que compactan y enrollan el DNA en el núcleo de las células eucariotas.

Lipopolisacárido (LPS): combinación de lípidos con polisacáridos y proteínas que forma la porción principal de la membrana externa en las bacterias gramnegativas.

Lisosoma: orgánulo que contiene enzimas digestivos para la hidrólisis de proteínas, grasas y polisacáridos.

Magnetosoma: partícula de magnetita (Fe_3O_4) rodeada por una membrana no unitaria en el citoplasma de las bacterias magnetotácticas.

Meiosis: división nuclear que reduce a la mitad el número diploide de cromosomas y lo convierte en haploide.

Membrana citoplasmática: barrera de permeabilidad de la célula, que separa el citoplasma del ambiente.

Membrana externa: membrana unitaria formada por fosfolípidos y polisacáridos que está situada fuera de la capa de peptidoglicano en las células de las bacterias gramnegativas.

Microfilamento: polímero filamentoso de actina que ayuda a mantener la forma de las células eucariotas.

Microtúbulo: polímero filamentoso de las proteínas α-tubulina y β-tubulina que actúa dando forma y motilidad a las células eucariotas.

Mitocondria: orgánulo respiratorio de los organismos eucariotas.

Mitosis: división nuclear en las células eucariotas por la cual los cromosomas se replican y se reparten en dos células hijas durante la división celular.

Morfología: *forma* de una célula: bacilo, coco, espirilo, etcétera.

Núcleo: orgánulo que contiene los cromosomas en una célula eucariota.

Pelos (o pili): estructuras largas y filamentosas que se extienden desde la superficie de la célula y, según el tipo, facilitan la adherencia celular, el intercambio genético o la motilidad por tirones.

Peptidoglicano: polisacárido compuesto de repeticiones de unidades alternas de *N*-acetilglucosamina y ácido *N*-acetilmurámico, dispuestas en capas adyacentes y entrecruzadas por pequeños péptidos.

Periplasma: región gelatinosa entre la cara externa de la membrana citoplasmática y la cara interna de la capa de lipopolisacárido de las bacterias gramnegativas.

Quimiotaxia: movimiento dirigido de un organismo hacia una mayor concentración de una determinada sustancia (quimiotaxia positiva) o en sentido contrario (quimiotaxia negativa).

Resolución: capacidad para distinguir dos objetos como independientes y separados cuando se observan al microscopio.

Sistema de transporte ABC: sistema de transporte de membrana formado por tres proteínas, una de las cuales hidroliza ATP; el sistema transporta nutrientes específicos a la célula.

Sistema de transporte simple: transportador formado únicamente por una proteína transmembranaria y normalmente impulsado por energía procedente de la fuerza protonmotriz.

Tilacoide: capa de membrana que contiene los pigmentos fotosintéticos en los cloroplastos.

Tinción de Gram: procedimiento de tinción diferencial que tiñe las células de

color morado (células grampositivas) o rosa (células gramnegativas).

Translocación de grupo: sistema de transporte dependiente de energía en el que la sustancia transportada se modifica químicamente durante el proceso de transporte por parte de un grupo de proteínas.

Vesículas de gas: estructuras citoplasmáticas llenas de gas y rodeadas por una membrana, que confieren flotabilidad a las células.

PREGUNTAS DE REPASO

1. ¿Qué diferencia hay entre aumento y resolución? ¿Puede aumentar uno sin que aumente la otra? (Sección 2.1)
2. ¿Cuál es la función de la tinción en la microscopía óptica? ¿Cuál es la ventaja de la microscopía de contraste de fases frente a la microscopía de campo claro? ¿Cuál es la ventaja de la microscopía DIC sobre la microscopía de campo claro? (Secciones 2.2. y 2.3)
3. ¿Cuál es la ventaja principal de la microscopía electrónica sobre la óptica? ¿Qué tipo de microscopio electrónico usaría para observar los rasgos tridimensionales de una célula? (Sección 2.4)
4. ¿Cuáles son los principales tipos de morfología de los procariotas? Dibuje una célula con cada uno de ellos. (Sección 2.5)
5. ¿Cuál es el tamaño máximo que puede tener una célula procariota? ¿Y el mínimo? ¿Por qué sabemos el límite inferior con más precisión que el límite superior? ¿Cuáles son las dimensiones de la bacteria en forma de bacilo *Escherichia coli*? (Sección 2.6)
6. Describa en una sola frase la estructura de una membrana unitaria. (Sección 2.7)
7. Describa las principales diferencias estructurales entre las membranas de *Bacteria* y de *Archaea*. (Sección 2.7)
8. Explique en una sola frase por qué las moléculas ionizadas no atraviesan la membrana citoplasmática por difusión. ¿Cómo pueden atravesarla? (Seccion 2.8)
9. Las células de *Escherichia coli* captan la lactosa mediante la permeasa lac, la glucosa mediante el sistema de la fosfotransferasa y la maltosa mediante un transportador tipo ABC. Describa, para cada uno de estos azúcares: 1) los componentes del sistema de transporte y 2) la fuente de energía que alimenta el proceso. (Sección 2.9)
10. ¿Por qué la capa rígida de la pared celular bacteriana se llama peptidoglicano? ¿Cuáles son las razones estructurales de la rigidez que el peptidoglucano aporta a la pared celular? (Sección 2.10)
11. Cite varias funciones de la membrana externa de las bacterias gramnegativas. ¿Cuál es la composición química de la membrana externa? (Sección 2.11)
12. ¿Qué polisacárido de la pared celular común en *Bacteria* no se encuentra en *Archaea*? ¿Qué tienen de inusual las capas S en comparación con otras paredes de los procariotas? ¿Qué tipos de pared celular se encuentran en *Archaea*? (Sección 2.12)
13. ¿Qué funciones tienen las capas de polisacáridos del exterior de la pared celular en los procariotas? (Sección 2.13)
14. ¿Qué tipos de inclusiones citoplasmáticas se forman en los procariotas? ¿En qué se diferencia una inclusión de ácido poli-β-hidroxibutírico de un magnetosoma en cuanto a composición y función metabólica? (Sección 2.15)
15. ¿Qué función tienen las vesículas de gas? ¿Qué característica estructural les permite retener el gas en su interior? (Sección 2.15)
16. Indique sucintamente en qué se diferencian las endosporas bacterianas de las células vegetativas en cuanto a estructura, composición química y capacidad para resistir condiciones ambientales extremas. (Sección 2.16)
17. Defina los términos siguientes: endospora madura, célula vegetativa y germinación. (Sección 2.16)
18. Describa la estructura y la función de un flagelo bacteriano. ¿Cuál es su fuente de energía? ¿En qué se diferencian los flagelos de *Bacteria* de los de *Archaea* en cuanto a tamaño y composición? (Sección 2.17)
19. Compare los mecanismos de motilidad que utilizan *Flavobacterium* y *Escherichia coli*. (Secciones 2.17 y 2.18)
20. Explique sucintamente cómo detecta una bacteria móvil la dirección en la que se encuentra una sustancia atrayente y cómo se mueve hacia él. (Sección 2.19)
21. En el experimento descrito en la Figura 2.58, ¿qué es el control y por qué es esencial? (Sección 2.19)
22. Cite al menos tres características de las células eucariotas que las distinguen claramente de las procariotas. ¿Qué son las histonas y qué función tienen? (Sección 2.20)
23. ¿En qué se parecen la estructura de una mitocondria y la de un hidrogenosoma? ¿En qué se diferencian? ¿En qué se diferencian metabólicamente estos orgánulos? (Sección 2.21)
24. ¿Qué procesos fisiológicos importantes tienen lugar en el cloroplasto? (Sección 2.21)
25. ¿Qué pruebas existen que respalden la idea de que los orgánulos principales de los eucariotas fueron antes bacterias? (Sección 2.21)
26. Describa las funciones de los siguientes elementos de las células eucariotas: retículo endoplasmático, aparato de Golgi y lisosomas. (Sección 2.22)

EJERCICIOS PRÁCTICOS

1. Calcule el tamaño del objeto más pequeño que puede resolverse si se utiliza una luz de 600 nm (roja) para observar una muestra con una lente de aceite de inmersión de 100 aumentos y una apertura numérica de 1,32. ¿Cómo podríamos mejorar la resolución utilizando esta misma lente?
2. Calcule la relación superficie/volumen de una célula esférica de 15 µm de diámetro y de una célula de 2 µm de diámetro. ¿Qué consecuencias tienen estas diferencias de relación superficie/volumen en la actividad de la célula?
3. Suponga que tiene dos cultivos, uno de una especie de bacterias gramnegativas y uno de una especie de *Archaea*. Indique al menos cuatro formas diferentes de saber qué cultivo es cada uno.
4. Calcule el tiempo que tardaría una célula de *Escherichia coli* (1 × 2 µm) nadando a velocidad máxima (60 veces la longitud de la célula por segundo) para recorrer los 3 cm de longitud de un capilar que contiene una sustancia química atrayente.
5. Suponga que tiene dos cultivos de bacterias en forma de bacilo, uno grampositivo y el otro gramnegativo. Indique cómo podría diferenciarlos usando *a*) un microscopio óptico; *b*) un microscopio electrónico; *c*) análisis químicos de la pared celular; y *d*) análisis filogenéticos.

CAPÍTULO

3 · Metabolismo microbiano

microbiología **actual**

Una sorpresa metabólica

Con frecuencia, los estudiantes tienen la impresión de que, en lo que respecta al metabolismo, ya se sabe todo y que no queda nada por descubrir. Esto ocurre, sobre todo, cuando estudian las rutas metabólicas clásicas, como el ciclo del ácido cítrico (o ciclo de Krebs), una serie importante de reacciones que llevan a cabo todas las células y cuyos detalles se explican en este capítulo. Es solo «otra aburrida ruta metabólica» cuya bioquímica se dilucidó hace muchos años, ¿verdad?

Pues no. Durante años, los microbiólogos han estado desconcertados por la ausencia de dos enzimas fundamentales del ciclo del ácido cítrico (CAC) en determinados procariotas, en concreto en las cianobacterias. Las cianobacterias (en la foto) son fotótrofos oxigénicos cuya actividad fotosintética oxigenó la Tierra hace miles de millones de años y posibilitó así la aparición de formas de vida superiores. Pero la ausencia en las cianobacterias de las enzimas del CAC α-cetoglutarato-deshidrogenasa y succinil CoA-sintetasa (enzimas que funcionan coordinadas para convertir el α-cetoglutarato en succinato) las etiquetó durante mucho tiempo como organismos «con un CAC incompleto». ¿Es esto realmente cierto?

Un grupo de microbiólogos de la Penn State University (EE. UU.) volvió a investigar esta extraña situación y, utilizando una combinación de genómica y bioquímica, descubrieron un nuevo paradigma para el CAC[1]. Resulta que las cianobacterias *sí* que realizan el CAC completo, pero convierten el α-cetoglutarato a succinato utilizando dos enzimas nuevas previamente desconocidas. Por alguna razón, la evolución ha seleccionado estas enzimas en lugar de las canónicas para completar el CAC en las cianobacterias y en unos pocos procariotas más en los que también se han descubierto los genes que codifican estas enzimas.

Además de resolver un gran misterio metabólico, esta investigación demuestra el poder de combinar los análisis genómicos con la bioquímica y una buena intuición científica. Este estudio también nos recuerda la importancia de entender los metabolismos clásicos como base para descubrir metabolismos nuevos en el mundo microbiano.

[1] Zhang, S., y D. A. Bryant. 2011. The tricarboxylic acid cycle in cyanobacteria. *Science 334*: 1551-1553.



I Cultivo de microorganismos en el laboratorio 78
II Energética, enzimas y redox 83
III Fermentación y respiración 90
IV Biosíntesis 101

I • Cultivo de microorganismos en el laboratorio

Para cultivar microorganismos en el laboratorio es necesario suministrarles todos los nutrientes que precisan. Los requisitos nutricionales son muy variados, y es necesario conocer los principios de la nutrición microbiana para cultivar con éxito microorganismos. En este apartado nos centraremos en algunos principios generales de la nutrición microbiana, y después ampliaremos estos conceptos en el Capítulo 13, en el que mostraremos la amplia diversidad metabólica del mundo microbiano.

3.1 Química celular y nutrición

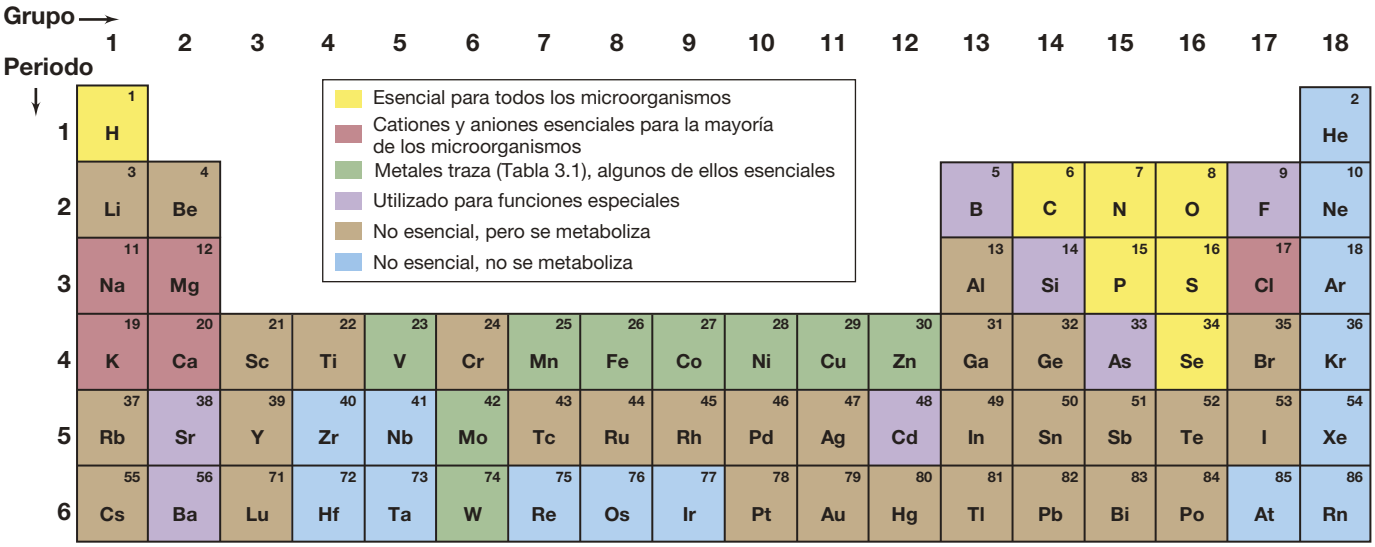
Los organismos diferentes necesitan nutrientes diferentes, y no todos los nutrientes se necesitan en las mismas cantidades. Algunos, llamados *macronutrientes*, son necesarios en gran cantidad, y otros, llamados *micronutrientes*, solamente en cantidades traza.

Composición química de la célula

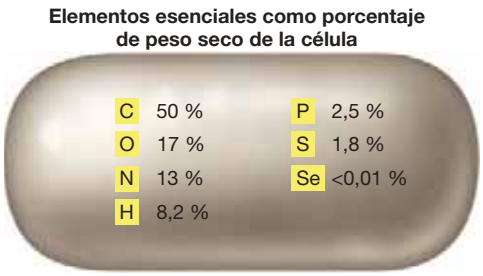
Todos los nutrientes microbianos están formados a partir de elementos químicos. No obstante, solo un pequeño grupo de elementos domina los sistemas vivos y son esenciales: hidrógeno (H), oxígeno (O), carbono (C), nitrógeno (N), fósforo (P), azufre (S) y selenio (Se). Además de estos, hay al menos otros cincuenta elementos que, aunque no son necesarios, son metabolizados por los microorganismos (**Figura 3.1**).

Además del agua, que constituye el 70-80 % del peso húmedo de una célula microbiana (una célula individual de *Escherichia coli* pesa solo 10^{-12} g), una célula está formada principalmente por macromoléculas: proteínas, ácidos nucleicos, lípidos y polisacáridos; los bloques estructurales (monómeros) de estas macromoléculas son los aminoácidos, los nucleótidos, los ácidos grasos y los azúcares, respectivamente. Las proteínas dominan la composición macromolecular de una célula, de la que constituyen hasta el 55 % del peso seco total. Además, la diversidad proteínica supera la de todas las otras macromoléculas juntas. Sorprendentemente, con lo importante que es el DNA para la célula, contribuye en un porcentaje muy pequeño a su peso seco; el RNA es bastante más abundante (Figura 3.1*c*).

Los datos que se muestran en la Figura 3.1 proceden de análisis reales de células de *E. coli*; son datos que varían un poco de



(a)



(b)

Composición macromolecular de una célula

Macromolécula	Porcentaje de peso seco
Proteínas	55
Lípidos	9,1
Polisacáridos	5,0
Lipopolisacáridos	3,4
DNA	3,1
RNA	20,5

(c)

Figura 3.1 Composición elemental y macromolecular de una célula bacteriana. *(a)* Tabla periódica microbiana de los elementos. A excepción del uranio, que es metabolizado solo por algunos procariotas, no se tiene constancia de que los elementos del período 7 o posteriores de la tabla periódica sean metabolizados. *(b)* Contribución de los elementos esenciales al peso seco de una célula. *(c)* Abundancia relativa de macromoléculas en una célula bacteriana. Datos de *(b)* de: *Aquat. Microb. Ecol. 10*: 15-27 (1996) y de *(c)* de: Escherichia coli *y* Salmonella typhimurium*: Cellular and Molecular Biology*. ASM, Washington, DC (EE. UU.) (1996).

un microorganismo a otro. Pero para cualquier célula microbiana el carbono y el nitrógeno son macronutrientes importantes, de manera que empezaremos nuestro estudio de la nutrición microbiana con estos elementos fundamentales.

Carbono, nitrógeno y otros macronutrientes

Todas las células necesitan carbono, y la mayoría de los procariotas requieren compuestos *orgánicos* (que contienen carbono) como fuente de este elemento. Aproximadamente el 50 % del peso seco de una célula bacteriana es carbono (Figura 3.1*b*). El carbono se obtiene de aminoácidos, ácidos grasos, ácidos orgánicos, azúcares, bases nitrogenadas, compuestos aromáticos y otros innumerables compuestos orgánicos. Algunos microorganismos son autótrofos y construyen sus estructuras celulares a partir de dióxido de carbono (CO_2).

Una célula bacteriana tiene aproximadamente un 13 % de nitrógeno, presente en proteínas, ácidos nucleicos y otros constituyentes celulares. La mayor parte del nitrógeno disponible en la naturaleza está en forma de amoniaco (NH_3), nitrato (NO_3^-) o gas nitrógeno (N_2). Prácticamente todos los procariotas pueden usar el NH_3 como fuente de nitrógeno, muchos utilizan también el NO_3^-, y algunos las fuentes de nitrógeno orgánico, como los aminoácidos. El N_2 como fuente de nitrógeno solo lo utilizan los procariotas fijadores de nitrógeno (Sección 3.17).

Además de C, N, y O y H (del H_2O), las células necesitan otros muchos macronutrientes, pero normalmente en cantidades menores (Figura 3.1*b*). El fósforo es necesario para los ácidos nucleicos y los fosfolípidos, y normalmente se suministra a la célula en forma de fosfato (PO_4^{3-}). El azufre está presente en los aminoácidos cisteína y metionina, así como en varias vitaminas, como la tiamina, la biotina y el ácido lipoico, y las células lo toman en forma de sulfato (SO_4^{2-}). El potasio (K) es necesario para la actividad de varias enzimas, y el magnesio (Mg) para estabilizar los ribosomas, las membranas y los ácidos nucleicos, y también es necesario para la actividad de muchas enzimas. El calcio (Ca) y el sodio (Na) son nutrientes esenciales solo para unos pocos organismos; el sodio en concreto para microorganismos marinos.

Micronutrientes: metales traza y factores de crecimiento

Los microorganismos necesitan algunos metales para crecer, normalmente en cantidades muy pequeñas que, por tanto, forman parte de los requisitos de *micronutrientes* (Figura 3.1*a*). El principal de estos metales es el hierro (Fe), que tiene una función muy importante en la respiración celular. El hierro es un componente fundamental de los citocromos y de las proteínas de hierro y azufre que actúan en las reacciones de transporte de electrones (Sección 3.10). Además del hierro, los microorganismos necesitan o metabolizan otros muchos metales (Figura 3.1*a*). En conjunto, estos micronutrientes reciben el nombre de *elementos traza* o *metales traza*. Los elementos traza suelen actuar como cofactores de las enzimas. En la **Tabla 3.1** se

Tabla 3.1 Micronutrientes que necesitan los microorganismos[a]

I. Elementos traza		II. Factores de crecimiento	
Elemento	*Función*	*Factor de crecimiento*	*Función*
Boro (B)	Autoinductor de la percepción de quórum en las bacterias; también se encuentra en algunos antibióticos policétidos	PABA (ácido *p*-aminobenzoico)	Precursor del ácido fólico
Cobalto (Co)	Vitamina B_{12}; transcarboxilasa (solo en las bacterias del ácido propiónico)	Ácido fólico	Metabolismo de compuestos de un solo carbono; transferencias de grupos metilo
Cobre (Cu)	En la respiración, citocromo *c*-oxidasa; en la fotosíntesis, plastocianina, algunas superóxido-dismutasas	Biotina	Biosíntesis de ácidos grasos; algunas reacciones de fijación de CO_2
Hierro (Fe)[b]	Citocromos; catalasas; peroxidasas; proteínas de hierro y azufre; oxigenasas; todas las nitrogenasas	B_{12} (cobalamina)	Metabolismo de compuestos de un solo carbono; síntesis de desoxirribosa
Manganeso (Mn)	Activador de muchas enzimas; componente de ciertas superóxido-dismutasas y de la enzima que disocia el agua en los fotótrofos oxigénicos (fotosistema II)	B_1 (tiamina)	Reacciones de descarboxilación
Molibdeno (Mo)	Algunas enzimas que contienen flavinas; algunas nitrogenasas, nitrato-reductasas, sulfito-oxidasas, DMSO-TMAO-reductasas; algunas formiato-deshidrogenasas	B_6 (piridoxal)	Transformaciones aminoácido/cetoácido
Níquel (Ni)	La mayoría de las deshidrogenasas; coenzima F_{430} de los metanógenos; monóxido de carbono-deshidrogenasa; ureasa	Ácido nicotínico (niacina)	Precursor de NAD^+
Selenio (Se)	Formiato-deshidrogenasa; algunas hidrogenasas; el aminoácido selenocisteína	Riboflavina	Precursor de FMN, FAD
Tungsteno (W)	Algunas formiato-deshidrogenasas; oxotransferasas de los hipertermófilos	Ácido pantoténico	Precursor del coenzima A
Vanadio (V)	Vanadio-nitrogenasa; bromoperoxidasa	Ácido lipoico	Descarboxilación de piruvato y α-cetoglutarato
Zinc (Zn)	Anhidrasa carbónica; polimerasas de los ácidos nucleicos; muchas proteínas de unión a DNA	Vitamina K	Transporte de electrones

[a]No todos los elementos traza o factores de crecimiento son necesarios para todos los organismos.
[b]El hierro es necesario normalmente en mayor cantidad que el resto de metales traza que se muestran.

enumeran los elementos traza más importantes y se dan ejemplos de las enzimas en las que desempeñan alguna función.

Los *factores de crecimiento* son micronutrientes orgánicos (Tabla 3.1). Entre los más habituales se encuentran las vitaminas, pero los aminoácidos, las purinas y pirimidinas y otras moléculas orgánicas pueden ser factores de crecimiento para algunos microorganismos. Las vitaminas son los más habituales, y algunas de ellas están incluidas en la Tabla 3.1. La mayoría funcionan como coenzimas, que son componentes no proteínicos de las enzimas (Sección 3.5). Los requisitos vitamínicos varían de unos microorganismos a otros. Las bacterias del ácido láctico, que incluyen los géneros *Streptococcus*, *Lactobacillus* y *Leuconostoc* (↻ Sección 15.6), son conocidas por su gran necesidad de vitaminas, incluso mayor que la de los humanos (véase la **Tabla 3.2**).

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué cuatro elementos químicos constituyen la parte mayoritaria del peso seco de una célula?
- ¿Qué dos clases de macromoléculas contienen la mayor parte del nitrógeno de una célula?
- Señale la diferencia entre «elementos traza» y «factores de crecimiento».

3.2 Medios de cultivo y laboratorios

Un **medio de cultivo** es una solución nutritiva que se utiliza para cultivar microorganismos. Como los cultivos de laboratorio son necesarios para el estudio detallado de los microorganismos, hay que poner mucha atención en la elección y preparación de los medios para que los cultivos prosperen.

Clases de medios de cultivo

En microbiología se utilizan dos grandes clases de medios de cultivo: los definidos y los complejos. Los **medios definidos** se preparan añadiendo cantidades precisas de productos orgánicos o inorgánicos puros a agua destilada. Por tanto, en un medio definido se conoce la *composición exacta* (tanto en sentido cualitativo como cuantitativo). En cualquier medio de cultivo es fundamental la fuente de carbono, porque todas las células necesitan grandes cantidades de este elemento para elaborar nuevo material celular (Figura 3.1). La fuente concreta de carbono y su concentración dependen del organismo que se va a cultivar. En la Tabla 3.2 se presentan las recetas para cuatro medios de cultivo. Algunos medios , como el que se cita para *Escherichia coli*, se consideran «simples» porque contienen una sola fuente de carbono. En este medio, las células de *E. coli* sintetizan todas sus moléculas orgánicas a partir de glucosa.

Si se desea cultivar muchos microorganismos, no es esencial conocer la composición exacta de un medio. En estos casos, es suficiente con un medio complejo, e incluso puede resultar ventajoso. Los **medios complejos** están hechos con hidrolizados de productos microbianos, animales o vegetales, como caseína (proteína láctea), carne (extracto de carne), soja (caldo tríptico de soja), células de levadura (extracto de levadura), o

Tabla 3.2 Ejemplos de medios de cultivo para microorganismos con requisitos nutricionales simples y exigentes[a]

Medio de cultivo definido para Escherichia coli	*Medio de cultivo definido para* Leuconostoc mesenteroides	*Medio de cultivo complejo para* E. coli *o* L. mesenteroides	*Medio de cultivo definido para* Thiobacillus thioparus
7 g de K_2HPO_4	0,6 g deK_2HPO_4	15 g de glucosa	0,5 g deKH_2PO_4
2 g de KH_2PO_4	0,6 g deKH_2PO_4	5 g de extracto de levadura	0,5 g deNH_4Cl
1 g de $(NH_4)_2SO_4$	3 g deNH_4Cl	5 g de peptona	0,1 g de $MgSO_4$
0,1 g de $MgSO_4$	0,1 g de $MgSO_4$	2 g de KH_2PO_4	0,05 g de$CaCl_2$
0,02 g de $CaCl_2$	25 g de glucosa	1.000 ml de agua destilada	0,5 g deKCl
4-10 g de glucosa	Acetado sódico 25 g	pH 7	2 g de $Na_2S_2O_3$
Elementos traza (Fe, Co, Mn, Zn, Cu, Ni, Mo) 2-10 µg de cada	Aminoácidos (alanina, arginina, asparagina, aspartato, cisteína, glutamato, glutamina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina, valina) 100-200 µg de cada		Elementos traza (como en la primera columna)
1.000 ml de agua destilada	Purinas y pirimidinas (adenina, guanina, uracilo, xantina) 10 mg de cada		1.000 ml de agua destilada
pH 7	Vitaminas (biotina, folato, ácido nicotínico, piridoxal, piridoxamina, piridoxina, riboflavina, tiamina, pantotenato, ácido *p*-aminobenzoico) 0,01-1 mg de cada		pH 7
	Elementos traza (como en la primera columna) 2-10 µg de cada		Fuente de carbono: CO_2 del aire
	1.000 ml de agua destilada		
	pH 7		



(a)



(b)

[a]Las fotos son tubos de *(a)* el medio definido descrito, y *(b)* el medio complejo descrito. Nota cómo el medio complejo de color de los diversos extractos orgánicos y digiere que contiene. Créditos de las fotos: Cheryl L. Broadie y John Vercillo, Southern Illinois University en Carbondale.

algún otro de una larga serie de sustancias altamente nutritivas. Estos hidrolizados están disponibles comercialmente en forma deshidratada y solo hay que rehidratarlos para obtener el medio de cultivo. No obstante, la desventaja de los medios complejos es que se desconoce su composición nutricional exacta. Un *medio enriquecido* empieza como medio complejo y después se va complementando con sustancias de alto poder nutritivo como suero o sangre. Este medio se utiliza para el cultivo de microorganismos nutricionalmente exigentes, muchos de los cuales son patógenos,

A veces se preparan medios de cultivo selectivos o diferenciales (o ambos), especialmente los medios que se utilizan en microbiología diagnóstica. Un *medio selectivo* contiene compuestos que inhiben el crecimiento de algunos microorganismos pero no de otros. Por ejemplo, existen medios selectivos para el aislamiento de determinados patógenos, como cepas de *Salmonella* o *Escherichia coli* que provocan infecciones de transmisión alimentaria. En un *medio diferencial* se añade un indicador, normalmente un colorante, que mediante un cambio de color nos señala que durante el crecimiento se ha producido una reacción metabólica determinada. Los medios diferenciales son útiles para distinguir las bacterias, y se usan mucho en los diagnósticos clínicos y en microbiología sistemática. En el Capítulo 27 hablaremos más extensamente de los medios diferenciales y los selectivos.

Requisitos nutricionales y capacidad biosintética

De las cuatro recetas de la Tabla 3.2, tres son definidas y una compleja. El medio complejo es el más fácil de preparar y propicia el crecimiento de *Escherichia coli* y de *Leuconostoc mesenteroides*, los ejemplos usados en la tabla. En cambio, el medio simple definido propicia el crecimiento de *E. coli* pero no de *L. mesenteroides*. Para que este último crezca en un medio definido hay que añadir varios nutrientes que *E. coli* no necesita. Las necesidades nutricionales de *L. mesenteroides* pueden satisfacerse preparando un medio definido muy complementado, lo cual es bastante laborioso por todos los nutrientes individuales que hay que añadir (Tabla 3.2), o bien preparando un medio complejo, que es un trabajo mucho menos arduo.

El cuarto medio de la Tabla 3.2 permite el crecimiento de la bacteria del azufre *Thiobacillus thioparus*; este medio no permitiría el crecimiento de ninguno de los otros organismos, ya que *T. thioparus* es a la vez quimiolitótrofo y autótrofo, de manera que no tiene necesidad de carbono orgánico. *T. thioparus* obtiene todo su carbono del CO_2 y su energía de la oxidación del tiosulfato ($Na_2S_2O_3$). Por tanto, *T. thioparus* tiene la mayor capacidad biosintética de todos los organismos de la tabla, superando incluso a *E. coli* en este aspecto.

Lo importante de la Tabla 3.2 es que diferentes microorganismos pueden tener requisitos nutricionales muy distintos. Para conseguir que el cultivo prospere es necesario entender los requisitos nutricionales de un organismo y satisfacerlos con los nutrientes que necesita en la forma y la cantidad adecuadas.

Cultivo de laboratorio

Una vez preparado un medio de cultivo y esterilizado para eliminar cualquier forma de vida de él, se pueden inocular organismos e incubar el cultivo en condiciones que propicien el crecimiento (**Figura 3.2**). En el laboratorio, la inoculación se hará

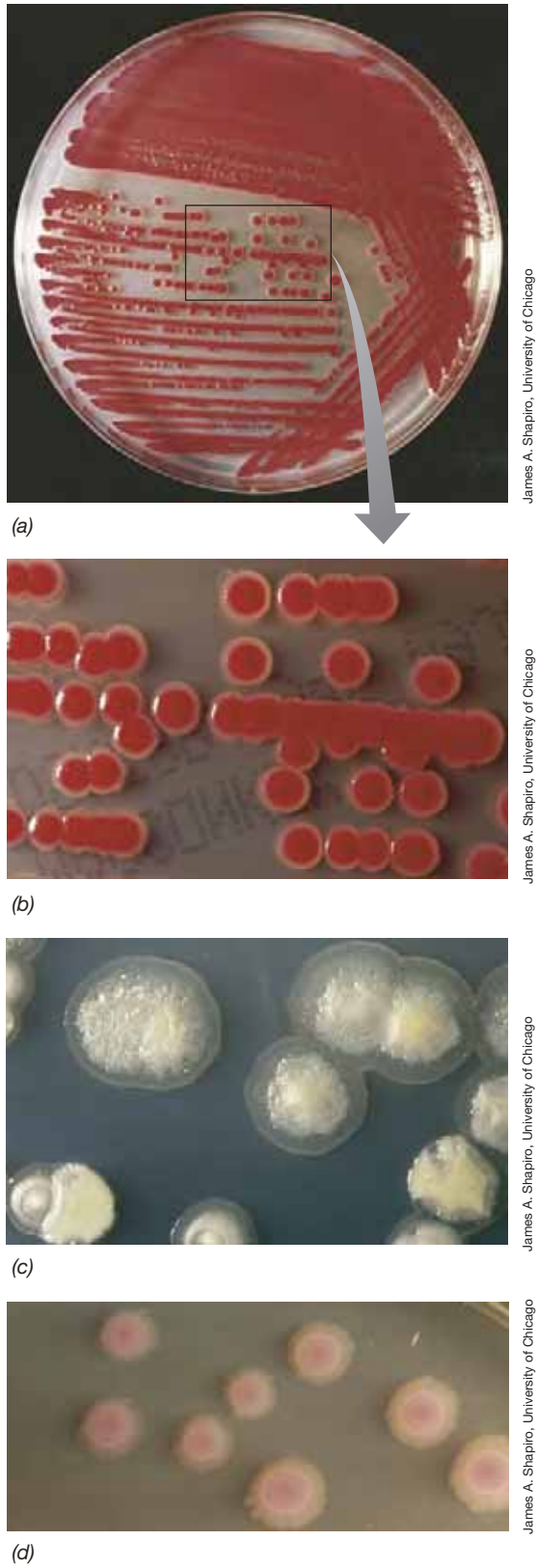


Figura 3.2 Colonias bacterianas. Las colonias son masas visibles que pueden contener más de mil millones (10^9) de células individuales y se forman a partir de solo unas pocas. *(a) Serratia marcescens*, cultivada en agar MacConkey. *(b)* Detalle de colonias enmarcadas en *a. (c) Pseudomonas aeruginosa* cultivada en agar tripticasa de soja. *(d) Shigella flexneri* cultivada en agar MacConkey.



Figura 3.3 **Transferencia aséptica.** Una vez que el tubo se tapa de nuevo al final, el asa se vuelve a esterilizar antes de guardarla.

normalmente con un cultivo puro y en un medio de cultivo líquido o sólido. Los medios líquidos se solidifican con agar, generalmente del 1-2 %. Los medios sólidos inmovilizan las células y les permiten crecer y formar masas visibles y aisladas llamadas *colonias* (Figura 3.2). Las colonias microbianas tienen formas y tamaños diversos en función del organismo, las condiciones de cultivo, el suministro de nutrientes y otros parámetros fisiológicos. Algunos microorganismos producen pigmentos que hacen que toda la colonia esté coloreada (Figura 3.2). Las colonias permiten al microbiólogo visualizar la composición y la supuesta pureza del cultivo. Las placas que contienen más de una clase de colonia indican un cultivo contaminado.

Los medios de cultivo deben esterilizarse antes de su uso, y la esterilización se consigue calentando el medio en un *autoclave*. En la Sección 5.17 explicamos el funcionamiento y los principios del autoclave, junto con otros métodos de esterilización. Una vez que se ha preparado el medio de cultivo estéril, está listo para ser inoculado. Esto precisa de una **técnica aséptica** (Figuras 3.3 y 3.4), una serie de pasos para impedir la contaminación durante la manipulación de los cultivos y medios de cultivo estériles. Se necesita dominar la técnica aséptica para mantener los cultivos puros, porque los contaminantes aéreos están prácticamente en todas partes (Figuras 3.3 y 3.4). El método principal para obtener cultivos puros a partir de muestras líquidas con varios organismos diferentes es tomar una colonia aislada y sembrarla por estría, que es un procedimiento habitual en el laboratorio de microbiología. Se han desarrollado otras técnicas de obtención de cultivos puros que son especialmente adecuadas para grupos concretos de bacterias con requisitos de crecimiento inusuales; estas técnicas se explican en la Sección 18.2.

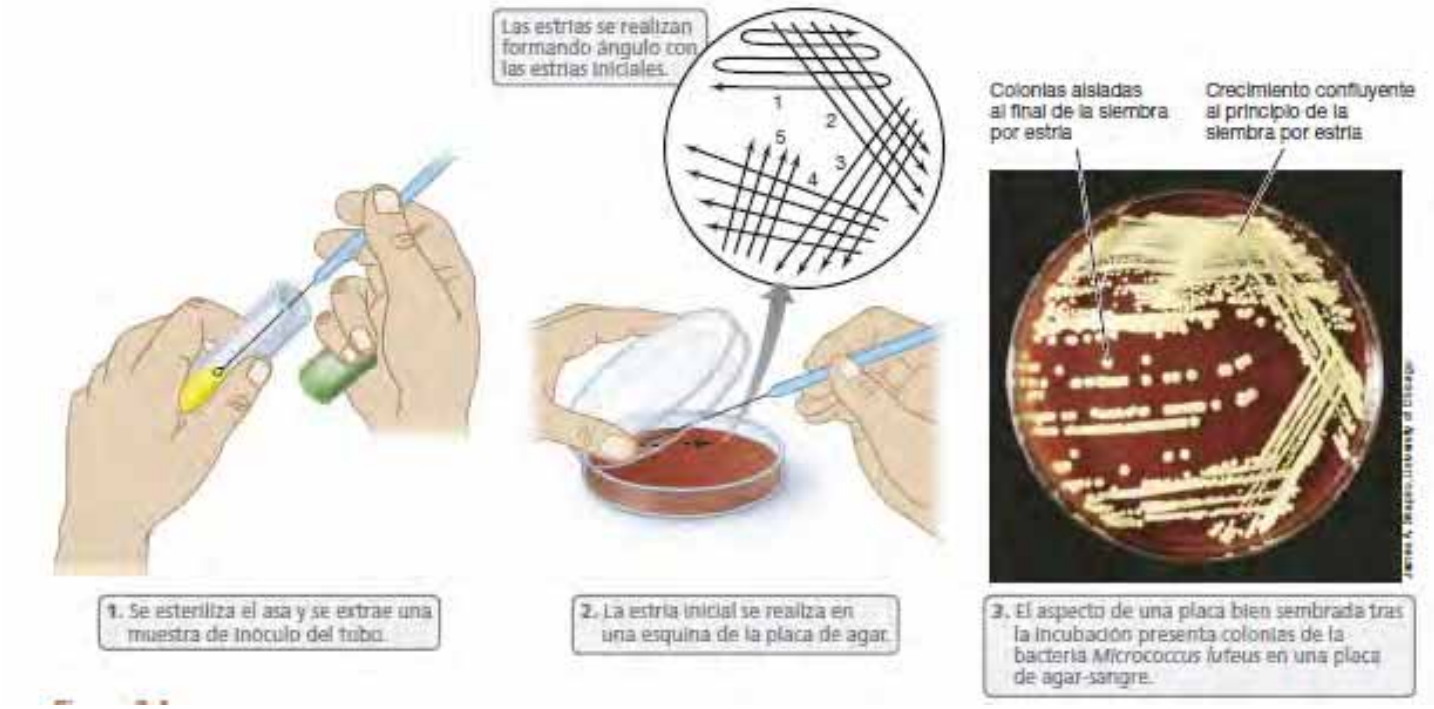


Figura 3.4 **Método para obtener cultivos puros mediante la siembra por estría en placa.**
La tapa de la placa se debe abrir solo lo necesario para realizar las estrías.

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué un medio de cultivo complejo para *Leuconostoc mesenteroides* es más fácil de preparar que un medio químicamente definido?
- ¿En qué medio de los que se muestran en la Tabla 3.2, definido o complejo, crecerá más rápidamente *E. coli*? ¿Por qué? *E. coli* no crecerá en el medio descrito para *Thiobacillus thioparus*. ¿Por qué?
- ¿Qué significa la palabra *estéril*? ¿Por qué es necesaria la técnica aséptica para cultivar cultivos puros con éxito en el laboratorio?

II • Energética, enzimas y redox

Para poder crecer, todos los microorganismos deben conservar una parte de la energía liberada en las reacciones. En esta sección trataremos de los principios de conservación de energía, teniendo en cuenta las diferentes clases de microorganismos en función de su fuente de energía, y utilizaremos algunas leyes sencillas de la química y de la física para mejorar nuestra comprensión de la bioenergética.

3.3 Clases de microorganismos según su fuente de energía

Las reacciones de obtención de energía constituyen una parte del metabolismo llamada **catabolismo**. Hablaremos aquí de las distintas clases de energía que usan los microorganismos, señalando sus similitudes y sus diferencias. Los términos utilizados para describir las clases de energía de los microorganismos son importantes y volverán a aparecer muchas veces a lo largo del libro.

Quimioorganótrofos y quimiolitótrofos

Los organismos que obtienen su energía a partir de compuestos químicos se llaman *quimiótrofos*, y los que utilizan compuestos *orgánicos* son **quimioorganótrofos** (Figura 3.5). La mayoría de los microorganismos que se han cultivado en laboratorio son quimioorganótrofos. Son muchos los compuestos orgánicos que pueden utilizar los distintos microorganismos, y prácticamente en todos los casos la energía se obtiene por la *oxidación* del compuesto. La energía obtenida es atrapada por la célula en los enlaces de alta energía del compuesto trifosfato de adenosina (ATP).

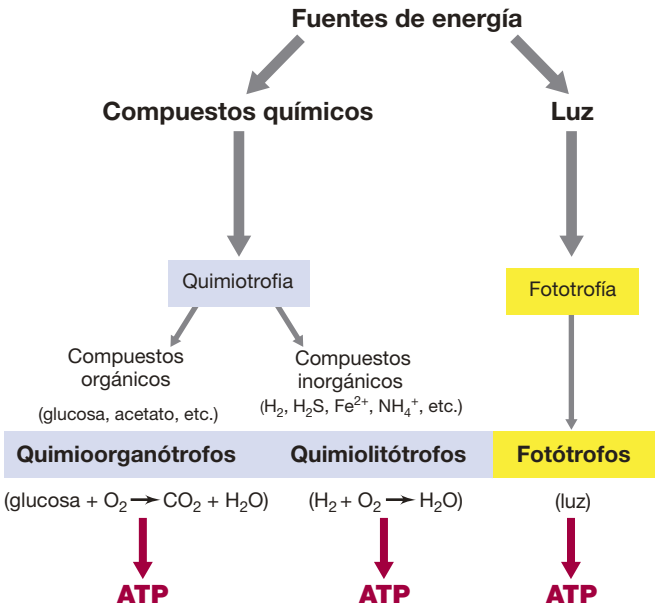


Figura 3.5 Opciones metabólicas de conservación de energía. Los tres tipos de metabolismo de conservación de energía se encuentran en el mundo microbiano.

Algunos microorganismos pueden obtener energía de un compuesto orgánico solo en presencia de oxígeno; estos organismos reciben el nombre de *aerobios*. Otros solamente pueden hacerlo en ausencia de oxígeno (y son *anaerobios*). Otros pueden degradar los compuestos orgánicos tanto en presencia como en ausencia de oxígeno (son los *aerobios facultativos*). Trataremos estas opciones con más detalle en la Sección 5.16.

Muchas *Bacteria* y *Archaea* pueden utilizar la energía liberada en la oxidación de compuestos *inorgánicos*. Esta forma de metabolismo se conoce como *quimiolitotrofia*, y fue descubierta por el microbiólogo ruso Sergei Winogradsky (↬ Sección 1.9). Los organismos que llevan a cabo reacciones quimiolitotróficas se llaman **quimiolitótrofos** Figura 3.5). Algunos compuestos inorgánicos pueden ser oxidados, por ejemplo el H_2, el H_2S (sulfuro de hidrógeno), el NH_3 (amoniaco), y el Fe^{2+} (hierro ferroso). Normalmente, los grupos de quimiolitótrofos relacionados entre sí se especializan en la oxidación de un grupo de compuestos inorgánicos que también están relacionados; así, tenemos las bacterias «del azufre», las bacterias «del hierro», las bacterias «nitrificantes», etcétera.

La capacidad para conservar la energía procedente de la oxidación de los compuestos inorgánicos es una buena estrategia metabólica, ya que la competencia con los quimioorganótrofos no es un problema. Además, muchos de los compuestos inorgánicos oxidados por los quimiolitótrofos, como el H_2 y el H_2S, son en realidad productos de desecho de los quimioorganótrofos. Así pues, muchos quimiolitótrofos han desarrollado estrategias para explotar recursos que los quimioorganótrofos no pueden aprovechar, de manera que no resulta raro encontrar estos dos grupos fisiológicos viviendo en estrecha asociación.

Fotótrofos

Los microorganismos fotótrofos contienen pigmentos que les permiten convertir la energía lumínica en energía química; por tanto, a diferencia de los quimiótrofos, los **fotótrofos** no necesitan compuestos químicos como fuente de energía. Esto supone una ventaja metabólica significativa, ya que no existe competencia por las fuentes de energía entre los fotótrofos y los quimiótrofos, y en la mayoría de los hábitats microbianos hay al menos un poco de luz solar.

En los procariotas se conocen dos formas principales de fototrofia. En una de ellas, llamada fotosíntesis *oxigénica*, se produce oxígeno (O_2). Entre los microorganismos, la fotosíntesis oxigénica es característica de las cianobacterias, que son procariotas, y de las algas, que son eucariotas. La otra forma, la fotosíntesis *anoxigénica*, se da en las bacterias rojas y verdes y en las helicobacterias (pertenecen todos al dominio *Bacteria*), y no genera O_2. Sin embargo, el mecanismo de síntesis de ATP es similar para los fotótrofos oxigénicos y los anoxigénicos, dado que la fotosíntesis oxigénica se originó a partir de la forma anoxigénica, más simple, hace unos 3.000 millones de años (↪ Secciones 1.3 y 12.2).

Heterótrofos y autótrofos

Independientemente de cómo obtenga su energía un microorganismo, ya hemos visto que las células necesitan carbono en grandes cantidades para elaborar nuevos materiales celulares (Figura 3.1). Si un organismo es **heterótrofo**, obtiene el carbono a partir de algún compuesto orgánico. En cambio, un **autótrofo** utiliza el dióxido de carbono (CO_2) como fuente de carbono. Por definición, los quimioorganótrofos son también heterótrofos, mientras que la mayoría de quimiolitótrofos y fotótrofos son autótrofos. Los autótrofos también reciben el nombre de *productores primarios*, porque sintetizan materia orgánica nueva a partir de CO_2. Prácticamente toda la materia orgánica de la Tierra ha sido sintetizada por productores primarios, en concreto los fotótrofos.

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué se diferencia un quimioorganótrofo de un quimiolitótrofo en términos de generación de energía? ¿Y un quimiótrofo de un fotótrofo?
- ¿En qué se diferencia un autótrofo de un heterótrofo en términos de obtención de carbono?

3.4 Bioenergética

La *energía* se define como la capacidad para realizar trabajo. En microbiología, las transformaciones energéticas se miden en kilojulios (kJ), una unidad de energía calorífica. Todas las reacciones químicas que tienen lugar en una célula van acompañadas de *cambios* en la energía, ya que esta o bien es necesaria para que ocurra la reacción, o bien es liberada a consecuencia de la reacción. Para identificar qué reacciones liberan energía y cuáles la necesitan para llevarse a cabo, tenemos que entender algunos principios bioenergéticos que explicaremos a continuación.

Energética básica

Si bien en cualquier reacción energética se pierde algo de energía en forma de calor, en microbiología estamos interesados en la **energía libre** (cuyo símbolo es ***G***), que es la energía disponible para realizar trabajo. El *cambio* en la energía libre durante una reacción se expresa como $\Delta G^{0\prime}$, donde el símbolo Δ se lee como «incremento». Los superíndices «0» y «prima» indican que el valor de la energía libre se refiere a condiciones estándar, es decir, pH 7, 25 °C, 1 atmósfera de presión, y todos los reactivos y productos a concentración molar.

Veamos la reacción

$$A + B \rightarrow C + D$$

Si $\Delta G^{0\prime}$ para esta reacción es *negativo*, la reacción procederá con *liberación* de energía libre, energía que la célula puede conservar como ATP. Estas reacciones que producen energía se llaman **exergónicas**. Sin embargo, si $\Delta G^{0\prime}$ es *positivo*, la reacción *requiere* energía para llevarse a cabo. Estas reacciones se llaman **endergónicas**. Por tanto, las reacciones exergónicas *liberan* energía, y las endergónicas *requieren* energía.

Energía libre de formación y cálculo del incremento de energía ($\Delta G^{0\prime}$)

Para calcular la energía libre producida en una reacción, primero hay que saber la energía libre de los reactivos y los productos. La energía libre de formación (G_f^0) es la energía liberada o absorbida durante la formación de una molécula determinada a partir de los elementos que la componen. En la Tabla 3.3 se dan algunos ejemplos de G_f^0. Por convenio, la energía libre de formación de los *elementos* en estado elemental y eléctricamente neutros (como C, H_2, N_2) es cero, pero no así la energía libre de formación de *compuestos*. Si la formación de un compuesto a partir de sus elementos se produce de manera exergónica, entonces la G_f^0 del compuesto será negativa (se libera energía). Si la reacción es endergónica, la G_f^0 del compuesto será positiva (se requiere energía).

Para la mayoría de los compuestos, G_f^0 es negativa. Esto refleja el hecho de que los compuestos tienden a formarse espontáneamente (es decir, con liberación de energía) a partir de sus elementos. No obstante, el valor positivo de la G_f^0 para la formación del óxido nitroso (N_2O) (+104,2 kJ/mol, Tabla 3.3), indica que este compuesto no se forma espontáneamente, sino que, al contrario, con el tiempo se descompone espontáneamente en N_2 y O_2. En el Apéndice 1 se dan las energías libres de formación de algunos compuestos de interés microbiológico.

Con las energías libres de formación es posible calcular $\Delta G^{0\prime}$ para una reacción determinada. Para $A + B \rightarrow C + D$, $\Delta G^{0\prime}$ se calcula restando la suma de energías libres de formación de los

Tabla 3.3 Energía libre de formación de algunos compuestos de interés biológico

Compuesto	*Energía libre de formación (G_f^0)*[a]
Agua (H_2O)	–237,2
Dióxido de carbono (CO_2)	–394,4
Hidrógeno gaseoso (H_2)	0
Oxígeno gaseoso (O_2)	0
Amonio (NH_4)	–79,4
Óxido nitroso (N_2O)	+104,2
Acetato ($C_2H_3O_2^-$)	–369,4
Glucosa ($C_6H_{12}O_6$)	–917,3
Metano (CH_4)	–50,8
Metanol (CH_3OH)	–175,4

[a]Los valores de energía libre de formación se dan en kJ/mol. Véase en la Tabla A1.1 del Apéndice 1 una lista más completa de las energías libres de formación.

reactivos (A + B) a las energías libres de formación de los productos (C + D). Así:

$$\Delta G^{0\prime} = G_f^0[C + D] - G_f^0[A + B]$$

El valor obtenido para $\Delta G^{0\prime}$ nos indica si la reacción es exergónica o endergónica. La expresión «productos menos reactivos» es una forma sencilla de recordar cómo calcular los cambios en la energía libre durante las reacciones químicas. No obstante, antes de realizar los cálculos de la energía libre, es necesario igualar la reacción. En el Apéndice 1 se detallan los pasos que hay que seguir para igualar reacciones y calcular energías libres para cualquier reacción hipotética.

Diferencia entre $\Delta G^{0\prime}$ y ΔG

Aunque los cálculos de $\Delta G^{0\prime}$ son estimaciones razonables de los cambios reales de energía libre, en algunos casos no es así. Más adelante veremos que las concentraciones reales de productos y reactivos en la naturaleza, que rara vez son las concentraciones molares que usamos en los cálculos de $\Delta G^{0\prime}$, pueden cambiar los resultados de los cálculos bioenergéticos, a veces de manera significativa. Lo más relevante de un cálculo bioenergético no es $\Delta G^{0\prime}$, sino ΔG, el cambio de energía libre que se produce *en las condiciones reales* en las que está creciendo el organismo. La ecuación para ΔG tiene en cuenta la concentración real de reactivos y productos del hábitat del organismo, y es

$$\Delta G = \Delta G^{0\prime} + RT \ln K$$

donde R y T son constantes físicas y K es la constante de equilibrio de la reacción (Apéndice 1). En el Capítulo 13 veremos que es importante distinguir entre $\Delta G^{0\prime}$ y ΔG cuando consideramos la diversidad catabólica en más detalle, pero para los propósitos de este capítulo, la expresión $\Delta G^{0\prime}$ nos dice si una reacción determinada libera energía o la absorbe, y esto es suficiente para la comprensión básica del flujo de energía en los sistemas microbianos. Solo las reacciones exergónicas liberan energía que la célula puede conservar, y este será nuestro centro de atención en las siguientes secciones.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué es la energía libre?
- Indique si la formación de glucosa a partir de sus elementos libera o absorbe energía.
- Con ayuda de la Tabla 3.3, calcule $\Delta G^{0\prime}$ para la reacción $CH_4 + \frac{1}{2}O_2 \rightarrow CH_3OH$.

3.5 Catálisis y enzimas

Los cálculos de la energía libre indican únicamente si en una reacción determinada se libera o se absorbe energía. El valor obtenido no dice nada de la *velocidad* de la reacción. Si la velocidad de una reacción es muy baja, puede que no le sirva de nada a la célula. Por ejemplo, tomemos la formación del agua a partir de O_2 y H_2. La energética de esta reacción es bastante favorable: $H_2 + \frac{1}{2}O_2 \rightarrow H_2O$, $\Delta G^{0\prime} = -237$ kJ. Sin embargo, si mezclamos O_2 y H_2 en una botella sellada, no se formará una cantidad mensurable de agua, ni siquiera en años. Esto es así porque la unión del O_2 y el H_2 para formar H_2O requiere primero que sus enlaces químicos se rompan. La ruptura de estos enlaces requiere energía, llamada **energía de activación**.

La energía de activación es la energía necesaria para que todas las moléculas de una reacción química estén en estado reactivo. Para una reacción que procede con una liberación neta de energía libre (es decir, una reacción exergónica), la situación es la que se ha esquematizado en la **Figura 3.6**. Aunque la barrera de la energía de activación es prácticamente infranqueable en ausencia de catalizador, dicha barrera se reduce drásticamente en presencia del catalizador adecuado. El concepto de energía de activación nos lleva de manera natural a tratar el tema de la catálisis y las enzimas.

Enzimas

Un **catalizador** es una sustancia que reduce la energía de activación de una reacción (Figura 3.6) y aumenta así su velocidad. Los catalizadores facilitan las reacciones, pero ni se consumen ni se transforman en el proceso. Además, los catalizadores no influyen en la energética ni el equilibrio de una reacción; solamente modifican la *velocidad* a la que se produce la reacción. Los catalizadores biológicos se llaman **enzimas**.

La mayoría de las reacciones celulares no proceden a velocidades significativas sin la intervención de un catalizador. Las enzimas son proteínas (o en unos pocos casos, RNA) con gran especificidad por las reacciones que catalizan. Es decir, cada enzima cataliza un solo tipo de reacción química o, en el caso de unas pocas enzimas, una sola clase de reacciones estrechamente relacionadas. Esta especificidad es función de la precisa estructura tridimensional de la molécula enzimática. En una reacción catalizada por una enzima, la enzima (E) se combina con el reactivo, llamado *sustrato* (S), y forman un complejo enzima-sustrato (E—S). Después, a medida que la reacción procede, se libera el *producto* (P) y la enzima vuelve a su estado inicial:

$$E + S \leftrightarrows E{-}S \leftrightarrows E + P$$

La enzima, generalmente, es mucho más grande que el sustrato, y el fragmento de la enzima a la que se une el sustrato es

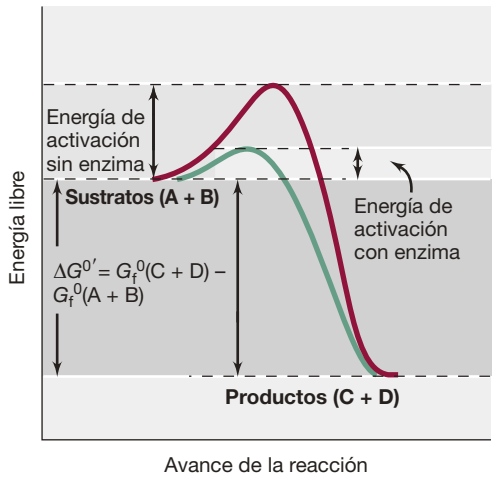


Figura 3.6 Energía de activación y catálisis. Ni siquiera las reacciones químicas que liberan energía tienen lugar espontáneamente hasta que son activadas. Cuando los reactivos están activados, la reacción se produce de manera espontánea. Los catalizadores como las enzimas reducen la energía de activación necesaria.

el *sitio activo*; toda la reacción enzimática, desde la unión del sustrato a la liberación del producto, puede tener lugar en unos pocos milisegundos.

Muchas enzimas contienen moléculas pequeñas no proteicas que participan en la catálisis pero no son sustratos en sí mismas. Estas moléculas se pueden dividir en dos tipos según la forma de asociarse con la enzima: *grupos prostéticos* y *coenzimas*. Los grupos prostéticos se unen con fuerza a sus enzimas, normalmente de manera covalente y permanentemente. El grupo hemo presente en citocromos, como el citocromo *c* (Sección 3.10), es un ejemplo de grupo prostético. Las **coenzimas**, en cambio, se unen de manera laxa a las enzimas, y una sola coenzima se puede asociar con varias enzimas diferentes. La mayoría de las coenzimas son derivadas de vitaminas; NAD^+, un derivado de la vitamina niacina (Tabla 3.1) es un buen ejemplo de coenzima.

Catálisis enzimática

Para catalizar una reacción específica, una enzima debe hacer dos cosas: (1) unirse a su sustrato y (2) colocar el sustrato junto a los aminoácidos específicos en el sitio activo de la enzima. El complejo enzima-sustrato (**Figura 3.7**) cumple ambas funciones alineando los grupos reactivos e introduciendo tensión en enlaces específicos del sustrato. Esto reduce la energía de activación necesaria para que la reacción proceda en sentido del sustrato al producto. En la Figura 3.7 se muestra esquemáticamente el proceso en el caso de la lisozima, una enzima cuyo sustrato es el esqueleto polisacarídico del peptidoglicano, polímero de la pared celular bacteriana (↻ Figura 2.25).

La reacción de la Figura 3.7 es exergónica porque la energía libre de formación de los sustratos es mayor que la de los productos. No obstante, algunas enzimas catalizan reacciones que requieren energía, porque convierten eficazmente sustratos poco energéticos en productos ricos en energía. En estos casos, sin embargo, no solo hay que superar la barrera de la energía de activación (Figura 3.6), sino que hay que aportar la suficiente energía libre a la reacción para elevar el nivel energético de los sustratos hasta el de los productos. Esto se hace *acoplando* la reacción que requiere energía con otra que libere energía, como la hidrólisis del ATP, de manera que la reacción global tiene lugar con un cambio de energía libre negativo o cercano a cero.

En teoría, la actividad de todas las enzimas es reversible, pero en realidad las que catalizan reacciones muy endergónicas o muy exergónicas lo hacen normalmente en un solo sentido. Si es necesario revertir una reacción muy endergónica o muy exergónica, generalmente es una segunda enzima la que cataliza la reacción inversa.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cuál es la función de un catalizador? ¿Cuál es la composición de las enzimas?
- ¿A qué parte de una enzima se une el sustrato?
- ¿Qué es la energía de activación?

3.6 Donadores y aceptores de electrones

Las células conservan la energía liberada en las reacciones catabólicas acoplándola a la síntesis de compuestos muy energéticos como el ATP. Las reacciones que liberan energía suficiente para formar ATP suelen ser del tipo oxidación-reducción. Una *oxidación* es la eliminación de un electrón (o más) de una sustancia, y una *reducción* es la adición de un electrón (o más) a una

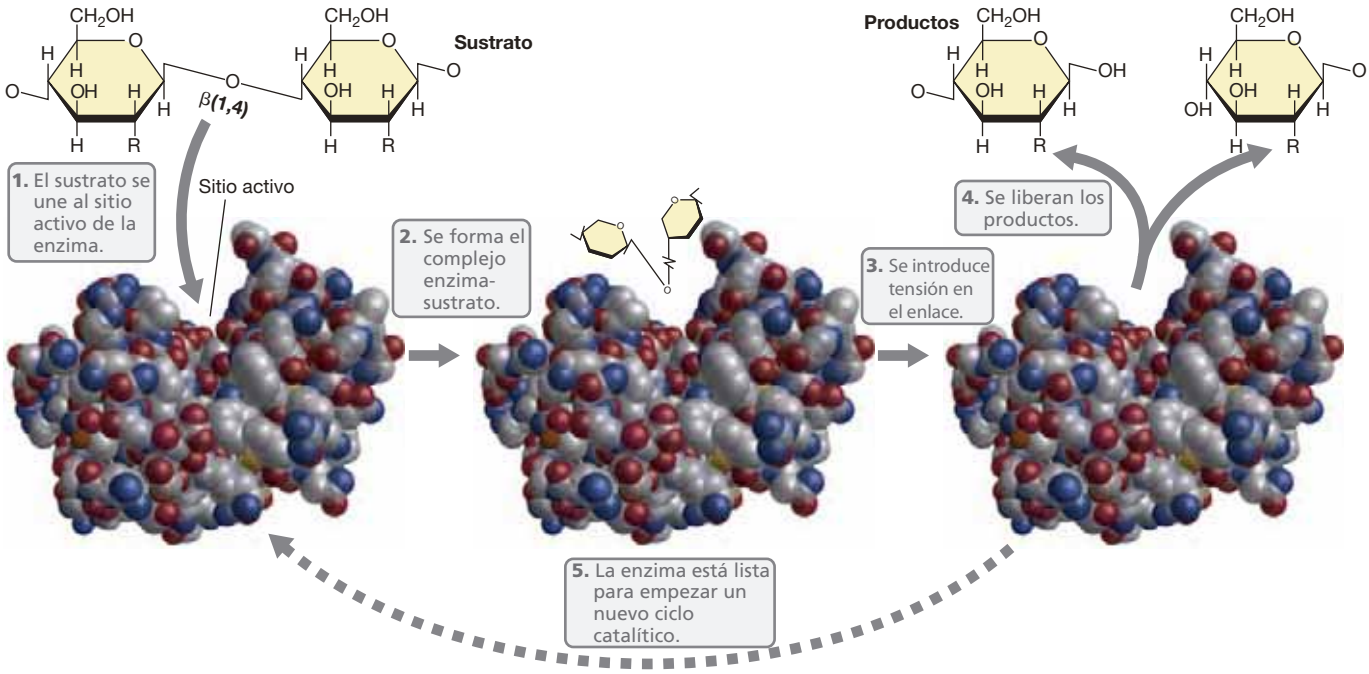


Figura 3.7 El ciclo catalítico de una enzima. La enzima que se muestra aquí, la lisozima, cataliza la ruptura del enlace glicosídico β-1,4 en el esqueleto polisacarídico del peptidoglicano. Tras la unión en el sitio activo de la enzima se ejerce tensión en el enlace, que favorece su ruptura. El modelo de espacio lleno de la lisozima es gentileza de Richard Feldmann.

sustancia. El término *redox* se usa habitualmente como abreviación para indicar oxidación-reducción.

Reacciones redox

Las reacciones redox se producen por parejas. Por ejemplo, el hidrógeno gaseoso (H_2) puede liberar electrones y protones y oxidarse (**Figura 3.8**). No obstante, los electrones no pueden existir sueltos en solución, sino que deben formar parte de átomos o moléculas. Por tanto, la oxidación de H_2 solo es una *semirreacción*, un término que implica la necesidad de una segunda semirreacción, porque por cada sustancia que se oxida debe reducirse otra.

La oxidación de H_2 se puede acoplar a la reducción de muchas sustancias diferentes, incluido el oxígeno (O_2), en una segunda semirreacción. Esta semirreacción de reducción, acoplada a la oxidación de H_2, tienen como resultado una reacción completa con ajuste neto (Figura 3.8). En las reacciones de este tipo, llamamos a la sustancia *oxidada* (en este caso el H_2) **donador de electrones**, y a la sustancia *reducida* (en este caso el O_2) **aceptor de electrones**. A los donadores de electrones también se les llama habitualmente *fuentes de energía*. En la naturaleza existen muchos donadores de electrones potenciales, incluida una amplia variedad de compuestos orgánicos e inorgánicos. También existen muchos aceptores de electrones, incluidos el O_2, bastantes compuestos oxidados de nitrógeno y azufre, como el NO_3^- y el SO_4^{2-}, y otros muchos compuestos orgánicos.

Para que se produzca una reacción redox es tan importante la presencia del aceptor de electrones adecuado como la del donador. Si falta uno o el otro, la reacción no puede llevarse a cabo completamente. Veremos que los conceptos de donador y aceptor de electrones son muy importantes en microbiología para entender prácticamente todos los aspectos del metabolismo energético.

Potenciales de reducción y pares redox

Las sustancias difieren en su tendencia inherente a donar o aceptar electrones. Esta tendencia se expresa como su **potencial de reducción** (E_0', en condiciones estándar) y se mide en voltios (V) tomando como referencia el de una sustancia estándar, el H_2 (**Figura 3.9**). Por convenio, se dan los potenciales de reducción para semirreacciones que se escriben como *reducciones*, a pH 7 porque el citoplasma de la mayoría de las células es neutro o casi neutro.

Una sustancia puede ser donadora o aceptora en diferentes circunstancias, según las sustancias con las que reaccione. Los constituyentes a cada lado de la flecha en las semirreacciones se llaman *par redox*, como $2\ H^+/H_2$ o $\frac{1}{2}O_2/H_2O$ (Figura 3.8). Por convenio, al escribir un par redox, la forma *oxidada* del par se coloca siempre a la izquierda, antes de la barra inclinada, y a continuación, detrás de la barra, la forma *reducida*. En el ejemplo de la Figura 3.8, el E_0' del par $2\ H^+/H_2$ es –0,42 V, y el del par $\frac{1}{2}O_2/H_2O$ es +0,82 V. En un momento aprenderemos que estos valores significan que el O_2 es un excelente *aceptor* de electrones y el H_2 un excelente *donador*.

En las reacciones entre dos pares redox, la sustancia *reducida* del par cuyo E_0' es más *negativo* dona electrones a la sustancia *oxidada* del par cuyo E_0' es más *positivo*. Así, en el par $2\ H^+/H_2$, el H_2 tiene más tendencia a donar electrones que $2\ H^+$ a aceptarlos, y en el par $\frac{1}{2}O_2/H_2O$, la tendencia del H_2O a donar electrones es muy pequeña, mientras que el O_2 tiene mucha tendencia

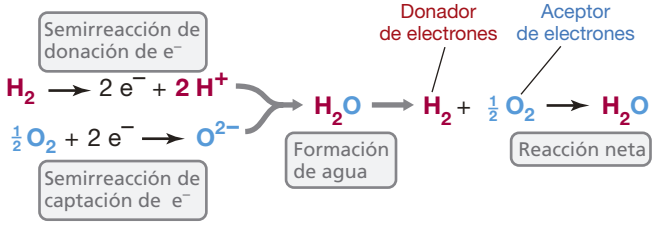
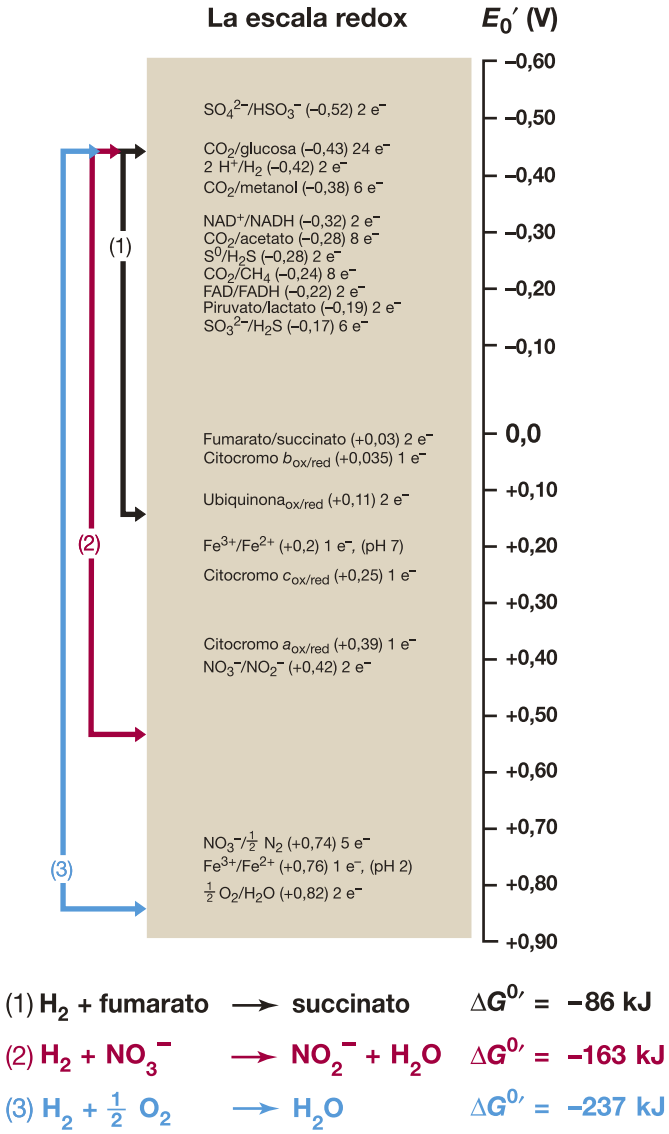


Figura 3.8 **Ejemplo de reacción de oxidación-reducción.** Cada semirreacción constituye la mitad de la reacción neta.



(1) H_2 + fumarato → succinato $\Delta G^{0\prime} = -86$ kJ

(2) $H_2 + NO_3^- \rightarrow NO_2^- + H_2O$ $\Delta G^{0\prime} = -163$ kJ

(3) $H_2 + \frac{1}{2}O_2 \rightarrow H_2O$ $\Delta G^{0\prime} = -237$ kJ

Figura 3.9 **La escala redox.** Los pares redox se disponen desde los donadores (reductores) más fuertes en la parte superior, hasta los aceptores (oxidantes) más fuertes en la base. Los electrones pueden ser «captados» por aceptores en cualquier nivel intermedio siempre que el par donador sea más negativo que el par aceptor. Cuanto mayor es la diferencia de potencial de reducción entre el donador y el aceptor de electrones, más energía libre se libera. Obsérvense la diferente energía liberada cuando el H_2 reacciona con tres aceptores de electrones diferentes, fumarato, nitrato y oxígeno.

a aceptarlos. De esto se desprende que en una reacción entre H_2 y O_2, el H_2 será el *donador* de electrones y se oxidará, y el O_2 será el *aceptor* de electrones y se reducirá (Figura 3.8).

Como se ha mencionado, todas las semirreacciones se escriben como reducciones. No obstante, en una reacción real entre dos pares redox, la semirreacción con el E_0' más negativo procede como oxidación, y por tanto se escribe en el sentido contrario. Por ejemplo, en la reacción entre H_2 y O_2 de la Figura 3.8, el H_2 se oxida y se escribe en el sentido opuesto al de la semirreacción formal.

La escala redox y su relación con $\Delta G^{0\prime}$

Una forma útil de ver las reacciones de transferencia electrónica es imaginar una escala vertical (Figura 3.9). La escala representa el margen de potenciales de reducción de posibles pares redox en la naturaleza, con los que tienen el E_0' más negativo en la parte superior, y los que tienen el E_0' más positivo en la base, como si fuera una *torre redox*. La sustancia *reducida* del par redox de la cima de la torre tiene la mayor tendencia a donar electrones, mientras que la sustancia *oxidada* del par redox que se encuentra en la base de la torre tiene la mayor tendencia a aceptar electrones.

Siguiendo con la analogía, imagine electrones de un donador de electrones de los de la cima de la torre que caen y son «atrapados» por aceptores de electrones en varios niveles. La diferencia en el potencial de reducción entre los pares redox donador y aceptor se cuantifica como $\Delta E_0'$. Cuanto mayor sea la caída de un electrón antes de ser captado por un aceptor, mayor es el $\Delta E_0'$ entre los dos pares redox, y mayor es la cantidad de energía liberada en la reacción neta. Es decir, $\Delta E_0'$ es proporcional a $\Delta G^{0\prime}$ (Figura 3.9). El oxígeno (O_2), en la base de la escala, es el aceptor de electrones más importante en la naturaleza. En medio de la escala, los pares redox pueden ser donadores o aceptores de electrones, según con quién reaccionen. Por ejemplo, el par $2\ H^+/H_2$ (–0,42 V) puede reaccionar con el par fumarato/succinato (+0,03 V), con el par NO_3^-/NO_2^- (+0,42 V) o con el par $\frac{1}{2}O_2/H_2O$ (+0,82 V), con cantidades crecientes de energía liberada, respectivamente (Figura 3.9).

Transportadores de electrones y el ciclo de NAD/NADH

Las reacciones redox de las células microbianas están mediadas por moléculas pequeñas. Un intermediario redox muy común es la coenzima dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD^+); la forma reducida se escribe NADH (**Figura 3.10**). El NAD^+/NADH es un transportador de electrones y protones, ya que transporta $2\ e^-$ y $2\ H^+$ al mismo tiempo. El potencial de reducción del par NAD^+/NADH es de –0,32 V, lo que lo sitúa bastante arriba en la escala redox; es decir, el NADH es un buen donador de electrones, y el NAD^+ un aceptor bastante débil (Figura 3.9).

Las coenzimas como NAD^+/NADH aumentan la diversidad de las reacciones redox posibles en una célula al actuar como intermediarios en la interacción de donadores y aceptores de electrones químicamente diferentes. Por ejemplo, los electrones procedentes de un donador de electrones pueden reducir el NAD^+ a NADH, que puede reconvertirse a NAD^+ donando los electrones al aceptor de electrones. En la **Figura 3.11** se muestra

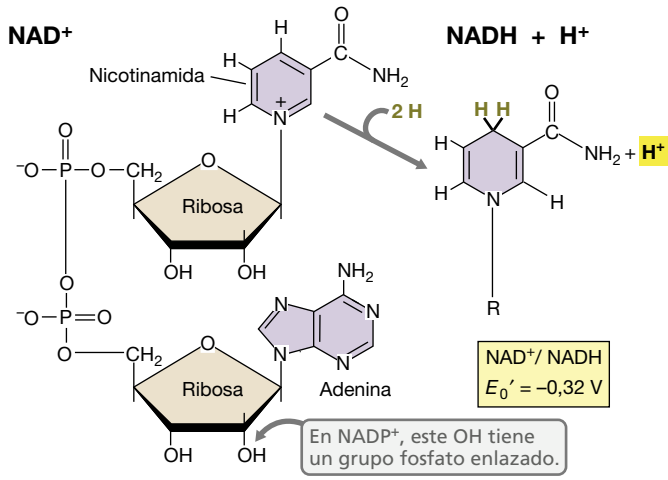


Figura 3.10 La coenzima de oxidación-reducción dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD^+). El NAD^+ es oxidado y reducido como se indica y se difunde libremente. «R» es la porción dinucleótido de adenina del NAD^+.

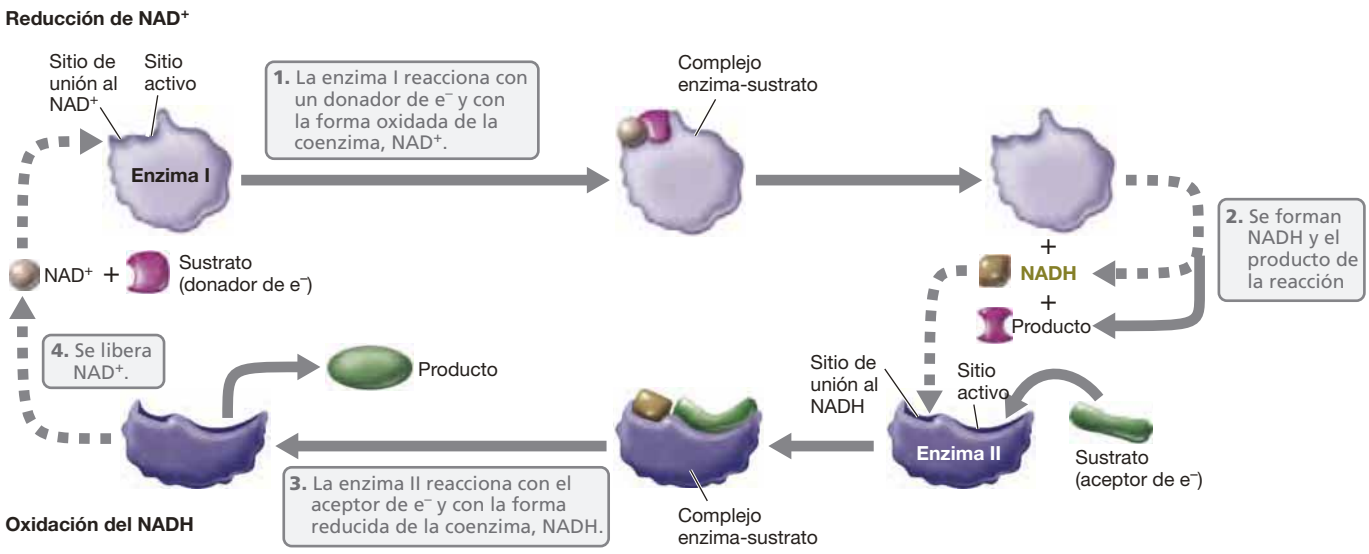


Figura 3.11 Ciclo NAD^+/NADH. Ejemplo esquemático de reacciones redox en las que dos enzimas diferentes están relacionadas por su necesidad de NAD^+ o de NADH.

un ejemplo de esta función de transporte del NAD^+/NADH. En esta reacción, el NAD^+ y el NADH facilitan la reacción redox global, pero no se consumen como sí lo hacen el donador original y el aceptor terminal. En otras palabras, una célula necesita cantidades relativamente grandes de un donador primario de electrones (la sustancia que se oxida para producir NADH) y de un aceptor terminal (como el O_2), pero solo requiere una pequeña cantidad de NAD^+ y NADH, porque se están reciclando constantemente (Figura 3.11).

El $NADP^+$ es una coenzima redox relacionada en la que se ha añadido un grupo fosfato al NAD^+. Normalmente el par $NADP^+$/NADPH participa en reacciones redox diferentes de las que utilizan NAD^+/NADH, sobre todo en reacciones anabólicas (biosintéticas) en las que se dan oxidaciones y reducciones (Secciones 3.14-3.16).

MINIRREVISIÓN

- En la reacción $H_2 + \frac{1}{2}O_2 \rightarrow H_2O$, ¿cuál es el donador y cuál el aceptor de electrones?
- ¿Por qué el nitrato (NO_3^-) es mejor aceptor de electrones que el fumarato?
- ¿Es NADH mejor donador de electrones que H_2? ¿Es NAD^+ mejor aceptor que $2\ H^+$? ¿Cómo se determina esto?

3.7 Compuestos de alta energía

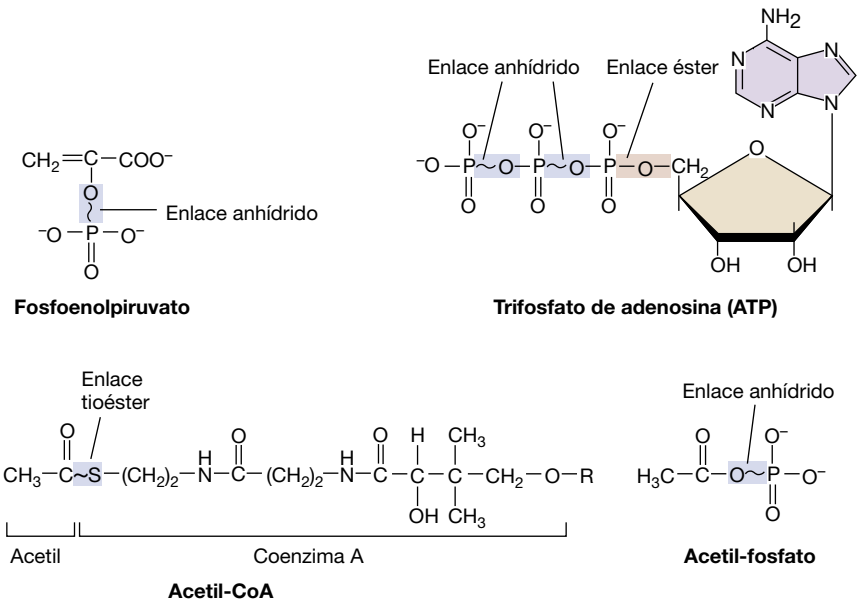
La célula debe conservar la energía liberada por las reacciones redox para cuando tenga que utilizarla para llevar a cabo funciones celulares que requieren energía. En los organismos vivos, la energía química liberada en las reacciones redox se conserva principalmente en compuestos fosforilados. La energía libre liberada por la eliminación (hidrólisis) del fosfato de esos *compuestos de alta energía* es significativamente mayor que la de un enlace covalente promedio en la célula, y es esta energía la que la célula utiliza.

El fosfato se puede unir a los compuestos orgánicos mediante enlaces *éster* o *anhídrido*, como se ilustra en la **Figura 3.12**. No obstante, no todos los enlaces fosfato son de alta energía. Como se ve en la figura, el $\Delta G^{0\prime}$ de la hidrólisis del enlace éster en el 6-fosfato de glucosa es de solo –13,8 kJ/mol, mientras que el $\Delta G^{0\prime}$ de hidrólisis del anhídrido del fosfato en el fosfoenolpiruvato es –51,6 kJ/mol, casi cuatro veces el de la glucosa-6-fosfato. Aunque teóricamente cualquier compuesto puede hidrolizarse en el metabolismo energético, las células normalmente usan un pequeño grupo de compuestos cuyos $\Delta G^{0\prime}$ de hidrólisis son mayores de –30 kJ/mol como «monedas de cambio» energéticas en la célula. Por tanto, el fosfoenolpiruvato es de alta energía, mientras que el 6-fosfato de glucosa no lo es.

Trifosfato de adenosina

El compuesto de alta energía más importante en las células es el **trifosfato de adenosina (ATP)**. El ATP está formado por el ribonucleótido adenosina enlazado en serie a tres moléculas de fosfato. El ATP es la principal moneda energética de todas las células; se genera en las reacciones exergónicas y se consume en las endergónicas. De la estructura del ATP (Figura 3.12) se ve que solamente dos de los enlaces fosfato (ATP → ADP + P_i y ADP → AMP + P_i) son fosfoanhídridos y, por tanto, tienen energías de hidrólisis de más de –30 kJ. En cambio, el AMP no es de alta energía porque su energía libre de hidrólisis es solo la mitad de la del ADP o el ATP (Figura 3.12).

Aunque la energía liberada en la hidrólisis del ATP es de –32 kJ, es necesario hacer un inciso y definir de manera más precisa los requisitos energéticos para la síntesis de ATP. En una célula de *Escherichia coli* creciendo activamente, la relación



Compuesto	$G^{0\prime}$ kJ/mol
$\Delta G^{0\prime}$ > 30kJ	
Fosfoenolpiruvato	−51,6
1,3-Bisfosfoglicerato	−52,0
Fosfato de acetilo	−44,8
ATP	−31,8
ADP	−31,8
Acetil-CoA	−35,7
$\Delta G^{0\prime}$ < 30 kJ	
AMP	−14,2
6-Fosfato de glucosa	−13,8

Figura 3.12 Enlaces fosfato en compuestos que conservan la energía en el metabolismo bacteriano. Obsérvese, en la tabla, la gradación de la energía libre de hidrólisis de los enlaces fosfato resaltados en los compuestos. El grupo «R» del acetil-CoA es un grupo 3′-fosfo ADP.

ATP/ADP se mantiene en aproximadamente 7:1, y esto afecta a los requisitos energéticos para la síntesis de ATP. En una célula con crecimiento activo, el gasto energético real (es decir, el ΔG, Sección 3.4) para la síntesis de 1 mol de ATP es del orden de –55 a –60 kJ. No obstante, para aprender y aplicar los principios básicos de la bioenergética, supondremos que las reacciones cumplen las «condiciones estándar» ($\Delta G^{0\prime}$) y, por tanto, tomaremos como energía necesaria para la síntesis o la hidrólisis de ATP el valor de 32 kJ/mol.

Coenzima A

Las células pueden utilizar la energía libre disponible en la hidrólisis de otros compuestos de alta energía además de los compuestos fosforilados. Estos incluyen, en concreto, derivados de la *coenzima A* (por ejemplo, la acetil CoA; véase la estructura en la Figura 3.12). Los derivados de la coenzima A contienen enlaces *tioéster*, que al hidrolizarse proporcionan suficiente energía libre para impulsar la síntesis de un enlace fosfato de alta energía. Por ejemplo, en la reacción

$$\text{Acetil-S-CoA} + H_2O + \text{ADP} + P_i \rightarrow \text{acetato}^- + \text{HS-CoA} + \text{ATP} + H^+$$

la energía liberada en la hidrólisis de la coenzima A se conserva en la síntesis de ATP. Los derivados de la coenzima A (la acetil-CoA es solo uno de tantos) son especialmente importantes para la energética de los microorganismos anaerobios, especialmente para aquellos cuyo metabolismo energético depende de la fermentación (véase la Tabla 3.4). Volveremos a hablar de la importancia de los derivados de la coenzima A en la bioenergética de las bacterias en el Capítulo 13.

Almacenamiento de energía

El ATP es una molécula dinámica de la célula: está continuamente degradándose para impulsar reacciones anabólicas y resintetizándose a expensas de las reacciones catabólicas. Para el almacenamiento de energía a largo plazo, los microorganismos producen polímeros insolubles que pueden ser catabolizados más tarde para la producción de ATP.

Algunos ejemplos de polímeros de almacenamiento de energía en los procariotas son el glucógeno, el poli-β-hidroxibutirato y otros polihidroxialcanoatos, y el azufre elemental, almacenado por los quimiolitótrofos del azufre a partir de la oxidación de H_2S. Estos polímeros se depositan en el interior de la célula en forma de gránulos, visibles al microscopio óptico o al microscopio electrónico (↪ Sección 2.14). En los microorganismos eucariotas, el almidón (poliglucosa) y las grasas sencillas son los principales materiales de reserva. En ausencia de fuentes de energía externas, una célula puede degradar estos polímeros para elaborar material celular nuevo o para suministrar la poca cantidad de energía, llamada *energía de mantenimiento,* necesaria para la integridad de la célula cuando no está en fase de crecimiento.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cuánta energía se libera por mol de ATP convertido en ADP + P_i en condiciones estándar? ¿Y por mol de AMP convertido en adenosina y P_i?
- En los períodos de abundancia de nutrientes, ¿cómo se preparan las células para períodos de escasez de nutrientes?

III • Fermentación y respiración

La fermentación y la respiración son dos de las principales estrategias para la conservación de la energía de los quimioorganótrofos. La **fermentación** es una forma de catabolismo anaerobio en el que un compuesto orgánico es a la vez donador y aceptor de electrones. Por el contrario, la **respiración** es la forma de catabolismo aerobio o anaerobio en el que un donador de electrones es oxidado por el O_2 o un sustituto del O_2 como aceptor terminal de electrones.

Se puede pensar en la fermentación y la respiración como opciones metabólicas alternativas. Cuando hay O_2 disponible se producirá respiración porque, como veremos, genera mucho más ATP que la fermentación. Pero si las condiciones no son propicias para la respiración, la fermentación puede suministrar energía suficiente para crecer bien. Empezaremos examinando una de las grandes rutas metabólicas para la fermentación microbiana, la ruta glicolítica.

3.8 La glicólisis

Una ruta prácticamente universal para el catabolismo de la glucosa es la **glicólisis**, que degrada la glucosa a piruvato. La glicólisis (o glucólisis) se llama también *ruta de Embden-Meyerhof-Parnas* por sus principales descubridores. Tanto en la respiración como en la fermentación, la glucosa viaja por esta ruta. En la fermentación, el ATP se sintetiza mediante una **fosforilación a nivel de sustrato**. En este proceso, el ATP se sintetiza directamente a partir de productos intermedios de alta energía durante las etapas del catabolismo del sustrato fermentable (**Figura 3.13*a***). Por otra parte, durante la **fosforilación oxidativa**, que se produce en la respiración, el ATP se sintetiza a expensas de la fuerza protonmotriz (Figura 3.13*b*).

El sustrato fermentable en una fermentación actúa como donador y como aceptor de electrones; no todos los compuestos se pueden fermentar, pero los azúcares, especialmente las hexosas, como la glucosa, son sustratos fermentables excelentes. La fermentación de la glucosa a través de la ruta glicolítica se puede dividir en tres etapas, cada una de ellas con reacciones enzimáticas independientes. La etapa I consiste en reacciones «preparatorias»; no son reacciones redox y no liberan energía, pero en cambio forman un intermediario clave de la ruta. En la etapa II se producen reacciones redox, se conserva la energía y se forman dos moléculas de piruvato. En la etapa III se consigue un equilibrio redox y se forman los productos de la fermentación (**Figura 3.14**).

Etapa I: reacciones preparatorias

En la etapa I, la glucosa es fosforilada por el ATP para dar glucosa-6-fosfato, que después se isomeriza a fructosa-6-fosfato,

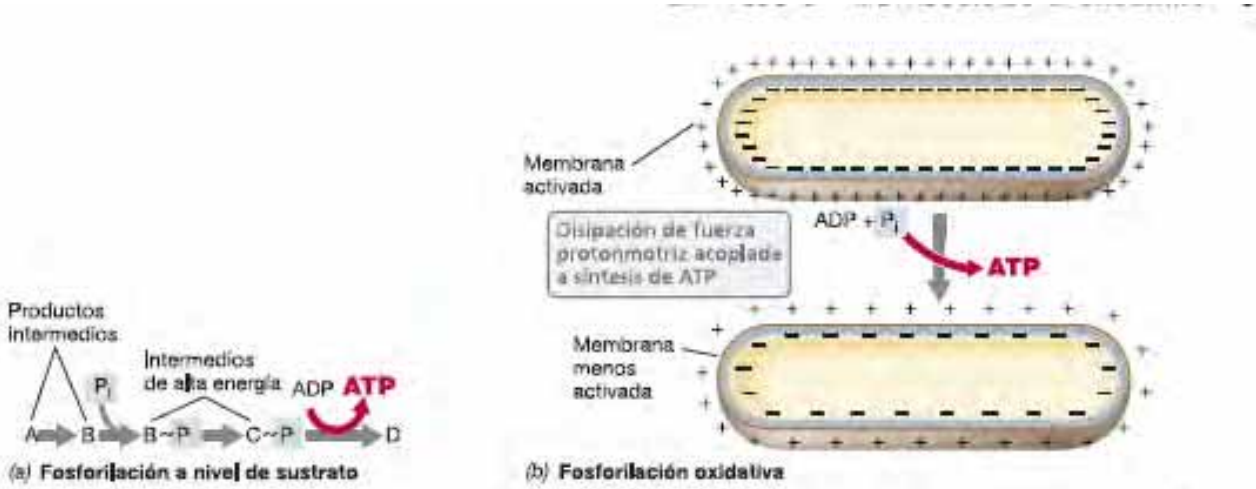
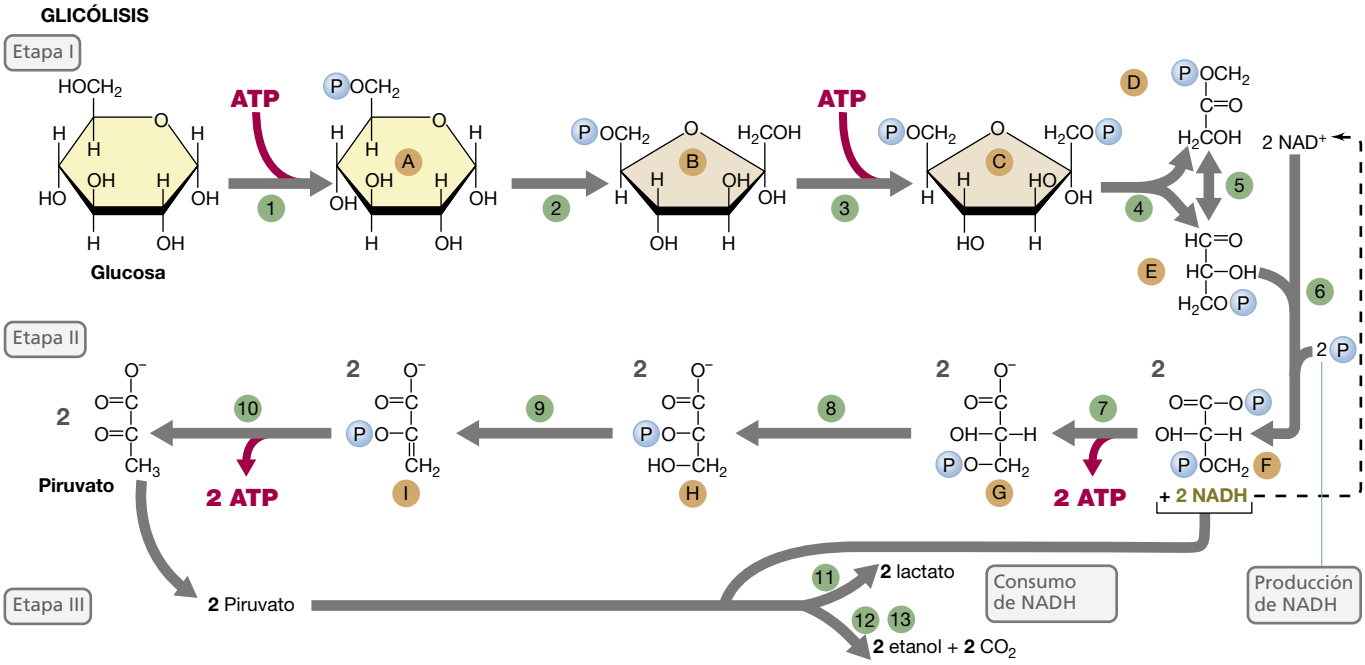


Figura 3.13 **Conservación de la energía en la fermentación y la respiración.** *(a)* En la fermentación, la fosforilación a nivel de sustrato produce ATP. *(b)* En la respiración, la membrana citoplasmática, activada por la fuerza protonmotriz, disipa energía para sintetizar ATP a partir de ADP + P_i mediante fosforilación oxidativa.



PRODUCTOS INTERMEDIOS Y ENZIMAS

Productos intermedios

- A Glucosa 6-P
- B Fructosa 6-P
- C Fructosa 1,6-P
- D Dihidroxiacetona-P
- E Gliceraldehido-3-P
- F 1,3-Bisfosfoglicerato
- G 3-Fosfoglicerato
- H 2-Fosfoglicerato
- I Fosfoenolpiruvato

Enzimas

- 1 Hexocinasa
- 2 Isomerasa
- 3 Fosfofructocinasa
- 4 Aldolasa
- 5 Triosafosfato-isomerasa
- 6 De gliceraldehido-3-P deshidrogenasa
- 7 Fosfogliceratocinasa
- 8 Fosfogliceratomutasa
- 9 Enolasa
- 10 Piruvato-cinasa
- 11 Lactato-deshidrogenasa
- 12 Piruvato-descarboxilasa
- 13 Alcohol-deshidrogenasa

Alcohol-deshidrogenasa

Levadura	Glucosa → 2 etanol + 2 CO_2	−239 kJ
Bacterias del ácido láctico	Glucosa → 2 lactato	−196 kJ

Figura 3.14 **Ruta de Embden-Meyerhof-Parnas (glicólisis).** (Arriba) Secuencia de reacciones del catabolismo de la glucosa a piruvato y después a los productos de fermentación. El piruvato es el producto final de la glicólisis, y los productos de fermentación se sintetizan a partir de él. (Abajo) Productos intermedios, enzimas y comparación del balance energético de la fermentación en levaduras y en bacterias del ácido láctico.

y una segunda fosforilación produce fructosa-1,6-bisfosfato. La aldolasa después escinde la fructosa-1,6-bisfosfato en dos moléculas de 3 carbonos, *gliceraldehido-3-fosfato* y su isómero, *dihidroxiacetona-fosfato*, que se interconvierte en gliceraldehido-3-fosfato. Hasta este momento, todas las reacciones, incluidas las que consumen ATP, han tenido lugar sin ningún intercambio redox.

Etapa II: producción de NADH, ATP y piruvato

La primera reacción redox de la glicólisis se produce en la etapa II, durante la oxidación del gliceraldehido-3-fosfato a ácido 1,3-bisfosfoglicérico. En esta reacción (que se lleva a cabo dos veces, una por cada molécula de gliceraldehido-3-fosfato producido a partir de la glucosa), la enzima de gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa reduce su coenzima NAD^+ a NADH. Simultáneamente, cada molécula de gliceraldehido-3-fosfato es fosforilada por adición de una molécula de fosfato inorgánico. Esta reacción, en la que el fosfato inorgánico pasa a estar en forma orgánica, prepara el escenario para la conservación de la energía. La formación de ATP es posible porque el ácido 1,3-bisfosfoglicérico es un compuesto de alta energía (Figura 3.12). Así, se sintetiza ATP cuando (1) cada molécula de ácido 1,3-bisfosfoglicérico se convierte en ácido 3-fosfoglicérico, y (2) cada molécula de fosfoenolpiruvato se convierte en piruvato (Figura 3.14).

Durante las etapas I y II de la glicólisis se consumen *dos* moléculas de ATP y se sintetizan *cuatro* moléculas de ATP (Figura 3.14). Por tanto, el rendimiento neto de energía en la glicólisis es de *dos moléculas de ATP por molécula de glucosa fermentada*.

Etapa III: balance redox y síntesis de productos de fermentación

Durante la formación de dos moléculas de ácido 1,3-bisfosfoglicérico se reducen dos moléculas de NAD^+ a NADH (Figura 3.14). No obstante, recordemos que el NAD^+ es solamente un transportador de electrones, no un aceptor (terminal). Por tanto, el NADH producido en la glicólisis debe oxidarse otra vez a NAD^+ para que se produzca otra ronda de glicólisis, y esto se cumple cuando el piruvato es reducido por el NADH para formar los productos de fermentación (Figura 3.14). Por ejemplo, en la fermentación que llevan a cabo las levaduras, el piruvato se reduce a etanol con la consiguiente producción de dióxido de carbono (CO_2). En cambio, las bacterias del ácido láctico reducen el piruvato a lactato. Hay otras muchas posibilidades de reducción del piruvato según el organismo (véase la siguiente sección), pero el resultado final es el mismo: el NADH se oxida otra vez a NAD^+ y esto permite que las reacciones anteriores de la ruta que necesitan NAD^+ continúen.

Catabolismo de otros azúcares y polisacáridos

Muchos microorganismos pueden fermentar disacáridos. Por ejemplo, la lactosa (el azúcar de la leche) y la sacarosa (el azúcar de mesa) son polisacáridos comunes ampliamente usados por los anaerobios fermentativos. Con cualquiera de los dos sustratos, el primer paso de su fermentación es romper el disacárido en sus componentes. Para la lactosa, son la glucosa y la galactosa como resultado de la actividad de la enzima β-galactosidasa, y para la sacarosa son la glucosa y la fructosa, que resultan de la acción de la invertasa. La fructosa y la galactosa se convierten a continuación en glucosas por la acción de las isomerasas y se fermentan en la ruta glicolítica.

Los polisacáridos son componentes estructurales importantes de las paredes celulares microbianas, las cápsulas y las capas mucosas microbianas; también son productos de almacenamiento, y muchos de ellos se pueden fermentar. La celulosa y el almidón son dos de los polisacáridos naturales más abundantes. Aunque ambos son polímeros de la glucosa, las unidades están enlazadas de manera diferente. Esto hace que la celulosa sea más insoluble que el almidón y se digiera más lentamente. La celulosa es atacada por la enzima celulasa, y el almidón por la enzima amilasa. La actividad de estas dos enzimas libera glucosa del polímero; a continuación esta se puede fermentar. Hay otros muchos azúcares que se pueden fermentar, pero como la glucosa es el sustrato inicial de la ruta glicolítica, primero tienen que convertirse en glucosa para poder entrar en la ruta.

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué reacciones de la glicólisis intervienen oxidaciones y en cuáles reducciones?
- ¿Cuál es la función del par NAD^+/NADH en la glicólisis?
- ¿Por qué durante la glicólisis se obtienen productos de fermentación?

3.9 La diversidad fermentativa y la opción respiratoria

Además de usar la ruta glicolítica para fermentar glucosa a etanol más CO_2, como hacen las levaduras, o a ácido láctico, como hacen las las bacterias del ácido láctico (Figura 3.14), otras muchas bacterias fermentadoras usan la ruta glicolítica como mecanismo para almacenar energía y generar productos de fermentación. Terminamos nuestro estudio de la fermentación considerando brevemente la diversidad fermentativa, y después introduciremos una segunda opción para catabolizar glucosa —la respiración— y compararemos los patrones metabólicos de la levadura de cerveza, un organismo que puede fermentar o respirar según las condiciones ambientales.

Diversidad fermentativa

Las fermentaciones se clasifican por el sustrato que se fermenta o por los productos que se forman y, con raras excepciones, en todas se genera ATP mediante fosforilación a nivel de sustrato. En la **Tabla 3.4** se citan algunas de las principales fermentaciones de la glucosa según los productos que se forman, como el alcohol o el ácido láctico, que acabamos de ver. Otras categorías incluyen el ácido propiónico, mezclas de ácidos (ácido acético, ácido fórmico, ácido láctico), ácido butírico y butanol. Todos los organismos que se citan en la Tabla 3.4 usan la ruta glicolítica para catabolizar la glucosa; la principal diferencia en la fermentación es el destino del piruvato (Figura 3.14). El mecanismo para la reducción del piruvato por parte de cada organismo es lo que genera productos de fermentación diferentes (Tabla 3.4).

Además de los dos ATP que se producen en la glicólisis, algunas de las fermentaciones de la Tabla 3.4 permiten la formación de ATP adicional. Esto ocurre cuando el producto de

Tabla 3.4 Fermentaciones bacterianas comunes y algunos de los organismos que las llevan a cabo

Tipo	*Reacción*	*Organismos*
Alcohólica	Hexosa[a] $\rightarrow$ 2 etanol + 2 CO_2	Levadura, *Zymomonas*
Homoláctica	Hexosa $\rightarrow$ 2 lactato$^-$ + 2 H^+	*Streptococcus*, algunos *Lactobacillus*
Heteroláctica	Hexosa $\rightarrow$ lactato$^-$ + etanol + CO_2 + H^+	*Leuconostoc*, algunos *Lactobacillus*
Del ácido propiónico	3 Lactato $\rightarrow$ 2 propionato$^-$ + acetato$^-$ + CO_2 + H_2O	*Propionibacterium, Clostridium propionicum*
Ácidos mixta[b,c]	Hexosa $\rightarrow$ etanol + 2,3-butanodiol + succinato^{2-} + lactato$^-$ + acetato$^-$ + formiato$^-$ + H_2 + CO_2	Enterobacterias como *Escherichia, Salmonella, Shigella, Klebsiella, Enterobacter*
Del ácido butírico[c]	Hexosa $\rightarrow$ butirato$^-$ + 2 H_2 + 2 CO_2 + H^+	*Clostridium butyricum*
Del butanol[c]	2 Hexosa $\rightarrow$ butanol + acetona + 5 CO_2 + 4 H_2	*Clostridium acetobutylicum*
De caproato/butirato	6 Etanol + 3 acetato$^-$ $\rightarrow$ 3 butirato$^-$ + caproato$^-$ + 2 H_2 + 4 H_2O + H^+	*Clostridium kluyveri*
Acetogénica	Fructosa $\rightarrow$ 3 acetato$^-$ + 3 H^+	*Clostridium aceticum*

[a]La glucosa es el sustrato inicial de la glicólisis. No obstante, se pueden fermentar otros muchos azúcares C_6 (hexosas) tras su conversión a glucosa.
[b]No todos los organismos producen todos los productos. En concreto, la producción de butanodiol está limitada a ciertas enterobacterias. La reacción no está igualada.
[c]También otros productos como un poco de acetato y un poco de etanol (solo en la fermentación del butanol).

fermentación es un ácido graso, ya que los ácidos grasos se forman a partir de un precursor de la coenzima A. Cabe recordar que los derivados de los ácidos grasos con coenzima A, como la acetil-CoA son productos de alta energía (Sección 3.7 y Figura 3.12). Por tanto, cuando *Clostridium butyricum* forma ácido butírico, la reacción final es

$$\text{Butiril-CoA} + \text{ADP} + P_i \rightarrow \text{ácido butírico} + \text{ATP} + \text{CoA}$$

Esto puede aumentar significativamente el rendimiento de la fermentación de glucosa en términos de ATP, aunque sigue siendo muy inferior a lo que veremos que es posible en la respiración de la glucosa.

Algunas fermentaciones se clasifican según el sustrato fermentado en lugar de los productos generados; normalmente estas fermentaciones tienen lugar a través de rutas diferentes de la glicólisis. Por ejemplo, algunas bacterias anaerobias formadoras de esporas (género *Clostridium*) fermentan aminoácidos, los productos de degradación de las proteínas, y otras fermentan purinas y pirimidinas, los productos de degradación de los ácidos nucleicos. Algunos fermentadores anaerobios fermentan incluso compuestos aromáticos. En muchos casos, estas fermentaciones las llevan a cabo un solo grupo de bacterias anaerobias; en unos pocos casos solamente se conoce una bacteria que fermente una sustancia concreta. Estas bacterias son especialistas metabólicas que han desarrollado su capacidad para fermentar un sustrato no catabolizado por otras bacterias. Aunque pueden parecer bichos raros metabólicos, estas y otras bacterias fermentadoras son de gran importancia ecológica en la degradación de los restos de otros microorganismos, plantas, animales muertos en ambientes naturales anóxicos. En el Capítulo 13 estudiaremos los principios subyacentes a algunas de estas fermentaciones poco frecuentes.

Saccharomyces cerevisiae: ¿fermentación o respiración?

Durante la glicólisis se consume glucosa, se sintetiza ATP y se generan productos de fermentación. Para el organismo, el producto crucial es el ATP; los productos de fermentación son meramente productos de desecho. Sin embargo, los productos de fermentación no son productos de desecho para los humanos; constituyen la base de las industrias de panadería y de bebidas fermentadas (**Figura 3.15**) y son ingredientes clave de muchos alimentos fermentados. En las industrias de panadería y de bebidas alcohólicas, las capacidades metabólicas del actor fundamental, la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, son el factor más importante. No obstante, *S. cerevisiae* puede llevar a cabo dos formas de metabolismo de la glucosa, la *fermentación*, como hemos explicado, y la *respiración*, de la que hablaremos a continuación.

Como regla general, las células realizan la forma de metabolismo que más las beneficia energéticamente. La energía que se



Barton Spear

Figura 3.15 **Productos de alimentación y bebidas habituales obtenidos por fermentación alcohólica mediante *Saccharomyces cerevisiae*.**

puede obtener de una molécula de glucosa es mucho mayor si se degrada hasta CO_2 por respiración que si se fermenta. Esto es así porque, a diferencia del CO_2, los productos orgánicos de fermentación como el etanol todavía contienen una cantidad significativa de energía libre. Por tanto, cuando hay O_2 disponible, las levaduras respiran glucosa en lugar de fermentarla, y el producto principal es el CO_2 (a partir de actividades del ciclo del ácido cítrico, véase la Figura 3.22). Únicamente cuando las condiciones son anóxicas, las levaduras cambian la respiración por la fermentación.

Este hecho tiene relevancia práctica. Puesto que en cervecería y en panadería se necesitan los *productos* de la fermentación de la levadura más que a las propias células de levadura, hay que tener mucho cuidado en asegurar que se fuerza a la levadura a adoptar un estilo de vida fermentativo. Por ejemplo, cuando se prensan las uvas para elaborar vino, la levadura al principio respira y hace que el zumo se vuelva anóxico. Después, el barril se sella para impedir que entre aire y empieza la fermentación. La levadura también sirve como agente fermentador del pan, aunque aquí no es el alcohol el que importa, sino el CO_2, el *otro* producto de la fermentación alcohólica (Tabla 3.4). El CO_2 hace crecer la masa, y el alcohol producido se volatiliza durante el proceso de horneado. En el Capítulo 31 trataremos los alimentos fermentados con más detalle.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué productos de fermentación genera *Lactobacillus* y cuáles las especies de *Clostridium*? ¿Cuáles encontramos en los productos de la leche fermentada como el yogur?
- ¿Qué producto de fermentación de la levadura es el agente de interés en el pan y cuál es su función en la elaboración de este?

3.10 La respiración: transportadores de electrones

La fermentación es un proceso anaerobio y libera solo una cantidad pequeña de energía. Por el contrario, si el piruvato se oxida completamente a CO_2 en lugar de reducirse a algún producto de fermentación, es posible obtener un rendimiento de ATP mucho mayor. La oxidación con O_2 como aceptor terminal de electrones se llama *respiración aeróbica*; la oxidación usando otros aceptores en condiciones anóxicas se llama *respiración anaeróbica* (Sección 3.13).

Nuestro estudio de la respiración abarca tanto las transformaciones del carbono como las reacciones redox, y se centra en dos cuestiones: (1) cómo se transfieren los electrones desde el donador primario hasta el aceptor terminal y cómo se acopla este proceso a la conservación de la energía, y (2) la ruta por la cual se oxida el carbono orgánico a CO_2. Empezamos con el análisis del transporte electrónico, la serie de reacciones que llevan hasta la fuerza protonmotriz

NADH-deshidrogenasas y flavoproteínas

El transporte electrónico tiene lugar en la membrana, y participan en él diversos tipos de enzimas de oxidación-reducción: *NADH-deshidrogenasas*, *flavoproteínas*, *proteínas de hierro y azufre* y *citocromos*. También participan transportadores electrónicos no proteínicos llamados *quinonas*. Los transportadores se disponen en la membrana en orden creciente de potencial de reducción positivo, con la NADH-deshidrogenasa en primer lugar y el citocromo en el último (Figura 3.9).

Las NADH-deshidrogenasas son proteínas unidas a la superficie interna de la membrana citoplasmática, y tienen un sitio activo que se une a NADH. Los 2 e^- + 2 H^+ del NADH son transferidos de la deshidrogenasa a una flavoproteína, el siguiente transportador de la cadena. Esta forma NAD^+, que es liberado de la deshidrogenasa y puede reaccionar con otra enzima (Figura 3.11).

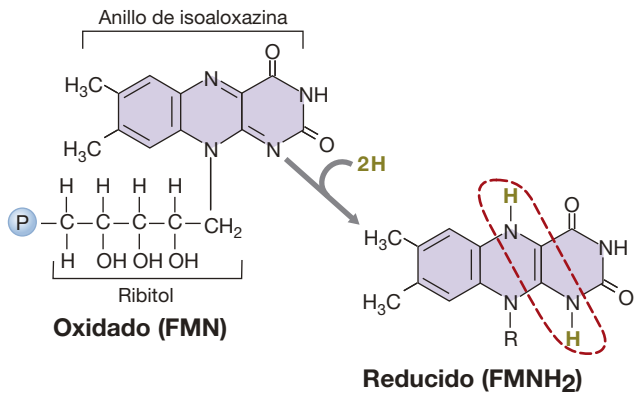
Las flavoproteínas contienen un derivado de la vitamina riboflavina (**Figura 3.16**). El fragmento de flavina, que está unido a una proteína, es un grupo prostético (Sección 3.5) que se reduce cuando acepta 2 e^- + 2 H^+, y se oxida cuando transfiere 2 e^- al siguiente transportador de la cadena. Obsérvese que las flavoproteínas *aceptan* 2 e^- + 2 H^+, pero *donan* solamente electrones. Más tarde analizaremos lo que ocurre con los 2 H^+. En las células se encuentran normalmente dos flavinas, el mononucleótido de flavina (FMN, Figura 3.16) y el dinucleótido de flavina y adenina (FAD). En el último, el FMN está unido a ribosa y adenina a través de un segundo fosfato. La riboflavina, también llamada vitamina B_2, es una fuente de flavina para las flavoproteínas, y es un factor de crecimiento necesario para algunos organismos (Tabla 3.1).

Citocromos, otras proteínas férricas y quinonas

Los citocromos son proteínas que contienen grupos prostéticos hemo (**Figura 3.17**). Experimentan oxidación y reducción mediante pérdida o ganancia de un solo electrón del átomo de hierro en el hemo del citocromo:

$$\text{Citocromo—}Fe^{2+} \leftrightarrows \text{citocromo—}Fe^{3+} + e^-$$

Se conocen varias clases de citocromos, que difieren ampliamente en su potencial de reducción (Figura 3.9). Las distintas clases de citocromos se designan mediante letras, como citocromo *a*, citocromo *b* o citocromo *c*, según el tipo de hemo



E_0' de $FMN/FMNH_2$ (o $FAD/FADH_2$) = −0,22 V

Figura 3.16 Mononucleótido de flavina (FMN), un transportador de átomos de hidrógeno. El sitio de oxidación-reducción (rodeado con línea discontinua roja) es el mismo en el FMN que en la coenzima relacionada dinucleótido de flavina y adenina (FAD, no se muestra). El FAD contiene un grupo adenosina enlazado al FMN a través del grupo fosfato.

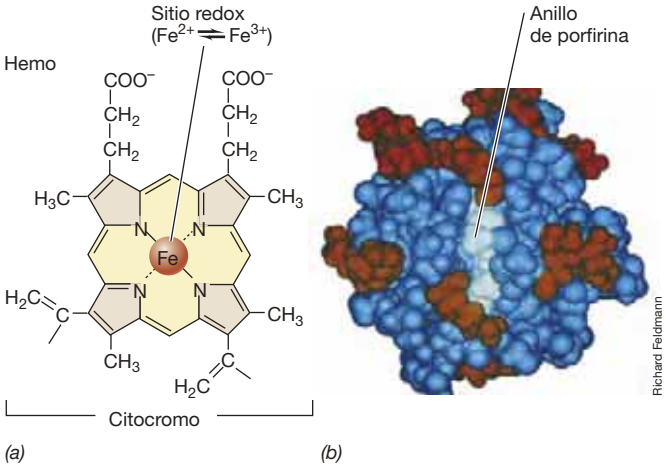


Figura 3.17 El citocromo y su estructura. *(a)* Estructura del grupo hemo, el fragmento de los citocromos que contiene hierro. Los citocromos únicamente pueden transportar electrones, y el sitio redox es el átomo de hierro, que puede alternar entre los estados de oxidación Fe^{2+} y Fe^{3+}. *(b)* Modelo de espacio lleno del citocromo *c*; el grupo hemo (azul claro) está unido covalentemente a residuos de cisteína de la proteína (azul oscuro) a través de puentes disulfuro. Los citocromos son tetrapirroles, es decir, están compuestos por cuatro anillos pirrólicos.

que contienen. Los citocromos de un tipo determinado en un organismo pueden ser ligeramente diferentes de los de otro, de manera que hay términos como citocromos a_1, a_2, a_3, etcétera, entre citocromos de la misma clase. Los citocromos de clases diferentes también tienen potenciales de reducción diferentes (Figura 3.9). A veces, los citocromos forman complejos con otros citocromos o con proteínas de hierro y azufre. Un ejemplo importante de esto es el complejo citocromo bc_1, que contiene dos citocromos diferentes de tipo *b* y uno de tipo *c*. El complejo citocromo bc_1 tiene una función importante en el metabolismo energético, como veremos más tarde.

Además de los citocromos, en los que el hierro está unido al hemo, normalmente participan en la cadena de transporte electrónico una o más proteínas con hierro no hémico. Estas proteínas contienen grupos prostéticos constituidos por agrupaciones de átomos de hierro y azufre; las asociaciones más frecuentes son Fe_2S_2 y Fe_4S_4 (**Figura 3.18**). La *ferredoxina*, que es un ejemplo de estas proteínas, tiene una configuración Fe_2S_2. El potencial de reducción de las proteínas con hierro y azufre puede variar mucho, según el número de átomos de hierro y

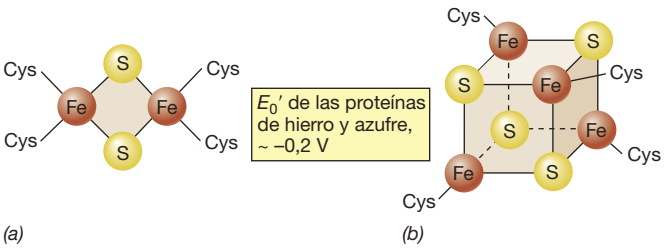


Figura 3.18 Disposición de los centros de hierro y azufre de las proteínas no hémicas de hierro y azufre. *(a)* Centro Fe_2S_2. *(b)* Centro Fe_4S_4. Las cisteínas (Cys) enlazadas corresponden a la porción proteica de la molécula.

azufre presentes y de cómo estén embebidos en la proteína los centros de hierro. Por tanto, diferentes proteínas de este tipo pueden actuar en diferentes puntos de la cadena de transporte de electrones. Como los citocromos, las proteínas de hierro y azufre transportan solamente electrones.

Las quinonas (**Figura 3.19**) son moléculas hidrófobas no proteínicas. Al ser pequeñas e hidrófobas, tienen libertad de movimiento en el interior de la membrana. Al igual que las flavinas (Figura 3.16), las quinonas aceptan $2\ e^- + 2\ H^+$ pero transfieren solamente $2\ e^-$ al siguiente transportador de la cadena; las quinonas suelen participar como enlaces entre las proteínas de hierro y azufre y el primer citocromo de la cadena de transporte de electrones.

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué característica importante se diferencian las quinonas de otros transportadores electrónicos de la membrana?
- ¿Qué transportadores de electrones descritos en esta sección aceptan $2\ e^- + 2\ H^+$? ¿Cuáles aceptan solamente electrones?

3.11 La respiración: la fuerza protonmotriz

La conservación de la energía en la respiración va unida a un estado activado de la membrana (Figura 3.13*b*), y este estado activado es establecido por el transporte de electrones. Para entender de qué manera el transporte electrónico va ligado a la síntesis de ATP, debemos entender en primer lugar cómo está organizada la cadena de transporte de electrones en la membrana citoplasmática. Los transportadores de electrones que acabamos de describir (Figuras 3.16-3.19) están orientados en la membrana de tal manera que, durante el proceso de transporte, se produce una separación entre protones y electrones. Dos electrones y dos protones entran en la cadena de transporte procedentes del NADH (a través de la NADH-deshidrogenasa) para iniciar el proceso. Los transportadores de la cadena de transporte están dispuestos en la membrana en orden *creciente positivo* del potencial de reducción, y el transportador final de la cadena dona los electrones y los protones a un aceptor terminal de electrones como el O_2.

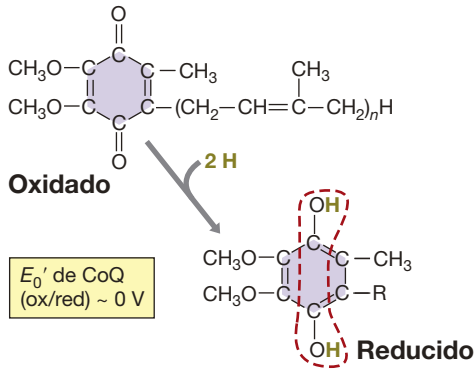


Figura 3.19 Estructura de las formas oxidada y reducida de la coenzima Q, una quinona. La unidad de cinco carbonos en la cadena lateral (un isoprenoide) se da en múltiplos, normalmente entre 6 y 10. La quinona oxidada requiere $2\ e^- + 2\ H^+$ para reducirse completamente (círculo rojo discontinuo).

Durante el transporte de electrones se liberan iones H^+ a la superficie externa de la membrana. Estos H^+ proceden de dos fuentes: (1) NADPH y (2) la disociación de H_2O en H^+ y OH^- en el citoplasma. La liberación de H^+ al medio externo provoca la acumulación de OH^- en el interior de la membrana. No obstante, a pesar de su pequeño tamaño, ni H^+ ni OH^- pueden difundirse a través de la membrana, porque están cargados y muy polarizados (Sección 2.8). Como resultado de la separación de H^+ y OH^-, las dos caras de la membrana difieren tanto en carga como en pH; esto provoca un *potencial electroquímico* a través de la membrana. Este potencial, junto con la diferencia de pH a través de la membrana, se llama **fuerza protonmotriz (fpm)** y hace que la membrana esté activada, igual que una batería (Figura 3.13*b*). Parte de la energía potencial de la fpm se conserva en la formación de ATP. No obstante, además de impulsar la síntesis de ATP, la fpm también puede utilizarse para otras formas de trabajo en la célula, como las reacciones de transporte, la rotación de los flagelos y otras reacciones que requieren energía.

En la **Figura 3.20** se muestra una cadena bacteriana de transporte de electrones, una de las muchas secuencias de transportadores que se conocen. Hay tres características que son comunes en *todas* las cadenas de transporte de electrones, independientemente de los transportadores específicos que contengan: 1) los transportadores se disponen en orden creciente positivo de E_0', 2) en la cadena se produce una alternancia de transportadores solo de electrones y de electrones más protones, y 3) el resultado neto es la reducción de un aceptor terminal de electrones y la generación de una fuerza protonmotriz.

Generación de la fuerza protonmotriz: complejos I y II

La fuerza protonmotriz se desarrolla a partir de la actividad de las flavinas, las quinonas, el complejo citocromo bc_1 y la citocromo-oxidasa terminal. Tras la oxidación del NADH + H^+ que conlleva la formación de $FMNH_2$, se liberan 4 H^+ en la cara externa de la membrana cuando el $FMNH_2$ dona 2 e^- a una serie de proteínas con hierro no hémico (Fe/S) que forman el grupo de proteínas transportadoras de electrones llamado *complejo I* (Figura 3.20). Estos grupos reciben el nombre de *complejos* porque cada uno está formado por varias proteínas que actúan como una unidad. Por ejemplo, el complejo I en *Escherichia coli* contiene 14 proteínas independientes. El complejo I se llama también *NADH: quinona-oxidorreductasa*, porque en la reacción global que cataliza se oxida NADH y se reduce una quinona. La coenzima Q toma dos H^+ del citoplasma cuando es reducida por la proteína Fe/S en el complejo I (Figura 3.20).

El *complejo II* simplemente sortea el complejo I y pasa los electrones directamente del $FADH_2$ a las quinonas. El complejo

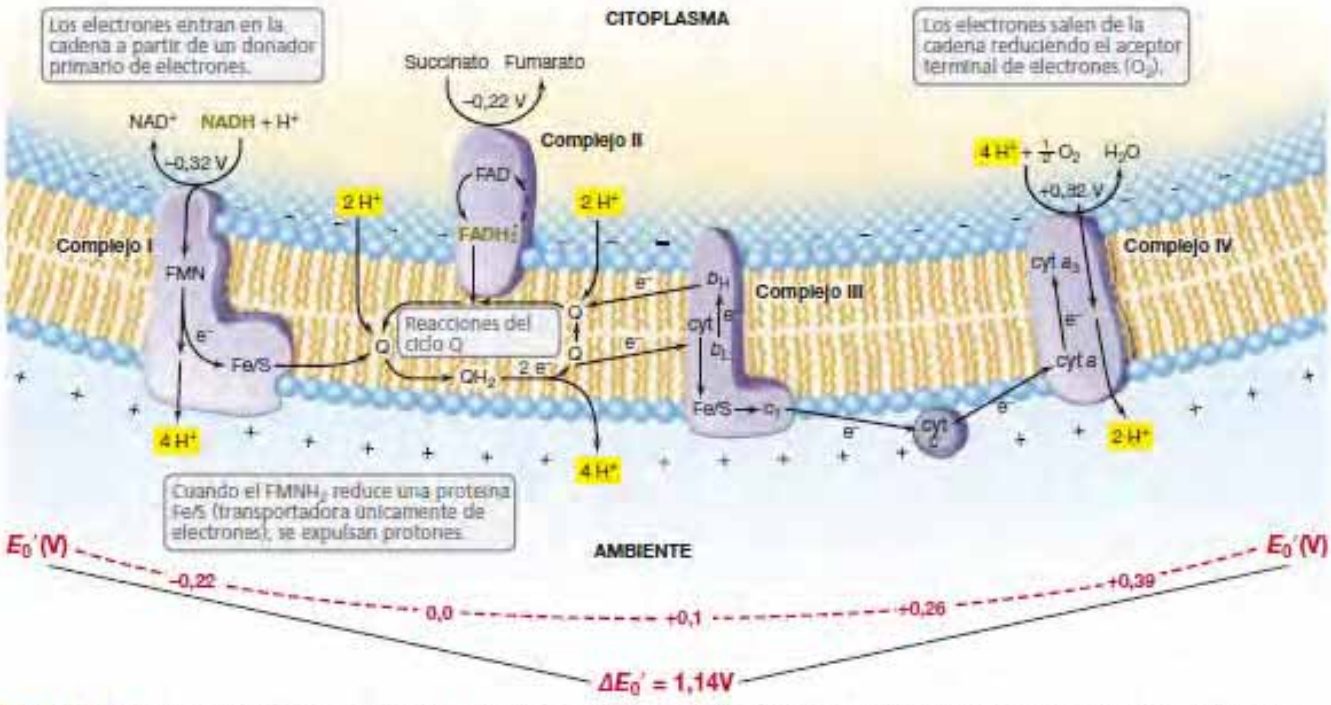


Figura 3.20 Generación de la fuerza protonmotriz durante la respiración aeróbica. Orientación de los transportadores de electrones en la membrana de *Paracoccus denitrificans*, un organismo modelo para el estudio de la respiración. Las cargas + y − a los lados de la membrana representan H^+ y OH^-, respectivamente. Abreviaturas: FMN, mononucleótido de flavina; FAD, dinucleótido de flavina y adenina; Q, quinona; Fe/S, proteína de hierro y azufre; cyt *a*, *b*, *c*, citocromos (b_L y b_H, citocromos de tipo *b* de bajo y alto potencial, respectivamente). En el sitio de la quinona, los electrones se reciclan de Q a bc_1 mediante las reacciones del «ciclo Q». Los electrones de QH_2 se pueden dividir en el complejo bc_1 entre la proteína Fe/S y los citocromos de tipo *b*. Los electrones que se mueven a través de los citocromos reducen de nuevo Q a QH_2 (en dos pasos de transferencia de un electrón), y aumentan así el número de protones bombeados al sitio Q-bc_1. Los electrones que pasan a la proteína Fe/S reducen el citocromo c_1 y, desde allí, el citocromo *c*. El complejo II, la succinato-deshidrogenasa, elude el complejo I y cede los electrones directamente a las quinonas a un E_0' más positivo que el del NADH (véase la escala redox de la Figura 3.9).

II también se conoce como *complejo de la succinato-deshidrogenasa*, porque el sustrato específico que se oxida es el succinato (un producto del ácido cítrico, Sección 3.12). No obstante, como el complejo II sortea el complejo I (en el que los electrones entran con un potencial de reducción más negativo), se bombean menos protones por cada 2 e^- que entran en el complejo II que cuando lo hacen al complejo I (Figura 3.20); esto disminuye el rendimiento de ATP en uno por cada dos electrones consumidos.

Complejos III y IV: citocromos *bc*$_1$ y de tipo *a*

La coenzima Q reducida (QH_2) transfiere los electrones de uno en uno al complejo citocromo bc_1 (*complejo III*, Figura 3.20). El complejo III está formado por varias proteínas que contienen dos hemos de tipo *b* diferentes (b_L y b_H), un hemo de tipo *c* (c_1) y un centro de hierro y azufre. El complejo bc_1 está presente en la cadena de transporte de electrones de casi todos los organismos que pueden respirar, y también ejerce una función importante en el flujo de electrones fotosintético de los organismos fotótrofos (↔ Secciones 13.3 y 13.4).

La principal función del complejo citocromo bc_1 es trasladar los electrones de las quinonas al citocromo *c*. Los electrones viajan del complejo bc_1 al citocromo *c*, situado en el periplasma. El citocromo *c* funciona como lanzadera para transferir e^- a los citocromos de alto potencial redox *a* y a_3 (*complejo IV*, Figura 3.20). El complejo IV actúa como oxidasa terminal y reduce O_2 a H_2O en el paso final de la cadena de transporte de electrones. El complejo IV también bombea protones a la cara externa de la membrana, y aumenta así la fuerza protonmotriz (Figura 3.20).

Además de transferir electrones al citocromo *c*, el complejo citocromo bc_1 también interacciona con las quinonas de manera que, de promedio, se bombean dos protones adicionales al sitio Q-bc_1. Esto sucede en una serie de intercambios de electrones entre el citocromo c_1 y Q, denominados *ciclo Q*. Como las quinonas y el bc_1 tienen aproximadamente el mismo E_0' (casi 0 V, Figura 3.9), las moléculas de quinona se oxidan y se reducen alternativamente usando electrones suministrados por el complejo bc_1. Este mecanismo permite bombear, de promedio, un total de 4 H^+ (en lugar de 2) a la cara externa de la membrana en el sitio Q-bc_1 por cada 2 e^- que entran en la cadena en el complejo I (Figura 3.20). De nuevo, esto aumenta la fuerza protonmotriz que, como veremos a continuación, es la que impulsa la síntesis de ATP.

ATP-sintasa

¿Cómo se usa la fuerza protonmotriz generada por el transporte electrónico (Figura 3.20) para sintetizar ATP? Curiosamente, existe un fuerte paralelismo entre el mecanismo de síntesis de ATP y el mecanismo del motor que dirige la rotación del flagelo bacteriano (↔ Sección 2.17). Análogamente a cómo la disipación de la fmp genera el par de torsión que hace rotar el flagelo bacteriano, la fmp también crea un par de fuerzas en un gran complejo proteico de la membrana que sintetiza ATP. Este complejo se llama **ATP-sintasa** o, abreviadamente, **ATPasa**.

La ATPasa está formada por dos componentes, un complejo multiproteico llamado F_1, encarado hacia el citoplasma y que lleva a cabo la síntesis de ATP, y un componente integrado en la membrana llamado F_o, que desempeña la función de translocación de iones (**Figura 3.21**). La ATPasa cataliza una reacción

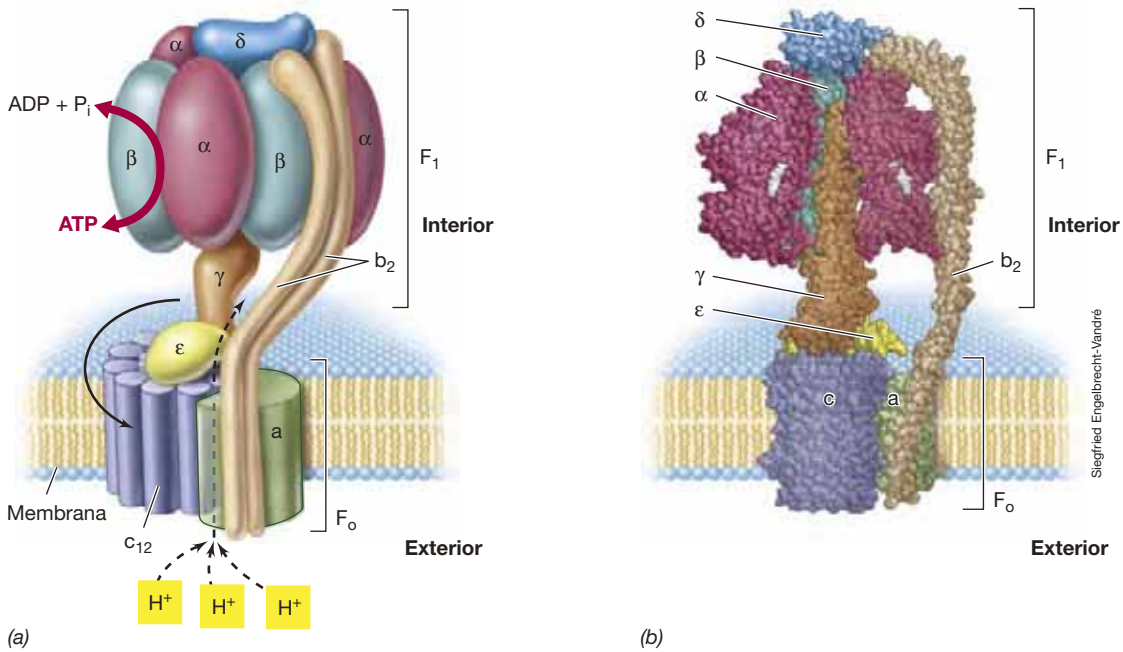


Figura 3.21 **Estructura y función de la ATP-sintasa (ATPasa) reversible de *Escherichia coli*.** *(a)* Esquemático. F_1 está formado por cinco polipéptidos diferentes que forman un complejo $\alpha_3\beta_3\gamma\varepsilon\delta$, el estátor. F_1 es el complejo catalítico responsable de la interconversión entre ADP + P_i y ATP. F_0, el rotor, está integrado en la membrana y está formado por tres polipéptidos que constituyen el complejo ab_2c_{12}. Cuando los protones entran, la disipación de la fuerza protonmotriz impulsa la síntesis de ATP (3 H^+/ATP). *(b)* Modelo de espacio lleno. El código de colores corresponde al de la parte *a*. Como la traslocación de protones del exterior al interior de la célula provoca la síntesis de ATP por la ATPasa, la traslocación de protones de dentro hacia fuera en la cadena de transporte electrónica (Figura 3.20) representa trabajo llevado a cabo en el sistema y es una fuente de energía potencial.

reversible entre el ATP y el ADP + P_i, como se muestra en la figura. La estructura de las ATPasas está muy conservada en todos los dominios de la vida, lo que indica que este mecanismo de conservación de la energía fue un invento muy temprano en la evolución.

F_1 y F_o son en realidad dos motores rotatorios. El movimiento de H^+ a través de F_o hacia el citoplasma está acoplado a la rotación de sus proteínas *c*. Esto genera un par de fuerzas que se transmite a F_1 mediante la rotación acoplada de las subunidades $\gamma\varepsilon$ (Figura 3.21). La rotación causa cambios conformacionales en las subunidades β de F_1 que les permiten unir ADP + P_i. El ATP se sintetiza cuando las subunidades β vuelven a su conformación original. Cuando esto ocurre, la energía libre de la rotación se libera y se acopla a la síntesis de ATP. La medición cuantitativa del número de H^+ consumidos por la ATPasa por cada ATP sintetizado dan un valor de entre 3 y 4.

Reversibilidad de la ATPasa

La ATPasa es reversible. La hidrólisis de ATP proporciona un par de fuerzas para la rotación de $\gamma\varepsilon$ en sentido contrario al que se da en la síntesis de ATP, y esto bombea H^+ desde el citoplasma al medio externo a través de F_o (Figura 3.21). El resultado neto en este caso es la *generación* en lugar de la *disipación* de fuerza protonmotriz. La reversibilidad de la ATPasa explica por qué contienen ATPasas las bacterias fermentadoras estrictas que carecen de cadenas de transporte de electrones y son incapaces de llevar a cabo la fosforilación oxidativa. Muchas reacciones importantes de la célula, como la rotación de los flagelos y algunas formas de transporte, están vinculadas a la energía de la fmp en vez de estarlo directamente al ATP. Así, la ATPasa de organismos incapaces de respirar, como las bacterias del ácido láctico, que son fermentadoras estrictas, funcionan de manera unidireccional generando esta fmp necesaria para las funciones celulares a partir del ATP formado en la fermentación durante la fosforilación a nivel de sustrato.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cómo se genera la fuerza protonmotriz a partir de las reacciones de transporte de electrones?
- ¿Cuál es la proporción de protones bombeados por cada NADH oxidado en la cadena de transporte de electrones de *Paracoccus* que se muestra en la Figura 3.20? ¿En qué puntos de la cadena se establece la fuerza protonmotriz?
- ¿Qué estructura celular convierte la fuerza protonmotriz en ATP? ¿Cómo funciona?

3.12 La respiración: el ciclo del ácido cítrico y el ciclo del glioxilato

Ahora que tenemos una idea de cómo está acoplada la síntesis de ATP al transporte de electrones, es necesario abordar otro aspecto importante de la respiración: la producción de CO_2. Nos centraremos en el ciclo del ácido cítrico (ciclo de Krebs), una ruta fundamental en prácticamente todas las células, y en el ciclo del glioxilato, una variante del ciclo del ácido cítrico, necesario cuando la respiración se hace con donadores de electrones que son compuestos de dos carbonos.

Respiración de la glucosa

Las etapas iniciales de la respiración de la glucosa son las mismas que las de la glicólisis; todas las etapas desde la glucosa al piruvato (Figura 3.14) son iguales. No obstante, mientras que en la fermentación se reduce el piruvato y se convierte en productos que son posteriormente excretados, en la respiración el piruvato es oxidado a CO_2. La ruta por la cual el piruvato es oxidado a CO_2 se llama **ciclo del ácido cítrico** (**Figura 3.22**).

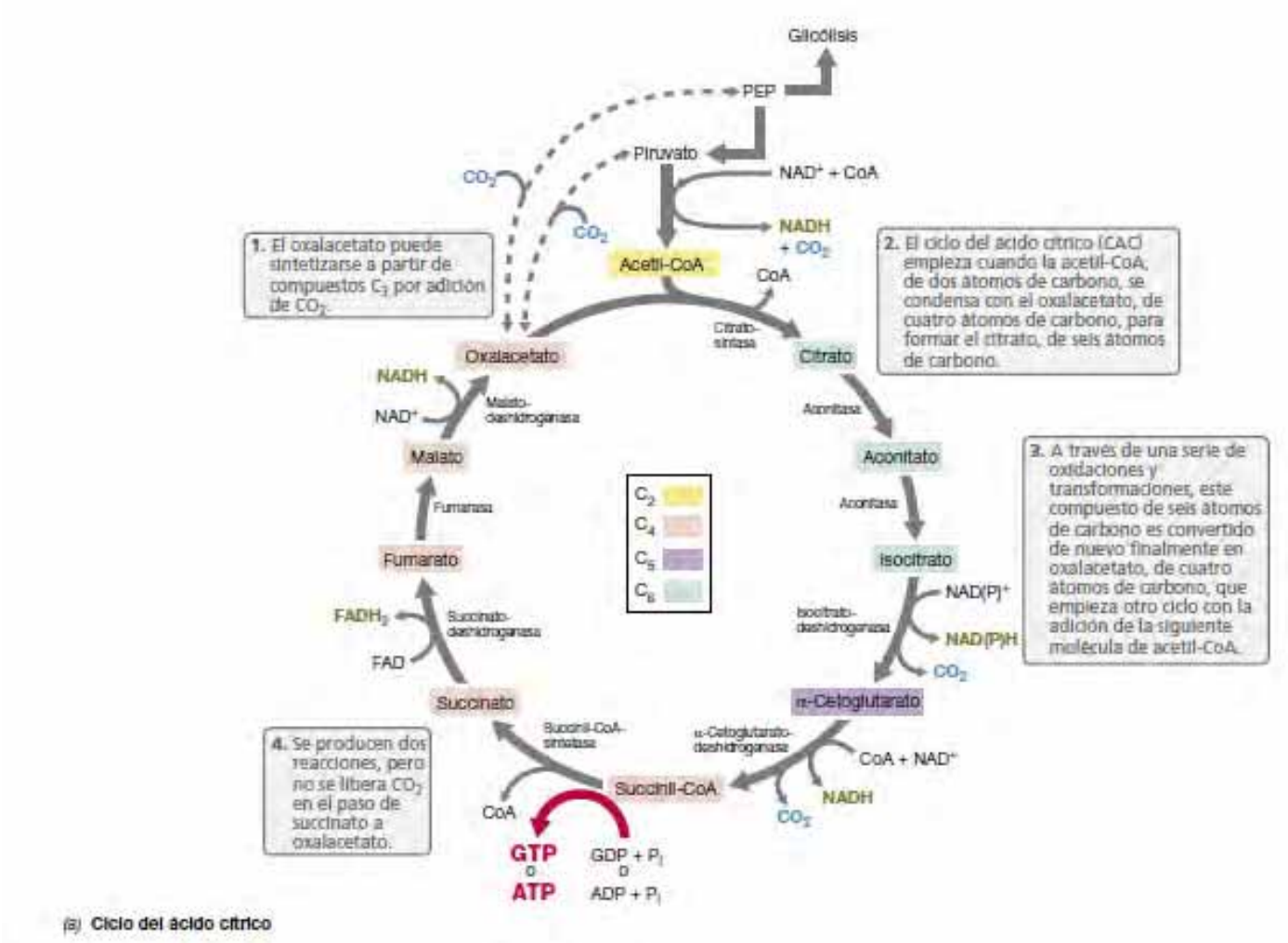
En el ciclo del ácido cítrico, primero se descarboxila el piruvato y se produce CO_2, NADH y el compuesto de alta energía *acetil-CoA*. A continuación, el grupo acetilo de la acetil-CoA se combina con el oxalacetato, de cuatro carbonos, para formar el ácido cítrico, de seis carbonos. Siguen una serie de reacciones en las que se forman otras dos moléculas de CO_2, tres de NADH y una de FADH. Por último, el oxalacetato es regenerado como aceptor de acetilos y se completa el ciclo (Figura 3.22).

Conexión entre la liberación de CO_2 y el transporte de electrones

¿Cómo están conectadas las reacciones del ciclo del ácido cítrico y la cadena de transporte de electrones? La oxidación de piruvato a CO_2 requiere la actividad concertada del ciclo del ácido cítrico y la cadena de transporte de electrones. Por cada molécula de piruvato que se oxida en el ciclo del ácido cítrico, se producen tres moléculas de CO_2 (Figura 3.22). Los electrones liberados durante la oxidación de productos intermedios en el ciclo del ácido cítrico son transferidos al NAD^+ para formar NADH o, en una sola reacción, a FAD para formar $FADH_2$. Las reacciones combinadas del ciclo del ácido cítrico y la cadena de transporte de electrones permiten llevar a cabo la oxidación completa de glucosa a CO_2 con un rendimiento energético mucho mayor. Mientras que en las fermentaciones alcohólicas o del ácido láctico solo se producen *2 ATP* por glucosa fermentada (Figura 3.14 y Tabla 3.4), la respiración aeróbica de la misma molécula de glucosa a CO_2 y H_2O produce un total de *38 ATP* (Figura 3.22*b*).

Biosíntesis y ciclo del ácido cítrico

Además de su función en la combustión de piruvato a CO_2, el ciclo del ácido cítrico tiene otro papel importante en la célula. El ciclo está compuesto por varios productos intermedios fundamentales, de los que se toman pequeñas cantidades durante el crecimiento con fines biosintéticos. Especialmente importantes en este aspecto son el α-cetoglutarato y el oxalacetato, que son precursores de varios aminoácidos (Sección 3.15), y el succinil-CoA, necesario para la síntesis de citocromos, clorofila y otros tetrapirroles (compuestos formados por cuatro anillos pirrólicos; véase la Figura 3.17). El oxalacetato también es importante porque se puede convertir a fosfoenolpiruvato, un precursor de la glucosa. Además, el acetato proporciona el material inicial para la síntesis de ácidos grasos (Sección 3.16, y véase la Figura 3.30). Así pues, el ciclo del ácido cítrico desempeña dos funciones importantes en la célula: *conservación de la energía* y *biosíntesis*. Algo parecido se puede decir de la glicólisis, ya que algunos productos intermedios de esta ruta se pueden usar para fines biosintéticos también (Secciones 3.14 y 3.15).



(a) **Ciclo del ácido cítrico**

Balance energético de la respiración aerobia

(1) **Glicólisis:** Glucosa + 2 NAD^+ → 2 Piruvato + **2 ATP** + **2 NADH**

- (a) Fosforilación a nivel de sustrato: 2 ADP + P_i → **2 ATP**
- (b) Fosforilación oxidativa: **2 NADH** → **6 ATP**

8 ATP

2 Piruvato + **2 ATP** + **2 NADH**: (al CAC) (al complejo I)

(2) **CAC:** Piruvato + 4 NAD^+ + GDP + FAD → **3 CO_2** + **4 NADH** + **$FADH_2$** + **GTP** (**ATP**)

- (a) Fosforilación a nivel de sustrato: GDP + P_i → **GTP** (**ADP**) (**ATP**)
- (b) Fosforilación oxidativa: **4 NADH** → **12 ATP**; **1 $FADH_2$** → **2 ATP**

15 ATP (×2)

3 CO_2 + **4 NADH** + **$FADH_2$** + **GTP** (**ATP**): (al complejo I) (al complejo II) (véase la Figura 3.20)

(3) **) Suma: glicólisis + CAC** → **38 ATP por glucosa**

(b) **Rendimiento energético del ciclo del ácido cítrico**

Figura 3.22 Ciclo del ácido cítrico. *(a)* El ciclo del ácido cítrico (CAC) empieza cuando la acetil-CoA, de dos carbonos, se condensa con el oxalacetato, de cuatro carbonos, para formar el citrato, de seis carbonos. Mediante una serie de oxidaciones y transformaciones, el citrato es convertido en dos CO_2 y oxalacetato, el aceptor de la acetil CoA. *(b)* Balance global de energía (NADH/$FADH_2$) para la cadena de transporte de electrones y del CO_2 generado en el ciclo del ácido cítrico. El NADH y el $FADH_2$ entran en la cadena de transporte de electrones por los complejos I y II, respectivamente (Figura 3.20).

Ciclo del glioxilato

El citrato, el malato, el fumarato y el succinato son productos naturales comunes, y los organismos que usan estos compuestos C_4 o C_6 como fuentes de energía utilizan el ciclo del ácido cítrico para su catabolismo. En cambio, los compuestos de dos carbonos como el acetato no pueden utilizarse como sustratos para el crecimiento solo mediante el ciclo del ácido cítrico. El ciclo del ácido cítrico solo puede seguir funcionando si en cada vuelta del ciclo se regenera oxalacetato; cualquier extracción de oxalacetato (o de cualquier otro producto intermedio del ciclo)

para biosíntesis impedirían terminar el ciclo (Figura 3.22). Por tanto, cuando se usa acetato como donador de electrones, se utiliza una variante del ciclo del ácido cítrico llamada **ciclo del glioxilato** (Figura 3.23), que recibe este nombre porque el glioxilato, un compuesto C_2, es un producto intermedio fundamental. El ciclo del glioxilato está formado por la mayoría de las reacciones del ciclo del ácido cítrico más dos enzimas adicionales: la *isocitrato-liasa*, que escinde el isocitrato en succinato y glioxilato, y la *malato-sintasa*, que convierte el glioxilato y la acetil-CoA en malato (Figura 3.23). La escisión de isocitrato da succinato, que se puede usar en biosíntesis, y glioxilato, que se combina con acetil-CoA (C_2) para dar malato (C_4). A partir del malato se puede producir la molécula aceptora oxalacetato, que puede entrar en una nueva ronda de oxidación de la acetil-CoA del ciclo del ácido cítrico (Figura 3.22).

Los compuestos de tres carbonos como el piruvato o los compuestos que se convierten en piruvato (por ejemplo el lactato o glúcidos) tampoco se pueden catabolizar solo a través del ciclo del ácido cítrico. Pero en este caso el ciclo del glioxilato es innecesario, porque cualquier escasez de productos intermedios del ciclo del ácido cítrico se corrige sintetizando oxalacetato a partir de piruvato o de fosfoenolpiruvato por adición de CO_2 mediante las enzimas *piruvato-carboxilasa* o *fosfoenolpiruvato-carboxilasa*, respectivamente (Figura 3.22).

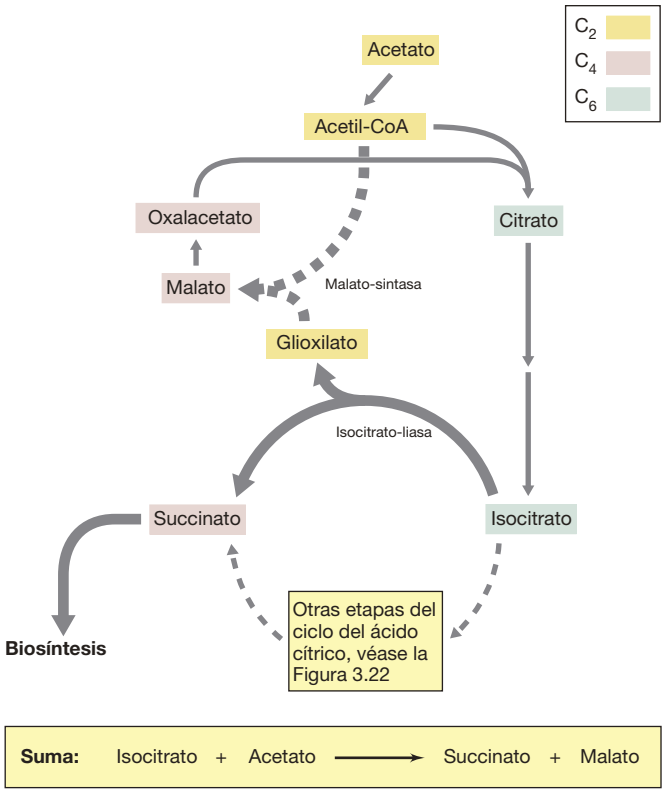


Figura 3.23 El ciclo del glioxilato. Estas reacciones se llevan a cabo en combinación con el ciclo del ácido cítrico cuando las células crecen con donadores de electrones de dos carbonos como el acetato. El ciclo del glioxilato regenera el oxalacetato (a partir del malato) para continuar el ciclo del ácido cítrico.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cuántas moléculas de CO_2 y cuántos pares de electrones son liberados por cada molécula de piruvato que entra en el ciclo del ácido cítrico?
- ¿Qué dos importantes funciones tienen en común el ciclo del ácido cítrico y la glicólisis?
- ¿Por qué es necesario el ciclo del glioxilato para crecer con acetato pero no con succinato?

3.13 Diversidad catabólica

Hasta aquí hemos tratado solamente el catabolismo de los quimioorganótrofos. Ahora estudiaremos brevemente la diversidad catabólica y algunas de las alternativas a la fermentación o la respiración, como la *respiración anaeróbica*, la *quimiolitotrofia* y la *fototrofia* (Figura 3.24).

Respiración anaerobia

En condiciones anóxicas ciertos procariotas pueden usar aceptores de electrones diferentes del oxígeno para llevar a cabo la respiración que, en ese caso, recibe el nombre de **respiración**

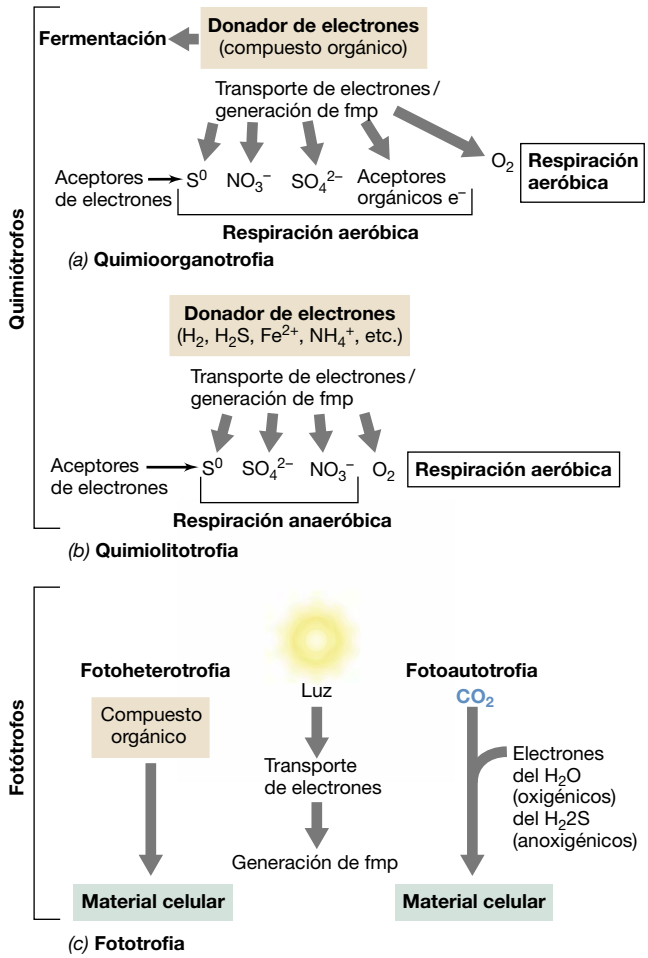


Figura 3.24 Diversidad catabólica. *(a)* Quimioorganótrofos. *(b)* Quimiolitótrofos. *(c)* Fotótrofos. Obsérvese la importancia de la formación de la fuerza protonmotriz que se obtiene por el transporte de electrones en ambas formas de respiración y en la fotosíntesis.

anaerobia. Algunos de los aceptores de electrones que se utilizan en la respiración anaeróbica son el nitrato (NO_3^-, reducido a nitrito, NO_2^-, por *Escherichia coli* o a N_2 por especies de *Pseudomonas*), el hierro férrico (Fe^{3+}, reducido a Fe^{2+} por especies de *Geobacter*), el sulfato (SO_4^{2-}, reducido a sulfuro de hidrógeno, H_2S, por especies de *Desulfovibrio*), el carbonato (CO_3^{2-}, reducido a metano, CH_4, por metanógenos o a acetato por acetógenos), e incluso algunos compuestos orgánicos como el fumarato, producto intermedio del ciclo del ácido cítrico.

Debido a las posiciones de estos aceptores de electrones alternativos en la escala redox (ninguno tiene un E_0' tan positivo como el par O_2/H_2O, Figura 3.9), se conserva menos energía cuando se reducen que con la que se obtiene cuando se reduce el O_2 (recordemos que $\Delta G^{0\prime}$ es proporcional a $\Delta E^{0\prime}$; Sección 3.4 y Figura 3.9). Aun así, como el O_2 suele ser limitante o incluso totalmente inexistente en muchos hábitats microbianos, la respiración anaeróbica puede ser muy importante para la generación de energía. Al igual que la respiración aeróbica, la respiración anaeróbica requiere transporte de electrones, genera una fuerza protonmotriz y usa la ATPasa para sintetizar ATP (Secciones 3.10-3.12).

Quimiolitotrofia y fototrofia

Los organismos que pueden usar compuestos *inorgánicos* como donadores de electrones reciben el nombre de *quimiolitótrofos* (Sección 3.3). Algunos ejemplos importantes de donadores inorgánicos de electrones son el H_2S, el hidrógeno molecular (H_2), Fe^{2+} y NH_3.

Los metabolismos quimiolitótrofos son típicamente aerobios y empiezan con la oxidación del donador de electrones inorgánico por parte de una cadena de transporte de electrones. Esto genera una fuerza protonmotriz, como ya hemos visto para la oxidación de donadores orgánicos en los quimioorganótrofos (Figura 3.20). Sin embargo, otra importante diferencia entre los quimiolitótrofos y los quimioorganótrofos es la fuente de carbono para la biosíntesis. Los quimioorganótrofos son heterótrofos, de manera que usan compuestos orgánicos (glucosa, acetato y similares) como fuente de carbono; los quimiolitótrofos, en cambio, usan dióxido de carbono (CO_2), de modo que son autótrofos.

En el proceso de la fotosíntesis, propio de los *fotótrofos*, se usa la luz en lugar de un compuesto químico para generar fuerza protonmotriz. En el metabolismo fotótrofo se sintetiza ATP a partir de la actividad de la ATPasa durante la **fotofosforilación**, el análogo luminoso de la fosforilación oxidativa (Sección 3.8). La mayoría de los fotótrofos asimilan CO_2 como fuente de carbono y son, por tanto, *fotoautótrofos*. No obstante, algunos fotótrofos usan compuestos orgánicos como fuente de carbono y la luz como fuente de energía, así que son *fotoheterótrofos* (Figura 3.24).

Fuerza protonmotriz y diversidad catabólica

A excepción de la fermentación, en la que se produce fosforilación a nivel de sustrato (Sección 3.8), los demás mecanismos de conservación de energía utilizan la fuerza protonmotriz. Ya procedan los electrones de la oxidación de compuestos orgánicos o inorgánicos o de procesos luminosos, en todas las formas de respiración y fotosíntesis la conservación de la energía está unida al establecimiento de una fmp y su disipación por la ATPasa para formar ATP (Figura 3.24). La respiración y la respiración anaeróbica se pueden ver, pues, como variaciones en una cuestión de *diferentes aceptores de electrones*. De igual modo, la quimioorganotrofia, la quimiolitotrofia y la fotosíntesis son variaciones en una cuestión de *diferentes donadores de electrones*. El transporte electrónico y la fmp establecen un vínculo entre todos estos procesos y convierten todas estas formas de metabolismo energético, aparentemente diferentes, en una estrategia común. Volveremos a tratar este tema con más profundidad en el Capítulo 13.

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué se diferencian los quimioorganótrofos de los quimiolitótrofos en cuanto a sus donadores de electrones?
- ¿Cuál es la fuente de carbono de los organismos autótrofos?
- ¿Por qué podemos decir que la fuerza protonmotriz es un elemento unificador de la mayoría de metabolismos bacterianos?

IV • Biosíntesis

Cerramos este capítulo con una breve consideración de la biosíntesis. Daremos una visión general de la biosíntesis de los bloques básicos de las cuatro clases de macromoléculas: azúcares (polisacáridos), aminoácidos (proteínas), nucleótidos (ácidos nucleicos) y ácidos grasos (lípidos). El conjunto de estos procesos constituyen la parte del metabolismo llamada **anabolismo**. También trataremos la biosíntesis de polisacáridos y lípidos, y veremos cómo los procariotas pueden asimilar nitrógeno gaseoso (N_2) como fuente de nitrógeno celular.

3.14 Azúcares y polisacáridos

Los polisacáridos son componentes fundamentales de la pared celular microbiana. Además, a menudo las células almacenan carbono y reservas de energía en forma de los polisacáridos glucógeno y almidón (Capítulo 2). ¿Cómo se sintetizan estas grandes moléculas?

Biosíntesis de polisacáridos y gluconeogénesis

Los polisacáridos se sintetizan a partir de uridina difosfoglucosa (UDPG, del inglés *uridine diphosphoglucose*; **Figura 3.25*a***) o adenosina difosfoglucosa (ADPG, del inglés *adenosine diphosphoglucose*), que son formas *activadas* de glucosa. La UDPG es el precursor de varios derivados de la glucosa necesarios para la biosíntesis de polisacáridos estructurales de la célula, como la *N*-acetilglucosamina y el ácido *N*-acetilmurámico del peptidoglicano, o el componente lipopolisacarídico de la membrana externa de las bacterias gramnegativas (↷ Secciones 2.10 y 2.11). Los polisacáridos de almacenamiento se sintetizan

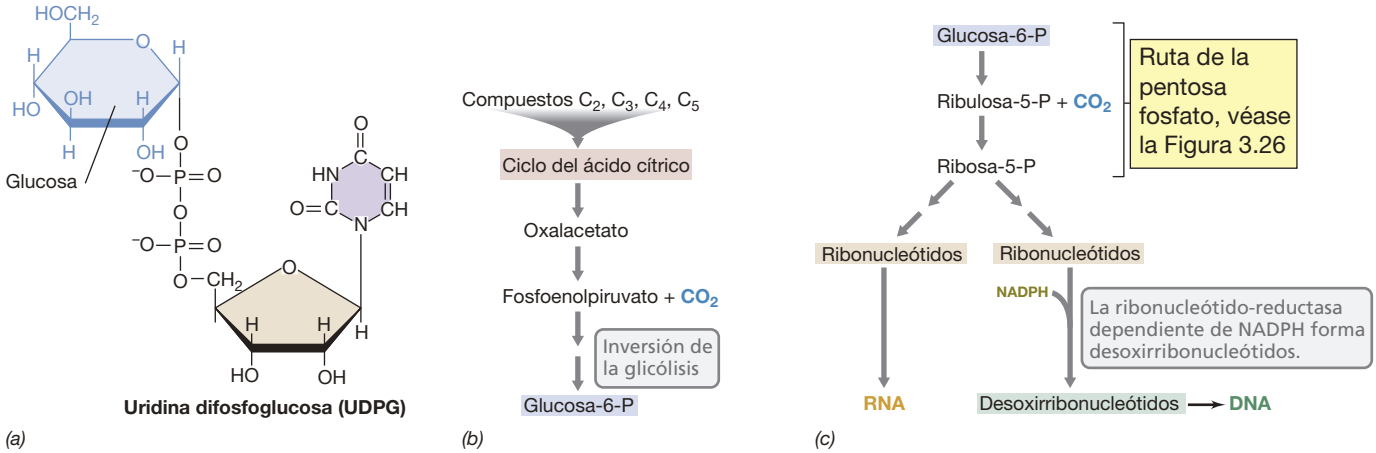


Figura 3.25 **Metabolismo de azúcares.** *(a)* Los polisacáridos se sintetizan a partir de formas activadas de hexosas como el UDPG. *(b)* Gluconeogénesis. Cuando se necesita glucosa, se puede sintetizar a partir de otros compuestos carbonados, por lo general invirtiendo los pasos de la glicólisis. *(c)* Las pentosas para la síntesis de ácidos nucleicos se forman por descarboxilación de hexosas como la glucosa-6-fosfato. Obsérvese que los precursores del DNA se producen a partir de los precursores del RNA por la enzima ribonucleótido-reductasa.

añadiendo glucosa activada al polímero preexistente. Por ejemplo, el glucógeno se sintetiza como ADPG + glucógeno → ADP + glucógeno-glucosa.

Cuando una célula crece utilizando una hexosa como la glucosa, obviamente no es un problema obtener glucosa para la biosíntesis de polisacáridos. Pero cuando la célula crece utilizando otros compuestos de carbono, la glucosa hay que sintetizarla. Este proceso, llamado *gluconeogénesis*, utiliza fosfoenolpiruvato, uno de los productos intermedios de la glicólisis, como material inicial, y recorre en sentido inverso la ruta glicolítica para formar glucosa (Figura 3.14). El fosfoenolpiruvato se puede sintetizar a partir del oxalacetato, un producto intermedio del ciclo del ácido cítrico (Figura 3.22). En la Figura 3.25*b* se da una visión general de la gluconeogénesis.

Metabolismo de las pentosas y ruta de la pentosa fosfatos

Las pentosas se forman por eliminación de un átomo de carbono de una hexosa, normalmente como CO_2. Las pentosas necesarias para la síntesis de ácidos nucleicos, ribosa (en el RNA) y desoxirribosa (en el DNA), se forman como se muestra en la Figura 3.25*c*. La enzima ribonucleótido-reductasa convierte la ribosa en desoxirribosa por reducción del grupo hidroxilo (–OH) del carbono 2′ del anillo de pentosa. Esta reacción se produce después, no antes, de la síntesis de nucleótidos. Así pues, se sintetizan los *ribo*nucleótidos, y algunos de ellos se reducen después a *desoxi*rribonucleótidos para su uso como precursores del DNA.

Las pentosas se sintetizan a partir de hexosas, y la ruta principal para este proceso es la **ruta de la pentosa fosfato** (Figura 3.26). En esta ruta, la glucosa se oxida a CO_2, NADPH y el producto intermedio clave, *ribulosa-5-fosfato*; a partir de este último compuesto se forman varios derivados de la pentosa. Cuando se usan pentosas como donadores de electrones, entran directamente en la ruta de los fosfatos de pentosa, normalmente fosforilándose para formar fosfato de ribosa o un compuesto relacionado antes de ser catabolizados (Figura 3.26).

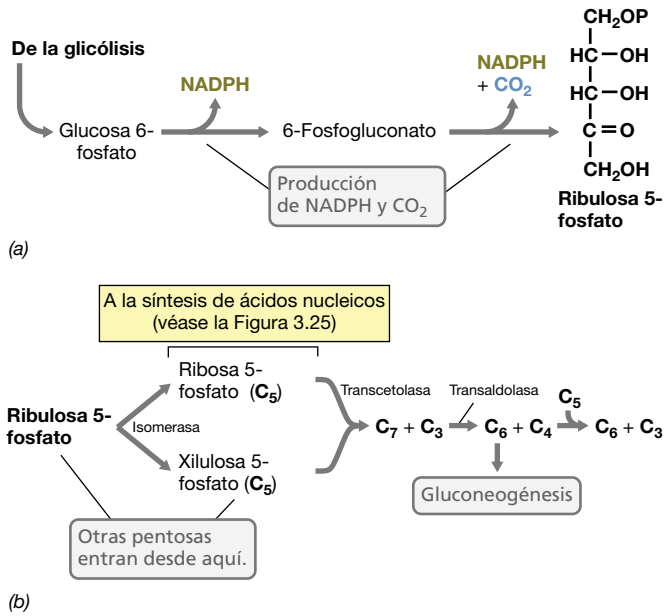


Figura 3.26 **Ruta de la pentosa fosfato.** Esta ruta genera pentosas a partir de otros azúcares para biosíntesis, y también se usa para catabolizar pentosas. *(a)* Producción del intermediario clave,ribulosa-5-fosfato. *(b)* Otras reacciones en la ruta la pentosa fosfato.

Además de su importancia en el metabolismo de las pentosas, mediante la ruta de la pentosa fosfato también se producen en la célula muchos azúcares importantes que no son pentosas, incluyendo azúcares de C_4 a C_7. Estos azúcares pueden convertirse finalmente en hexosas para fines catabólicos o para biosíntesis (Figura 3.26). Un aspecto final importante de la ruta de la pentosa fosfato es que genera NADPH, una coenzima que se usa en muchos procesos reductores de biosíntesis, en particular como reductor para la producción de desoxirribonucleótidos (Figura 3.25*c*). Aunque muchas células tienen un mecanismo de intercambio para convertir NADH en NADPH, la ruta de la pentosa fosfato es el medio principal de síntesis directa de esta importante coenzima.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué forma de glucosa activada usan las bacterias en la biosíntesis de glucógeno?
- ¿Qué es la gluconeogénesis?
- ¿Qué funciones desempeña la ruta la pentosa fosfato en la célula?

3.15 Aminoácidos y nucleótidos

Los monómeros de las proteínas y los ácidos nucleicos son los aminoácidos y los nucleótidos, respectivamente. Su biosíntesis se lleva a cabo mediante rutas bioquímicas de muchas etapas que no analizaremos aquí. En cambio, identificaremos los esqueletos carbonados necesarios para la biosíntesis de aminoácidos y nucleótidos y resumiremos el mecanismo por el que se elaboran.

Monómeros de proteínas: aminoácidos

Los organismos que no pueden obtener alguno o todos sus aminoácidos del medio deben sintetizarlos a partir de glucosa o de otras fuentes. Los aminoácidos se agrupan en *familias* relacionadas estructuralmente que comparten varias etapas de su biosíntesis. Los esqueletos de carbono de los aminoácidos proceden casi exclusivamente de los productos intermedios de la glicólisis o del ciclo del ácido cítrico (**Figura 3.27**).

El grupo amino de los aminoácidos deriva normalmente de alguna fuente de nitrógeno inorgánico del medio, como el amoniaco (NH_3). Lo más frecuente es que el amoniaco se incorpore durante la formación de los aminoácidos glutamato o glutamina

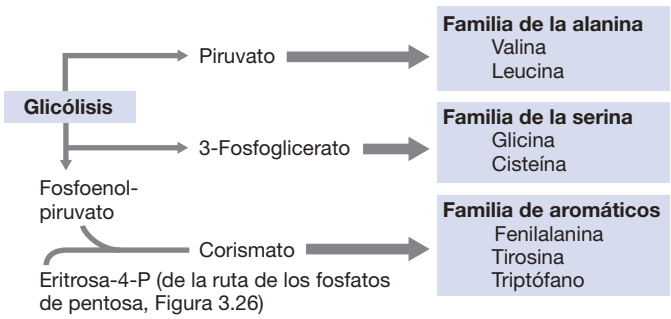


Figura 3.27 Familias de aminoácidos. La glicólisis *(a)* y el ciclo del ácido cítrico *(b)* proporcionan los esqueletos carbonados de la mayoría de los aminoácidos. La síntesis de los distintos aminoácidos de una familia puede requerir muchas etapas, empezando por el aminoácido parental (en negrita dando nombre a la familia).

por la acción de las enzimas *glutamato-deshidrogenasa* y *glutamina-sintetasa*, respectivamente (**Figura 3.28**). Cuando hay gran cantidad de NH_3, se usa la glutamato-deshidrogenasa o deshidrogenasas de otros aminoácidos. Pero cuando hay poco NH_3, se utiliza la glutamina-sintetasa, que tiene un mecanismo de reacción que consume energía (Figura 3.28*b*) y, en consecuencia, tiene gran afinidad por el sustrato.

Una vez incorporado el amoniaco al glutamato o a la glutamina se puede transferir el grupo amino para formar otros compuestos nitrogenados. Por ejemplo, el glutamato puede donar su grupo amino al oxalacetato en una reacción de transaminación que produce α-cetoglutarato y aspartato (Figura 3.28*c*). Alternativamente, la glutamina puede reaccionar con α-cetoglutarato para formar dos moléculas de glutamato en una reacción catalizada por una aminotransferasa (Figura 3.28*d*). El resultado final de estas reacciones es el envío de amoniaco a varios esqueletos carbonados a partir de los cuales tendrán lugar otras reacciones biosintéticas para formar todos los veintidós aminoácidos necesarios para sintetizar las proteínas (↻ Figura 4.30) y otras biomoléculas que contienen nitrógeno.

Monómeros de ácidos nucleicos: nucleótidos

La bioquímica que hay detrás de la biosíntesis de las purinas y las pirimidinas es bastante compleja. Las purinas se construyen, literalmente, átomo a átomo desde distintas fuentes de carbono y nitrógeno, incluido el mismo CO_2 (**Figura 3.29**). La primera purina clave, el ácido iosínico (Figura 3.29*b*) es el precursor de los nucleótidos purínicos adenina y guanina. Una vez están sintetizados (en su forma trifosfatada) y unidos a la ribosa, están listos para ser incorporados al DNA (después de que actúe la ribonucleótido-reductasa, Figura 3.25*c*) o al RNA.

Al igual que el anillo de purina, el de pirimidina se sintetiza a partir de varias fuentes (Figura 3.29*c*). La primera pirimidina clave es el compuesto uridilato (Figura 3.29*d*), y de él se derivan las pirimidinas timina, citosina y uracilo. Las estructuras de todas las purinas y pirimidinas se muestran en el capítulo siguiente (↻ Figura 4.1).

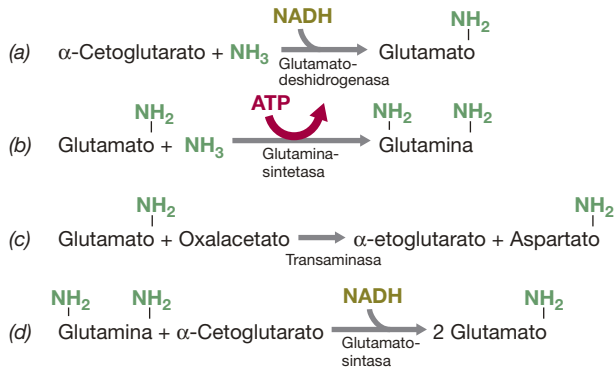


Figura 3.28 Incorporación de amoniaco en las bacterias. El amoniaco (NH_3) y los grupos amino de todos los aminoácidos se muestran en verde. Dos de las principales rutas de asimilación de NH_3 en las bacterias son las catalizadas por las enzimas *(a)* glutamato-deshidrogenasa y *(b)* glutamina-sintetasa. *(c)* Las reacciones de la transaminasa transfieren un grupo amino de un aminoácido a un ácido orgánico. *(d)* La enzima glutamato-sintasa produce dos glutamatos de una glutamina y un α-cetoglutarato.

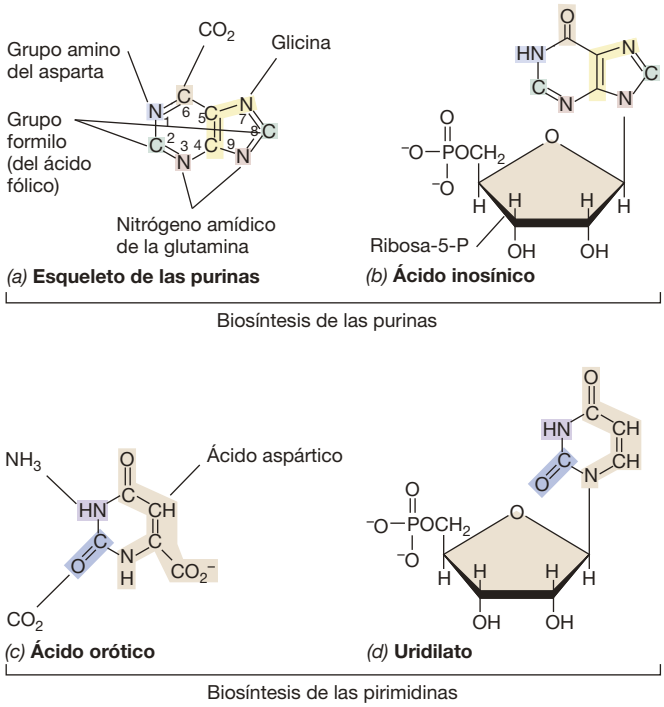


Figura 3.29 **Biosíntesis de purinas y pirimidinas.** *(a)* Componentes del esqueleto de las purinas. *(b)* Ácido inosínico, precursor de todos los nucleótidos purínicos. *(c)* Componentes del esqueleto de las pirimidinas, el ácido orótico. *(d)* Uridilato, precursor de todos los nucleótidos pirimidínicos. El uridilato se forma a partir de la descarboxilación del orotato y la adición de ribosa-5-fosfato.

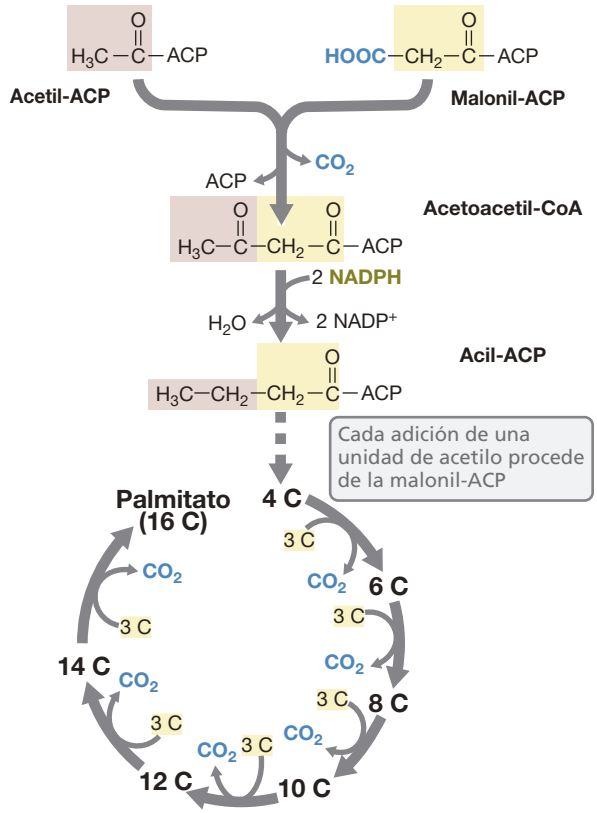


Figura 3.30 **Biosíntesis del ácido graso C_{16} palmitato.** La condensación de acetil-ACP y malonil-ACP forma acetoacetil-CoA. Cada adición sucesiva de una unidad de acetilo procede de la malonil-ACP.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué es una familia de aminoácidos?
- Enumere las etapas por las que una célula incorpora NH_3 a los aminoácidos.
- ¿Qué bases nitrogenadas son purinas y cuáles pirimidinas?

3.16 Ácidos grasos y lípidos

Los lípidos son los componentes principales de la membrana citoplasmática de todas las células, así como de la membrana externa de las bacterias gramnegativas; también pueden ser reservas de carbono y de energía (↻ Figura 2.35). Los ácidos grasos son los componentes principales de los lípidos microbianos. No obstante, recordemos que los ácidos grasos se encuentran solamente en *Bacteria* y *Eukarya*. *Archaea* no tiene ácidos grasos en sus lípidos, sino cadenas laterales hidrófobas de isoprenoides que desempeñan una función estructural similar (↻ Figura 2.17). La biosíntesis de estas cadenas laterales es diferente de la de los ácidos grasos y no la estudiaremos aquí.

Biosíntesis de ácidos grasos

Los ácidos grasos se biosintetizan de dos en dos carbonos por la actividad de una proteína llamada *proteína transportadora de grupos acilo* (ACP). La ACP está unida al ácido graso en crecimiento y lo libera cuando ha alcanzado su longitud definitiva (**Figura 3.30**). Aunque el ácido graso se va construyendo por bloques sucesivos de *dos* carbonos, cada unidad C_2 se originan a partir de un compuesto de *tres* carbonos, el malonato, que está unido a la ACP formando la malonil-ACP. Por cada residuo de malonilo que se incorpora, se libera una molécula de CO_2 (Figura 3.30).

La composición de ácidos grasos de las células varía de unas especies a otras, y también puede variar en un cultivo puro debido a las diferencias en la temperatura de crecimiento. El crecimiento a bajas temperaturas favorece la biosíntesis de ácidos grasos de cadena más corta, mientras que las altas temperaturas facilitan la síntesis de ácidos grasos de cadenas más largas (↻ Secciones 5.12 y 5.13). Los ácidos grasos más comunes en los lípidos de *Bacteria* tienen una longitud de cadena de C_{12}-C_{20}.

Además de saturados y con un número par de carbonos, los ácidos grasos también pueden ser insaturados, ramificados o tener un número impar de carbonos. Los ácidos grasos insaturados contienen uno o más dobles enlaces en la larga porción hidrófoba de la molécula. El número y la posición de estos dobles enlaces suele ser específico de la especie o del grupo, y los dobles enlaces se forman normalmente por desaturación de un ácido graso saturado. Los ácidos grasos ramificados se biosintetizan usando una molécula iniciadora ramificada, y los de número impar de carbonos (como C_{13}, C_{15}, C_{17}, etcétera) usando una molécula iniciadora que contiene un grupo propionilo (C_3).

Biosíntesis de lípidos

En el ensamblaje de los lípidos en las células de *Bacteria* y *Eukarya*, los ácidos grasos se añaden primero a una molécula de

glicerol. En el caso de los triglicéridos simples (grasas), los tres carbonos del glicerol están esterificados con ácidos grasos. Para formar lípidos complejos, uno de los átomos de carbono del glicerol adquiere una molécula de fosfato, etanolamina, carbohidrato o alguna otra sustancia polar (↔ Figura 2.14*a*). Aunque en *Archaea* los lípidos de la membrana se sintetizan a partir del isopreno para formar cadenas laterales de fitanilo (C_{15}) o bifitanilo (C_{30}), generalmente el esqueleto de glicerol de los lípidos de las membranas arqueanas contiene también un grupo polar (azúcar, fosfato, sulfato o un compuesto orgánico polar). Los grupos polares son importantes en los lípidos porque contribuyen a la arquitectura típica de la membrana: un interior hidrófobo con superficies hidrófilas (↔ Figura 2.17).

MINIRREVISIÓN

- Explique por qué los ácidos grasos se forman por adición de bloques de dos átomos de carbono mientras que el donador de estos tiene tres átomos de carbono.
- ¿Qué diferencias existen en los lípidos de los tres dominios de la vida?

3.17 Fijación de nitrógeno

Terminamos nuestro estudio de las biosíntesis con la formación de amoniaco (NH_3) a partir de dinitrógeno gaseoso (N_2), mediante un proceso llamado **fijación de nitrógeno**. El amoniaco producido es asimilado en forma orgánica en los aminoácidos y los nucleótidos. La capacidad para fijar nitrógeno libera a un organismo de la dependencia del nitrógeno fijado en su ambiente, y le confiere una ventaja ecológica significativa cuando el nitrógeno fijado es limitante. El proceso de fijación de nitrógeno también tiene una importancia agrícola enorme, porque cubre las necesidades de nitrógeno de cultivos fundamentales como el de la soja.

Solo algunas especies de *Bacteria* y *Archaea* pueden fijar nitrógeno; en la Tabla 3.5 se citan algunos organismos fijadores de nitrógeno importantes. Algunas bacterias fijadoras de nitrógeno son *de vida libre* y llevan a cabo el proceso de manera completamente independiente. Otras son *simbióticas* y fijan el nitrógeno únicamente asociadas a ciertas plantas (↔ Sección 22.0). No obstante, en la fijación simbiótica de nitrógeno es la bacteria, y no la planta, la que fija el N_2; no se conoce ningún eucariota que fije nitrógeno.

Nitrogenasa

La fijación de nitrógeno es catalizada por un complejo enzimático llamado **nitrogenasa**. La nitrogenasa está formada por dos proteínas, la *dinitrogenasa* y la *dinitrogenasa-reductasa*. Ambas contienen hierro, y la dinitrogenasa contiene también molibdeno. El hierro y el molibdeno de la dinitrogenasa forman parte del cofactor de la enzima llamado *cofactor hierro-molibdeno* (*FeMo-co*), y es en este sitio donde se produce la reducción del N_2. La composición del FeMo-co es $MoFe_7S_8$·homocitrato (Figura 3.31). Se conocen dos nitrogenasas «alternativas» que

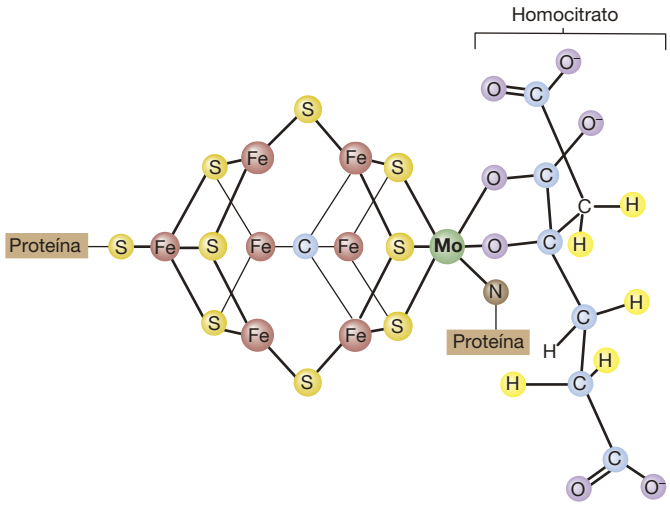


Figura 3.31 FeMo-co, el cofactor de hierro-molibdeno de la nitrogenasa. En la parte izquierda se encuentra el cubo de Fe_7S_8 que se une al molibdeno a la vez que los átomos de oxígeno del homocitrato (parte derecha; todos los átomos de O se muestran en morado) y los átomos de N y S de la dinitrogenasa.

Tabla 3.5 Algunos organismos fijadores de nitrógeno[a]

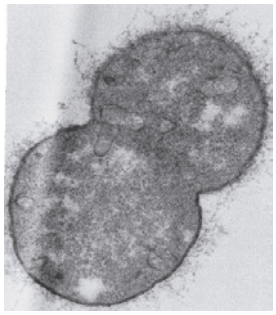
Aerobios de vida libre		
Quimioorganótrofos	***Fotótrofos***	***Quimiolitótrofos***
Azotobacter, Azomonas, Azospirillum, Klebsiella[b], *Methylomonas*	Cianobacterias (p. ej., *Anabaena, Nostoc, Gloeothece, Aphanizomenon*)	*Alcaligenes Acidithiobacillus*
Anaerobios de vida libre		
Quimioorganótrofos	***Fotótrofos***	***Quimiolitótrofos***[c]
Clostridium Desulfotomaculum	Bacterias rojas (p. ej., *Chromatium, Rhodobacter*) Bacteria verdes (p. ej., *Chlorobium*) Heliobacteria	*Methanosarcina Methanococcus Methanocaldococcus*
Simbióticos		
Con plantas leguminosas	***Con plantas no leguminosas***	
Soja, guisantes, trébol, etc. con *Rhizobium, Bradyrhizobium, Sinorhizobium*	Aliso, miricáceas, *Elaeagnus umbellata,* otros muchos arbustos, con el actinomiceto *Frankia*	

[a]Solo se enumeran algunos géneros comunes en cada categoría; se conocen otros muchos géneros fijadores de nitrógeno.
[b]La fijación de nitrógeno se produce solamente en condiciones anóxicas.
[c]Todos son *Archaea*.

carecen de molibdeno y sus cofactores contienen vanadio (V) y hierro o solamente hierro; son sintetizadas por algunas bacterias fijadoras de nitrógeno cuando en el ambiente no hay molibdeno (↔ Sección 14.12).

Con una excepción, las arqueas fijadoras de nitrógeno producen nitrogenasas con hierro como único metal en la enzima. Por lo que sabemos, las arqueas fijadoras de nitrógeno se limitan a unas pocas especies productoras de metano (metanógenas), una de las cuales al menos puede crecer y fijar N_2 a temperaturas muy altas. La especie *Methanosarcina barkeri*, un metanógeno metabólicamente versátil (↔ Sección 16.2), tiene genes que codifican nitrogenasas con molibdeno y vanadio así como una nitrogenasa de hierro como único metal, así que probablemente cuenta con el equipo completo de nitrogenasas.

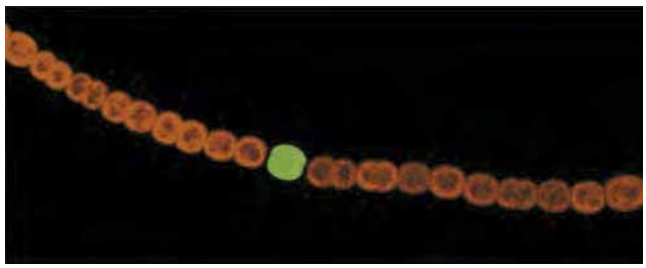
El oxígeno (O_2) inhibe la fijación de nitrógeno porque inactiva irreversiblemente la dinitrogenasa-reductasa. No obstante, muchas bacterias fijadoras de nitrógeno son aerobios obligados. En estos organismos, la nitrogenasa está protegida de la inactivación por oxígeno mediante la combinación de una rápida eliminación del O_2 por la respiración y la producción de capas mucosas que retrasan el O_2 (**Figura 3.32*a*, *b***). Hay cianobacterias en las que la nitrogenasa está protegida por su ubicación en una célula diferenciada llamada *heterocisto* (Figura 3.22*c*; ↔ Sección 14.3). En el interior del heterocisto las condiciones son anóxicas, mientras que en las células vegetativas vecinas ocurre justo lo contrario, ya que se lleva a cabo fotosíntesis oxigénica. En el heterocisto se detiene la producción de O_2, de manera que se protege el sitio y se dedica a la fijación de N_2.



(a)



(b)



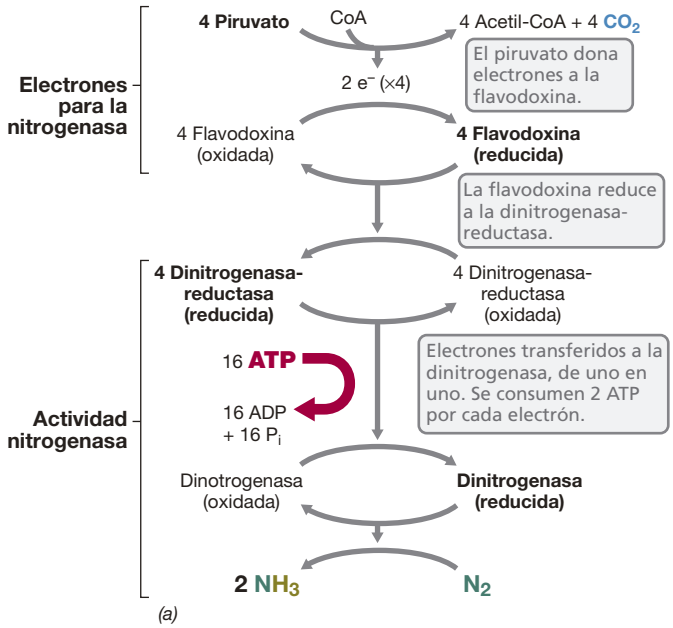
(c)

Figura 3.32 Protección de la nitrogenasa en *Azotobacter vinelandii* y en la cianobacteria *Anabaena*. *(a)* Micrografía electrónica de transmisión de células fijadoras de nitrógeno de *A. vinelandii* que crecen en condiciones de 2,5 % de O_2; se aprecia una capa mucosa muy fina. *(b)* Células cultivadas en contacto con el aire (21 %); obsérvese la extensa capa mucosa teñida de oscuro (flecha). La mucosa retrasa la difusión del O_2 en el filamento e impide así la inactivación de la nitrogenasa por el O_2. *(c)* Micrografía de fluorescencia de una célula de la cianobacteria filamentosa *Anabaena* en la que se muestra un heterocisto (verde). El heterocisto es una célula diferenciada especializada en la fijación de nitrógeno que protege a la nitrogenasa de la inactivación por O_2

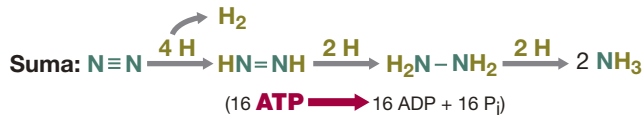
Flujo de electrones en la fijación de nitrógeno

La activación y reducción del N_2 es un proceso que requiere mucha energía debido a la estabilidad de su triple enlace. Son necesarios seis electrones para reducir el N_2 a NH_3, y las etapas de reducción sucesivas se realizan directamente en la nitrogenasa sin acumulación de productos intermedios libres (**Figura 3.33**). Aunque solo son necesarios *seis* electrones para reducir el N_2 a NH_3, en realidad se consumen *ocho* en el proceso, dos de los cuales se pierden como H_2 por cada mol de N_2 reducido. Por motivos desconocidos, la producción de H_2 es un paso obligatorio en la fijación de nitrógeno, y se produce en la primera ronda del ciclo de reducción de la nitrogenasa. A continuación, el N_2 se reduce en pasos sucesivos y se libera amoniaco (Figura 3.33).

La secuencia de transferencia de electrones en la nitrogenasa es la siguiente: donador de electrones ⟶ dinitrogenasa-reductasa ⟶ dinitrogenasa ⟶ N_2. Los electrones para la reducción de N_2 son transferidos a la dinitrogenasa-reductasa procedentes de la ferredoxina o la flavodoxina, que son proteínas de hierro y azufre de bajo potencial (Sección 3.10); estas proteínas son



(a)



(b)

Figura 3.33 Fijación biológica de nitrógeno por la nitrogenasa. El complejo de la nitrogenasa está compuesto por una dinitrogenasa y una dinitrogenasa-reductasa.

reducidas durante la oxidación del piruvato (Figura 3.33). Además de electrones, la fijación de nitrógeno necesita ATP, que se une a la dinitrogenasa-reductasa y, tras su hidrólisis a ADP, disminuye el potencial de reducción de la proteína. Esto permite a la dinitrogenasa-reductasa interaccionar con la dinitrogenasa y reducirla. Los electrones son transferidos de la dinitrogenasa-reductasa a la dinitrogenasa de uno en uno, y cada ciclo de reducción requiere dos ATP. Por tanto, para la reducción de N_2 a 2 NH_3 son necesarias 16 moléculas de ATP (Figura 3.33).

Ensayo de la nitrogenasa: reducción de acetileno

Las nitrogenasas no son del todo específicas para el N_2 y también reducen otros compuestos con triples enlaces como el acetileno ($HC{\equiv}CH$). La reducción de acetileno por la nitrogenasa es solo un proceso de dos electrones, y el *etileno* ($H_2C{=}CH_2$) es el producto final. No obstante, la reducción de acetileno a etileno proporciona un método fácil y rápido para medir la actividad de la nitrogenasa (**Figura 3.34**). Esta técnica, conocida como *ensayo de la reducción de acetileno*, se usa mucho en microbiología para detectar y cuantificar la fijación de nitrógeno.

Aunque la reducción del acetileno se considera una buena demostración de la fijación de N_2, la prueba definitiva requiere un isótopo de nitrógeno, el $^{15}N_2$, como marcador. Si se enriquece un cultivo o una muestra natural con $^{15}N_2$ y se incuba, la producción de $^{15}NH_3$ es una prueba firme de la fijación de nitrógeno. No obstante, la reducción de acetileno es un método más rápido y sensible para medir la fijación de N_2 y se puede usar en estudios de laboratorio de cultivos puros o estudios ecológicos de bacterias fijadoras de nitrógeno directamente en su hábitat. Para ello, se incuba una muestra, que puede ser de suelo, agua o un cultivo, en un matraz con $HC{\equiv}CH$, y más tarde se analiza la fase gaseosa mediante cromatografía de gases en busca de la presencia de $H_2C{=}CH_2$ (Figura 3.34).

MINIRREVISIÓN

- Escriba la ecuación igualada para la reacción catalizada por la nitrogenasa.
- ¿Qué es el FeMo-co y qué función tiene?
- ¿Qué utilidad tiene el acetileno en los estudios de fijación de nitrógeno?

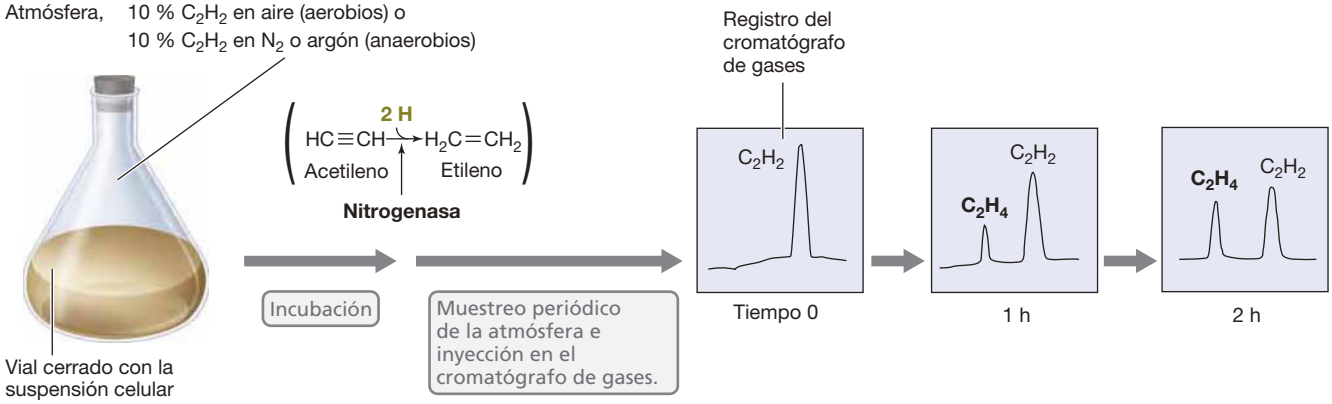


Figura 3.34 **Ensayo de reducción del acetileno para la actividad de la nitrogenasa en las bacterias fijadoras de nitrógeno.** Los resultados muestran que no hay etileno (C_2H_4) en el tiempo 0, pero su producción aumenta a medida que avanza el ensayo. La producción de C_2H_4 conlleva la correspondiente disminución de C_2H_2 que se va consumiendo.

IDEAS PRINCIPALES

3.1 • Las células se componen principalmente de los elementos H, O, C, N, P y S. Los compuestos que se encuentran en las células se obtienen o se forman a partir de los nutrientes presentes en el ambiente. Los nutrientes necesarios en grandes cantidades se llaman macronutrientes, y los que se necesitan en cantidades muy pequeñas, como los elementos traza o los factores de crecimiento, son micronutrientes.

3.2 • Los medios de cultivo suplen las necesidades nutricionales de los microorganismos y pueden ser definidos o complejos. Otros medios, como los selectivos, diferenciales o enriquecidos, se usan con fines específicos. Muchos microorganismos pueden cultivarse en medios de cultivo líquidos o sólidos, y los cultivos puros se pueden mantener si se utilizan técnicas asépticas.

3.3 • Todos los microorganismos conservan energía procedente de la oxidación de compuestos químicos o de la luz. Los quimioorganótrofos usan compuestos orgánicos como donadores de electrones, y los quimiolitótrofos usan compuestos inorgánicos. Los organismos fotótrofos convierten la energía lumínica en energía química (ATP) y pueden ser fotótrofos oxigénicos o anoxigénicos.

3.4 • Las reacciones químicas de la célula van acompañadas de cambios en la energía, expresados en kilojulios. Las reacciones liberan o consumen energía libre, o bien son neutras. $\Delta G^{0\prime}$ es una medida de la energía liberada o consumida en una reacción en condiciones estándar, e indica qué reacciones puede usar un organismo para conservar energía.

3.5 • Las enzimas son proteínas catalizadoras que aceleran la velocidad de las reacciones bioquímicas activando los sustratos que se unen a sus sitios activos. Las enzimas presentan gran especificidad por las reacciones que catalizan, y esta especificidad se debe a la estructura tridimensional de los polipéptidos que las constituyen.

3.6 • Las reacciones de oxidación-reducción requieren donadores y aceptores de electrones. La tendencia de un compuesto a aceptar o ceder electrones se expresa mediante su potencial de reducción (E_0'). Las reacciones redox de la célula utilizan productos intermedios como NAD^+/NADH como lanzaderas de electrones.

3.7 • La energía liberada en las reacciones redox se conserva en compuestos que contienen enlaces fosfato o azufre de alta energía. El más común de todos es el ATP, que es el principal portador de energía de la célula. El almacenamiento a largo plazo de energía está unido a la formación de polímeros, que se pueden consumir para obtener ATP.

3.8 • La ruta glicolítica se utiliza para degradar glucosa a piruvato y es un mecanismo muy extendido para la conservación de energía por parte de los anaerobios fermentativos. La ruta libera solo una pequeña cantidad de ATP y genera productos de fermentación (etanol, ácido láctico, etcétera) característicos de cada organismo. Por cada glucosa que fermenta la levadura se producen 2 ATP.

3.9 • Muchas fermentaciones diferentes de la glucosa utilizan la ruta glicolítica; las diferencias radican en la naturaleza de los productos de fermentación. Si los productos de fermentación son ácidos grasos derivados de compuestos con coenzima A se puede obtener ATP extra. La levadura tiene dos opciones para realizar el catabolismo de la glucosa: la fermentación y la respiración.

3.10 • Las cadenas de transporte de electrones están compuestas por proteínas asociadas a la membrana dispuestas en orden creciente de E_0', y actúan de manera integrada para transportar los electrones desde el donador primario al aceptor terminal (que es el O_2 en la respiración aerobia).

3.11 • Cuando los electrones viajan por una cadena de transporte de electrones, los protones son expulsados a la superficie externa de la membrana y generan la fuerza protonmotriz. Algunos transportadores de electrones fundamentales son las flavinas, las quinonas, el complejo citocromo bc_1 y otros citocromos. La célula utiliza la fuerza protonmotriz para sintetizar ATP mediante una ATPasa.

3.12 • La respiración ofrece un rendimiento energético mucho mayor que el de la fermentación. El ciclo del ácido cítrico genera CO_2 y electrones para la cadena de transporte de electrones y también es una fuente de productos intermedios biosintéticos. El ciclo del glioxilato es necesario para el catabolismo de donadores electrónicos de dos carbonos, como el acetato.

3.13 • En condiciones anóxicas, algunos aceptores terminales de electrones pueden sustituir al O_2 en la respiración anaerobia. Los quimiolitótrofos usan compuestos inorgánicos como donadores de electrones, mientras que los fotótrofos usan la energía lumínica. La fuerza protonmotriz propicia la generación de energía por parte de la ATPasa en todas las formas de respiración y fotosíntesis.

3.14 • Los polisacáridos son importantes componentes estructurales de las células y se biosintetizan a partir de formas activadas de sus monómeros. La gluconeogénesis es la producción de glucosa a partir de precursores que no son azúcares.

3.15 • Los aminoácidos se forman a partir de esqueletos de carbono a los que se añade amoniaco procedente del glutamato, la glutamina u otros pocos aminoácidos. Los nucleótidos se biosintetizan usando carbono de varias fuentes diferentes.

3.16 • Los ácidos grasos se sintetizan a partir del precursor de tres carbonos malonil-ACP, y los ácidos grasos completamente formados se unen al glicerol para formar lípidos. Solo los lípidos de *Bacteria* y *Eukarya* contienen ácidos grasos, normalmente cadenas de C_{12} a C_{18}.

3.17 • La reducción de N_2 a NH_3 se llama fijación de nitrógeno, y está catalizada por la enzima nitrogenasa. La nitrogenasa está compuesta por dos proteínas, la dinitrogenasa y la dinotrogenasa-reductasa. Se puede detectar la actividad nitrogenasa mediante un ensayo con el acetileno, que es un compuesto con un triple enlace, como sustituto del N_2; la nitrogenasa reduce el acetileno a etileno.

MasteringMicrobiology®

Revise lo que sabe y descubra lo que ha aprendido con MasteringMicrobiology. Acceda a material de estudio, revisiones de los capítulos, animaciones y tutoriales de microbiología práctica en el Área de Estudio y asegúrese de que ha asimilado todo el contenido de este capítulo.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Aceptor de electrones: sustancia que puede aceptar electrones de un donador y en el proceso se reduce.
ATPasa (ATP-sintasa): complejo enzimático multiproteico embebido en la membrana citoplasmática que cataliza la síntesis de ATP acoplada a la disipación de la fuerza protonmotriz.
Autótrofo: organismo capaz de biosintetizar todo el material celular a partir de CO_2 como única fuente de carbono.
Catalizador: sustancia que acelera una reacción química pero no se consume en la reacción.
Ciclo del ácido cítrico: serie cíclica de reacciones que tiene como resultado la conversión de acetato a dos moléculas de CO_2.
Ciclo del glioxilato: modificación del ciclo del ácido cítrico en el que el isocitrato se degrada para formar succinato y glioxilato durante el crecimiento basado en donadores de electrones de dos átomos de carbono como el acetato.
Coenzima: molécula no proteica pequeña y unida débilmente que participa en una reacción como parte de una enzima.
Donador de electrones: sustancia que puede ceder electrones a un aceptor y en el proceso se oxida.
Endergónico: que requiere energía.
Energía de activación: energía necesaria para llevar el sustrato de una enzima hasta el estado reactivo.
Energía libre (*G*): energía disponible para llevar a cabo un trabajo; $G^{0\prime}$ es la energía libre en condiciones estándar.
Enzima: proteína que puede acelerar (catalizar) una reacción química específica.
Exergónico: que libera energía.
Fermentación: catabolismo anaerobio en el que un compuesto orgánico es a la vez aceptor y donador de electrones, y se produce ATP por fosforilación a nivel de sustrato.
Fijación de nitrógeno: reducción de N_2 a NH_3 por la enzima nitrogenasa.
Fosforilación a nivel de sustrato: producción de ATP por transferencia directa de una molécula de fosfato de alta energía procedente de un compuesto orgánico fosforilado a ADP.
Fosforilación oxidativa: producción de ATP a partir de la fuerza protonmotriz generada por el transporte de electrones procedentes de donadores orgánicos o inorgánicos.
Fotofosforilación: producción de ATP a partir de fuerza protonmotriz obtenida del transporte electrónico impulsado por la luz.
Fotótrofos: organismos que utilizan la luz como fuente de energía.
Fuerza protonmotriz (fpm): fuente de energía resultante de la separación del agua en protones e iones hidroxilo a través de la membrana citoplasmática, de manera que se genera un potencial de membrana.
Glicólisis: ruta bioquímica en la que se fermenta glucosa y se obtiene ATP y varios productos de fermentación; también se llama ruta de Embden-Meyerhof-Parnas.
Heterótrofo: organismo que utiliza compuestos orgánicos como fuente de carbono.
Medio complejo: medio de cultivo compuesto por sustancias químicas sin definir como extractos de levadura y de carne.
Medio de cultivo: solución acuosa de varios nutrientes adecuada para el cultivo de los microorganismos.
Medio definido: medio de cultivo del que se conoce exactamente la composición química.
Nitrogenasa: complejo enzimático necesario para reducir el N_2 a NH_3 en la fijación biológica de nitrógeno.
Potencial de reducción (E_0'): tendencia inherente de un compuesto a donar electrones, medida en voltios en condiciones estándar.
Quimiolitótrofo: organismo que puede crecer con compuestos inorgánicos como donadores de electrones en el metabolismo energético.
Quimioorganótrofo: organismo que obtiene su energía de la oxidación de compuestos orgánicos.
Reacciones anabólicas (anabolismo): suma de todas las reacciones biosintéticas de la célula.
Reacciones catabólicas (catabolismo): reacciones bioquímicas destinadas a la conservación de energía (normalmente en forma de ATP) por parte de la célula.
Respiración: proceso por el cual un compuesto se oxida con O_2 (o un sustituto del O_2) como aceptor terminal de electrones, normalmente acompañado de producción de ATP mediante fosforilación oxidativa.
Respiración anaerobia: forma de respiración en ausencia de oxígeno en la que se reducen aceptores electrónicos alternativos.
Ruta de la pentosa fosfato: serie de reacciones en las que las pentosas son catabolizadas para generar precursores para la biosíntesis de nucleótidos o para sintetizar glucosa.
Técnica aséptica: manipulaciones para impedir la contaminación de objetos estériles o de cultivos microbianos durante su manejo.
Trifosfato de adenosina (ATP): nucleótido que es la forma principal de conservar y utilizar la energía química en las células.

PREGUNTAS DE REPASO

1. ¿Por qué el carbono y el nitrógeno son macronutrientes pero el cobalto es un micronutriente? (Sección 3.1)

2. ¿Por qué el siguiente medio no se considera un medio químicamente definido: glucosa, 5 gramos (g); NH_4Cl, 1 g; KH_2PO_4, 1 g; $MgSO_4$, 0,3 g; extracto de levadura, 5 g; agua destilada, 1 litro? (Sección 3.2)

3. ¿Qué es la técnica aséptica y por qué es necesaria? (Sección 3.2)

4. ¿A qué clase energética pertenece *Escherichia coli*? ¿Y *Thiobacillus thioparus*? ¿Cómo podemos saberlo a partir de la Tabla 3.2? (Sección 3.3)

5. Describa cómo calcularía $\Delta G^{0\prime}$ para la reacción: glucosa + 6 O_2 → 6 CO_2 + 6 H_2O. Si le dicen que es una reacción fuertemente *exergónica*, ¿qué signo aritmético (positivo o negativo) espera para el $\Delta G^{0\prime}$ de esta reacción? (Sección 3.4)

6. Distinga entre $\Delta G^{0\prime}$, ΔG y G_f^0. (Sección 3.4)
7. ¿Por qué las enzimas son necesarias para la célula? (Sección 3.5)
8. He aquí una serie de donadores y aceptores de electrones acoplados (escritos como donador/aceptor). Usando solo los datos de la Figura 3.9, ordene esta serie desde los más eficientes energéticamente a los menos: H_2/Fe^{3+}, H_2S/O_2, metanol/NO_3^- (para producir NO_2^-), H_2/O_2, Fe^{2+}/O_2, NO_2^-/Fe^{3+} y H_2S/NO_3^-. (Sección 3.6)
9. ¿Cuál es el potencial de reducción del par NAD^+/NADH? (Sección 3.6)
10. ¿Por qué se considera elacetil-fosfato un compuesto de alta energía pero no así la glucosa-6-fosfato? (Sección 3.7)
11. ¿Cómo se genera ATP en la fermentación y en la respiración? (Sección 3.8)
12. ¿En qué punto de la glicólisis se produce NADH? ¿Dónde se consume el NADH? (Sección 3.8)
13. Además de ácido láctico y etanol, nombre otros productos de fermentación que se pueden producir cuando se fermenta la glucosa mediante la glicólisis. (Sección 3.9)
14. Cite algunos de los transportadores de electrones importantes de las cadenas de transporte de electrones. (Sección 3.10)
15. ¿Qué se entiende por fuerza protonmotriz y cómo se genera? (Sección 3.11)
16. ¿Cómo se usa la energía rotacional en la ATPasa para producir ATP? (Sección 3.11)
17. ¿Cuánto ATP más es posible obtener en la respiración que en la fermentación? Explique la diferencia en una frase. (Sección 3.12)
18. ¿Qué dos funciones fundamentales desempeña el ciclo del ácido cítrico en la célula? (Sección 3.12)
19. ¿Cuál es la diferencia principal entre la respiración y la respiración anaeróbica? ¿Qué opción metabólica produciría más energía y por qué? (Sección 3.13)
20. ¿Qué dos importantes rutas catabólicas suministran esqueletos de carbono en la biosíntesis de los azúcares y de los aminoácidos? (Secciones 3.14 y 3.15)
21. Describa el proceso por el que se sintetiza un ácido graso como el palmitato (una cadena lineal de ácido graso saturado C_{16}) en la célula. (Sección 3.16)
22. ¿Qué reacción cataliza la enzima nitrogenasa? ¿Cómo podría ayudar la capacidad de fijar nitrógeno a una bacteria a ser más competitiva en su ambiente? (Sección 3.17)

EJERCICIOS PRÁCTICOS

1. Diseñe un medio de cultivo definido para un organismo que puede crecer aeróbicamente con acetato como fuente de carbono y energía. Asegúrese de que utiliza todos los nutrientes que necesita el organismo y las proporciones correspondientes correctas.
2. *Desulfovibrio* puede crecer anaeróbicamente con H_2 como donador de electrones y SO_4^{2-} como aceptor (que es reducido a H_2S). Basándose en esta información y en los datos de la Tabla A1.2 (Apéndice 1), indique cuál de los siguientes componentes no estaría en la cadena de transporte de electrones de este organismo y por qué: citocromo *c*, ubiquinona, citocromo c_3, citocromo aa_3, ferredoxina.
3. Indique, con ayuda de la Tabla A1.2, la secuencia de transportadores de electrones en la membrana de un organismo que crece aeróbicamente y produce los siguientes transportadores de electrones: ubiquinona, citocromo aa_3, citocromo *b*, NADH, citocromo *c*, FAD.
4. Explique la siguiente observación teniendo en cuenta la escala redox: Las células de *Escherichia coli* que fermentan glucosa crecen más rápidamente cuando se suministra NO_3^- al cultivo (se produce NO_2^-) y después crecen todavía más rápidamente (y dejan de producir NO_2^-) cuando el cultivo se airea bien.

CAPÍTULO

4 · Microbiología molecular

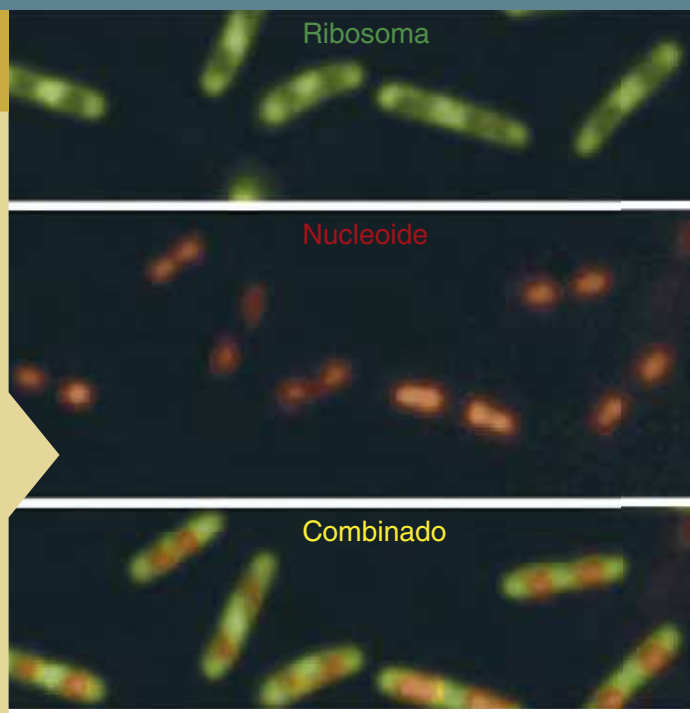
microbiología **actual**

La esencia de la vida: microbiología molecular

Como sin duda ya habrá descubierto, los microorganismos poseen una increíble gama de habilidades metabólicas. El patrón genético de cada célula es responsable de los diferentes atributos con que cuentan las distintas formas de vida. Aunque este depósito de información debe protegerse y transmitirse de generación en generación, la información también tiene que «estar viva» para que las células puedan llevar a cabo toda una serie de actividades fascinantes. Este flujo de información biológica esencial —desde el DNA más bien inerte hasta la síntesis de proteínas y enzimas fundamentales para la supervivencia celular— se conoce como el dogma central de la biología.

La microbiología molecular ha sido la piedra angular para entender cada uno de los pasos de este dogma central: la replicación del DNA, la transcripción del DNA a RNA, y la traducción del RNA a proteínas. Con la llegada de las técnicas de última generación, todavía se siguen haciendo descubrimientos relacionados con esos procesos biológicos esenciales. Por ejemplo, los microbiólogos pueden ahora precisar la localización de moléculas específicas en las células vivas usando marcadores fluorescentes y microscopía de fluorescencia de alta resolución. La foto de la derecha ilustra el uso de la microscopía de fluorescencia y el marcaje de proteínas en células de *Escherichia coli* en crecimiento para visualizar en acción RNA-polimerasas y ribosomas, dos herramientas celulares esenciales en el dogma central. La imagen resultante muestra que la mayoría de los ribosomas, las «fábricas de proteínas», están localizados en los extremos de las células y en regiones en las que se forman los septos durante la división celular (foto superior, en verde), mientras que las RNA-polimerasas están asociadas al DNA cromosómico en la región del nucleoide, ubicada en el centro de la célula (foto central, en rojo). Superponiendo las dos imágenes (foto inferior) podemos ver que realmente existe una organización espacial del flujo de información biológica en las células bacterianas, a pesar de la ausencia de orgánulos.

Bakshi, S., A. Siryaporn, M. Goulian, y J. C. Weisshaar. 2012. Superresolution imaging ribosomes and RNA polymerase in live *Escherichia coli* cells. *Molecular Microbiology 85:* 21-38.



I El código de la vida: estructura del genoma bacteriano 112
II Transmisión de la información genética: replicación del DNA 119
III Síntesis de RNA: la transcripción 125
IV Síntesis de proteínas 132

En la base de la vida se encuentra el flujo de información. ¿Qué insta a la célula a reproducirse y sobrevivir en un medio determinado, y cuáles son los procesos que dictan la producción de las células? Las células se pueden considerar a la vez máquinas químicas y dispositivos de codificación. Como máquinas químicas, transforman en células nuevas su amplio surtido de macromoléculas. Como dispositivos de codificación, almacenan, procesan y usan la información genética. Los genes, los mecanismos por los que estos son transferidos a células nuevas y su expresión son las bases de la biología molecular, y el dogma central de la biología. Este capítulo tiene como objetivo principal analizar el código genético de las células y los pasos para transformar esta información en macromoléculas que desempeñan funciones celulares. Estudiaremos cómo se llevan a cabo estos procesos en las bacterias, en concreto en *Escherichia coli*, una especie que es el organismo modelo para la biología molecular. Esta bacteria sigue siendo el organismo mejor caracterizado de todos los dominios de la vida, tanto procariotas como eucariotas.

I • El código de la vida: estructura del genoma bacteriano

4.1 Macromoléculas y genes

La unidad funcional de la información genética es el **gen**. Todas las formas de vida, incluidos los microorganismos, contienen genes. Físicamente, los genes están localizados en los cromosomas o en otras grandes moléculas conocidas colectivamente como **elementos genéticos**. Estos elementos constituyen la dotación total de información genética, o **genoma**, de una célula o un virus. En la biología moderna, las células se pueden caracterizar en términos de su dotación de genes. Así, si queremos entender cómo funcionan los microorganismos, debemos entender cómo codifican la información los genes.

La información genética en las células está integrada en los **ácidos nucleicos** DNA y RNA. El **ácido desoxirribonucleico, DNA**, contiene el patrón genético de la célula, mientras que el **ácido ribonucleico, RNA**, es una molécula intermediaria que convierte este patrón en secuencias definidas de aminoácidos en las proteínas. La información genética reside en la secuencia de monómeros que constituyen los ácidos nucleicos. Así, a diferencia de los polisacáridos y los lípidos, que están compuestos normalmente por largas cadenas de unidades repetitivas, los ácidos nucleicos son **macromoléculas de información**. Como la secuencia de monómeros en las proteínas está determinada por la secuencia de los ácidos nucleicos que las codifican, las proteínas también son macromoléculas de información.

Los monómeros de los ácidos nucleicos se llaman **nucleótidos**, de manera que el DNA y el RNA son **polinucleótidos**. Un nucleótido tiene tres componentes: una pentosa (ribosa en el RNA y desoxirribosa en el DNA), una base nitrogenada y una molécula de fosfato, PO_4^{3-}. Las estructuras generales de los polinucleótidos del DNA y del RNA son muy similares (**Figura 4.1**). Las bases nitrogenadas son **purinas** (*adenina* y *guanina*), que contienen dos anillos heterocíclicos fusionados, o **pirimidinas** (*timina, citosina* y *uracilo*), con un único anillo heterocíclico de seis miembros (Figura 4.1*a*). La guanina, la adenina y la citosina están presentes tanto en el DNA como en el RNA y, con pequeñas excepciones, la timina se encuentra solo en el DNA y el uracilo solo en el RNA.

Las bases nitrogenadas están unidas a la pentosa mediante un enlace glicosídico entre el átomo de carbono 1 del azúcar y un átomo de nitrógeno de la base, que puede ser el nitrógeno 1 (en las bases pirimidínicas) o el 9 (en las bases purínicas). Una base nitrogenada unida a su azúcar pero sin fosfato recibe el nombre de **nucleósido**. Los nucleótidos son nucleósidos con uno o más fosfatos (Figura 4.1*b*) y desempeñan otras funciones además de su papel en los ácidos nucleicos. Así, los nucleótidos, especialmente el trifosfato de adenosina (ATP) y el trifosfato de guanosina (GTP) son moléculas importantes en la conservación de energía (↻ Sección 3.7). Otros nucleótidos o derivados

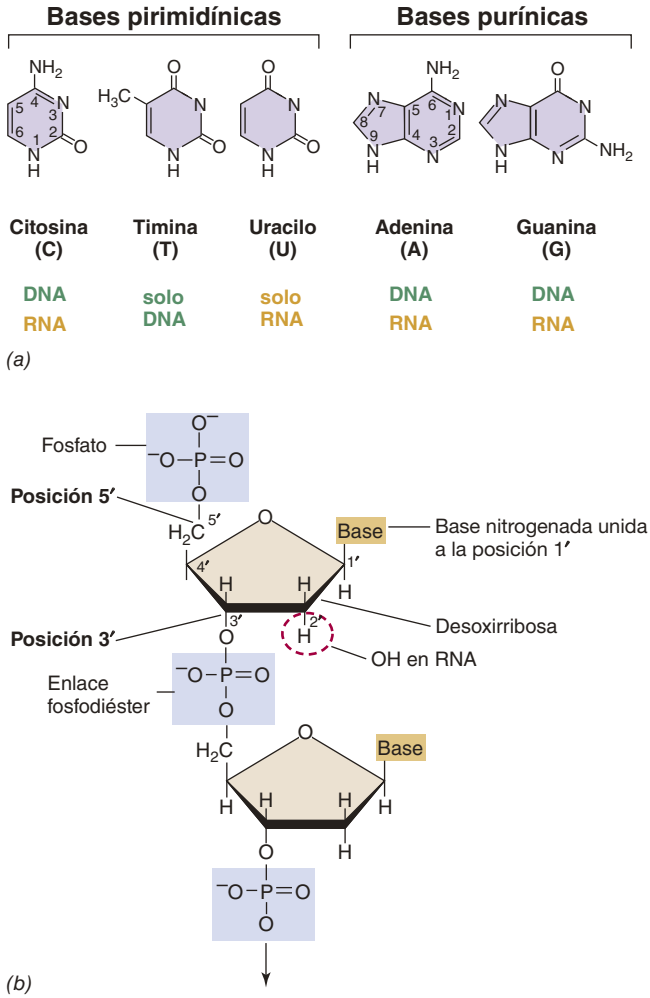


Figura 4.1 Componentes de los ácidos nucleicos. *(a)* Bases nitrogenadas del DNA y el RNA. Obsérvese el sistema de numeración de los anillos. Al unirse al carbono 1′ del azúcar-fosfato, una base pirimidínica se une a través de N-1 y una base purínica de N-9. *(b)* Parte de una cadena de DNA. Los números sobre el azúcar del nucleótido tienen el signo de prima (′) detrás porque los anillos de las bases nitrogenadas también están numerados. En el DNA hay un hidrógeno en el carbono 2′ de la pentosa; en el RNA esta posición está ocupada por un OH. Los nucleótidos están unidos entre sí por enlaces fosfodiéster.

actúan en reacciones redox, como transportadores de azúcares en la síntesis de polisacáridos, o como moléculas reguladoras.

Los ácidos nucleicos: DNA y RNA

El esqueleto de los ácidos nucleicos es un polímero en el que alternan azúcares y moléculas de fosfato. Los nucleótidos están unidos covalentemente mediante un fosfato entre el carbono 3′ de un azúcar y el carbono 5′ del azúcar siguiente. (Los números con marca de prima se refieren a posiciones en el anillo de azúcar; los números sin prima a las posiciones en los anillos de las bases.) El enlace fosfato se llama **enlace fosfodiéster**, porque el fosfato conecta dos moléculas de azúcar mediante una unión éster (Figura 4.1*b*). La *secuencia* de nucleótidos en la molécula de DNA o RNA es su **estructura primaria**, y la secuencia de bases constituye la información genética.

En el genoma de las células, el DNA es *bicatenario*. Cada cromosoma está formado por dos cadenas de DNA, y cada una de ellas contiene entre cientos de miles y algunos millones de nucleótidos unidos por enlaces fosfodiéster. Las cadenas se mantienen unidas por puentes de hidrógeno que se forman entre las bases de una cadena y las de la otra. Cuando se encuentran en posiciones adyacentes, las purinas y las pirimidinas pueden formar puentes de hidrógeno (Figura 4.2). Los puentes de hidrógeno son más estables termodinámicamente cuando la guanina (G) se une a la citosina (C) y la adenina (A) se une a la timina (T). El apareamiento específico entre las bases, A con T y G con C asegura que las dos cadenas de DNA son *complementarias* en su secuencia de bases; es decir, allá donde se encuentre una G en una cadena, en la otra se encontrará una C, y allá donde se encuentre una T habrá una A en la cadena complementaria.

Los genes y las etapas en el flujo de la información

Cuando los genes se expresan, la información genética almacenada en el DNA se transfiere al ácido ribonucleico (RNA). Aunque existen varios tipos de RNA en las células, hay tres

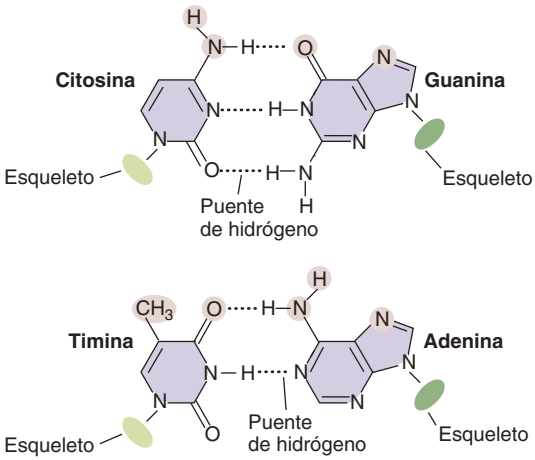


Figura 4.2 Apareamiento específico entre guanina (G) y citosina (C) y entre adenina (A) y timina (T) mediante puentes de hidrógeno. Estos son los pares de bases típicos que encontramos en una doble cadena de DNA. Los átomos que se encuentran en el surco mayor de la doble hélice y que interaccionan con proteínas están marcados en rosa. También se indica el esqueleto de desoxirribosa-fosfato de las dos cadenas de DNA. Obsérvense las diferentes tonalidades de verde de las dos cadenas de DNA, una convención que adoptamos a lo largo de todo el libro.

principales que participan en la síntesis de proteínas. El **RNA mensajero** (**mRNA**) es una molécula monocatenaria que lleva la información genética del DNA al ribosoma, que es la máquina de síntesis de las proteínas. Los **RNA de transferencia** (**tRNA**) convierten la información genética de las secuencias nucleotídicas del RNA en una secuencia definida de aminoácidos en las proteínas. Los **RNA ribosómicos** (**rRNA**) son importantes componentes estructurales y catalíticos del ribosoma. Los procesos moleculares del flujo de información genética se pueden dividir en tres etapas (Figura 4.3):

1. **Replicación**. Durante la replicación, la doble hélice de DNA se duplica, es decir, produce dos copias. La replicación la lleva a cabo una enzima llamada *DNA-polimerasa*.
2. **Transcripción**. La transferencia de la información genética del DNA al RNA se llama transcripción. La transcripción es efectuada por una enzima llamada *RNA-polimerasa*.
3. **Traducción**. La síntesis de una proteína usando la información genética del mRNA se llama traducción.

Los tres pasos que se muestran en la Figura 4.3 son característicos de todas las células, y conforman el núcleo central de la biología molecular: DNA → RNA → proteína. A partir de una región relativamente corta de la larga molécula de DNA se pueden transcribir muchas moléculas de RNA diferentes. En los eucariotas, cada gen se transcribe para dar un solo mRNA, mientras que en los procariotas una sola molécula de mRNA puede contener la información genética de varios genes; es decir, varias regiones de codificación de proteínas. Existe una correspondencia lineal entre la secuencia de bases de un gen y la secuencia de aminoácidos de un polipéptido. Cada grupo de tres bases de una molécula de mRNA codifica un solo aminoácido, y cada uno de estos tripletes de bases se llama **codón**. Los codones son traducidos a secuencias de aminoácidos por los ribosomas (que a su vez están hechos de proteínas y RNA), tRNA y proteínas ayudantes llamadas *factores de traducción*. Si bien el dogma central es invariable para las células, veremos más tarde que algunos virus (que no son células, ↪ Sección 1.2) violan este proceso de maneras muy interesantes (Capítulos 8 y 9).

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué es un genoma?
- ¿Qué componentes forman un nucleótido? ¿En qué se diferencia un nucleósido de un nucleótido?
- ¿Qué tres macromoléculas de información intervienen en el flujo de información genética?
- En todas las células hay tres procesos que intervienen en el flujo de información genética. ¿Cuáles son?

4.2 La doble hélice

En todas las células el DNA se presenta como una molécula de dos cadenas de polinucleótidos cuyas secuencias de bases son **complementarias**. La complementariedad del DNA se debe a la presencia de puentes de hidrógeno entre bases específicas: la adenina siempre se aparea con la timina, y la guanina siempre se

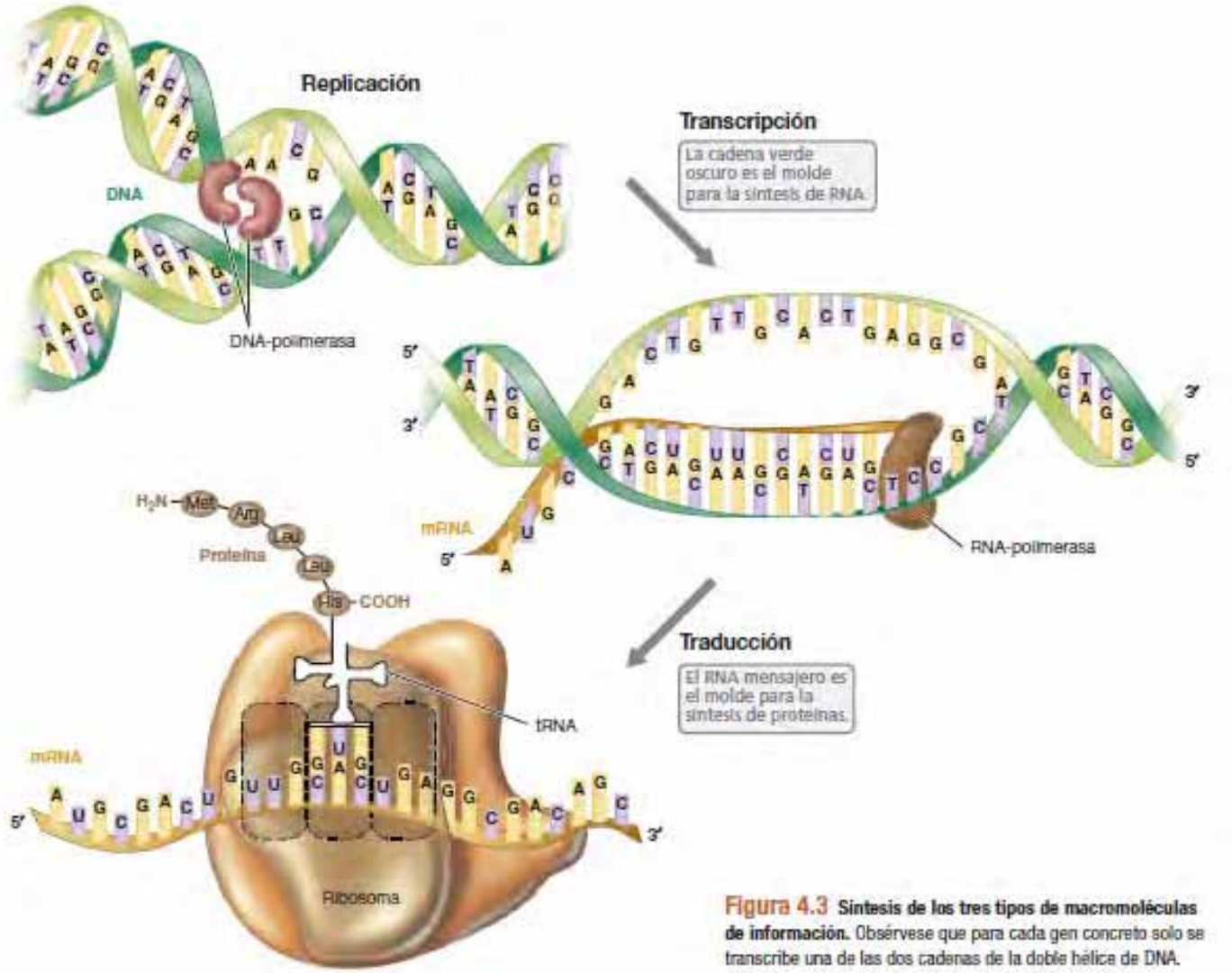


Figura 4.3 **Síntesis de los tres tipos de macromoléculas de información.** Obsérvese que para cada gen concreto solo se transcribe una de las dos cadenas de la doble hélice de DNA.

aparea con la citosina. Cada par de bases adenina-timina forma *dos* puentes de hidrógeno, y cada par guanina-citosina *tres*. Esto hace que los pares GC sean más fuertes que los AT. Las dos cadenas de la molécula de DNA bicatenaria se colocan en disposición **antiparalela** (Figura 4.4; las cadenas de DNA aparecen sombreadas en verde). Así, la cadena de la izquierda va de 5′ a 3′ de arriba abajo, mientras que la cadena complementaria va de 5′ a 3′ de abajo arriba. Aunque los puentes de hidrógeno individuales son muy débiles, la gran cantidad de ellos entre los pares de bases de una larga molécula de DNA le confieren una estabilidad considerable, suficiente para mantener juntas ambas cadenas.

Las dos cadenas de DNA están enrolladas entre sí formando la doble hélice (Figura 4.5). La hélice forma dos surcos diferentes, el *surco mayor* y el *surco menor*. La mayoría de las proteínas que interaccionan específicamente con el DNA se unen por el surco mayor, donde hay mucho espacio. Como la doble hélice es una estructura regular, algunos átomos de cada base están siempre expuestos en el surco mayor (y otros en el surco menor). En la Figura 4.2 se muestran las regiones de nucleótidos cuyas interacciones con las proteínas son importantes.

Tamaño y forma de las moléculas de DNA

El tamaño de una molécula de DNA se expresa como la cantidad de bases nucleotídicas o pares de bases por molécula. Así, una molécula de DNA con 1.000 bases es 1 kilobase (kb) de DNA. Si el DNA es una doble hélice, se usan *pares de kilobases* (kbp). Por tanto, el tamaño de una doble hélice de 5.000 pares de bases es de 5 kbp. La bacteria *Escherichia coli* tiene unos 4.640 kbp de DNA en su cromosoma. Cuando tratamos con genomas grandes, se usa el término *pares de megabases* (Mbp) para un millón de pares de bases. El genoma de *E. coli*, por tanto, tiene 4,64 Mbp.

Cada par de bases mide 0,34 nanómetros (nm) de longitud en la doble hélice, y cada vuelta de la hélice contiene aproximadamente 10 pares de bases. Por tanto, 1 kbp de DNA mide 0,34 µm de longitud en 100 vueltas de hélice. Así, el genoma de *E. coli* tiene una longitud de 4.640 × 0,34 µm = 1,58 mm. Puesto que las células de *E. coli* tienen unos 2 µm de longitud, el cromosoma es cientos de veces más largo que la propia célula.

Superenrollamiento del DNA

Teniendo en cuenta los cálculos anteriores, ¿cómo es posible empaquetar tanto DNA en un espacio tan reducido? La

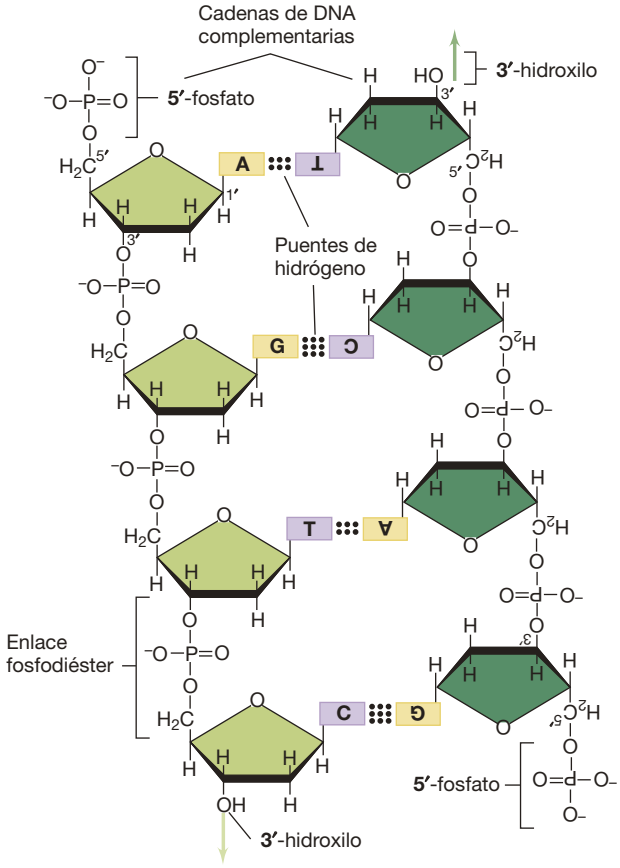


Figura 4.4 Estructura del DNA. Naturaleza complementaria y antiparalela del DNA. Obsérvese que una cadena termina en un grupo 5′-fosfato y la otra en un 3′-hidroxilo. Las bases moradas representan las pirimidinas citosina (C) y timina (T), y las bases amarillas son las purinas adenina (A) y guanina (G).

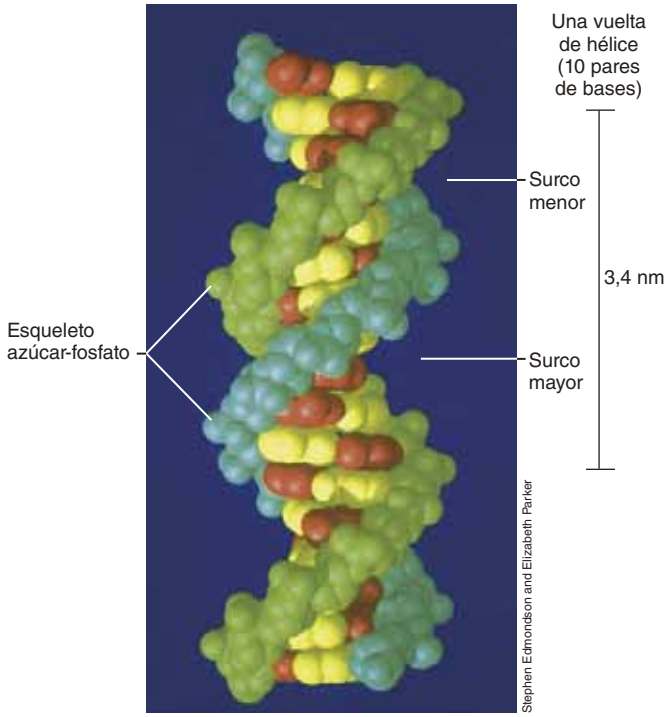


Figura 4.5 Modelo computerizado de un segmento corto de DNA en el que se ve la disposición general de la doble hélice. Uno de los esqueletos azúcar-fosfato se muestra en azul, y el otro en verde. Las bases pirimidínicas se muestran en rojo y las purínicas en amarillo. Obsérvese la ubicación de los surcos mayor y menor (compárese con la Figura 4.2). Una vuelta de hélice contiene 10 pares de bases.

solución es la imposición de una estructura de «orden superior» en el DNA, en la que la doble hebra esté aún más plegada, en un proceso llamado *superenrollamiento*.

La Figura 4.6 muestra cómo se produce el superenrollamiento en una molécula de DNA circular. Si se desenrolla una molécula de DNA circular, se pierde el superenrollamiento y el DNA «se relaja». Cuando está relajada, una molécula de DNA tiene exactamente el número de vueltas de la hélice predichas por el número de pares de bases.

Los superenrollamientos se introducen o se eliminan del DNA mediante enzimas llamadas *topoisomerasas*. El superenrollamiento somete a torsión a la molécula de DNA, como la tensión que se genera en una cinta de goma cuando se enrolla. El DNA se puede superenrollar en sentido positivo o negativo. En el superenrollamiento positivo, la doble hélice está sobreenrollada (contiene más vueltas de las que le corresponden de manera natural), mientras que en el superenrollamiento negativo está infraenrollada (contiene menos vueltas de las esperadas). El superenrollamiento negativo se produce cuando el DNA se enrolla alrededor de su eje en sentido opuesto a la doble hélice dextrógira, y es la forma predominante en la naturaleza. En el cromosoma de *E. coli* se cree que existen más de 100 dominios superenrollados, cada uno estabilizado por proteínas específicas unidas al DNA. La introducción de superenrollamiento requiere energía procedente del ATP, y la liberación del superenrollamiento, no. En las bacterias y en la mayoría de las arqueas, la **DNA-girasa** es una topoisomerasa de tipo II que introduce superenrollamiento negativo al DNA haciendo cortes en la doble hebra (Figura 4.7). Más adelante veremos que las arqueas que viven a temperaturas muy altas tienen cromosomas con superenrollamiento positivo, y esta característica les ayuda a mantener la estructura del DNA en esas condiciones (↻ Sección 16.13). Algunos antibióticos, como las quinolonas (como el ácido nalidíxico), las fluoroquinolonas (como el ciprofloxacino) o la novobiocina, inhiben la actividad de la DNA-girasa.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué significa antiparalelo en términos de la estructura de doble cadena del DNA?
- Defina el término complementario referido a dos cadenas de DNA.
- ¿Por qué los pares GC son más fuertes que los pares AT?
- ¿Por qué es importante el superenrollamiento? ¿Qué enzima lo facilita?

4.3 Elementos genéticos: cromosomas y plásmidos

Las estructuras que contienen el material genético (DNA en la mayoría de organismos, pero RNA en algunos virus) se llaman *elementos genéticos*. El principal elemento genético en procariotas es el **cromosoma**. Se pueden encontrar otros elementos

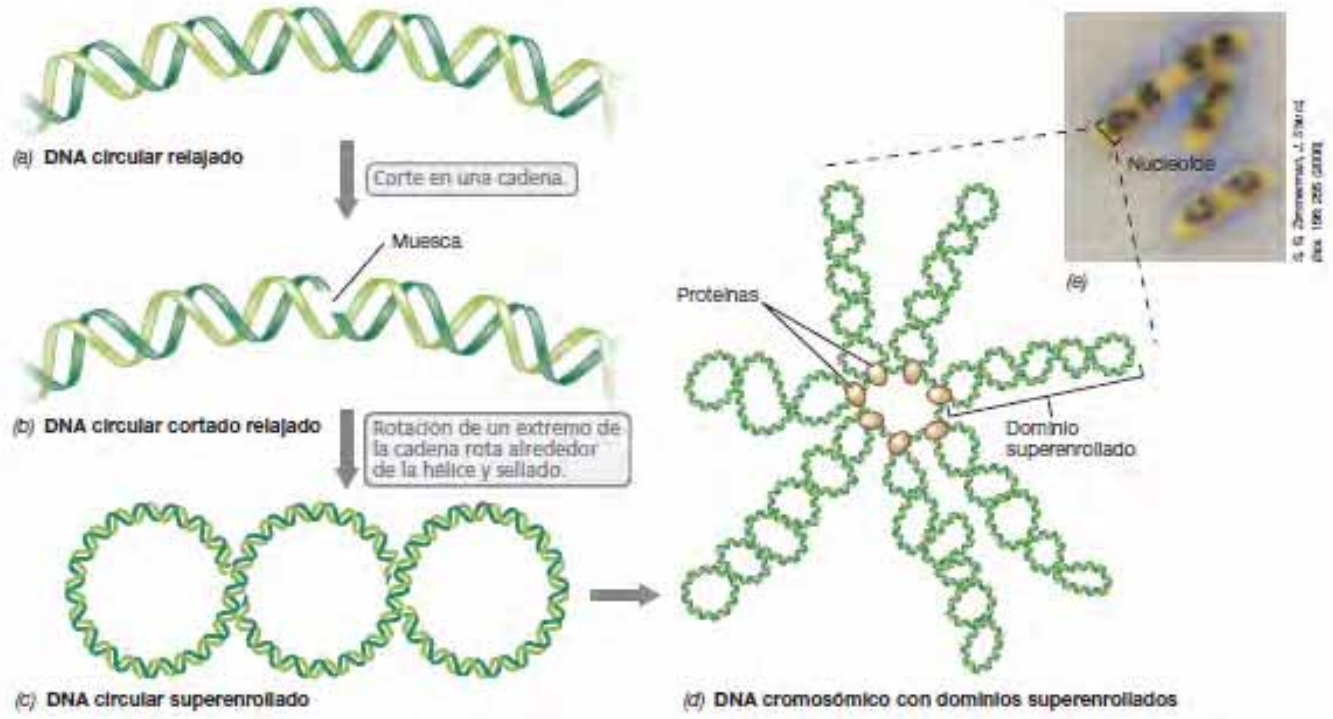


Figura 4.6 **DNA superenrollado.** *(a-c)* DNA circular relajado, cortado y superenrollado. Una muesca es un corte en un enlace fosfodiéster de una de las cadenas. *(d)* En realidad, el DNA de doble cadena del cromosoma bacteriano no se dispone en un dominios superenrollados, sino en varios, como se muestra aquí. *(e)* Imagen simultánea de contraste de fases y fluorescente de *E. coli* que ilustra la ubicación del nucleoide en células en crecimiento. Las células se trataron con un colorante fluorescente específico para el DNA, y se invirtió el color para que los nucleoides aparecieran en negro.

genéticos que desempeñan funciones importantes en el funcionamiento de los genes tanto en procariotas como en eucariotas (Tabla 4.1); son *genomas de virus*, *plásmidos*, *genomas de orgánulos* y *elementos transponibles*. Un procariota típico tiene un solo cromosoma circular de DNA que contiene todos los genes (o la mayoría) que se encuentran en una célula. Aunque la regla entre los procariotas es un solo cromosoma, hay excepciones. Algunos contienen dos o incluso tres cromosomas. Los genomas eucarióticos tienen numerosos cromosomas; también, el DNA de todos los cromosomas eucarióticos conocidos es lineal, a diferencia de la mayoría de los cromosomas procariotas, que son moléculas de DNA circular.

Aunque se les considera microorganismos, los virus no son células, aunque dependen de ellas para su replicación. No obstante, los virus contienen genomas, de DNA o de RNA, que controlan su replicación y su transferencia de una célula a otra. Se conocen genomas víricos lineales y circulares. Además, el ácido nucleico de los genomas víricos puede ser monocatenario o bicatenario. Los **plásmidos** son elementos genéticos que se replican independientemente del cromosoma. La gran mayoría de los plásmidos son de DNA bicatenario, y aunque la mayoría son circulares, algunos son lineales. Los plásmidos son normalmente mucho más pequeños que los cromosomas. Los **elementos transponibles** son segmentos de DNA que se mueven de

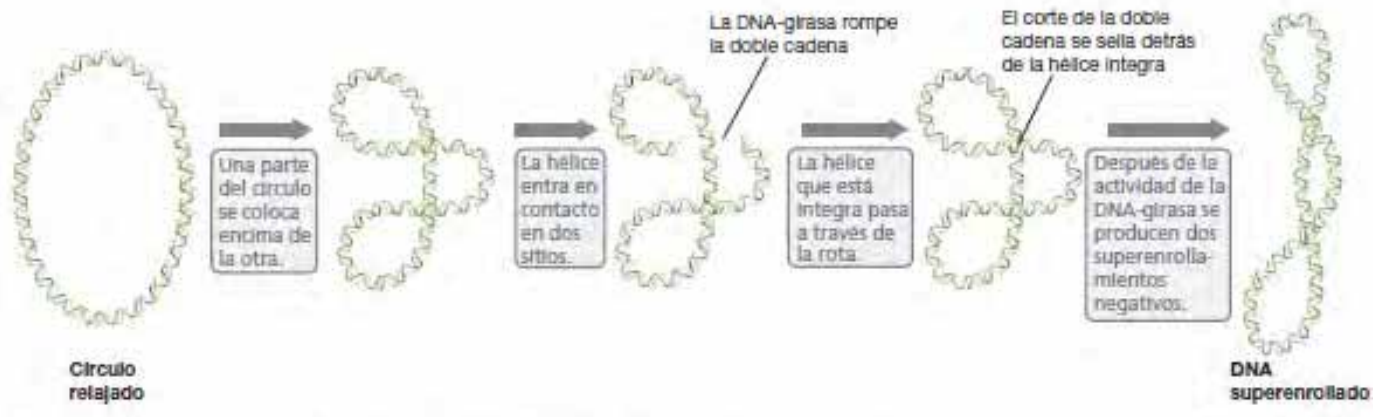


Figura 4.7 **DNA-girasa.** Introducción de superenrollamiento negativo en el DNA circular mediante la actividad de la DNA-girasa (topoisomerasa II), que realiza cortes en la doble cadena.

Tabla 4.1 Clases de elementos genéticos

Organismo	*Elemento*	*Tipo de ácido nucleico*	*Descripción*
Procariota	Cromosoma	DNA bicatenario	Extremadamente largo, normalmente circular
Eucariota	Cromosoma	DNA bicatenario	Extremadamente largo, lineal
Todos los organismos	Plásmido[a]	DNA bicatenario	Circular o lineal, relativamente corto, extracromosómico
Todos los organismos	Elemento transponible	DNA bicatenario	Siempre se encuentra insertado en otra molécula de DNA
Mitocondria o cloroplasto	Genoma de orgánulos	DNA bicatenario	Longitud media, normalmente circular
Virus	Genoma vírico	DNA o RNA bicatenario o monocatenario	Relativamente corto, circular o lineal

[a]Los plásmidos son raros en eucariotas.

un sitio de una molécula a otro, ya sea en la misma molécula o en una molécula diferente de DNA. Los elementos transponibles no existen como moléculas independientes de DNA, sino que siempre están insertos en otras moléculas de DNA. Los cromosomas, los plásmidos, los genomas víricos, y cualquier otro tipo de molécula de DNA pueden actuar como hospedadores para un elemento transponible. Los elementos transponibles se encuentran tanto en procariotas como en eucariotas, y desempeñan funciones importantes en la variación genética (↬ Sección 10.11).

Disposición de los genes en el cromosoma de *Escherichia coli*

Muchos genomas bacterianos, incluido el de *Escherichia coli*, se han secuenciado por completo, lo que ha puesto de manifiesto el número y la localización de los genes que contiene. La cepa de *E. coli* cuyo cromosoma se secuenció originalmente, la MG1655, deriva de *E. coli* K-12, la cepa tradicional utilizada para los estudios genéticos. En la **Figura 4.8** se muestra el mapa genético correspondiente al cromosoma de 4.639.675 bp; solo se indican unos pocos de los varios miles de genes que contiene. Las distancias del mapa se dan en 100 pares de kilobases de DNA. El análisis genómico ha revelado 4.288 posibles genes que codifican proteínas, lo que supone un 88 % del genoma de *E. coli*. Aproximadamente un 1 % del genoma lo constituyen genes que codifican tRNA y rRNA, lo que contrasta con los genomas eucarióticos, que normalmente contienen mucho más DNA del necesario para codificar todas las proteínas necesarias para el funcionamiento celular. Por ejemplo, en el genoma humano solo un 3 % del DNA total codifica realmente proteínas. El DNA «extra» en eucariotas está intercalado en las secuencias codificantes (y es eliminado después de ser transcrito) o como secuencias que se repiten, algunas de ellas cientos o miles de veces.

El mapeo genético de los genes que codifican las enzimas que actúan en la misma ruta bioquímica en *E. coli* muestra que estos genes suelen estar agrupados. En el mapa genético de la Figura 4.8 se presentan algunas de estas agrupaciones. Obsérvese, por ejemplo, las agrupaciones de genes *gal*, *trp* y *his*. Cada una de ellas constituye un **operón** que se transcribe en un único mRNA que codifica varias proteínas individuales. Los genes de otras muchas rutas bioquímicas de *E. coli* no están agrupados. Por ejemplo, los genes para la degradación de maltosa (genes *mal*, Figura 4.8) están esparcidos por todo el cromosoma. El análisis de la secuencia del cromosoma de *E. coli* ha puesto de manifiesto que cerca del 70 % de las 2.584 unidades transcripcionales predichas o conocidas contienen un solo gen, y solo el 6 % de operones tienen cuatro genes o más. Algunas secuencias codificantes están en una de las cadenas del cromosoma, y el resto en la cadena opuesta, y el análisis genómico ha demostrado que existen aproximadamente el mismo número de genes en ambas cadenas. A diferencia de los procariotas, los eucariotas no poseen operones.

Principios generales de los plásmidos

Muchas células procariotas contienen otros elementos genéticos, en concreto plásmidos, además del cromosoma. Aunque tienen su propio origen de replicación, los plásmidos utilizan enzimas codificadas en el cromosoma para su replicación. La

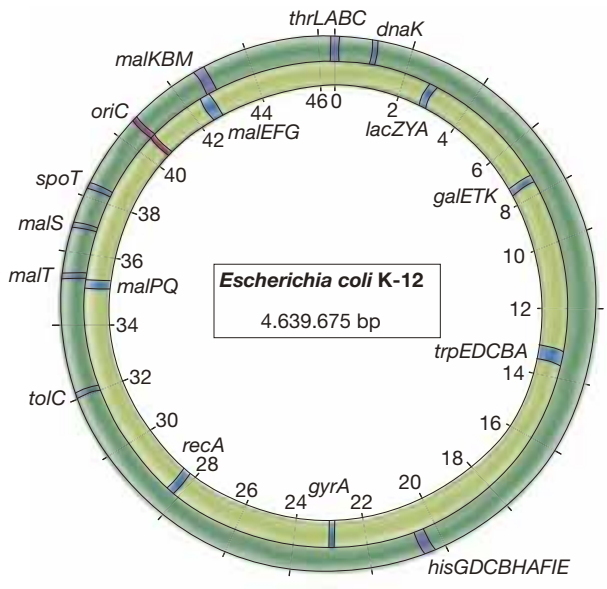


Figura 4.8 Cromosoma de la cepa K-12 de *Escherichia coli*. Las distancias en el mapa se dan en 100 kilobases de DNA. El cromosoma contiene 4.639.675 pares de bases y 4.288 marcos abiertos de lectura (genes). Según la cadena de DNA, se indica la ubicación de algunos genes y operones. La replicación (Figura 4.3) tiene lugar en ambos sentidos desde el origen de replicación del DNA, *oriC*, marcado en rojo.

mayoría de los plásmidos son prescindibles, ya que rara vez contienen genes necesarios para el crecimiento en cualesquiera condiciones; los genes esenciales se encuentran en el cromosoma. A diferencia de los virus, los plásmidos no tienen forma extracelular y existen en el interior de las células como DNA libre. Se conocen miles de plásmidos. De hecho, se han aislado más de trescientos diferentes solo en las cepas de *Escherichia coli*.

Prácticamente todos los plásmidos conocidos son de DNA bicatenario. La mayoría son circulares, pero también se conocen muchos plásmidos lineales. El tamaño de los plásmidos naturales varía entre aproximadamente 1 kbp hasta más de 1 Mbp. Los plásmidos típicos son moléculas de DNA circular de doble cadena con menos del 5 % del tamaño del cromosoma (**Figura 4.9**). La mayor parte del DNA plasmídico aislado de las células está superenrollado, que es la forma más compacta que adopta el DNA en el interior de la célula (Figura 4.6). Algunas bacterias pueden contener varios tipos diferentes de plásmidos. Por ejemplo, *Borrelia burgdorferi* (el patógeno de la enfermedad de Lyme, ↷ Sección 30.4) contiene 17 plásmidos diferentes circulares y lineales.

Las enzimas de replicación celulares también replican los plásmidos. Los genes codificados por un plásmido dirigen el inicio de la replicación y el reparto de los plásmidos replicados entre las células hijas. Diferentes plásmidos pueden estar presentes en las células en cantidades diferentes, llamadas *número de copias*. Algunos plásmidos están presentes en solo de una a tres copias, mientras que de otros puede haber hasta cien. El número de copias está controlado por genes plasmídicos y por interacciones entre el hospedador y el plásmido.

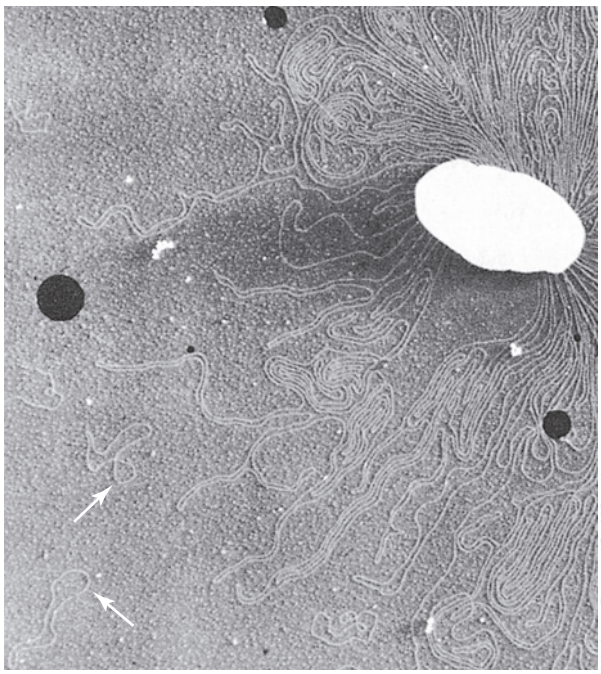


Figura 4.9 Cromosoma bacteriano y plásmidos bacterianos vistos al microscopio electrónico. Los plásmidos (flechas) son las estructuras circulares y son mucho más pequeños que el DNA cromosómico principal. La célula (estructura blanca, grande) se ha roto con cuidado, de manera que el DNA quedara intacto.

Tipos de plásmidos

Aunque por definición los plásmidos no codifican funciones esenciales para el hospedador, pueden portar genes que influyan profundamente en la fisiología celular. Entre los más extendidos y mejor estudiados están los plásmidos de resistencia, normalmente llamados simplemente *plásmidos R*, que confieren resistencia a antibióticos o a otros inhibidores del crecimiento. En general, los genes de resistencia codifican proteínas que inactivan los antibióticos o protegen a la célula por algún otro mecanismo. Un solo plásmido R puede codificar varios genes de resistencia mientras que una célula con resistencia múltiple puede contener varios plásmidos R diferentes. El plásmido R100, por ejemplo, tiene 94,3 kbp (**Figura 4.10**) y codifica la resistencia a las sulfonamidas, la estreptomicina, la espectinomicina, el ácido fusídico, el cloranfenicol y la tetraciclina; también codifica la resistencia al mercurio. Las bacterias patógenas resistentes a antibióticos tienen una gran importancia médica, y el aumento de su incidencia está relacionado con el uso creciente de antibióticos para tratar enfermedades infecciosas en humanos y animales (↷ Sección 27.17).

Los microorganismos patógenos poseen una serie de características que les permiten colonizar hospedadores y establecer infecciones. Con frecuencia los plásmidos codifican dos de las principales características de la virulencia (capacidad para causar enfermedades): (1) la habilidad del patógeno para unirse y colonizar tejidos específicos del hospedador y (2) la producción de toxinas, enzimas y otras moléculas que causan daño al hospedador. Muchas bacterias producen también proteínas que

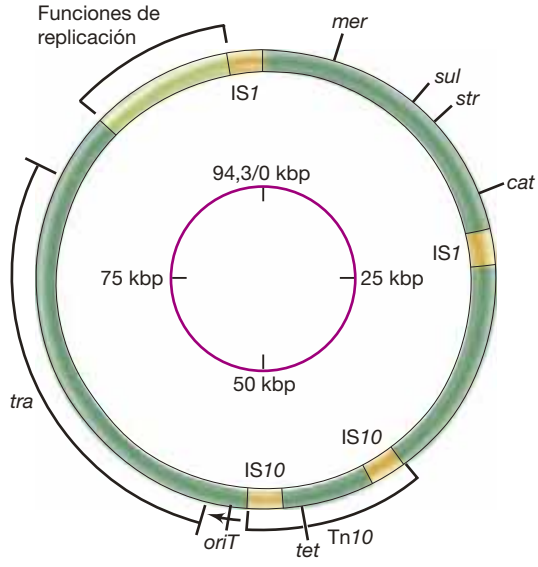


Figura 4.10 Mapa genético del plásmido de resistencia R100. El círculo interior muestra el tamaño en pares de kilobases. En el círculo exterior se representa la ubicación de los principales genes de resistencia a antibióticos y otras funciones clave: *mer*, resistencia al ion mercúrico; *sul*, resistencia a la sulfonamida; *str*, resistencia a la estreptomicina; *cat*, resistencia al cloranfenicol; *tet*, resistencia a la tetraciclina; *oriT*, origen de la transferencia conjugativa; *tra*, funciones de transferencia. También se muestran la ubicación de las secuencias de inserción (IS) y el transposón Tn*10*. Los genes para la replicación del plásmido están en la región de 88 a 92 kbp.

inhiben o matan especies estrechamente relacionadas o incluso cepas diferentes de la misma especie. Estos agentes, llamados **bacteriocinas**, son análogos a los antibióticos, pero tienen un espectro más estrecho de actividad que estos. Los genes que codifican bacteriocinas y las proteínas necesarias para procesarlas y transportarlas y para conferir inmunidad al organismo productor se encuentran normalmente en plásmidos. Por ejemplo, *E. coli* produce bacteriocinas llamas *colicinas*, que se unen a receptores específicos en la superficie de células susceptibles y las matan al alterar el funcionamiento de la membrana. Otras colicinas son nucleasas que degradan el DNA o el RNA de cepas susceptibles.

En algunos casos, los plásmidos codifican propiedades fundamentales para la ecología de la bacteria. Por ejemplo, la habilidad de *Rhizobium* para interaccionar con plantas y formar nódulos radicales fijadores de nitrógeno depende de varias actividades codificadas por plásmidos (↬ Sección 22.3). Otros plásmidos confieren propiedades metabólicas especiales, como la capacidad para degradar contaminantes tóxicos. En la Tabla 4.2 se resumen algunas propiedades especiales que confieren los plásmidos.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué define a un cromosoma procariota?
- ¿Qué son los virus y los plásmidos?
- ¿Cuántos pares de bases tiene aproximadamente el genoma de *E. coli*? ¿Cuántos genes contiene?
- ¿Qué propiedades confiere un plásmido R a su célula hospedadora?

Tabla 4.2 Ejemplos de rasgos fenotípicos conferidos por plásmidos en procariotas

Rasgo fenotípico	*Organismo*
Producción de antibióticos	*Streptomyces*
Conjugación	Amplio rango de bacterias
Funciones metabólicas	
Degradación de octano, alcanfor, naftaleno	*Pseudomonas*
Degradación de herbicidas	*Alcaligenes*
Formación de acetona y butanol	*Clostridium*
Utilización de lactosa, sacarosa, citrato o urea	Enterobacterias
Producción de pigmentos	*Erwinia, Staphylococcus*
Producción de vesículas de gas	*Halobacterium*
Resistencia	
Resistencia a antibióticos	Amplio rango de bacterias
Resistencia a metales tóxicos	Amplio rango de bacterias
Virulencia	
Producción de tumores en plantas	*Agrobacterium*
Nodulación y fijación simbiótica de nitrógeno	*Rhizobium*
Producción de bacteriocinas y resistencia	Amplio rango de bacterias
Invasión de células animales	*Salmonella, Shigella, Yersinia*
Coagulasa, hemolisina, enterotoxina	*Staphylococcus*
Toxinas y cápsula	*Bacillus anthracis*
Enterotoxinas, antígeno K	*Escherichia coli*

II • Transmisión de la información genética: replicación del DNA

La replicación del DNA es necesaria para que las células se dividan, ya sea para producir nuevos organismos, como en el caso de los microorganismos unicelulares, o para producir células nuevas como parte de un organismo multicelular. Para que la información genética se transmita de manera correcta de una célula madre a una célula hija idéntica, la replicación del DNA debe ser muy precisa. Este proceso requiere la actividad de muchas enzimas especiales.

4.4 Moldes y enzimas

Como hemos visto, el DNA existe en las células como una doble hélice con apareamiento de bases complementarias (Figuras 4.3 y 4.4). Si la doble hélice se abre, se puede sintetizar una nueva cadena como complemento de cada cadena parental. Como se muestra en la Figura 4.11, la replicación es un proceso **semiconservativo**, lo que significa que las dos dobles hélices resultantes están formadas por una cadena nueva y una cadena parental. La cadena de DNA que se utiliza para sintetizar una cadena hija complementaria recibe el nombre de cadena molde, y en la replicación del DNA cada cadena parental actúa como molde para una cadena de nueva síntesis (Figura 4.11).

El precursor de cada nuevo nucleótido en la cadena de DNA es un 5′-trifosfato de desoxinucleótido. Durante la inserción se eliminan los dos fosfatos terminales y el fosfato interior se une covalentemente a una desoxirribosa de la cadena en

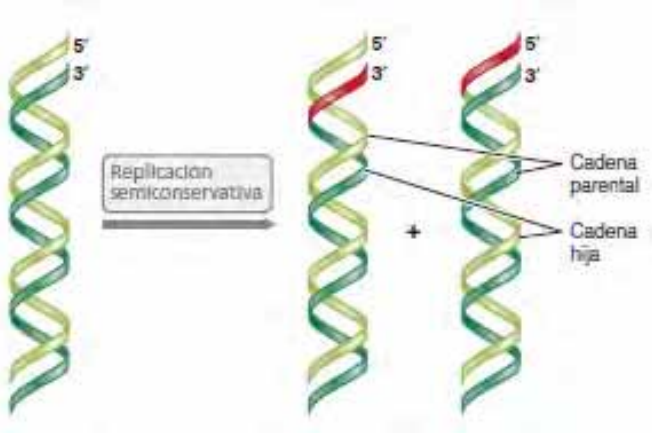


Figura 4.11 Visión general de la replicación del DNA. La replicación del DNA es un proceso semiconservativo en todas las células. Obsérvese que las dos nuevas dobles hélices contienen ambas una cadena hija nueva (que se muestra en rojo) y una cadena parental.

crecimiento (Figura 4.12). Esta adición de un nuevo nucleótido requiere la presencia de un grupo hidroxilo libre, que está disponible solamente en el extremo 3′ de la molécula. Esto lleva al importante principio según el cual la replicación del DNA siempre procede *del extremo 5′ al 3′*. El 5′-fosfato del nucleótido que se va a incorporar se une al grupo 3′-hidroxilo del nucleótido añadido previamente.

Las enzimas que catalizan la adición de desoxinucleótidos se llaman **DNA-polimerasas** y tienen un papel importante en la replicación, cada una con una función específica. En *Escherichia coli* existen cinco DNA-polimerasas diferentes, las DNA-polimerasas I, II, III, IV y V. La DNA-polimerasa III (Pol III) es la enzima principal para replicar el DNA cromosómico. La DNA-polimerasa I (Pol I) también participa en la replicación cromosómica, aunque en menor medida (véase más abajo). Las otras DNA-polimerasas ayudan a reparar el DNA dañado (↬ Sección 10.4).

Todas las DNA-polimerasas conocidas sintetizan DNA en sentido 5′ → 3′. Sin embargo, ninguna de ellas puede iniciar una cadena nueva; pueden solo añadir un nucleótido a un grupo 3′-OH preexistente. Por tanto, para empezar una cadena nueva es necesario un **cebador**, una molécula de ácido nucleico al que la DNA-polimerasa pueda unir el primer nucleótido. En la mayoría de los casos, este cebador es un pequeño trozo de RNA en lugar de DNA (Figura 4.13).

Cuando la doble hélice se abre, al principio de la replicación, una enzima que polimeriza RNA sintetiza el cebador de RNA. Esta enzima, llamada **primasa**, sintetiza un fragmento corto (11 o 12 nucleótidos) de RNA complementario por apareamiento de bases a la cadena de DNA molde. En el extremo en crecimiento de este cebador de RNA hay un grupo 3′-OH al cual la DNA-polimerasa añade el primer desoxirribonucleótido. A partir de ahí, la extensión de la molécula se realiza con DNA en lugar de con RNA. La molécula recién sintetizada tiene una estructura como la que se muestra en la Figura 4.13. El cebador se elimina al final y se sustituye por DNA como se explica en la sección siguiente.

MINIRREVISIÓN

- ¿A qué extremo, 5′ o 3′, de una cadena recién sintetizada de DNA añade una base la DNA-polimerasa?
- ¿Por qué es necesario un cebador para la replicación del DNA? ¿De qué está compuesto el cebador?

4.5 La horquilla de replicación

Gran parte de nuestro conocimiento de los detalles de la replicación del DNA se ha obtenido a partir del estudio de la bacteria *Escherichia coli*; no obstante, es bastante similar para todas las bacterias. En cambio, aunque la mayoría de las especies de *Archaea* tienen cromosomas circulares, muchos aspectos de la replicación del DNA se parecen más a los de las células eucariotas que a los bacterianos, un reflejo de la filiación filogenética entre *Archaea* y *Eukarya* (Figura 1.6*b*).

Inicio de la síntesis de DNA

Antes de que la DNA-polimerasa pueda sintetizar nuevo DNA, la doble hélice tiene que desenrollarse para exponer las cadenas molde. La zona de DNA desenrollado en la que se produce la replicación se llama **horquilla de replicación**. La enzima **DNA-helicasa** desenrolla la doble hélice usando energía del ATP, y expone una corta región de simple cadena sencilla (Figura 4.14). La helicasa se mueve a lo largo del DNA y separa las cadenas justo a medida que avanza la horquilla de replicación. La región de cadena sencilla es cubierta inmediatamente con copias de la proteína de unión a cadena sencilla para estabilizar el DNA e impedir que se vuelva a formar la doble hélice. El desenrollamiento de la doble hélice por parte de la helicasa genera un superenrollamiento positivo por delante de la horquilla de replicación. Para contrarrestarlo, la DNA-girasa se desplaza por el DNA por delante de la horquilla e introduce superenrollamiento negativo para eliminar el positivo.

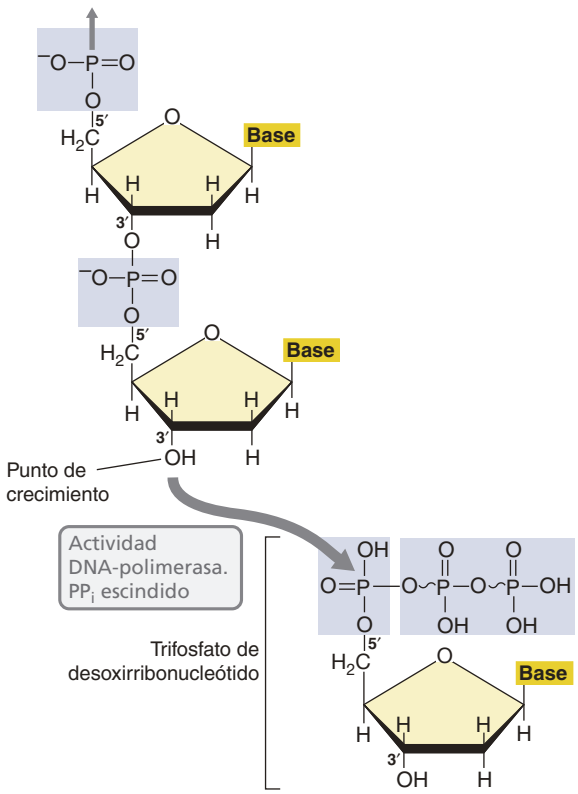


Figura 4.12 Extensión de una cadena de DNA por adición de un trifosfato de desoxirribonucleótido en el extremo 3′. El crecimiento tiene lugar del extremo 5′-fosfato al 3′-hidroxilo. La DNA-polimerasa cataliza la reacción. Los cuatro precursores son trifosfato de desoxitimidina (dTTP), trifosfato de desoxiadenosina (dATP), trifosfato de desoxiguanosina (dGTP) y trifosfato de desoxicitidina (dCTP). En la inserción del nucleótido los dos fosfatos terminales del trifosfato se escinden en forma de pirofosfato (PP_i). Por tanto, por cada nucleótido que se añade se consumen dos enlaces fosfato de alta energía.

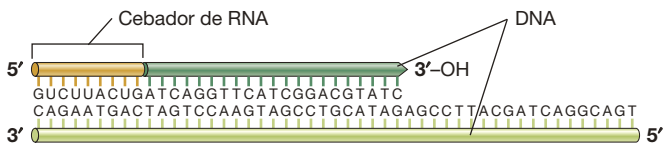


Figura 4.13 Cebador de RNA. Estructura del híbrido RNA-DNA formado durante la iniciación de la síntesis de DNA. El cebador de RNA se muestra en naranja.

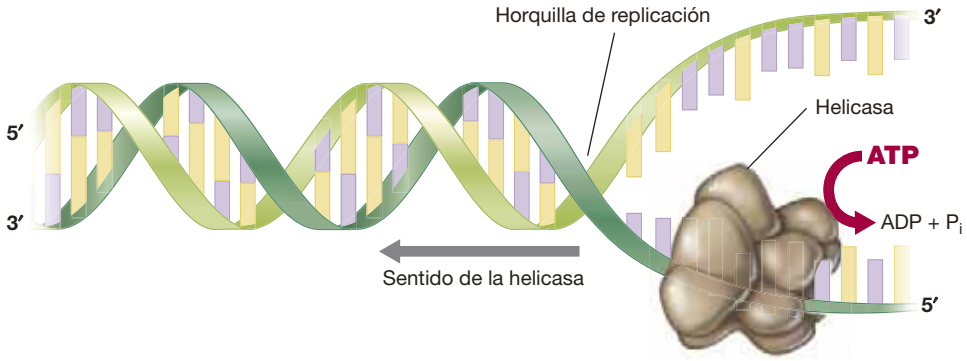


Figura 4.14 DNA-helicasa desenrollando una doble hélice. En esta figura, la helicasa está desnaturalizando o separando las dos cadenas antiparalelas de DNA, empezando por la derecha y moviéndose hacia la izquierda.

Las bacterias poseen un solo punto en el cromosoma donde se inicia la síntesis del DNA, el origen de replicación (*oriC*). Se trata de una secuencia específica de DNA de unas 250 bases que es reconocida por proteínas de iniciación, en concreto una proteína llamada DnaA (Tabla 4.3) que se une a esta región y abre la doble hélice. La siguiente en ensamblarse es la helicasa (conocida como DnaB), que es situada sobre el DNA por la proteína cargadora de la helicasa (DnaC). Se cargan dos helicasas, una en cada cadena, en sentidos opuestos. A continuación, se cargan dos primasas y después dos DNA-polimerasas en el DNA detrás de las helicasas. El inicio de la replicación del DNA tiene lugar entonces en las dos cadenas individuales. A medida que avanza la replicación, da la impresión de que la horquilla se va moviendo por el DNA (Figura 4.14).

Cadena avanzada y cadena retrasada

En la Figura 4.15 se muestran detalles de la replicación del DNA en la horquilla de replicación. Se debe establecer una importante distinción en la replicación de las dos cadenas de DNA, por el hecho de que siempre procede de 5′ a 3′ (5′ → 3′, siempre añadiendo un nucleótido nuevo al 3′-OH de la cadena en crecimiento). En la cadena que crece de 5′-PO_4^{2-} a 3′-OH, llamada **cadena avanzada**, la síntesis de DNA se produce de manera *continua*, porque siempre hay un 3′-OH libre en la horquilla de replicación al

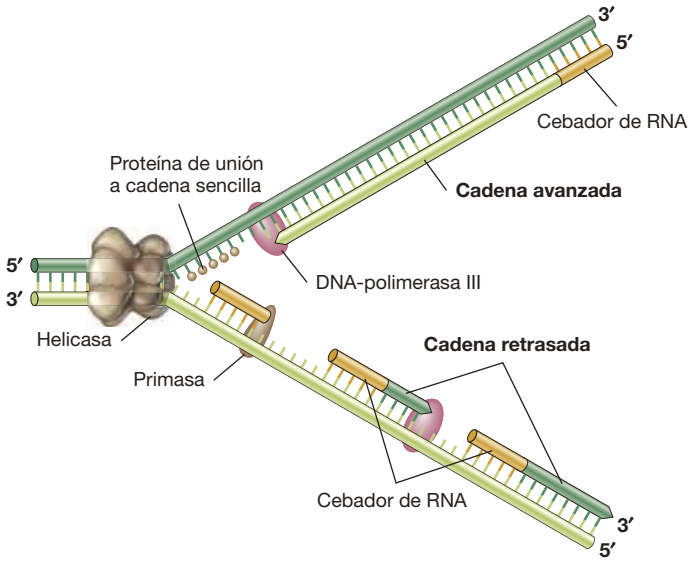


Figura 4.15 Esquema de la horquilla de replicación del DNA. Obsérvese la polaridad y la naturaleza antiparalela de las cadenas de DNA.

Tabla 4.3 Principales enzimas que intervienen en la replicación del DNA en *Bacteria*

Enzima	*Genes codificantes*	*Función*
DNA-girasa	*gyrAB*	Deshace el superenrollamiento por delante del replisoma
Proteína de unión al origen	*dnaA*	Se une al origen de replicación para abrir la doble hélice
Cargador de la helicasa	*dnaC*	Carga la helicasa en el origen
Helicasa	*dnaB*	Desenrolla la doble hélice en la horquilla de replicación
Proteína de unión a cadena sencilla	*ssb*	Impide que las cadenas sencillas se apareen
Primasa	*dnaG*	Sintetiza los cebadores para las nuevas cadenas de DNA
DNA-polimerasa III		Principal enzima polimerizadora
Pinza deslizante	*dnaN*	Mantiene la Pol III sobre el DNA
Cargador de la pinza	*holA-E*	Carga la Pol III sobre la pinza deslizante
Subunidad de dimerización (Tau)	*dnaX*	Mantiene unidas las dos enzimas del núcleo de la polimerasa a las cadenas avanzada y retrasada
Subunidad polimerasa	*dnaE*	Elongación de la cadena
Subunidad de corrección de errores	*dnaQ*	Corrección de errores
DNA-polimerasa I	*polA*	Corta el cebador de RNA y rellena los huecos
DNA-ligasa	*ligA, ligB*	Sella las muescas del DNA
Proteína Tus	*tus*	Une los extremos y bloquea el progreso de la horquilla de replicación
Topoisomerasa IV	*parCE*	Separa círculos entrelazados

que añadir un nuevo nucleótido. Pero en la cadena opuesta, llamada **cadena retrasada**, la síntesis de DNA se produce *discontinuamente* porque en la horquilla de replicación no hay ningún 3′-OH al que añadir nucleótidos (Figura 4.15). El 3′-OH de esta cadena se encuentra en el extremo opuesto, lejos de la horquilla de replicación. Por tanto, en la cadena retrasada el cebador de

RNA debe ser sintetizado por la primasa muchas veces para proporcionar grupos 3′-OH libres para la Pol III. Por el contrario, la cadena avanzada solo necesita cebador una vez, en el origen. Como resultado, la cadena retrasada se sintetiza a fragmentos cortos, llamados *fragmentos de Okazaki* por su descubridor, Reiji Okazaki. Estos fragmentos de la cadena retrasada se unen posteriormente para obtener una cadena de DNA continua.

Síntesis de las nuevas cadenas de DNA

Tras sintetizar el cebador de RNA, la primasa es sustituida por la Pol III. Esta enzima es en realidad un complejo de varias proteínas (Tabla 4.3) entre las que se encuentra la propia polimerasa. Cada molécula de polimerasa está sujeta al DNA por una pinza deslizante que rodea cada una de las cadenas que actúan de molde y se desliza por ellas. En consecuencia, la horquilla de replicación contiene dos núcleos de polimerasa y dos pinzas deslizantes, un grupo para cada cadena. Sin embargo, solo existe un complejo cargador de pinza, que ensambla las dos pinzas deslizantes en el DNA. Tras el ensamblaje en la cadena retrasada, la actividad de elongación de la Pol III, catalizada por la DnaE, añade desoxirribonucleótidos de manera secuencial hasta alcanzar el DNA previamente sintetizado (**Figura 4.16**); en ese momento la Pol III se detiene.

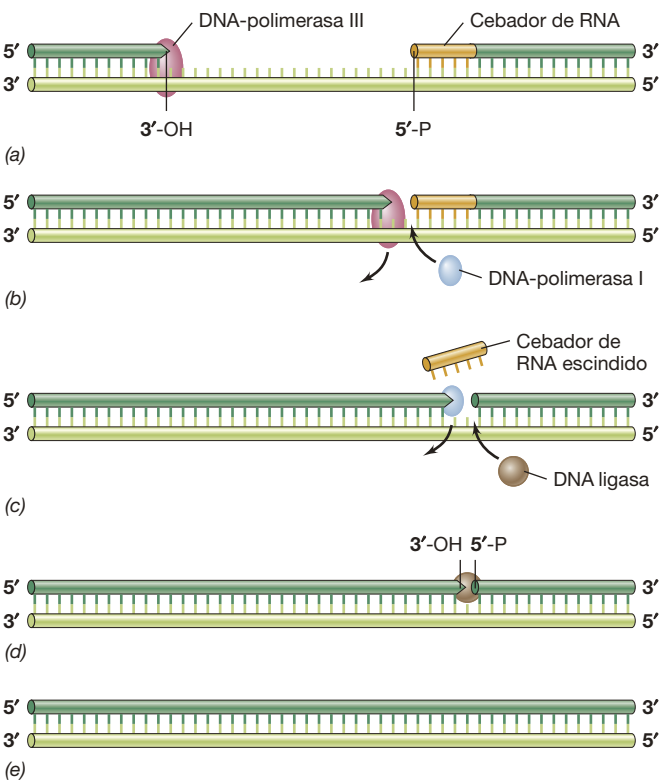


Figura 4.16 Sellado de dos fragmentos de la cadena retrasada. *(a)* La DNA-polimerasa III sintetiza DNA en sentido 5′ → 3′ hacia el cebador de RNA de un fragmento previamente sintetizado de la cadena retrasada. *(b)* Al alcanzar el fragmento, la DNA-polimerasa III sale y es sustituida por la DNA-polimerasa I. *(c)* La DNA-polimerasa I sigue sintetizando DNA a medida que va eliminando el cebador de DNA del fragmento previo, y la DNA-ligasa sustituye a la DNA-polimerasa I cuando el cebador ha sido eliminado. *(d)* La DNA-ligasa sella los dos fragmentos entre sí. *(e)* Producto final, DNA bicatenario, complementario y antiparalelo.

La siguiente enzima que entra en acción, la Pol I, tiene más de una actividad enzimática. Además de sintetizar DNA, la Pol I tiene una actividad exonucleasa 5′ → 3′ que elimina el cebador de RNA que le precede (Figura 4.16). Cuando el cebador se ha eliminado y sustituido con DNA, se libera la Pol I. El último enlace fosfodiéster lo crea una enzima llamada **DNA-ligasa**; esta enzima sella las muescas del DNA que tienen un 5′-PO_4^{2-} y un 3′-OH adyacentes (algo que la Pol III es incapaz de hacer), y junto con la Pol I participa en la reparación del DNA. La DNA-ligasa también es importante porque sella DNA manipulado genéticamente durante la clonación molecular (↻ Sección 11.4).

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué hay cadenas avanzadas y cadenas retrasadas?
- ¿Cómo se reconoce el origen de replicación?
- ¿Qué enzimas toman parte en la unión de los fragmentos de la cadena retrasada?

4.6 La replicación bidireccional y el replisoma

La naturaleza circular del cromosoma procariota supone una oportunidad para acelerar el proceso de replicación. En *Escherichia coli*, y probablemente en todos los procariotas con cromosomas circulares, la replicación del DNA es *bidireccional* desde el origen de replicación, como se muestra en la **Figura 4.17**. Existen así *dos* horquillas de replicación en cada cromosoma, moviéndose cada una en un sentido y que se mantienen unidas por dos subunidades de la proteína Tau. En el DNA circular, la replicación bidireccional lleva a la formación de formas características llamadas estructuras theta (Figura 4.17).

Durante la replicación bidireccional, la síntesis se realiza de manera avanzada y retrasada en cada cadena molde, lo que permite al DNA replicarse lo más rápidamente posible (Figura 4.17). Aunque la Pol III puede añadir nucleótidos a una cadena de DNA en crecimiento a una velocidad de unos 1.000 nucleótidos por segundo, la replicación del cromosoma de *E. coli* dura unos 40 min. Sin embargo, sorprendentemente, en condiciones idóneas de crecimiento, *E. coli* puede crecer con un tiempo de duplicación de 20 min. La explicación de esta paradoja es que las células de *E. coli* creciendo a tiempos de duplicación menores de 40 min contienen múltiples horquillas de replicación. Es decir, antes de que termine una ronda de replicación ya ha empezado una nueva. Estudiaremos con detalle este asunto en el Capítulo 5 (↻ Figura 5.4).

El replisoma

En la Figura 4.15 se muestran las diferencias en la replicación de las cadenas avanzada y retrasada, y las enzimas que participan en el proceso. De un dibujo tan esquemático podría parecer que cada horquilla de replicación contiene varias proteínas diferentes trabajando de manera independiente. En realidad no es el caso; las proteínas de replicación se agregan para formar un gran complejo de replicación llamado **replisoma** (**Figura 4.18**). La cadena retrasada de DNA, en realidad se enrolla formando un bucle que permite al replisoma moverse suavemente a lo largo de ambas cadenas, y este literalmente tira del molde de DNA

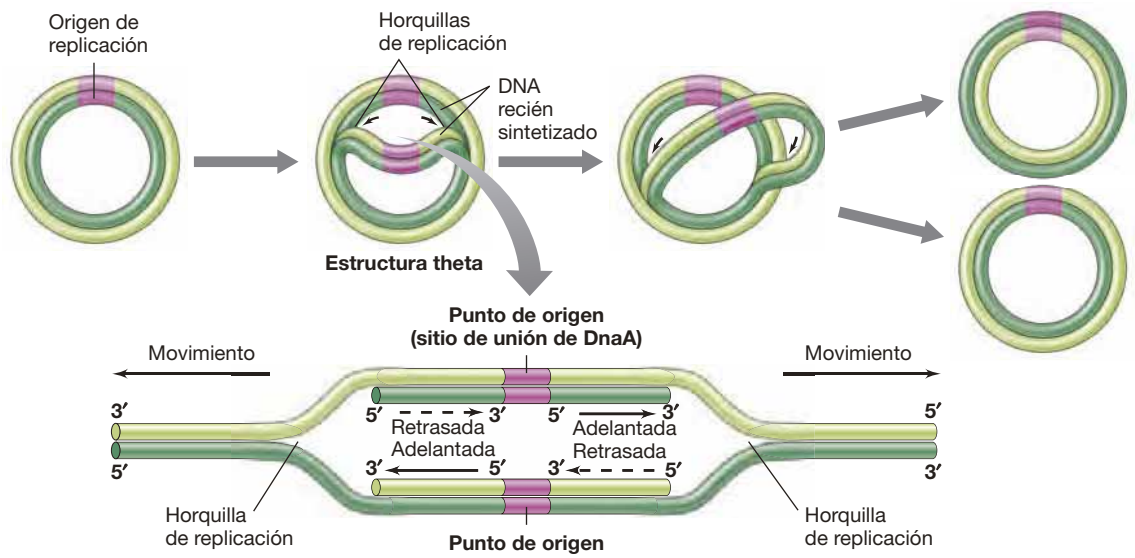


Figura 4.17 **Replicación del DNA circular: la estructura theta.** En el DNA circular, la replicación bidireccional desde un punto de origen forma una estructura intermedia que recuerda a la letra griega theta (θ). La ampliación muestra las horquillas de replicación duales en el cromosoma circular. En *Escherichia coli* el origen de la replicación es reconocido por una proteína específica, la DnaA. Obsérvese que la síntesis del DNA se produce de manera avanzada y retrasada en cada una de las dos cadenas hijas. Compárese esta figura con la descripción del replisoma que se muestra en la Figura 4.18.

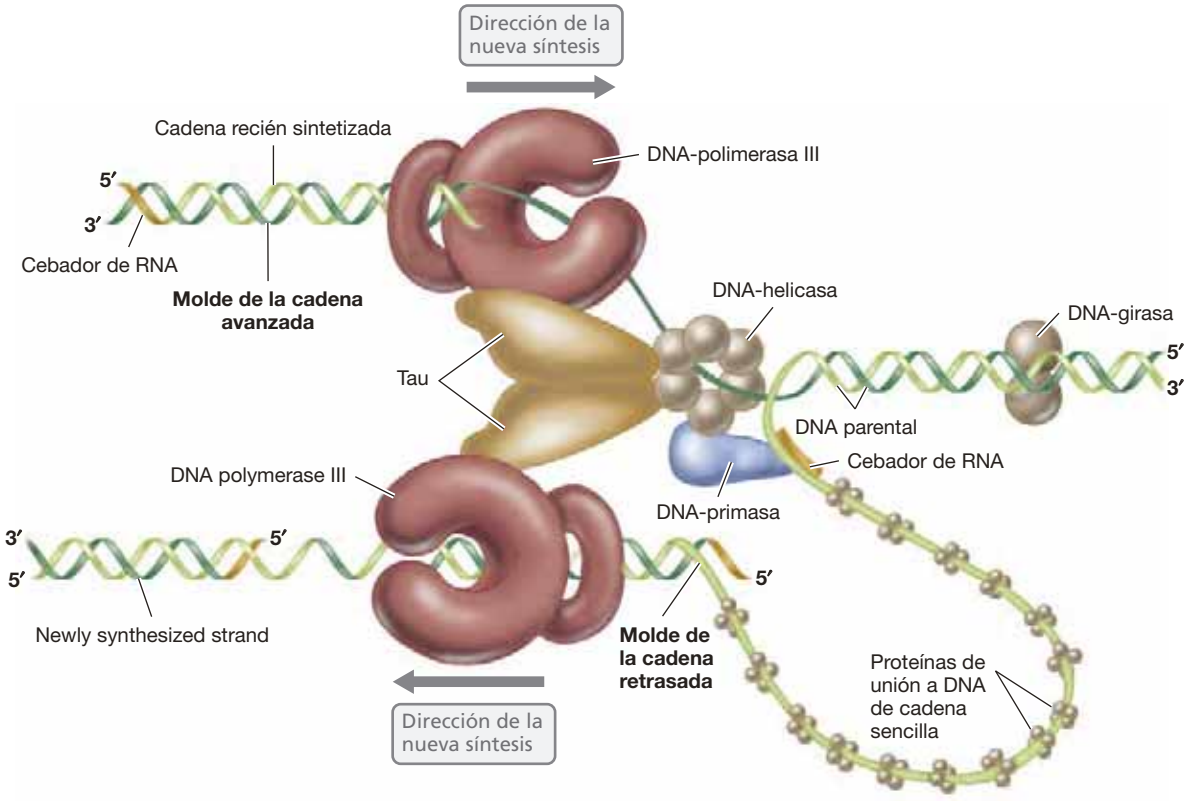


Figura 4.18 **El replisoma.** El replisoma consta de dos copias de la DNA-polimerasa III y la DNA-girasa, más la helicasa y la primasa (que juntas forman el primosoma), y muchas copias de proteínas de unión a DNA de cadena sencilla. Las subunidades Tau mantienen unidos el ensamblaje de la DNA-polimerasa y la helicasa. Justo por delante del resto del replisoma, la DNA-girasa va eliminando el superenrollamiento del DNA que se va a replicar. Obsérvese que las dos polimerasas replican las dos cadenas individuales de DNA en sentidos opuestos. En consecuencia, el molde de la cadena retrasada forma un bucle de manera que el replisoma entero se mueve en el mismo sentido a lo largo del cromosoma.

a medida que se produce la replicación. Por tanto, es el DNA, y no la DNA-polimerasa, el que se mueve durante la replicación. Obsérvese también que la helicasa y la primasa forman un subcomplejo, llamado *primososma*, que trabaja como un equipo durante la replicación.

En resumen, además de la Pol III, el replisoma contiene varias proteínas fundamentales para la replicación: 1) DNA-girasa, que elimina el superenrollamiento; 2) DNA-helicasa y primasa (el primosoma), que desenrolla y enceba el DNA; y 3) proteínas de unión a cadena sencilla, que evitan que las cadenas molde separadas se vuelvan a unir en una doble hélice (Figura 4.18). En la Tabla 4.3 se resumen las propiedades de las proteínas esenciales para la replicación del DNA en *Bacteria*.

Fidelidad de la replicación del DNA: corrección de errores

La replicación del DNA tiene una tasa de error sorprendentemente baja. No obstante, cuando se producen errores, existe un mecanismo para detectarlos y corregirlos. Los errores en la replicación del DNA introducen *mutaciones*, cambios en la secuencia del DNA. La tasa de mutación en las células es muy baja, de 10^{-8} a 10^{-11} errores por par de bases insertado. Esta precisión es posible en parte porque las DNA-polimerasas tienen dos oportunidades para incorporar la base correcta en un sitio determinado. La primera oportunidad es cuando la Pol III inserta las bases complementarias opuestas a las bases de la cadena molde de acuerdo con las reglas de apareamiento, A con T y G con C. La segunda oportunidad depende de una segunda actividad enzimática de la Pol I y la Pol III llamada *corrección de errores* (**Figura 4.19**). En la Pol III una subunidad proteica independiente, la DnaQ, lleva a cabo la función de corrección, y en la Pol I es una sola proteína la que se encarga de la polimerización y la corrección de errores.

La actividad de corrección de errores se realiza cuando se inserta una base incorrecta, porque se crea un error de apareamiento entre las bases. Tanto la Pol I como la Pol III tienen actividad exonucleasa 3′ ⟶ 5′, que puede eliminar esos nucleótidos erróneos. La polimerasa detecta el error porque el apareamiento incorrecto entre bases genera una ligera distorsión en la doble hélice. Tras la eliminación de un nucleótido desapareado, la polimerasa tiene una segunda oportunidad para insertar el nucleótido correcto (Figura 4.19). La actividad exonucleasa de corrección de errores es diferente de la actividad exonucleasa 5′ ⟶ 3′ de la Pol I que elimina el cebador de RNA de las cadenas avanzada y retrasada. Solo la Pol I tiene esta última actividad. La exonucleasa con corrección de errores existe en los sistemas de replicación de DNA de los procariotas, los eucariotas y los virus. No obstante, muchos organismos tienen mecanismos adicionales para reducir errores producidos durante la replicación del DNA, que operan una vez que la horquilla de replicación ha pasado. Hablaremos de algunos de ellos en el Capítulo 10.

Terminación de la replicación

Cuando finalmente termina el proceso de replicación del DNA, ¿cómo sabe el replisoma cuándo parar? En el lado opuesto al origen del cromosoma circular existe un sitio llamado *parada de la replicación*. Aquí, las dos horquillas de replicación chocan cuando se han completado los nuevos DNA circulares. En la región de parada hay varias secuencias llamadas *Ter* que son reconocidas por una proteína llamada Tus cuya función es bloquear el progreso de las horquillas de replicación. Cuando la replicación del cromosoma circular se ha completado, las dos moléculas circulares están entrelazadas, como los eslabones de una cadena, y son desenlazadas por otra enzima, la topoisomerasa IV. Obviamente, es fundamental que tras la replicación del DNA este se divida de manera que cada célula hija reciba una copia del cromosoma. Este proceso puede estar asistido por la proteína divisoria FtsZ, importante para la división celular, que ayuda a orquestar diversos procesos clave de división celular (↻ Sección 5.2).

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué es el replisoma y cuáles son sus componentes?
- ¿Cómo se lleva a cabo la corrección de errores durante la replicación del DNA?
- ¿Cómo se detienen las actividades del replisoma?

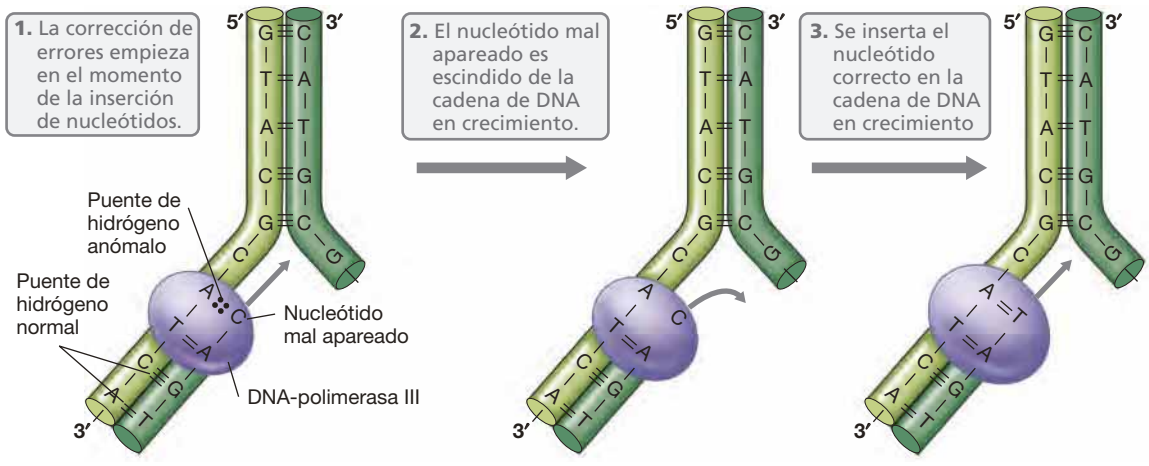


Figura 4.19 Corrección de errores por la actividad exonucleasa 3′ ⟶ 5′ de la DNA-polimerasa III. Un error en el apareamiento de las bases del par terminal hace que la polimerasa se detenga brevemente. Esto sirve de señal para que la actividad de corrección de errores corte el nucleótido mal apareado; después, la actividad polimerasa inserta la base correcta.

III • Síntesis de RNA: la transcripción

La transcripción es la síntesis de ácido ribonucleico (RNA) usando el DNA como molde. Existen tres diferencias clave en la química del RNA y del DNA: 1) el RNA contiene ribosa en lugar de desoxirribosa; 2) el RNA contiene uracilo en lugar de timina; y 3) excepto en ciertos virus, el RNA no es de doble cadena.

El cambio de desoxirribosa a ribosa afecta a la química de un ácido nucleico; las enzimas que actúan sobre el DNA, normalmente no tienen efecto sobre el RNA; y viceversa. No obstante, el cambio de timina a uracilo no afecta al apareamiento de las bases, ya que ambas se aparean igual de bien con la adenina.

Aunque el RNA existe preferentemente en cadenas sencillas, las moléculas se pliegan sobre sí mismas en regiones en las que es posible el apareamiento de bases complementarias. El término **estructura secundaria** alude a este plegamiento, y el término *estructura primaria* se refiere a la secuencia de nucleótidos, como en el DNA. La estructura secundaria genera moléculas de RNA enrolladas y muy plegadas cuya función biológica depende de manera crítica de su forma tridimensional.

El RNA desempeña varias funciones importantes en las células. Como hemos visto (Figura 4.3), en la síntesis de proteínas participan tres tipos principales de RNA: el RNA *mensajero* (mRNA), el RNA *de transferencia* (tRNA) y el RNA *ribosómico* (rRNA). También se conocen otros tipos, pero trabajan principalmente en funciones de regulación (Capítulo 7). Todas las moléculas de RNA se obtienen a partir de la transcripción del DNA. Cabe destacar que el RNA opera a dos niveles, el genético y el funcional. A nivel genético, el mRNA es portador de la información genética del genoma al ribosoma. En cambio, el rRNA tiene un papel tanto funcional como estructural en los ribosomas, y el tRNA tiene una función activa en el transporte de los aminoácidos para la síntesis de proteínas. De hecho, algunas moléculas de RNA, incluido el rRNA, tienen actividad enzimática. Aquí nos centraremos en cómo las bacterias sintetizan el RNA, una vez más usando *Escherichia coli* como organismo modelo.

4.7 La transcripción

La transcripción está catalizada por la enzima **RNA-polimerasa.** Al igual que la DNA-polimerasa, la RNA-polimerasa forma enlaces fosfodiéster, pero en este caso entre los ribonucleótidos rATP, rGTP, rCTP y rUTP en lugar de desoxirribonucleótidos. La polimerización se lleva a cabo gracias a la energía liberada por la hidrólisis de dos enlaces fosfato de alta energía de los trifosfatos de ribonucleósido que se incorporan. El mecanismo de la síntesis de RNA se parece mucho al de la síntesis de DNA (Figura 4.12): Durante la elongación de una cadena de RNA se añaden trifosfatos de ribonucleósido al 3′-OH de la ribosa del nucleótido precedente. Así, el crecimiento de la cadena es de 5′ a 3′ y la cadena de RNA recién sintetizada es antiparalela al molde de DNA de la que se transcribe. El proceso completo de síntesis de RNA se ilustra en la Figura 4.20.

La RNA-polimerasa utiliza el DNA como molde, pero para un gen determinado usa solo una de las dos cadenas. No obstante,

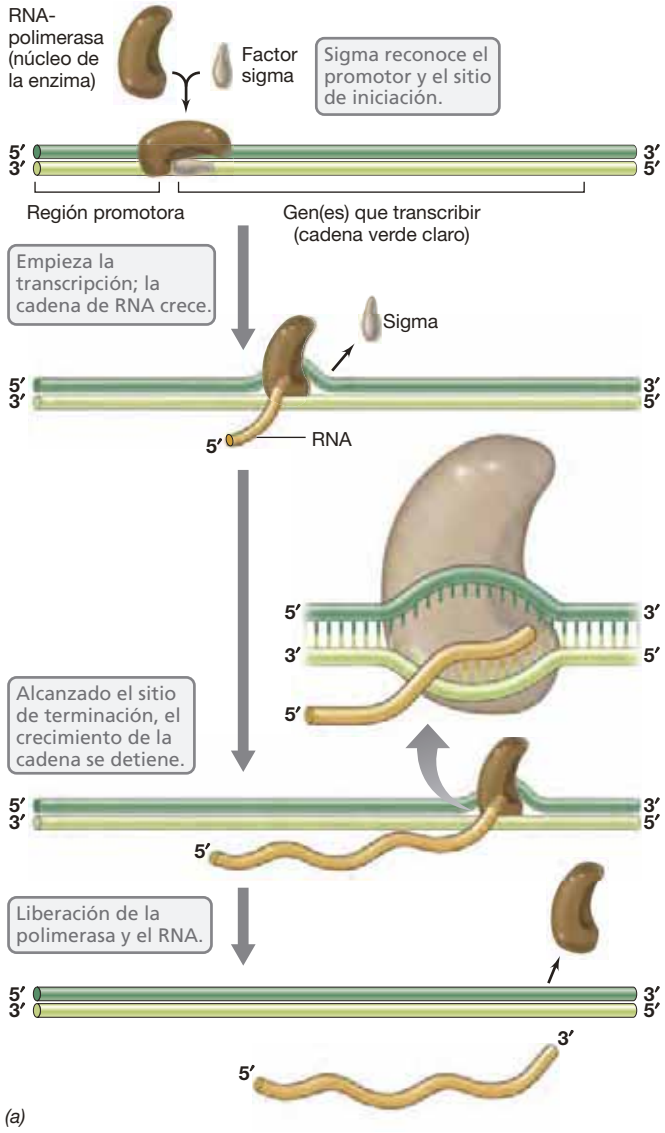


Figura 4.20 Transcripción. *(a)* Etapas de la síntesis de RNA. El sitio de iniciación (promotor) y el sitio de terminación son secuencias específicas de nucleótidos en el DNA. La RNA-polimerasa se desplaza por la cadena de DNA, abre temporalmente la doble hélice y transcribe una de las cadenas de DNA. *(b)* La micrografía electrónica ilustra la transcripción de un gen del cromosoma de *Escherichia coli*. La transcripción procede de izquierda a derecha, y los transcritos cortos de la izquierda se van alargando a medida que procede la transcripción.

los genes están presentes en ambas cadenas de DNA, de manera que se transcriben ambas, aunque por diferentes partes. A diferencia de la DNA-polimerasa, la RNA-polimerasa puede iniciar cadenas nuevas por sí sola: no necesita de ningún cebador. A medida que el RNA recién formado se disocia del DNA, el DNA abierto se cierra de nuevo en su doble hélice original. La transcripción se detiene en sitios específicos llamados *terminadores de la transcripción*. A diferencia de la replicación del DNA, en la que se copian genomas enteros, la transcripción copia unidades mucho más pequeñas, a menudo de un solo gen. Este sistema permite a la célula transcribir genes diferentes a diferentes frecuencias, según la necesidad de cada proteína que tiene la célula. En otras palabras, la expresión génica es un sistema regulado. Como veremos en el Capítulo 7, la regulación de la transcripción es un proceso importante y elaborado que utiliza muchos mecanismos diferentes y es muy eficiente en cuanto al control de la expresión génica y a la conservación de los recursos de la célula.

RNA-polimerasas

LA RNA-polimerasa de *Bacteria*, que es la que tiene la estructura más sencilla y sobre la que más se sabe, tiene cinco subunidades diferentes, llamada β, β', α, ω y σ, que está presente en dos copias. Las subunidades β y β' son parecidas pero no idénticas (**Figura 4.21**). Las subunidades interaccionan para formar la enzima activa, que es la holoenzima RNA-polimerasa, pero el factor sigma no está unido con tanta fuerza como el resto y se disocia fácilmente, lo que da lugar a la formación del núcleo de la enzima RNA-polimerasa, $\alpha_2\beta\beta'\omega$. El núcleo de la enzima por sí solo sintetiza RNA, y el factor sigma reconoce el sitio adecuado en el DNA para que empiece la síntesis de RNA. La subunidad omega es necesaria para el ensamblaje del núcleo de la enzima, pero no para la síntesis de RNA. En *Bacteria*, el factor sigma se disocia de la holoenzima RNA-polimerasa una vez que se ha formado un pequeño fragmento de RNA (Figura 4.20). La elongación de la molécula de RNA es catalizada entonces por el núcleo de la enzima solo (Figura 4.20). Sigma solo es necesario para formar el complejo inicial RNA-polimerasa-DNA en el promotor.

Promotores

Para iniciar correctamente la síntesis de RNA, la RNA-polimerasa debe reconocer primero en el DNA los sitios de iniciación, llamados **promotores** (Figura 4.20). En *Bacteria*, los promotores son reconocidos por la subunidad sigma de la RNA-polimerasa. Una vez que la RNA-polimerasa se une a un promotor, puede dar comienzo la transcripción (Figura 4.20). En este proceso, la RNA-polimerasa abre la doble hélice de la zona del promotor para formar una burbuja de transcripción. A medida que la RNA-polimerasa se mueve, va desenrollando el DNA en fragmentos cortos. Este desenrollamiento temporal expone la cadena molde y permite que se copie en RNA complementario. De esta manera, se puede pensar en los promotores como estructuras que dirigen a la RNA-polimerasa en un sentido o el otro a lo largo del DNA; si una región de DNA tiene dos promotores cercanos apuntando en sentidos opuestos, la transcripción desde uno de ellos tendrá lugar en un sentido (sobre una de las cadenas de DNA) y la transcripción desde el otro promotor procederá en sentido opuesto (sobre la otra cadena).

Factores sigma y secuencias consenso

Los promotores son secuencias de DNA específicas a las que se une la RNA-polimerasa. En la **Figura 4.22** se muestra la secuencia de varios promotores de *Escherichia coli*. Todas estas secuencias son reconocidas por el mismo factor sigma, el factor sigma principal de *E. coli* llamado σ^{70} (el superíndice 70 indica el tamaño de la proteína: 70 kilodalton); aunque estas secuencias no son idénticas, sigma reconoce dos secuencias más cortas muy conservadas en el interior del promotor, antes del sitio de inicio de la transcripción. Una está 10 bases antes del inicio de la transcripción, la región –10, o *caja Pribnow*. Aunque los promotores difieren ligeramente, la comparación de muchas regiones –10 nos da una secuencia consenso: TATAAT. La segunda región conservada está unas 35 bases antes del inicio de la transcripción. La secuencia consenso de la región –35 es TTGACA (Figura 4.22). De nuevo, la mayoría de los promotores difieren ligeramente, pero están muy cerca del consenso.

En *E. coli*, los promotores más parecidos a la secuencia consenso suelen unir de manera más eficiente la RNA-polimerasa.

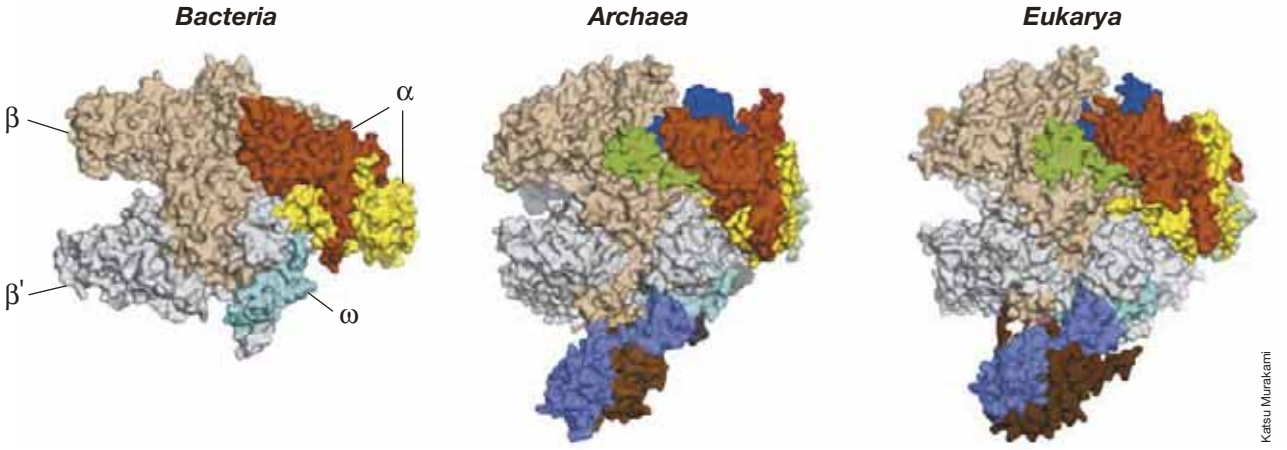


Figura 4.21 RNA-polimerasas de los tres dominios. Representación de superficie de las estructuras de la RNA-polimerasa celular de múltiples subunidades de los dominios *Bacteria* (izquierda, núcleo de la enzima de *Thermus aquaticus*), *Archaea* (centro, *Sulfolobus solfataricus*) y *Eukarya* (derecha, RNA-Pol II de *Saccharomyces cerevisiae*). Las subunidades ortólogas están representadas en el mismo color. La RNA-polimerasa de *S. solfataricus* tiene una subunidad exclusiva que no se muestra en esta vista.

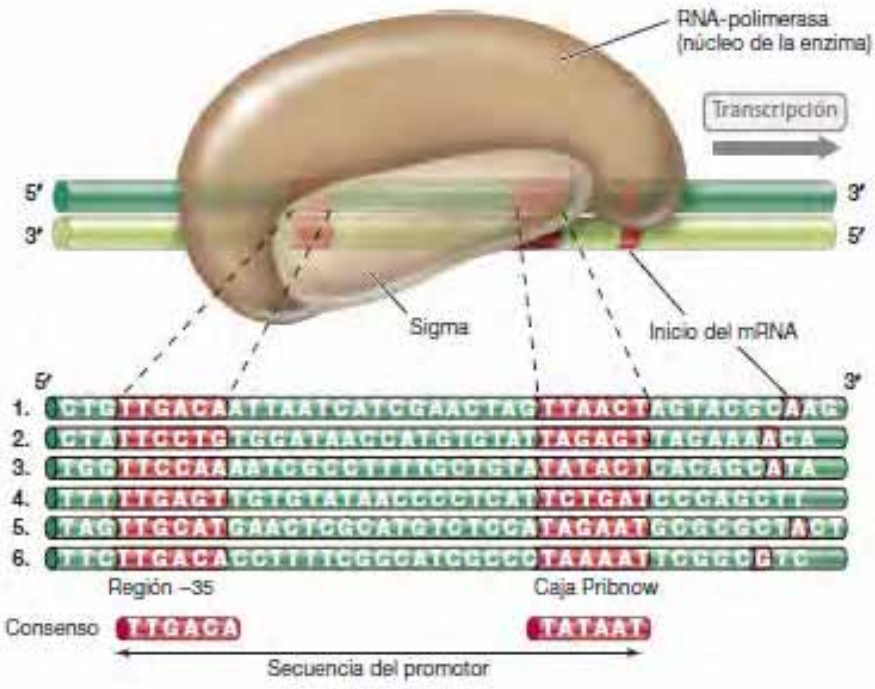


Figura 4.22 **Interacción de la RNA-polimerasa con un promotor bacteriano.** Por debajo de la RNA-polimerasa y el DNA se muestran seis secuencias promotoras diferentes identificadas en *Escherichia coli*. Se indican los contactos de la RNA-polimerasa con la región –35 y con la caja Pribnow (secuencia –10). La transcripción empieza en una única base, justo después de la caja Pribnow. por debajo de las secuencias reales de la región –35 y de la caja Pribnow están las secuencias consenso obtenidas al comparar muchos promotores. Obsérvese que aunque sigma reconoce las secuencias promotoras en la cadena 5′ → 3′ (verde oscuro) del DNA, el núcleo de la RNA-polimerasa en realidad transcribe la cadena verde claro (que va 3′ → 5′), porque el núcleo de la enzima solo funciona en sentido 5′ → 3′.

Estos promotores se llaman *promotores fuertes*, y son muy útiles en ingeniería genética, como se explica en el Capítulo 11. Mientras la mayoría de los genes de *E. coli* requiere el factor sigma estándar σ^{70} (RpoD) para la transcripción, existen algunos factores sigma alternativos que reconocen diferentes secuencias consenso (Tabla 4.4). Cada factor sigma alternativo es específico para un grupo de genes necesarios en circunstancias especiales y, por tanto, esencial para regular la expresión génica. En consecuencia, es posible controlar la expresión de diferentes familias génicas regulando la presencia o ausencia del factor sigma correspondiente, y esto se consigue cambiando la velocidad de síntesis o de degradación del factor sigma.

Tabla 4.4 Factores sigma en *Escherichia coli*

Nombre[a]	*Secuencia de reconocimiento previa*[b]	*Función*
σ^{70} RpoD	TTGACA	Para la mayoría de los genes, factor sigma principal para el crecimiento normal
σ^{54} RpoN	TTGGCACA	Asimilación de nitrógeno
σ^{38} RpoS	CCGGCG	Fase estacionaria, más estrés oxidativo y osmótico
σ^{32} RpoH	TNTCNCCTTGAA	Respuesta al choque térmico
σ^{28} FliA	TAAA	Para los genes que intervienen en la síntesis de flagelos
σ^{24} RpoE	GAACTT	Respuesta a proteínas mal plegadas en el periplasma
σ^{19} FecI	AAGGAAAAT	Para ciertos genes del transporte de hierro

[a]El superíndice indica el tamaño de la proteína en kilodalton. Muchos factores tienen también otros nombres, por ejemplo, σ^{70} también se llama σ^{D}.
[b]N = cualquier nucleótido.

Terminación de la transcripción

En una célula bacteriana en crecimiento, normalmente solo se transcriben los genes que se necesita expresar. Por tanto, es importante terminar la transcripción en la posición correcta. La **terminación** de la síntesis de RNA está dirigida por secuencias específicas de bases en el DNA. Una señal de terminación habitual en el DNA bacteriano es una secuencia rica en GC que contiene una repetición invertida con un segmento central que no se repite. Cuando esta secuencia se transcribe, el RNA forma una estructura brazo-bucle por apareamiento intracatenario (Figura 4.23). Las estructuras brazo-bucle seguidas de una serie de adeninas en el molde de DNA (lo que significa una serie de uridinas en el mRNA) son terminadores eficaces de la transcripción. Esto es debido a la formación de un fragmento de pares de bases U:A que mantiene juntos el RNA y el molde de DNA. Esta estructura es muy débil, porque el apareamiento U:A tiene solo dos puentes de hidrógeno. La RNA-polimerasa se detiene en el tallo-bucle, y el DNA y el RNA se disocian en la región de uridinas, de manera que se termina la transcripción.

El otro mecanismo de terminación de la transcripción en las bacterias usa un factor proteico específico llamado Rho, que no se une a la RNA-polimerasa ni al DNA, sino que se enlaza

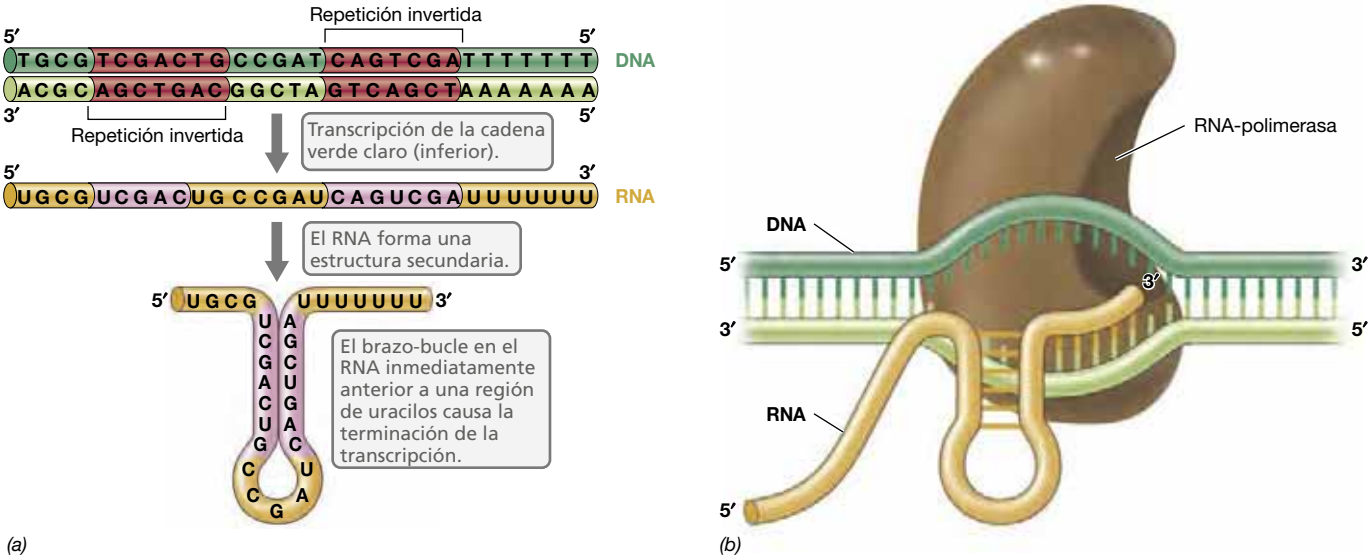


Figura 4.23 **Repeticiones invertidas y terminación de la transcripción.** *(a)* Las repeticiones invertidas en el DNA transcrito forman una estructura brazo-bucle en el RNA que termina la transcripción cuando va seguida por una serie de uracilos. *(b)* Esquema en el que se indica la formación del brazo-bucle terminador en la RNA-polimerasa.

con fuerza al complejo RNA-polimerasa-DNA. Una vez que la RNA-polimerasa se ha parado en un sitio de terminación dependiente de Rho (una secuencia específica en el molde de DNA), Rho hace que el RNA y la RNA-polimerasa se separen del DNA y se termina la transcripción.

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué sentido a lo largo de la cadena molde del DNA procede la transcripción, y qué enzima cataliza la reacción?
- ¿Qué es un promotor? ¿Qué proteína reconoce los promotores en *Escherichia coli*?
- ¿Cómo puede controlarse la expresión de las familias de genes en grupo?
- ¿Qué tipo de estructuras pueden provocar la terminación de la transcripción?

4.8 La unidad de transcripción

La información genética se organiza en unidades transcripcionales, que son segmentos de DNA que se transcriben en una sola molécula de RNA. Cada unidad de transcripción está flanqueada por sitios en los que se inicia y se termina la transcripción. Algunas unidades de transcripción están formadas por un solo gen. Otras contienen dos o más genes que se transcriben en una sola molécula de RNA y se llaman *cotranscritos*.

RNA ribosómicos y de transferencia y longevidad del RNA

La mayoría de los genes codifica proteínas, pero otros codifican RNA que no se traducen, como el RNA ribosómico o el RNA de transferencia. En un organismo existen diferentes tipos de rRNA. Las bacterias y las arqueas producen tres tipos: rRNA 16S, rRNA 23S y rRNA 5S (un ribosoma tiene una copia de cada uno; Sección 4.14). Como se muestra en la **Figura 4.24**, existen unidades de transcripción que contienen un gen para cada uno de estos rRNA, y estos genes son cotranscritos. Por tanto, la unidad de transcripción para la mayoría del rRNA es más larga que un solo gen. En los procariotas, los tRNA suelen cotranscribirse uno con otro o incluso, como se muestra en la Figura 4.24, con genes para rRNA. Estos cotranscritos son procesados por proteínas específicas de la célula que los cortan en unidades individuales, y dan lugar a rRNA o tRNA maduros (funcionales).

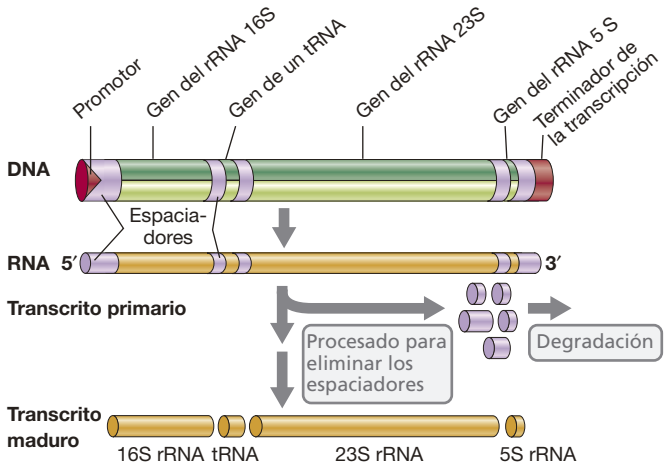


Figura 4.24 **Unidad de transcripción de rRNA en las bacterias y su procesamiento posterior.** En *Bacteria*, todas las unidades de transcripción de rRNA tienen los genes en el orden rRNA 16S, rRNA 23S y rRNA 5S (se muestran aproximadamente a escala). Obsérvese que en esta unidad de transcripción en concreto, el espaciador entre los genes de los rRNA 16S y 23S contiene un gen de tRNA. En otras unidades de transcripción, esta región puede contener más de un gen de tTRNA. A menudo uno o más genes de tRNA también siguen al gen de rRNA 5S y son cotranscritos. *Escherichia coli* contiene siete unidades de transcripción de rRNA.

En los procariotas, la mayoría de los RNA mensajeros tiene una semivida corta (del orden de unos minutos), después de la cual son degradados por enzimas llamadas *ribonucleasas*. Esto contrasta con los rRNA y los tRNA, que son estables. Esta estabilidad puede atribuirse a las estructuras secundarias con alto nivel de plegamiento de los tRNA y rRNA, que impiden que las ribonucleasas los degraden. En cambio, el mRNA no forma estas estructuras y es susceptible de ser atacado por las ribonucleasas. El rápido recambio de los mRNA procariotas permite a la célula adaptarse rápidamente a nuevas condiciones ambientales y detener la transcripción de mRNA cuyos productos ya no son necesarios.

El mRNA policistrónico y el operón

En los procariotas, los genes que codifican varias enzimas de una ruta metabólica concreta, por ejemplo la biosíntesis de un aminoácido en particular, a menudo están agrupados. La RNA-polimerasa actúa en estos grupos y transcribe el conjunto entero de genes en una sola molécula larga de mRNA. Un mRNA que codifica uno de estos grupos de genes cotranscritos se llama *mRNA policistrónico* (**Figura 4.25**). Los mRNA policistrónicos contienen múltiples *marcos abiertos de lectura*, porciones del mRNA que codifican aminoácidos (Sección 4.11). Cuando este mRNA se traduce, se sintetizan varios polipéptidos secuencialmente en el mismo ribosoma.

Un grupo de genes relacionados que se transcriben juntos para dar un solo mRNA policistrónico se conoce como operón. El ensamblaje en un operón de genes para una misma ruta bioquímica o de genes que se necesitan en las mismas condiciones permite que su expresión esté coordinada. A menudo, la transcripción de un operón está controlada por una región específica del DNA que se encuentra justo antes de la región codificadora de proteínas del operón. Hablaremos de ello con más detalle en el Capítulo 7.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cuál es la función del RNA mensajero (mRNA)?
- ¿Qué es una unidad de transcripción? ¿Qué es un mRNA policistrónico?
- ¿Qué son los operones y por qué son útiles para los procariotas?

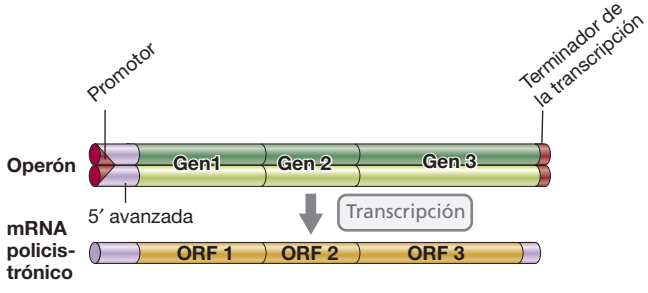


Figura 4.25 Estructura del operón y del mRNA policistrónico en los procariotas. Obsérvese que un solo promotor controla los tres genes del operón y que la molécula de mRNA policistrónico contiene un marco abierto de lectura (ORF) para cada gen.

4.9 La transcripción en *Archaea* y *Eukarya*

Hasta aquí, nuestro estudio se ha centrado en la transcripción en *Bacteria*, usando *Escherichia coli* como sistema modelo. Aunque tanto en *Archaea* como en *Eukarya* el flujo de la información genética del DNA al RNA es, en general, igual, hay algunos detalles diferentes, y en las células eucariotas la presencia de un núcleo complica el sistema. Aunque las arqueas carecen de núcleo, muchas de sus propiedades moleculares se parecen más a las eucarióticas que a las bacterianas. Estos rasgos compartidos del dogma central confirman que estos dos dominios están más cerca entre sí que cualquiera de los dos con *Bacteria* (↔ Sección 1.3). No obstante, las arqueas también comparten semejanzas transcripcionales con las bacterias, como los operones. Las unidades de transcripción en los eucariotas contienen solamente un gen. A continuación trataremos de elementos clave de la transcripción en *Archaea* y *Eukarya* que se diferencian de los de *Bacteria*.

RNA-polimerasas arqueanas y eucarióticas

Las RNA-polimerasas arqueanas y eucarióticas son estructuralmente más complejas que las bacterianas y más parecidas entre sí. Las arqueas tienen una sola RNA-polimerasa, que se parece mucho a la RNA-polimerasa II eucariótica. La RNA-polimerasa arqueana tiene normalmente 11 o 12 subunidades, mientras que la RNA-polimerasa eucariótica tiene 12 o más. Esto supone una diferencia clara con la RNA-polimerasa bacteriana, que está formada por solo 4 subunidades diferentes más la subunidad sigma (de reconocimiento) (Figura 4.21).

En la Sección 4.7 estudiamos la importancia del promotor para la transcripción. La estructura de los promotores arqueanos se parece más a la de los promotores eucarióticos reconocidos por la RNA-polimerasa II que a la estructura de los promotores bacterianos. Los eucariotas se diferencian de las arqueas y las bacterias en que tienen varias RNA-polimerasas. Dentro del núcleo hay tres RNA-polimerasas independientes que transcriben diferentes categorías de genes. Las mitocondrias y los cloroplastos poseen también RNA-polimerasas específicas pero, como era de esperar teniendo en cuenta las conexiones filogenéticas entre *Bacteria* y los orgánulos de las células eucariotas (↔ Figura 1.6*b*), están más estrechamente relacionadas con la RNA-polimerasa bacteriana.

Promotores y terminadores en *Archaea* y *Eukarya*

Tres secuencias de reconocimiento principales forman parte de los promotores en los dos dominios procariotas, y estas secuencias son reconocidas por una serie de proteínas llamadas *factores de transcripción*, que son similares en *Eukarya* y *Archaea*. La secuencia de reconocimiento más importante en los promotores arqueanos y eucarióticos es la «caja TATA», de 6 a 8 pares de bases, situada de 18 a 27 nucleótidos antes del sitio de inicio de la transcripción (**Figura 4.26**). Esta secuencia es reconocida por la *proteína de unión a la caja TATA* (TBP, *del inglés TATA-binding protein*). Antes de la caja TATA se encuentra el *elemento de reconocimiento B* (BRE, del inglés *B recognition element*), que es reconocido por el factor de transcripción B (TFB, del inglés *transcription factor B*). Además, el elemento iniciador es una secuencia que está situada al principio de la transcripción. Una vez que la TBP se ha unido a la caja TATA y el TFB se ha unido

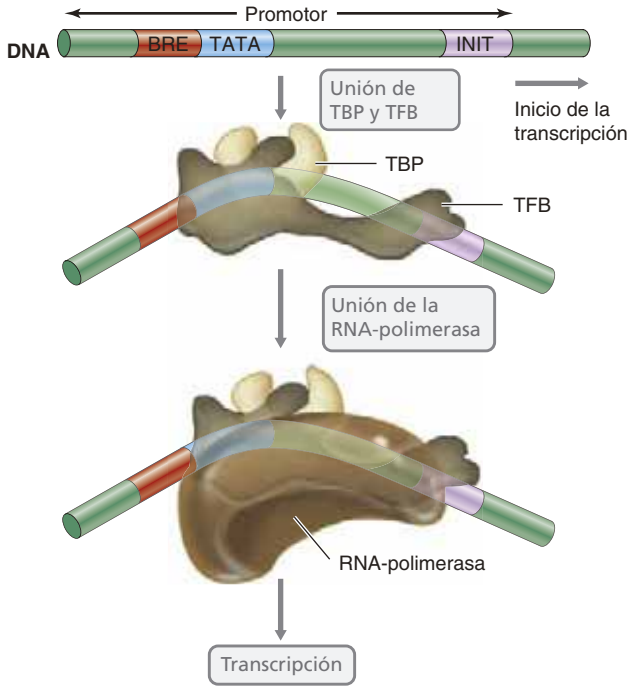


Figura 4.26 **Arquitectura del promotor y transcripción en arqueas.** Hay tres elementos del promotor que son fundamentales para el reconocimiento del promotor en *Archaea*: el elemento iniciador (INIT), la caja TATA y el elemento de reconocimiento B (BRE). La proteína de unión a TATA (TBP) se une a la caja TATA; el factor de transcripción B (TFB) se une a BRE i a INIT. Una vez que TBP y TFB están en su sitio, se une la RNA-polimerasa.

al BRE, la RNA-polimerasa arqueana puede unirse y empezar la transcripción. El proceso es similar en eucariotas, excepto en que son necesarios varios factores de transcripción adicionales.

Sobre la terminación de la transcripción en *Archaea* y en *Eukarya* se sabe menos que en *Bacteria* (Sección 4.7). Algunos genes arqueanos tienen secuencias invertidas seguidas por una secuencia rica en AT, similares a las que se encuentran en muchos terminadores de la transcripción bacterianos. No obstante, estas secuencias de terminación no se encuentran en todos los genes arqueanos. Otro tipo de presunto terminador de la transcripción carece de secuencias invertidas, pero contiene series de timinas repetidas. De alguna manera, esto indica a la maquinaria de terminación arqueana que debe terminar la transcripción. En los eucariotas, la terminación difiere según sea la RNA-polimerasa, y a menudo requiere un factor de terminación específico. No se han encontrado proteínas similares a Rho (Sección 4.7) ni en *Archaea* ni en *Eukarya*.

Secuencias intercaladas en arqueas

Al igual que en las bacterias, las secuencias intercaladas en los genes que codifican proteínas son extremadamente raras en las arqueas. Esto contrasta con los eucariotas, en los que muchos de estos genes están escindidos en dos o más regiones codificantes, separadas por regiones no codificantes. Estas moléculas de RNA requieren modificaciones —es lo que se conoce como **procesamiento del RNA**— para llegar a estar *maduras*; es decir, listas para llevar a cabo su función en la célula. Los segmentos de secuencias codificantes se llaman **exones**, y los **intrones** son las regiones no codificantes intercaladas. El término **transcrito primario** se refiere a la molécula de RNA que se transcribe originalmente antes de que los intrones sean eliminados para generar el mRNA final, formado únicamente por exones. Diversos genes que codifican tRNA y rRNA de *Archaea* contienen intrones que deben ser eliminados tras la transcripción para generar el tRNA o el rRNA maduros. Estos intrones se llamaron intrones arqueanos porque son procesados por un mecanismo diferente del que se usa en los intrones eucarióticos; son escindidos por una ribonucleasa específica que reconoce las uniones exón-intrón (**Figura 4.27**). En algunos casos, los tRNA arqueanos son ensamblados empalmando segmentos de dos o tres transcritos primarios diferentes.

Procesamiento del RNA en los eucariotas

La mayoría de los transcritos primarios de los eucariotas contienen intrones y, por tanto, tienen que procesar el RNA antes de que pueda utilizarse en la célula. El proceso por el que los

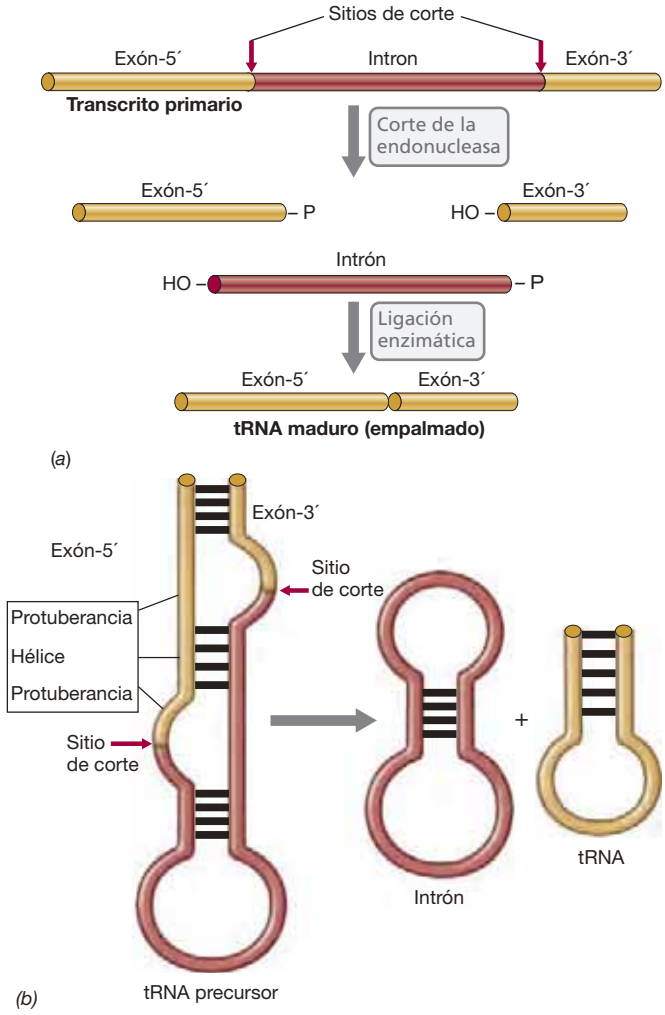


Figura 4.27 **Mecanismo de corte y empalme de los intrones arqueanos.** *(a)* Esquema de la reacción. La eliminación de los intrones arqueanos es una reacción en dos etapas. En la primera etapa, una endonucleasa específica corta el intrón. En la segunda etapa, una ligasa une el exón-5′ con el exón-3′ para generar el tRNA maduro, empalmado. *(b)* Plegamiento del tRNA precursor. Los dos sitios de empalme (flechas rojas) son reconocidos por sus motivos característicos «protuberancia-hélice-protuberancia». Los productos de la reacción son el tRNA y un intrón circular.

intrones se eliminan y los exones se unen en los eucariotas se llama *corte y empalme* (Figura 4.28). El corte y empalme del RNA se lleva a cabo en el núcleo y es realizado por un gran complejo macromolecular llamado **empalmosoma**. Las proteínas del empalmosoma cortan el intrón y unen los exones adyacentes para formar una secuencia codificante contigua en el mRNA maduro. Muchos genes, especialmente en animales y plantas superiores, tienen muchos intrones, de manera que es de una importancia obvia que puedan ser reconocidos y eliminados por el empalmosoma para generar el mRNA maduro final (Figura 4.29).

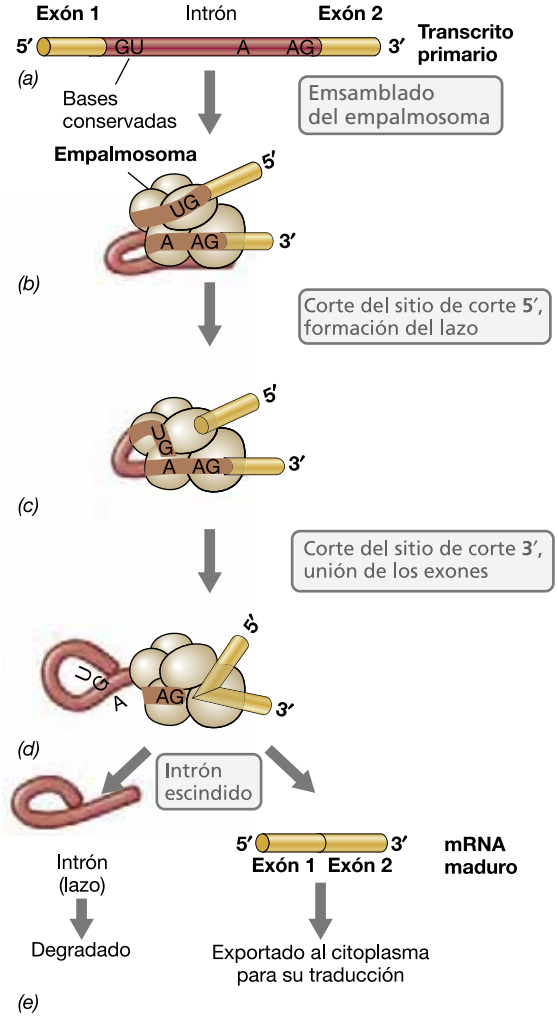


Figura 4.28 Actividad del empalmosoma. Eliminación de un intrón del transcrito primario de un gen que codifica una proteína en un eucariota. *(a)* Transcrito primario que contiene un solo intrón. La secuencia GU es una secuencia conservada en el sitio de corte 5′, y lo mismo ocurre con AG en el sitio de corte 3′. También hay una A interior que sirve como punto de ramificación. *(b)* Varias partículas pequeñas de ribonucleoproteínas (en marrón) se ensamblan en el RNA para formar un empalmosoma. Cada una de estas partículas contiene distintas moléculas pequeñas de RNA que forman parte en el mecanismo de empalme. *(c)* El sitio de corte 5′ se corta con la formación simultánea de un punto de ramificación. *(d)* El sitio de corte 3′ se corta y los dos exones se unen. Obsérvese que, en total, se cortan dos enlaces fosfodiéster pero se forman otros dos. *(e)* Los productos finales son los exones unidos (el mRNA) y el intrón liberado.

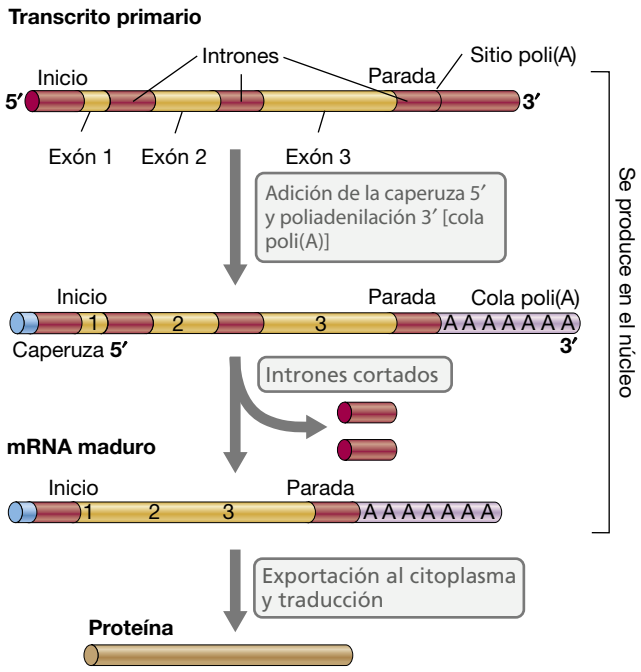


Figura 4.29 Procesado del transcrito primario a mRNA maduro en los eucariotas. Las etapas del proceso comprenden la adición de la caperuza en el extremo 5′, la eliminación de los intrones, el corte del extremo 3′ del transcrito y la adición de una cola poli-A. Todas estas etapas se llevan a cabo en el núcleo. Se indica la ubicación de los codones de inicio y de parada que se usarán durante la traducción.

Hay otros dos pasos en el procesamiento del mRNA en los eucariotas que son exclusivos de este dominio. Ambos pasos tienen lugar en el núcleo antes del empalme. El primero, llamado *adición de la caperuza*, se produce antes de que la transcripción esté terminada. La adición de la caperuza es la unión de un nucleótido de guanina metilada en el fosfato del extremo 5′ del mRNA (Figura 4.29). El nucleótido caperuza se añade en orientación invertida respecto al resto de la molécula de mRNA, y es necesario para iniciar la traducción. El segundo mecanismo consiste en recortar el extremo 3′ del transcrito primario y añadirle entre 100 y 200 residuos de adenilato que forman una *cola poli(A)* (Figura 4.29). La secuencia de reconocimiento de la cola, AAUAAA, está situada cerca del extremo 3′ del transcrito primario. La cola poli(A) estabiliza el mRNA y debe eliminarse antes de que el mRNA sea degradado.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cuáles son los tres componentes principales de un promotor arqueano?
- ¿Qué efecto tiene la presencia del núcleo en el flujo de información genética en los eucariotas?
- ¿Cuáles son los pasos del procesamiento del RNA eucariótico?

IV • Síntesis de proteínas

Una vez que se ha realizado la transcripción y se han sintetizado los mRNA, los transcritos se traducen a proteínas. En este proceso participan muchas proteínas, otros RNA y una estructura celular fundamental, el ribosoma. A continuación analizaremos cómo interaccionan entre sí para producir un conjunto de proteínas.

4.10 Polipéptidos, aminoácidos y el enlace peptídico

Las **proteínas** desempeñan funciones fundamentales para el funcionamiento de la célula. Existen dos grandes grupos de proteínas: las *proteínas catalíticas* (enzimas) y las *proteínas estructurales*. Las **enzimas** son los catalizadores de las reacciones químicas que se producen en las células. Las proteínas estructurales forman parte integral de las grandes estructuras de la célula: membranas, paredes, ribosomas, etcétera. Las proteínas reguladoras controlan la mayoría de los procesos celulares mediante una serie de mecanismos que incluyen la unión al DNA y la regulación de la transcripción. No obstante, todas las proteínas presentan ciertas características comunes.

Las proteínas son polímeros de **aminoácidos**. Todos los aminoácidos contienen un grupo amino ($-NH_2$), y un grupo carboxilo (–COOH) unidos al carbono α (**Figura 4.30*a***). Los enlaces entre el carbono carboxílico de un aminoácido y el nitrógeno del grupo amino de un segundo (con eliminación de agua) se conocen como **enlaces peptídicos** (**Figura 4.31**). Dos aminoácidos unidos por un enlace peptídico constituyen un *dipéptido*; tres aminoácidos, un *tripéptido*, etcétera. Cuando se unen muchos aminoácidos, se forma un **polipéptido**. Una proteína está formada por uno o más polipéptidos. El número de aminoácidos varía enormemente de una proteína a otra, desde solo 15 hasta 10.000.

Cada aminoácido tiene una cadena lateral exclusiva (abreviada como R). Las cadenas laterales varían considerablemente, desde una tan simple como un solo átomo de hidrógeno en el aminoácido glicina hasta anillos aromáticos en la fenilalanina, la tirosina y el triptófano (Figura 4.30*b*). Los aminoácidos existen como pares de **enantiómeros**, que son isómeros ópticos que tienen la misma fórmula estructural y molecular, excepto en el hecho de que son imágenes especulares uno del otro, y se designan como D o L según si en solución pura desvían la luz hacia la derecha o hacia la izquierda, respectivamente. Las proteínas celulares están compuestas únicamente de L-aminoácidos. No obstante, ocasionalmente se encuentran D-aminoácidos en las células, especialmente en el peptidoglicano de la pared celular (↻ Sección 2.10) y en ciertos antibióticos peptídicos (↻ Sección 27.14). Las células pueden interconvertir los enantiómeros mediante unas enzimas llamadas *racemasas*.

Las propiedades químicas de los aminoácidos están determinadas por su cadena lateral. Los aminoácidos con propiedades químicas similares están agrupados en «familias» relacionadas (Figura 4.30*b*). Por ejemplo, la cadena lateral puede contener un grupo carboxílico, como en el ácido aspártico o en el ácido glutámico, que le da propiedades ácidas al aminoácido. Otros contienen grupos amino adicionales que les hace estar cargados

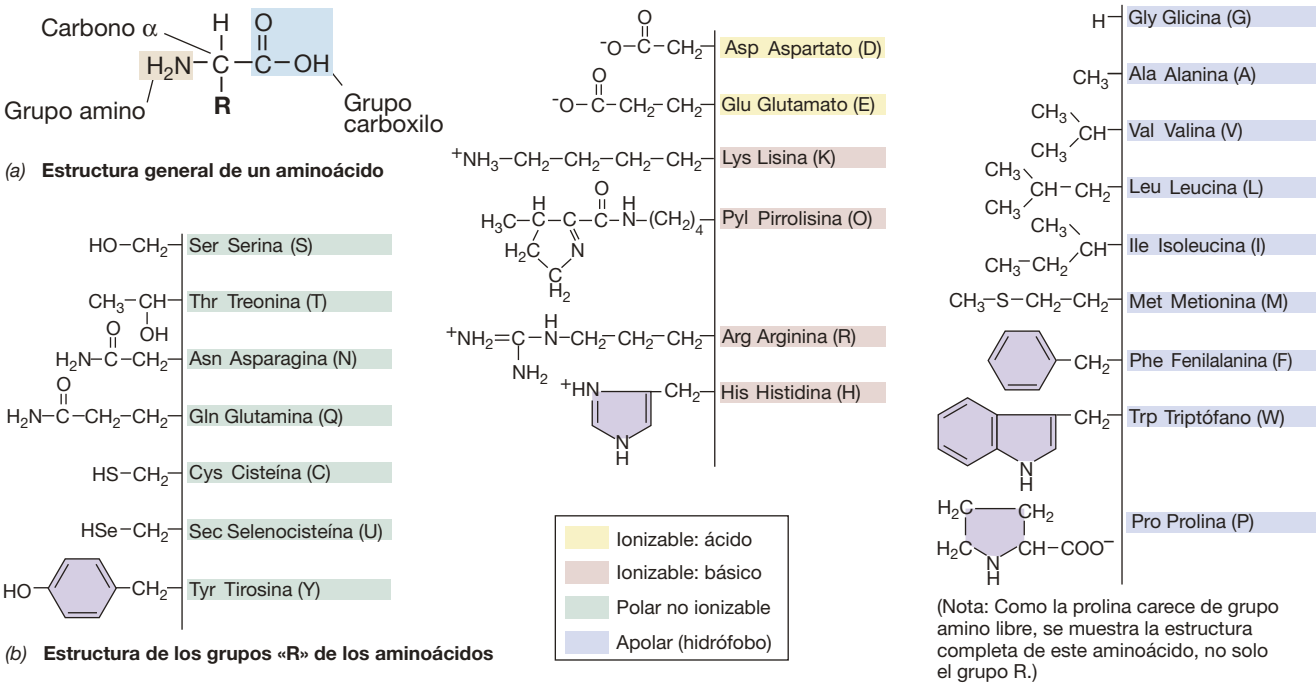


Figura 4.30 Estructura de los 22 aminoácidos codificados genéticamente. *(a)* Estructura general. *(b)* Estructura del grupo R. Los códigos de tres letras para los aminoácidos se muestran a la izquierda de los nombres, y los de una letra están entre paréntesis a la derecha de cada nombre. La pirrolisina se ha encontrado solamente en ciertas arqueas metanógenas (↻ Sección 16.2).

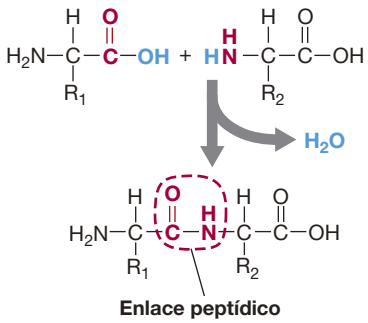


Figura 4.31 **Formación del enlace peptídico.** R_1 y R_2 son las cadenas laterales de los aminoácidos. Obsérvese que tras la formación del enlace peptídico, el extremo C-terminal tiene un grupo OH libre para la formación del siguiente enlace peptídico.

positivamente y ser básicos. Varios aminoácidos contienen cadenas laterales hidrófobas y se llaman aminoácidos no polares. La cisteína contiene un grupo sulfhidrilo (–SH). Usando sus grupos sulfhidrilo, dos cisteínas pueden formar un enlace disulfuro (R–S–S–R), que conecta dos cadenas polipeptídicas.

La diversidad de aminoácidos químicamente distintos hace posible la existencia de una enorme cantidad de proteínas únicas con propiedades bioquímicas muy diferentes. Si suponemos que un polipéptido promedio contiene 300 aminoácidos, vemos que son posibles teóricamente 22^{300} polipéptidos diferentes. Ninguna célula tiene tantas proteínas diferentes. Una célula de *Escherichia coli* cuenta con unas 2.000 clases de proteínas diferentes; la cantidad exacta depende en gran medida de los recursos (nutrientes) y las condiciones de crecimiento empleadas.

La secuencia lineal de aminoácidos en un polipéptido es su *estructura primaria*. Esta determina el plegamiento posterior del polipéptido, que a su vez determina su actividad biológica (Sección 4.14). Los dos extremos de un polipéptido se designan «C-terminal» y «N-terminal», según si tienen un grupo carboxilo libre o un grupo amino libre (Figura 4.31).

MINIRREVISIÓN

- Dibuje la estructura de un dipéptido que contenga los aminoácidos alanina y tirosina. Señale el enlace peptídico.
- ¿Qué forma enantiomérica de los aminoácidos se encuentra en las proteínas?
- La glicina no tiene dos enantiómeros diferentes; ¿por qué?

4.11 La traducción y el código genético

Como ya hemos visto, en los dos primeros pasos de la transferencia de información biológica —replicación y transcripción— los ácidos nucleicos se sintetizan a partir de moldes que son ácidos nucleicos. El último paso, la *traducción*, también utiliza un ácido nucleico como molde, pero en este caso el producto no es un ácido nucleico, sino un polipéptido. El fundamento de la transferencia de información biológica es la correspondencia entre el molde de ácido nucleico y la secuencia de aminoácidos del polipéptido formado. Esta correspondencia tiene sus raíces en el **código genético**. Un triplete de tres bases de RNA, llamado *codón*, codifica cada aminoácido específico. Los 64 codones posibles (cuatro bases tomadas de tres en tres = 4^3) de mRNA se muestran en la Tabla 4.5. El código genético se escribe como

Tabla 4.5 El código genético expresado en tripletes de bases de mRNA

Codón	*Aminoácido*	*Codón*	*Aminoácido*	*Codón*	*Aminoácido*	*Codón*	*Aminoácido*
UUU	Fenilalanina	UCU	Serina	UAU	Tirosina	UGU	Cisteína
UUC	Fenilalanina	UCC	Serina	UAC	Tirosina	UGC	Cisteína
UUA	Leucina	UCA	Serina	UAA	Nada (señal de parada)	UGA	Nada (señal de parada)
UUG	Leucina	UCG	Serina	UAG	Nada (señal de parada)	UGG	Triptófano
CUU	Leucina	CCU	Prolina	CAU	Histidina	CGU	Arginina
CUC	Leucina	CCC	Prolina	CAC	Histidina	CGC	Arginina
CUA	Leucina	CCA	Prolina	CAA	Glutamina	CGA	Arginina
CUG	Leucina	CCG	Prolina	CAG	Glutamina	CGG	Arginina
AUU	Isoleucina	ACU	Treonina	AAU	Asparagina	AGU	Serina
AUC	Isoleucina	ACC	Treonina	AAC	Asparagina	AGC	Serina
AUA	Isoleucina	ACA	Treonina	AAA	Lisina	AGA	Arginina
AUG (inicio)[a]	Metionina	ACG	Treonina	AAG	Lisina	AGG	Arginina
GUU	Valina	GCU	Alanina	GAU	Ácido aspártico	GGU	Glicina
GUC	Valina	GCC	Alanina	GAC	Ácido aspártico	GGC	Glicina
GUA	Valina	GCA	Alanina	GAA	Ácido glutámico	GGA	Glicina
GUG	Valina	GCG	Alanina	GAG	Ácido glutámico	GGG	Glicina

[a]AUG codifica *N*-formilmetionina al principio de las cadenas polipeptídicas de las bacterias.

RNA en lugar de como DNA porque es el mRNA el que se traduce en realidad. Cabe señalar que, además de los codones para aminoácidos, también hay codones de inicio y de parada de la traducción. Aquí nos centraremos en la traducción en bacterias, pero es importante señalar que las maquinarias de traducción de las arqueas y los eucariotas están más estrechamente relacionadas entre sí que con la de las bacterias.

Propiedades del código genético

Hay veintidós aminoácidos que son codificados por la información genética que contiene el mRNA (algunos otros aminoácidos se forman por modificación de estos después de la traducción). En consecuencia, puesto que hay 64 codones, muchos aminoácidos están codificados por más de un codón. Aunque conocer el codón específico en un sitio determinado identifica de manera inequívoca el aminoácido correspondiente, lo contrario no se cumple. Saber el aminoácido no significa conocer el codón en ese sitio. De un código como este, que no tiene correspondencia unívoca entre «palabra» (es decir, aminoácido) y código (codón) se dice que es un *código degenerado*. No obstante, sabiendo la secuencia de DNA y el marco de lectura correcto, se puede determinar la secuencia aminoacídica de una proteína. Esto permite la determinación de las secuencias de aminoácidos a partir de las secuencias de bases, y es la base de la genómica (Capítulo 6).

Un codón es reconocido por el apareamiento específico de sus bases con una secuencia complementaria de tres bases que recibe el nombre de **anticodón** y que es parte del tRNA. Si este apareamiento siguiera siempre las normas estándar de A con U y G con C, entonces se necesitaría al menos un tRNA específico para reconocer cada codón. En algunos casos, esto se cumple; por ejemplo, *Escherichia coli* tiene seis tRNA diferentes para el aminoácido leucina, uno para cada codón (Tabla 4.5). Por otra parte, algunos tRNA pueden reconocer más de un codón. Así, aunque hay dos codones para la lisina en *E. coli*, solo hay un lisil-tRNA, cuyo anticodón puede aparearse con AAA o con AAG. En estos casos especiales, las moléculas de tRNA forman apareamientos estándar solo en las dos primeras posiciones del codón, y toleran un apareamiento irregular en la tercera posición. Este fenómeno se llama **balanceo**, y se ilustra en la Figura 4.32, donde se muestra una apareamiento entre G y U (en lugar de entre G y C) en la posición de balanceo.

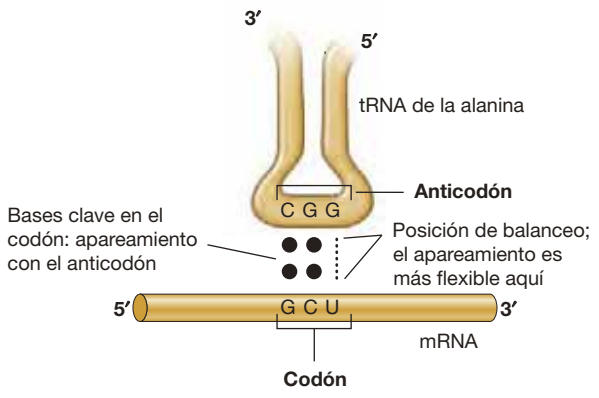


Figura 4.32 El concepto del balanceo. El apareamiento es más flexible en la tercera base del codón que en las otras dos. Solo se muestra un fragmento del tRNA.

Algunos aminoácidos son codificados por múltiples codones que, en la mayoría de los casos, están estrechamente relacionados en cuanto a la secuencia de bases (Tabla 4.5). Se podría suponer que estos codones múltiples se usan con igual frecuencia, pero no es así, y los datos de secuencia genómica revelan que existe una **preferencia de codones** dependiente de la especie. En otras palabras, algunos codones se prefieren sobre otros aunque codifiquen el mismo aminoácido. La preferencia de codones está relacionada con el sesgo correspondiente en la concentración de las diferentes moléculas de tRNA. Así, un tRNA que corresponde a un codón de poco uso será relativamente escaso. En ingeniería genética se debe tener en cuenta la preferencia de codones; por ejemplo, un gen de un organismo cuyo uso codónico difiera enormemente de otro puede no traducirse eficientemente si el gen se clona en este último mediante técnicas de ingeniería genética (Capítulo 11).

Marcos abiertos de lectura

Un método habitual para identificar genes que codifican proteínas es examinar cada cadena de la secuencia del DNA en busca de **marcos abiertos de lectura (ORF**, del inglés *open reading frame*). Si un mRNA se puede traducir, contendrá un marco abierto de lectura: un codón de inicio (normalmente AUG) seguido por un número de codones y después un codón de parada en el mismo marco de lectura que el codón de inicio. En la práctica, solo los ORF suficientemente largos para codificar un polipéptido funcional se aceptan como verdaderas secuencias codificantes. Aunque la mayoría de las proteínas funcionales tienen una longitud de al menos 100 aminoácidos, algunas hormonas proteínicas y péptidos reguladores son mucho más cortos. En consecuencia, no siempre es posible deducir simplemente por los datos de la secuencia si un ORF relativamente corto es debido únicamente a la casualidad o si codifica un polipéptido genuino, aunque corto.

Usando métodos informáticos se puede escanear una secuencia de bases en busca de marcos abiertos de lectura. Además de buscar codones de inicio y de parada, la búsqueda puede incluir también promotores y secuencias de unión a ribosomas. La búsqueda de ORF es muy importante en genómica (Capítulo 6). Si se secuencia un fragmento desconocido de DNA, la presencia de un ORF quiere decir que codifica una proteína.

Codones de inicio y de parada y marco de lectura

El RNA mensajero se traduce empezando por su **codón de inicio** (AUG, Tabla 4.5), que en las bacterias codifica una metionina químicamente modificada llamada *N-formilmetionina*. Aunque un AUG *al principio* de una región codificadora significa *N*-formilmetionina, cuando se encuentra *dentro* de la región codificadora codifica metionina. En este proceso intervienen dos tRNA diferentes (Sección 4.13). En cambio, las arqueas y los eucariotas insertan una metionina normal como primer aminoácido en un polipéptido.

Con un código de tripletes, es esencial para la traducción empezar con el nucleótido correcto. Si no es así, todo el marco de lectura se desplaza y se sintetiza una proteína completamente diferente. Sin embargo, si el desplazamiento introduce un codón de parada en el marco de lectura, el polipéptido terminará prematuramente su síntesis. Por convenio, el marco de lectura que cuando se traduce produce el polipéptido codificado por el gen se llama *marco 0* (marco cero). Como se puede ver en la Figura 4.33, los otros dos marcos de

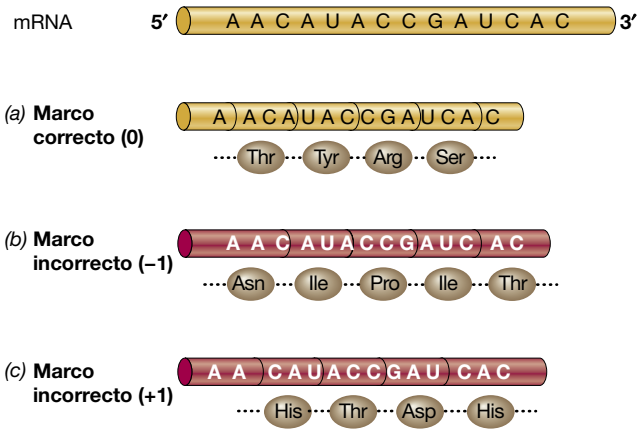


Figura 4.33 **Posibles marcos abiertos de lectura en un mRNA.** Se muestra una secuencia interior de un mRNA. (*a*) Aminoácidos que se codifican si el ribosoma está en el marco de lectura correcto (llamado marco «0»). (*b*) Aminoácidos que se codifican en esta región del mRNA si el ribosoma está en el marco de lectura –1. (*c*) Aminoácidos que se codifican si el ribosoma está en el marco de lectura +1.

lectura posibles (–1 y +1) no codifican la misma secuencia de aminoácidos. Por tanto, es imprescindible que el ribosoma encuentre el codón de inicio correcto para empezar la traducción y, cuando lo ha encontrado, que el mRNA se desplace exactamente tres bases cada vez. ¿Cómo se asegura el marco de lectura correcto?

La fidelidad del marco de lectura está dirigida por interacciones entre el mRNA y el rRNA en el ribosoma. En los procariotas, el RNA ribosómico reconoce un AUG específico en el mRNA como codón de inicio con la ayuda de una secuencia anterior en el mRNA llamada *sitio de unión al ribosoma* (RBS), o secuencia de Shine-Dalgarno. Este requisito de alineación explica por qué algunos mRNA bacterianos pueden usar otros codones de inicio, como GUG. No obstante, incluso estos codones de inicio poco frecuentes dirigen la incorporación de *N*-formilmetionina como aminoácido iniciador.

Unos pocos codones no codifican ningún aminoácido. Estos codones (UAA, UAG, UGA, Tabla 4.5) son los **codones de parada**, y marcan la terminación de la traducción de una secuencia del mRNA que codifica una proteína. Los codones de parada también se llaman **codones sin sentido**, porque interrumpen el «sentido» del polipéptido en crecimiento cuando terminan la traducción. Existen algunas excepciones a esta regla. Por ejemplo, las mitocondrias animales (pero no las vegetales) usan el codón UGA para codificar triptófano en lugar de usarlo como codón de parada (Tabla 4.5), mientras que el género *Mycoplasma* (*Bacteria*) y el género *Paramecium* (*Eukarya*) usan ciertos codones sin sentido para codificar aminoácidos. Estos organismos simplemente tienen menos codones sin sentido porque uno o dos de ellos se usan como codones con sentido (↻ Sección 6.5).

En algunos casos raros, los codones sin sentido codifican aminoácidos inusuales en lugar de uno de los veinte aminoácidos comunes. Estas excepciones son la selenocisteína y la pirrolisina, los aminoácidos codificados genéticamente 21 y 22 (Figura 4.30). Tanto la selenocisteína como la pirrolisina están codificadas por codones de parada (UGA y UAG, respectivamente). Ambos aminoácidos tienen sus propios tRNA que contienen anticodones que leen estos codones de parada. La mayoría de los codones de parada en los organismos que usan la selenocisteína y la pirrolisina indican efectivamente que hay que parar. Sin embargo, ocasionalmente los codones de parada se reconocen como codones de selenocisteína o pirrolisina. Este cambio está controlado por una secuencia de reconocimiento situada justo después del que ahora es un codón codificante. La selenocisteína y la pirrolisina son ambas relativamente raras. La mayoría de los organismos, incluidos los animales y las plantas, tienen pocas proteínas que contengan selenocisteína. La pirrolisina es todavía más rara. Se ha encontrado en ciertas arqueas y bacterias, pero donde primero se descubrió fue en especies de arqueas metanógenas.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué son los codones de inicio y de parada? ¿Por qué es importante que los ribosomas lean «en el marco»?
- ¿Qué es la preferencia de codones?
- ¿Cómo encontraría los ORF en una secuencia de nucleótidos?

4.12 El RNA de transferencia

Un RNA de transferencia lleva el anticodón que se aparea con las bases de un codón del mRNA. Además, cada tRNA es específico para el aminoácido que corresponde con su propio anticodón (es decir, el aminoácido *correspondiente*). El tRNA y su aminoácido específico entran en contacto mediante enzimas concretas llamadas **aminoacil-tRNA-sintetasas**. Para cada aminoácido existe una aminoacil-tRNA-sintetasa exclusiva que se une específicamente al aminoácido y a los tRNA que tienen anticodones correspondientes. Estas enzimas aseguran que cada tRNA recibe su aminoácido correcto, de manera que debe reconocer tanto al tRNA específico como a su aminoácido correspondiente.

Estructura general del tRNA

Existen unos 60 tRNA diferentes en las células bacterianas y unos 100-110 en las células de los mamíferos. Los RNA de transferencia son moléculas cortas y monocatenarias con una desarrollada estructura secundaria y una longitud de entre 73 y 93 nucleótidos. Ciertas bases y estructuras secundarias son constantes para todos los tRNA, mientras otras partes son variables. Las moléculas de RNA de transferencia también contienen algunas bases purínicas y pirimidínicas modificadas químicamente a partir de las bases estándar que se encuentran en el RNA. Estas modificaciones se hacen después de la transcripción. Las bases inusuales son pseudouridina (ψ), inosina, dihidrouridina (D), ribotimidina, metilguanosina, dimetilguanosina y metilinosina. El tRNA maduro y activo también contiene amplias regiones bicatenarias en el interior de la molécula. Esta estructura secundaria se forma por apareamiento interno de las bases cuando la molécula de cadena simple se pliega sobre sí misma (**Figura 4.34**).

La estructura del tRNA se puede dibujar como una hoja de trébol, tal y como aparece en la Figura 4.34*a*. Algunas regiones de la estructura secundaria del tRNA se nombran por las bases modificadas que se encuentran en ellas (por ejemplo, los bucles

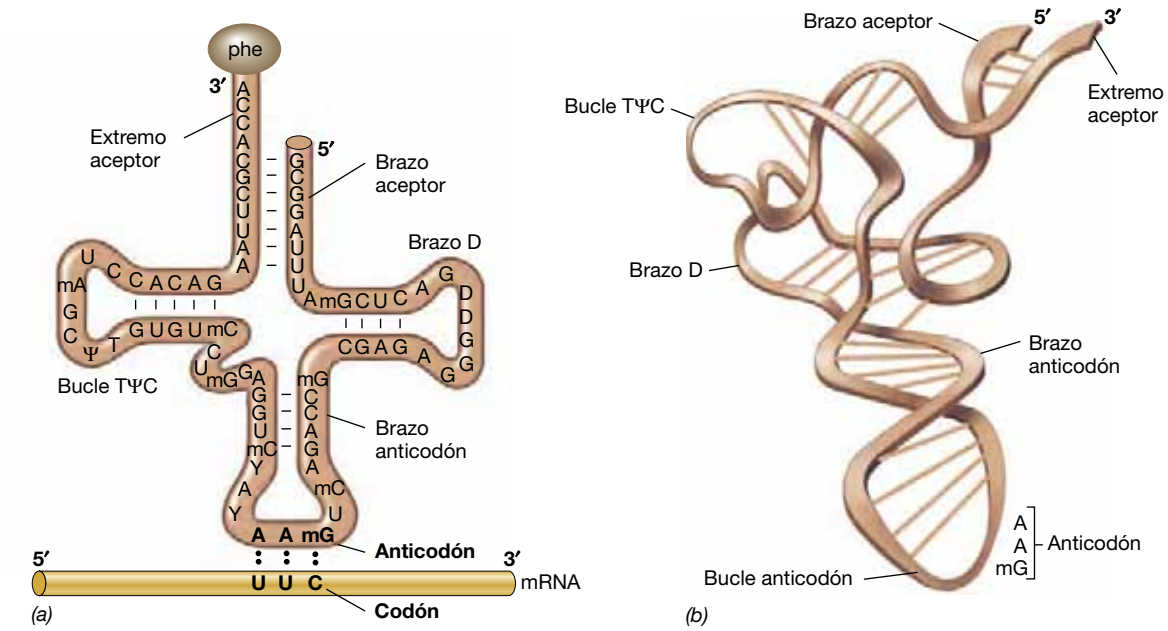


Figura 4.34 **Estructura de un RNA de transferencia.** *(a)* Dibujo de la estructura convencional en hoja de trébol del tRNA de la fenilalanina de levadura. El aminoácido se une a la ribosa de la A terminal del extremo aceptor. A, adenina; C, citosina; U, uracilo; G, guanina; T, timina; ψ, pseudouracilo; D, dihidrouracilo; m, metilo; Y, purina modificada. *(b)* En realidad, la molécula de tRNA se pliega de manera que el brazo D y el TψC están cerca y se asocian por interacciones hidrófobas.

TψC y D) o por sus funciones (por ejemplo el bucle anticodón y el bucle aceptor). En la Figura 4.34*b* se muestra la estructura tridimensional de un tRNA. Obsérvese que las bases que en el modelo de la hoja de trébol están muy separadas, en realidad pueden estar mucho más cerca cuando se ven en tres dimensiones. Esta proximidad permite que algunas de las bases de un bucle se apareen con las bases de otro bucle.

El anticodón y el sitio de unión al aminoácido

Una de las partes variables fundamentales de la molécula de tRNA es el *anticodón*, el grupo de tres bases que reconoce el codón en el mRNA. El anticodón se encuentra en el bucle anticodón (Figura 4.34). Los tres nucleótidos del anticodón reconocen el codón apareándose específicamente con sus tres bases. Por el contrario, otras partes del tRNA interaccionan con el rRNA y las proteínas que conforman el ribosoma, con proteínas de traducción no ribosómicas y con la aminoacil-tRNA-sintetasa.

En el extremo 3′ o brazo aceptor de todos los tRNA hay tres nucleótidos desapareados. La secuencia de estos nucleótidos es siempre citosina-citosina-adenina (CCA), y son absolutamente esenciales para la función del tRNA. Sin embargo curiosamente en la mayoría de los organismos el 3′-CCA no está codificado en el gen del tRNA en el cromosoma: cada nucleótido es añadido individualmente por una proteína llamada *enzima de adición de CCA*, usando CTP y ATP como sustratos. El aminoácido correspondiente se une después covalentemente a la adenosina terminal del extremo CCA del tRNA correspondiente mediante un enlace éster a la ribosa. Como veremos, desde esta ubicación en el tRNA el aminoácido es incorporado a la cadena polipeptídica en crecimiento en el ribosoma mediante un mecanismo que describimos en la siguiente sección.

Reconocimiento, activación y carga de los tRNA

El reconocimiento del tRNA correcto por parte de la aminoacil-tRNA-sintetasa requiere contactos específicos entre regiones clave del tRNA y la sintetasa (**Figura 4.35**). Como se podría esperar a causa de su secuencia única, el anticodón del tRNA es importante para el reconocimiento por la sintetasa. No obstante, hay otros sitios de contacto entre el tRNA y la sintetasa que también son importantes. Los estudios de la unión del tRNA a las aminoacil-tRNA-sintetasas en los que se habían cambiado bases específicas del tRNA demostraron que solo un pequeño número de nucleótidos clave en el tRNA están implicados en el reconocimiento. Estos otros nucleótidos clave para el reconocimiento suelen formar parte del brazo aceptor o del bucle D del tRNA (Figura 4.34). Cabe destacar que la fidelidad de este proceso de reconocimiento es crucial, porque si se une un aminoácido equivocado al tRNA, se insertará en el polipéptido en crecimiento y, probablemente, llevará a la síntesis de una proteína defectuosa.

La reacción específica entre el aminoácido y el tRNA catalizada por la aminoacil-tRNA-sintetasa empieza con la activación del aminoácido mediante una reacción con el ATP:

$$\text{Aminoácido} + \text{ATP} \leftrightarrow \text{aminoacil—AMP} + \text{P—P}$$

El producto intermedio aminoacil-AMP formado, normalmente sigue unido a la tRNA-sintetasa hasta la colisión con la molécula adecuada de tRNA. Entonces, como se muestra en la Figura 4.35*a*, el aminoácido activado se une al tRNA para formar un *tRNA cargado*:

$$\text{Aminoacil—AMP} + \text{tRNA} \leftrightarrow \text{aminoacil—tRNA} + \text{AMP}$$

El pirofosfato (PP_i) formado en la primera reacción es escindido por una pirofosfatasa para dar dos moléculas de fosfato inorgánico. Como en estas reacciones se usa un ATP y se forma

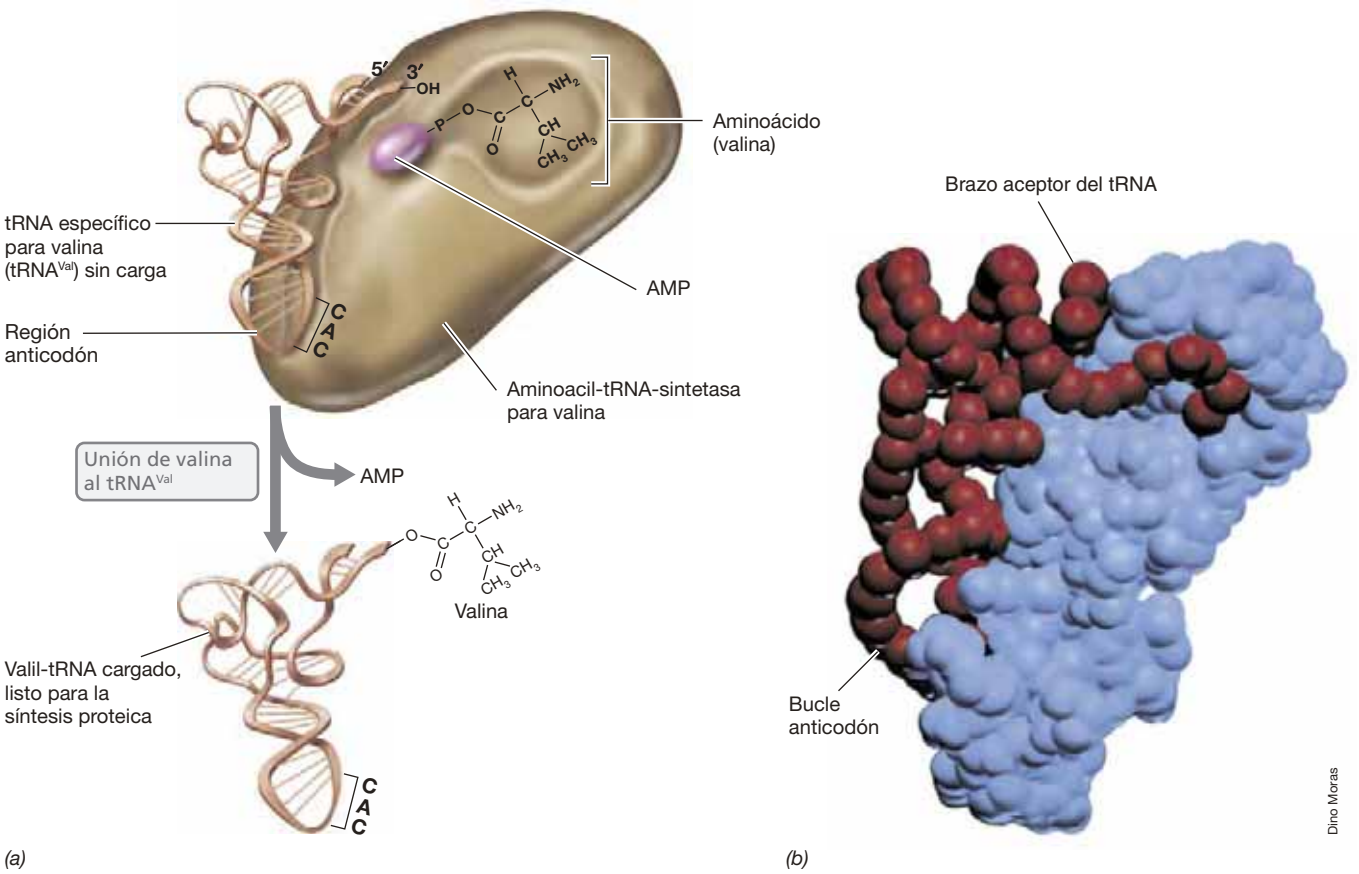


Figura 4.35 **Aminoacil-tRNA-sintetasa.** *(a)* Modo de actuación de una aminoacil-tRNA-sintetasa. El reconocimiento del RNA correcto por parte de una sintetasa concreta requiere contactos entre secuencias específicas del ácido nucleico en el bucle D y el brazo aceptor del RNA y aminoácidos específicos de la sintetasa. En este esquema se muestra la valil-tRNA-sintetasa catalizando la etapa final de la reacción, en la que la valina, en forma de valil-AMP, es transferida al tRNA. *(b)* Modelo computerizado en el que se muestra la interacción de la glutaminil-tRNA-sintetasa (azul) con su tRNA (rojo). Reproducido con permiso de M. Ruff *et al.* 1991. *Science* 252: 1682-1689. © 1991, AAAS.

un AMP, se gasta un total de dos enlaces fosfato de alta energía para cargar un tRNA con su aminoácido correspondiente. Tras la activación y la carga, el aminoacil-tRNA deja la sintetasa y va hasta el ribosoma, donde es unido al polipéptido que se está sintetizando.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cuál es la función del anticodón de un tRNA?
- ¿Cuál es la función del brazo aceptor de un tRNA?

4.13 Síntesis de proteínas

Para el funcionamiento adecuado de las proteínas es vital que los aminoácidos correctos se introduzcan en el sitio apropiado de la cadena polipeptídica. Esta es la función de la maquinaria de síntesis proteica, el ribosoma. Aunque la síntesis de proteínas es un proceso continuo, se puede dividir en etapas: *iniciación*, *elongación* y *terminación*. Además de mRNA, tRNA y ribosomas, el proceso requiere una serie de proteínas designadas factores de iniciación, de elongación y de terminación. El compuesto trifosfato de guanosina (GTP), de alta energía, proporciona la energía necesaria para el proceso.

Ribosomas

Los **ribosomas** son los sitios donde se lleva a cabo la síntesis de proteínas. Una célula puede tener miles de ribosomas, y la cantidad crece a medida que crece la tasa de crecimiento. Cada ribosoma está formado por dos subunidades. Las subunidades de los procariotas son 30S y 50S, que forman ribosomas intactos 70S. Los valores S son *unidades Svedberg*, que se refieren a coeficientes de sedimentación de las subunidades ribosómicas (30S y 50S) o de ribosomas intactos (70S) cuando se someten a centrifugación en una ultracentrífuga. (Aunque las partículas más grandes tienen valores de S mayores, la relación no es lineal, de manera que los valores S no se pueden sumar.)

Cada subunidad ribosómica contiene RNA ribosómicos específicos y proteínas ribosómicas. La subunidad 30S contiene rRNA 16S y 21 proteínas, y la subunidad 50S contiene rRNA 5S y 23S y 31 proteínas. Así, en *Escherichia coli* hay 52 proteínas ribosómicas diferentes, la mayoría de ellas presentes en una sola copia por ribosoma. El ribosoma es una estructura dinámica cuyas subunidades se asocian y disocian alternadamente y también interaccionan con otras muchas proteínas. Varias proteínas que son esenciales para la actividad ribosómica interaccionan con el ribosoma en varias etapas de la traducción; se las considera «factores de traducción» en lugar de «proteínas ribosómicas» en sí.

Iniciación de la traducción

En las bacterias, como *E. coli*, la iniciación de la síntesis de proteínas empieza con una subunidad ribosómica 30S libre (Figura 4.36). A partir de ella se forma un complejo de iniciación que consiste en la subunidad 30S, mRNA, el tRNA de la formilmetionina y varias proteínas de iniciación, llamadas IF1, IF2 e IF3. El GTP también es necesario en esta etapa. A continuación se añade una subunidad 50S al complejo de iniciación para

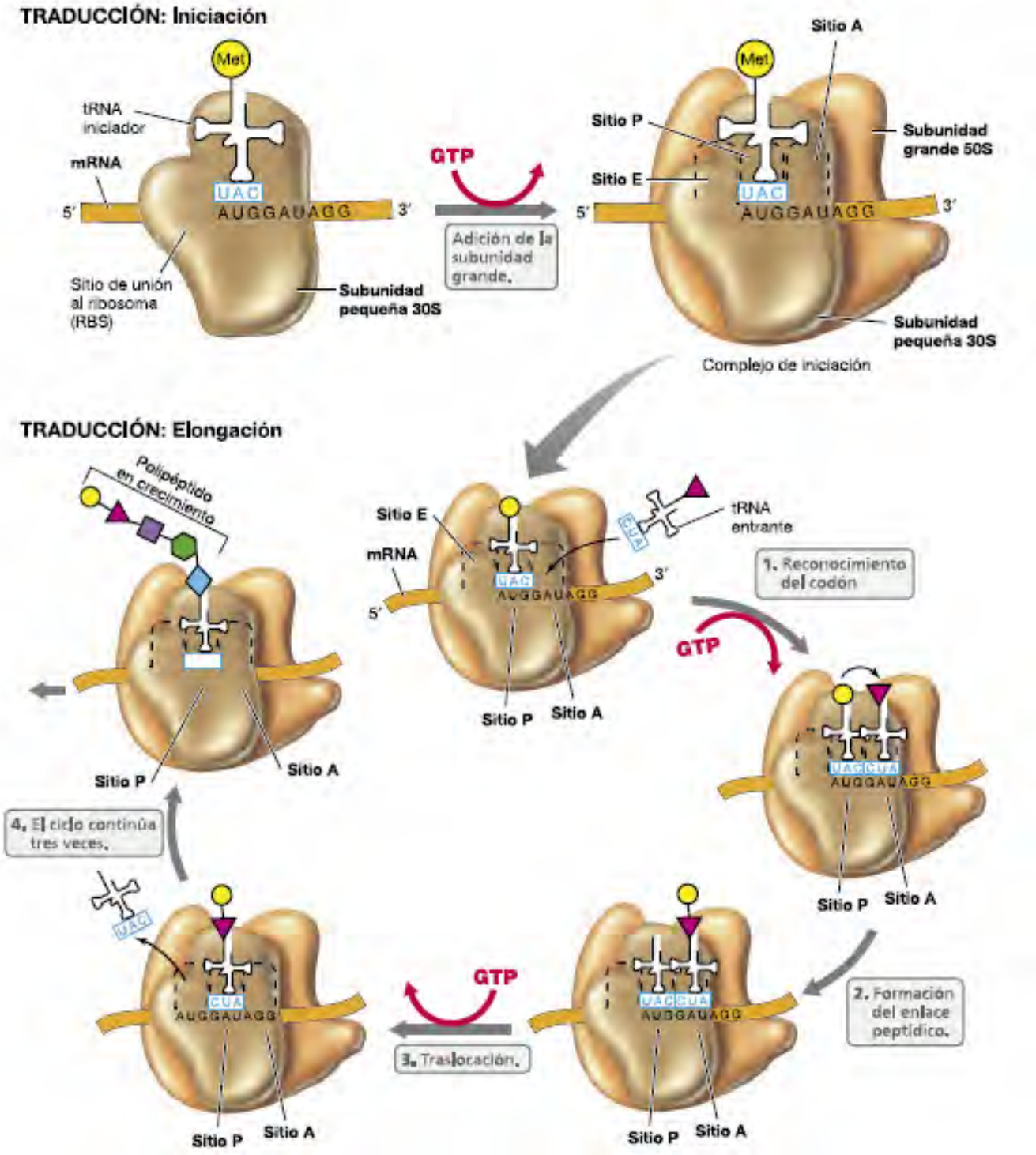


Figura 4.36 **El ribosoma y la síntesis de proteínas.** *Iniciación* de la síntesis de proteínas. El mRNA y el tRNA iniciador, que transporta *N*-formilmetionina («Met»), se unen primero a la subunidad pequeña del ribosoma. Los factores de iniciación (que no se muestran) usan energía del GTP para impulsar la adición de la subunidad ribosómica grande. El tRNA iniciador empieza en el sitio P. Ciclo de *elongación* de la traducción. 1. Los factores de elongación (que no se muestran) usan GTP para instalar el tRNA entrante en el sitio A. 2. La formación del enlace peptídico es catalizada por el rRNA 23S. 3. La traslocación del ribosoma a lo largo del mRNA de un codón al siguiente requiere la hidrólisis de otro GTP. El tRNA saliente es liberado del sitio E. 4. El siguiente tRNA cargado se une al sitio A y el ciclo se repite. El código genético, expresado en el lenguaje del mRNA, se muestra en la Tabla 4.5.

formar el ribosoma activo 70S. Al final del proceso de traducción, el ribosoma se separa de nuevo en sus subunidades 30S y 50S.

Justo antes del codón de inicio, en el mRNA hay una secuencia de entre tres y nueve nucleótidos llamada sitio de unión al ribosoma (RBS en la Figura 4.36) que ayuda al mRNA a unirse al ribosoma. Este sitio de unión al ribosoma se encuentra hacia el extremo 5′ del mRNA, y tiene una secuencia de bases complementaria en el extremo 3′ del rRNA 16S. El apareamiento de las bases entre estas dos moléculas mantiene el complejo ribosoma-mRNA firmemente unido en el marco de lectura correcto. El mRNA policistrónico tiene múltiples secuencias RBS, una antes de cada secuencia codificante. Esto permite a los ribosomas bacterianos traducir varios genes en el mismo mRNA, porque el ribosoma puede encontrar cada sitio de iniciación uniéndose a su RBS.

La iniciación de la traducción empieza siempre con un aminoacil-tRNA especial de iniciación que se une al codón de inicio, AUG. En *Bacteria* se trata del formilmetionil-tRNA. Cuando el polipéptido está completo, el grupo formilo se elimina. Por tanto, el aminoácido *N*-terminal de la proteína terminada será metionina. No obstante, en muchas proteínas esta metionina es eliminada por una proteasa específica.

Elongación, traslocación y terminación

El mRNA se carga en el ribosoma principalmente unido a la subunidad 30S. Además, el ribosoma contiene otros sitios en los que interaccionan los tRNA. Dos de estos sitios están situados en la subunidad 50S, y se llaman sitio A y sitio P (Figura 4.36). El sitio A, el sitio aceptor, es el sitio en el ribosoma al que se une primero el tRNA cargado. Para cargar un tRNA en el sitio A es necesaria la intervención del factor de elongación EF-Tu.

El sitio P, o sitio peptídico, es el lugar en el que la cadena peptídica en crecimiento está sujeta por el tRNA anterior. Durante la formación del enlace peptídico, la cadena polipeptídica en crecimiento se desplaza al tRNA del sitio A a medida que se forma el nuevo enlace peptídico. Para la elongación son necesarias algunas proteínas no ribosómicas, especialmente los factores de elongación EF-Tu y EF-Ts, así como más GTP (para simplificar la Figura 4.36 se han omitido los factores de elongación y solo se muestra un fragmento del ribosoma).

Tras la elongación, el tRNA que sujeta el polipéptido es traslocado (movido) del sitio A al sitio P, de manera que el sitio A queda libre para otro tRNA cargado (Figura 4.36). La traslocación requiere la presencia del factor de elongación EF-G y una molécula de GTP por cada proceso de traslocación. En cada etapa de traslocación, el ribosoma avanza tres nucleótidos y expone un nuevo codón al sitio A. La traslocación empuja el tRNA ahora vacío a un tercer sitio, llamado sitio E, que es el sitio de salida desde donde el tRNA es liberado del ribosoma. Como cabe esperar, la precisión de la etapa de traslocación es crítica para que la síntesis de la proteína sea correcta. El ribosoma debe moverse *exactamente* un codón en cada etapa. Aunque parezca que el mRNA se mueva a través del complejo ribosómico, en realidad es el ribosoma el que se desplaza por el mRNA. Por tanto, los tres sitios del ribosoma que se muestran en la Figura 4.36 no son estáticos, sino partes en movimiento en la maquinaria biomolecular.

Varios ribosomas pueden traducir una sola molécula de mRNA simultáneamente formando un complejo llamado *polisoma* (**Figura 4.37**). Los polisomas aumentan la velocidad y la eficiencia de la traducción simultáneamente, porque cada ribosoma de un polisoma sintetiza un polipéptido completo. Obsérvese en la Figura 4.37 que los ribosomas del polisoma que están más cerca del extremo 5′ (el principio) de la molécula de mRNA tienen polipéptidos cortos unidos, porque solo se han leído unos pocos codones, mientras que los ribosomas más cercanos al extremo 3′ del mRNA tienen polipéptidos casi completos.

La síntesis de proteínas termina cuando el ribosoma alcanza el codón de parada (codón sin sentido). Ningún tRNA se une a un codón sin sentido. En cambio, unas proteínas específicas llamadas *factores de liberación* (RF) reconocen el codón, cortan el polipéptido unido del tRNA final y liberan el producto terminado. A continuación, las subunidades ribosómicas se disocian y las 30S y 50S vuelven a ser libres para formar un nuevo complejo de iniciación y repetir el proceso.

Función del RNA ribosómico en la síntesis de proteínas

El RNA ribosómico desempeña funciones esenciales en todas las etapas de la síntesis proteica, desde la iniciación hasta la terminación. En cambio, el papel de las proteínas ribosómicas es formar una estructura para situar las secuencias clave en los RNA ribosómicos.

En las bacterias, está claro que el rRNA 16S participa en la iniciación mediante el apareamiento de sus bases con el RBS del mRNA. Durante la elongación también se producen otras interacciones mRNA-rRNA. A cada lado de los codones en los

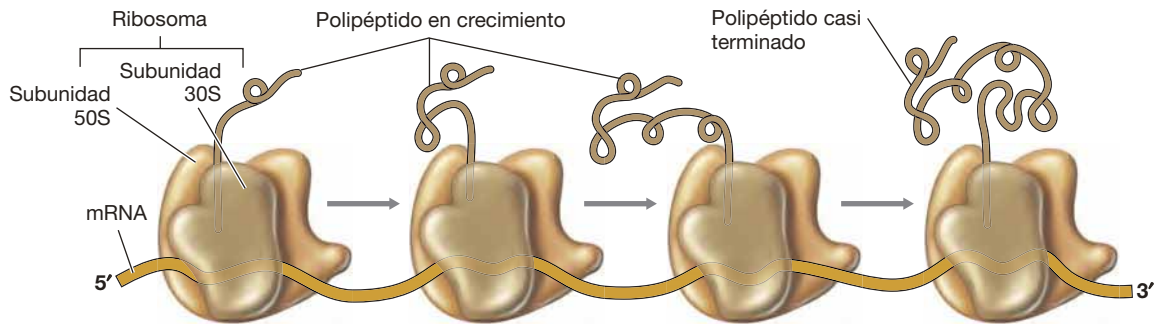


Figura 4.37 **Polisomas.** La traducción de un solo RNA mensajero por varios ribosomas forma un polisoma. Obsérvese que los ribosomas más cercanos al extremo 5′ del mensaje están en una etapa más temprana del proceso de traducción que los ribosomas más cercanos al extremo 3′ y, por tanto, solo han sintetizado un fragmento pequeño del polipéptido final.

sitios A y P, el mRNA se mantiene en su posición porque se une al rRNA 16S y a las proteínas ribosómicas. El RNA ribosómico también tiene un papel importante en la asociación de las subunidades ribosómicas, así como en posicionar el tRNA en los sitios A y P en el ribosoma (Figura 4.36). Aunque los tRNA cargados que entran en el ribosoma reconocen el codón correcto por el apareamiento de bases codón-anticodón, también están unidos al ribosoma por interacciones de la estructura brazo-bucle anticodón del tRNA con secuencias específicas del rRNA 16S. Además, el extremo aceptor del tRNA (Figura 4.36) se aparea con secuencias del rRNA 23S.

Adicionalmente, la formación real de enlaces peptídicos está catalizada por rRNA. La actividad peptidil-transferasa tiene lugar en la subunidad 50S del ribosoma, y está catalizada por el propio rRNA 23S, y no por una proteína ribosómica. El rRNA 23S también actúa en la traslocación, y las proteínas EF interaccionan específicamente con él. Así pues, además de su función como esqueleto estructural del ribosoma, el RNA ribosómico tiene un papel catalítico importante en el proceso de traducción.

Liberación de ribosomas atrapados

Un mRNA defectuoso que carezca de codón de parada causa un problema en la traducción. Este defecto puede provenir, por ejemplo, de una mutación que elimine el codón de parada, de la síntesis defectuosa del mRNA o de la degradación parcial del mRNA antes de su traducción. Si un ribosoma llega al extremo de una molécula de mRNA y no encuentra un codón de parada, el factor de liberación no puede unirse y el ribosoma no puede liberarse del mRNA, así que se encuentra «atrapado».

Las células bacterianas contienen una pequeña molécula de RNA llamada *tmRNA* que ligera los ribosomas atrapados (**Figura 4.38**). Las letras «tm» del nombre se refiere a su parecido con el tRNA y con el mRNA; transporta el aminoácido alanina, como el primero y contiene un fragmento corto de RNA que se puede traducir, como el segundo. Cuando el tmRNA choca con un ribosoma estancado se une al mRNA defectuoso, de manera que puede proseguir la síntesis proteica, primero añadiendo alanina al tmRNA y después traduciendo el mensaje corto del tmRNA. El tmRNA contiene un codón de parada que permite que se una el factor de liberación y desensamble el ribosoma. La proteína resultante de la operación de rescate es defectuosa y a continuación es degradada. Esto se cumple porque se añade una secuencia corta de aminoácidos codificados por el tmRNA a la proteína defectuosa; esta secuencia es una señal para una proteasa específica, que degrada a proteína. Así, gracias a la actividad de los tmRNA, los ribosomas encallados no se inactivan, sino que son liberados para participar de nuevo en la síntesis proteica.

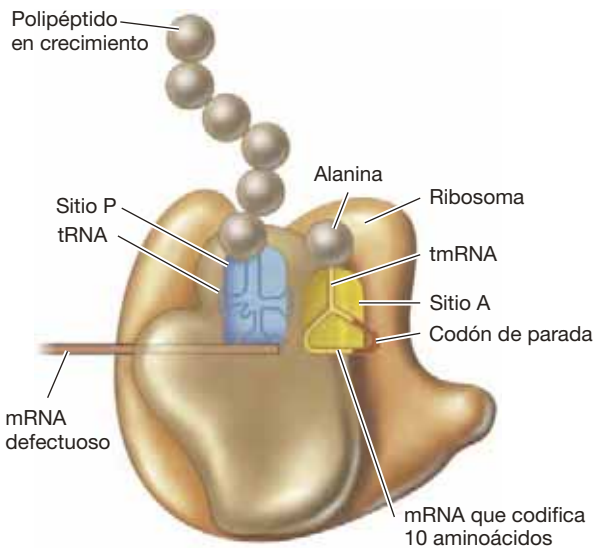


Figura 4.38 Liberación por un tmRNA de un ribosoma atascado. Un mRNA defectuoso que carece de codón de parada detiene el funcionamiento de un ribosoma que tiene un polipéptido parcialmente sintetizado unido a un tRNA (azul) en el sitio P. La unión del tmRNA (amarillo) al sitio A libera el polipéptido. Después, la traducción continúa hasta el codón de parada proporcionado por el tmRNA.

MINIRREVISIÓN

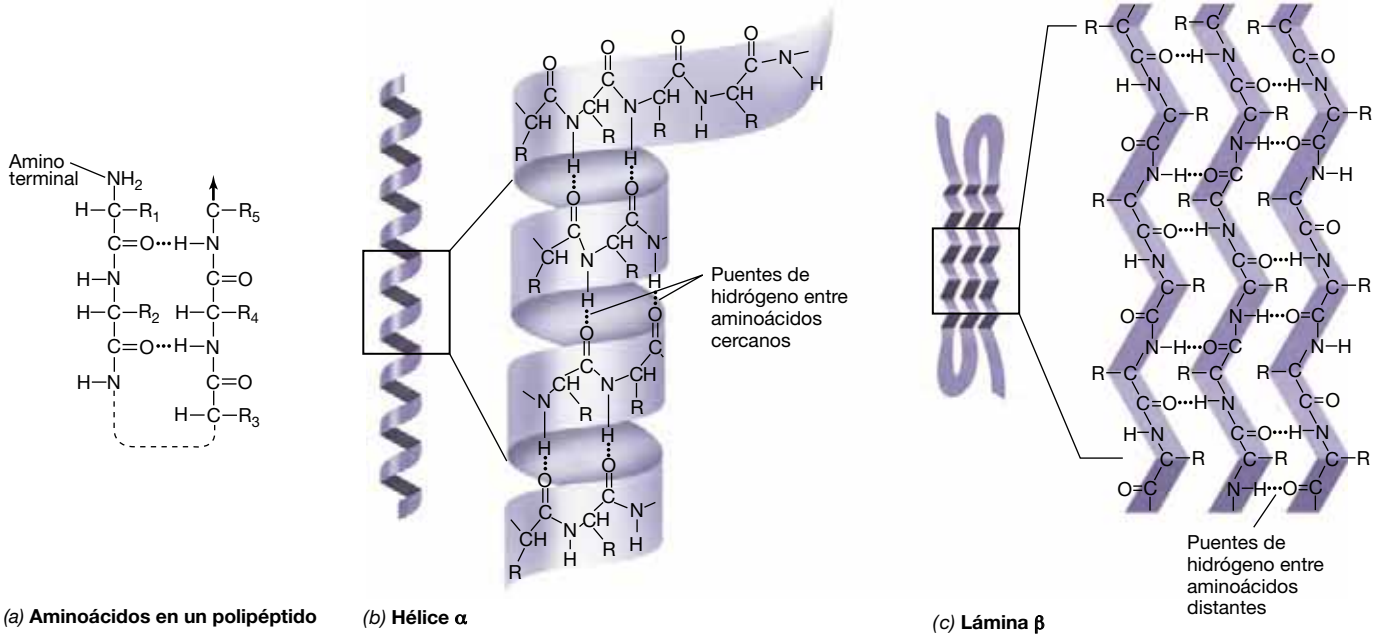
- ¿Cuáles son los componentes de un ribosoma? ¿Qué papel funcional ejerce el rRNA en la síntesis de proteínas?
- ¿Cómo se libera del ribosoma un polipéptido completo?
- ¿Cómo libera ribosomas atrapados el tmRNA?

4.14 Plegamiento y secreción de las proteínas

Para que una proteína funcione correctamente debe plegarse adecuadamente después de su síntesis, y situarse en su ubicación correcta en la célula. En el interior de la célula hay muchas proteínas, pero otras deben ser transportadas fuera de la membrana plasmática, al periplasma o a las superficies interna o externa de la membrana para facilitar procesos como el transporte de iones, de azúcar o de electrones. Otras proteínas, como las toxinas y las enzimas extracelulares (exoenzimas) deben secretarse por completo para ser activas en el ambiente. ¿Cómo determina una célula la conformación y ubicación finales de las proteínas? Estudiaremos este asunto a continuación.

Niveles de estructura de las proteínas

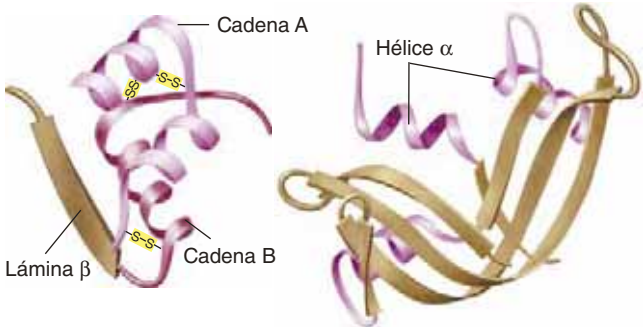
Una vez formado, un polipéptido no se queda como una molécula lineal, sino que se pliega para convertirse en una estructura más estable. Los puentes de hidrógeno, entre los átomos de oxígeno y de nitrógeno de dos enlaces peptídicos, generan la *estructura secundaria* (**Figura 4.39*a***). Un tipo habitual de estructura secundaria es la *hélice* α. Para visualizar una hélice α, imagínese un polipéptido lineal enrollado alrededor de un cilindro (Figura 4.39*b*). De esta manera, los enlaces peptídicos se sitúan lo bastante cerca como para permitir los puentes de hidrógeno. El gran número de estos enlaces que se forman da a la hélice α su estabilidad inherente. En la estructura secundaria de la *lámina* β, el polipéptido se pliega una y otra vez sobre sí mismo en lugar de formar una hélice. No obstante, como en la hélice α, el plegamiento en una lámina β sitúa los enlaces peptídicos de manera que pueden realizar puentes de hidrógeno (Figura 4.39*c*). Los polipéptidos pueden contener regiones con estructura secundaria de hélice α o de lámina β; el tipo de plegamiento y su ubicación en la molécula están determinados por la estructura primaria y por las oportunidades disponibles para la creación de puentes de hidrógeno.



(a) **Aminoácidos en un polipéptido** *(b)* **Hélice α** *(c)* **Lámina β**

Figura 4.39 **Estructura secundaria de los polipéptidos.** *(a)* Puentes de hidrógeno en la estructura secundaria de las proteínas. R representa la cadena lateral del aminoácido. *(b)* Estructura secundaria en hélice α. *(c)* Estructura secundaria en lámina β. Obsérvese que los puentes de hidrógeno se forman entre átomos de los enlaces peptídicos sin intervención de los grupos R.

Las interacciones entre los grupos R de los aminoácidos en un polipéptido generan dos niveles más de estructura. La **estructura terciaria** depende en gran parte de las interacciones hidrófobas, con una contribución menor de los puentes de hidrógeno, los enlaces iónicos y los puentes disulfuro. El plegamiento de la estructura terciaria genera la forma tridimensional general de la cadena polipeptídica (**Figura 4.40**). Muchas proteínas están formadas por dos o más cadenas polipeptídicas. La **estructura cuaternaria** se refiere a la cantidad y tipo de polipéptidos que conforman la proteína final. En proteínas con estructura cuaternaria, se dice que cada polipéptido es una *subunidad* y tiene su propia estructura primaria, secundaria y terciaria. Tanto la estructura terciaria como la cuaternaria pueden estabilizarse por puentes disulfuro entre grupos sulfhidrilos adyacentes de residuos de cisteína (Figura 4.40). Si dos residuos de cisteína están situados en polipéptidos diferentes, el puente disulfuro une covalentemente las dos moléculas. Alternativamente, una sola cadena polipeptídica puede plegarse y enlazarse a sí misma si se forma un puente disulfuro interno en la molécula.



(a) **Insulina** *(b)* **Ribonucleasa**

Figura 4.40 **Estructura terciaria de los polipéptidos.** *(a)* Insulina, proteína formada por dos cadenas polipeptídicas; obsérvese que la cadena B tiene estructura secundaria tanto en hélices α como en lámina β, y que los enlaces disulfuro (S–S) ayudan a determinar los patrones de plegamiento (estructura terciaria). *(b)* Ribonucleasa, una proteína grande con varias regiones de estructura secundaria en hélice α y lámina β.

Cuando las proteínas están expuestas a condiciones extremas de temperatura o pH o a determinadas sustancias que afectan a su plegamiento, puede producirse su **desnaturalización**, que causa el desplegamiento de la cadena polipeptídica. Cuando esto ocurre, se destruyen las estructuras secundaria, terciaria y cuaternaria, junto con sus propiedades biológicas. No obstante, los enlaces peptídicos no se rompen, de manera que el polipéptido desnaturalizado mantiene su estructura primaria. Según la gravedad de las condiciones desnaturalizantes, el polipéptido puede volver a plegarse correctamente cuando dichas condiciones se eliminan. Pero si el nuevo plegamiento no es correcto, la proteína no podrá funcionar.

Las chaperoninas ayudan en el plegamiento de las proteínas

La mayoría de los polipéptidos se pliegan espontáneamente en su forma activa cuando están siendo sintetizados. Sin embargo, no todos lo hacen y algunos necesitan la intervención de unas proteínas llamadas **chaperoninas** (también conocidas como **chaperonas moleculares**) para plegarse correctamente o ensamblarse en complejos mayores. Las propias chaperoninas no forman parte del ensamblaje; únicamente facilitan el plegamiento. De hecho, una importante función de estas proteínas es impedir la agregación incorrecta de proteínas. Las chaperoninas están muy extendidas en todos los dominios de la vida, y sus secuencias están muy conservadas entre todos los organismos.

Cuatro chaperoninas clave en *Escherichia coli* son las proteínas DnaK, DnaJ, GroEL y GroES. Las chaperoninas DnaK y DnaJ son enzimas dependientes de ATP que se unen a polipéptidos recién formados y les impiden plegarse demasiado rápido, lo que aumentaría el riesgo de plegamiento incorrecto (**Figura 4.41**). Si el complejo DnaKJ no puede plegarla correctamente, puede transferir la proteína parcialmente plegada a las dos proteínas multisubunidades GroEL y GroES. Primero la proteína pasa a GroEL, una proteína grande con forma de barril que utiliza la energía de la hidrólisis de ATP para plegar la proteína correctamente. GroES participa en esto (Figura 4.41). Se estima que unas cien proteínas más o menos de los varios miles que tiene *E. coli* necesitan ayuda del complejo GroEL-GroES para plegarse, y de ellas, aproximadamente una docena son esenciales para la supervivencia de la bacteria.

Además de plegar proteínas recién sintetizadas, las chaperoninas también pueden volver a plegar proteínas que han sido parcialmente desnaturalizadas en la célula. Una proteína puede desnaturalizarse por muchas razones, pero a menudo es porque el organismo ha estado sometido temporalmente a altas temperaturas. Las chaperoninas son, pues, un tipo de *proteínas de choque térmico*, y su síntesis se acelera notablemente cuando una célula experimenta estrés por un exceso de calor (↻ Sección 7.10). La respuesta al choque térmico es un intento de la célula por volver a plegar sus proteínas parcialmente desnaturalizadas para reutilizarlas antes de que las proteasas las detecten como incorrectamente plegadas y las destruyan para liberar sus aminoácidos para la síntesis de nuevas proteínas.

Secreción de proteínas

Muchas proteínas están localizadas en la membrana citoplasmática, en el periplasma (de las células gramnegativas) o incluso en el exterior de la célula. Estas proteínas tienen que llegar desde su sitio de síntesis en los ribosomas hasta la membrana citoplasmática o más allá. Las proteínas *traslocasas* transportan proteínas específicas a las membranas procarióticas y a través de ellas. Por ejemplo, el sistema Sec exporta proteínas desplegadas e inserta proteínas integrales de membrana en la membrana citoplasmática, mientras que el sistema Tat transporta a través de la membrana proteínas plegadas en el citoplasma. Para secretar proteínas completamente fuera de la célula, las gramnegativas tienen que utilizar traslocasas adicionales que atraviesen la membrana externa. Se han identificado al menos seis tipos distintos de sistemas de secreción, algunos de los cuales son utilizados por bacterias patógenas para excretar toxinas o proteínas perjudiciales al interior del hospedador durante la infección.

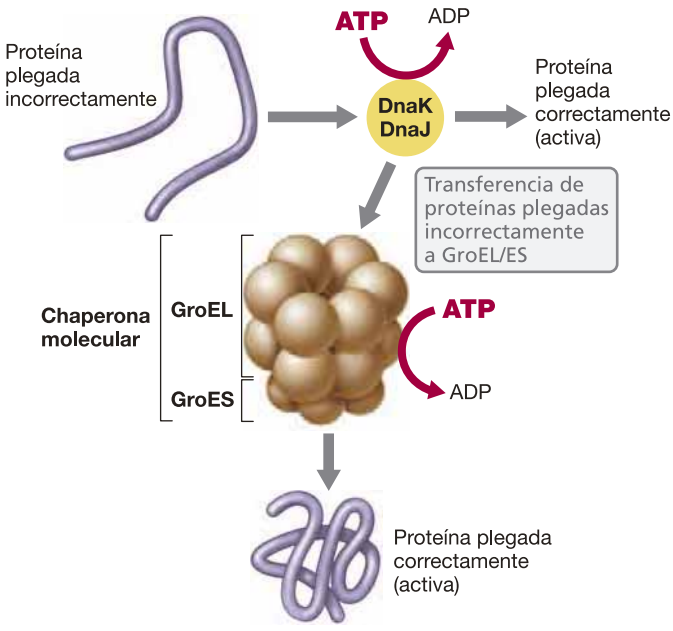


Figura 4.41 Actividad de las chaperonas moleculares. Una proteína plegada incorrectamente puede volver a plegarse con la asistencia del complejo DnaKJ o del complejo GroEL-GroES. En ambos casos, la energía para el plegamiento procede del ATP.

La mayoría de las proteínas que deben ser transportadas a las membranas o que deben atravesarlas se sintetizan con una secuencia de aminoácidos de unos 15 a 20 residuos, llamada **secuencia señal,** al principio (extremo N-terminal, Figura 4.31) de la molécula. Las secuencias señal son variables, pero normalmente contienen unos pocos aminoácidos cargados positivamente al principio, una región central hidrófoba y después una región más polar en el extremo. La secuencia señal se llama así porque «señala» al sistema secretor de la célula que esta proteína en concreto debe ser exportada, y también ayuda a impedir que la proteína se pliegue completamente, un proceso que podría interferir con la secreción. Como la secuencia señal es la primera parte de la proteína en sintetizarse, los primeros pasos de su exportación pueden empezar antes de que la proteína esté sintetizada completamente (**Figura 4.42**).

Las proteínas que van a ser exportadas son reconocidas por la *proteína SecA* o por la *partícula de reconocimiento de la señal (SRP)* (Figura 4.42). Normalmente SecA se une a proteínas que se van a exportar al periplasma, mientras que la SRP se une a proteínas destinadas a insertarse en la membrana pero que no se liberan al otro lado. En todas las células se encuentran SRP. En las bacterias están formadas por una sola proteína y una molécula de RNA no codificante (RNA 4.5S). Tanto SecA como las SRP envían las proteínas al complejo de secreción de la membrana, y tras atravesar la membrana (un proceso mediado por Sec) o insertarse en ella (con mediación de SRP), una proteasa elimina la secuencia señal.

Las proteínas que son enviadas a través de la membrana citoplasmática en estado desplegado por el sistema Sec se pliegan a continuación (Figura 4.42). No obstante, hay unas pocas proteínas, como las necesarias para el metabolismo energético, que actúan en el periplasma, por ejemplo las proteínas de hierro y azufre y otras varias proteínas que intervienen en las reacciones redox (↻ Sección 3.10), que deben ser transportadas al exterior de la célula ya plegadas. Normalmente es porque contienen pequeños cofactores que tienen que insertarse en la proteína a medida que se pliega. Estas proteínas se pliegan en el citoplasma y después se exportan mediante un sistema de transporte distinto de Sec, llamado *sistema de exportación de proteínas Tat*. El acrónimo Tat procede del término inglés «*twin arginine translocase*», que significa traslocasa de argininas gemelas, porque las proteínas traslocadas contienen una secuencia señal corta que contiene un par de argininas. Esta secuencia señal en una proteína plegada es reconocida por las proteínas TatBC, que la transportan hasta TatA, el transportador de membrana. Una vez transportada al periplasma mediante energía suministrada por la fuerza protonmotriz (↻ Sección 3.11), una proteasa elimina la secuencia señal.

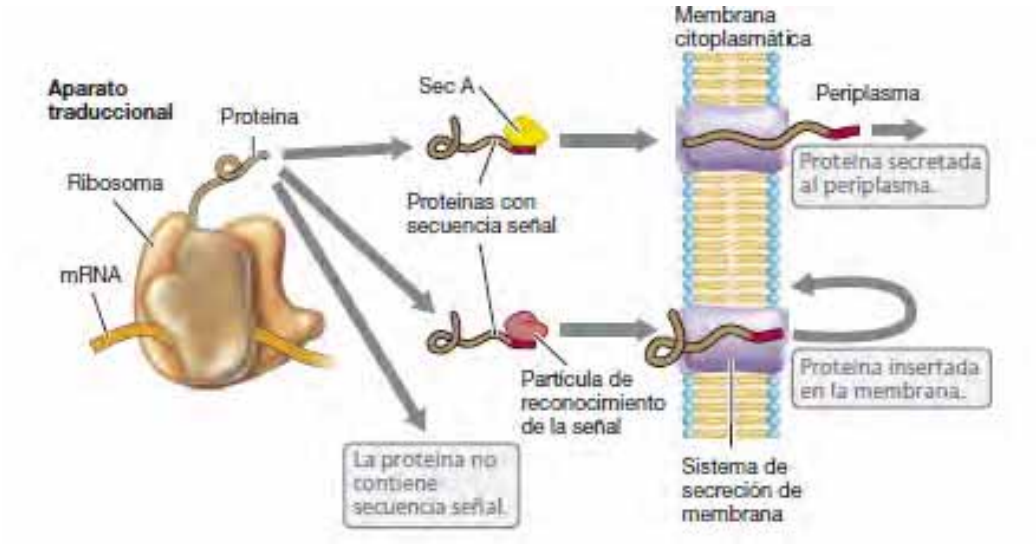


Figura 4.42 **Exportación de proteínas a través del sistema principal de secreción.** La secuencia señal es reconocida por SecA o por la partícula de reconocimiento de señal, que transportan la proteína al sistema de secreción de membrana. La partícula de reconocimiento de señal se une a proteínas que se insertan en la membrana, mientras que SecA se une a las proteínas que son secretadas a través de la membrana citoplasmática.

Sistemas de secreción de tipos I a VI

Las bacterias gramnegativas utilizan varios sistemas adicionales para enviar proteínas a la membrana externa o más allá, al exterior de la célula. Estos mecanismos son los sistemas de secreción de tipos I a VI. Cada uno de ellos está compuesto por un gran complejo de proteínas que forman un canal a través de una o más membranas para que la molécula secretada pase (**Figura 4.43**).

Estos sistemas diversos se pueden agrupar en tipos de uno o dos pasos. Los sistemas de tipo II y V se consideran mecanismos en dos pasos porque dependen del sistema Sec o del Tat para transportar la proteína secretada o una porción del canal a través de la membrana interna. Un segundo grupo de transportadores mueven las proteínas a través de la membrana externa. Los tipos I, III, IV y VI son sistemas de un solo paso porque forman canales a través de ambas membranas y no necesitan a Sec ni a Tat.

Para inyectar proteínas que son toxinas en las células del hospedador, los sistemas de secreción de los tipos III, IV y VI también incluyen estructuras en el exterior de la célula que permiten la inyección o la inserción de las proteínas secretadas en otra célula. La estructura completa del tipo III se ha denominado «inyectisoma», por su parecido con una jeringa tanto en estructura como en funcionamiento (Figura 4.43).

MINIRREVISIÓN

- Defina los términos estructura primaria, secundaria, terciaria y cuaternaria con respecto a las proteínas. ¿En qué se diferencia un polipéptido de una proteína?
- ¿Qué hace una chaperona molecular?
- ¿Por qué algunas proteínas tienen una secuencia señal? ¿Qué es una partícula de reconocimiento de señal?
- ¿Por qué es importante para las bacterias gramnegativas tener rutas de secreción adicionales?

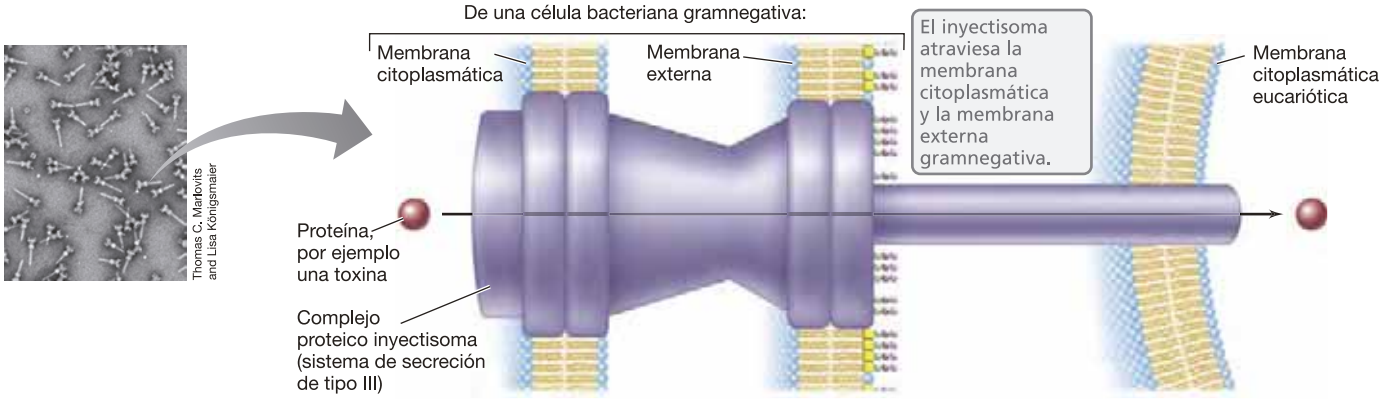


Figura 4.43 **Secreción de moléculas de las bacterias gramnegativas usando el sistema «inyectisoma» de tipo III.** Complejo proteínico que constituye el inyectisoma. Inserción: Micrografía electrónica de inyectisomas purificados de *Salmonella enterica* serovar Typhimurium.

IDEAS PRINCIPALES

4.1 • La información contenida en un ácido nucleico está determinada por la secuencia de bases nitrogenadas a lo largo de la cadena polinucleotídica. Tanto el RNA como el DNA son macromoléculas de información, al igual que las proteínas que codifican. Los tres procesos fundamentales de síntesis macromolecular son: 1) replicación del DNA; 2) transcripción (síntesis de RNA); y 3) traducción (síntesis de proteínas).

4.2 • El DNA es una molécula bicatenaria que forma una hélice. Las dos cadenas de la doble hélice son complementarias y antiparalelas. Moléculas de DNA muy largas se pueden empaquetar en las células porque son superenrolladas por enzimas llamadas topoisomerasas, como la DNA-girasa.

4.3 • Además del cromosoma hay otros elementos genéticos en las células. Los plásmidos son moléculas de DNA que existen independientes del cromosoma y pueden conferir una ventaja de crecimiento selectivo en ciertas condiciones. Los virus contienen un genoma de DNA o de RNA, y los elementos trasponibles existen como parte de otros elementos genéticos. *Escherichia coli* es el principal organismo modelo en biología.

4.4 • Las dos cadenas de la hélice de DNA son moldes para la síntesis de nuevas cadenas (replicación semiconservativa). Las nuevas cadenas son elongadas por adición de desxirribonucleótidos al extremo 3′. Las DNA-polimerasas requieren un cebador hecho de RNA por la enzima primasa.

4.5 • La síntesis de DNA empieza en un sitio llamado origen de replicación. La helicasa desenrolla la doble hélice y las proteínas de unión a cadena sencilla la estabilizan. La extensión del DNA se realiza de manera continua en la cadena avanzada pero discontinua en la cadena retrasada, en la que se sintetizan los fragmentos de Okazaki que, posteriormente, deben unirse.

4.6 • Empezando desde un solo origen en un cromosoma circular, dos horquillas de replicación sintetizan simultáneamente el DNA en ambos sentidos hasta que se encuentran en la región terminal. Las proteínas de la horquilla de replicación forman un gran complejo conocido como replisoma. La mayoría de los errores en el apareamiento de bases que se producen durante la replicación son corregidos por las funciones de corrección de errores de las DNA-polimerasas.

4.7 • En las bacterias, los promotores son reconocidos por la subunidad sigma de la RNA-polimerasa. Factores sigma alternativos permiten la regulación conjunta de grandes familias de genes en respuesta a las condiciones de crecimiento. La RNA-polimerasa sigue la transcripción hasta que encuentra sitios específicos llamados terminadores de la transcripción. Estos terminadores funcionan a nivel del RNA.

4.8 • La unidad de transcripción en los procariotas suele contener más de un solo gen, y se transcribe en una sola molécula de mRNA que contiene información para más de un polipéptido. Un grupo de genes que se transcriben a la vez a partir de un solo promotor constituyen un operón.

4.9 • El aparato de transcripción y la arquitectura del promotor en arqueas y eucariotas tienen muchas características en común, aunque los componentes suelen ser relativamente más simples en las arqueas. En cambio, el procesamiento de los transcritos primarios eucarióticos es exclusivo y tiene tres etapas: corte y empalme, adición de caperuza y adición de cola poli(A).

4.10 • Las cadenas polipeptídicas contienen veintidós aminoácidos diferentes codificados genéticamente que se unen mediante enlaces peptídicos. La estructura primaria de una proteína es su secuencia de aminoácidos, pero la estructura de orden superior del polipéptido (plegamiento) determina su función en la célula.

4.11 • El código genético se expresa en forma de RNA, y un solo aminoácido puede estar codificado por varios codones diferentes pero relacionados. Además de los codones de parada (sin sentido), también hay un codón específico de inicio que marca la iniciación de la traducción.

4.12 • Las enzimas llamadas aminoacil-tRNA-sintetasas unen los aminoácidos a sus tRNA correspondientes. Existe uno o más tRNA para cada aminoácido que los ribosomas deben incorporar en los polipéptidos.

4.13 • La traducción se realiza en el ribosoma y requiere mRNA y aminoacil-tRNA. El ribosoma tiene tres sitios: aceptor, péptido y salida. Durante cada paso de la traducción, el ribosoma avanza un codón en el mRNA, y el tRNA que está en el sitio del aceptor se mueve al sitio del péptido. La síntesis de proteínas termina cuando se alcanza un codón de parada, que no tiene un tRNA correspondiente.

4.14 • Las proteínas deben plegarse correctamente para funcionar bien, y las chaperonas moleculares las asisten en este proceso. Muchas proteínas necesitan también ser transportadas a la membrana citoplasmática o atravesarla. Estas proteínas contienen una secuencia señal que es reconocida por las traslocasas celulares. Las bacterias gramnegativas utilizan sistemas de secreción adicionales para secretar proteínas a la membrana externa o a través de ella.

MasteringMicrobiology®

Revise lo que sabe y descubra lo que ha aprendido con MasteringMicrobiology. Acceda a material de estudio, revisiones de los capítulos, animaciones y tutoriales de microbiología práctica en el Área de Estudio y asegúrese de que ha asimilado todo el contenido de este capítulo.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Ácido nucleico: DNA o RNA.
Aminoácido: uno de los veintidós monómeros diferentes que forman las proteínas; químicamente es un ácido carboxílico de dos carbonos que contiene un grupo amino y un sustituyente característico en el carbono alfa.
Aminoacil-tRNA-sintetasa: enzima que cataliza la unión de un aminoácido a su tRNA correspondiente.
Anticodón: secuencia de tres bases en una molécula de tRNA que se aparea con un codón durante la síntesis de proteínas.
Antiparalelo: en referencia al DNA bicatenario, las dos cadenas están en sentidos opuestos (una va de 5′ a 3′ y la otra de 3′ a 5′).
Bacteriocina: proteína tóxica secretada por las bacterias que inhibe o mata otras bacterias relacionadas.
Balanceo: forma menos rígida de apareamiento permitida solo en el apareamiento codón-anticodón.
Cadena avanzada: cadena nueva de DNA que se sintetiza de manera continua durante la replicación del DNA.
Cadena retrasada: cadena nueva de DNA que se sintetiza en fragmentos cortos que después se unen.
Cebador: oligonucleótido al que la DNA-polimerasa une el primer desoxirribonucleótido durante la síntesis de DNA.
Chaperonina o chaperona molecular: proteína que ayuda a otras a plegarse o volver a plegarse a partir de un estado parcialmente desnaturalizado.
Código genético: correspondencia entre la secuencia del ácido nucleico y la secuencia de aminoácidos de las proteínas.
Codón: secuencia de tres bases en el mRNA que codifica un aminoácido.
Codón de inicio: codón especial, normalmente AUG, que indica el inicio de una proteína.
Codón de parada: codón que indica el final de una proteína.
Codón sin sentido: otro nombre para codón de parada.
Complementarias: secuencias de ácidos nucleicos que se pueden aparear entre sí.
Cromosoma: elemento genético normalmente circular en procariotas, que contiene los genes esenciales para la actividad celular.
Desnaturalización: pérdida del plegamiento correcto de una proteína que (normalmente) causa la agregación y la pérdida de actividad biológica.
DNA (ácido desoxirribonucleico): polímero de desoxirribonucleótidos unidos por enlaces fosfodiéster que contiene información genética.
DNA-girasa: enzima que se encuentra en la mayoría de los procariotas y que introduce superenrollamiento negativo en el DNA.
DNA-helicasa: enzima que usa ATP para desenrollar la doble hélice del DNA.
DNA-ligasa: enzima que sella las muescas en el esqueleto del DNA.
DNA-polimerasa: enzima que sintetiza una nueva cadena de DNA en sentido 5′ → 3′ usando una cadena de DNA antiparalela como molde.
Elemento genético: estructura con información genética como un cromosoma, un plásmido o el genoma de un virus.
Elemento transponible: elemento genético capaz de moverse (transponerse) de un sitio a otro en las moléculas de DNA del hospedador.
Empalmosoma: complejo de ribonucleoproteínas que catalizan la eliminación de intrones de los transcritos primarios de RNA.
Enantiómero: forma de una molécula que es imagen especular de otra forma de la misma molécula:
Enlace fosfodiéster: tipo de enlace covalente que une nucleótidos en un polinucleótido.
Enlace peptídico: tipo de enlace covalente que une aminoácidos en un polipéptido.
Enzima: proteína o RNA que cataliza una reacción química específica en una célula.
Estructura cuaternaria: en las proteínas, el número y los tipos de polipéptidos individuales en la molécula de proteína final.
Estructura primaria: secuencia precisa de monómeros en una macromolécula como un polipéptido o un ácido nucleico.
Estructura secundaria: patrón inicial de plegamiento de un polipéptido o un polinucleótido, normalmente dictado por las oportunidades para formar puentes de hidrógeno.
Estructura terciaria: estructura final plegada de un polipéptido que ha adquirido previamente la estructura secundaria.
Exones: secuencias de DNA codificante en un gen dividido (compárese con intrones).
Gen: segmento de DNA que especifica una proteína (a través del mRNA), un tRNA, un rRNA o cualquier otro RNA no codificante.
Genoma: dotación completa de genes de una célula o un virus.
Horquilla de replicación: sitio en el cromosoma en el que se produce la replicación y donde las enzimas que lo replican se unen a DNA desenrollado y monocatenario.
Intrones: secuencias de DNA no codificante intercaladas en un gen dividido (compárese con exones).
Macromolécula de información: cualquier molécula polimérica grande con información genética, ya sea DNA, RNA o proteína.
Marco abierto de lectura (ORF): secuencia de DNA o RNA que puede traducirse para dar un polipéptido.
Nucleósido: base nitrogenada (adenina, guanina, citosina, timina o uracilo) más un azúcar (una ribosa o una desoxirribosa) pero sin fosfato.
Nucleótido: monómero de ácido nucleico formado por una base nitrogenada (adenina, guanina, citosina, timina o uracilo), una o más moléculas de fosfato y un azúcar, ribosa (en el RNA) o desoxirribosa (en el DNA).
Operón: grupo de genes que se cotranscriben como un solo RNA mensajero.
Pirimidina: una de las bases nitrogenadas de los ácidos nucleicos que contiene un solo anillo; citosina, timina y uracilo.
Plásmido: elemento genético extracromosómico que no tiene forma extracelular.

Polinucleótido: polímero de nucleótidos unidos entre sí por enlaces covalentes llamados enlaces fosfodiéster.
Polipéptido: polímero de aminoácidos unidos entre sí por enlaces peptídicos.
Preferencia de codones: uso no al azar de múltiples codones que codifican el mismo aminoácido.
Primasa: enzima que sintetiza el cebador de RNA que se usa en la replicación del DNA.
Procesamiento del RNA: conversión de un transcrito primario de RNA a su forma madura.
Promotor: sitio en el DNA al que se une la RNA-polimerasa para empezar la transcripción.
Proteína: polipéptido o grupo de polipéptidos que forman una molécula con actividad biológica específica.
Purina: una de las bases nitrogenadas de los ácidos nucleicos que contiene dos anillos fusionados; adenina y guanina.
Replicación: síntesis de DNA usando el DNA como molde.
Replisoma: complejo de replicación del DNA formado por dos copias de DNA-polimerasa III, una DNA-girasa, una helicasa, una primasa y varias copias de proteínas de unión a cadena sencilla.
Ribosoma: partícula citoplasmática compuesta por RNA ribosómico y proteínas, cuya función es sintetizar proteínas.
Replicación semiconservativa: síntesis de DNA que produce dos nuevas dobles hélices formadas cada una con una cadena parental y una cadena hija.
RNA (ácido ribonucleico): polímero de ribonucleótidos unidos por enlaces fosfodiéster que desempeña muchas funciones en las células, especialmente durante la síntesis de proteínas.
RNA de transferencia (tRNA): pequeña molécula de RNA que se usa en la traducción; posee un anticodón en un extremo y el aminoácido correspondiente unido en el otro extremo.
RNA mensajero (mRNA): molécula de RNA que contiene información genética para codificar uno o más polipéptidos.
RNA ribosómico (rRNA): tipos de RNA que se encuentran en el ribosoma; algunos participan activamente en la síntesis de proteínas.
RNA-polimerasa: enzima que sintetiza RNA en sentido 5′ → 3′ usando una cadena de DNA complementaria y antiparalela como molde.
Secuencia señal: secuencia *N*-terminal especial de aproximadamente veinte aminoácidos que indica que una proteína debe ser exportada a través de la membrana citoplasmática.
Terminación: fin de la elongación de una molécula de RNA en un sitio específico.
Traducción: síntesis de proteínas usando la información genética del RNA como molde.
Transcripción: síntesis de RNA usando un molde de DNA.
Transcrito primario: molécula de RNA sin procesar que es el producto directo de la transcripción.

PREGUNTAS DE REPASO

1. Describa el dogma central de la biología molecular. (Sección 4.1)
2. Los genes se descubrieron antes de que se conociera su naturaleza química. En primer lugar, defina un gen sin mencionar su naturaleza química. Después nombre los compuestos que componen un gen. (Sección 4.1).
3. Las moléculas de DNA ricas en AT se separan en dos cadenas con mayor facilidad cuando sube la temperatura que las moléculas de DNA ricas en GC. Explique esto basándose en las propiedades del apareamiento de bases AT y GC. (Sección 4.2)
4. Describa cómo el DNA, cuya longitud es varias veces más larga que la de una célula, puede caber en una. (Sección 4.2)
5. ¿Qué tamaño tiene el cromosoma de *Escherichia coli* y cuántas proteínas puede codificar? ¿Qué otros elementos genéticos pueden estar presentes en *E. coli*? (Sección 4.3)
6. ¿Qué son los plásmidos R y por qué tienen importancia médica? (Sección 4.3)
7. En referencia al DNA, ¿qué significan los términos semiconservativo, complementario y antiparalelo? (Sección 4.4)
8. Una estructura encontrada habitualmente en el DNA circular durante la replicación es la estructura theta. Dibuje un esquema del proceso de replicación y muestre cómo surge la estructura theta. (Secciones 4.5 y 4.6)
9. ¿Por qué son tan raros los errores en la replicación del DNA? ¿Qué actividad enzimática, además de la polimerización, está asociada a la DNA-polimerasa III y cómo reduce los errores? (Sección 4.6)
10. ¿Los genes de los tRNA tienen promotores? ¿Tienen codones de inicio? Justifique su respuesta (Secciones 4.7 y 4.11)
11. Los sitios de inicio y parada de la síntesis del mRNA (sobre el DNA) son diferentes de los sitios de inicio y parada de la síntesis de proteínas (sobre el mRNA). Explique por qué. (Secciones 4.7 y 4.11).
12. ¿Qué es un operón y porqué es beneficioso unir la expresión de ciertos genes? (Sección 4.8)
13. ¿Por qué los mRNA eucarióticos tienen que ser «procesados» y la mayoría de los RNA procariotas no? (Sección 4.9)
14. ¿Por qué los aminoácidos reciben este nombre? Escriba la estructura general de un aminoácido. ¿Cuál es la importancia del grupo R para la estructura proteica final? ¿Por qué el aminoácido cisteína tiene una importancia especial para la estructura proteica? (Sección 4.10)
15. ¿Qué es el «balanceo» y qué lo hace necesario en la síntesis de proteínas? (Secciones 4.11 y 4.12)
16. ¿Qué son las aminoacil-tRNA-sintetasas y qué tipos de reacciones catalizan? ¿Cómo reconoce una sintetasa sus sustratos? (Sección 4.12)
17. La actividad enzimática que forma enlaces peptídicos en el ribosoma se llama peptidiltransferasa. ¿Qué cataliza esta reacción? (Sección 4.13)
18. Defina los tipos de estructura de las proteínas: primaria, secundaria, terciaria y cuaternaria. ¿Cuáles de estas estructuras se alteran por la desnaturalización? (Sección 4.14)

19. Algunas veces las proteínas mal plegadas se pueden volver a plegar correctamente, pero en ocasiones no es posible y son degradadas. ¿Qué clases de enzimas están implicadas en degradar las proteínas mal plegadas? (Sección 4.14)

20. ¿Cómo sabe una célula cuáles de sus proteínas están diseñadas para actuar fuera de la célula? (Sección 4.14)

EJERCICIOS PRÁCTICOS

1. El genoma de la bacteria *Neisseria gonorrhoeae* está formado por una molécula de DNA bicatenario que contiene 2.220 pares de kilobases. Calcule la longitud de esta molécula de DNA en centímetros. Si el 85 % de esta molécula de DNA está compuesto por marcos abiertos de lectura de genes que codifican proteínas, y una proteína media contiene 300 aminoácidos, ¿cuántos genes codificadores de proteínas tiene *Neisseria*? ¿Qué clase de información podría haber en el 15 % restante del DNA?

2. Compare la actividad de la DNA-polimerasa y la RNA-polimerasa. ¿Qué función tiene cada una? ¿Cuáles son sus sustratos? ¿Cuál es la diferencia principal en el comportamiento de ambas?

3. ¿Cuál sería el resultado (en términos de síntesis proteica) si la RNA-polimerasa iniciara la transcripción una base antes de su punto de inicio normal? ¿Por qué? ¿Qué ocurriría (en términos de síntesis proteica) si la traducción empezara una base después de su punto de inicio normal? ¿Por qué?

4. En el Capítulo 10 estudiaremos las mutaciones, cambios heredables en la secuencia de nucleótidos del genoma. Partiendo de la Tabla 4.5, describa cómo ha evolucionado el código genético para minimizar el impacto de las mutaciones.

CAPÍTULO

5 · Crecimiento y control microbiano

microbiología **actual**

¿Tenían pared celular las primeras células?

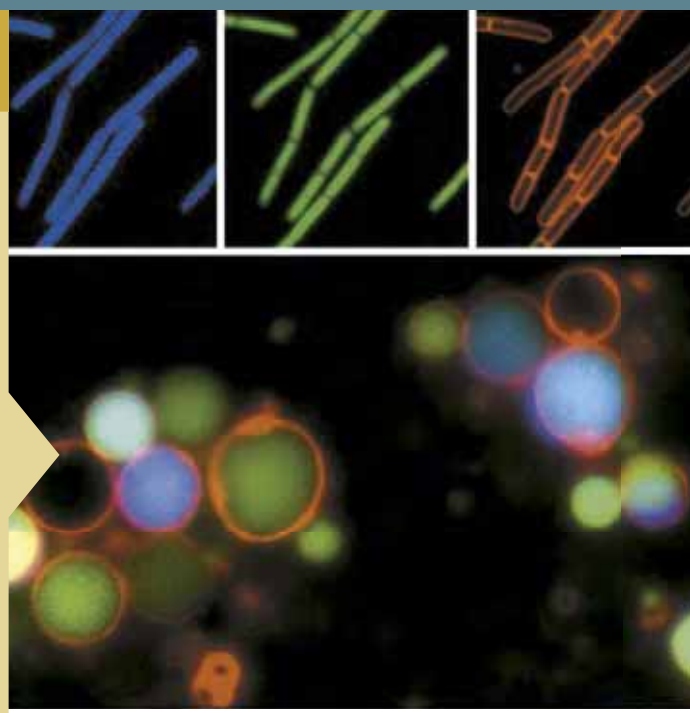
Las células de las bacterias tienen muchas formas: bacilos, cocos, espirilos y otras más. ¿Qué forma tenían las primeras células? La pared celular con peptidoglicano es un carácter distintivo de las células del dominio *Bacteria,* porque determina su morfología y evita la lisis osmótica. Pero ¿tenían pared celular las primeras células?

La bacteria *Bacillus subtilis,* que tiene forma de bacilo, se ha usado como modelo para el estudio de la forma, el crecimiento y la morfogénesis de las células bacterianas. Las células de *B. subtilis* son relativamente grandes y fáciles de visualizar por microscopía de fluorescencia (fotos superiores, de izquierda a derecha: tinción del DNA, proteínas con verde fluorescente, tinción de la membrana). Además, la genética de esta bacteria se conoce bien, y ello permite a los investigadores producir mutantes.

Se pueden obtener y cultivar cepas mutantes de *B. subtilis* sin pared celular, llamadas *formas L,* en medios de cultivo protegidos osmóticamente. Sorprendentemente, para la conversión del tipo silvestre a la forma L basta con dos mutaciones[1]. Las formas L no crecen por el proceso normal de fisión binaria de los bacilos bacterianos, sino que liberan pequeñas vesículas que se agrandan poco a poco y, al final, generan también sus propias vesículas (foto inferior). Y todo esto sucede independientemente de las proteínas principales de la división celular y del citoesqueleto, FtsZ y MreB.

Las primeras células que surgieron en la Tierra, casi con toda seguridad, no se parecían a las bacterias y las arqueas que conocemos hoy, que tienen morfologías muy diversas. Probablemente eran más parecidas a las formas L de *B. subtilis* que se muestran en las fotos. La ausencia de pared celular habría permitido a las células primitivas fusionarse e intercambiar genes con facilidad. Con la aparición de una pared celular de peptidoglicano, debió de establecerse una barrera al intercambio genético masivo. En cambio, esta pared habría permitido a las células explorar hábitats desprotegidos osmóticamente y evolucionar dando formas diversas, mejor adaptadas para explotar los recursos de dichos hábitats.

[1]Errington, J. 2013. L-form bacteria, cell walls and the origins of life. *Open Biology 3:* 120143.



I La división celular bacteriana 150
II Crecimiento de las poblaciones 156
III Medida del crecimiento microbiano 160
IV Efecto de la temperatura en el crecimiento microbiano 165
V Otros factores ambientales que afectan al crecimiento microbiano 172
VI Control del crecimiento microbiano 179

I • La división celular bacteriana

En los capítulos anteriores hemos tratado la estructura y las funciones de las células (Capítulo 2) y los principios de la nutrición microbiana y el metabolismo (Capítulo 3). En el Capítulo 4 hemos aprendido los importantes procesos moleculares que codifican las estructuras y los procesos metabólicos de las células. Ahora analizaremos cómo se aúna todo ello para producir nuevas células durante el crecimiento microbiano.

El crecimiento es el resultado de la división celular y es el proceso definitivo en la vida de una célula microbiana. Conocer cómo crecen las bacterias nos ha dado una nueva perspectiva sobre la división celular en los organismos superiores, y nos sirve para diseñar métodos con los que controlar el crecimiento microbiano.

5.1 Fisión binaria

En microbiología, se define el **crecimiento** como el *aumento en el número de células*. Las células microbianas tienen un período de vida limitado, y una especie se mantiene solo a resultas del crecimiento continuado de su población. A medida que las macromoléculas se acumulan en el citoplasma de una célula, se ensamblan para formar las principales estructuras celulares como la pared celular, la membrana citoplasmática, los flagelos, los ribosomas, los complejos enzimáticos, etcétera, lo que al final lleva al proceso de división celular. En un cultivo en crecimiento de un bacilo bacteriano como *Escherichia coli*, las células se elongan hasta aproximadamente el doble de su longitud original y después forman un tabique que divide la célula en dos células hijas (Figura 5.1). Este proceso recibe el nombre de **fisión binaria** («binaria» alude a la formación de dos células a partir de una). El tabique que se forma se llama *septo* y es el resultado del crecimiento hacia dentro de la membrana citoplasmática y la pared celular desde posiciones opuestas; la formación del septo continúa hasta que las dos células hijas se separan. Este es el esquema general de la fisión binaria, pero hay algunas variaciones: en algunas bacterias, como *Bacillus subtilis*, se forma un septo sin constricción de la pared celular, mientras que en *Caulobacter*, bacteria que se reproduce por gemación, se produce constricción, pero no se forma el septo. En cualquier caso, siempre que una célula se divide para formar dos células hijas, decimos que ha habido una *generación*, y el tiempo necesario para este proceso se llama **tiempo de generación** (Figura 5.1, y véase la Figura 5.10).

Durante una generación, todos los componentes celulares aumentan proporcionalmente, de manera que la célula tiene un *crecimiento equilibrado*. Cada célula hija recibe un cromosoma y suficientes copias de ribosomas y todos los demás complejos macromoleculares, monómeros e iones inorgánicos para poder existir como célula independiente. El reparto entre las dos células hijas del DNA replicado depende de la unión de este a la membrana citoplasmática durante la división, y la constricción causa la separación de los cromosomas en las dos células hijas (véase la Figura 5.3).

El tiempo de generación en una especie bacteriana concreta es muy variable, y depende de factores nutricionales y genéticos así como de la temperatura. En las condiciones nutricionales ideales, el tiempo de generación de *E. coli* en un cultivo de laboratorio es de unos 20 min. Algunas bacterias pueden crecer aún más rápidamente; el menor tiempo de generación que se conoce por el momento es de 6 min, pero muchas bacterias crecen mucho más lentamente, y los tiempos de generación de horas o días son mucho más habituales. En la naturaleza, las células microbianas probablemente crecen a velocidades mucho menores que las que se observan en el laboratorio, ya que, seguramente, las condiciones y los recursos necesarios para el crecimiento óptimo en el laboratorio no se dan en el hábitat natural, y a diferencia de lo que ocurre en un cultivo puro, los microorganismos en la naturaleza viven con otras especies en comunidades microbianas y deben competir con sus vecinos por los recursos y el espacio.

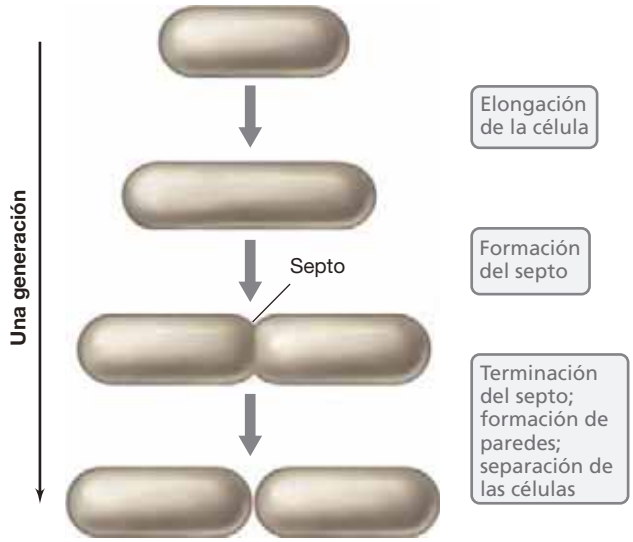


Figura 5.1 Fisión binaria en un bacilo procariota. El número de células se duplica en cada generación.

MINIRREVISIÓN

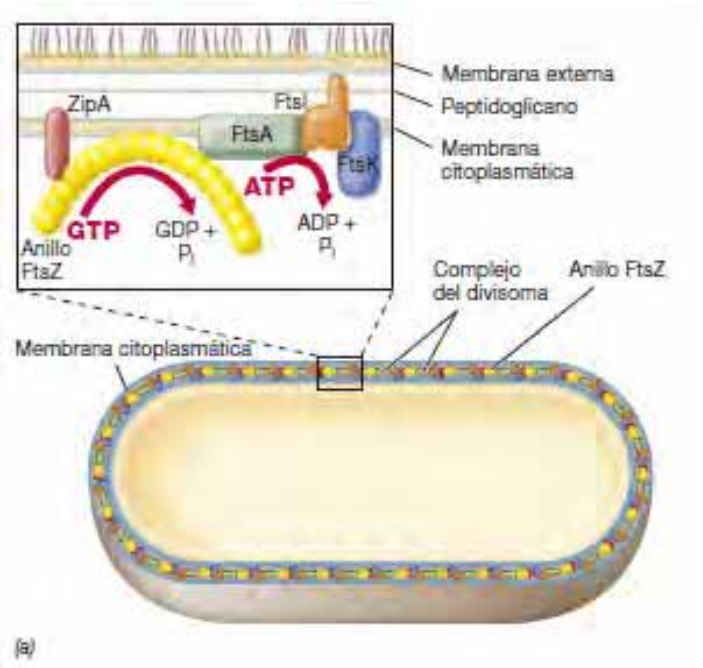
- Resuma las etapas que llevan a la fisión binaria en una bacteria como *Escherichia coli*.
- Defina el término generación. ¿Qué se entiende por tiempo de generación?

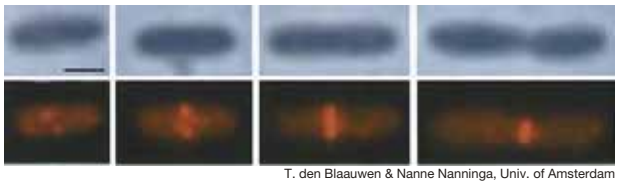
5.2 Las proteínas Fts y la división celular

Hay una serie de proteínas presentes en todas las bacterias que son esenciales para la división celular. Se llaman *proteínas Fts* y una de ellas, la proteína **FtsZ**, tiene un papel crucial en el proceso de fisión binaria. FtsZ está emparentada con la tubulina, proteína importante en la división celular en eucariotas (↻ Sección 2.22), y también se encuentra en la mayoría de las arqueas. Otras proteínas Fts se encuentran solo en *Bacteria* y no en *Archaea*, de manera que nuestro estudio se centrará únicamente en *Bacteria*. La bacteria gramnegativa *Escherichia coli* y la grampositiva *Bacillus subtilis* han sido las especies modelo bacterianas para el estudio de los procesos de división celular.

El divisoma

Las proteínas Fts interaccionan en la célula para formar un aparato de división llamado **divisoma**. En los bacilos, la formación de un divisoma empieza con la unión de moléculas FtsZ para formar un anillo que rodea exactamente la parte central de la célula; este anillo se convertirá en el plano de división celular. En una célula de *E. coli* se polimerizan unas 10.000 moléculas de FtsZ para formar el anillo, que atrae otras proteínas al divisoma, incluidas *FtsA* y *ZipA* (Figura 5.2). ZipA es un anclaje que conecta el anillo FtsZ con la membrana citoplasmática y lo estabiliza. FtsA, una proteína emparentada con la actina, que es una importante proteína del citoesqueleto en eucariotas (↔ Sección 2.22), también contribuye a conectar el anillo FtsZ con la membrana citoplasmática e incorpora otras proteínas del divisoma. El divisoma se forma hacia la última cuarta parte del ciclo de división celular. No obstante, antes de su formación, la célula ya se está elongando y ha empezado la replicación del DNA (véase la Figura 5.3).





(b)

Figura 5.2 El anillo FtsZ y la división celular. *(a)* Corte de un bacilo en el que se ve el anillo de moléculas FtsZ alrededor del plano de división. La ampliación muestra la disposición de las proteínas individuales del divisoma. ZipA es un anclaje para FtsZ, FtsI es una proteína de biosíntesis del peptidoglicano, FtsK participa en la separación de los cromosomas, y FtsA es una ATPasa. *(b)* Aparición y degradación del anillo FtsZ durante el ciclo celular de *Escherichia coli*. Microscopía: fila superior, contraste de fases; fila inferior, células teñidas con un agente específico para FtsZ. Procesos de la división celular: primera columna, anillo de FtsZ todavía sin formar; segunda columna, el anillo FtsZ aparece cuando el nucleoide empieza a segregarse; tercera columna, se forma el anillo FtsZ completo a medida que la célula se elonga; cuarta columna, degradación del anillo FtsZ y división de la célula. La barra en la foto superior izquierda indica 1 µm.

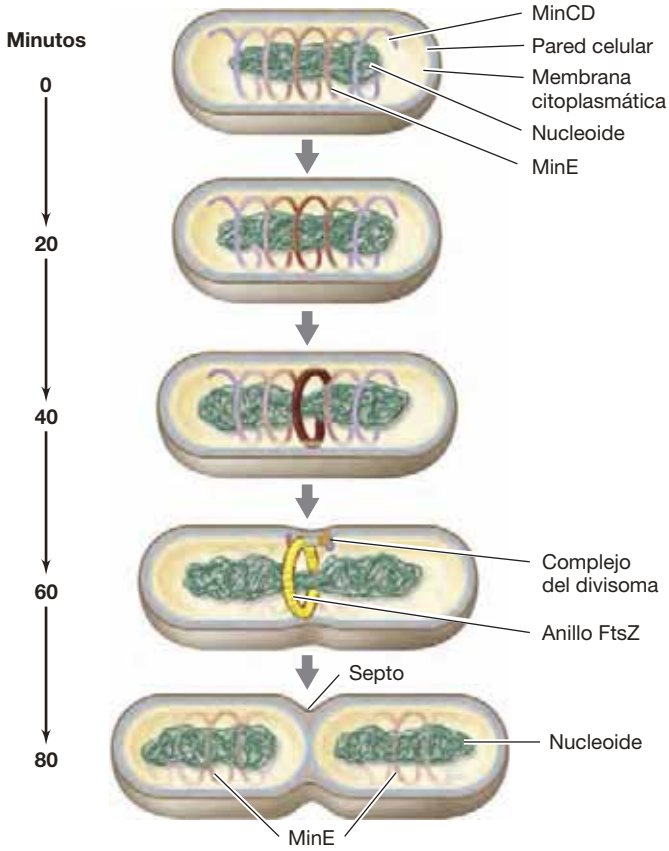


Figura 5.3 Replicación del DNA y pasos de la división celular. La proteína MinE dirige la formación del anillo de FtsZ y el complejo del divisoma en el plano de división de la célula. El dibujo representa células de *Escherichia coli* creciendo con un tiempo de duplicación de 80 min. MinC y MinD son más abundantes en los polos.

El divisoma también contiene las proteínas Fts necesarias para la síntesis de peptidoglicano, como FtsI (Figura 5.2), que es una de las varias *proteínas de unión a la penicilina* presentes en la célula. Estas proteínas reciben este nombre porque la penicilina inhibe su actividad (Sección 5.4). El divisoma dirige la síntesis de nuevo material de la membrana y la pared celular, para ir formando un *septo de división* en el centro del bacilo, hasta que este alcanza el doble de su longitud original. Entonces, la célula elongada se divide y da lugar a dos células hijas (Figura 5.1).

Replicación del DNA, proteínas Min y división celular

El DNA se replica antes de que se forme el anillo FtsZ (Figura 5.3) porque este crece en el espacio entre los nucleoides duplicados; antes de que los nucleoides se segreguen, bloquean de manera efectiva la formación del anillo FtsZ. Las proteínas MinC, MinD y MinE interaccionan para guiar a FtsZ hasta el punto medio. La proteína MinD forma una estructura en espiral en la superficie interna de la membrana citoplasmática y ayuda a MinC a situarse en la membrana citoplasmática. La espiral de MinD oscila a lo largo del eje de la célula en crecimiento e *inhibe* la división celular al impedir que se forme el anillo FtsZ (Figura 5.3). No obstante, simultáneamente MinE oscila también de polo a polo y, al hacerlo, aparta las del centro

a las proteínas MinC y MinD. Como MinC y MinD permanecen más tiempo en los polos que en ningún otro lugar durante el ciclo de oscilación, el centro de la célula tendrá, de promedio, la menor concentración de estas proteínas. Por tanto, el centro de la célula se convierte en el sitio más permisivo para la unión de FtsZ, de manera que el anillo se forma justo allí. En esta inusual serie de acontecimientos, las proteínas Min aseguran que el divisoma se forma solamente en el *centro de la célula* y no en los polos (Figura 5.3).

A medida que continúa la elongación celular y empieza la formación del septo, se separan dos copias del cromosoma, y cada una va hacia una célula hija (Figura 5.3). La proteína *Fts*K y algunas otras participan en este proceso. A medida que la célula se constriñe, el anillo FtsZ empieza a despolimerizarse y desencadena el crecimiento hacia dentro de los materiales de la pared para formar el septo y separar las dos células hijas. La actividad enzimática de FtsZ también hidroliza trifosfato de guanosina (GTP, un compuesto de alta energía) para liberar la energía necesaria para la polimerización y la despolimerización del anillo de FtsZ (Figuras 5.2 y 5.3).

La comprensión de los detalles de la división celular bacteriana tiene un gran interés práctico, porque puede facilitar el desarrollo de nuevos fármacos dirigidos a pasos específicos del crecimiento de las bacterias patógenas. Al igual que la penicilina (fármaco que inhibe la síntesis de la pared celular), los fármacos que interfieren en el funcionamiento de Fts específicas u otras proteínas bacterianas de la división celular podrían tener muchas aplicaciones clínicas.

Replicación del genoma en las células de crecimiento rápido

Como vimos en el Capítulo 4, la naturaleza circular del cromosoma de *Escherichia coli* y de la mayoría de los procariotas supone una oportunidad para acelerar la replicación del DNA, ya que la replicación de los genomas circulares es *bidireccional* desde el origen de replicación. Durante la replicación bidireccional, la síntesis se produce en cada cadena molde de manera avanzada y retrasada, y esto permite que el DNA se replique lo más rápidamente posible (↻ Figura 4.17). Los estudios de la replicación del cromosoma muestran que el tiempo mínimo necesario en *E. coli* es de 40 min, y es independiente del tiempo de generación (**Figura 5.4**). Sin embargo, esto supone una paradoja en cultivos de crecimiento rápido como el de *E. coli*, ya que este organismo puede dividirse cada 20 min en condiciones

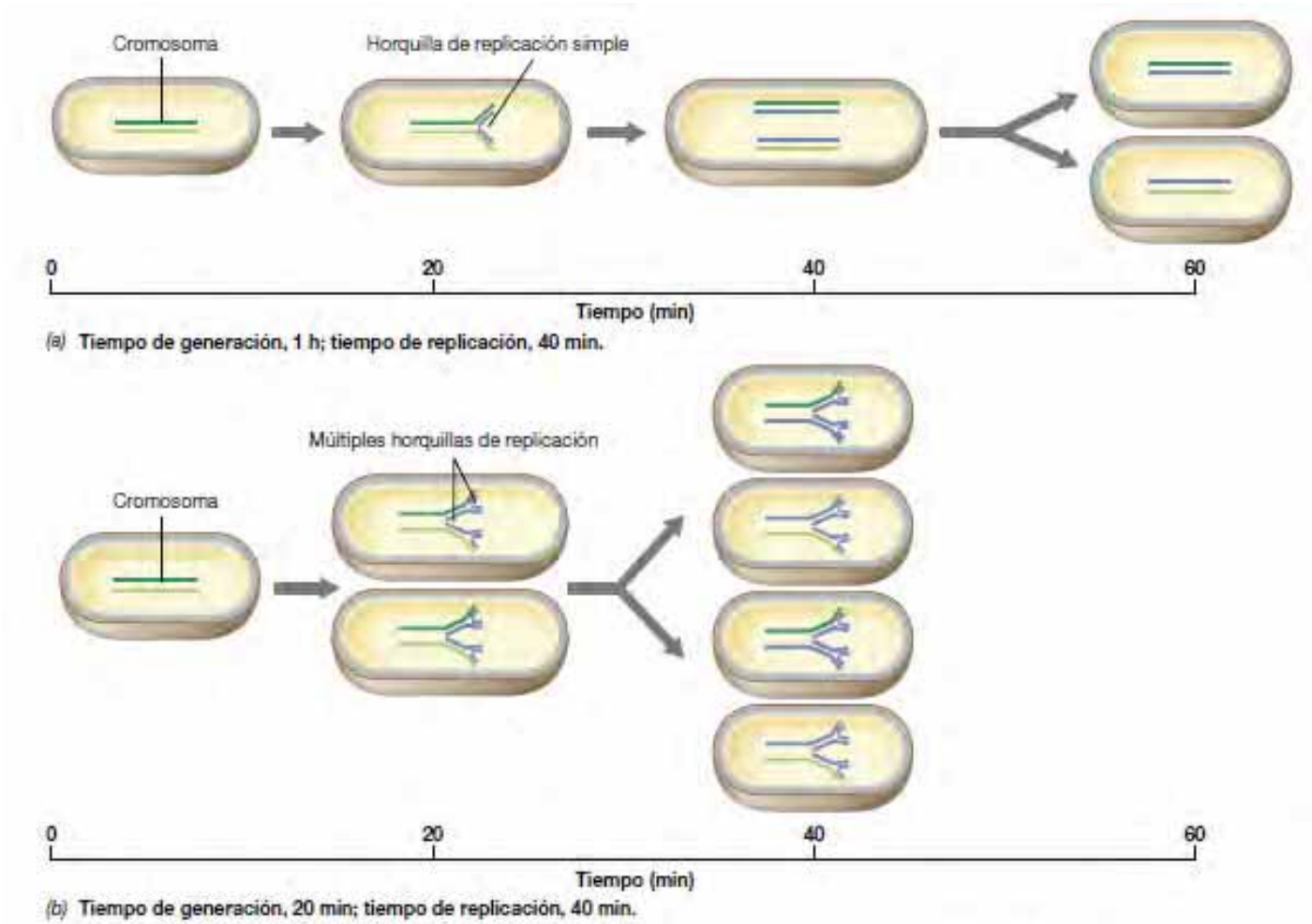


Figura 5.4 Replicación del genoma en células de *Escherichia coli* creciendo en tiempos de generación de 60 min o 20 min. En las células que se duplican cada 20 min, son necesarias múltiples horquillas de replicación para asegurar que cada célula hija recibe una copia completa del genoma, que tarda 40 min en replicarse.

óptimas. A esta velocidad de crecimiento, ¿cómo se acopla correctamente la replicación del genoma con la de la célula?

La solución a este problema es que las células de *E. coli* que se duplican en menos de 40 min contienen *múltiples horquillas de replicación del DNA*. Es decir, antes de que termine una ronda de replicación del DNA ya está empezando una ronda nueva (Figura 5.4), de manera que algunos genes están presentes en más de una copia. Esto asegura que, con tiempos de generación más cortos que el tiempo necesario para replicar el genoma (un proceso que se realiza a velocidad máxima constante), cada célula hija reciba una copia completa del genoma en el momento de formación del septo.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué es el divisoma?
- ¿Cómo encuentra la proteína FtsZ el punto medio de un bacilo?
- Explique cómo puede el tiempo mínimo de generación de *Escherichia coli* ser menor que el tiempo necesario para replicar su cromosoma.

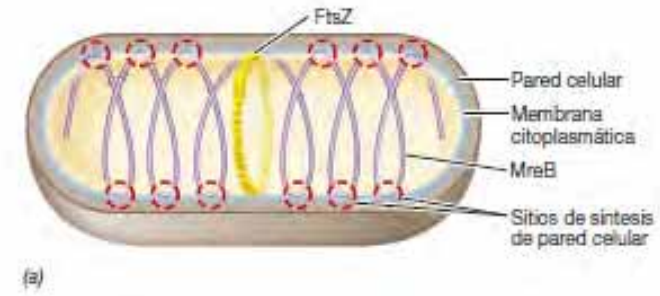
5.3 La proteína MreB y la morfología celular

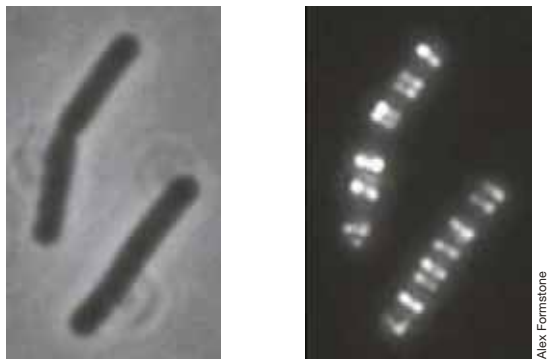
De la misma manera que hay proteínas específicas que dirigen la *división* celular en procariotas, otras proteínas específicas condicionan la *forma* de la célula. Sorprendentemente, estas proteínas que determinan la forma presentan una homología significativa con proteínas clave del citoesqueleto de las células eucariotas. Al igual que los eucariotas, los procariotas también tienen citoesqueleto, que es dinámico y multifuncional.

La forma de las células y MreB

El principal factor determinante de la forma de las bacterias es una proteína llamada *MreB*, que forma un citoesqueleto simple en las bacterias y en unas pocas especies de *Archaea*. MreB forma una hélice de filamentos alrededor del interior de la célula, justo por debajo de la membrana citoplasmática (**Figura 5.5**). Se supone que el citoesqueleto de MreB define la forma de la célula mediante la incroporación de otras proteínas que actúan en el crecimiento de la pared celular agrupándose para seguir un patrón específico. La inactivación del gen que codifica MreB en los bacilos hace que las células tengan forma de coco (redondas). Además, la mayoría de las bacterias que de manera natural tienen forma de coco carecen del gen *MreB*, de manera que no sintetizan la proteína. Esto indica que la morfología «por defecto» para una bacteria lo más probable es que sea una esfera. De las variaciones en la disposición de los filamentos de MreB en las células de las bacterias no esféricas es probable que dependan de las diferentes morfologías habituales de las células procariotas (↪ Figura 2.11).

¿Cómo define MreB la forma de una célula? Las estructuras helicoidales que forman esta proteína (Figura 5.•*a*) no son estáticas, sino que pueden rotar en el interior del citoplasma de una célula en crecimiento. El peptidoglicano recién sintetizado





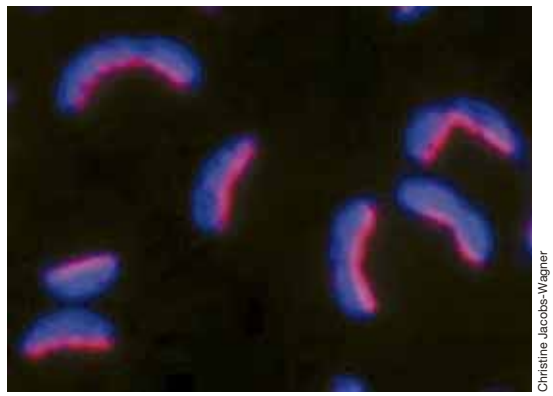


Figura 5.5 MreB y crescentina como determinantes de la morfología celular. *(a)* La proteína MreB del citoesqueleto es un análogo de la actina que se enrolla en espiral a lo largo del eje mayor de un bacilo y entra en contacto con la membrana citoplasmática en diversos sitios (círculos de puntos rojos), que son los lugares donde se sintetiza la nueva pared celular. *(b)* Micrografías de las mismas células de *Bacillus subtilis*. Izquierda, contraste de fases; derecha, fluorescencia. Las células contienen una sustancia que hace que la proteína MreB emita fluorescencia, que aquí se ve como un blanco brillante. *(c)* Células de *Caulobacter crescentus*, una célula curvada de manera natural (con forma de vibrio). Las células se han teñido para poder observar la crescentina (en rojo), una proteína que se encuentra a lo largo de la superficie cóncava de las células y determina su forma; también se han teñido con DAPI, que tiñe el DNA, y por tanto toda la célula, de azul.

(Sección 5.4) se asocia con las hélices de MreB en puntos en los que estas entran en contacto con la membrana citoplasmática (Figura 5.5*a*). Se piensa que MreB localiza la síntesis de nueva pared celular en ubicaciones específicas a lo largo del eje mayor de un bacilo durante el crecimiento. Esto permite que se forme nueva pared celular en varios puntos de la célula en lugar de en

una sola ubicación desde el sitio FtsZ hacia fuera, como sí ocurre en las bacterias esféricas (véase la Figura 5.•). MreB dirige la síntesis de nueva pared celular rotando en el interior del cilindro celular e iniciando la síntesis de la pared en los puntos en que entra en contacto con la membrana citoplasmática, de manera que la elongación de un bacilo se produce únicamente a lo largo de su eje mayor.

Crescentina

Caulobacter crescentus es una especie de *Proteobacteria* (↻ Secciones 7.12 y 14.21) en forma de vibrio que, además de MreB, produce una proteína determinante de la forma celular llamada *crescentina*. La crescentina se organiza en filamentos de unos 10 nm de anchura que se sitúan en la superficie cóncava de la célula curvada. Se piensa que la disposición y localización de los filamentos de crescentina confieren su característica morfología curvada a las células de *C. crescentus* (Figura 5.5*c*). *Caulobacter* es una bacteria acuática con un ciclo de vida en el que las *células nadadoras* acaban formando un pedúnculo que se une a superficies. Las células así fijadas se dividen para formar nuevas células nadadoras, que son liberadas para colonizar nuevos hábitats. Las etapas de este ciclo vital están muy organizadas a nivel genético, y *Caulobacter* se ha utilizado como sistema modelo para el estudio de la expresión génica en la diferenciación celular (↻ Sección 7.12). Aunque la crescentina parece ser exclusiva de *Caulobacter*, se han encontrado proteínas similares a ella en otras células helicoidales, como las de *Helicobacter*, una bacteria patógena (↻ Sección 29.10), lo que sugiere que estas proteínas podrían ser necesarias para la formación de la curvatura de las células.

Evolución de la división celular y de la forma de las células

¿En qué se parecen los determinantes de la forma y la división de las células bacterianas a los de las células eucariotas? Sorprendentemente, MreB está relacionado estructuralmente con la proteína eucariótica actina, y FtsZ con la tubulina, también eucariótica. La actina forma estructuras llamadas *microfilamentos* que actúan como un andamiaje en el citoesqueleto eucariótico y en la división celular, mientras que la tubulina forma *microtúbulos*, que son importantes en la mitosis y en otros procesos (↻ Sección 2.22). Además, la proteína crescentina, que determina la forma en *Caulobacter*, está relacionada con las proteínas de queratina que constituyen los *filamentos intermedios*, que en las células eucariotas forman parte del citoesqueleto; se han encontrado genes que codifican proteínas similares en otras bacterias. Así pues, varias proteínas que controlan la división celular y el citoesqueleto en las células eucariotas parecen tener sus raíces evolutivas en *Bacteria*. No obstante, a excepción de FtsZ, parece que no existen homólogos de estas proteínas en *Archaea*.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cómo controla MreB la forma de un bacilo?
- ¿Qué proteína se piensa que controla la forma de las células de *Caulobacter*?
- ¿Qué relación existe entre las proteínas citoesqueléticas bacterianas y las eucarióticas?

5.4 Biosíntesis del peptidoglicano

En las células de todas las especies de *Bacteria* que contienen peptidoglicano, que son la mayoría, el peptidoglicano preexistente se tiene que cortar temporalmente para permitir que el recién sintetizado se inserte durante el proceso de crecimiento. En los cocos, el nuevo material de pared crece en sentido opuesto desde el anillo FtsZ (**Figura 5.6**), mientras que, como hemos visto, en los bacilos crece en diversos sitios a lo largo de la célula (Figura 5.5*a*). En cualquier caso, ¿cómo se sintetiza el peptidoglicano y cómo sale fuera de la membrana citoplasmática, donde se encuentra la cubierta de peptidoglicano?

Biosíntesis de peptidoglicano

Se puede pensar en el peptidoglicano como una tela resistente a la tensión, muy parecida a una lámina fina de goma. La síntesis del nuevo peptidoglicano durante el crecimiento requiere el corte controlado del peptidoglicano preexistente y la inserción simultánea de los precursores del peptidoglicano. Una molécula transportadora de lípidos llamada *bactoprenol* ejerce una función fundamental en este último proceso. El bactoprenol es un alcohol C_{55} hidrófobo que se une a un *N*-acetilglucosamina/ácido *N*-acetilmurámico/pentapéptido, precursor del peptidoglicano (**Figura 5.7**). El bactoprenol transporta los precursores del peptidoglicano a través de la membrana citoplasmática haciéndolos lo bastante hidrófobos para atravesarla.

Una vez en el periplasma, el bactoprenol interacciona con *transglicosilasas*, unas enzimas que insertan los precursores en el punto de crecimiento de la pared celular y catalizan la formación del enlace glicosídico (**Figura 5.8**). Antes de esto, otras enzimas llamadas *autolisinas*, que actúan hidrolizando

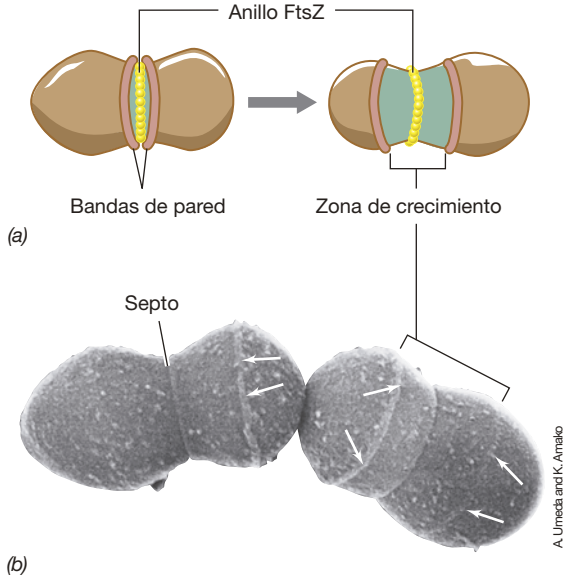


Figura 5.6 Síntesis de la pared celular en las bacterias grampositivas. *(a)* Localización de la síntesis de pared celular durante la división celular. En los cocos, la síntesis de pared celular (en verde) se localiza en un único punto (compárese con la Figura 5.5*a*). *(b)* Micrografía electrónica de barrido de células de *Streptococcus hemolyticus* en la que se muestran las bandas de la pared (flechas). Cada célula tiene un diámetro aproximado de 1 μm.

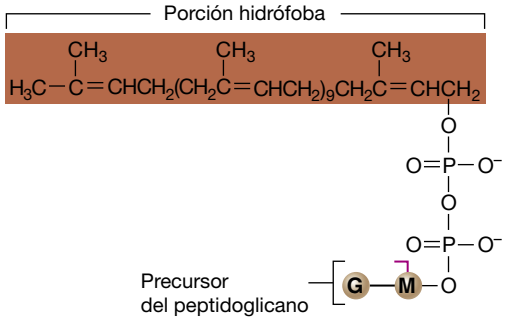


Figura 5.7 **Bactoprenol (difosfato de undecaprenol).** Esta molécula hidrófoba transporta los precursores del peptidoglicano de la pared a través de la membrana citoplasmática.

los enlaces que conectan la *N*-acetilglucosamina y el ácido *N*-acetilmurámico al esqueleto, hacen unos pequeños cortes en el peptidoglicano existente. Entonces se añade nuevo material de pared a través de esos cortes (Figura 5.8*a*). La unión entre el peptidoglicano viejo y el nuevo forma un cordoncillo en la superficie celular de las bacterias grampositivas que se llama *banda de pared* (Figura 5.6*b*). Es imprescindible que la síntesis del peptidoglicano sea un proceso coordinado de manera precisa. Las nuevas unidades de tetrapéptidos deben empalmarse al peptidoglicano existente inmediatamente después de que las autolisinas actúen, para impedir la formación de una brecha en la integridad del peptidoglicano en el punto de empalme, pues una brecha podría causar la lisis espontánea de la célula, llamada *autolisis*.

Transpeptidación

El paso final de la síntesis de la pared celular es la **transpeptidación**. En la transpeptidación se forman los puentes peptídicos entre los residuos de ácido murámico en cadenas adyacentes de glicano (↻ Sección 2.10 y Figuras 2.25 y 2.26). En las bacterias gramnegativas como *Escherichia coli*, los puentes se forman entre el ácido diaminopimélico (DAP) de un péptido y la D-alanina del péptido adyacente. Si bien hay dos residuos de D-alanina al final del precursor del peptidoglicano, solo uno permanece en la molécula final; el otro es eliminado durante la transpeptidación (Figura 5.8*b*). Esta reacción es exergónica (que libera energía; ↻ Sección 3.4) y suministra la energía necesaria para que se produzca la transpeptidación. En *E. coli*, la proteína FtsI (Figura 5.2*a*) actúa como transpeptidasa.

La transpeptidación tiene una gran importancia médica, porque es la reacción que es inhibida por la penicilina. En las bacterias se han identificado diversas proteínas que se unen a la penicilina, incluida la FtsI (Figura 5.2*a*). Cuando la penicilina se une a ellas, estas proteínas se inactivan. En ausencia de transpeptidación, en una célula que, de otro modo, estaría creciendo, la actividad continuada de las autolisinas (Figura 5.8) debilita tanto el peptidoglicano que la célula finalmente explota.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué son las autolisinas y por qué son necesarias?
- ¿Qué función tiene el bactoprenol?
- ¿Qué es la transpeptidación y por qué es importante?

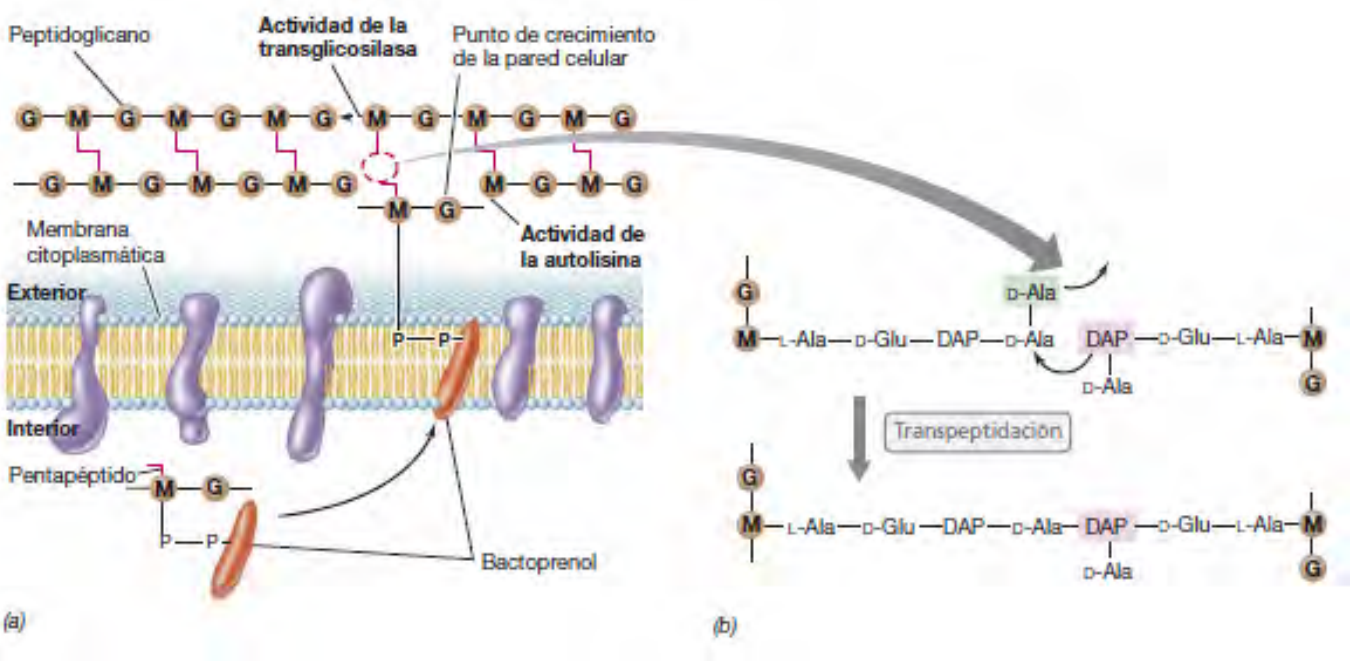


Figura 5.8 **Síntesis de peptidoglicano.** *(a)* Transporte de precursores del peptidoglicano a través de la membrana citoplasmática hasta el punto de crecimiento de la pared celular. La autolisina corta los enlaces glicosídicos del peptidoglicano preexistente y la transglicosilasa sintetiza otros para unir el viejo peptidoglicano con el nuevo. *(b)* Reacción de transpeptidación que lleva al entrecruzamiento final de dos cadenas de peptidoglicano. La penicilina inhibe esta reacción.

II • Crecimiento de las poblaciones

Recordemos que el crecimiento microbiano se define como el aumento del *número* de células de una población. Así, ahora pasaremos de considerar los procesos de crecimiento y división en una célula individual a estudiar la dinámica del crecimiento de las poblaciones bacterianas.

5.5 Aspectos cuantitativos del crecimiento microbiano

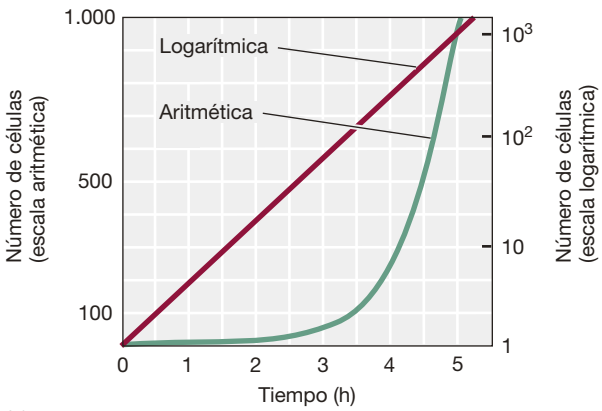
Durante la división celular, una célula se convierte en dos. En el tiempo que tarda en ocurrir esto (el tiempo de generación), tanto el *número* de células como la *masa* se duplican (Figura 5.1). Como veremos, el número de células de un cultivo bacteriano en crecimiento puede aumentar mucho muy rápidamente, y centraremos nuestra atención en cómo gestionar estos números de manera cuantitativa.

Representación de los datos de crecimiento

En la **Figura 5.9** se muestra un experimento de crecimiento a partir de una sola célula que tiene un tiempo de generación de 30 min. Este patrón de crecimiento de población, en el que el número de células se duplica a intervalos constantes de tiempo, se llama **crecimiento exponencial**. Cuando el número de células de un experimento de este tipo se representa gráficamente en coordenadas aritméticas (lineales) en función del tiempo, se obtiene una curva con una pendiente que aumenta de manera constante (Figura 5.9*b*). En cambio, cuando se representa el número de células en escala logarítmica ($\log_{10}$) en función del tiempo (gráfica *semilogarítmica*), como en la Figura 5.9*b*), la pendiente pasa a ser una línea recta. Esta línea recta refleja el hecho de que las células crecen exponencialmente y la población se duplica a intervalos constantes.

Tiempo (h)	Número de células totales	Tiempo (h)	Número de células totales
0	1	4	256 (2^8)
0,5	2	4,5	512 (2^9)
1	4	5	1.024 (2^{10})
1,5	8	5,5	2.048 (2^{11})
2	16	6	4.096 (2^{12})
2,5	32	.	.
3	64	.	.
3,5	128	10	1.048.576 (2^{20})

(a)



(b)

Figura 5.9 Velocidad de crecimiento de un cultivo microbiano. *(a)* Datos de una población que se duplica cada 30 min. *(b)* Datos representados en escalas aritmética (ordenada izquierda) y logarítmica (ordenada derecha).

Los gráficos semilogarítmicos también son útiles para estimar tiempos de generación de un cultivo a partir de datos de crecimiento, ya que los tiempos de generación se pueden inferir directamente del gráfico, como se muestra en la **Figura 5.10**. Por ejemplo, cuando se seleccionan dos puntos del eje Y de la curva que representan la duplicación de la población y se trazan dos líneas verticales desde ellos hasta el eje X, el intervalo de tiempo medido sobre este eje es el tiempo de generación (Figura 5.10*b*).

Las matemáticas del crecimiento y las expresiones de crecimiento

El aumento del número de células en un cultivo bacteriano de crecimiento exponencial se puede expresar con matemáticas sencillas basadas en la progresión geométrica del número 2. Cuando una célula se divide para convertirse en dos, lo expresamos matemáticamente como $2^0 \rightarrow 2^1$. Cuando dos células se dividen para convertirse en cuatro lo expresamos como $2^1 \rightarrow 2^2$, y así sucesivamente (Figura 5.9*a*). Existe una relación fija entre el número inicial de células de un cultivo y el número presente tras un período de crecimiento exponencial, y esta relación se puede expresar como

$$N = N_0 2^n$$

donde N es el número de células finales, N_0 es el número de células iniciales, y n es el número de generaciones durante el período de crecimiento exponencial. El tiempo de generación (g) de la población con crecimiento exponencial es t/n, donde t es la duración del crecimiento exponencial expresada en días, horas o minutos. Sabiendo el número inicial y final de células en una población de crecimiento exponencial, es posible calcular n, y a partir de n, sabiendo t, el tiempo de generación, g.

La ecuación $N = N_0 2^n$ se puede expresar en términos de n haciendo el logaritmo en ambos lados de la ecuación:

$$\begin{aligned} N &= N_0 2^n \\ \log N &= \log N_0 + n \log 2 \\ \log N - \log N_0 &= n \log 2 \\ n = \frac{\log N - \log N_0}{\log 2} &= \frac{\log N - \log N_0}{0{,}301} \\ &= 3{,}3(\log N - \log N_0) \end{aligned}$$

Usando la última expresión es posible calcular los tiempos de generación en términos de cantidades medibles, N y N_0. Tomemos, por ejemplo, los datos reales de crecimiento de la gráfica de la Figura 5.10*b*, donde $N = 10^8$, $N_0 = 5 \times 10^7$, y $t = 2$:

$$\begin{aligned} n &= 3{,}3[\log(10^8) - \log(5 \times 10^7)] \\ &= 3{,}3(8 - 7{,}69) = 3{,}3(0{,}301) = 1 \end{aligned}$$

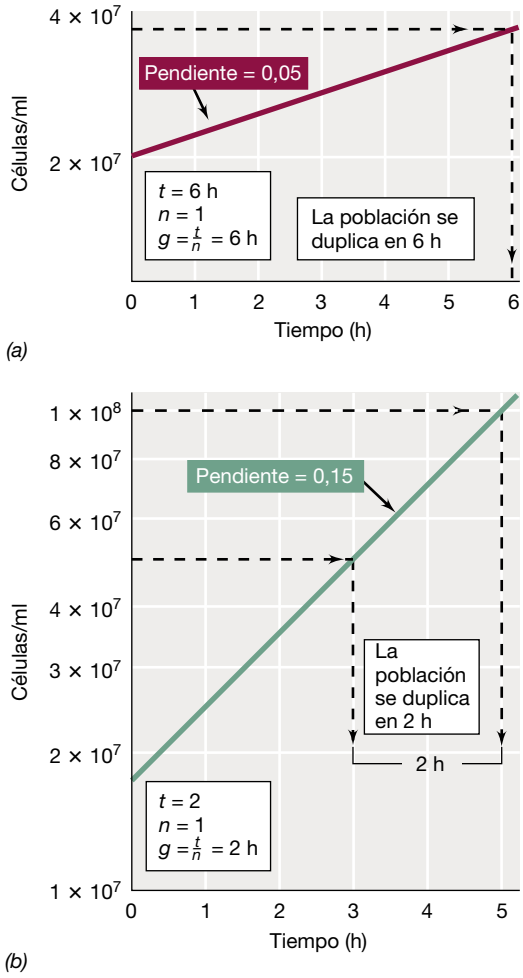


Figura 5.10 Cálculo de los parámetros del crecimiento microbiano. Método de estimación del tiempo de generación (*g*) de poblaciones con crecimiento exponencial con *g* de *(a)* 6 h y *(b)* 2 h a partir de los datos representados en gráficas semilogarítmicas. La pendiente en cada gráfica es igual a 0,301/*g*, y *n* es el número de generaciones en el tiempo *t*. Todos los números se expresan en notación científica; es decir, 10.000.000 es 1×10^7, 60.000.000 es 6×10^7 y así sucesivamente.

Así, en el ejemplo, $g = t/n = 2/1 = 2$ h. Si el crecimiento exponencial continuase durante otras 2 horas, el número de células sería 2×10^8. Dos horas más tarde, sería 4×10^8, y así sucesivamente. Además de determinar el tiempo de generación de un cultivo con crecimiento exponencial a partir de los datos gráficos (Figura 5.10*b*), *g* también se puede calcular directamente a partir de la pendiente de la función lineal obtenida en una representación semilogarítmica del crecimiento exponencial. La pendiente es igual a 0,301 *n*/*t* (o 0,301/*g*). En el ejemplo anterior, la pendiente sería, por tanto, 0,301/2, o 0,15. Puesto que *g* es igual a 0,301/pendiente, llegamos al mismo valor de 2 para *g*. El término 0,301/*g* se llama *velocidad específica de crecimiento*, y se abrevia *k*.

A partir de estos datos se pueden calcular otras expresiones útiles sobre el crecimiento. Por ejemplo, la inversa del tiempo de generación, llamada *velocidad de división* y abreviada *v*. La velocidad de división es igual a 1/*g*, y sus unidades son la inversa de las horas (h^{-1}). Es decir, mientras *g* es una medida del *tiempo* que tarda una población en duplicar su número de células, *v* es una medida del *número de generaciones* por unidad de tiempo en un cultivo con crecimiento exponencial. La pendiente de la línea que relaciona el logaritmo del número de células con el tiempo (Figura 5.10) es igual a *v*/3,3. Conociendo los valores de *n* y *t*, podemos calcular *g*, *k* y *v* para diferentes microorganismos que crecen en diferentes condiciones. A menudo esto resulta útil para optimizar las condiciones de cultivo para un organismo recién aislado, así como para probar el efecto positivo o negativo de algún tratamiento en un cultivo bacteriano. Por ejemplo, la comparación con un control sin modificar permite identificar los factores que estimulan o inhiben el crecimiento midiendo su efecto sobre los distintos parámetros del crecimiento que acabamos de analizar.

Consecuencias del crecimiento exponencial

Durante el crecimiento exponencial, el aumento del número de células es inicialmente bastante lento, pero aumenta a una velocidad cada vez mayor. En las últimas etapas del crecimiento exponencial, esto provoca un aumento explosivo del número de células. Por ejemplo, en el experimento que se muestra en la Figura 5.9, la velocidad de producción de células en los primeros 30 min de crecimiento es 1 célula por cada 30 min. Sin embargo, entre las 4 y las 4,5 horas de crecimiento, la velocidad de producción celular es de 256 células en 30 min, y entre las 5,5 y las 6 horas es de 2.048 células en 30 min (Figura 5.9). Por esta razón, la cantidad de células en los cultivos de laboratorio puede llegar a ser muy grande rápidamente, y no es raro encontrarse con poblaciones finales de más de 10^9 células.

Además de ser una aproximación teórica, el crecimiento exponencial puede tener implicaciones en la vida diaria. Tomemos algo tan normal como que se estropee la leche. Las bacterias del acidoláctico responsables del olor agrio de la leche estropeada la contaminan durante su extracción y existen en pequeñas cantidades en la leche fresca pasteurizada; estos organismos crecen lentamente a la temperatura de la nevera (4 °C), pero mucho más rápidamente a temperatura ambiente. Si se deja una botella de leche fresca toda la noche a temperatura ambiente, se genera un poco de ácido láctico, pero no el suficiente para afectar a la calidad de la leche. Sin embargo, si se deja en las mismas condiciones leche que tenga ya una semana, que ahora contiene el resultado del crecimiento bacteriano de una semana y, por tanto, un número de células mucho mayor, se genera una gran cantidad de ácido láctico y la leche se estropea.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué es una gráfica *semilogarítmica* y qué información podemos obtener de ella?
- Distinga entre los términos velocidad de crecimiento específico y tiempo de generación.
- Si en 8 horas un cultivo con crecimiento exponencial aumenta de 5×10^6 células/ml a 5×10^8 células/ml, calcule *g*, *n*, *v* y *k*.

5.6 El ciclo de crecimiento

Los datos presentados en las Figuras 5.9 y 5.10 reflejan solamente una parte del ciclo de crecimiento de una población microbiana, la llamada de *crecimiento exponencial*. Por varias

razones, un organismo creciendo en un recipiente cerrado como un tubo o un matraz (un **cultivo discontinuo,** o en *batch*), no puede crecer exponencialmente por tiempo indefinido; y la *curva de crecimiento* típica de la población que se obtiene es como la que se muestra en la Figura 5.11, que describe un ciclo de crecimiento completo e incluye las fases de latencia, exponencial, estacionaria y de muerte.

Fase de latencia

Cuando un cultivo microbiano se inocula en un medio fresco, el crecimiento empieza solo tras un período de tiempo llamado *fase de latencia*. Este intervalo puede ser breve o extenso, según los antecedentes del inóculo y la naturaleza del medio y las condiciones de crecimiento. Si se transfieren células de un cultivo que estaba en la fase exponencial al mismo medio y en las mismas condiciones de crecimiento (temperatura, ventilación, etcétera), prácticamente no se producirá fase de latencia, y el crecimiento exponencial empezará inmediatamente. Sin embargo, si el inóculo se toma de un cultivo viejo, normalmente habrá fase de latencia porque las células carecen de varios constituyentes esenciales y se necesita un tiempo para su biosíntesis. También hay una fase de latencia cuando el inóculo es de poca viabilidad (pocas células vivas) o contiene células dañadas por algún agente agresor, como altas o bajas temperaturas, radiación o sustancias tóxicas, pero no muertas.

También hay una fase de latencia cuando se transfiere un cultivo microbiano de un medio de cultivo rico a uno más pobre (empobrecimiento del medio); por ejemplo de un medio complejo a un medio definido (↻ Sección 3.2). Para crecer en cualquier medio de cultivo, las células deben contar con una dotación completa de enzimas para la síntesis de los metabolitos esenciales que no están presentes en el medio. Por tanto, ante una reducción del medio es necesario un tiempo para la síntesis de estas enzimas y la posterior biosíntesis de un pequeño reservorio de cada metabolito.

Fase exponencial

Como vimos en la Sección 5.5, durante el crecimiento exponencial la población de células se duplica en intervalos regulares durante un tiempo corto o largo según los recursos disponibles y otros factores. De las células que crecen de esta manera, se dice que están en la *fase exponencial* de crecimiento. Las células en fase exponencial están normalmente en su mejor estado de salud, y son las mejores para estudios sobre las enzimas y otros componentes celulares.

La velocidad de crecimiento exponencial varía mucho, y depende de las condiciones ambientales (temperatura, composición del medio de cultivo), así como de las características genéticas del propio organismo. En general, los procariotas crecen más rápidamente que los microorganismos eucariotas, y los eucariotas más pequeños, suelen crecer más rápidamente que los grandes. Esto debería recordarnos el concepto que hemos estudiado anteriormente de la relación entre superficie y volumen. Como vimos, las células pequeñas tienen más capacidad para el intercambio de nutrientes y desechos que las células más grandes, y esta ventaja metabólica puede influir en gran medida en el crecimiento y otras propiedades (↻ Sección 2.6).

Fase estacionaria y fase de muerte

En un cultivo discontinuo, el crecimiento exponencial no se puede mantener indefinidamente. Tengamos en cuenta que una sola célula bacteriana que pesa una billonésima parte (10^{-12}) de un gramo, creciendo exponencialmente con un tiempo de generación de 20 min produciría, si se le permite continuar en crecimiento exponencial durante 48 horas, una población de células que pesaría ¡4.000 veces el peso de la Tierra! Obviamente, esto es imposible y el crecimiento en estos cultivos es limitado, bien porque se agotan los nutrientes en el medio o bien porque se acumulan los desechos del organismo. Cuando el crecimiento exponencial cesa por uno de estos motivos (o por ambos), la población entra en la *fase estacionaria* (Figura 5.11).

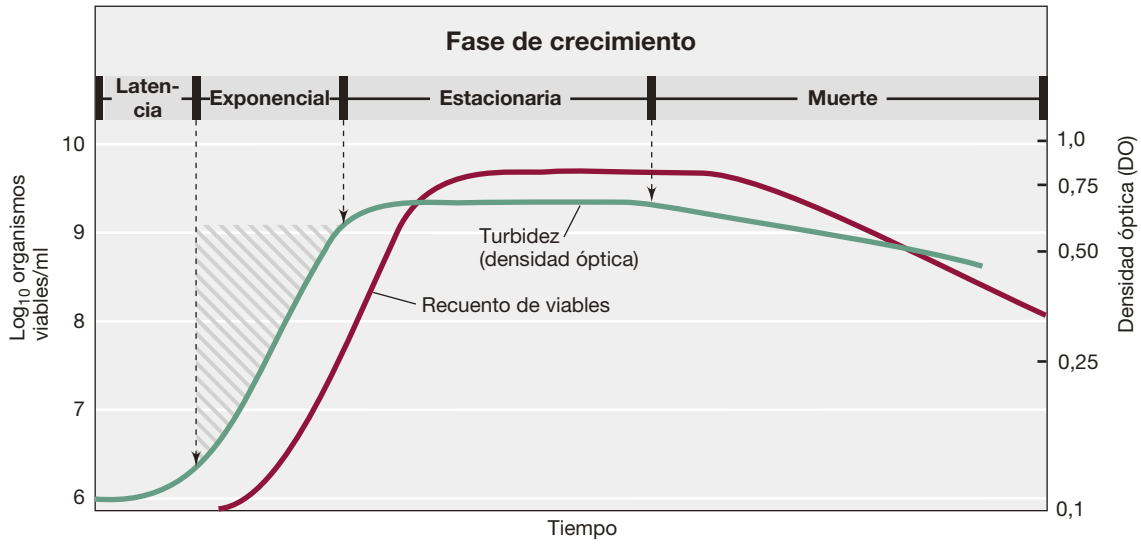


Figura 5.11 Curva de crecimiento típica de una población bacteriana. Un recuento de viables mide el número de células del cultivo que son capaces de reproducirse. La densidad óptica (turbidez), una medida cuantitativa de la dispersión de la luz por un medio de cultivo, aumenta con el aumento del número de células.

En la fase estacionaria no se produce aumento ni disminución netos del número de células, de modo que la velocidad de crecimiento de la población es cero. A pesar de la parada en el crecimiento, el metabolismo energético y los procesos biosintéticos pueden continuar, pero normalmente a una velocidad mucho más reducida. Algunas células pueden incluso dividirse durante la fase estacionaria, pero no se produce un aumento neto del número de células, ya que algunas células del cultivo crecen y otras mueren, de manera que ambos procesos se equilibran (crecimiento críptico). No obstante, más tarde o más temprano la población entra en la *fase de muerte* del ciclo de crecimiento que, al igual que la fase exponencial, se produce siguiendo una función exponencial (Figura 5.11). Sin embargo, normalmente la fase de muerte es mucho más lenta que la fase de crecimiento exponencial, y en un cultivo puede haber células viables durante meses o incluso años.

Las fases de crecimiento bacteriano que se muestran en la Figura 5.11 son un reflejo de las etapas por las que pasa una *población* de células, no las células individuales. Así, los términos fase de latencia, fase exponencial, etcétera, no significan nada para las células individuales, sino únicamente en referencia a una población. El crecimiento de una célula individual es un requisito necesario para el crecimiento de la población, pero es el crecimiento de la población el que importa más para la ecología de los microorganismos, porque las actividades microbianas cuantificables requieren poblaciones microbianas, no solo una célula microbiana individual.

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué fase de la curva de crecimiento se dividen las células en un período de tiempo constante?
- ¿En qué condiciones no se produciría una fase de latencia?
- ¿Por qué entran las células en fase estacionaria?

5.7 Cultivo continuo

Hasta aquí, nuestro estudio del crecimiento de la población se ha limitado a los cultivos discontinuos. El ambiente en un cultivo discontinuo cambia constantemente a causa del consumo de nutrientes y la producción de desechos. En un *dispositivo de cultivo continuo* es posible sortear estos cambios. A diferencia de los cultivos discontinuos, que son sistemas *cerrados*, los cultivos continuos son sistemas *abiertos*. En el recipiente de crecimiento de un cultivo continuo se añade un volumen conocido de medio fresco a velocidad constante y se elimina a la misma velocidad un volumen igual de medio de cultivo usado. Una vez en equilibrio, el volumen del recipiente, el número de células y la relación nutrientes/desechos permanecen constantes, y el cultivo alcanza el *estado estacionario*.

El quimiostato

El tipo más habitual de cultivo continuo es el **quimiostato**, un dispositivo en el que se puede controlar de manera independiente la velocidad de crecimiento (la *rapidez* con que se dividen las células) y la densidad celular (*cuántas* células se obtienen por mililitro) (Figura 5.12). Dos factores controlan la velocidad de crecimiento y la densidad celular, respectivamente: 1) la *velocidad de dilución*, que es la velocidad a la que el medio fresco entra y el medio usado sale; y 2) la *concentración de un nutriente limitante*, como la fuente de carbono o nitrógeno, presente en el medio estéril que entra en el recipiente del quimiostato.

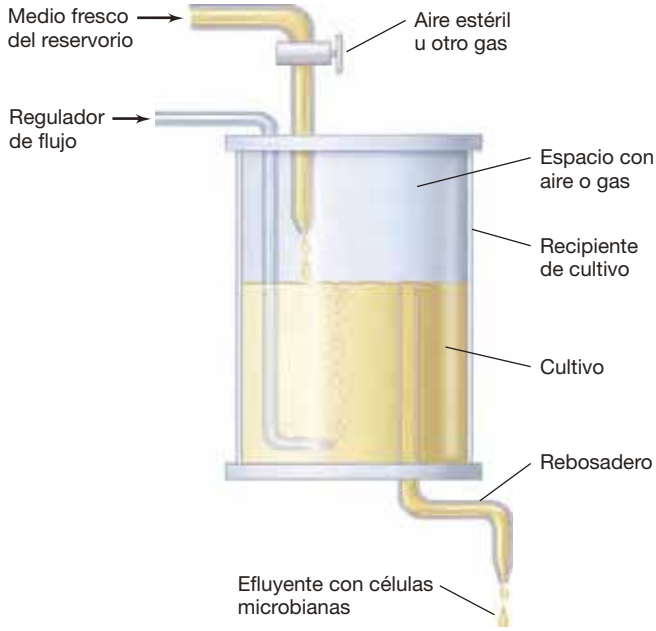


Figura 5.12 Esquema de un dispositivo de cultivo continuo (quimiostato). La densidad de la población está controlada por la concentración de nutriente limitante en el reservorio, y la velocidad de crecimiento, por la velocidad de flujo. Ambos parámetros pueden ser establecidos al realizar el experimento.

En un cultivo discontinuo, la concentración de nutrientes condiciona tanto la velocidad de crecimiento como el rendimiento (Figura 5.13). A concentraciones muy bajas de un nutriente determinado, la velocidad de crecimiento es submáxima porque el nutriente no puede ser transportado al interior de la célula lo bastante rápido para satisfacer las demandas metabólicas. A concentraciones más altas de nutriente se puede alcanzar la

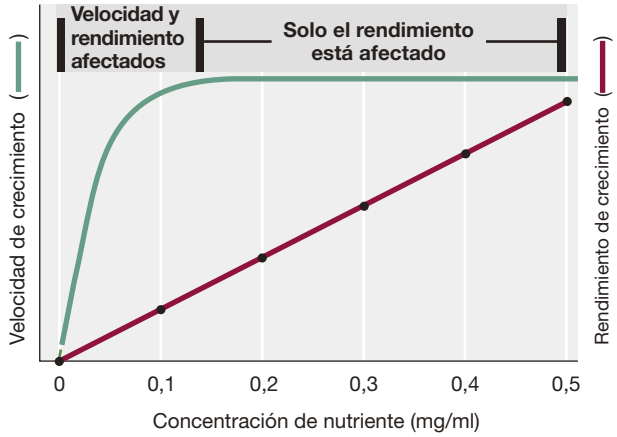


Figura 5.13 Efecto de los nutrientes en el crecimiento. Relación entre la concentración de nutriente, la velocidad de crecimiento (curva verde) y el rendimiento (curva roja) en un cultivo discontinuo (sistema cerrado). Solo a bajas concentraciones de nutriente se ven afectados tanto la velocidad de crecimiento como el rendimiento.

velocidad máxima, pero la densidad celular puede seguir aumentando en proporción a la concentración de nutrientes en el medio (Figura 5.13). En un quimiostato, en cambio, la velocidad de crecimiento y el rendimiento se controlan de manera independiente: la velocidad de crecimiento por la velocidad de dilución, y el rendimiento por la concentración del nutriente limitante.

Variación de los parámetros del quimiostato

En la **Figura 5.14** se muestran los efectos que se producen en el crecimiento bacteriano al variar la velocidad de dilución y la concentración del nutriente limitante en un quimiostato. Como se ve, la velocidad de dilución controla la velocidad de crecimiento dentro de unos límites bastante grandes, si bien a velocidades de dilución muy altas o muy bajas el estado estacionario se rompe. A una velocidad de dilución demasiado *alta*, el organismo no puede crecer lo bastante rápido para mantenerse con esa dilución y desaparece por lavado del quimiostato. En cambio, a una velocidad de dilución demasiado *baja* las células pueden morir por inanición, porque el nutriente limitante no se añade lo bastante rápido para que se lleve a cabo el metabolismo celular mínimo. No obstante, entre estos dos límites se pueden alcanzar diferentes velocidades de crecimiento, simplemente variando la velocidad de dilución.

La densidad celular en un quimiostato es controlada por un nutriente limitante exactamente igual que en un cultivo discontinuo (Figura 5.13). Si se aumenta la concentración de este nutriente en el medio entrante a una velocidad de dilución constante, la densidad celular aumentará, pero la velocidad de crecimiento seguirá siendo la misma. Así, variando la velocidad de dilución del quimiostato y la concentración de nutriente, para una velocidad de crecimiento determinada se pueden establecer poblaciones celulares diluidas (por ejemplo, 10^5 células/ml), moderadas (por ejemplo, 10^7 células/ml) o densas (por ejemplo, 10^9 células/ml).

Usos experimentales del quimiostato

Una ventaja práctica del quimiostato es que la población de células se puede mantener en la fase de crecimiento exponencial durante largos períodos, días o incluso semanas. Las células en fase exponencial suelen ser las preferidas para los experimentos fisiológicos, y si se cultivan en un quimiostato pueden estar siempre disponibles. Además, se pueden repetir los experimentos con la seguridad de que cada vez la población de células será siempre lo más parecida posible. Cuando se extrae una muestra del quimiostato es necesario un tiempo para que el recipiente vuelva a su volumen original y para que alcance de nuevo el estado estacionario. Transcurrido ese tiempo se puede volver a tomar una muestra.

El quimiostato se usa tanto en ecología microbiana como en fisiología microbiana. Por ejemplo, como en él se pueden imitar las concentraciones bajas de sustrato que a menudo se encuentran en la naturaleza, es posible averiguar qué organismos en cultivos mixtos de composición conocida sobreviven mejor en condiciones de limitación de nutrientes. Esto puede hacerse analizando los cambios en la comunidad microbiana en función de la variación de las condiciones nutricionales. El quimiostato también se ha utilizado para el enriquecimiento y el aislamiento de bacterias del medio natural. A partir de una muestra natural se puede seleccionar una población estable en las condiciones de nutrientes y de velocidad de dilución que se desee y, a continuación, aumentar lentamente la velocidad de dilución hasta que solo quede un organismo. De esta manera, estudiando la velocidad de crecimiento de varias bacterias del suelo, se aisló una bacteria con un tiempo de duplicación de 6 min, la bacteria con el crecimiento más rápido que se conoce.

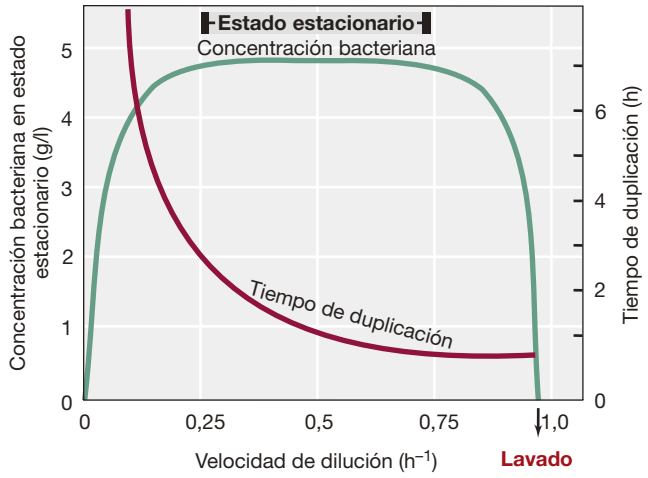


Figura 5.14 Relaciones en un quimiostato en estado estacionario. La velocidad de dilución está determinada por la velocidad de flujo y por el volumen del recipiente de cultivo. Así, con un recipiente de 1.000 ml y una velocidad de flujo de 500 ml/h la velocidad de dilución será de 0,5 h^{-1}. Obsérvese que a velocidades de dilución altas el crecimiento no puede equilibrar la dilución y la población se elimina por lavado. Obsérvese también que aunque la densidad de población se mantiene constante durante el estado estacionario, la velocidad de crecimiento (el tiempo de duplicación) puede variar mucho.

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué se diferencian los microorganismos de un quimiostato de los microorganismos de un cultivo discontinuo?
- ¿Qué ocurre en un quimiostato si la velocidad de dilución supera la velocidad de crecimiento máxima del organismo?
- ¿Se tienen que usar cultivos puros en un quimiostato?

III • Medida del crecimiento microbiano

El crecimiento de la población se mide a partir de los cambios en el número de células o en la concentración de algún componente celular como estimación del número de células. Estos componentes pueden ser proteínas, ácidos nucleicos o el propio peso seco de las células. A continuación hablaremos de dos métodos habituales para medir el crecimiento celular: el recuento de células y la turbidez, esta última como función de la masa celular.

5.8 Recuento por microscopía

El recuento total de células microbianas en un cultivo o en una muestra natural se puede llevar a cabo simplemente por observación y enumeración de las células presentes. El método más habitual es el *recuento celular microscópico*. Se pueden hacer recuentos microscópicos en muestras secas sobre portaobjetos o en muestras líquidas. Las muestras secas se pueden teñir para aumentar el contraste entre las células y el entorno (↻ Secciones 2.2 y 18.3). Con las muestras líquidas, se usan cámaras de recuento que consisten en una rejilla con cuadrados de área conocida grabados en la superficie de un portaobjetos de cristal (**Figura 5.15**). Cuando el cubreobjetos se coloca sobre la cámara, cada cuadrado de la rejilla tiene un volumen exacto medido. Se puede contar al microscopio el número de células por unidad de área de la rejilla, y se obtiene una medida del número de células por volumen de la cámara. El número de células por mililitro se calcula mediante un factor de conversión basado en el volumen de la muestra de la cámara (Figura 5.15).

Las células de las muestras líquidas también se pueden contar con un citómetro de flujo, que es una máquina que utiliza un haz de láser y una electrónica compleja para contar células individuales. La citometría de flujo no se suele utilizar para el recuento rutinario de células microbianas, pero tiene aplicaciones en el campo de la medicina para contar y diferenciar células sanguíneas y otros tipos de células en las muestras clínicas. También se ha utilizado en ecología microbiana para separar diferentes tipos de células con fines de aislamiento (↻ Sección 18.10).

Inconvenientes del recuento microscópico

El recuento microscópico es un método fácil y rápido de estimar el número de células microbianas; sin embargo, tiene varias limitaciones que restringen su utilidad a aplicaciones bastante específicas. Por ejemplo, sin técnicas de tinción especiales (↻ Sección 18.3), las células muertas no pueden distinguirse de las vivas, y es difícil conseguir la precisión incluso aunque se repitan los recuentos. Además, a menudo es difícil ver las células pequeñas al microscopio, lo que puede llevar a recuentos erróneos, y las suspensiones celulares de baja densidad (menos de 10^6 células/mililitro) tendrán pocas células (si es que hay alguna) en el campo del microscopio a no ser que se concentren y resuspendan previamente en un volumen pequeño. Por último, las células con motilidad tienen que estar muertas o inmovilizadas de algún modo antes de contarlas, y los desechos presentes en la muestra se pueden confundir fácilmente con células.

Recuento microscópico de células en ecología microbiana

A pesar de los muchos posibles inconvenientes, los ecólogos microbianos usan a menudo los recuentos microscópicos de células en muestras naturales; pero utilizan colorantes para visualizar las células, a menudo colorantes muy potentes que aportan importante información filogenética sobre las células o de otro tipo, como sus propiedades metabólicas.

El colorante DAPI (↻ Sección 2.2 y Figura 2.6*c*) tiñe todas las células de una muestra porque reacciona con el DNA. Además, se pueden preparar colorantes fluorescentes muy específicos para determinados organismos o grupos de organismos relacionados uniendo el colorante a sondas de ácidos nucleicos específicos. Por ejemplo, se pueden usar colorantes filogenéticos que tiñen únicamente especies de *Bacteria* o únicamente de *Archaea*, en combinación con colorantes inespecíficos para determinar la proporción de cada dominio en una muestra determinada; el uso de estos colorantes se comenta con detalle en la Sección 18.4. Otras sondas fluorescentes se dirigen a genes que codifican enzimas vinculadas a procesos metabólicos específicos; si una célula se tiñe con una de estas sondas, se puede suponer una propiedad metabólica clave que ponga de manifiesto la función ecológica de la célula en la comunidad microbiana. En todos estos casos, si las células de la muestra están presentes en poca cantidad, por ejemplo en una muestra de agua marina, esta limitación se puede superar concentrando primero las células en un filtro y contándolas luego después de teñirlas.

El recuento microscópico de células es muy fácil de hacer y suele aportar información muy útil, por lo que se usa de manera habitual en los estudios ecológicos de ambientes microbianos naturales. Hablaremos de ello con más detalle en el Capítulo 18.

MINIRREVISIÓN

- Cite algunos de los problemas que pueden surgir al contar células al microscopio con preparaciones sin teñir.
- ¿Cómo podría detectar, usando técnicas microscópicas, la presencia de arqueas en un lago alpino en el que la concentración de células totales es solamente de 10^5/ml?

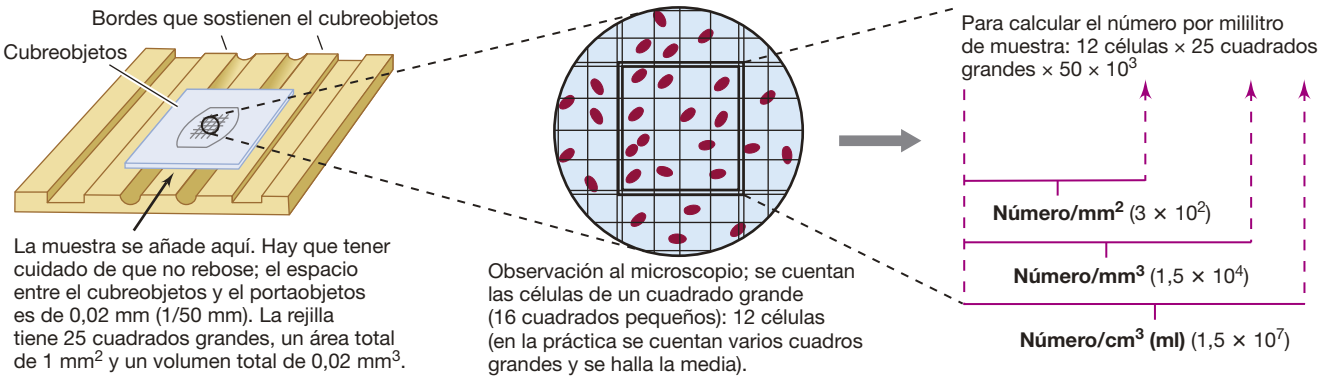


Figura 5.15 Recuento directo en el microscopio usando la cámara de recuento de Petroff-Hausser. Normalmente se usa un microscopio de contraste de fases para contar las células y evitar tener que teñirlas.

5.9 Recuento de células viables

Una célula **viable** es la que es capaz de dividirse y formar descendencia, y en la mayoría de las situaciones de recuento de células, son esas las que más interesan. Por eso se ha desarrollado el método de **recuento de viables**, llamado también **recuento en placa**, porque son necesarias placas de agar. En un recuento de viables se supone que cada célula viable crecerá y se dividirá para formar una colonia, de manera que el número de colonias refleja el número de células.

Métodos de recuento de células viables

Existen al menos dos métodos para llevar a cabo un recuento en placa: el método de *siembra por extensión en placa* y el método de *siembra por vertido en placa* (Figura 5.16). En el método de extensión en placa, sobre la superficie de una placa de agar se extiende, con ayuda de un asa de vidrio estéril, un volumen (normalmente 0,1 ml o menos) de un cultivo diluido adecuadamente. En el método de vertido en placa se pipetea un volumen conocido (normalmente 0,1-1,0 ml) de cultivo en una placa de Petri estéril; a continuación se añade medio de agar fundido, justo a la temperatura por encima de la de solidificación, y se mezcla con cuidado moviendo suavemente la placa encima de la poyata. Con ambos métodos es importante que el número de colonias que se desarrollen en el medio no sea ni demasiado alto ni demasiado bajo. En las placas demasiado llenas es posible que no todas las células formen colonias; además, algunas colonias podrían fusionarse, lo que provocaría mediciones erróneas. Si el número de colonias es demasiado pequeño, la significación estadística del recuento será baja. La práctica habitual, que es la más válida a efectos estadísticos, es contar colonias solamente en placas que tengan entre 30 y 300 colonias.

Para obtener el número de colonias adecuado, casi siempre hay que diluir la muestra que se va a contar. Como normalmente no se conoce el número aproximado de viables antes de hacer el recuento, suele ser necesario hacer más de una dilución. Generalmente se hacen diluciones decimales de la muestra (Figura 5.17). Para hacer una dilución decimal (10^{-1}) se mezclan 0,5 ml de muestra con 4,5 ml de diluyente, o 1,0 ml de muestra con 9,0 ml de diluyente. Si la dilución necesaria es centesimal (10^{-2}), se mezclan 0,05 ml con 4,95 ml de diluyente, o 0,1 ml con 9,9 ml de diluyente. También se puede obtener una dilución 10^{-2} haciendo dos diluciones decimales sucesivas. Con los cultivos densos, estas diluciones *en serie* son necesarias para conseguir una dilución adecuada para sembrar y conseguir colonias que puedan contarse. Así, se puede obtener una dilución 10^{-6} ($1/10^6$) haciendo tres diluciones 10^{-2} ($1/10^2$) sucesivas o seis diluciones 10^{-1} sucesivas (Figura 5.17).

Fuentes de error en el recuento en placa

El número de colonias obtenidas en un experimento de recuento de viables depende no solo del tamaño del inóculo y la viabilidad del cultivo, sino también del medio de cultivo y las condiciones de incubación. También puede cambiar con la duración de la incubación. Por ejemplo, si se cuenta un cultivo mixto, no todas las células depositadas en la placa formarán colonias a la misma velocidad; si se usa un tiempo de incubación corto se obtendrán menos colonias de las posibles. Además, el tamaño de las colonias puede variar. Si se desarrollan colonias muy pequeñas, pueden pasar desapercibidas durante el recuento. Con los cultivos puros, el desarrollo de las colonias es un proceso más sincrónico y la morfología uniforme de las colonias es la norma.

El recuento de viables puede estar sujeto a errores bastante considerables por varias razones, como la falta de homogeneidad

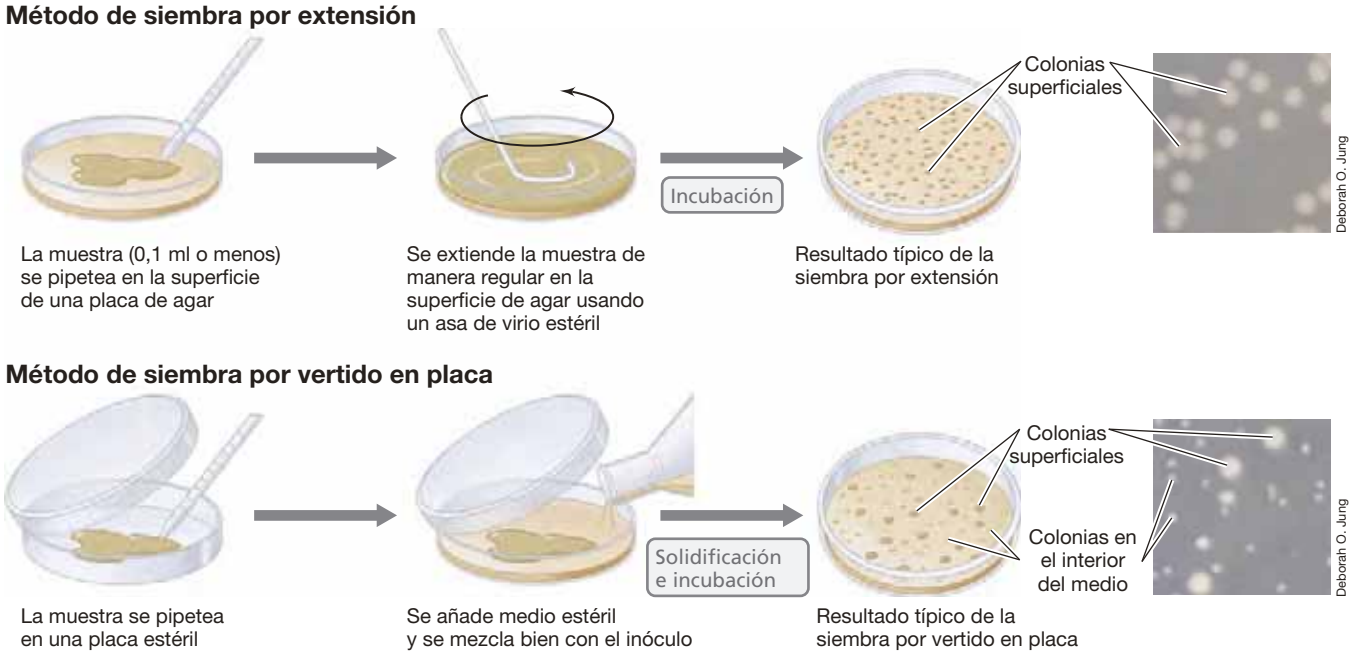


Figura 5.16 Dos métodos para la determinación de viables. En el método de vertido en placa, las colonias se forman tanto en la superficie como en el interior del agar. Las fotos de la derecha corresponden a colonias de *Escherichia coli* formadas a partir de células sembradas por extensión (arriba) y por vertido en placa (abajo).

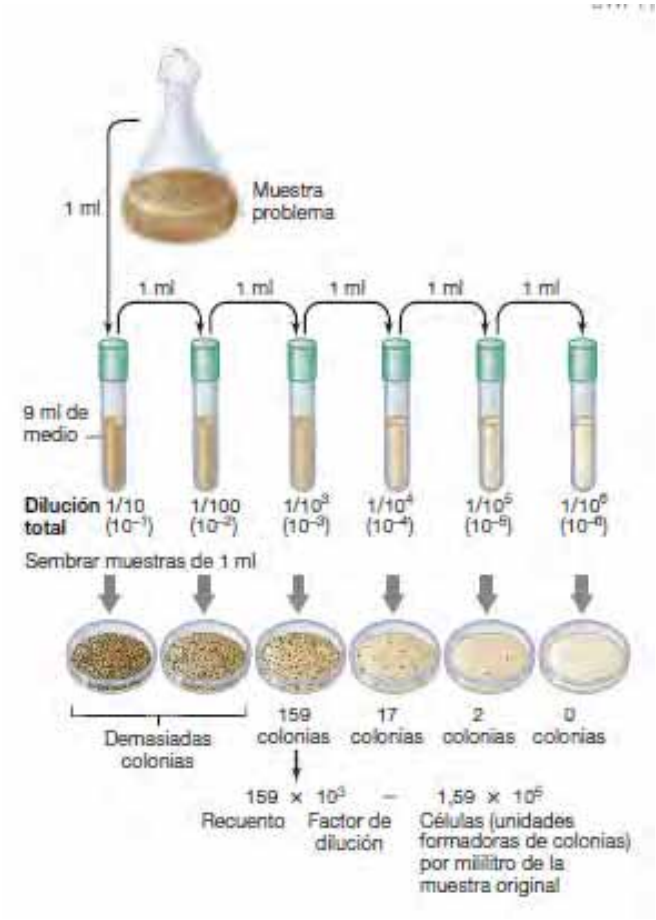


Figura 5.17 Procedimiento para el recuento de viables mediante diluciones en serie de la muestra y el método del vertido en placa. El líquido estéril usado para hacer las diluciones puede ser simplemente agua, pero una solución de sales minerales o un medio de cultivo suele dar mejor resultado. El factor de dilución es la inversa de la dilución.

en las siembras, imprecisiones en el pipeteo de la muestra líquida, muestras no uniformes (por ejemplo, muestras con grumos celulares), mezclado insuficiente, intolerancia al calor (si se preparan las placas por el método de vertido) y otros muchos factores. Por tanto, si hay que obtener recuentos precisos, se debe tener mucho cuidado en la preparación de las muestras y en la siembra, y hay que preparar duplicados de las placas con la dilución clave. Además, si hay dos o más células juntas crecerán para formar una sola colonia, así que si una muestra contiene muchos grumos el recuento de viables será equivocadamente bajo. Los datos de estas muestras se suelen expresar como número de *unidades formadoras de colonias* en lugar del número real de células viables, porque una unidad formadora de colonia puede contener una o más células.

Aplicaciones del recuento en placa

A pesar de las dificultades asociadas al recuento de viables, el procedimiento nos da una buena estimación del número de células viables en una muestra y se usa ampliamente en muchas subdisciplinas de la microbiología. Por ejemplo, en la microbiología de los alimentos, de la leche, médica y del medio acuático, el recuento de viables se emplea de manera rutinaria. El método tiene la virtud de ser muy sensible, porque se puede detectar incluso una sola célula viable por muestra sembrada. Esta característica permite la detección sensible de contaminación microbiana en los alimentos o en otros materiales.

El uso de medios y condiciones de cultivo muy selectivos permite utilizar el recuento en placa para identificar especies concretas en una muestra que contenga muchos microorganismos. Por ejemplo, un medio complejo que contenga NaCl al 10 % resulta muy útil para aislar especies de *Staphylococcus* de la piel, porque la sal inhibe el crecimiento de la mayoría de las otras bacterias (↪ Sección 29.9). En aplicaciones prácticas como las de la industria alimentaria, el recuento de viables en medios tanto complejos como selectivos permite la determinación cualitativa y cuantitativa de los microorganismos presentes en un producto alimentario. Es decir, con una sola muestra se puede utilizar un medio para el recuento total y un segundo medio para un organismo concreto, como un patógeno específico. El recuento dirigido también es habitual en los análisis de aguas residuales y de otros tipos de agua. Por ejemplo, las enterobacterias como *Escherichia coli* se originan a partir de las heces y son fáciles de identificar usando medios selectivos: si se detectan enterobacterias en una muestra de agua de una piscina, por ejemplo, su presencia es señal de que el agua es insalubre para el contacto humano.

La gran anomalía del recuento en placa

Los recuentos microscópicos directos de muestras naturales suelen detectar muchos más microorganismos de los que son recuperables en placas de cualquier medio de cultivo individual. Así, si bien es una técnica muy sensible, el recuento en placa puede ser muy poco fiable cuando se usa para evaluar el número total de células en muestras naturales como suelo y agua. Algunos microbiólogos se refieren a esto como «la gran anomalía del recuento en placa».

¿Por qué los recuentos en placa muestran menos cantidad de células que los recuentos microscópicos directos? Un factor obvio es que los métodos microscópicos cuentan células muertas y, por definición, los recuentos de viables no. No obstante, es más importante el hecho de que diferentes organismos, incluso aquellos presentes en muestras naturales muy pequeñas, pueden tener requisitos nutricionales y de condiciones de crecimiento notablemente diferentes en un cultivo de laboratorio (↪ Secciones 3.1 y 3.2). Así, un medio y un conjunto de condiciones de cultivo solo sustentarán un subgrupo del total de la comunidad microbiana. Si este subgrupo está formado, por ejemplo, por 10^6 células/g de una comunidad total de viables de 10^9 células/g, el recuento en placa solo estará detectando el 0,1 % de la población de células viables, una gran subestimación del número y de los tipos fisiológicos reales de organismos presentes en la muestra.

Por tanto, esta técnica se debe utilizar con gran precaución. Algunos recuentos en placa para fines específicos y usando medios muy selectivos como, por ejemplo, en los análisis microbianos de aguas residuales o de alimentos, a menudo ofrecen datos de gran fiabilidad, ya que se conoce la fisiología de los organismos que se quiere detectar. En cambio, los recuentos «totales» de las mismas muestras usando un solo medio y un conjunto de condiciones de crecimiento pueden ser, y normalmente lo son, subestimaciones del número real de células en uno o varios órdenes de magnitud.

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué un recuento de viables es más sensible que un recuento microscópico? ¿Qué suposición se hace al relacionar los resultados del recuento en placa con la cantidad de células?
- Describa cómo obtener una dilución 10^{-7} de un cultivo bacteriano.
- ¿En qué consiste la «gran anomalía del recuento en placa»?

5.10 Espectrofotometría

Durante el crecimiento exponencial, todos los componentes celulares aumentan en proporción al aumento del número de células. Uno de estos componentes es la propia masa celular. Las células dispersan la luz, y un método rápido y práctico de estimación de la masa celular es la medición de la *turbidez*. Una suspensión de células tiene un aspecto nebuloso (túrbido) a la vista porque las células dispersan la luz que pasa a través de la suspensión. Cuantas más células hay, más se dispersa la luz y más túrbida es la suspensión. Como la masa celular es proporcional al número de células, se puede usar la turbidez para estimarlo y es una técnica muy utilizada en microbiología.

Densidad óptica

La turbidez se mide con un espectrofotómetro, un instrumento que hace pasar la luz a través de una suspensión celular y mide la luz no dispersada que emerge (**Figura 5.18**). Un espectrofotómetro utiliza un prisma o una rejilla de difracción para generar luz incidente de una longitud de onda específica (Figura 5.18*a*). Las longitudes de onda utilizadas normalmente para las mediciones turbidimétricas bacterianas incluyen 480 nm (azul), 540 nm (verde), 600 nm (naranja) y 660 nm (rojo). La sensibilidad es mejor a longitudes de onda más cortas, pero las mediciones de suspensiones celulares densas son más precisas a longitudes más grandes. La unidad de turbidez es la *densidad óptica (DO)* a la longitud de onda especificada, por ejemplo DO_{540} para mediciones a 540 nm (Figura 5.18). El término *absorbancia* (A), por ejemplo A_{540}, también se usa habitualmente, pero es importante saber que lo que mide un espectrofotómetro es la *dispersión* de la luz, y no la *absorbancia*.

Relación entre densidad óptica y número de células

Para organismos unicelulares, la densidad óptica es proporcional, dentro de ciertos límites, al número de células. Por tanto, las lecturas turbidimétricas se pueden usar como sustituto de los métodos de recuento total o recuento de viables. Sin embargo, para poder hacer esto hay que preparar una curva de calibración que relacione el número de células (recuento microscópico o recuento de viables), el peso seco o el contenido de proteínas con la turbidez. En una representación de este tipo, la proporcionalidad solo se cumple dentro de unos límites (Figura 5.18*c*). Cuando la densidad es muy alta, la luz de la fotocélula del espectrofotómetro dispersada por una célula puede ser dispersada de vuelta hacia la fotocélula por otra célula, de manera que para la fotocélula es como si esta luz no se hubiera dispersado en

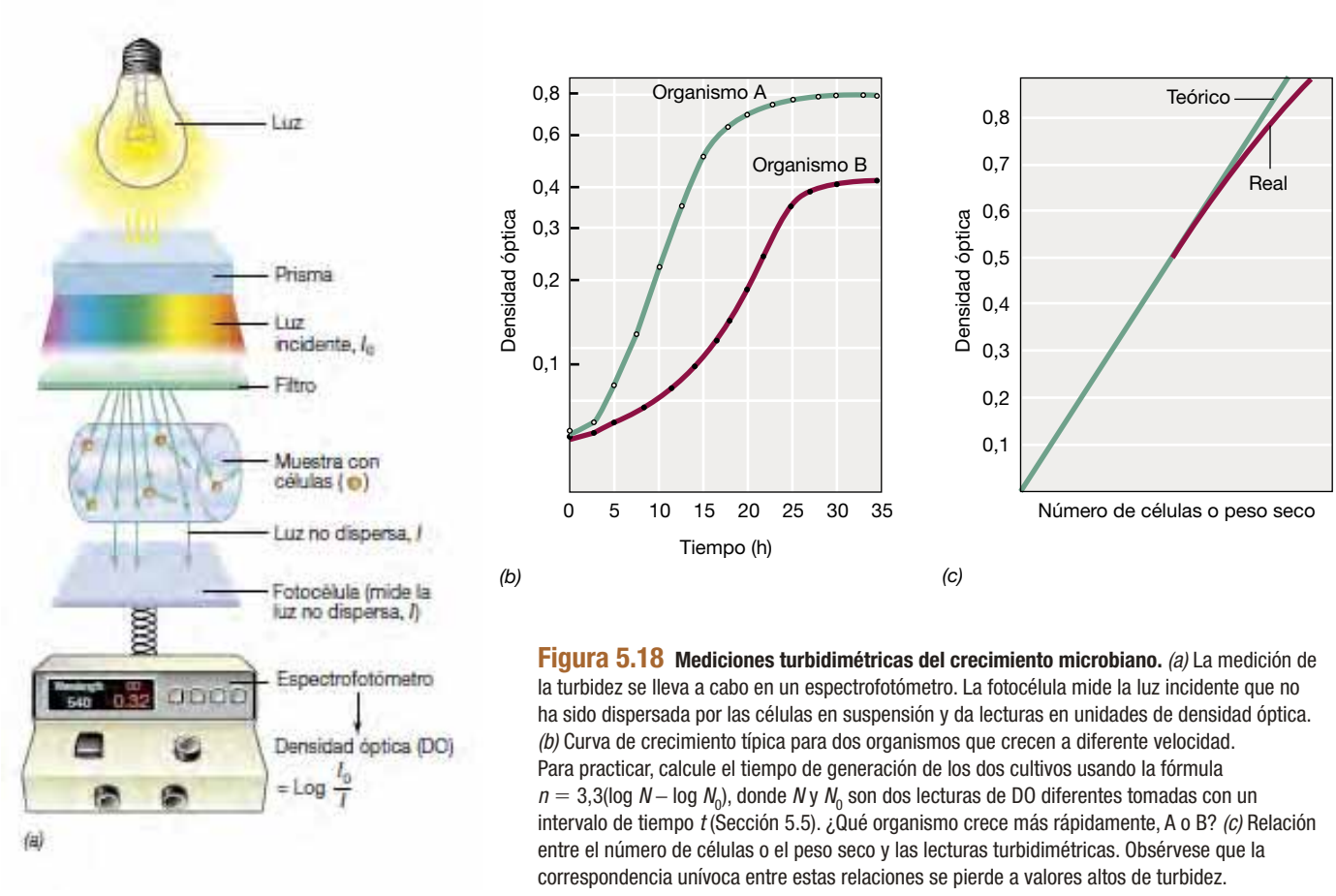


Figura 5.18 Mediciones turbidimétricas del crecimiento microbiano. *(a)* La medición de la turbidez se lleva a cabo en un espectrofotómetro. La fotocélula mide la luz incidente que no ha sido dispersada por las células en suspensión y da lecturas en unidades de densidad óptica. *(b)* Curva de crecimiento típica para dos organismos que crecen a diferente velocidad. Para practicar, calcule el tiempo de generación de los dos cultivos usando la fórmula $n = 3{,}3(\log N - \log N_0)$, donde N y N_0 son dos lecturas de DO diferentes tomadas con un intervalo de tiempo t (Sección 5.5). ¿Qué organismo crece más rápidamente, A o B? *(c)* Relación entre el número de células o el peso seco y las lecturas turbidimétricas. Obsérvese que la correspondencia unívoca entre estas relaciones se pierde a valores altos de turbidez.

absoluto. A densidades ópticas tan altas, la correspondencia unívoca entre el número de células y la turbidez se desvía de la linealidad y las mediciones de DO pierden precisión. No obstante, si no se rebasan estos límites las mediciones turbidimétricas dan valores muy precisos del número de células o del peso seco. Además, puesto que organismos diferentes difieren en tamaño y forma, números de células iguales para dos especies bacterianas diferentes no necesariamente darán el mismo valor de densidad óptica. Así pues, para relacionar DO con los números de células reales hay que construir una curva de calibración que relacione estos dos parámetros para cada organismo que se cultive habitualmente en el laboratorio.

Pros y contras del crecimiento turbidimétrico

Por una parte, las mediciones turbidimétricas son rápidas y fáciles de hacer, y además normalmente no destruyen ni alteran significativamente la muestra. Por estas razones, se utilizan mucho para llevar un control del crecimiento de los cultivos puros de bacterias, arqueas y muchos eucariotas microbianos. Con los ensayos turbidimétricos se puede hacer un recuento repetido de la misma muestra y elaborar un gráfico semilogarítmico en función del tiempo (Sección 5.5). A partir de aquí es fácil calcular el tiempo de generación y otros parámetros del cultivo en crecimiento (Figura 5.18*b*).

Por otra parte, en ocasiones las mediciones turbidimétricas pueden ser problemáticas. Si bien muchos microorganismos crecen en suspensiones uniformes en medio líquido, otros muchos no lo hacen. Algunas bacterias forman normalmente grumos pequeños o grandes, y en esos casos los valores de la DO pueden ser bastante imprecisos como medida de la masa microbiana total. Además, muchas bacterias crecen formando películas a los lados de los tubos o de otros recipientes, imitando en el laboratorio una forma normal de crecimiento en la naturaleza (véase «Explorando el mundo microbiano: Pegarse o nadar»). Por tanto, para que las mediciones de la DO sean un reflejo preciso de la masa celular (y, por tanto, del número de células) en un cultivo líquido, conviene reducir al mínimo los grumos y las biopelículas. Normalmente esto se consigue agitando, revolviendo o, de alguna manera, manteniendo las células bien mezcladas durante el proceso de crecimiento para impedir que se formen agregados y que las células nadadoras se peguen a las superficies, que es el primer paso en la formación de biopelículas. Algunas bacterias simplemente son planctónicas naturales —se mantienen bien suspendidas en medio líquido durante largos períodos— y no forman biopelículas. Pero si tienen a su disposición una superficie sólida, la mayoría de las bacterias con motilidad desarrollarán con el tiempo una biopelícula estática, de manera que la cuantificación precisa del número de células por turbidimetría puede ser una tarea difícil o incluso imposible.

MINIRREVISIÓN

- Cite dos ventajas de usar la turbidez como medida del crecimiento celular.
- Describa cómo se puede usar una medición turbidimétrica para saber el número de colonias que se espera al sembrar en placa un cultivo con una DO determinada.

IV • Efecto de la temperatura en el crecimiento microbiano

A los microorganismos les afecta notablemente el estado químico y físico del ambiente; hay cuatro factores principales que controlan el crecimiento: la temperatura, el pH, la disponibilidad de agua y el oxígeno. Empezaremos con la temperatura, el factor ambiental que influye de manera más decisiva en el crecimiento y la supervivencia de los microorganismos.

5.11 Clases de microorganismos según la temperatura

A temperaturas demasiado frías o demasiado calientes los microorganismos no podrán crecer e incluso pueden morir. Las temperaturas máxima y mínima que permiten el crecimiento varían mucho entre organismos diferentes, y normalmente reflejan el intervalo de temperatura y la temperatura media del ambiente en el que habitan dichos organismos.

Temperaturas cardinales

La temperatura afecta a los organismos de dos formas opuestas. Cuando la temperatura sube, la velocidad de las reacciones enzimáticas aumenta y el crecimiento se acelera. Sin embargo, por encima de una temperatura determinada, las proteínas y otros componentes celulares pueden desnaturalizarse o dañarse irreversiblemente. Para cada microorganismo existe una temperatura *mínima* por debajo de la cual no es posible el crecimiento, una temperatura *óptima* a la que el crecimiento es más rápido, y una temperatura *máxima* por encima de la cual tampoco es posible el crecimiento. Estas tres temperaturas, llamadas **temperaturas cardinales** (Figura 5.19), son características para cada microorganismo y pueden diferir enormemente entre especies. Por ejemplo, algunos organismos tienen temperaturas óptimas cerca de los 0 °C, mientras que para otros la temperatura óptima está por encima de los 100 °C. El intervalo de temperaturas en el que es posible el crecimiento microbiano es todavía más amplio, desde solo –15 °C hasta al menos 122 °C. No obstante, ningún microorganismo puede crecer en todo ese intervalo de temperaturas; el intervalo adecuado para cualquier microorganismo suele ser de unos 40 °C.

La temperatura máxima de crecimiento de un organismo refleja la temperatura por encima de la cual se produce la desnaturalización de uno o más componentes celulares esenciales, como alguna enzima fundamental. Los factores que controlan la temperatura mínima de crecimiento de un organismo no están del todo claros. No obstante, la membrana citoplasmática tiene que permanecer en estado semifluido para que puedan tener lugar el transporte de nutrientes y las funciones bioenergéticas. Es decir, si la membrana citoplasmática de un organismo se vuelve rígida hasta el punto en que no realice correctamente el transporte o no pueda seguir desarrollando o consumiendo

En este capítulo hemos analizado varias maneras de medir el crecimiento microbiano: métodos microscópicos, recuento de viables y mediciones de dispersión de la luz (turbidez) por células suspendidas en un cultivo líquido. Las mediciones turbidimétricas del crecimiento bacteriano suponen que las células permanecen distribuidas uniformemente en su medio de cultivo líquido. En estas condiciones, la densidad óptica de un cultivo es proporcional al logaritmo del número de células en suspensión (**Figura 1**). Este estilo de vida flotante, llamado *planctónico*, es propio de algunas bacterias en la naturaleza, por ejemplo, los organismos que habitan en la columna de agua de un lago. No obstante, otros muchos microorganismos son *sésiles*, lo que significa que crecen adheridos a una superficie. Estas células adheridas pueden desarrollar **biopelículas**.

Los humanos nos tropezamos con biopelículas bacterianas todos los días, por ejemplo cuando limpiamos el bol del agua del perro, que lleva sin limpiar varios días, o cuando notamos con la lengua la «película» que crece sobre los dientes cuando no se han cepillado.

Una biopelícula es una matriz polisacarídica adherida que contiene células bacterianas embebidas y se forma en cuatro etapas: 1) unión reversible de células planctónicas, 2) unión irreversible de las mismas células, 3) crecimiento celular y producción de polisacáridos, y 4) desarrollo ulterior para formar la biopelícula madura, persistente y casi impenetrable. En las etapas tempranas de la formación de una biopelícula, la adherencia de las células bacterianas a una superficie desencadena la expresión de genes específicos de la biopelícula. Se transcriben los genes que codifican proteínas que producen polisacáridos de la superficie celular, y el incremento de la capa mucosa facilita la unión de más células.

Las estructuras de motilidad de las bacterias nadadoras —los flagelos— son necesarias para establecer inicialmente la biopelícula. Las finas estructuras llamadas pelos de tipo IV (↻ Sección 2.13), que recuerdan a los flagelos pero no rotan como ellos, son cruciales para la maduración de las biopelículas. Finalmente, mediante el crecimiento y la incorporación de otras células, se desarrollan en su totalidad comunidades microbianas en la matriz polisacarídica mucosa.

Las biopelículas bacterianas pueden tener una gran influencia en la vida de los humanos. Por ejemplo, las infecciones bacterianas están vinculadas con frecuencia a patógenos que desarrollan biopelículas durante el proceso de la enfermedad. La fibrosis quística (FQ) es una enfermedad genética que se caracteriza por el desarrollo de una biopelícula que contiene *Pseudomonas aeruginosa* y otras bacterias en los pulmones de los pacientes que la padecen (**Figura 2**). La matriz de la biopelícula, que contiene alginato y otros polisacáridos así como DNA bacteriano, reduce enormemente la capacidad de los agentes antimicrobianos, como los antibióticos, para penetrar en el interior de la biopelícula, de manera que las bacterias que la forman resultan poco afectadas por los fármacos. Las biopelículas bacterianas también están implicadas en las infecciones difíciles de tratar causadas por implantes de dispositivos médicos, como la válvulas cardiacas de sustitución o las prótesis articulares.

Las biopelículas también son un gran problema en la industria; pueden ensuciar equipos y contaminar productos, especialmente si se trata de líquidos ricos en nutrientes, como la leche. También pueden causar daños a largo plazo a los sistemas de distribución de aguas y otras instalaciones públicas (↻ Secciones 21.10 y 21.11). Las biopelículas que se desarrollan en contenedores de almacenamiento, como los tanques de combustible, pueden contaminar el combustible y estropearlo debido a la presencia de compuestos químicos, como sulfuro de hidrógeno (H_2S), excretados por las bacterias de la biopelícula.

Las biopelículas son una forma habitual de crecimiento bacteriano en la naturaleza. Además de ofrecer protección frente a sustancias perjudiciales, la gruesa matriz de la biopelícula proporciona una barrera contra los protistas, e impide que las bacterias sean eliminadas por lavado hacia un hábitat menos favorable. Así, mientras que la densidad óptica nos ofrece el perfil de laboratorio de los cultivos bacterianos perfectamente suspendidos, en el mundo «real» a menudo se observa el crecimiento bacteriano en estado de biopelícula.

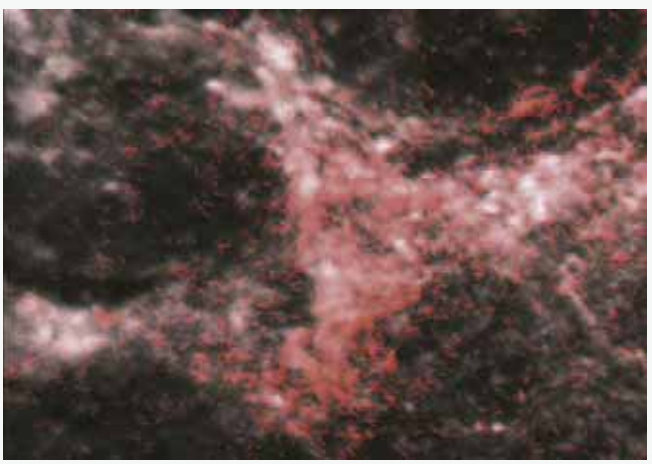
Examinaremos las biopelículas con más detalle cuando hablemos de las superficies como hábitats microbianos en las Secciones 19.4 y 19.5.



Deborah O. Jung

OD_{540} 0 0,18 0,45 0,68

Figura 1 Cultivos líquidos de *Escherichia coli*. En estos cultivos, las células están en estado planctónico y suspendidas uniformemente en el medio. La densidad óptica (DO_{540}) creciente (de izquierda a derecha) de cada cultivo se indica bajo cada tubo. La densidad óptica es una medida de la dispersión de la luz y se midió a 540 nm como se describe en la Figura 5.18*a*. Aunque aquí se muestra creciendo en suspensión, *E. coli* también forma biopelículas. La unión de las células de *E. coli* está facilitada por sus fimbrias de tipo I y los pelos conjugativos (↻ Sección 2.13).



Soren Molin

Figura 2 Células de *Pseudomonas aeruginosa* teñidas con un colorante fluorescente. Las células proceden de una muestra de esputo de un paciente con fibrosis quística. Las células rojas son *P. aeruginosa*, y el material blanco es alginato, un material de tipo polisacarídico producido por las células de *P. aeruginosa*.

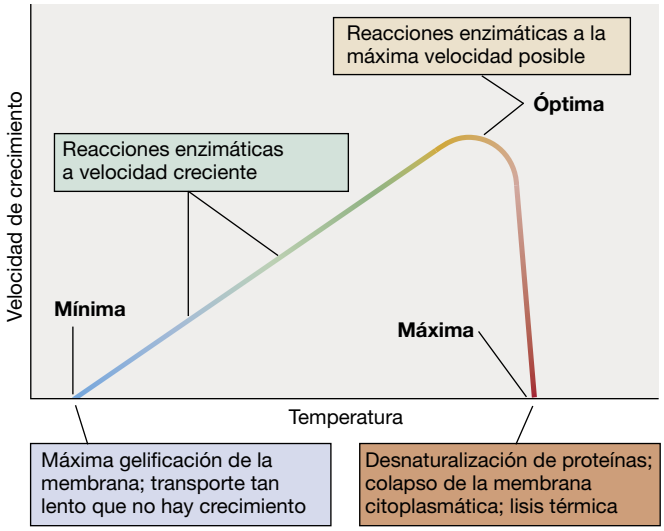


Figura 5.19 **Temperaturas cardinales: mínima, óptima y máxima.** Los valores reales pueden variar notablemente para organismos diferentes (véase la Figura 5.20).

fuerza motriz de protones, el organismo no podrá crecer. A diferencia de la temperatura mínima y máxima, la temperatura *óptima* de crecimiento refleja un estado en el que todos o la mayoría de los componentes celulares funcionan a su velocidad máxima, y normalmente está más cerca de la máxima que de la mínima (véase la Figura 5.20).

Clases de organismos según la temperatura

Si bien existe todo un espectro continuo de organismos, desde los que tienen la temperatura óptima muy baja hasta los que la tienen muy alta, es posible distinguir cuatro grandes clases de microorganismos en relación a su temperatura de crecimiento óptima: **psicrófilos**, con temperatura óptima baja; **mesófilos**, con temperatura óptima moderada; **termófilos**, con temperatura óptima alta, e **hipertermófilos**, con temperatura óptima muy alta (Figura 5.20).

Los mesófilos están muy extendidos en la naturaleza y son los microorganismos más estudiados. Se encuentran en los animales de sangre caliente y en ambientes acuáticos y terrestres en las latitudes templadas y tropicales. Los psicrófilos y los termófilos se encuentran en ambientes inusualmente fríos o inusualmente cálidos, respectivamente. Los hipertermófilos viven en hábitats extremadamente cálidos como fuentes termales, géiseres y fumarolas oceánicas.

Escherichia coli es un mesófilo típico, y sus temperaturas cardinales están claramente definidas. La temperatura óptima para la mayoría de sus cepas está cerca de 39 °C, la máxima son 48 °C y la mínima 8 °C. Así pues, el *intervalo* de temperatura para *E. coli* es de unos 40 grados, próximo al límite máximo para los procariotas (Figura 5.20).

Nos centraremos ahora en los interesantes casos de microorganismos que viven en ambientes con temperaturas muy bajas o muy altas. Analizaremos algunos de los problemas fisiológicos a los que se enfrentan y algunas de las soluciones bioquímicas que han desarrollado para sobrevivir en esas condiciones extremas.

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué se diferencian un hipertermófilo y un psicrófilo?
- ¿Cuáles son las temperaturas cardinales de *Escherichia coli*? ¿A qué clase de organismos pertenece por su temperatura óptima?
- *E. coli* puede crecer a temperaturas más altas en un medio complejo que en uno definido. ¿Por qué?

5.12 Vida microbiana a bajas temperaturas

Los humanos vivimos y trabajamos en la superficie de la Tierra, donde las temperaturas son generalmente moderadas, de manera que es natural considerar los ambientes muy fríos y muy calientes como «extremos». Sin embargo, muchos hábitats microbianos están muy fríos o muy calientes, y los

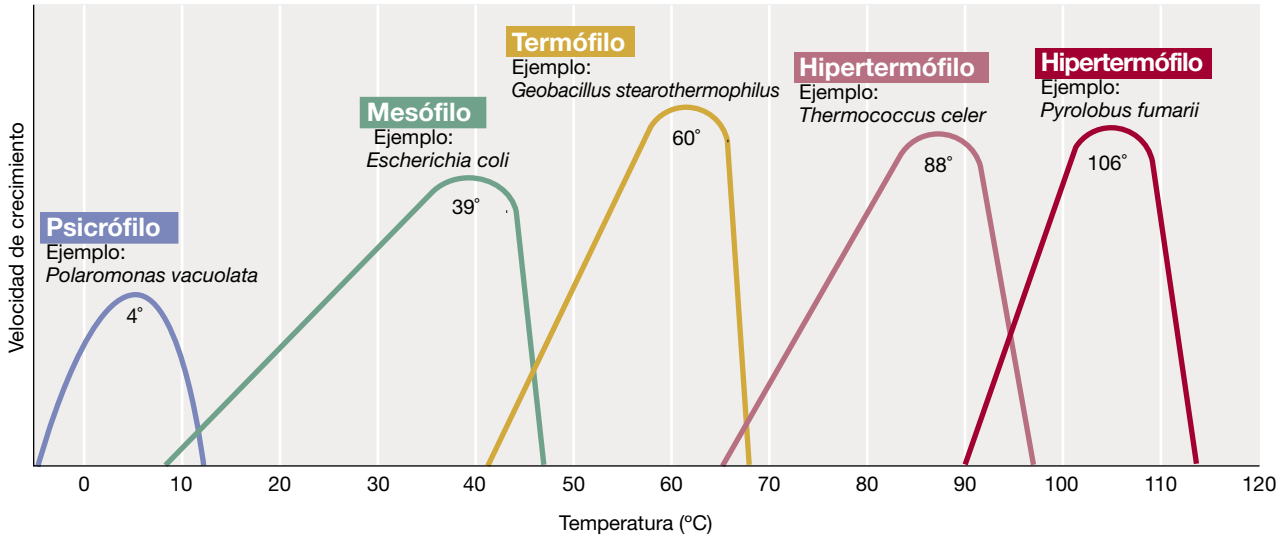


Figura 5.20 **Relación entre la temperatura y la velocidad de crecimiento de las diferentes clases de microorganismos.** En la gráfica se indica la temperatura óptima de cada organismo representativo.

organismos que los habitan se llaman *extremófilos* (↻ Sección 1.4 y Tabla 1.1). En esta sección y en la siguiente estudiaremos la biología de estos fascinantes organismos.

Ambientes fríos

Gran parte de la superficie de la tierra es fría. El mar, que constituye cerca de la mitad de la superficie terrestre, tiene una temperatura media de 5 °C, y las profundidades oceánicas tienen temperaturas constantes de 1 °C a 3 °C. Grandes extensiones del Ártico y de la Antártida están permanentemente congeladas o se descongelan solamente unas pocas semanas durante el verano (**Figura 5.21**). Estos ambientes fríos contienen vida microbiana diversa, al igual que los glaciares, donde la red de canales de agua líquida que corren a través y por debajo de ellos bullen de microorganismos. Incluso en los materiales permanentemente congelados existen pequeñas bolsas con agua líquida en la que se concentran los solutos y los microorganismos pueden llevar a cabo su metabolismo y crecer lentamente (↻ Capítulo 1, página 1).

Cuando hablamos de ambientes fríos, es importante distinguir entre ambientes que están *permanentemente* fríos y los que lo están *estacionalmente*. Estos últimos, característicos de climas templados, pueden alcanzar en verano temperaturas de hasta 40 °C. Un lago templado, por ejemplo, puede tener una cubierta de hielo en invierno, pero el tiempo que el agua permanece a 0 °C es relativamente corto. En cambio, los lagos antárticos cuentan con una cubierta de hielo permanente de varios metros de grosor (Figura 5.21*d*), y la columna de agua por debajo del hielo en esos lagos permanece a 0 °C o menos durante todo el año. Los sedimentos marinos también están permanentemente fríos. Por tanto, no resulta sorprendente que los mejores ejemplos de bacterias y arqueas activas a bajas temperaturas se encuentren en estos ambientes.

Microorganismos psicrófilos y psicrotolerantes

Un psicrófilo es un organismo con una temperatura óptima de crecimiento de 15 °C o menos, una temperatura máxima por debajo de 20 °C y una temperatura mínima de 0 °C o menos. Los

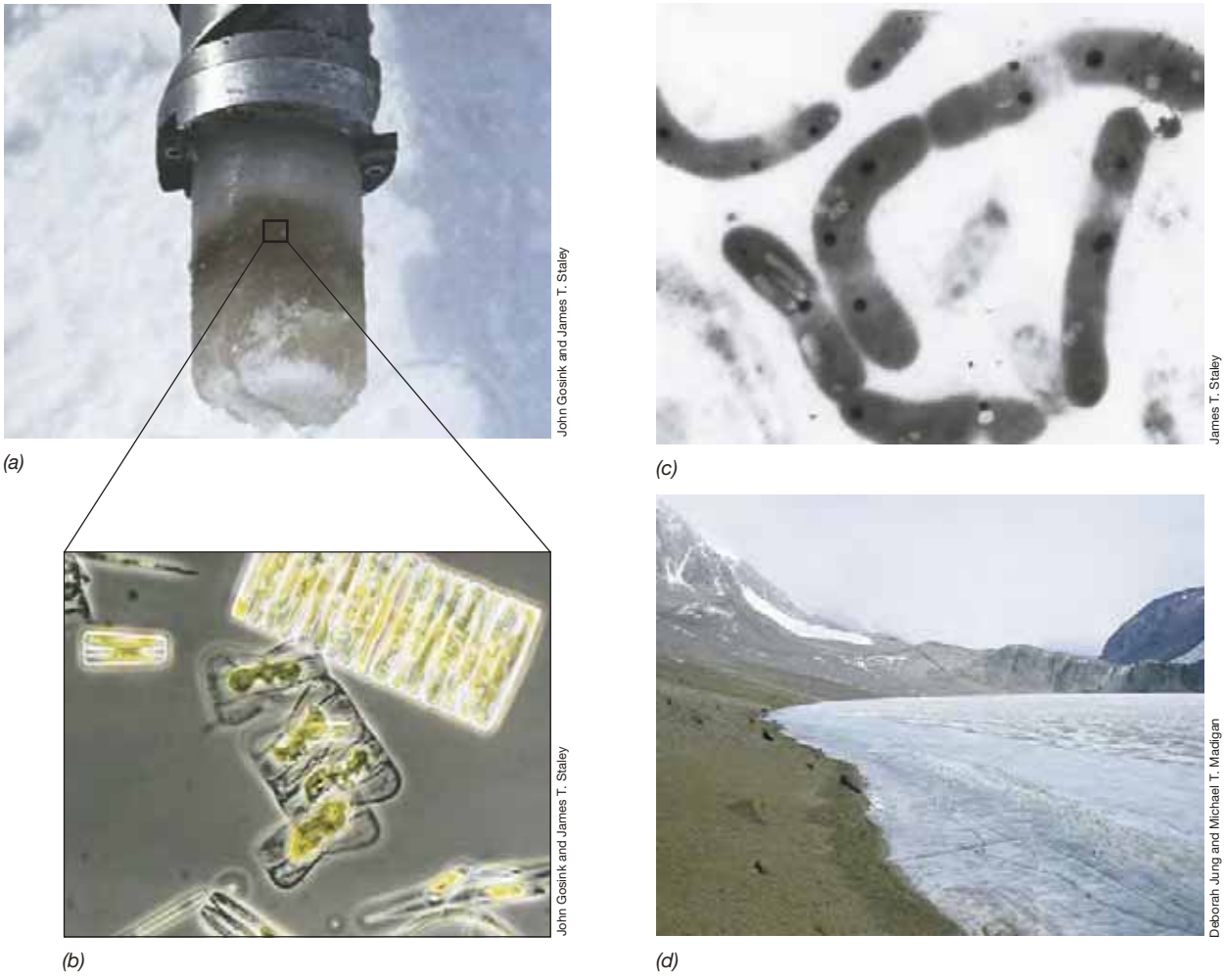


Figura 5.21 Hábitats microbianos y microorganismos de la Antártida. *(a)* Cilindro de muestreo de agua permanentemente congelada del estrecho de McMurdo, en la Antártida. La muestra tiene unos 8 cm de ancho. Obsérvese la densa coloración debida a los pigmentos de los microorganismos. *(b)* Micrografía de contraste de fases de microorganismos fotótrofos del cilindro de *a*. La mayoría de los microorganismos son diatomeas o algas verdes (ambos eucariotas fotótrofos). *(c)* Micrografía electrónica de transmisión de *Polaromonas*, una bacteria con vesículas de gas que vive en los hielos marinos y tiene una temperatura óptima de crecimiento de 4 °C. *(d)* Lago Bonney, en los Valles Secos de McMurdo (Antártida). Aunque el lago está permanentemente cubierto de hielo, la columna de agua bajo el hielo permanece a una temperatura cercana a los 0 °C y contiene una gama variada de procariotas y de eucariotas microbianos.

organismos que crecen a 0 °C pero tienen temperaturas óptimas de crecimiento entre 20 °C y 40 °C se llaman **psicrotolerantes**. Los psicrófilos se encuentran en ambientes que están siempre fríos y pueden morir por calentamiento, incluso a solo 20 °C. Por esta razón, su estudio en laboratorio requiere un gran cuidado para asegurar que no se calientan durante el muestreo, el transporte al laboratorio, el aislamiento u otras manipulaciones. Los verdaderos psicrófilos no pueden vivir en ambientes con frío estacional, porque no pueden sobrevivir al calentamiento.

Las algas y bacterias psicrófilas crecen a menudo en densas masas dentro y debajo del hielo marino (agua de mar que se congela en invierno) en las regiones polares (Figura 5.21*a*, *b*, *c*) y también se pueden encontrar en la superficie de zonas permanentemente nevadas y glaciares donde prestan un color distintivo a la superficie (**Figura 5.22*a***). El alga de las nieves *Chlamydomonas nivalis* es un ejemplo de esto, y sus esporas son las responsables del brillante color rojo de la superficie de la nieve (Figura 5.22*b*). Esta alga verde crece en la nieve en forma de células vegetativas con pigmentos verdes y luego esporula. Cuando la nieve se disipa por fusión, erosión y ablación (evaporación y sublimación), las esporas se concentran en la superficie. Otras especies emparentadas con el alga de las nieves contienen diferentes pigmentos carotenoides, de manera que las superficies nevadas donde viven pueden ser también verdes, naranja, marrones o violáceas.

Se han aislado diversas bacterias psicrófilas, y algunas de ellas presentan temperaturas óptimas de crecimiento muy bajas. Una especie de *Psychromonas*, bacteria que se encuentra en el hielo marino, crece a –12 °C, la temperatura más baja para cualquier bacteria conocida. Sin embargo, el límite de temperatura más bajo para el crecimiento bacteriano está, probablemente, más cerca de –20 °C. Incluso a esta temperatura tan baja pueden existir cavidades con agua líquida, y algunos estudios han demostrado que las enzimas de bacterias activas a temperaturas bajas siguen funcionando en estas condiciones. La velocidad de crecimiento a temperaturas tan bajas probablemente será extremadamente reducida, con tiempos de duplicación de meses o incluso años. Pero si un organismo puede crecer, incluso a una velocidad bajísima, puede seguir siendo competitivo y mantener una población en su hábitat.

Los organismos psicrotolerantes están más distribuidos en la naturaleza que los psicrófilos y se pueden aislar de suelos y agua de climas templados, así como de carne, productos lácteos, sidra, verduras y fruta almacenados a temperaturas de refrigeración estándar (4 °C). Aunque crecen a 0 °C, la mayoría no lo hace del todo bien, y normalmente hay que esperar semanas antes de obtener un crecimiento visible en el laboratorio. Por el contrario, el mismo organismo cultivado a 30 °C o 35 °C puede presentar velocidades de crecimiento similares a las de muchos mesófilos. Varias bacterias, arqueas y eucariotas microbianos son psicrotolerantes.

Adaptaciones moleculares para la psicrofilia

Los psicrófilos producen enzimas que funcionan —a menudo de manera óptima— en el frío y que pueden desnaturalizarse o inactivarse a temperaturas incluso muy moderadas. Las bases moleculares para esto no se conocen bien, pero están claramente vinculadas a la estructura de las proteínas. Algunas enzimas activas a bajas temperaturas cuya estructura se conoce presentan en su estructura secundaria un mayor contenido de hélices α y menor de láminas β (↻ Sección 4.14) que las enzimas con poca actividad o ninguna en absoluto a esas temperaturas. Como las láminas β suelen ser más rígidas que las hélices α, el mayor contenido de estas últimas en las enzimas activas en el frío permite a estas enzimas más flexibilidad para catalizar sus reacciones a bajas temperaturas. Las enzimas activas a bajas temperaturas también suelen tener mayor contenido de aminoácidos polares y menor de aminoácidos hidrófobos (↻ Figura 4.30 para las estructuras de los aminoácidos) y menos enlaces débiles, como puentes de hidrógeno y enlaces iónicos que las enzimas correspondientes de los mesófilos. En conjunto, es probable que

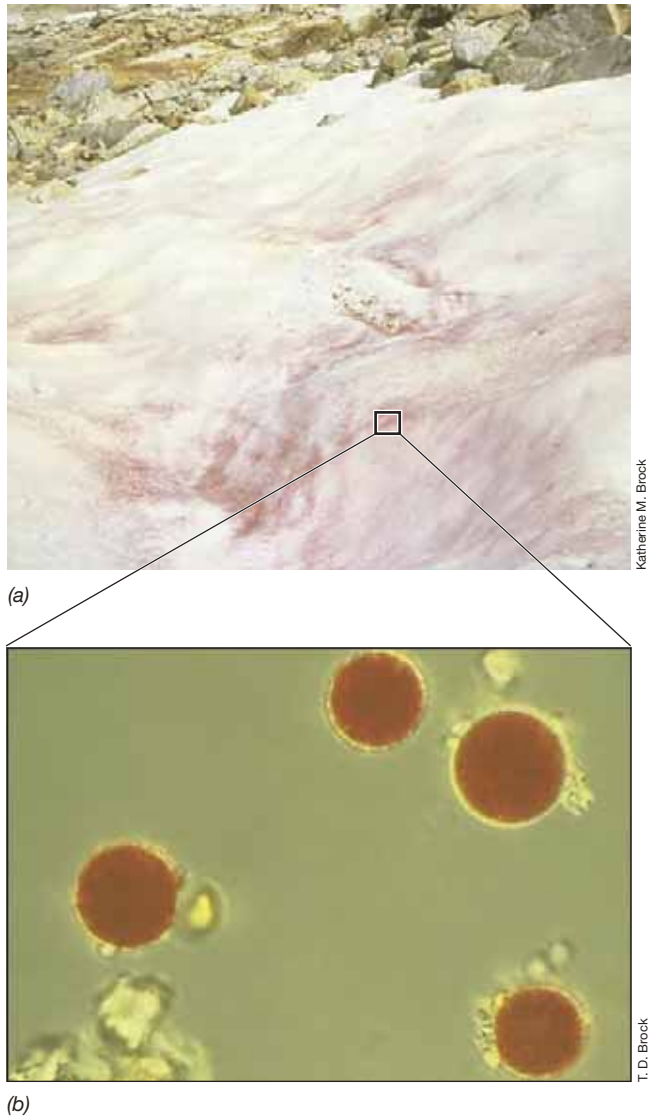


Figura 5.22 **Alga de las nieves.** *(a)* Banco de nieve en Sierra Nevada (California), con coloración roja debida a la presencia del alga de las nieves. La nieve rosada es común durante el verano en bancos de nieve de elevadas altitudes de todo el mundo. *(b)* Micrografía de esporas pigmentadas de rojo del alga de las nieves *Chlamydomonas nivalis*. Las esporas germinan originando células del alga verdes y con motilidad. Algunas cepas del alga de las nieves son verdaderas psicrófilas, pero muchas son psicrotolerantes y crecen mejor a temperaturas por encima de los 20 °C. Desde un punto de vista filogenético, *C. nivalis* es un alga verde, y estos organismos se tratan en la Sección 17.16.

estas propiedades moleculares mantengan flexibles y funcionales estas enzimas en condiciones de frío.

Otra característica de los psicrófilos es que su membrana citoplasmática sigue siendo funcional a temperaturas bajas. Una mayor cantidad de ácidos grasos insaturados y de cadena corta en la membrana citoplasmática permite a la membrana mantener su estado semifluido a bajas temperaturas para poder llevar a cabo importantes funciones bioenergéticas y de transporte. Algunas bacterias psicrófilas incluso contienen ácidos grasos *poliinsaturados*, y a diferencia de los ácidos grasos monoinsaturados o saturados que suelen hacerse más rígidos a bajas temperaturas, los poliinsaturados permanecen flexibles incluso cuando hace mucho frío.

Otras adaptaciones moleculares a las bajas temperaturas son las proteínas de «choque térmico» y los crioprotectores, que no están limitados a los psicrófilos. Las proteínas de choque térmico están presentes incluso en *Escherichia coli*, y tienen distintas funciones como mantener otras proteínas en forma activa en condiciones de frío o unirse a mRNA específicos y facilitar su traducción. Entre estos últimos, en concreto, a los mRNA que codifican otras proteínas funcionales en frío, la mayoría de las cuales no se sintetizan cuando la célula está creciendo a altas temperaturas. entre los crioprotectores hay proteínas anticongelantes determinadas o solutos específicos, como el glicerol o ciertos azúcares que se producen en gran cantidad a temperaturas bajas; estos agentes ayudan a impedir la formación de cristales de hielo que pueden dañar la membrana citoplasmática. Las bacterias muy psicrófilas también suelen producir abundantes exopolisacáridos, a los que se atribuye asimismo propiedades crioprotectoras.

Aunque las temperaturas de congelación pueden impedir el crecimiento microbiano, no necesariamente causan la muerte. Se ha visto que algunos psicrófilos tienen metabolismo a temperaturas mucho más bajas que las necesarias para crecer, y se ha observado respiración microbiana (medida como producción de CO_2) en suelos de tundra a casi –40 °C. Por tanto, las enzimas siguen funcionando a temperaturas muy por debajo de las que permiten el crecimiento celular. El medio en el que las células están suspendidas también afecta a su sensibilidad a las temperaturas de congelación, y se ha tenido en cuenta para la conservación de células bacterianas en colecciones de cultivos microbianos. Por ejemplo, las células suspendidas en un medio de crecimiento con 10 % de sulfóxido de dimetilo (DMSO) o glicerol y congeladas a –80 °C (en un ultracongelador) o a –196 °C (en nitrógeno líquido) siguen siendo viables en estado congelado durante años.

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué se diferencian los organismos psicrotolerantes de los psicrófilos?
- ¿Qué adaptaciones moleculares a las bajas temperaturas se han observado en la membrana citoplasmática de los psicrófilos? ¿Por qué son necesarias?

5.13 Vida microbiana a altas temperaturas

La vida microbiana florece en ambientes a altas temperaturas, desde suelos y charcos calentados por el sol hasta las fuentes termales en las que el agua alcanza el punto de ebullición, y los organismos que viven en estos ambientes están normalmente muy adaptados a su temperatura ambiental. Los estudiaremos a continuación (↪ Secciones 15.18 y 15.19 y Capítulo 16).

Ambientes con temperaturas altas

Los organismos cuya temperatura óptima de crecimiento supera los 45 °C se llaman *termófilos*, y aquellos cuya temperatura óptima está por encima de los 80 °C son *hipertermófilos* (Figura 5.20). La superficie de suelos muy expuestos a la luz del sol se puede calentar hasta los 50 °C a mediodía, y algunos pueden llegar incluso hasta los 70 °C. Los materiales en fermentación como los montones de compost y los ensilados también pueden alcanzar temperaturas de 70 °C y los termófilos abundan en estos ambientes. No obstante, los ambientes más extremos en la naturaleza por sus altas temperaturas son las fuentes termales, y son el hábitat de una gran diversidad de termófilos e hipertermófilos.

Muchas fuentes termales terrestres tienen temperaturas próximas a la de ebullición, mientras que las fuentes termales oceánicas, llamadas *fumarolas hidrotermales*, pueden alcanzar temperaturas de 350 °C o más. Hay fuentes termales en todo el mundo, pero son especialmente abundantes en el oeste de los Estados Unidos, en Nueva Zelanda, Islandia, Japón, Italia, Indonesia, América Central y en el centro de África. La mayor concentración del mundo de fuentes termales está en el parque nacional de Yellowstone, en Wyoming (EE. UU.). Algunas fuentes termales tienen una temperatura variable, pero en muchas de ellas es prácticamente constante, con una variación de menos de 1 °C o 2 °C a lo largo de los años. Además, diferentes fuentes termales tienen composición química y valores de pH diferentes. Por encima de los 65 °C solo se encuentran en ellas procariotas (**Tabla 5.1**), pero la diversidad de bacterias y arqueas suele ser muy amplia.

Hipertermófilos en fuentes termales

En las fuentes termales en ebullición se encuentra una gran variedad de hipertermófilos (**Figura 5.23**), tanto especies de quimioorganótrofos como de quimiolitótrofos. La velocidad de crecimiento de los hipertermófilos se puede estudiar muy fácilmente en el terreno introduciendo un portaobjetos en una fuente termal y retrándolo unos días más tarde; el examen microscópico pondrá de manifiesto las microcolonias de procariotas que se han desarrollado a partir de células individuales que se han adherido a la superficie de vidrio y han crecido allí (Figura 5.23*b*). Estudios ecológicos sencillos como este han demostrado que las velocidades de crecimiento microbianas son a menudo bastante altas incluso en fuentes con agua en ebullición; se han llegado a registrar tiempos de generación de tan solo 1 hora.

Se han obtenido cultivos de diversos hipertermófilos que corresponden a tipos morfológicos y fisiológicos variados de bacterias y arqueas. Algunas arqueas hipertermófilas tienen temperaturas de crecimiento óptimas por encima de 100 °C, pero no se conocen especies bacterianas que crezcan por encima de los 95 °C. Mantener cultivos de laboratorio de organismos con temperaturas óptimas por encima del punto de ebullición requiere recipientes presurizados que permitan que la temperatura del medio de cultivo suba por encima de 100 °C. Los organismos más tolerantes al calor que se conocen habitan

Tabla 5.1 Límites superiores de temperatura conocidos para el crecimiento de seres vivos

Grupo	*Límite de temperatura superior (°C)*
Macroorganismos	
Animales	
Peces y otros vertebrados acuáticos	38
Insectos	45–50
Ostrácodos (crustáceos)	49-50
Plantas	
Plantas vasculares	45 (60 para una especie)
Musgos	50
Microorganismos	
Microorganismos eucariotas	
Protozoos	56
Algas	55-60
Hongos	60-62
Procariotas	
Bacterias	
Cianobacterias	73
Fotótrofos anoxigénicos	70-73
Quimioorganótrofos/quimiolitótrofos	95
Arqueas	
Quimioorganótrofos/quimiolitótrofos	122

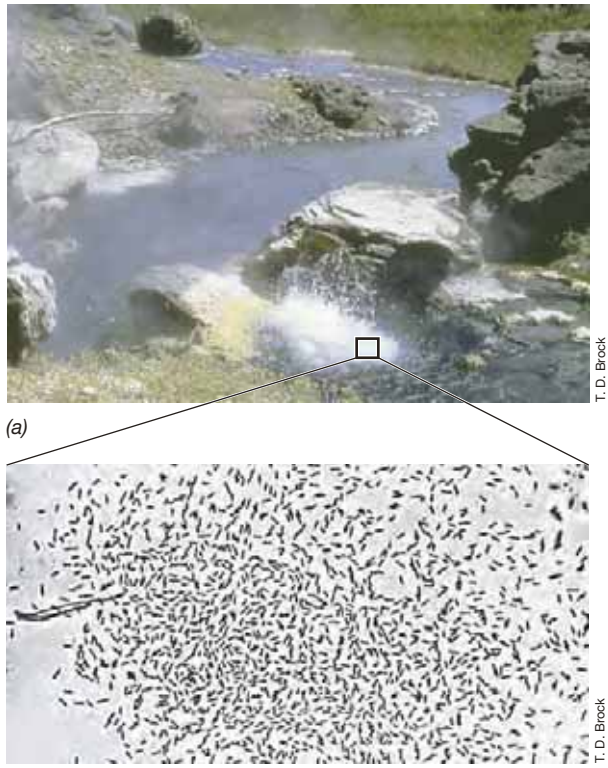


Figura 5.23 **Crecimiento de hipertermófilos en agua hirviendo.** *(a)* Boulder Spring, una pequeña fuente en ebullición en el parque nacional estadounidense de Yellowstone. Este manantial tiene una temperatura muy alta, de entre 1 °C y 2 °C por encima del punto de ebullición. Los depósitos minerales alrededor del manantial están formados principalmente de silicio y azufre. *(b)* Micrografía de una microcolonia de procariotas desarrollada en un portaobjetos de microscopio que se introdujo en esa fuente termal.

en las fumarolas hidrotermales, y el ejemplo más termófilo es, con mucho, la arquea metanógena *Methanopyrus*, capaz de crecer a 122 °C.

Termófilos

Hay muchos termófilos (temperaturas óptimas de 45 °C a 80 °C) presentes en fuentes hidrotermales, pero también los hay en otros muchos sitios. A medida que el agua hirviendo se aleja de la fuente termal, se va enfriando y se forma un gradiente de temperatura. A lo largo de este gradiente se establecen diferentes microorganismos, y cada especie crece en un intervalo diferente de temperatura (**Figura 5.24**). Estudiando la distribución de las especies a lo largo de estos gradientes térmicos naturales se ha podido determinar el límite superior de temperatura para cada gran grupo de microorganismos (Tabla 5.1). A partir de esta información podemos concluir que 1) los organismos procariotas son capaces de crecer a temperaturas mucho más altas que los eucariotas, 2) los procariotas más termófilos son ciertas especies de arqueas, y 3) los organismos no fotótrofos pueden crecer a temperaturas más altas que los fotótrofos.

Se han encontrado también procariotas termófilos en entornos artificiales, como calentadores de agua, que normalmente funcionan a temperaturas de 60 °C a 80 °C. Se han aislado organismos similares a *Thermus aquaticus*, un termófilo habitual en las fuentes hidrotermales, de calentadores de agua domésticos o industriales. Las centrales eléctricas, los vertidos de agua caliente y otras fuentes artificiales también son sitios en los que pueden crecer los termófilos. Muchos de estos organismos se pueden aislar fácilmente con medios de cultivo complejos incubados a la temperatura del hábitat de donde se obtuvo la muestra.

Estabilidad de las proteínas a altas temperaturas

¿Cómo sobreviven los termófilos y los hipertermófilos a las altas temperaturas? En primer lugar, sus enzimas y otras proteínas son mucho más estables frente al calor que las de los mesófilos y, en realidad, su funcionamiento es *óptimo* a altas temperaturas. Sin embargo, sorprendentemente, los estudios realizados con varias enzimas termoestables han demostrado que su secuencia de aminoácidos a menudo difiere muy poco de la de las formas termosensibles de las mismas enzimas de los mesófilos. Aparentemente, la sustitución de algunos aminoácidos en solo unos pocos puntos clave permite a la proteína plegarse de una manera especial que la hace termoestable.

La estabilidad térmica de las proteínas de los hipertermófilos también está reforzada por un mayor número de enlaces iónicos entre aminoácidos básicos y ácidos y el interior de la proteína, a menudo muy hidrófobo; todo ello combinado hace a las proteínas más resistentes al desplegamiento. Por último, ciertos hipertermófilos producen en grandes cantidades solutos como el fosfato de diinositol, el fosfato de diglicerol y el


Nancy L. Spear

Figura 5.24 Crecimiento de cianobacterias termófilas en un manantial de agua caliente del parque nacional de Yellowstone. Patrón de desarrollo característico en forma de V (marcado por la línea blanca discontinua) formado por cianobacterias en el límite superior de temperatura para la vida fotótrofa, entre 70 °C y 73 °C, en el gradiente térmico formado a partir de un manantial a temperatura de ebullición. El patrón cambia porque el agua se enfría más rápidamente en los bordes que en el centro del cauce. El manantial fluye desde detrás de la fotografía hacia la parte anterior de la misma. El color verde claro se debe a una cepa de la cianobacteria *Synechococcus*, resistente a la temperatura. A medida que el agua fluye a lo largo del gradiente, la densidad celular aumenta, se desarrollan menos cepas termófilas y el color verde se hace más intenso.

manosilglicerato, que parece ser que ayudan a estabilizar las proteínas frente a la desnaturalización térmica.

Las enzimas de los termófilos y los hipertermófilos tienen muchos usos comerciales. Pueden catalizar reacciones bioquímicas a altas temperaturas y en general son más estables que las enzimas mesófilas, de manera que las preparaciones enzimáticas con ellas tienen una vida útil más prolongada. Un ejemplo clásico es la DNA-polimerasa aislada de *Termus aquaticus*. La *Taq-polimerasa*, como se la conoce, se utiliza en los pasos repetitivos automatizados de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), una técnica para obtener múltiples copias de una secuencia de DNA, que es fundamental en la biología moderna (↻ Sección 11.3). También se conocen o se están desarrollando otros usos de las enzimas y de otros productos celulares termoestables para aplicaciones industriales específicas.

Estabilidad de las membranas a altas temperaturas

Además de las enzimas y otras macromoléculas de la célula, las membranas citoplasmáticas de los termófilos y los hipertermófilos deben ser termoestables. El calor separa de manera natural la bicapa lipídica que constituye la membrana citoplasmática. En los termófilos, esto se contrarresta construyendo membranas con cadenas más largas, mayor contenido de ácidos grasos saturados y menor de insaturados que el de las membranas de los mesófilos. Los ácidos grasos saturados forman un ambiente hidrófobo más fuerte que los insaturados, y las cadenas más largas tienen un punto de fusión más elevado que las cortas; en conjunto, todo ello aumenta la estabilidad de la membrana.

Los hipertermófilos, arqueas en su mayoría, no contienen ácidos grasos en sus membranas, sino hidrocarburos C_{40} formados por unidades repetitivas de isopreno (↻ Figuras 2.16*c* y 2.17) unidas por enlaces éter a fosfato de glicerol. Además, la arquitectura de las membranas citoplasmáticas de los hipertermófilos tiene una característica exclusiva: se trata de una *monocapa* lipídica en lugar de una *bicapa* (↻ Figura 2.17*e*). La estructura en monocapa une covalentemente un lado de la membrana con el otro, y esto impide su fusión a las altas temperaturas de crecimiento de los hipertermófilos. Analizaremos otros aspectos de la estabilidad de los hipertermófilos, como la estabilidad de su DNA, en el Capítulo 16.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué dominio de los procariotas comprende especies con temperaturas óptimas por encima de los 100 °C? ¿Qué técnicas especiales son necesarias para cultivarlos?
- ¿En qué se diferencia la membrana citoplasmática de las arqueas hipertermófilas de la de *Escherichia coli* y por qué esta estructura es útil para crecer a altas temperaturas?
- ¿Qué es la *Taq*-polimerasa y por qué es importante?

V • Otros factores ambientales que afectan al crecimiento microbiano

Como acabamos de ver, la temperatura tiene una importancia fundamental en el crecimiento de los microorganismos. Pero hay otros muchos factores que afectan al crecimiento; los principales son el pH, la osmolaridad y el oxígeno.

5.14 Efecto del pH en el crecimiento microbiano

La acidez o la alcalinidad de una solución se expresa mediante el valor de su **pH** en una escala logarítmica en la que la neutralidad corresponde al pH 7 (**Figura 5.25**). Los valores de pH menores de 7 son *ácidos* y los más altos de 7 son *alcalinos* o *básicos*. En analogía con el intervalo de temperatura, cada microorganismo tiene un intervalo de pH, normalmente de entre 2 y 3 unidades, dentro del cual es posible el crecimiento. Además, cada organismo muestra un valor óptimo bien definido de pH para el crecimiento. La mayoría de los ambientes naturales tienen un pH de entre 3 y 9, y los organismos con pH óptimos de crecimiento en este intervalo son los más habituales. Los términos usados para describir los organismos que crecen mejor a intervalos de pH concretos se muestra en la **Tabla 5.2**.

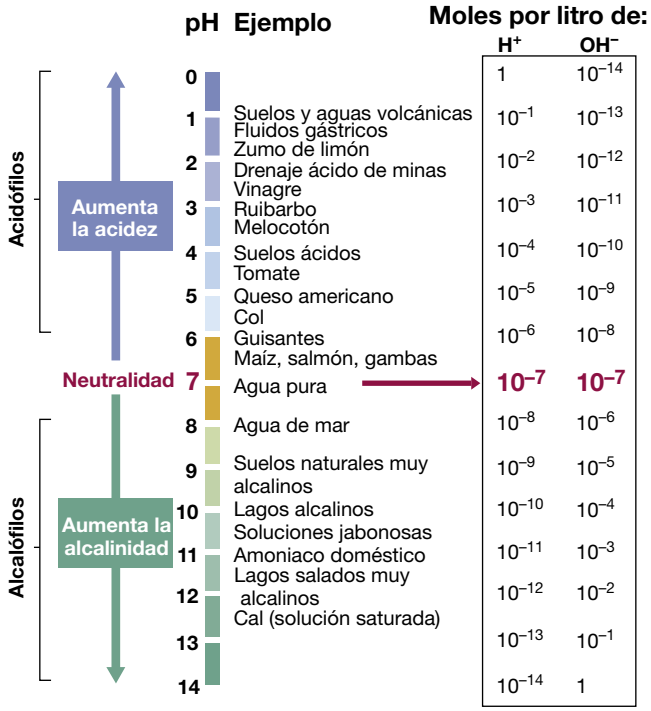


Figura 5.25 **La escala de pH.** Aunque algunos microorganismos pueden vivir a pH muy altos o muy bajos, el pH interno de la célula se mantiene cerca de la neutralidad.

Acidófilos

Los organismos que crecen de manera óptima a un valor de pH en el intervalo *neutro* (pH de 5,5 a 7,9) se llaman **neutrófilos** (Tabla 5.2). Por otra parte, los que crecen mejor a pH por debajo de 5,5 se llaman **acidófilos**. Hay distintas clases de acidófilos: algunos crecen mejor a pH moderadamente ácidos y otros a pH muy bajos. Muchos hongos y bacterias crecen mejor a pH 5 o incluso más bajos, y hay un grupo muy restringido que crece de manera óptima a pH por debajo de 2; los que crecen a pH inferiores a 1 son extremadamente raros. La mayoría de los acidófilos no pueden crecer a pH 7, y muchos no pueden crecer a valores de más de dos unidades por encima de su pH óptimo.

Tabla 5.2 Relaciones de los microorganismos con el pH

Clase fisiológica (intervalo óptimo)	*pH óptimo aproximado para el crecimiento*	*Ejemplo de organismo*[a]
Neutrófilo (pH > 5,5 y < 8)	7	*Escherichia coli*
Acidófilo (pH < 5,5)	5	*Rhodopila globiformis*
	3	*Acidithiobacillus ferrooxidans*
	1	*Picrophilus oshimae*
Alcalófilo (pH ≥ 8)	8	*Chloroflexus aurantiacus*
	9	*Bacillus firmus*
	10	*Natronobacterium gregoryi*

[a]*Picrophilus* y *Natronobacterium* son arqueas; el resto son bacterias.

Un factor fundamental para el carácter acidófilo es la estabilidad de la membrana citoplasmática. Cuando el pH sube hasta valores neutros, la membrana citoplasmática de las bacterias muy acidófilas se destruye y las células se lisan. Ello indica que estos organismos no son únicamente *tolerantes* a los ácidos, sino que *necesitan* una alta concentración de protones para la estabilidad de la membrana citoplasmática. Por ejemplo, el procariota más acidófilo conocido es *Picrophilus oshimae*, una especie de *Archaea* que crece de manera óptima a pH 0,7 y 60 °C (es también termófilo). Por encima de pH 4, las células de *P. oshimae* se lisan espontáneamente. Como es de esperar, *P. oshimae* habita en suelos termales muy ácidos asociados a la actividad volcánica.

Alcalófilos

Unos pocos extremófilos tienen valores óptimos de pH muy altos, a veces incluso de 10, y algunos pueden crecer, aunque muy lentamente, a pH aún mayores. Los microorganismos con crecimiento óptimo a pH de 8 o más se llaman **alcalófilos**. Los microorganismos alcalófilos se encuentran normalmente en hábitats muy alcalinos, como lagos alcalinos y suelos muy carbonatados. Los procariotas alcalófilos mejor estudiados son ciertas especies de *Bacillus*, como *Bacillus firmus*. Este organismo es alcalófilo, pero tiene un intervalo inusualmente amplio de pH para crecer, desde 7,5 hasta 11. Algunos procariotas alcalófilos extremos son también halófilos (les gusta la sal), y la mayoría de ellos son arqueas (↻ Sección 16.1). Algunas bacterias rojas fotótrofas (↻ Sección 14.4) también son muy alcalófilas. Determinados alcalófilos tienen uso industrial porque producen exoenzimas hidrolíticas, como proteasas y lipasas. Las exoenzimas se excretan de la célula, y en el caso de los alcalófilos sus exoenzimas deben funcionar bien a pH alcalinos. Estas enzimas se producen comercialmente a gran escala y se añaden como suplementos a los detergentes para la ropa con el fin de quitar las manchas de proteínas y de grasa.

Los alcalófilos son interesantes por varias razones, especialmente por cómo funciona su bioenergética. Pensemos en cómo puede generar una célula su fuerza motriz de protones (↻ Sección 3.11) cuando la superficie externa de su membrana citoplasmática es tan alcalina. Una estrategia para sortear este problema en *B. firmus* es el uso de sodio (Na^+) en lugar de H^+ para impulsar las reacciones de transporte y la motilidad; es decir, una fuerza motriz de sodio en lugar de una fuerza motriz de protones. No obstante, en *B. firmus* la síntesis de ATP está acoplada a la fuerza motriz de protones, a pesar de lo alcalino de la superficie externa de su membrana. No se sabe con certeza cómo se lleva esto a cabo, pero se piensa que los iones hidrógeno se mantienen de algún modo muy cerca de la superficie externa de la membrana citoplasmática para que no se combinen espontáneamente con los iones hidroxilo para formar agua.

pH citoplasmático y tampones

El pH óptimo para el crecimiento de un organismo se refiere únicamente al ambiente *extracelular*; el pH *intracelular* debe permanecer cerca de la neutralidad para impedir la destrucción de las macromoléculas. El DNA es lábil frente al ácido, y el RNA lo es frente a las bases, de manera que la célula tiene que mantener estas macromoléculas fundamentales en un estado estable. A pesar de ello, las mediciones de pH citoplasmático en algunos

acidófilos y alcalófilos han mostrado un intervalo de valores de pH desde poco menos de 5 hasta poco más de 9. Si estos no son los límites inferior y superior del pH citoplasmático, respectivamente, están muy cerca de serlo.

Para impedir grandes variaciones de pH durante el crecimiento microbiano en cultivos discontinuos se suelen añadir soluciones amortiguadoras (*tampones*) a los medios de cultivo junto con los nutrientes necesarios. Sin embargo, cada tampón funciona solamente dentro de un intervalo de pH relativamente estrecho, de manera que se usan diferentes tampones para diferentes clases de microorganismos. Para pH casi neutros se usa normalmente el fosfato de potasio (KH_2PO_4) o el bicarbonato de sodio ($NaHCO_3$). Además, se han diseñado un conjunto de moléculas orgánicas llamadas tampones de Good (por el químico que los inventó), que funcionan cada una de ellas en un intervalo de pH específico. Se pueden utilizar en el medio de crecimiento o para otras necesidades amortiguadoras. En cualquier caso, el mejor tampón para cada microorganismo se debe determinar empíricamente. Diversos tampones también se usan ampliamente para experimentar con enzimas *in vitro*. El tampón mantiene la solución enzimática a un pH óptimo durante el ensayo, y asegura que la enzima permanece catalíticamente activa y que no le afectan los protones o los hidroxilos generados en la reacción.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cómo cambia la concentración de H^+ cuando un medio de cultivo a pH 5 se ajusta a pH 9?
- ¿Qué términos se usan para describir organismos cuyo pH óptimo de crecimiento es muy alto? ¿Y cuando es muy bajo?

5.15 Osmolaridad y crecimiento microbiano

El agua es el solvente para la vida, y la disponibilidad de agua es un factor importante para el crecimiento de los microorganismos, y no solo depende de la humedad del ambiente, sino que también es función de la concentración de solutos (sales, azúcares u otras sustancias) disueltas en el agua presente. Los solutos captan agua y la dejan menos disponible para los organismos. Por tanto, para vivir bien en ambientes con muchos solutos, los organismos tienen que hacer algunos ajustes fisiológicos.

La disponibilidad de agua se expresa en términos de **actividad de agua** o **actividad acuosa** (a_w), que es la relación entre la presión de vapor de aire en equilibrio con una sustancia o una solución y la presión de vapor del agua pura. Los valores de a_w varían de 0 a 1; en la Tabla 5.3 se dan algunos valores de a_w. El agua se difunde desde regiones con alta concentración de agua (baja concentración de solutos) a regiones con baja concentración de agua (alta concentración de solutos) en un proceso conocido como osmosis. El citoplasma de una célula tiene, normalmente, mayor concentración de solutos que el ambiente, de manera que la tendencia es que el agua se difunda hacia el interior. En estas condiciones se dice que la célula tiene un *balance de agua positivo*, que es su estado normal. No obstante, cuando una célula se encuentra en un medio en el que la concentración de solutos supera la del citoplasma, el agua saldrá hacia el medio. Si la célula no tiene una estrategia para evitarlo, se deshidratará y será incapaz de crecer.

Tabla 5.3 Actividad de agua de varias sustancias

Actividad de agua (a_w)	*Material*	*Ejemplos de organismos*[a]
1,000	Agua pura	*Caulobacter, Spirillum*
0,995	Sangre humana	*Streptococcus, Escherichia*
0,980	Agua de mar	*Pseudomonas, Vibrio*
0,950	Pan	La mayoría de los bacilos grampositivos
0,900	Jarabe de arce, jamón	Cocos grampositivos como *Staphylococcus*
0,850	Salami	*Saccharomyces rouxii* (levadura)
0,800	Pastel de fruta, mermelada	*Saccharomyces bailii, Penicillium* (hongo)
0,750	Lagos salinos, pescado en salazón	*Halobacterium, Halococcus*
0,700	Cereales, caramelos, frutos secos	*Xeromyces bisporus* y otros hongos xerófilos

[a]Ejemplos seleccionados de procariotas y hongos capaces de crecer en medios de cultivo ajustados a la actividad de agua indicada.

Halófilos y organismos relacionados

En la naturaleza, los efectos osmóticos son importantes especialmente en hábitats con altas concentraciones de sal. El agua de mar contiene cerca del 3 % de NaCl más pequeñas cantidades de otros muchos minerales y elementos. Los microorganismos que viven en ambientes marinos casi siempre tienen necesidad de NaCl, y normalmente crecen mejor al valor de actividad acuosa propio del agua de mar (Figura 5.26). Estos organismos

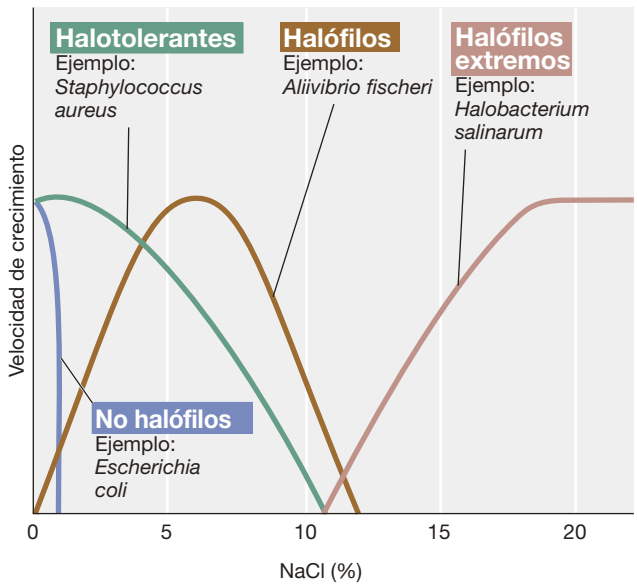


Figura 5.26 Efecto de la concentración de NaCl en el crecimiento de microorganismos con diferentes tolerancias o requerimientos salinos. La concentración óptima de NaCl para los microorganismos marinos como *Aliivibrio fischeri* es del 3 % aproximadamente; para los halófilos extremos está entre el 15 % y el 30 %, según el organismo.

se llaman **halófilos**. Si bien los halófilos necesitan al menos un poco de NaCl para crecer, la concentración óptima de NaCl observada varía con el organismo y depende del hábitat. Por ejemplo, los microorganismos marinos crecen mejor con NaCl entre el 1 % y el 4 %; los organismos de ambientes hipersalinos (ambientes con más sal que el agua de mar), entre el 3 % y el 12 %, y los organismos de ambientes hipersalinos extremos precisan concentraciones de NaCl aún más altas. Además, el requerimiento de NaCl de los halófilos es absoluto, y no puede sustituirse por otras sales como el cloruro de potasio (KCl), el cloruro de calcio ($CaCl_2$) o el cloruro de magnesio ($MgCl_2$).

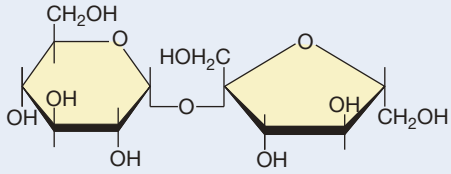
A diferencia de los halófilos, los organismos **halotolerantes** pueden tolerar cierta concentración de solutos disueltos, pero crecen mejor en ausencia de solutos añadidos (Figura 5.26). Los halófilos capaces de crecer en ambientes muy salinos reciben el nombre de **halófilos extremos** (Figura 5.26). Estos organismos requieren concentraciones muy altas de NaCl, normalmente entre el 15 % y el 30 %, para tener un crecimiento óptimo, y a menudo son incapaces de crecer a concentraciones de NaCl más bajas. Los organismos capaces de vivir en ambientes con alta concentración de azúcares se llaman **osmófilos**, y los que pueden vivir en ambientes muy secos (por ausencia de agua más que por presencia de solutos disueltos) se llaman **xerófilos**. En la Tabla 5.4 se dan ejemplos de todas estas clases de organismos.

Solutos compatibles

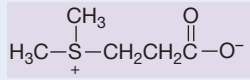
Cuando un organismo se transfiere de un medio con a_w alto a otro con a_w bajo, mantiene el balance positivo aumentando su concentración interna de soluto. Esto es posible bombeando solutos hacia la célula desde el ambiente o sintetizando un soluto citoplasmático (Tabla 5.4). En cualquier caso, el soluto no debe inhibir los procesos celulares de manera significativa. Estos compuestos se llaman **solutos compatibles**, y son normalmente moléculas orgánicas muy solubles en agua como azúcares, alcoholes o derivados de aminoácidos (Tabla 5.4). La glicina betaína, un análogo del aminoácido glicina muy soluble, está ampliamente distribuida entre las bacterias halófilas (Tabla 5.4). Otros solutos compatibles habituales son azúcares como la sacarosa y la trehalosa, el propionato de dimetilsulfonio, producido por algas marinas, y el glicerol, un soluto habitual de los hongos xerófilos, organismos que crecen a la menor actividad de agua conocida (Tabla 5.4). A diferencia de estos solutos orgánicos, el soluto compatible de las arqueas que son halófilas

Tabla 5.4 Solutos compatibles de algunos microorganismos

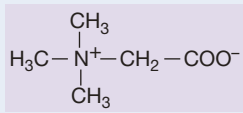
Organismo	*Principal(es) soluto(s) citoplasmático(s)*	*Mínima a_w para el crecimiento*
Bacterias no fotótrofas/ cianobacterias de agua dulce	Aminoácidos (principalmente glutamato o prolina[a])/sacarosa, trehalosa[b]	0,98-0,90
Cianobacterias marinas	α-Glucosilglicerol[b]	0,92
Algas marinas	Manitol[b], varios glicósidos, propionato de dimetilsulfonio	0,92
Cianobacterias de lagos salinos	Glicina betaína	0,90-0,75
Bacterias rojas fotótrofas anoxigénicas halófilas	Glicina betaína, ectoína, trehalosa[b]	0,90-0,75
Arqueas y algunas bacterias halófilas extremas	KCl	0,75
Dunaliella (alga verde halófila)	Glicerol	0,75
Levaduras xerófilas y osmófilas	Glicerol	0,83-0,62
Hongos filamentosos xerófilos	Glicerol	0,72-0,61



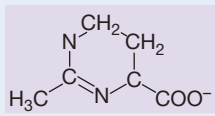
Sacarosa



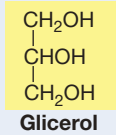
Propionato de dimetilsulfonio



Glicina betaína



Ectoína



Glicerol

[a]Véanse las estructuras de los aminoácidos en la Figura 4.30.
[b]No se muestran las estructuras. Al igual que la sacarosa, la trehalosa es un disacárido C_{12}; el glucosilglicerol es un alcohol C_9; el manitol es un alcohol C_6.

extremas, como *Halobacterium*, y de unas pocas bacterias halófilas extremas es el KCl (↪ Sección 16.1).

La concentración de un soluto compatible en una célula es función de la concentración del soluto en el ambiente, y se realizan ajustes en respuesta al reto que suponen estas concentraciones externas. No obstante, para cada organismo, la cantidad máxima de soluto compatible es una característica codificada genéticamente; por tanto, diferentes organismos se han adaptado evolutivamente para medrar en diferentes intervalos de actividad de agua (Tablas 5.3 y 5.4). De hecho, los organismos designados como *no halotolerantes*, *halotolerantes*, *halófilos* o *halófilos extremos* (Figura 5.26) son un reflejo de esta capacidad genética de los organismos de cada grupo para producir o acumular solutos compatibles.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cuál es la a_w del agua pura?
- ¿Qué son solutos compatibles, y cuándo y por qué son necesarios para las células? ¿Cuál es el soluto compatible de *Halobacterium*?

5.16 Oxígeno y crecimiento microbiano

Para muchos microorganismos, el oxígeno (O_2) es un nutriente esencial; sin él no pueden llevar a cabo el metabolismo ni crecer. Otros organismos, por el contrario, no pueden crecer, e incluso pueden morir, en presencia de O_2. A continuación veremos, igual que hemos hecho con los otros factores ambientales considerados en este capítulo, clases de microorganismos según sus necesidades de O_2 o su tolerancia a este elemento.

Tipos de microorganismos con relación al oxígeno

Los microorganismos se pueden agrupar según su relación con el O_2 como se indica en la Tabla 5.5. Los **aerobios** pueden crecer a tensiones normales de oxígeno (el aire tiene un 21 % de O_2) y respiran O_2 en su metabolismo. Los **microaerófilos**, en cambio, son aerobios que pueden usar O_2 solo cuando está a una concentración más baja que la del aire (condiciones microóxicas). Esto es así a causa de la capacidad limitada de estos organismos para respirar, o bien porque contienen alguna molécula sensible a O_2, como alguna enzima lábil en su presencia. Muchos aerobios son **facultativos**, lo que significa que en condiciones adecuadas de nutrientes y cultivo pueden crecer en ausencia de O_2.

Algunos organismos no pueden respirar oxígeno, y reciben el nombre de **anaerobios**. Existen dos tipos de anaerobios: los **anaerobios aerotolerantes**, que pueden tolerar el O_2 y crecer en su presencia aunque no lo respiren, y los **anaerobios estrictos**, a los que el oxígeno inhibe o incluso mata (Tabla 5.5). Los hábitats microbianos *anóxicos* (sin O_2) son comunes en la naturaleza e incluyen los lodos y otros sedimentos, turberas, marjales, suelos anegados, intestinos de animales, lodos residuales, el subsuelo profundo de la Tierra y otros muchos ambientes. Hasta donde se sabe, la anaerobiosis estricta es característica de solo tres grupos de microorganismos: una gran variedad de bacterias y arqueas, unos pocos hongos y unos pocos protozoos. Algunos de los anaerobios estrictos mejor conocidos son *Clostridium*, un género de bacterias grampositivas que forman endosporas, y los metanógenos, un grupo de arqueas que producen metano. Entre los anaerobios estrictos varía mucho la sensibilidad al O_2. Muchos clostridios, por ejemplo, si bien requieren condiciones anóxicas para crecer, pueden tolerar trazas de oxígeno o incluso la exposición total al aire. Otros, como los metanógenos, mueren rápidamente por exposición a O_2.

Técnicas de cultivo para aerobios y anaerobios

Para el cultivo de los aerobios es necesario asegurar una buena ventilación, ya que el oxígeno consumido por los organismos durante el crecimiento no se reemplaza lo bastante rápido por simple difusión del aire. Por tanto, es necesario contar con una ventilación forzada de los cultivos líquidos, lo cual se puede

Tabla 5.5 Relaciones de los microorganismos con el oxígeno

Grupo	*Relación con el O_2*	*Tipo de metabolismo*	*Ejemplo*[a]	*Hábitat*[b]
Aerobios				
Estrictos	Necesario	Respiración aerobia	*Micrococcus luteus* (B)	Piel, polvo
Facultativos	No es necesario, pero crecen mejor con O_2	Respiración aerobia, respiración anaerobia, fermentación	*Escherichia coli* (B)	Intestino grueso de los mamíferos
Microaerófilos	Necesario, pero a concentración menor que la atmosférica	Respiración aerobia	*Spirillum volutans* (B)	Lagos
Anaerobios				
Aerotolerantes	No necesario, no crecen mejor con O_2	Fermentación	*Streptococcus pyogenes* (B)	Vías respiratorias altas
Estrictos	Dañino o letal	Fermentación o respiración anaerobia	*Methanobacterium formicicum* (A)	Lodos residuales, sedimentos lacustres anóxicos

[a]Las letras entre paréntesis indican el estatus filogenético (B, *Bacteria*; A, *Archaea*). En cada categoría se conocen ejemplos representativos de los dos dominios. La mayoría de los eucariotas son aerobios estrictos, pero se conocen aerobios facultativos (por ejemplo las levaduras) y anaerobios estrictos (como ciertos protozoos y hongos).
[b]Hábitats típicos del organismo indicado en cada caso; se podrían citar otros muchos.

conseguir mediante la agitación vigorosa del matraz o el tubo en un agitador o burbujeando aire esterilizado al medio a través de un tubo de vidrio fino o un disco poroso, también de vidrio.

Para el cultivo de los anaerobios lo necesario no es aportar oxígeno, sino excluirlo. Las botellas o los tubos completamente llenos hasta arriba con medio de cultivo y provistos de cierres a prueba de fugas proporcionan unas condiciones aceptablemente anóxicas para organismos que no son excesivamente sensibles a pequeñas cantidades de oxígeno. Se puede añadir a estos recipientes una sustancia que sea *agente reductor* para eliminar trazas de oxígeno reduciéndolo a agua. Un ejemplo de agente reductor es el tioglicolato, que está presente en el caldo de tioglicolato, un medio usado normalmente para determinar los requerimientos de oxígeno de un organismo (**Figura 5.27**). El caldo de tioglicolato es un medio complejo que contiene una pequeña cantidad de agar, lo que hace que el medio sea viscoso, aunque todavía fluido. Después de que el tioglicolato reaccione con el oxígeno a lo largo del tubo, solo puede penetrar oxígeno atmosférico por la parte superior, donde el medio está en contacto con el aire. Los aerobios estrictos solo crecerán en la parte superior del tubo; los organismos facultativos crecerán por todo el tubo, pero lo harán mejor en la parte superior; los microaerófilos crecerán cerca de la parte superior, pero no exactamente en ella; los anaerobios crecerán solamente cerca del fondo del tubo, donde no puede llegar el O_2. El caldo de tioglicolato contiene *resazurina*, un indicador redox para reconocer las regiones óxicas; el colorante es rosa cuando está oxidado e incoloro cuando está reducido, de modo que señala visualmente el grado de penetración del oxígeno en el medio (Figura 5.27).

Para eliminar completamente cualquier traza de O_2 del cultivo de anaerobios estrictos, se pueden incubar tubos o placas en una jarra de vidrio en la que se insufla un gas sin oxígeno o equipada con un sistema de consumo de oxígeno (**Figura 5.28*a***). Para manipular cultivos anaerobios, las *cámaras anóxicas*

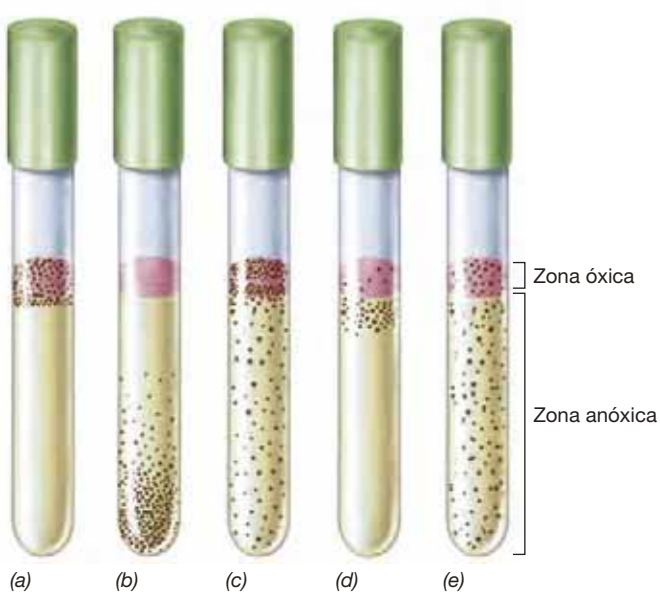


Figura 5.27 Crecimiento y concentración de oxígeno. De izquierda a derecha, crecimiento de aerobios, anaerobios, facultativos, microaerófilos y anaerobios aerotolerantes, como lo indica la posición de las colonias microbianas (representadas como puntos negros) en tubos de caldo de cultivo con tioglicolato. Se añade a los tubos una pequeña cantidad de agar para evitar perturbaciones en el medio líquido, y el colorante redox resazurina, que es rosa en estado oxidado e incoloro en estado reducido, como indicador. *(a)* El O_2 penetra solo un poco en el tubo, de manera que los aerobios estrictos crecen solamente cerca de la superficie. *(b)* Los anaerobios, al ser sensibles al O_2 crecen solo lejos de la superficie. *(c)* Los aerobios facultativos pueden crecer tanto en presencia como en ausencia de O_2, así que están por todo el tubo; sin embargo, el crecimiento es mejor cerca de la superficie, porque los organismos pueden respirar. *(d)* Los microaerófilos crecen lejos de la zona más óxica. *(e)* Los anaerobios aerotolerantes crecen por todo el tubo. El crecimiento no es mejor cerca de la superficie, porque estos organismos solo pueden fermentar.



(a)



(b)

Figura 5.28 Incubación en condiciones anóxicas. *(a)* Jarra anóxica. Una reacción química en el sobre que hay dentro de la jarra genera $H_2 + CO_2$. El H_2 reacciona con O_2 en la jarra para formar H_2O_2 sobre la superficie de un catalizador de paladio; la atmósfera final contiene N_2, H_2 y CO_2. *(b)* Cámara anóxica con guantes para manipular e incubar cultivos en condiciones anóxicas. La compuerta de la derecha, que puede vaciarse y llenarse con gas sin O_2, permite introducir materiales a la cámara o extraerlos.

con guantes son unos recintos especiales que permiten trabajar con cultivos abiertos en atmósfera completamente anóxica (Figura 5.28*b*).

¿Por qué el oxígeno es tóxico?

¿Por qué se inhibe el crecimiento de los microorganismos anaerobios o incluso mueren en presencia de oxígeno? El oxígeno molecular (O_2) no es tóxico, pero se puede convertir en subproductos tóxicos, que dañan o matan las células que no son capaces de contrarrestar su efecto. Estos productos tóxicos del oxígeno son el *anión superóxido* (O_2^-), el *peróxido de hidrógeno* (H_2O_2) y el *radical hidroxilo* (OH·). Todos ellos son subproductos de la reducción que convierte el O_2 en H_2O en la respiración (**Figura 5.29**). Las flavoproteínas, las quinonas y las proteínas de hierro y azufre, los transportadores de electrones presentes en prácticamente todas las células (↻ Sección 3.10), también catalizan algunas de estas reducciones. Así, independientemente de si puede respirar oxígeno, un organismo expuesto a él entrará en contacto con formas tóxicas de este elemento, y si no las destruye, estas moléculas causarán estragos en las células. Por ejemplo, el anión superóxido y el OH· son agentes oxidantes fuertes que pueden oxidar las macromoléculas y otros compuestos orgánicos de la célula. Los peróxidos como el H_2O_2 también pueden dañar los componentes celulares, pero no son tan tóxicos como los dos anteriores. Por tanto, debe quedar claro que un requisito fundamental para habitar en un mundo óxico es mantener bajo control las moléculas tóxicas de oxígeno. A continuación veremos cómo.

Superóxido-dismutasa y otras enzimas que destruyen formas tóxicas de oxígeno

El anión superóxido y el peróxido de hidrógeno son las especies tóxicas del oxígeno más abundantes, y las células tienen enzimas para destruirlas (**Figura 5.30**). Las enzimas catalasa y peroxidasa atacan el peróxido de hidrógeno, y forman O_2 y H_2O, respectivamente (Figura 5.30 y **Figura 5.31**). El anión superóxido es destruido por la *superóxido-dismutasa*, una enzima que genera H_2O_2 y O_2 a partir de dos moléculas de O_2^- (Figura 5.30*c*). La superóxido-dismutasa y la catalasa (o la peroxidasa) trabajan así en serie para convertir el anión superóxido en productos inocuos (Figura 5.30*d*).

Los aerobios y los aerobios facultativos normalmente cuentan tanto con superóxido-dismutasas como con catalasas. La superóxido-dismutasa es una enzima esencial para los aerobios. Algunos anaerobios aerotolerantes carecen de ella y en su lugar usan complejos de manganeso no proteínicos para llevar a cabo la dismutación de O_2^- a H_2O y O_2. Este sistema no es tan eficaz como la superóxido-dismutasa, pero es suficiente para proteger a las células frente al daño que causa el O_2. Algunas arqueas y bacterias anaerobias estrictas no tienen superóxido-dismutasa y en su lugar es la enzima *superóxido-reductasa* la que elimina el superóxido. A diferencia de la superóxido-dismutasa, la superóxido-reductasa reduce el O_2^- a H_2O sin producción de O_2 (Figura 5.30*e*), y evita así la exposición del organismo al oxígeno.

Reactivos		Productos	
$O_2 + e^-$	→	O_2^-	(superóxido)
$O_2^- + e^- + 2\ H^+$	→	H_2O_2	(peróxido de hidrógeno)
$H_2O_2 + e^- + H^+$	→	$H_2O + OH^\bullet$	(radical hidroxilo)
$OH^\bullet + e^- + H^+$	→	H_2O	(agua)

Resultado:

$$O_2 + 4\ e^- + 4\ H^+ \rightarrow 2\ H_2O$$

Figura 5.29 Reducción del O_2 hasta H_2O por adición secuencial de cuatro electrones. Todos los productos intermedios formados son reactivos y tóxicos para las células, excepto el agua.

$$H_2O_2 + H_2O_2 \rightarrow 2\ H_2O + O_2$$

(a) **Catalasa**

$$H_2O_2 + NADH + H^+ \rightarrow 2\ H_2O + NAD^+$$

(b) **Peroxidasa**

$$O_2^- + O_2^- + 2\ H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$$

(c) **Superóxido-dismutasa**

$$4\ O_2^- + 4\ H^+ \rightarrow 2\ H_2O + 3\ O_2$$

(d) **Superóxido-dismutasa/catalasa combinadas**

$$O_2^- + 2\ H^+ + \text{rubredoxina}_{\text{reducida}} \rightarrow H_2O_2 + \text{rubredoxina}_{\text{oxidada}}$$

(e) **Superóxido-reductasa**

Figura 5.30 Enzimas que destruyen especies tóxicas de oxígeno. (*a*) Las catalasas y (*b*) las peroxidasas son proteínas porfirínicas, aunque algunas flavoproteínas también pueden consumir especies tóxicas de oxígeno. (*c*) Las superóxido-dismutasas son proteínas que contienen metales, concretamente cobre y zinc, manganeso o hierro. (*d*) Reacción combinada de la superóxido-dismutasa y la catalasa. (*e*) La superóxido-reductasa cataliza la reducción a H_2O_2 con un electrón de O_2^-.

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué se diferencia un aerobio estricto de un aerobio facultativo?
- ¿Cómo funciona un agente reductor? Dé un ejemplo.
- ¿Cómo protegen a la célula la superóxido-dismutasa y la superóxido-reductasa?



T. D. Brock

Figura 5.31 Método de ensayo de la presencia de catalasa en un cultivo microbiano. Un asa de cultivo cargada con células de un cultivo de agar se mezcló en un portaobjetos (derecha) con una gota de peróxido de hidrógeno al 30 %. La aparición inmediata de burbujas es indicativa de la presencia de catalasa. Las burbujas son O_2 producido por la reacción $H_2O_2 + H_2O_2 \rightarrow 2\ H_2O + O_2$.

VI • Control del crecimiento microbiano

Hasta aquí hemos analizado el crecimiento microbiano desde el punto de vista de *la activación* del crecimiento. Cerraremos este capítulo con la otra cara de la moneda, el *control del crecimiento* microbiano. Muchos aspectos del control del crecimiento microbiano tienen aplicaciones prácticas significativas. Por ejemplo, lavamos los productos frescos para eliminar los microorganismos que pueda haber en la superficie, e inhibimos el crecimiento microbiano en la superficie de nuestro cuerpo lavándonos. Sin embargo, ninguno de estos procesos mata o elimina todos los microorganismos. Solo la **esterilización** —matar o eliminar todos los microorganismos (incluidos los virus)— asegura que sea así. En determinadas circunstancias, la esterilidad no es alcanzable o práctica; en otras, sin embargo, es absolutamente esencial. A continuación revisaremos métodos de control del crecimiento.

5.17 Principios generales y control del crecimiento por el calor

Los microorganismos y sus efectos se pueden controlar en muchos casos simplemente limitando o inhibiendo el crecimiento de sus células. Entre los métodos para inhibir el crecimiento microbiano está la **descontaminación**, el tratamiento de un objeto o una superficie para que su manejo sea más seguro, y la **desinfección**, un proceso que ataca directamente los patógenos aunque no elimine todos los microorganismos. La descontaminación puede ser tan sencilla como limpiar los utensilios de cocina para eliminar fragmentos de comida (y los organismos que haya en ellos) antes de usarlos, mientras que la desinfección requiere agentes llamados *desinfectantes* que maten realmente los microorganismos o inhiban notablemente su crecimiento. Por ejemplo, una solución de lejía (hipoclorito de sodio) es un desinfectante eficaz para una gran variedad de aplicaciones.

Los métodos físicos de control del crecimiento microbiano se utilizan en la industria, la medicina y en casa para conseguir la descontaminación, la desinfección y la esterilización. El calor, la radiación y la filtración son los más habituales. Tal vez el método de control del crecimiento más extendido sea el calor. La temperatura y la duración del tratamiento, así como si el calor es húmedo o seco, son algunos de los factores que influyen en la susceptibilidad de un microorganismo al calor.

Esterilización por calor

Todos los microorganismos tienen un máximo de temperatura de crecimiento más allá del cual no pueden crecer: normalmente se destruyen una o más estructuras celulares fundamentales o se desnaturalizan proteínas esenciales (Figura 5.19). La eficacia del calor como esterilizante se mide por el tiempo necesario para conseguir una reducción a la décima parte de la viabilidad de la población microbiana a una temperatura determinada; es lo que se conoce como *tiempo de reducción decimal* o *D*. La relación entre *D* y la temperatura es exponencial, ya que el logaritmo de *D* representado en función de la temperatura da una línea recta (Figura 5.32). Además, la muerte por calor es una función exponencial (de primer orden), que procede más rápidamente a medida que aumenta la temperatura. La clase de calor también es importante: el calor húmedo tiene más poder de penetración que el seco y, a una temperatura determinada, produce una reducción más rápida del número de organismos vivos.

La determinación del tiempo de reducción decimal requiere un gran número de mediciones de recuento de viables (Sección 5.9). Una forma más sencilla de caracterizar la sensibilidad al calor de un organismo es medir su *tiempo de muerte térmica*, que es el tiempo que se tarda en matar todas las células a una temperatura determinada. Para determinar el tiempo de muerte térmica se calienta una muestra de una suspensión celular durante tiempos diferentes, se mezcla con medio de cultivo y se incuba. Si todas las células han muerto, no se observa crecimiento en las muestras incubadas. No obstante, a diferencia del tiempo de reducción decimal, que es independiente del número de células originales, el tiempo por muerte térmica depende del tamaño de

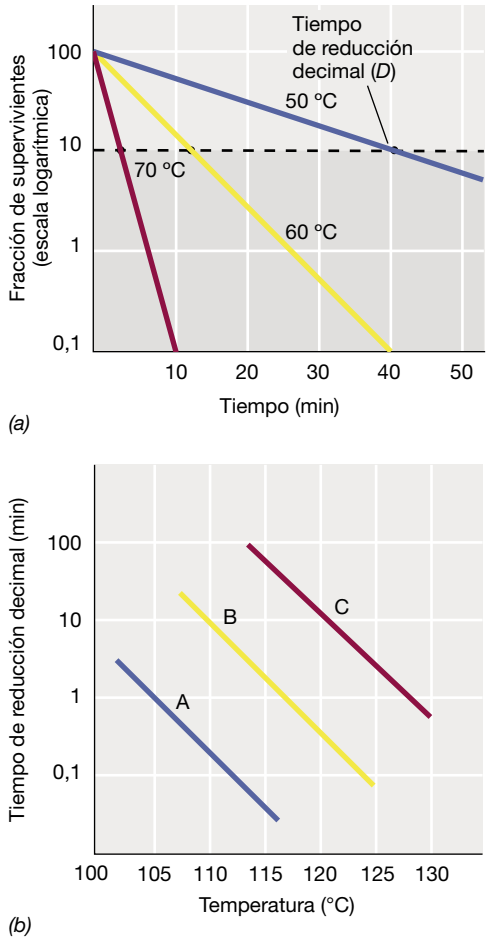


Figura 5.32 Relación entre la temperatura y la tasa de muerte por calor de los microorganismos. *(a)* El tiempo de reducción decimal, *D*, es el tiempo en el que únicamente el 10 % de la población original de un microorganismo (en este caso, un mesófilo), sigue viable a una temperatura determinada. Para 70 °C, $D = 3$ min; para 60 °C, $D = 12$ min; para 50 °C, $D = 42$ min. *(b)* Valores de *D* para organismos modelo de diferentes clases: A, mesófilo; B, termófilo; C, hipertermófilo.

la población, pues se requiere más tiempo para matar todas las células de una población grande que de una más pequeña.

La presencia de bacterias formadoras de endosporas en una muestra tratada con calor puede afectar tanto al tiempo de reducción decimal como al tiempo de muerte por calor. La resistencia al calor de las células vegetativas difiere considerablemente al de las endosporas del mismo organismo. Recordemos que las endosporas maduras están muy deshidratadas y contienen compuestos específicos, como el dipicolinato cálcico, y proteínas, como las proteínas de esporulación pequeñas solubles en ácido (SASP, del inglés *small acid-soluble spore proteins*), que proporcionan estabilidad térmica a la estructura (↩ Sección 2.16). No podemos estar seguros de que las endosporas están muertas a menos que se alcancen temperaturas de autoclave (mínimo 121 °C) durante al menos 15 min. El tiempo de reducción decimal también es función de la resistencia inherente al calor de los microorganismos presentes; como cabría esperar, los termófilos y los hipertermófilos son más resistentes que los mesófilos (Figura 5.32*b*).

El medio en el que tiene lugar el calentamiento también influye en la muerte de las células vegetativas y de las endosporas. La muerte microbiana es más rápida a pH ácido, de modo que los alimentos ácidos como los tomates, las frutas y los encurtidos son más fáciles de esterilizar que los alimentos de pH neutro como el maíz y las alubias. Una concentración alta de azúcares, proteínas y grasas disminuye la penetración del calor y normalmente aumenta la resistencia de los organismos al calor, mientras que una concentración alta de sales puede aumentar o disminuir la resistencia al calor, según el organismo. Las células secas y las endosporas son más resistentes al calor que las células húmedas; en consecuencia, la esterilización por calor de objetos secos como las endosporas requiere siempre temperaturas más altas y tiempos de aplicación más largos que la de los objetos húmedos como los cultivos líquidos bacterianos.

El autoclave y la pasteurización

Un **autoclave** es un dispositivo estanco que utiliza vapor a presión para matar los microorganismos (**Figura 5.33**). Para matar

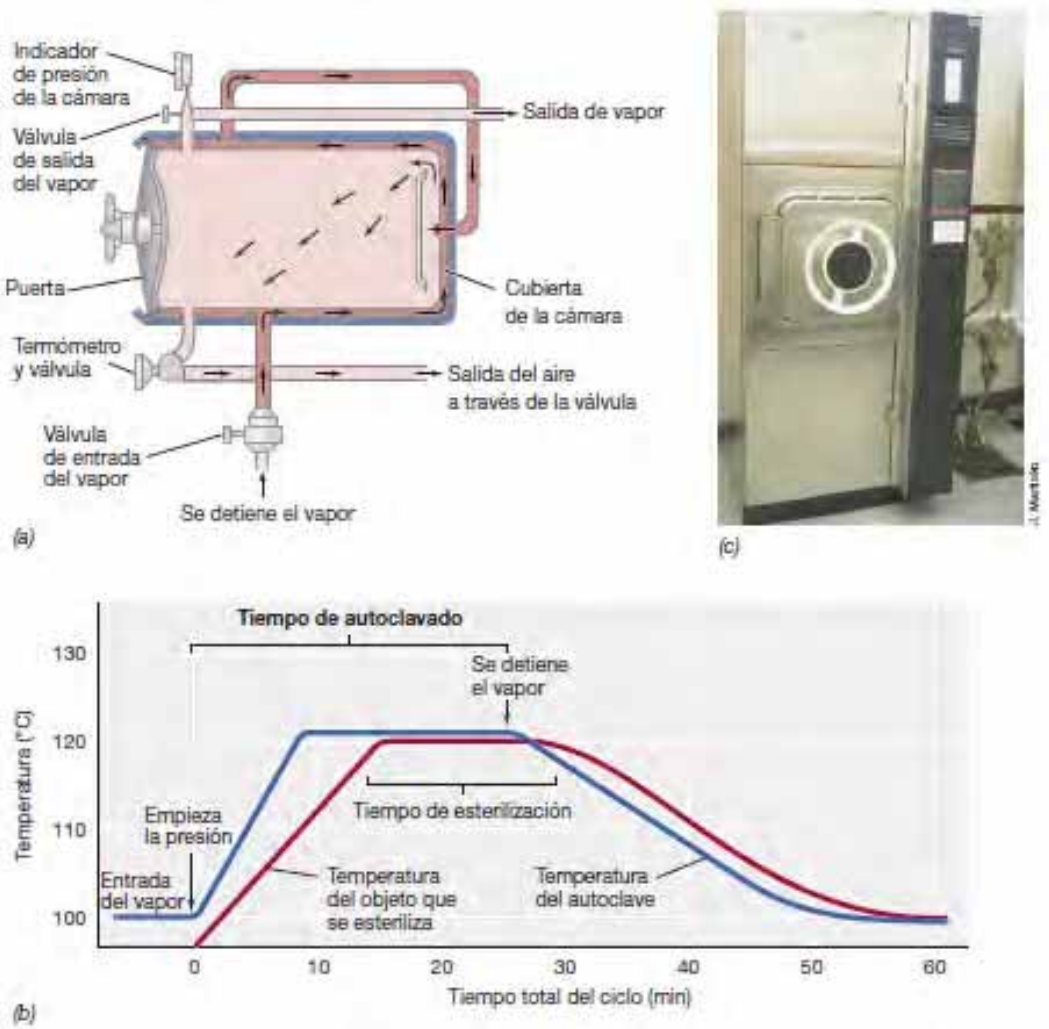


Figura 5.33 **El autoclave y la esterilización mediante calor húmedo.** *(a)* Flujo de vapor a través de un autoclave. *(b)* Ciclo típico de un autoclave. Se muestra el perfil temporal de calentamiento de un objeto bastante voluminoso. La temperatura del objeto sube y baja más lentamente que la del autoclave. El objeto debe alcanzar la temperatura deseada, que se debe mantener durante 10-15 min para asegurar la esterilidad, independientemente de la temperatura y el tiempo registrados en el autoclave. *(c)* Autoclave moderno en un laboratorio de investigación. Obsérvese la puerta de cierre hermético a presión y el panel de la derecha que controla los ciclos de manera automática. Las válvulas de entrada y salida del vapor están situadas a la derecha del autoclave.

las endosporas resistentes al calor hay que aumentar la temperatura por encima del punto de ebullición del agua a 1 atmósfera. El autoclave contiene vapor a una presión de 1,1 kg/cm^2, lo que supone una temperatura de 121 °C. A 121 °C, el tiempo para conseguir la esterilización de pequeñas cantidades de material con endosporas es de unos 15 min (Figura 5.33*b*). Si el objeto que se va a esterilizar es voluminoso o si hay que esterilizar grandes volúmenes de líquido, el calor tarda más tiempo en llegar al interior, de manera que hay que aumentar el tiempo total de calentamiento. Obsérvese que no es la *presión* en el interior del autoclave lo que mata los microorganismos, sino la alta *temperatura* que se alcanza cuando el vapor se somete a presión.

La **pasteurización** utiliza calor controlado de manera precisa para reducir significativamente el número total de microorganismos que se encuentran en la leche y otros líquidos que se estropearían si se esterilizasen en el autoclave. El proceso, que recibe su nombre por Louis Pasteur (↻ Sección 1.7), fue utilizado por primera vez para controlar la contaminación del vino. La pasteurización no mata todos los microorganismos, de manera que no es un método de esterilización, sino que reduce la *carga microbiana*, el número de microorganismos viables en una muestra. A las temperaturas y los tiempos usados en la pasteurización de productos alimenticios como la leche, mueren todas las bacterias patógenas conocidas que se pueden transmitir a través de leche infectada, especialmente los organismos que causan la tuberculosis, la brucelosis, la fiebre Q y la fiebre tifoidea. Además, al reducir la carga microbiana total, la pasteurización retrasa el crecimiento de organismos que deterioran los alimentos y aumenta la vida útil de los líquidos perecederos (↻ Sección 3.16).

Para conseguir la pasteurización se pasa el líquido por un intercambiador de calor tubular. Mediante un control minucioso del flujo y del tamaño y la temperatura de la fuente de calor se eleva la temperatura del líquido a 71 °C durante 15 segundos (o incluso a temperaturas más altas durante menos tiempo; véase la Figura 5.32), y a continuación el líquido se enfría rápidamente. Este proceso se llama *pasteurización rápida*. La pasteurización de la leche a temperatura ultraelevada requiere un tratamiento de calor a 135 °C durante 1 minuto. La leche también se puede pasteurizar calentándola en grandes depósitos a temperaturas de entre 63 °C y 66 °C durante 30 min, pero este método de *pasteurización en masa* es menos satisfactorio, porque la leche se calienta y se enfría lentamente, por lo que se altera el sabor del producto final y es un proceso menos eficaz.

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué el calor es un agente esterilizante eficaz?
- ¿Qué pasos son necesarios para asegurar la esterilidad del material contaminado con endosporas bacterianas?
- Distinga entre la esterilización de medios microbiológicos y la pasteurización de productos lácteos.

5.18 Otros métodos físicos de control: radiación y filtración

El calor es solo una forma más de energía para esterilizar o reducir la carga microbiana. La radiación ultravioleta (UV), los rayos X y los rayos gamma también son agentes esterilizantes eficaces. Sin embargo, cada tipo de energía tiene un modo de acción y una eficacia diferentes, de manera que sus aplicaciones pueden variar notablemente.

Radiación ultravioleta e ionizante

La radiación ultravioleta entre 220 nm y 300 nm es absorbida por el DNA y puede causar mutaciones y otros graves efectos en el DNA que llevan a la muerte al organismo expuesto (↻ Sección 10.4). La radiación UV es útil para desinfectar las superficies y el aire, y se usa mucho para descontaminar y desinfectar la superficie de trabajo de las campanas de flujo laminar del laboratorio equipadas con una luz UV «germicida» (**Figura 5.34**) y también para desinfectar el aire circulante en las salas de los hospitales y en las salas de preparación de alimentos. No obstante, la radiación UV tiene muy poco poder de penetración, lo cual limita su uso a la desinfección de las superficies expuestas o del aire y no de objetos voluminosos como los alimentos enlatados o la ropa quirúrgica.

La radiación ionizante es un tipo de radiación electromagnética con energía suficiente para producir iones y otras especies moleculares reactivas a partir de moléculas con las que chocan las partículas de radiación. Genera electrones de alta energía, radicales hidroxilo (OH·) y radicales hidruro (H·), y cada uno de estos puede dañar las macromoléculas y matar las células irradiadas (Sección 5.16).

La unidad de radiación ionizante es el *roentgen*, y el valor estándar para las aplicaciones biológicas como la esterilización es la *dosis de radiación absorbida*, que se mide en *rads* (100 erg/g) o en *grays* (1 Gy = 100 rad). Las radiaciones ionizantes normalmente se producen a partir de fuentes de rayos X o de los nucleidos radiactivos ^{60}Co y ^{137}Cs, que son subproductos relativamente baratos de la fisión nuclear. Estos nucleidos producen rayos X o rayos gamma (rayos γ), ambos con suficiente energía y poder de penetración para matar eficazmente los microorganismos que pueda haber en artículos voluminosos como productos alimenticios o dispositivos médicos.



J. Martinko

Figura 5.34 Campana de flujo laminar. Una fuente de luz ultravioleta impide la contaminación de la campana cuando no se está utilizando. Cuando está en uso, se bombea aire a la cabina a través de un filtro HEPA. Después se hace salir el aire de la cabina para prevenir la contaminación del interior. La cabina proporciona un espacio de trabajo sin contaminantes para la manipulación de cultivos microbianos y de tejidos.

En la Tabla 5.6 se muestra la dosis necesaria para la reducción decimal (*D*10) de una serie de microorganismos seleccionados. El valor *D*10 es análogo al tiempo de reducción decimal para la esterilización por calor, y la representación de la fracción de supervivientes también es similar a la obtenida para este (Figura 5.35; compárese con la Figura 5.32). Como ocurre con los tratamientos térmicos, matar las endosporas con radiación ionizante es más difícil que matar las células vegetativas, y matar los virus es más difícil que matar las bacterias (Tabla 5.6). Además, los microorganismos en general son mucho más resistentes a la radiación ionizante que los organismos pluricelulares. Por ejemplo, la dosis de radiación mortal para humanos puede ser de solo 10 Gy si se irradia durante un período de tiempo corto.

En los Estados Unidos, la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA, *Food and Drug Administratrion*) aprobó el uso de la radiación para esterilizar artículos diversos como dispositivos quirúrgicos, material de plástico de laboratorio, fármacos e incluso injertos de tejidos. Algunos alimentos como productos frescos, pollería, productos cárnicos y especias también se irradian habitualmente para asegurar su esterilidad o, al menos, que no tienen patógenos ni insectos.

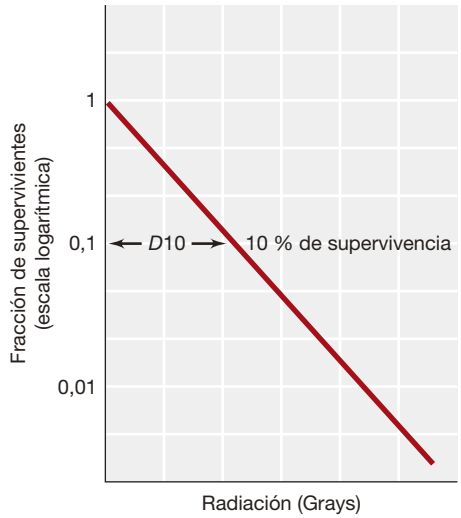


Figura 5.35 Relación entre la fracción de supervivencia y la dosis de radiación de un microorganismo. La *D*10, que es la dosis de reducción decimal, se puede interpolar de los datos como se muestra aquí.

Esterilización por filtración

El calor es una manera eficaz de descontaminar la mayoría de los líquidos, pero los que son sensibles al calor y los gases deben esterilizarse por otros métodos. Para ello, el líquido o el gas se pasa a través de un filtro con poros lo bastante pequeños para atrapar las células que pueda haber presentes. Para esterilizar es deseable utilizar un filtro con poros de un tamaño medio de 0,2 µm; no obstante, incluso unos poros tan pequeños dejarán pasar la mayoría de los virus. El tamaño de poro de los filtros usados normalmente para la esterilización por filtración de pequeños volúmenes como las soluciones de laboratorio es de 0,45 µm y 0,2 µm.

En microbiología se usan habitualmente varios tipos de filtros, como los filtros de profundidad, los filtros de membrana y los filtros Nucleopore. Un filtro de profundidad es una lámina fibrosa o un tapete compuesto de matrices dispuestas al azar de fibras de papel o borosilicato (vidrio) que atrapa las partículas en la trama de fibras (Figura 5.36*a*). Los filtros de profundidad son importantes para las aplicaciones de bioseguridad. Por ejemplo, la manipulación de cultivos celulares o microbianos y de medios de crecimiento requiere que la contaminación del operador y del material experimental sea mínima. Estas operaciones se pueden llevar a cabo de manera eficaz en una cabina de seguridad con flujo de aire que entra y sale a través de un filtro de profundidad llamado **filtro de aire particulado de alta eficacia** o **filtro HEPA** (del inglés, *high-efficiency particulate air filter*; Figura 5.34). Los filtros HEPA eliminan de la corriente de aire partículas de 0,3 µm o mayores con una eficacia que supera el 99,9 %.

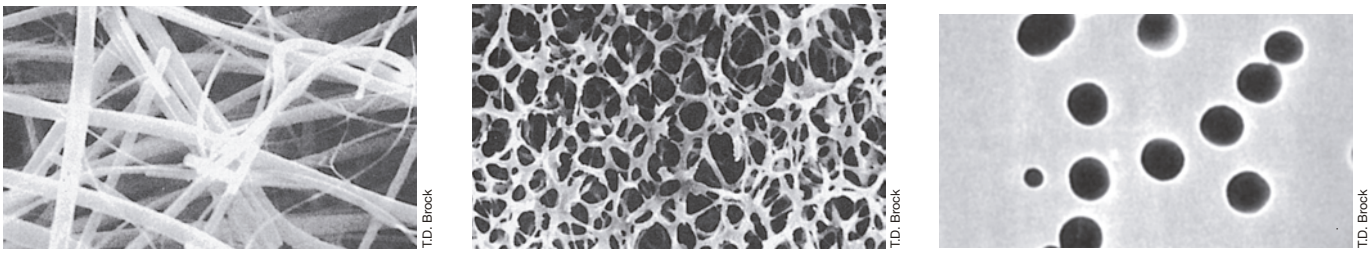
Los filtros de membrana son el tipo más común de filtro para la esterilización de líquidos en los laboratorios de microbiología (Figura 5.36*b* y 5.37). Dichos filtros están compuestos por polímeros de gran resistencia, como el acetato de celulosa, el nitrato de celulosa o la polisulfona, diseñados de manera que contienen un gran número de poros minúsculos. Un conjunto de filtros de membrana estériles para la esterilización de volúmenes relativamente pequeños de líquidos como medios de cultivo se usan habitualmente en los laboratorios clínicos y de investigación. La filtración se lleva a cabo usando una jeringa o una bomba para forzar al líquido a pasar por el aparato de filtración hacia un recipiente estéril en el que es recogido (Figura 5.37).

Otro tipo de filtro de membrana es el de Nucleopore (Figura 5.38). Los filtros Nucleopore están hechos con una

Tabla 5.6 Sensibilidad a la radiación de algunos microorganismos representativos

Tipo de microorganismo	*Características*	*D10*[a] *(Gy)*
Bacterias		
Clostridium botulinum	Anaerobio grampositivo; forma endosporas	3.300
Deinococcus radiodurans	coco gramnegativo resistente a las radiaciones	2.200
Lactobacillus brevis	Grampositivo, bacilo	1.200
Bacillus subtilis	Aerobio grampositivo; forma endosporas	600
Escherichia coli	Gramnegativo, bacilo	300
Salmonella typhimurium	Gramnegativo, bacilo	200
Hongos		
Aspergillus niger	Moho común	500
Saccharomyces cerevisiae	Levadura de panadería y de cerveza	500
Virus		
Glosopeda	Patógeno de animales biungulados	13.000
Coxsackie	Patógeno humano	4.500

[a]*D*10 es la cantidad de radiación necesaria para reducir la población inicial o el nivel de actividad a la décima parte (una unidad logarítmica). Gy, grays. 1 Gy es equivalente a 100 rads. La dosis letal para humanos es 10 Gy.



(a) (b) (c)

Figura 5.36 **Filtros microbiológicos.** Micrografías electrónicas de barrido en las que se muestra la estructura de *(a)* un filtro de profundidad, *(b)* un filtro de membrana convencional, y *(c)* un filtro Nucleopore.

película de policarbonato de 10 µm de grosor tratada con radiación y después fracturada con un producto químico que produce poros muy uniformes (Figura 5.36*c*). Los filtros de Nucleopore se usan normalmente para aislar especímenes para microscopía electrónica de barrido. Los microorganismos se extraen de una muestra líquida o una muestra natural, como el agua de un lago, y se concentran sobre el filtro, en el que pueden observarse directamente con el microscopio (Figura 5.38*a*).

MINIRREVISIÓN

- Defina *D*10 y justifique por qué la dosis de radiación letal (Tabla 5.6) no es la misma para todas las bacterias.
- ¿Por qué la radiación ionizante es más eficaz que la radiación UV para esterilizar productos alimenticios?
- Distinga entre los tipos principales de filtros de esterilización utilizados en un laboratorio de microbiología.

5.19 Control químico del crecimiento microbiano

Para controlar el crecimiento microbiano se usan habitualmente productos químicos; un **agente antimicrobiano** es una sustancia química natural o sintética que mata los microorganismos o inhibe su crecimiento. Los agentes que realmente matan los organismos se nombran con una terminación *-cida*, y un prefijo que indica el tipo de microorganismo sobre el que actúan. Así, los agentes **bactericidas**, **fungicidas** y **viricidas** matan bacterias, hongos y virus, respectivamente. Los agentes que no matan pero inhiben el crecimiento llevan el sufijo *-stático*, y pueden ser **bacteriostáticos**, **fungistáticos** o **viristáticos**.

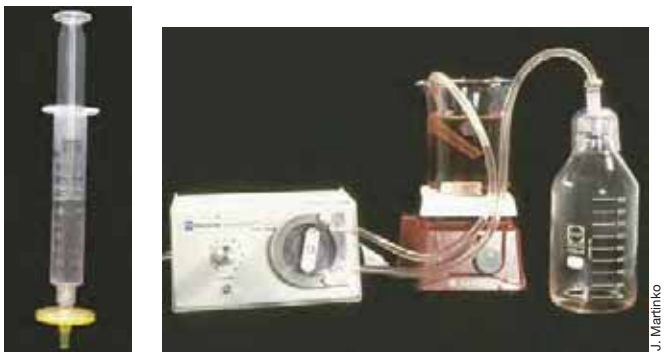
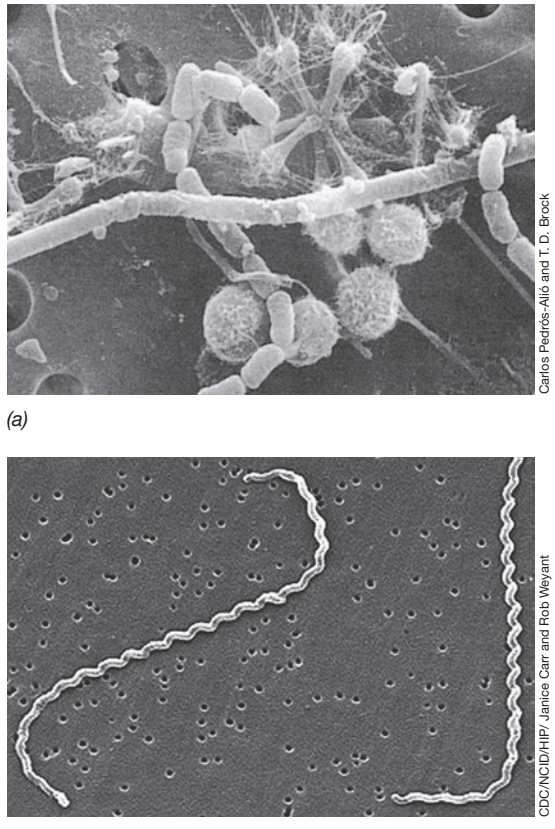


Figura 5.37 **Filtros de membrana.** Unidades de filtros de membrana de un solo uso, preesterilizadas y ensambladas. Izquierda: sistema de filtración diseñado para pequeños volúmenes. Derecha: sistema de filtración para volúmenes mayores.

Efecto de los agentes antimicrobianos en el crecimiento

Los agentes antibióticos se clasifican en bacteriostáticos, bactericidas o bacteriolíticos (que lisan las células) observando sus efectos en los cultivos bacterianos mediante ensayos de crecimiento turbidimétricos y de recuento de viables (**Figura 5.39**). Los



(a)

(b)

Figura 5.38 **Micrografías electrónicas de barrido de bacterias atrapadas en filtros de membrana Nucleopore.** *(a)* Algas y bacterias acuáticas. El tamaño de poro es 5 µm. *(b) Leptospira interrogans*. La bacteria tiene aproximadamente 0,1 µm de diámetro y hasta 20 µm de longitud. El tamaño de poro del filtro es de 0,2 µm.

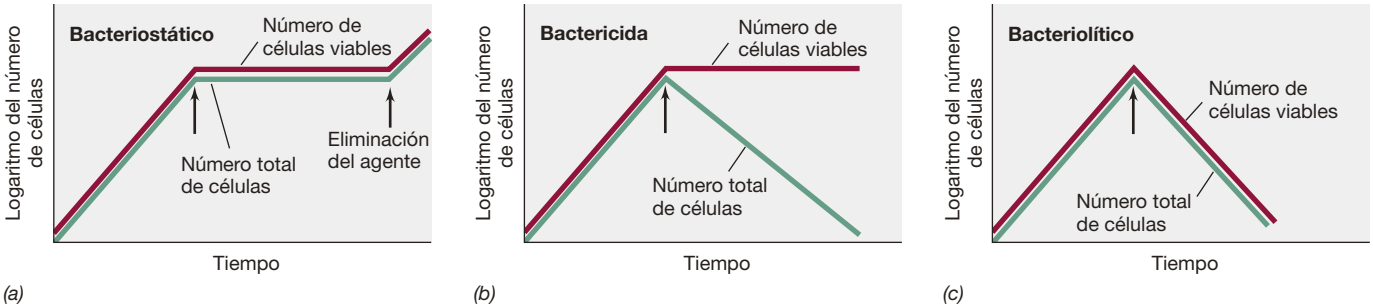


Figura 5.39 **Diferentes tipos de agentes antimicrobianos.** *(a)* Los agentes bacteriostáticos inhiben pero no matan. *(b)* Los agentes bactericidas matan. *(c)* Los agentes bacteriolíticos lisan las células. En el momento indicado por la flecha se añadió a un cultivo en crecimiento exponencial un agente antimicrobiano en concentración inhibidora del crecimiento. Los recuentos turbidimétricos y de viables que se muestran son característicos de cada tipo de agente.

agentes bacteriostáticos son típicamente inhibidores de algunos procesos bioquímicos importantes, como la síntesis de proteínas, y se unen de manera relativamente débil; si se elimina el agente, las células pueden reanudar el crecimiento. Muchos antibióticos están dentro de esta categoría. Por otro lado, los agentes bactericidas se unen con fuerza a sus dianas celulares y, por definición, matan las células. No obstante, las células muertas no se lisan, de manera que el número total de células obtenido en el ensayo turbidimétrico del cultivo permanece constante (Figura 5.39*b*). El formaldehído es un ejemplo de agente bactericida. Los agentes bacteriolíticos matan las células lisándolas y liberan su contenido citoplasmático. La lisis reduce el número de células viables y el de células totales (Figura 5.39*c*). Un ejemplo de agente bacteriolítico sería un detergente, que rompe la membrana citoplasmática.

Medida de la actividad antimicrobiana

La actividad antimicrobiana se mide determinando la mínima cantidad de agente necesaria para inhibir el crecimiento de un organismo control, un valor llamado **concentración inhibidora mínima** (**CIM**). Para calcular la CIM de un agente determinado frente a un organismo dado que crece en un medio líquido (**Figura 5.40**), se inocula una serie de tubos con el organismo control y una cantidad conocida del agente inhibidor. Tras la incubación se mide el crecimiento de los tubos (por turbidimetría), y la CIM es la menor concentración de agente que inhibe completamente el crecimiento del organismo.

La actividad antimicrobiana también se puede evaluar usando medios sólidos (**Figura 5.41**). Se añade a discos de papel de filtro cantidades conocidas de un agente antimicrobiano, y se disponen los discos sobre la superficie de una placa de agar inoculada uniformemente. Durante la incubación, el agente se difunde desde el disco hacia el agar y se establece un gradiente; cuanto más lejos se encuentre la sustancia del papel de filtro, menor es su concentración. Se crea una *zona de inhibición* con un diámetro proporcional a la cantidad de agente antimicrobiano añadido al disco, a la solubilidad del agente, al coeficiente

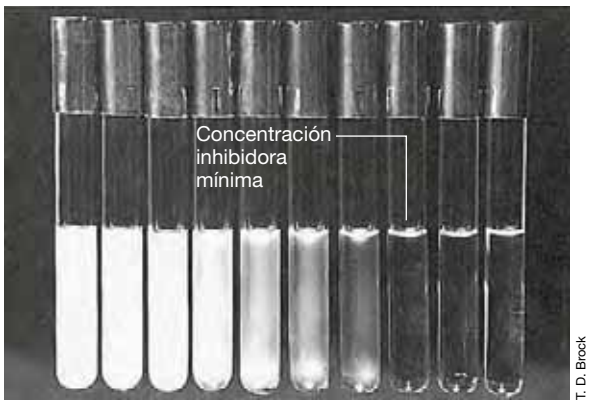


Figura 5.40 **Ensayo de susceptibilidad al agente antimicrobiano mediante métodos de dilución.** El ensayo define la concentración inhibidora mínima (CIM). Se prepara una serie de tubos con concentración creciente de agente antimicrobiano en el medio de cultivo. En cada tubo se inocula una concentración específica de un organismo control, y se incuban todos durante un tiempo determinado. El crecimiento, medido por turbidometría, se produce en los tubos con concentraciones de agente antimicrobiano por debajo de la CIM.

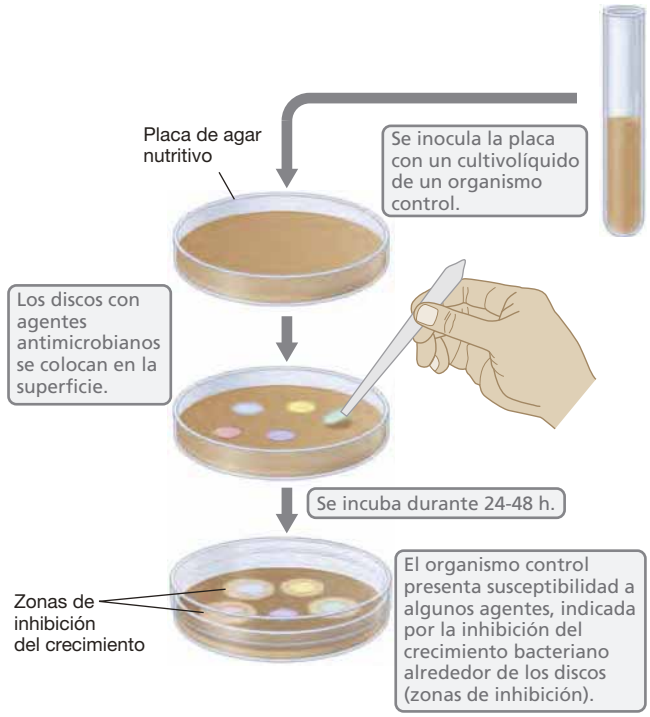


Figura 5.41 **Ensayo de susceptibilidad a agentes antimicrobianos mediante métodos de difusión.** El agente antimicrobiano se difunde desde los discos de papel al agar de su alrededor e inhibe el crecimiento de los microorganismos susceptibles.

de difusión y a la eficacia total del agente. El método de difusión en disco se usa de manera rutinaria para determinar la sensibilidad a los antibióticos en patógenos aislados clínicamente (↪ Sección 27.5).

Agentes antimicrobianos químicos

Se usan diversos agentes antimicrobianos para impedir el crecimiento de patógenos humanos en superficies inanimadas o en superficies externas del cuerpo. Pueden ser esterilizantes, desinfectantes, higienizantes y antisépticos (Tabla 5.7).

Los **esterilizantes** (también llamados *esporicidas*) destruyen todos los microorganismos, incluidas las endosporas. Los esterilizantes químicos se usan para descontaminar o esterilizar en situaciones en las que no se puede usar calor o radiación. Los hospitales y los laboratorios, por ejemplo, deben descontaminar y esterilizar rutinariamente materiales termosensibles

Tabla 5.7 Antisépticos, esterilizantes, desinfectantes e higienizantes[a]

Agente	*Modo de acción*	*Uso*
Antisépticos (germicidas)		
Alcohol (etanol o isopropanol 60-85 % en agua)	Disuelve los lípidos y desnaturaliza las proteínas	Antiséptico tópico
Compuestos fenólicos (hexaclorofeno, triclosán, cloroxilenol, clorhexidina)	Rompen la membrana citoplasmática	Jabones, lociones, cosméticos, desodorantes, desinfectantes tópicos; industrias del papel, del cuero y textil
Detergentes catiónicos, especialmente compuestos con amonio cuaternario (cloruro de benzalconio)	Rompen la membrana citoplasmática	Jabones, lociones, desinfectantes tópicos; industrias del metal y el petróleo
Peróxido de hidrógeno (solución al 3 %)	Agente oxidante	Antiséptico tópico
Yodóforos (Betadine®)	Yodan las proteínas y las hacen no funcionales; agente oxidante	Antiséptico tópico
Octenidina	Tensioactivo catiónico, rompe la membrana citoplasmática	Antiséptico tópico
Esterilizantes, desinfectantes e higienizantes		
Alcohol (etanol o isopropanol 60-85 % en agua)	Disuelve los lípidos y desnaturaliza las proteínas	Desinfectante para uso general en prácticamente cualquier superficie
Detergentes catiónicos (compuestos de amonio cuaternario, Lysol® y muchos desinfectantes relacionados)	Interaccionan con los fosfolípidos	Desinfectantes/higienizantes para instrumental médico, y equipos de industrias lácteas y alimentarias
Cloro gaseoso	Agente oxidante	Desinfectante para agua potable y torres de refrigeración eléctricas/nucleares
Compuestos de cloro (cloraminas, hipoclorito de sodio, clorito de sodio, dióxido de sodio)	Agentes oxidantes	Desinfectantes/higienizantes para instrumental médico, equipos de industrias lácteas y alimentarias y en la depuración del agua
Sulfato de cobre	Precipita las proteínas	Algicida en piscinas
Óxido de etileno (gaseoso)	Agente alquilante	Esterilizante para materiales termosensibles como plásticos
Formaldehído	Agente alquilante	Diluido (solución al 3 %), como desinfectante/esterilizante superficial; concentrado, (solución al 37 %) como esterilizante
Glutaraldehído	Agente alquilante	Desinfectante o esterilizante en solución al 2 %
Peróxido de hidrógeno	Agente oxidante	Vapor usado como esterilizante
Yodóforos (Wescodyne®)	Yoda las proteínas; agente oxidante	Desinfectante general
OPA (ortoftalaldehído)	Agente alquilante	Poderoso desinfectante usado para esterilizar instrumental médico
Ozono	Fuerte agente oxidante	Desinfectante para el agua potable
Ácido peroxiacético	Fuerte agente oxidante	Desinfectante/esterilizante
Compuestos fenólicos	Desnaturalizan las proteínas	Desinfectantes de uso general
Aceites esenciales de pino (Pine-Sol®) (contienen fenoles y detergentes)	Desnaturalizan las proteínas	Desinfectantes de uso general para superficies domésticas

[a]Los alcoholes, el peróxido de hidrógeno y los yodóforos pueden ser antisépticos, desinfectantes, higienizantes o esterilizantes según su concentración, el tiempo de exposición y el modo de administración.

como termómetros, instrumentos con lentes, tubos de polietileno, catéteres y equipamiento reutilizable como los respirómetros. El método habitual empleado es la *esterilización en frío*, un proceso que utiliza gases como el óxido de etileno, el formaldehído o el ácido peroxiacético para tratar objetos dentro de un dispositivo cerrado parecido a un autoclave. Los esterilizantes líquidos como el hipoclorito de sodio (lejía) o el amilfenol se utilizan para aquellos instrumentos que no soportan temperaturas altas ni exposición a gases.

Los **desinfectantes** son productos que matan microorganismos, pero no necesariamente endosporas, y se usan en objetos inanimados. Por ejemplo, el fenol y los detergentes catiónicos se usan para desinfectar suelos, mesas, poyatas, paredes, etcétera (Tabla 5.7) y son importantes para el control de las infecciones en hospitales y otras instalaciones sanitarias. Los **higienizantes**, en cambio, son productos menos fuertes que los desinfectantes, y actúan reduciendo la cantidad de microorganismos, pero no necesariamente esterilizan el objeto. Se usan mucho en el sector alimentario para tratar superficies como las de los equipos de cocina, platos, utensilios, y también para limpiarse las manos en seco cuando no se dispone de agua. Los **antisépticos**, a menudo llamados **germicidas**, son productos que matan o inhiben el crecimiento de los microorganismos y son lo bastante inocuos con los animales como para aplicarse en tejidos vivos. La mayoría de los germicidas se usan para el lavado de manos o para tratar heridas superficiales (Tabla 5.7). Algunos antisépticos son también desinfectantes eficaces. El etanol, por ejemplo, puede ser las dos cosas, antiséptico o desinfectante, dependiendo de la concentración y del tiempo de exposición empleados.

Existen varios factores que afectan a la eficacia de cualquier agente antimicrobiano químico. Por ejemplo, muchos agentes antimicrobianos se unen a materia orgánica y son inactivados por ella; así, desinfectar una encimera de cocina sucia de comida derramada es más difícil que desinfectar una encimera limpia. Además, con frecuencia las bacterias forman biopelículas y cubren las superficies de tejido o los dispositivos médicos con capas de células microbianas embebidas en polisacáridos. Las biopelículas pueden retrasar o incluso impedir completamente la penetración de los agentes antimicrobianos, de manera que reducen su eficacia, a veces completamente.

Solo los esterilizantes son eficaces contra las endosporas; estas estructuras son extremadamente resistentes porque sus cubiertas impiden la penetración de la mayoría de los agentes químicos (↻ Sección 2.16). Asimismo, la bacteria *Mycobacterium tuberculosis*, el organismo causante de la tuberculosis, es resistente a los desinfectantes comunes por la naturaleza cérea de su pared celular (↻ Secciones 15.11 y 29.4). Por tanto, la eficacia definitiva de los antisépticos, desinfectantes, esterilizantes y otros compuestos antimicrobianos se debe determinar empíricamente y en las condiciones de uso reales. Solamente probando realmente el compuesto y cuantificando el crecimiento microbiano antes y después del tratamiento se puede tener la certeza de que funciona como debería.

MINIRREVISIÓN

- Distinga entre los efectos antimicrobianos de los agentes -státicos, -cidas y -líticos.
- Explique cómo se determina la concentración inhibidora mínima de un agente antibacteriano.
- Distinga entre un esterilizante, un desinfectante y un antiséptico. ¿Qué es la esterilización en frío?

IDEAS PRINCIPALES

5.1 • El crecimiento microbiano se define como el incremento del número de células, y es el resultado final de la duplicación de todos los componentes de celulares antes de la división que da lugar a dos células hijas. La mayor parte de los microorganismos se multiplican por fisión binaria.

5.2 • La división celular y la replicación cromosómica están reguladas de manera coordinada, y las proteínas Fts son fundamentales para estos procesos. Con la ayuda de MinE, FtsZ define el plano de división de la célula y participa en el ensamblaje del divisoma, el complejo proteínico que dirige la división celular.

5.3 • MreB ayuda a definir la forma celular, y en los bacilos forma un ovillo citoesquelético que dirige la síntesis de la pared celular a lo largo del eje mayor de la célula. La proteína crescentina tiene una función análoga en *Caulobacter*, que lleva a la formación de una célula curvada. Las proteínas actina y tubulina, que definen la forma de las células y la división celular en los eucariotas tienen sus homólogos procarióticos.

5.4 • Durante el crecimiento bacteriano se sintetiza nuevo peptidoglicano por inserción de nuevas unidades de tetrapéptidos del glicano a peptidoglicano preexistente. El bactoprenol facilita el transporte de estas unidades a través de la membrana citoplasmática. La transpeptidación completa el proceso de síntesis de la pared celular estableciendo puentes entre residuos de ácido murámico de cadenas adyacentes de peptidoglicano.

5.5 • El crecimiento de las células microbianas es exponencial, y la representación semilogarítmica del número de células en función del tiempo revela el tiempo de duplicación de la población. Mediante cálculos matemáticos sencillos se puede calcular varias expresiones de crecimiento a partir de los datos de cantidad de células. Las expresiones importantes en este caso son el número de generaciones, n; el tiempo, t; y el tiempo de generación, g. El tiempo de generación se expresa $g = t/n$.

5.6 • Los microorganismos presentan un patrón de crecimiento característico cuando se inoculan en un medio de cultivo fresco. Normalmente hay una fase de latencia y después empieza el crecimiento de manera exponencial. Cuando se agotan los nutrientes esenciales o se acumulan productos tóxicos, el crecimiento cesa y la población entra en una fase estacionaria. A partir de ahí, la incubación puede llevar a la muerte celular.

5.7 • El quimiostato es un sistema abierto que se utiliza para mantener poblaciones celulares en crecimiento exponencial durante períodos largos. En un quimiostato, la velocidad a la que se diluye un cultivo con medio de crecimiento fresco controla el tiempo de duplicación de la población, y la densidad celular (células/ml) es controlada a su vez por la concentración en el medio fresco del nutriente limitante del crecimiento.

5.8 • Se pueden contar las células al microscopio usando una cámara de recuento. El recuento microscópico mide el número total de células de la muestra, y es útil para evaluar la cantidad total de células en un hábitat microbiano. Para medir poblaciones celulares específicas en una muestra se pueden usar ciertos colorantes.

5.9 • Los recuentos de células viables (recuentos en placa) miden únicamente la población viva presente en la muestra, suponiendo que cada colonia se origina del crecimiento y la división de una sola célula. Según el medio y las condiciones de crecimiento utilizados, los recuentos en placa pueden ser bastante precisos o muy poco fiables.

5.10 • Las mediciones turbidimétricas son un método indirecto pero muy rápido y útil para medir el crecimiento bacteriano. No obstante, es necesario establecer primero una curva de calibración estándar en la que se represente la turbidez en función del número de células para poder relacionar ambos parámetros.

5.11 • La temperatura es uno de los factores principales que controlan el crecimiento microbiano. Las temperaturas cardinales de un organismo describen las temperaturas mínima, óptima y máxima a las que crece dicho organismo. Los microorganismos se agrupan según sus temperaturas cardinales en psicrófilos, mesófilos, termófilos e hipertermófilos, desde los que crecen a temperaturas más bajas a los que lo hacen a las más altas, respectivamente.

5.12 • Los organismos con una temperatura óptima por debajo de los 20 °C se llaman psicrófilos, y los representantes más extremos habitan en ambientes permanentemente fríos. Los psicrófilos han desarrollado macromoléculas que permanecen flexibles y funcionales a temperaturas bajas, pero pueden ser extraordinariamente sensibles a temperaturas medias.

5.13 • Los organismos con temperaturas óptimas entre 45 °C y 80 °C se llaman termófilos, y aquellos cuya temperatura óptima supera los 80 °C son hipertermófilos. Estos últimos habitan en ambientes cuya temperatura puede superar incluso los 100 °C. Los termófilos y los hipertermófilos sintetizan moléculas termoestables.

5.14 • La acidez o la alcalinidad del ambiente puede afectar notablemente al crecimiento microbiano. Algunos organismos crecen mejor a pH bajo o alto (acidófilos y basófilos, respectivamente), pero la mayoría lo hacen a pH entre 5,5 y 8. El pH interno de una célula se debe mantener relativamente próximo a la neutralidad para impedir la destrucción del DNA y del RNA.

5.15 • La actividad de agua de un ambiente acuoso está controlada por su concentración de solutos disueltos. Para sobrevivir en ambientes con elevada concentración de solutos, los organismos producen o acumulan solutos compatibles para mantener la célula en un balance positivo de agua. Algunos microorganismos crecen mejor a potenciales acuosos reducidos y los hay que incluso necesitan grandes concentraciones de sal para crecer.

5.16 • Los aerobios necesitan oxígeno para vivir, mientras que los anaerobios no, e incluso les puede resultar mortal. Los organismos facultativos pueden vivir con y sin oxígeno. Para cultivar microorganismos aerobios y anaerobios son necesarias técnicas especiales. En las células se pueden generar varias formas tóxicas de oxígeno, pero las enzimas presentes neutralizan la mayoría de ellas. El superóxido es una de las principales formas tóxicas del oxígeno.

5.17 • La esterilización mata todos los organismos y virus, y el método de esterilización más utilizado es el calor. Un autoclave usa calor húmedo bajo presión, alcanzándose temperaturas por encima del punto de ebullición del agua. La pasteurización no esteriliza los líquidos, pero reduce su carga microbiana, mata la mayoría de los patógenos e inhibe el crecimiento de microorganismos contaminantes.

5.18 • La radiación puede inhibir o matar eficazmente los microorganismos. La radiación ultravioleta se usa para descontaminar superficies y el aire. La radiación ionizante se usa para esterilizar y descontaminar cuando se requiere penetración. Los filtros eliminan los microorganismos del aire o de los líquidos. Los filtros de membrana se usan para esterilizar líquidos termosensibles, y los filtros Nucleopore para aislar especímenes para microscopía electrónica.

5.19 • Para controlar el crecimiento microbiano se usan habitualmente productos químicos. Los que matan organismos llevan el sufijo -cida, mientras que los que detienen el crecimiento pero sin matar son agentes -státicos. La eficacia de los agentes antimicrobianos se evalúa mediante la determinación de su capacidad para inhibir el crecimiento *in vitro*. Los esterilizantes, los desinfectantes y los higienizantes se usan para descontaminar material inerte, mientras que los antisépticos y los germicidas se emplean para reducir la carga microbiana de tejidos vivos.

MasteringMicrobiology®

Revise lo que sabe y descubra lo que ha aprendido con MasteringMicrobiology. Acceda a material de estudio, revisiones de los capítulos, animaciones y tutoriales de microbiología práctica en el Área de Estudio y asegúrese de que ha asimilado todo el contenido de este capítulo.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Acidófilo: organismo que crece mejor a pH bajo; típicamente por debajo de pH 5,5.
Actividad de agua: relación entre la presión de vapor de agua del aire en equilibrio con una solución y la presión de vapor del agua pura.
Aerobio: organismo que puede utilizar el oxígeno en la respiración; algunos necesitan el oxígeno para vivir.
Agente antimicrobiano: compuesto químico que mata o inhibe el crecimiento de los microorganismos.
Agente bactericida: agente que mata las bacterias.
Agente bacteriostático: agente que inhibe el crecimiento bacteriano.
Agente fungicida: agente que mata los hongos.
Agente fungistático: agente que inhibe el crecimiento de los hongos.
Agente viricida: agente que detiene la replicación y la actividad de los virus.
Agente viristático: agente que inhibe la replicación de los virus.
Alcalófilo: organismo cuyo pH de crecimiento óptimo es de 8 o superior.
Anaerobio: organismo que no puede utilizar el oxígeno en la respiración y cuyo crecimiento suele estar inhibido por ese elemento.
Anaerobio aerotolerante: microorganismo incapaz de respirar oxígeno pero cuyo crecimiento no se ve afectado por él.
Anaerobio estricto: organismo que no puede crecer en presencia de oxígeno.
Antiséptico (germicida): agente químico que mata los microorganismos o inhibe su crecimiento y es lo bastante inocuo para aplicarse a tejidos vivos.
Autoclave: dispositivo estanco de calor que destruye los microorganismos con temperatura y vapor a presión.
Biopelícula: matriz polisacarídica adherida a una superficie que contiene células bacterianas.
Concentración inhibidora mínima (CIM): concentración mínima de una sustancia necesaria para impedir el crecimiento microbiano.
Crecimiento: aumento del número de células.
Crecimiento exponencial: crecimiento de una pobalción microbiana en el que el número de células se duplica en un intervalo de tiempo específico.
Cultivo discontinuo (en *batch*): cultivo microbiano en un sistema cerrado de volumen fijo.
Descontaminación: tratamiento de una superficie o un objeto para que se pueda manejar de manera segura.
Desinfección: dejar una superficie o un objeto sin microorganismos patógenos.
Desinfectante: agente antimicrobiano usado solo en objetos inertes.
Divisoma: complejo proteínico que dirige los procesos de división de la célula en los procariotas.
Esterilización: eliminación o muerte de todos los microorganismos y virus.
Esterilizante (esporicida): agente químico que destruye cualquier forma de vida microbiana.
Facultativo: respecto al oxígeno, organismo que puede crecer en ausencia o en presencia de ese elemento.
Filtro HEPA: filtro de aire particulado de alta eficacia que elimina las partículas, incluidos los microorganismos, del flujo de aire de entrada o de salida.
Fisión binaria: división celular tras la duplicación del tamaño mínimo de la célula.
FtsZ: proteína que forma un anillo a lo largo de la línea media divisoria de una célula para iniciar la división celular.
Germicida (antiséptico): agente químico que mata los microorganismos o inhibe su crecimiento y es lo bastante inocuo para poder aplicarse a tejidos vivos.
Halófilo: microorganismo que requiere NaCl para crecer.
Halófilo extremo: microorganismo que requiere grandes concentraciones de NaCl, normalmente más del 10 % y en ocasiones cerca de la saturación, para crecer.
Halotolerante: microorganismo que no requiere NaCl para crecer, pero puede crecer en su presencia, en ocasiones a concentraciones realmente altas de NaCl.
Higienizante: agente que reduce la concentración de microorganismos a un nivel seguro, pero puede que no los elimine del todo.
Hipertermófilo: procariota que tiene una temperatura óptima de crecimiento de 80 °C o superior.
Mesófilo: organismo que crece mejor a temperaturas de entre 20 °C y 40 °C.
Microaerófilo: organismo aerobio que puede crecer solamente cuando la tensión de oxígeno es más reducida que la del aire.
Neutrófilo: organismo que crece mejor a pH neutro, entre 5,5 y 8.
Osmófilo: organismo que crece mejor en presencia de alta concentración de soluto, normalmente azúcares.
Pasteurización: tratamiento térmico de la leche u otros líquidos para reducir su cantidad total de microorganismos.
pH: cologaritmo de la concentración de iones hidrógeno (H^+) de una solución.
Psicrófilo: organismo con una temperatura óptima de crecimiento de 15 °C o inferior y una temperatura máxima de crecimiento por debajo de los 20 °C.
Psicrotolerante: capaz de crecer a bajas temperaturas pero con una temperatura óptima por encima de 20 °C.
Quimiostato: dispositivo que permite el cultivo continuo de los microorganismos con control independiente de la velocidad de crecimiento y del número de células.
Recuento de viables: medición de la concentración de células vivas en una población.
Recuento en placa: método de recuento de células viables; el número de colonias de una placa se usa para medir el número de células.
Soluto compatible: molécula que se acumula en el citoplasma para el ajuste de la actividad de agua de una célula, pero que no inhibe procesos bioquímicos.

Temperaturas cardinales: temperaturas mínima, óptima y máxima de crecimiento para un organismo determinado.
Termófilo: organismo cuya temperatura de crecimiento óptima está entre 45 °C y 80 °C.
Tiempo de generación: tiempo necesario para que se duplique una población de células microbianas.
Transpeptidación: formación de puentes peptídicos entre residuos de ácido murámico en la síntesis de peptidoglicano.
Viable: capaz de reproducirse.
Xerófilo: organismo capaz de vivir o que vive mejor en ambientes muy secos.

PREGUNTAS DE REPASO

1. Describa los procesos moleculares fundamentales que se producen cuando una célula crece y se divide. (Sección 5.1)
2. Describa el papel de las proteínas presentes en el divisoma. ¿El anillo FtsZ se forma antes o después de la replicación del cromosoma? (Sección 5.2)
3. ¿En qué se diferencian al microscopio las células de *Escherichia coli* portadoras de una mutación en *mreB* (el gen que codifica la proteína MreB) de las del tipo silvestre (sin mutación)? ¿Cuál es la razón para ello? (Sección 5.3)
4. Describa cómo se insertan las nuevas subunidades de peptidoglicano en la pared celular en crecimiento. ¿Cómo mata la penicilina las células bacterianas y por qué solo mata células en crecimiento? (Sección 5.4)
5. ¿Qué diferencia hay entre la velocidad de crecimiento específica (k) de un organismo y su tiempo de generación (g)? (Sección 5.5)
6. Describa el ciclo de crecimiento de una población de células bacterianas desde el momento en que son inoculadas en un medio fresco. (Sección 5.6)
7. ¿Cómo regula un quimiostato la velocidad de crecimiento y la cantidad de células independientemente? (Sección 5.7)
8. ¿Qué diferencia hay entre un recuento total de células y un recuento de células viables? (Secciones 5.8 y 5.9)
9. ¿Cómo se puede usar la turbidez para medir la cantidad de células? (Sección 5.10)
10. Observe la gráfica que describe la relación entre la velocidad de crecimiento y la temperatura (Figura 5.19) y dé una explicación, en términos bioquímicos, de por qué la temperatura óptima de un organismo suele estar más cerca de la temperatura máxima que de la mínima. (Sección 5.11)
11. Describa un hábitat en el que podríamos encontrar un psicrófilo, y otro en el que podríamos encontrar un hipertermófilo. ¿Cómo pueden sobrevivir estos organismos en condiciones tan duras? (Secciones 5.12 y 5.13)
12. Respecto al pH del ambiente y al de la célula, ¿en qué se diferencian los acidófilos y los alcalófilos? ¿En qué se parecen? (Sección 5.14)
13. Explique en términos moleculares de cómo es capaz un halófilo de hacer que el agua entre en la célula cuando crece en una solución rica en NaCl. (Sección 5.15)
14. Compare un organismo aerotolerante con un anaerobio estricto en términos de sensibilidad al oxígeno y de capacidad de crecer en presencia de ese elemento. ¿En qué se diferencia un anaerobio aerotolerante de un microaerófilo? (Sección 5.16)
15. Compare las enzimas catalasa, superóxido-dismutasa y superóxido-reductasa en cuanto a sus sustratos y sus productos. (Sección 5.16)
16. Compare los términos tiempo de muerte térmica y tiempo de reducción decimal. ¿Cómo afecta la presencia de endosporas a cada valor? (Sección 5.17)
17. Describa el principio de funcionamiento de un autoclave. ¿En qué se diferencia de una simple ebullición? Los medios de cultivo microbianos no hierven en el autoclave. ¿Por qué? (Sección 5.17)
18. Describa los efectos de una dosis mortal de radiación ionizante a nivel molecular. (Sección 5.18)
19. ¿Qué tipo de filtro usaría para esterilizar un líquido termosensible? (Sección 5.18)
20. Describa el procedimiento para obtener la concentración inhibidora mínima (CIM) de una sustancia bactericida para *Escherichia coli*. (Sección 5.19)
21. Compare la acción de los desinfectantes y de los antisépticos. ¿Por qué los desinfectantes no se usan en tejidos vivos? (Sección 5.19)

EJERCICIOS PRÁCTICOS

1. Calcule g y k en un experimento de crecimiento en el que el medio se inoculó con 5×10^6 células/ml de *Escherichia coli* y, tras una latencia de 1 h, creció exponencialmente durante 5 horas, tras las cuales la población era de $5{,}4 \times 10^9$ células/ml.
2. *Escherichia coli* crece a 40 °C, pero no así *Pyrolobus fumarii*; sin embargo, *P. fumarii* crece a 110 °C, pero *E. coli* no. ¿Qué ocurre (o no ocurre) para impedir el crecimiento de cada organismo en la temperatura que no lo permite?
3. ¿En qué dirección (hacia el interior o hacia el exterior de la célula) fluirá el agua en las células de *Escherichia coli* (un organismo presente en el intestino grueso) suspendidas repentinamente en una solución de NaCl al 20 %? ¿Y si las células se suspenden en agua destilada? Si se añaden nutrientes a cada suspensión celular, ¿alguna de ellas favorecerá el crecimiento, y por qué?

CAPÍTULO

6 · Genómica microbiana

microbiología **actual**

La genómica y las nuevas *Archaea*

Hasta hace poco tiempo se conocían solamente tres filos de *Archaea: Euryarchaeota, Crenarchaeota* y *Nanoarchaeota.* Curiosamente, las especies cultivables de estos filos han sido aisladas de ambientes extremos, ya sea de hábitats estrictamente anóxicos o excesivamente calientes, salados o ácidos. Esto ha llevado a muchos microbiólogos a concluir que las *Archaea* eran principalmente extremófilas y que estas no vivían en el mar, lagos y suelos habituales en una cantidad significativa. Sin embargo, los ecólogos microbianos comenzaron a cuestionarse esta hipótesis cuando, mediante microscopía de fluorescencia, se encontraron *Archaea* en muestras de agua de mar y de agua dulce, con solo algunas características comunes con el filum *Crearchaeota.* ¿Qué organismos eran esos, y de qué vivían?

Un grupo de microbiólogos de la Universidad de Washington en Seattle, tuvieron una hipótesis acerca del metabolismo de estas *Archaea* y se dedicaron a aislar estos microorganismos de muestras marinas (fotografía). Con constancia, paciencia y magnífica intuición científica, este grupo logró aislar *Nitrosopumilus,* la primera arquea oxidadora de amoníaco (nitrificante) conocida (fotografía encuadrada). A pesar que muchas especies de *Bacteria* pueden ser nitrificantes, *Nitrosopumilus* puede oxidar cantidades traza de amoníaco disueltas en las aguas de mar abierto, que generalmente las *Bacteria* nitrificantes no son capaces de hacer. Una vez que contaron con cultivos puros de estos microorganismos, y usando las poderosas herramientas de la genómica, se estudió con mayor profundidad la filogenia de este grupo. ¿Eran estas *Archaea* nitrificantes en realidad unas *Crenarchaeota* muy divergentes?

La genómica permite responder estas preguntas, y de este modo un análisis profundo de los genomas de dos arqueas nitrificantes[1] mostró claramente que estas formaban un filo independiente, que ahora se conoce como *Thaumarchaeota.* El análisis genómico permitió comparar el conjunto de todos los genes de estas *Archaea* con los genomas de otras *Archaea*. Además de poner de manifiesto la existencia de cuatro filos de *Archaea,* la genómica desveló las peculiaridades metabólicas de las *Thaumarchaeota* y esto a su vez ha abierto una ventana sobre el papel ecológico que estas pueden desempeñar en hábitats con carencias de nutrientes.

[1]Spang, A., *et al.*, 2010. Distinct gene set in two different lineages of ammonia-oxidizing *Archaea* supports the phylum *Thaumarchaeota*. *Trends in Microbiol. 18:* 331-340.



I Investigación del genoma 192
II Genomas microbianos 199
III Genómica funcional 207
IV Evolución del genoma 216

El **genoma** de un organismo es la totalidad de su información genética, incluidos los genes que codifican proteínas, los RNA y secuencias reguladoras, así como todo el DNA no codificante que pueda estar presente. La secuencia genómica de un organismo no solo pone de manifiesto sus genes, también nos ofrece importantes pistas acerca de cómo funciona dicho organismo y de su historia evolutiva. La genómica no solo comprende la secuenciación completa del DNA y la identificación de todos los genes, sino que además estudia la expresión génica global de todo el genoma. El enfoque tradicional en el estudio de la expresión génica consistía en centrarse en un solo gen o en un grupo de genes relacionados. En la era genómica, se puede examinar la expresión de todos o de la mayoría de los genes de un organismo en un solo ensayo.

Los avances en la genómica dependen en gran medida de las mejoras en las tecnologías moleculares y el poder de la informática. Los principales avances incluyen la automatización de la secuenciación del DNA, la miniaturización de las técnicas analíticas, así como el desarrollo de potentes métodos informáticos para el análisis de las secuencias de DNA y de proteínas. Cada año aparecen nuevos avances que bajan el coste y aumentan la velocidad del análisis de los genomas. Aquí nos centraremos en los genomas microbianos, algunas técnicas que se utilizan para analizarlos y lo que la genómica microbiana ha revelado hasta ahora.

I • Investigación del genoma

La palabra **genómica** se refiere a la disciplina encargada de mapear, secuenciar, analizar y comparar los genomas. Se han secuenciado varios miles de genomas de procariotas, entre ellos los de muchas cepas de algunas especies importantes de *Bacteria* y *Archaea*. El número de genomas secuenciados irá en aumento rápidamente ya que con frecuencia aparecen nuevos avances en las técnicas de secuenciación. Hoy en día, la limitación principal de la genómica radica en el análisis y la visualización de gran cantidad de datos de secuencias de ácidos nucleicos. Sin embargo, las secuencias de los genomas continúan brindando nuevas pistas en áreas tan diversas como la medicina o la evolución microbiana.

6.1 Introducción a la genómica

El primer genoma que se secuenció fue el genoma del RNA de 3.569 nucleótidos del virus MS2 (↔ Sección 9.8), en 1976. El primer genoma de DNA en secuenciarse fue el del virus de DNA monocatenario ϕX174 (Sección 9.3), de 5.386 nucleótidos, en 1977. El primer genoma bacteriano se publicó en 1995 y fue el cromosoma de *Haemophilus influenzae*, de 1.830.137 pares de bases (bp). Ahora están disponibles en bases de datos públicas las secuencias de varios miles de genomas procariotas (para una lista actualizada busque en http://www.genomesonline.org/); en la **Tabla 6.1** se da una relación de algunos ejemplos representativos. En esta se incluyen especies de *Bacteria* y *Archaea* y representantes de genomas circulares y lineales. Aunque son raros, los cromosomas lineales están presentes en algunas bacterias, como *Borrelia burgdoferi*, el agente causante de la enfermedad de Lyme, y el género *Streptomyces*, un importante productor de antibióticos. El tamaño de los genomas bacterianos varía desde 0,5 a 13 megapares de bases (Mbp, un millón de pares de bases) y estos contienen aproximadamente de 500 a 10.000 genes que codifican proteínas.

También se han secuenciado los genomas de muchos organismos superiores, como el genoma haploide humano, que contiene unos 3 mil millones de bp pero solamente unos 25.000 genes que codifican proteínas. Los mayores genomas secuenciados hasta el momento, en cuanto al número total de genes, son los de *Populus trichocarpa,* una especie de chopo de los bosques del oeste de Norteamérica, con aproximadamente 45.000 genes, y el del protozoo *Trichomonas*, con alrededor de 60.000 genes que codifican proteínas. Ambas especies, tienen muchos más genes que los humanos.

Se han secuenciado también los genomas de muchos patógenos. En muchos casos se han comparado varias cepas de un mismo patógeno que difieren en su virulencia, con la esperanza de encontrar qué genes son relevantes para la medicina. También, de organismos hipertermófilos (↔ Sección 5.12), que tienen usos importantes en la biotecnología porque sus enzimas son termoestables. En sus inicios, las necesidades de las industrias biomédicas y biotecnológicas afectaron marcadamente la elección de los organismos para secuenciar sus genomas. Sin embargo, la secuenciación de genomas es actualmente una técnica rutinaria, y los proyectos de secuenciación no dependen ya de las necesidades médicas y tecnológicas. De hecho, la tendencia actual es secuenciar y comparar muchas cepas diferentes de un mismo organismo para tener una idea de los genes que tienen en común y de los que son opcionales (el genoma esencial y el pangenoma, Sección 6.13). La lista de genomas de la Tabla 6.1 también incluye organismos modelo muy estudiados, como *Bacillus subtilis* (por la esporulación), *Escherichia coli* (modelo de bacteria gramnegativa y de la biología general), y *Pseudomonas aeruginosa* (modelo de bacteria gramnegativa patógena).

MINIRREVISIÓN

- ¿Cuántos genes hay en el genoma humano?
- Mencione algunos organismos cuyos genomas sean mayores que el genoma humano.

6.2 Secuenciación del genoma

El término **secuenciación** en biología se refiere a determinar el orden preciso de las subunidades en una macromolécula. En el caso del DNA (o del RNA), la secuencia es el *orden* en el que están alineados los nucleótidos. La tecnología de secuenciación del DNA avanza tan rápidamente que cada año aparecen dos o tres métodos nuevos, aunque solamente algunos de ellos ganan una aceptación generalizada o superan la prueba del tiempo. Este hecho se ilustra claramente con la disminución en el coste de la secuenciación de 1 megabase (Mb) de DNA, que desde el año 2001 al 2011 es 10.000 veces más barato. La **Tabla 6.2** resume los métodos de secuenciación que se describen aquí.

Tabla 6.1 Selección de genomas procariotas[a]

Organismo	*Estilo de vida*[b]	*Tamaño (bp)*	*ORF*[c]	*Comentarios*
Bacteria				
Hodgkinia cicadicola	E	143.795	169	Endosimbionte degenerado de cicadas
Carsonella ruddii	E	159.662	182	Endosimbionte degenerado de áfidos
Buchnera aphidicola	E	422.434	362	Endosimbionte de áfidos
Mycoplasma genitalium	P	580.070	470	El menor genoma bacteriano no simbiótico
Borrelia burgdorferi	P	910.725	853	Espiroqueta, cromosoma lineal, causa la enfermedad de Lyme
Rickettsia prowazekii	P	1.111.523	834	Parásito intracelular obligado, causa el tifus epidémico
Treponema pallidum	P	1.138.006	1041	Espiroqueta, causa la sífilis
Familia *Methylophilaceae,* cepa HTCC2181	VL	1.304.428	1354	Metilótrofo marino, menor genoma de organismo de vida libre
Aquifex aeolicus	VL	1.551.335	1544	Hipertermófilo, autótrofo
Prochlorococcus marinus	VL	1.657.990	1716	El fotótrofo oxigénico marino más abundante
Streptococcus pyogenes	VL	1.852.442	1752	Causa faringitis infecciosa y escarlatina
Thermotoga maritima	VL	1.860.725	1877	Hipertermófilo
Chlorobaculum tepidum	VL	2.154.946	2288	Bacteria verde fotótrofa modelo
Deinococcus radiodurans	VL	3.284.156	2185	Resistente a las radiaciones, múltiples cromosomas
Synechocystis sp.	VL	3.573.470	3168	Cianobacteria modelo
Bdellovibrio bacteriovorus	VL	3.782.950	3584	Depredador de otros procariotas
Caulobacter crescentus	VL	4.016.942	3767	Ciclo de vida complejo
Bacillus subtilis	VL	4.214.810	4100	Modelo genético de grampositivo
Mycobacterium tuberculosis	P	4.411.529	3924	Causa tuberculosis
Escherichia coli K-12	VL	4.639.221	4288	Modelo genético de gramnegativo
Escherichia coli O157:H7	VL	5.594.477	5361	Cepa enteropatógena de *E. coli*
Bacillus anthracis	VL	5.227.293	5738	Patógeno, agente de la guerra biológica
Pseudomonas aeruginosa	VL	6.264.403	5570	Patógeno oportunista metabólicamente versátil
Streptomyces coelicolor	VL	8.667.507	7825	Cromosoma lineal, produce antibióticos
Bradyrhizobium japonicum	VL	9.105.828	8317	Fijación de nitrógeno, produce nódulos en la soja
Sorangium cellulosum	VL	13.033.799	9367	Mixobacteria, forma cuerpos fructíferos multicelulares
Archaea				
Nanoarchaeum equitans	P	490.885	552	El menor genoma celular no simbiótico
Thermoplasma acidophilum	VL	1.564.905	1509	Termófilo, acidófilo
Methanocaldococcus jannaschii	VL	1.664.976	1738	Metanógeno, hipertermófilo
Pyrococcus horikoshii	VL	1.738.505	2061	Hipertermófilo
Halobacterium salinarum	VL	2.571.010	2630	Halófilo extremo, bacteriorrodopsina
Sulfolobus solfataricus	VL	2.992.245	2977	Hipertermófilo, quimiolitótrofo del azufre
Haloarcula marismortui	VL	4.274.642	4242	Halófilo extremo, bacteriorrodopsina
Methanosarcina acetivorans	VL	5.751.000	4252	Metanógeno acetótrofo

[a]Se puede encontrar información sobre genomas procariotas en la base de datos http://cmr.jcvi.org, un sitio web mantenido por el Instituto J. Craig Venter (Rockville, Maryland), y en http://www.genomesonline.org.
[b]E, endosimbionte; P, parásito; VL, vida libre.
[c]Marcos abiertos de lectura. Se incluyen los genes que codifican proteínas conocidas, así como los ORF que pueden codificar proteínas de más de 100 aminoácidos. Los ORF más pequeños no están incluidos a menos que muestren semejanza con el gen de otro organismo o que la preferencia de codones sea la típica del organismo de estudio.

Secuenciación de DNA de primera generación: el método didesoxi de Sanger

El primer método de secuenciación de DNA utilizado ampliamente fue el método didesoxi, inventado por el científico británico Fred Sanger, que obtuvo un segundo Premio Nobel por el desarrollo de esta técnica. Este método todavía se utiliza para algunas aplicaciones de la secuenciación a pesar de haber sido superado por tecnologías más recientes en la secuenciación del DNA. Sanger introdujo varios conceptos importantes, que todavía se emplean en protocolos más recientes de secuenciación, como la secuenciación por síntesis en oposición a la secuenciación por escisión o corte, usando didesoxinucleótidos para bloquear la extensión de la cadena de DNA, y la utilización de precursores marcados para la detección.

En la secuenciación del DNA por síntesis, se emplean como cebadores oligonucleótidos de DNA de pequeño tamaño

Tabla 6.2 Métodos de secuenciación del DNA

Generación	*Método*	*Características*
Primera generación	Método didesoxi de Sanger (radioactividad o fluorescencia; amplificación del DNA)	Tamaño de lectura: 700-900 bases Usado para el proyecto del genoma humano
Segunda generación	Pirosecuenciación 454 (fluorescencia; amplificación del DNA; masiva en paralelo)	Tamaño de lectura: 400-500 bases Usado para secuenciar el genoma de James Watson (completado en 2007)
	Método Illumina/Solexa (fluorescencia; amplificación del DNA; masiva en paralelo)	Tamaño de lectura: 50-100 bases Genoma del panda gigante (2009; Beijing Genome Institute) genoma del hombre de Denisova (2010)
	Método SOLiD (fluorescencia; amplificación del DNA; masiva en paralelo)	Tamaño de lectura: 50-100 bases
Tercera generación	Secuenciación de una sola molécula, HeliScope (fluorescencia; única molécula de DNA)	Tamaño de lectura: hasta 55 bases Mejora mucho la exactitud para DNA fósil
	Secuenciación SMRT, Pacific Biosciences (fluorescencia; única molécula de DNA; guía de onda de «modo cero» o ZMW)	Tamaño de lectura: 2.500-3.000 bases
Cuarta generación	Secuenciación por Ion Torrent (cambio iónicos por pH; amplificación de DNA)	Tamaño de lectura: 100-200 bases Genoma secuenciado de Gordon Moore, cofundador de Intel y creador de la ley de Moore, 2011
	Secuenciación por nanoporos, Oxford Nanopore (corriente eléctrica; única molécula de DNA; tiempo real)	Tamaño de lectura: miles de bases Utiliza la unidad portátil MinION que es aproximadamente del tamaño de un lápiz memoria USB.

(usualmente 10–20 nucleótidos) y secuencia definida, que son sintetizados de manera artificial. Los **cebadores** son segmentos cortos de DNA o de RNA que inician la síntesis de cadenas nuevas de ácidos nucleicos. Durante la replicación del DNA in vivo se utilizan cebadores de RNA, pero en biotecnología se emplean cebadores de DNA, ya que son más estables que los de RNA.

En el método de Sanger la secuencia se determina haciendo copias del DNA original de cadena sencilla mediante la enzima DNA polimerasa. Como se ha tratado previamente (↻ Sección 4.4), esta enzima añade trifosfatos de desoxirribonucleótidos a la cadena creciente de DNA. Sin embargo, en la secuenciación de Sanger, se incluyen cantidades pequeñas del didesoxirribonucleótido correspondiente en cada una de las cuatro mezclas de incubación —una para cada una de las cuatro bases: adenina, guanina, citosina y timina (Figura 6.1). El didesoxi análogo es un reactivo específico *terminador de la cadena* ya que, al no contener el grupo 3′-hidroxilo, la elongación de la cadena no puede continuar después de su inserción. Durante el proceso, se obtienen cadenas de DNA de diferentes longitudes debido a que los didesoxirribonucleótidos se insertan aleatoriamente, y estos fragmentos son separados mediante electroforesis en gel según su tamaño (Figura 6.1).

Originalmente se utilizaban cuatro reacciones separadas (y cuatro carreras independientes en el gel) en cada secuenciación, una para cada fragmento terminado en cada una de las cuatro bases del DNA. Las posiciones de los fragmentos se localizaban usando precursores marcados (al principio radiactivamente, pero ahora con fluorescencia). Mediante la alineación de las cuatro carreras de didesoxiribonucleótidos y la localización de la posición vertical de cada fragmento respecto de su vecino, se puede leer la secuencia de DNA directamente desde el gel (Figura 6.2).

Los sistemas de secuenciación automática de DNA usan cebadores (o nucleótidos) marcados con fluorescencia, en lugar de con radiactividad. Los productos se separan por electroforesis en tubos capilares y las bandas de fluorescencia se detectan con láser. Como cada una de las cuatro bases utiliza una marca fluorescente de un color diferente, las cuatro reacciones se llevan a cabo en una misma carrera del gel de electroforesis y los resultados son finalmente analizados por un ordenador (Figura 6.2).

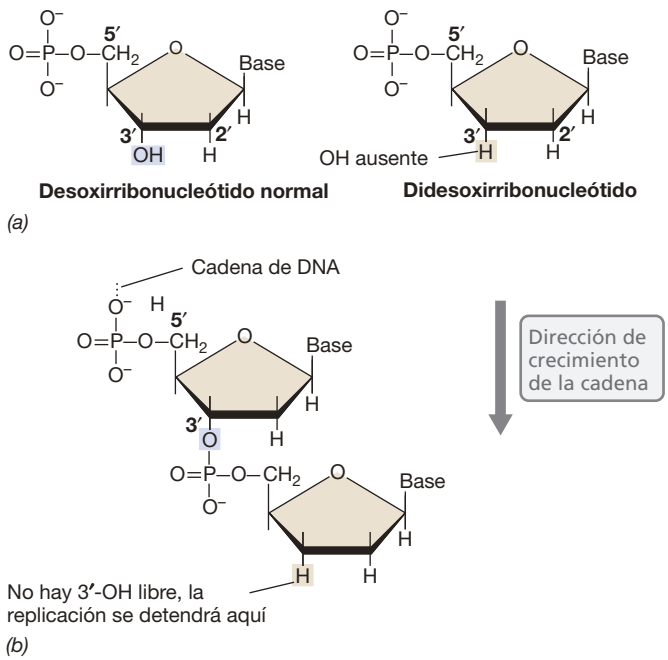


Figura 6.1 Didesoxinucleótidos y secuenciación de Sanger. *(a)* Un desoxirribonucleótido normal tiene un grupo hidroxilo en el carbono 3′, mientras un didesoxirribonucleótido no lo tiene. *(b)* La elongación de la cadena termina cuando se incorpora un didesoxirribonucleótido.

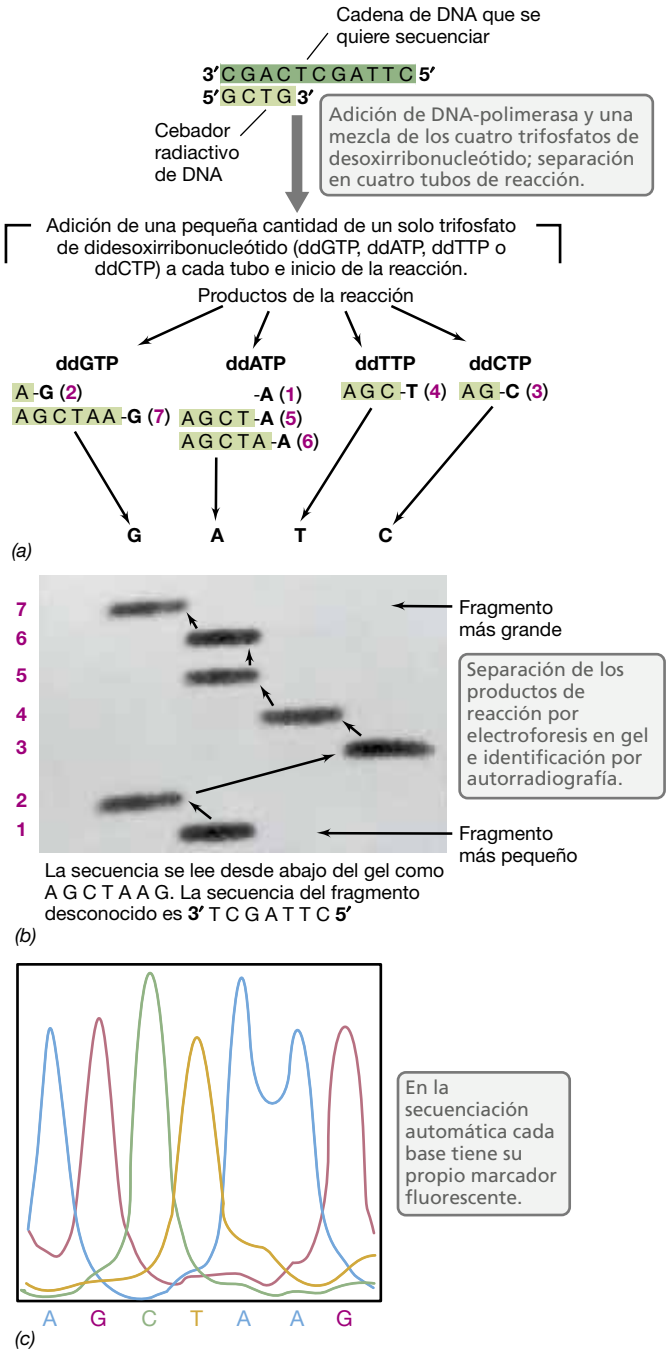


Figura 6.2 **Secuenciación de DNA por el método de Sanger.** *(a)* Obsérvese que se deben realizar cuatro reacciones diferentes, una con cada didesoxinucleótido. Como estas reacciones se realizan in vitro, el cebador para la síntesis de DNA puede ser DNA. *(b)* Porción de un gel que contiene los productos de reacción de *(a)*. *(c)* Resultados de la secuenciación del mismo DNA mostrado en *(a)* y *(b)*, pero usando un secuenciador automatizado y marcas fluorescentes. Los fragmentos de DNA se separan por su tamaño en una única columna capilar y cada didesoxirribonucleótido marcado fluorescentemente es detectado con un detector laser.

Secuenciación al azar

La **secuenciación al azar** (*shotgun sequencing*) hace referencia al proceso de *preparación* del DNA para la secuenciación y no a la secuenciación como tal. La mayoría de los proyectos de secuenciación actuales utilizan la secuenciación al azar. El análisis de un genoma comienza usualmente con la construcción de una **biblioteca genómica**, que es la clonación molecular de fragmentos de DNA que cubren todo el genoma (↔ Sección 11.4). En la secuenciación al azar, se corta el genoma en fragmentos que son clonados, y estos fragmentos son secuenciados. En este punto no se conoce el orden ni la orientación de estos fragmentos de DNA. Los fragmentos son analizados por un ordenador que busca secuencias solapadas y ensambla los fragmentos secuenciados en el orden correcto. Por su propia naturaleza, en el método al azar muchas secuencias son redundantes. Para asegurar una cobertura completa del genoma es necesario secuenciar un gran número de clones, muchos de los cuales son idénticos o casi idénticos. Usualmente, para un fragmento dado del genoma se obtienen de 7 a 10 réplicas de esa secuencia (conocido como *cobertura de 7 a 10 veces*). Esta cobertura reduce en gran parte los errores en la secuencia porque la redundancia en la secuenciación permite seleccionar un nucleótido consenso en cualquier punto de la secuencia en el que pueda existir ambigüedad.

Para que una secuenciación al azar tenga éxito, el proceso de clonación tiene que ser eficaz (se necesitan muchos clones) y, en la medida de lo posible, los fragmentos de DNA clonados deberían generarse aleatoriamente. Esto se puede hacer mediante digestión enzimática del DNA o por métodos físicos. Los fragmentos de DNA pueden ser purificados de acuerdo a su tamaño mediante electroforesis en gel (↔ Sección 11.1) antes de ser clonados y secuenciados.

Secuenciación del DNA de segunda generación

La palabra «generación» en la secuenciación del DNA indica los cambios tecnológicos principales que han brindado un aumento significativo de la velocidad de análisis, combinado con un descenso en el coste de secuenciar. La característica que define a la secuenciación de *segunda generación* es el uso de *métodos masivos en paralelo*. En otras palabras, un gran número de muestras son secuenciadas juntas en la misma máquina. Para esto se necesitaron dos requisitos fundamentales: miniaturización y aumento del poder de los ordenadores. Los métodos de segunda generación generan datos de secuencia 100 veces más rápidamente que los métodos anteriores. Los tres métodos de segunda generación más usados son la pirosecuenciación 454 de Life Sciences, secuenciación de Illumina/Solexa, y el método SOLiD de Applied Biosystems.

En el sistema 454 se corta el DNA en segmentos de cadena sencilla de unos cuantos cientos de bases y se une cada fragmento a una pequeña esfera. El DNA se amplifica por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, ↔ Sección 11.3) y al final cada esfera contiene varias copias idénticas del DNA. Usando robots se colocan las esferas en unas placas de fibra óptica que contiene más de un millón de pocillos, cada uno de los cuales contiene justo una esfera.

La pirosecuenciación emplea la síntesis de una cadena complementaria de DNA por la DNA polimerasa, como en la secuenciación de Sanger (Sección 6.2) (**Figura 6.3**). Pero en lugar de ocurrir la terminación de la cadena, cada vez que se incorpora una molécula de ribonucleótido, se libera una molécula de pirofosfato. Esto proporciona la energía necesaria para activar la enzima *luciferasa*, emisora de luz, que está presente en cada pocillo. Los cuatro nucleótidos fluyen secuencialmente sobre la placa en un

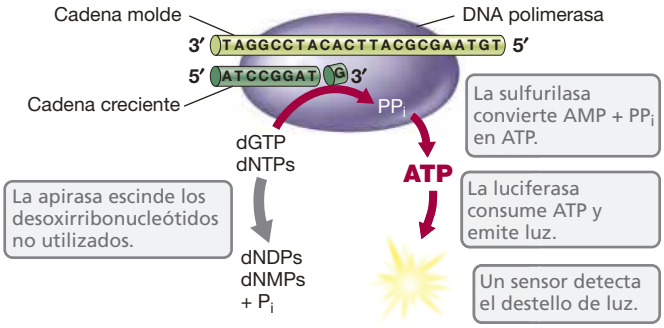


Figura 6.3 Mecanismo de pirosecuenciación. Cada vez que se inserta un nuevo desoxirribonucleótido en la cadena creciente de DNA (flechas rojas), se libera pirofosfato (Pp_i), que es usado por la enzima sulfurilasa para producir ATP a partir de AMP. El ATP es consumido por la enzima luciferasa que emite luz. Los desoxirribonucleótidos no utilizados son degradados por la enzima apirasa (flecha gris).

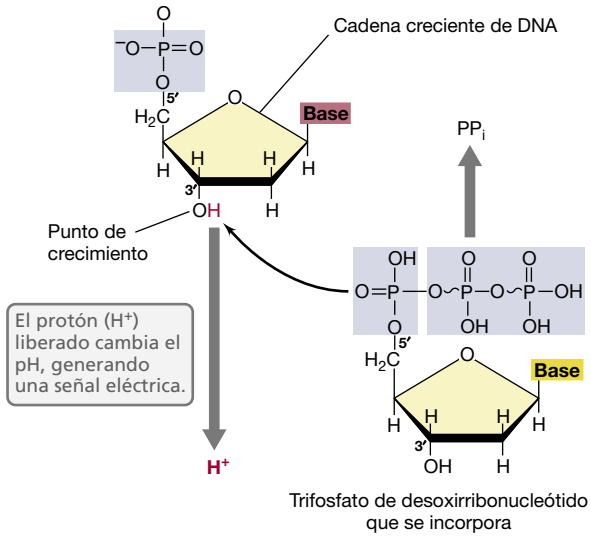
orden definido. El que produzca un pulso de luz identificará qué base ha sido insertada. El método de Illumina/Solexa se asemeja a la secuenciación de Sanger en que emplea la síntesis de DNA y nucleótidos terminadores de cadena. Sin embargo, en el sistema Illumina, los terminadores son ribonucleótidos desoxi (en lugar de didesoxi) y pueden ser incorporados reversiblemente. Además, cada uno de los cuatro desoxirribonucleótidos porta su propio marcador fluorescente, que funciona como grupo bloqueador para el 3′-OH, causando la terminación de la cadena.

Secuenciación de DNA de tercera y cuarta generación

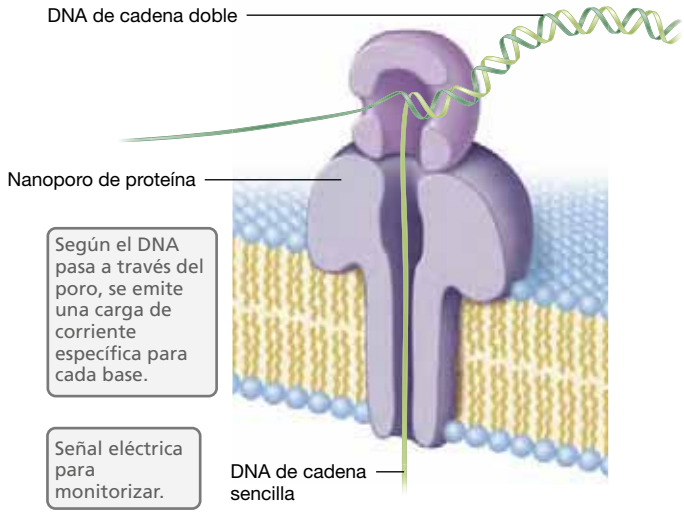
La característica clave de la secuenciación de *tercera generación* es que se secuencia una *única molécula* de DNA. Existen dos enfoques fundamentales: uno basado en la microscopía y el otro basado en la nanotecnología. En el método de secuenciación de una sola molécula *HeliScope*, fragmentos de DNA de cadena sencilla y tamaño de alrededor 32 bases se adhieren a una matriz en un portaobjetos. Mientras se sintetiza la cadena complementaria, se controla por un microscopio los nucleótidos que se van incorporando gracias a un marcador fluorescente. La máquina puede controlar mil millones de fragmentos de DNA simultáneamente. Finalmente un ordenador ensambla los fragmentos en una secuencia completa.

La secuenciación SMRT (del inglés, *single-molecule real-time*) de Pacific Biosciences emplea una técnica conocida como *guía de onda de modo cero* (ZMW, del i*nglés zero-mode waveguides*). En este método, la DNA polimerasa alarga la cadena creciente añadiéndole desoxirribonucleótidos etiquetados con cuatro marcadores fluorescentes diferentes. Dichos desoxirribonucleótidos emiten un destello de luz según se van incorporando en su lugar. Hay dos elementos nuevos que son cruciales para la secuenciación de una única molécula. Primero, las reacciones se realizan dentro de nanocavidades (las guías de onda de modo cero o ZMW), que son pequeños pocillos cilíndricos de metal con una amplitud de 20 nm que reducen suficientemente la luz de fondo, de modo que permite la detección de un destello único de luz de cada nucleótido individual. Segundo, el marcador fluorescente está anclado al grupo pirofosfato que es escindido durante la reacción, en lugar de estarlo a la parte del desoxirribonucleótido que se incorpora a la cadena. Por tanto, los marcadores coloreados no se acumulan en el DNA, sino que cada reacción produce una explosión de color microscópica.

La característica clave de la secuenciación de *cuarta generación*, también conocida como «secuenciación post-light», es que no se emplea la detección por métodos ópticos. El método de secuenciación *Ion Torrent* no utiliza la secuenciación de una sola molécula de DNA. En vez de utilizar desoxirribonucleótidos marcados, este método mide la liberación de protones (H^+) cada vez que un desoxirribonucleótido se incorpora a la cadena creciente de DNA (**Figura 6.4*a***). Un semiconductor



(a) **Secuenciación por semiconductor Ion Torrent**



(b) **Secuenciación por nanoporo**

Figura 6.4 Secuenciación de cuarta generación. *(a)* El sistema de secuenciación semiconductor Ion Torrent se basa en la liberación de protones (H^+) cada vez que un desoxirribonucleótido es insertado en la cadena creciente de DNA. Un electrodo mide el cambio de pH resultante. *(b)* En la secuenciación por nanoporos, la doble hélice de DNA se convierte en una cadena sencilla para pasar a través de un poro. El paso del DNA ella través del nanoporo causa cambios en la carga eléctrica que son específicos para cada base.

(chip) de silicio, que se anuncia como «el medidor de pH más pequeño del mundo», detecta los protones. La secuenciación es extremadamente rápida con este método y los instrumentos son mucho menos costosos que los de las teconologías anteriores. Por ejemplo, la máquina *Ion Torrent* puede secuenciar el genoma humano completo —casi 3.000 Mbp— en menos de un día.

La tecnología de nanoporos (Figura 6.4*b*) se basa en una maquinaria microscópica que opera a la escala de una sola molécula. Los nanoporos detectores de DNA son poros extremadamente estrechos que permiten el paso a través de ellos de una única cadena de DNA, de una en una. En el sistema de Oxford Nanopore Technologies el DNA pasa a través de nanoporos biológicos hechos de proteína (Figura 6.4*b*). Mientras la molécula de DNA transita por el poro, un detector recoge los cambios de la corriente eléctrica a través del nanoporo. Este cambio de corriente es diferente para cada una de las cuatro bases o combinaciones de estas bases. Las ventajas principales de la tecnología de nanoporos son su alta velocidad y la posibilidad de secuenciar moléculas largas de DNA (en vez de fragmentos cortos, como en los otros métodos). Además, muchos nanoporos pueden ensamblarse juntos en un área muy pequeña de un microchip, de modo que se pueden secuenciar simultáneamente muchos fragmentos largos de DNA.

Ensamblado del genoma

Independientemente de cómo se secuencia el DNA, las secuencias deben ser ensambladas antes de que sean analizadas. El *ensamblado* de un genoma consiste en poner los fragmentos en el orden correcto y eliminar los solapamientos. En la práctica, es un ordenador el que examina muchos fragmentos pequeños de DNA secuenciados y deduce su orden a partir de los solapamientos (Figura 6.5). El ensamblado genera un genoma adecuado para el *registro* o *anotación*, el proceso de identificar los genes y otras regiones funcionales del genoma (se tratará en la próxima sección).

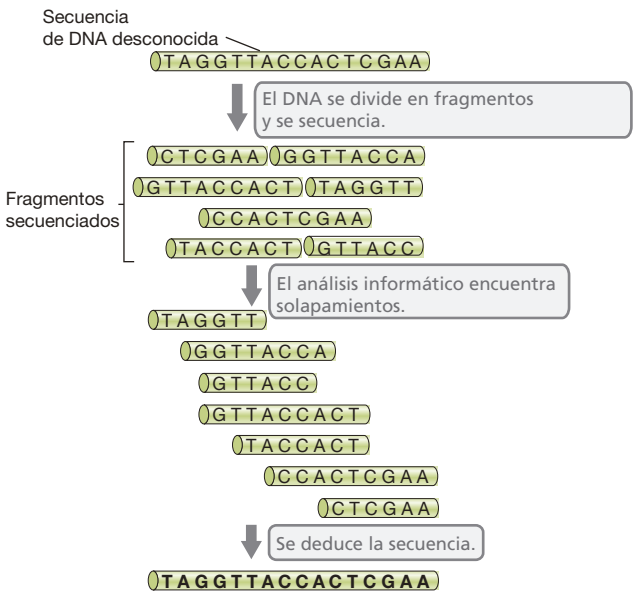


Figura 6.5 Ensamblado de una secuencia de DNA por ordenador. La mayoría de los métodos de secuenciación del DNA generan gran cantidad de secuencias cortas (de 30 a varios centenares de bases) que deben ser ensambladas. Los algoritmos informáticos buscan solapamientos en estas secuencias cortas y los ordena hasta formar una secuencia única total.

Algunas veces la secuenciación y el ensamblado no producen una secuencia completa del genoma y quedan huecos en él. Cuando ocurre esto, se emplean diversos enfoques para obtener secuencias individuales que cubran los huecos. Algunos proyectos genómicos tienen el objetivo de obtener un *genoma cerrado*, lo que pretende que toda la secuencia del genoma quede determinada. Otros proyectos se detienen en la *fase de borrador*, y prescinden de la secuenciación de los pequeños huecos. Puesto que la secuenciación al azar y el ensamblaje son procedimientos muy automatizados, pero el cierre de huecos no lo es, la obtención de un genoma cerrado es mucho más cara y lenta que la generación de una secuencia borrador del genoma, y por ello habitualmente necesita mucho más esfuerzo humano para completar el trabajo.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué es la secuenciación al azar?
- ¿Cuáles son las características que definen los métodos de secuenciación de tercera y cuarta generación?
- ¿Qué se obtiene durante el ensamblado de un genoma?

6.3 Bioinformática y anotación del genoma

Una vez completados la secuenciación y el ensamblaje, el siguiente paso es el *registro o anotación* del genoma, la conversión de los datos iniciales de la secuencia en una lista de los genes y otras secuencias funcionales presentes en el genoma. La **bioinformática** se refiere al uso de la informática para almacenar y analizar las secuencias y estructuras de los ácidos nucleicos y de las proteínas. Los métodos de secuenciación de última generación (Sección 6.2) están generando datos más rápidamente de lo que pueden ser analizados adecuadamente. Por tanto, en la actualidad, la anotación es el cuello de botella de la genómica.

La mayoría de los genes codifican proteínas, y en la mayoría de los genomas microbianos, especialmente en los de los procariotas, la mayor parte del genoma consiste en secuencias codificantes. Como los genomas de los eucariotas microbianos contienen menos intrones (↻ Sección 4.9) que los genomas de los animales y de las plantas, y los procariotas no tienen prácticamente ninguno, los genomas microbianos consisten esencialmente en una serie de «**marcos abiertos de lectura**», u **ORF** (del inglés *open reading frame*), separados por regiones cortas reguladoras y terminadores transcripcionales. Recordemos que un marco abierto de lectura es una secuencia de DNA o RNA que puede traducirse para producir un polipéptido (↻ Sección 4.11).

¿Cómo encuentra un ORF el ordenador?

Un *ORF funcional* es una secuencia que codifica una proteína. Así, el modo más sencillo de localizar genes potenciales que codifican proteínas es realizar una búsqueda computarizada a través de la secuencia del genoma para identificar los ORF (Figura 6.6). Aunque cualquier gen se transcribe siempre desde

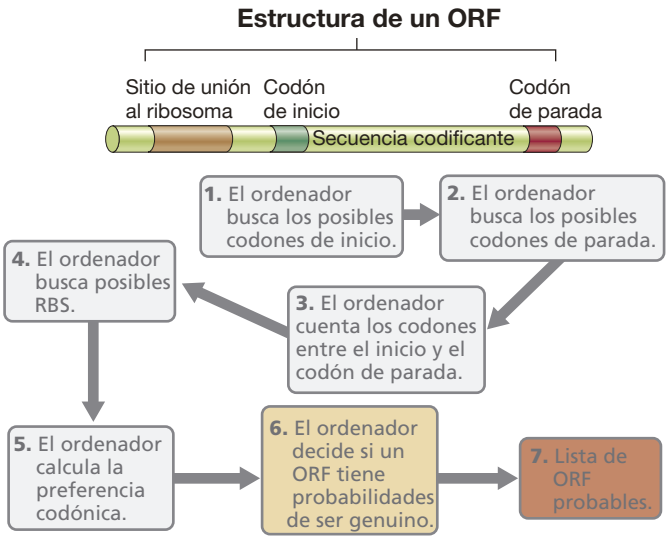


Figura 6.6 Identificación por ordenador de posibles ORF. El ordenador revisa las secuencias de DNA buscando primero los codones de inicio y de parada. A continuación cuenta el número de codones en cada marco de lectura ininterrumpido y rechaza los demasiado cortos. La probabilidad de encontrar un ORF genuino es mayor si se encuentra un sitio probable de unión al ribosoma (RBS) a la distancia correcta del inicio del ORF. El cálculo de la preferencia de codones se utiliza para evaluar si un ORF cumple con el uso codónico del organismo que está siendo examinado.

una sola cadena, ambas cadenas se transcriben en alguna parte del genoma (en todos, excepto en los plásmidos más pequeños o en los genomas víricos). Por ello, es necesaria la inspección computarizada de ambas cadenas.

La primera etapa para encontrar un ORF es localizar los codones *de inicio* y *de parada* en la secuencia (↻ Sección 4.11 y 4.5). Sin embargo, los codones de inicio y de parada dentro del mismo marco de lectura aparecerán al azar con una frecuencia razonable. Por tanto, se necesitan otras pistas. La mayoría de las proteínas celulares contiene 100 o más aminoácidos, de modo que la mayoría de los ORF funcionales serán más largos de 100 codones (300 nucleótidos). No obstante, ignorar ORF más cortos de 100 codones nos hará perder algunos genes cortos pero auténticos. En *Bacteria*, la traducción comienza en codones de inicio que se localizan inmediatamente después de una secuencia de unión del ribosoma (secuencia Shine–Dalgarno) en el mRNA (↻ Sección 4.13). Por tanto, encontrar posibles secuencias de Shine–Dalgarno puede resultar útil para establecer si un ORF es funcional y qué codón de inicio se usa realmente.

Para la mayoría de los 20 aminoácidos existe más de un codón (↻ Tabla 4.5), y algunos codones se utilizan con más frecuencia que otros. Esto último es conocido como **preferencia de codones** (uso codónico) y esto difiere mucho entre organismos. Por ejemplo, la Tabla 6.3 muestra las diferentes preferencias de uso de los seis codones para la arginina en *Escherichia coli*, comparado con sus usos en los humanos y en la mosca del vinagre. Si el uso codónico en un ORF determinado es muy diferente del uso codónico consensuado para el organismo en cuestión, el ORF puede no ser funcional, o bien ser funcional pero adquirido mediante transferencia horizontal de genes (Sección 6.12).

Tabla 6.3 Ejemplos de preferencia de codones

Codón para arginina[a]	*Preferencia de cada codón para arginina (%)*		
	Escherichia coli	*Mosca del vinagre*	*Humano*
AGA	1	10	22
AGG	1	6	23
CGA	4	8	10
CGC	39	49	22
CGG	4	9	14
CGU	49	18	9

[a]Hay seis codones para arginina, véase la Tabla 4.5.

Un ORF probablemente será también funcional si su secuencia es similar a las secuencias de los ORF de los genomas de otros organismos (independientemente de que codifiquen o no proteínas conocidas), o si el ORF contiene una secuencia conocida que codifica un dominio funcional de una proteína. Ello es debido a que las proteínas con funciones similares en células diferentes suelen tener un origen evolutivo común y típicamente comparten características estructurales y de secuencia (Sección 6.11). Con un ordenador se pueden buscar secuencias parecidas en bases de datos como GenBank. En esta base de datos, que contiene más de 200.000 millones de pares de bases de secuencias, se pueden hacer búsquedas en línea en http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/. La herramienta de búsqueda de datos más utilizada es *BLAST* (del inglés *Basic Local Alignment Search Tool*, herramienta de búsqueda de alineamientos locales), que tiene diversas variantes según se busquen secuencias de ácidos nucleicos o de proteinas. Por ejemplo, el dispositivo BLASTn busca en bases de datos de ácidos nucleicos usando una consulta para ácidos nucleicos, mientras BLASTp busca en las bases de datos de proteínas usando una consulta para proteínas.

ORFs no caracterizados

Aunque existen diferencias entre los organismos, en la mayoría de los genomas el número de genes cuya función puede identificarse claramente es aproximadamente el 70 % del número total de ORF detectados. Los ORF no caracterizados (o desconocidos) se dice que codifican proteínas hipotéticas, proteínas que probablemente existan, aunque su función se desconoce. Un ORF no caracterizado tiene un marco de lectura ininterrumpido de una longitud razonable, y necesariamente codones de inicio y de parada (Figura 6.6). Sin embargo, la proteína que codifica carece de suficiente homología de secuencia con cualquier proteína conocida como para ser identificada como tal.

A medida que se identifican las funciones de los genes en un organismo, se pueden asignar también las funciones de ORF homólogos en otros organismos. No obstante, ya se han identificado la mayoría de los genes para la síntesis de macromoléculas y del metabolismo central, esenciales para el crecimiento. Por tanto, es probable que la mayoría de los ORF restantes codifiquen proteínas no esenciales.

Se predice que muchos de los genes no identificados de *E. coli* codifican proteínas reguladoras o redundantes, algunas de las cuales probablemente sean necesarias solo en condiciones

especiales, o como «copias de seguridad» de enzimas fundamentales. Sin embargo, la función precisa de muchos genes, incluso en organismos tan bien estudiados como *E. coli*, suele ser impredecible. Algunas identificaciones génicas simplemente asignan a un gen determinado una familia o una función general (por ejemplo, «transportador»). Por otra parte, hay genes completamente desconocidos que se han predicho solo usando la bioinformática. Además, algunos son, en realidad, incorrectos. Se estima que hasta un 10 % de los genes de las bases de datos se han anotado incorrectamente.

RNA no codificante

Además de los genes que codifican proteínas, algunos genes codifican moléculas de RNA que no se traducen. Estos genes, por tanto, carecen de codones de inicio y pueden tener varios codones de parada dentro del gen. Además, tampoco tienen preferencia de codones; por consiguiente, no serán reconocidos por los programas informáticos que buscan ORF. Algunos RNA no codificantes son fáciles de detectar porque están bien caracterizados y muy conservados. Entre ellos hay tRNA y rRNA. Sin embargo, muchas moléculas de RNA reguladoras y no codificantes (↔ Sección 7.14) están conservadas solamente en su estructura tridimensional, con poca homología de sus secuencias. La identificación de estos RNAs durante la anotación de un genoma es todavía un reto.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué es un marco abierto de lectura (ORF)? ¿Qué es una proteína hipotética?
- ¿Cómo ayuda la homología entre proteínas a la anotación de un genoma?
- ¿Cuál es la mayor limitación para identificar genes que codifican RNA no codificantes?

II • Genomas microbianos

6.4 Tamaño y contenido del genoma

Después de la secuenciación, el ensamblado y la anotación, se puede usar la genómica comparativa para comparar los genomas en cuanto a su tamaño, su organización y su contenido génico. En el sitio web Microbes Online (http://www.microbesonline.org) se pueden visualizar alrededor de 4.000 genomas microbianos.

Rango de tamaños del genoma procariota

Los genomas de las especies de los dominios *Bacteria* y *Archaea* muestran una gran correlación entre el tamaño del genoma y el contenido de marcos abiertos de lectura u ORF (**Figura 6.7**). Independientemente del organismo, cada megabase de DNA procariótico codifica unos 1.000 ORF. A medida que aumenta el tamaño de los genomas procariotas, aumenta proporcionalmente su número de genes. Esto contrasta marcadamente con los genomas eucariotas, en los que el DNA no codificante (intrones, ↔ Sección 4.9) puede ser una gran fracción del genoma, especialmente en organismos con genomas grandes.

El análisis de las secuencias genómicas puede proporcionarnos respuestas a preguntas biológicas fundamentales. Por ejemplo, ¿cuántos genes son necesarios para que una célula exista? El récord del genoma más pequeño para un organismo de vida libre pertenece a una especie de *Bacteria* conocida como cepa HTCC2181, cuyo genoma contiene 1.304.428 bp y 1.354 genes. El récord anterior, que estaba en poder de un heterótrofo marino, *Pelagibacter ubique*, fue superado por un margen de solo 4.331 bp, lo que sugiere que ese tamaño está cerca del límite mínimo para sustentar la vida libre. El organismo HTCC2181 es una bacteria metilótrofa que no se ha cultivado aún (los organismos metilótrofos son aquellos que catabolizan compuestos de un carbono, como el metanol) y es común en los ecosistemas costeros marinos.

Se conocen varias *Bacteria* y *Archaea* de vida libre con genomas que tienen alrededor de 1.400 genes (Tabla 6.1). Estos organismos son extremadamente eficientes en el uso de su DNA.

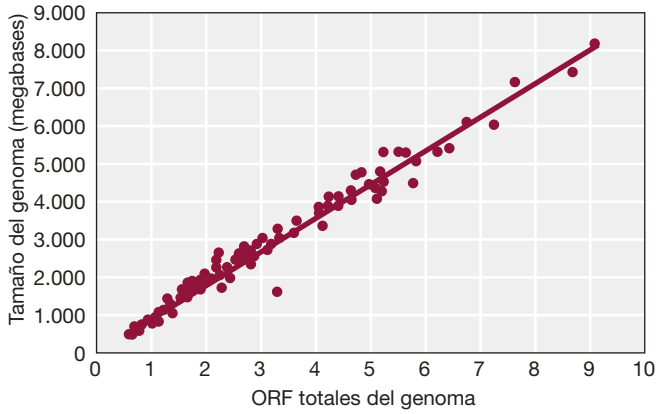


Figura 6.7 Correlación entre el tamaño del genoma y el contenido de ORF en procariotas. Análisis de 115 genomas procariotas completos de especies de *Bacteria* y de *Archaea*. Datos de *Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101:* 3160-3165 (2004).

Contienen muy pocos intrones, inteínas o transposones, o carecen de ellos, y tiene los espacios intergénicos muy pequeños. Los genomas más grandes de procariotas contienen más de 10.000 genes y se encuentran fundamentalmente en bacterias del suelo, como las mixobacterias, que desarrollan un ciclo de vida complejo (↔ Sección 14.19). La **Figura 6.8** muestra cinco genomas procariotas circulares dibujados a escala para dar una visión de la variabilidad de los genomas procarióticos.

Sorprendentemente, o tal vez no tanto, los análisis genómicos han demostrado que los organismos autótrofos necesitan solo algunos genes más que los heterótrofos (↔ Sección 3.3). Por ejemplo, el metanógeno *Methanocaldococcus jannaschii* (*Archaea*) es un autótrofo que contiene solo 1.738 ORF en su genoma. Esto le permite, no solo ser un organismo de vida libre, sino también depender del CO_2 como única fuente de carbono. *Aquifex aeolicus* (*Bacteria*) también es autótrofo y contiene el genoma más pequeño conocido de todos los autótrofos, tan

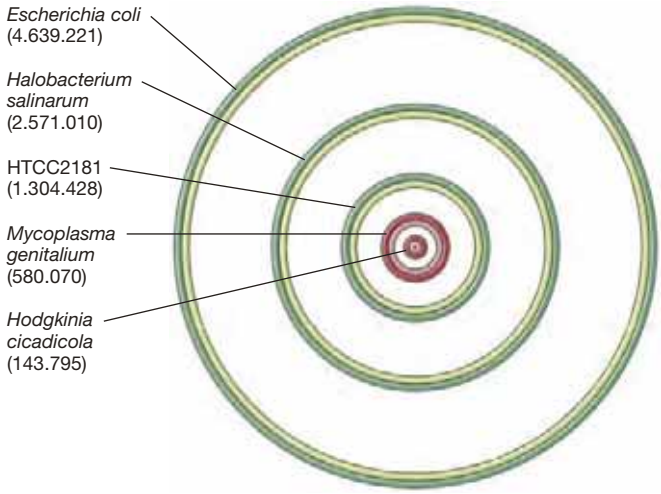


Figura 6.8 Comparación del tamaño de los genomas. Se muestra el genoma circular de varios procariotas dibujados a escala. El número de nucleótidos se muestra junto a los nombres. Los círculos verdes indican organismos de vida libre mientras que los círculos rojos indican los parásitos (*Mycoplasma*) y simbiontes de insectos (*Hodgkinia*).

solo 1,5 megapares de bases (Tabla 6.1). Tanto *Methanocaldococcus* como *Aquifex* son también hipertermófilos; crecen óptimamente a temperaturas por encima de los 80 °C. Por consiguiente, no es necesario un genoma grande para soportar un modo de vida extremo y autótrofo.

Genomas pequeños

Los genomas celulares más pequeños pertenecen a procariotas parásitos o endosimbiontes (células que viven dentro de otras células). El tamaño de los genomas de los procariotas que son parásitos obligados varía entre 490 kbp para *Nanoarchaeum equitans* (*Archaea*) y 4.400 kbp para *Mycobacterium tuberculosis* (*Bacteria*). Los genomas de varios procariotas, como *N. equitans*, *Mycoplasma*, *Chlamydia* y *Rickettsia*, son más pequeños que el genoma vírico más grande que se conoce, el de *Mimivirus* con 1,2 Mbp (↻ Sección 9.2). *Hodgkinia*, endosimbionte degenerado de las cicadas, tiene un genoma minúsculo, de menos de 150 kbp (Figura 6.8; véase también la Figura 6.14).

Todos los genomas menores de 1,2 Mbp se encuentran en bacterias que dependen de otras células para algunos aspectos de su existencia. Los micoplasmas, con genomas de poco más de 500 kbp y algo menos de 500 genes, tienen los genomas más pequeños entre las bacterias parásitas (Figura 6.8; véase también la Figura 6.14). Excluyendo los endosimbiontes, el genoma procariótico más pequeño conocido es el de *N. equitans* (*Archaea*), que es unos 90 kbp más pequeño que el de *Mycoplasma genitalium* (Tabla 6.1). A pesar de su minúsculo tamaño, el genoma de *N. equitans* contiene más ORF que el de *M. genitalium*. Ello es debido a que el genoma de *N. equitans* es muy compacto y apenas contiene DNA no codificante. *Nanoarchaeum equitans* es un hipertermófilo y parásito de otro hipertermófilo, la arquea *Ignicoccus* (↻ Sección 16.7). Además, le faltan prácticamente todos los genes que codifican proteínas para el metabolismo y presumiblemente depende de su hospedador para la mayoría de las funciones anabólicas y catabólicas.

Utilizando *Mycoplasma*, que tiene unos 500 genes, como punto de inicio, se ha estimado que alrededor de 250 o 300 genes son los mínimos para que una célula sea viable. Estas estimaciones se basan en parte en comparaciones con otros genomas pequeños. Además, se han realizado experimentos de mutagénesis sistemática para identificar los genes que son esenciales. Por ejemplo, experimentos hechos con *Escherichia coli* y *Bacillus subtilis*, cada uno con unos 4.000 genes, demostraron que aproximadamente de 300 a 400 genes son esenciales, dependiendo de las condiciones de cultivo. No obstante, en estos experimentos las bacterias fueron cultivadas con muchos nutrientes, lo que les permitía sobrevivir sin muchos genes que codifican funciones de biosíntesis. Muchos de los «genes esenciales» identificados están presentes también en otras bacterias y aproximadamente el 70 % de ellos también se han encontrado en *Archaea* y en eucariotas.

Genomas grandes

Algunos procariotas tienen genomas muy grandes, tanto como los de algunos microorganismos eucariotas. Como los eucariotas suelen tener cantidades significativas de DNA no codificante, pero no así los procariotas, en realidad algunos genomas procariotas tienen más genes que los eucariotas microbianos, a pesar de tener menos DNA. Por ejemplo, el genoma de *Bradyrhizobium japonicum*, una bacteria que forma nódulos radicales fijadores de nitrógeno en leguminosas como la soja, tiene 9,1 Mbp de DNA y 8.300 ORF, mientras el genoma de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, un eucariota, tiene 12,1 Mbp de DNA pero solo 5.800 ORF (véase la Tabla 6.5). La bacteria del suelo *Myxococcus xanthus* también tiene 9,1 Mbp de DNA, mientras que muchos de sus parientes más cercanos tienen genomas de aproximadamente la mitad de ese tamaño. Se ha sugerido que el origen de estos genomas tan grandes podrían haber sido duplicaciones repetitivas de segmentos grandes del DNA genómico.

El mayor genoma procariota conocido hasta el momento es el de *Sorangium cellulosum*, una especie de mixobacteria (↻ Sección 14.19). Con un poco más de 12,3 Mbp en un cromosoma circular único, su genoma es unas tres veces más grande que el genoma de *Escherichia coli*. El genoma de *Sorangium* tiene una proporción relativamente grande de DNA no codificante (14,5 %) para ser una bacteria, y consecuentemente tiene menos secuencias codificantes (solo 9.400) que las que cabría esperar. No obstante, tiene más DNA que varios eucariontes como las levaduras o los protozoos *Cryptosporidium* y *Giardia* (véase la Tabla 6.5). La regulación compleja que necesita *Sorangium* para su forma de vida social se refleja en la gran cantidad de proteínas quinasas de tipo eucariota (enzimas que fosforilan otras proteínas para controlar su actividad). Tiene 317 quinasas, más del doble que cualquier otro genoma, incluidos los eucariotas.

A diferencia de *Bacteria*, los genomas más grandes encontrados en *Archaea* hasta ahora tienen unos 5 Mbp (Tabla 6.1). En resumen, el tamaño de los genomas procarióticos varía entre el de los virus mayores y el de los microorganismos eucariotas.

Contenido génico en los genomas bacterianos

El complemento génico de un organismo concreto define su biología. Y a la inversa, los genomas están moldeados por adaptación al estilo de vida de los organismos. Los análisis

comparativos son útiles para la búsqueda de genes que codifican enzimas que probablemente existen a causa del estilo de vida de un organismo. *Thermotoga maritima* (*Bacteria*), por ejemplo, es un hipertermófilo encontrado en sedimentos marinos cálidos, y los estudios de laboratorio han demostrado que puede catabolizar un gran número de azúcares. En la **Figura 6.9** se resumen algunas de las rutas metabólicas y sistemas de transporte de *T. maritima* que se han deducido del análisis de su genoma. Alrededor del 7 % de sus genes codifican proteínas para el metabolismo de azúcares. Como se esperaba, en su genoma abundan los genes para el transporte, especialmente de carbohidratos y aminoácidos. Todo ello sugiere que *T. maritima* vive en un ambiente rico en materia orgánica.

Se podría imaginar, por ejemplo, que los parásitos obligados, como la espiroqueta *Treponema pallidum* (el agente de la sífilis, ↔ Secciones 14.20 y 29.12) requerirían relativamente pocos genes para la biosíntesis de aminoácidos, porque su hospedador podría proporcionarles los aminoácidos que necesita. Este es, efectivamente, el caso, ya que el genoma de *T. pallidum* carece de genes reconocibles para la biosíntesis de aminoácidos, si bien se han encontrado en esta bacteria genes que codifican algunas proteasas, enzimas que pueden convertir péptidos tomados del hospedador en aminoácidos libres. Por otra parte, la bacteria de vida libre *Escherichia coli* tiene 131 genes para la biosíntesis y el metabolismo de los aminoácidos, y la bacteria del suelo *Bacillus subtilis* tiene más de 200.

En la **Tabla 6.4** se muestra un análisis funcional de los genes y sus actividades en algunas bacterias. Hasta ahora ha surgido un patrón claro de la distribución génica en procariotas. Los genes metabólicos son normalmente la clase más abundante en

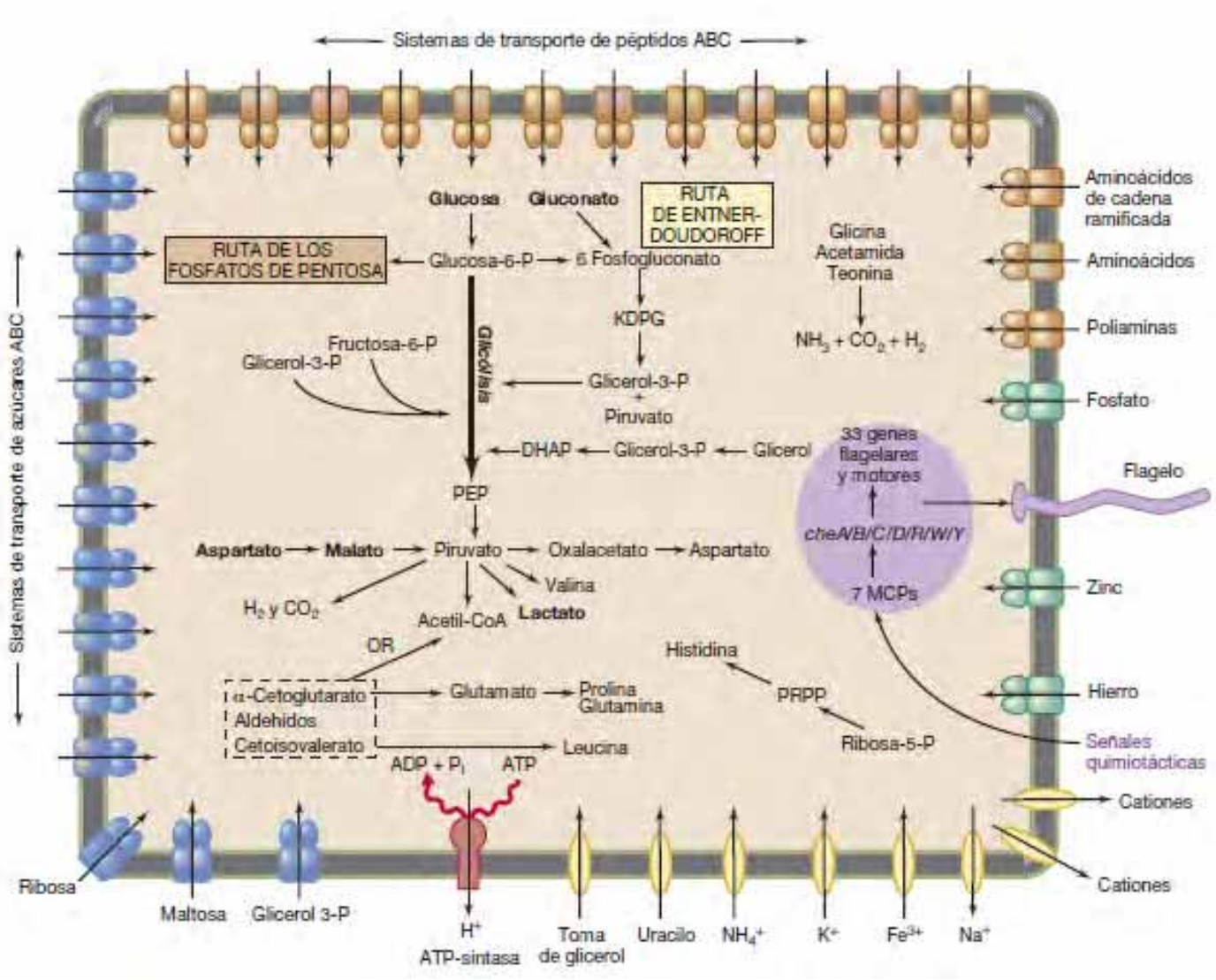


Figura 6.9 Visión general del metabolismo y transporte en *Thermotoga maritima*. La figura resume las capacidades metabólicas de este organismo. Se indican algunas rutas de producción de energía y el metabolismo de los compuestos orgánicos, incluidas las proteínas transportadoras que se identificaron en el análisis de la secuencia genómica. No se muestran los nombres de los genes. El genoma contiene varios sistemas de transporte de tipo ABC, 12 para carbohidratos, 14 para péptidos y aminoácidos y otros para iones, que se muestran como estructuras con múltiples subunidades. También se han identificado otros tipos de proteínas de transporte que se muestran como óvalos sencillos. Los genes para la quimiotaxia y los flagelos se resaltan en morado, y también se muestran algunos aspectos del metabolismo de los azúcares. Figura adaptada del trabajo original publicado por el Institute for Genomic Research (TIGR, Rockville, Maryland).

Tabla 6.4 Función de los genes en los genomas bacterianos

Categorías funcionales	*Porcentaje de genes*		
	Escherichia coli *(4,64 Mbp)*[a]	Haemophilus influenzae *(1,83 Mbp)*[a]	Mycoplasma genitalum *(0,58 Mbp)*[a]
Metabolismo	21,0	19,0	14,6
Estructura	5,5	4,7	3,6
Transporte	10,0	7,0	7,3
Regulación	8,5	6,6	6,0
Traducción	4,5	8,0	21,6
Transcripción	1,3	1,5	2,6
Replicación	2,7	4,9	6,8
Otras, conocidas	8,5	5,2	5,8
Desconocidas	38,1	43,0	32,0

[a]Tamaño del cromosoma, en megapares de bases. Cada organismo listado contiene solo un cromosoma circular.

los genomas procarióticos, aunque, a medida que disminuye el tamaño del genoma, el porcentaje de genes para la síntesis proteica supera al de los metabólicos (Tabla 6.4, y **Figura 6.10**). Si bien se puede prescindir de muchos genes, no es posible prescindir de los que codifican el aparato sintetizador de proteínas. Por tanto, cuanto menor sea un genoma, mayor será la proporción de genes que codifican procesos de traducción. Los genes para funciones vitales como la replicación y la transcripción del DNA ocupan solo una pequeña fracción del genoma procariota típico.

El porcentaje de genes de un organismo dedicados a una u otra función celular es, en cierta medida, una función del tamaño del genoma. Esto se resume para un gran número de genomas bacterianos en la Figura 6.10. Los procesos celulares fundamentales, como la síntesis de proteínas, la replicación del DNA y la producción de energía, muestran solo pequeñas variaciones en el número de genes con respecto

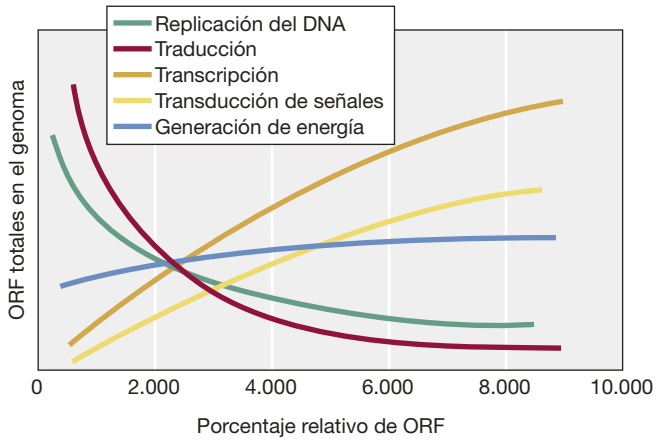


Figura 6.10 Categoría funcional de genes como porcentaje del genoma. El porcentaje de genes que codifican productos para la traducción o la replicación del DNA es mayor en los organismos con genomas pequeños, mientras que el porcentaje de genes para la regulación de la transcripción es mayor en los organismos con genomas grandes. Datos de *Proc. Natl. Acad. Sci. (EE. UU.) 101:* 3160-3165 (2004).

al tamaño del genoma. En consecuencia, el porcentaje relativo de estos genes es grande en los organismos con genoma pequeño. En cambio, los genomas grandes contienen más genes para la regulación que los genomas pequeños. Estos sistemas de regulación adicionales le permiten a la célula adaptarse con mayor flexibilidad a las diversas situaciones ambientales.

Los organismos de genomas grandes también pueden codificar muchos genes metabólicos especializados. Esto probablemente les hace ser más competitivos en su hábitat que, para muchos procariotas con genomas muy grandes, suele ser el suelo. En el suelo, el carbono y las fuentes de energía varían mucho y suelen escasear o están disponibles solo de manera intermitente (↻ Sección 19.1). Una célula con un genoma grande que codifique múltiples opciones metabólicas sería seleccionada con preferencia en un hábitat así. Como un ejemplo de esto, todos los procariotas que se indican en la Tabla 6.1 cuyos genomas exceden de los 6 Mbp habitan en el suelo.

El análisis de categorías génicas también se ha realizado para varias *Archaea*. Como media, las especies de *Archaea* dedican un porcentaje mayor de su genoma a la producción de energía y de coenzimas que las bacterias (estos resultados están indudablemente un poco sesgados a causa de la gran cantidad de coenzimas nuevas producidas por las *Archaea* metanógenas [↻ Sección 13.20]). Por otra parte, las *Archaea* parecen contener menos genes que las bacterias para el metabolismo de los carbohidratos o para las funciones de la membrana, como el transporte o la biosíntesis de la membrana. Sin embargo, también esta conclusión puede estar sesgada porque las rutas correspondientes son menos conocidas en *Archaea* que en *Bacteria*, y muchos de los genes arqueanos correspondientes probablemente aún no se han identificado.

Ambos dominios de procariotas tienen una cantidad relativamente grande de genes cuyas funciones son desconocidas o que codifican proteínas solo hipotéticas, a pesar de que existe más incertidumbre en *Archaea* que en *Bacteria*. Esto bien pudiera ser debido a la disponibilidad de menos secuencias genómicas de especies de *Archaea* que de *Bacteria*.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cuál es el estilo de vida típico de los procariotas que tienen el genoma más pequeño que el de algunos virus?
- ¿Aproximadamente cuántos genes que codifican proteínas se pueden encontrar en un genoma procariótico de 4 Mbp?
- ¿Qué organismo es probable que tenga más genes, un procariota con un DNA de 8 Mbp o un eucariota con 10 Mbp? Justifíquelo.
- ¿Qué categoría de genes contienen en mayor porcentaje los procariotas?

6.5 El genoma de los orgánulos

La mitocondria y el cloroplasto son orgánulos derivados de bacterias endosimbióticas que se encuentran dentro de la célula eucariota (↔ Sección 2.21 y 17.1). Ambos contienen genomas pequeños que son bacterianos en sus propiedades fundamentales. Asimismo, ambos contienen la maquinaria necesaria para la síntesis de proteínas, como, por ejemplo, los ribosomas y los RNA de transferencia, además de otros componentes necesarios para producir proteínas funcionales. Una vez más, estos componentes están mucho más relacionados con los de las bacterias que con los encontrados en el citoplasma eucariota. Por tanto, estos orgánulos comparten muchos rasgos fundamentales con las bacterias con las que están emparentados filogenéticamente.

El genoma del cloroplasto

Las células de las plantas verdes contienen cloroplastos, los orgánulos donde se lleva a cabo la fotosíntesis (↔ Sección 13.1). Todos los genomas conocidos de cloroplastos son moléculas circulares de DNA, y cada cloroplasto contiene varias copias idénticas de su genoma. El genoma de cloroplasto típico tiene entre 120 y 160 kbp, y contiene dos repeticiones invertidas de entre 6 y 76 kbp que codifican cada una de las copias de los tres genes de rRNA (**Figura 6.11**). Se han secuenciado por completo muchos genomas de cloroplastos, y todos ellos son bastante parecidos. El mayor genoma de cloroplasto secuenciado hasta el momento es el *Floydiella terrestres*, un alga clorofícea. Tiene más de 500 kbp y contiene 97 genes conservados. Alrededor del 80 % de este genoma consiste en regiones intergénicas con muchas secuencias cortas repetidas.

Como era de esperar, muchos genes de los cloroplastos codifican proteínas para las reacciones de la fotosíntesis y la fijación de CO_2. La enzima RubisCO cataliza la etapa clave en la fijación de CO_2 en el ciclo de Calvin (↔ Sección 13.5). El gen *rbcL*, que codifica la subunidad grande de RubisCO, está siempre presente en el genoma del cloroplasto (Figura 6.11), mientras que el gen de la subunidad pequeña, *rbcS*, reside en el núcleo celular de la planta y este producto proteínico debe ser importado desde el citoplasma hasta el cloroplasto después de su síntesis.

El genoma de los cloroplastos también codifica rRNA utilizado en los ribosomas del cloroplasto, tRNA utilizado en la traducción, algunas proteínas utilizadas en la transcripción y en la traducción y algunas otras proteínas. Algunas proteínas que desarrollan su función en el cloroplasto están codificadas por genes nucleares. Se cree que estos genes migraron hacia el núcleo a medida que el cloroplasto evolucionó de endosimbionte a orgánulo fotosintético. Los intrones (↔ Sección 4.9) son comunes en los genes de los cloroplastos, y son principalmente del tipo autoempalmantes.

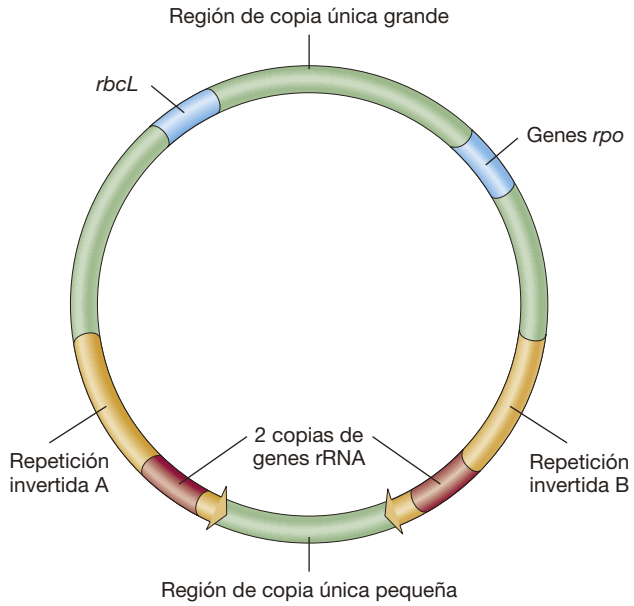


Figura 6.11 Mapa de un genoma de cloroplasto típico. Cada región de repeticiones invertidas contiene una copia de los tres genes de rRNA (5S, 16S y 23S). La subunidad mayor de RubisCO está codificada por el gen *rbcL* y la RNA polimerasa cloroplástica por los genes *rpo*.

Genomas y proteomas mitocondriales

Las mitocondrias son los orgánulos que producen energía mediante la respiración, y se encuentran en la mayoría de los organismos eucariotas (↔ Sección 2.21 y 17.1). Los genomas mitocondriales codifican principalmente proteínas para la fosforilación oxidativa y, al igual que los genomas de los cloroplastos, también codifican proteínas, rRNA y tRNA para la síntesis de proteínas. No obstante, la mayoría codifican muchas menos proteínas que los genomas de los cloroplastos.

Se han secuenciado varios cientos de genomas mitocondriales. El mayor de ellos tiene 62 genes que codifican proteínas, pero hay otros que codifican tan solo 3 proteínas. Las mitocondrias de casi todos los mamíferos, incluidos los humanos, codifican solo 13 proteínas, más 22 tRNA y 2 rRNA. La **Figura 6.12** muestra un mapa del genoma mitocondrial humano, con 16.569 bp. El genoma mitocondrial de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* es mayor que el humano (85.779 bp), pero tiene solo 8 genes que codifican proteínas. Además de los genes que codifican el RNA y proteínas, el genoma mitocondrial de la levadura contiene grandes fragmentos de DNA muy abundantes en adenina y timina (AT), sin función aparente.

Los genomas mitocondriales de las plantas son mucho mayores que los de las células animales, y la mayoría tienen un tamaño de entre 300 kbp y 2.000 kbp. Sin embargo, solo tienen alrededor de 50 genes muy conservados; la mayoría codifican componentes de la cadena respiratoria y del aparato de traducción. Esta variación en el tamaño se debe a la gran cantidad de DNA no codificante. Los genomas mitocondriales de diferentes especies de *Silene*, un género de plantas con flores, presentan una

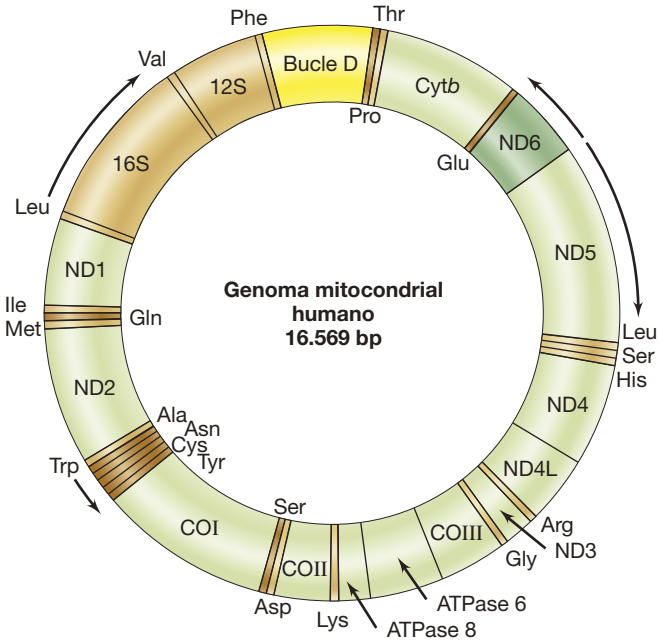


Figura 6.12 Mapa del genoma mitocondrial humano. El genoma codifica los rRNA, 22 tRNA y varias proteínas. Las flechas indican la dirección de la transcripción para los genes de un color dado, y también se muestran, en el código de tres letras, las designaciones de aminoácidos para los genes tRNAs. Los 13 genes que codifican proteínas se muestran en verde. Cyt*b*, citocromo *b*; ND1-6, componentes del complejo NADH-deshidrogenasa; COI-III, subunidades del complejo citocromo-oxidasa; ATPasa 6 y 8, polipéptidos del complejo ATPasa mitocondrial. Los dos promotores están en la región llamada bucle D, una región que también interviene en la replicación del DNA.

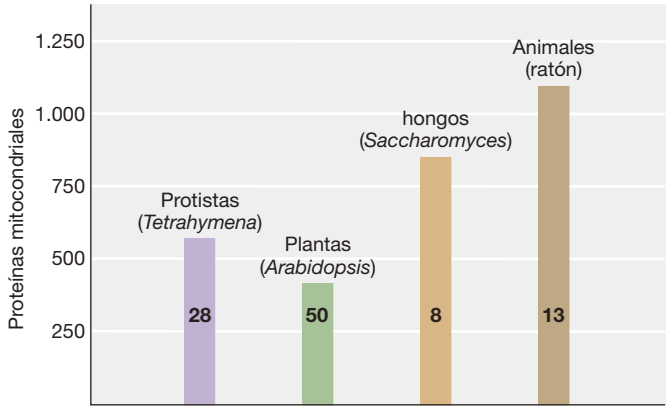


Figura 6.13 Proteomas mitocondriales. Número de proteínas localizadas en las mitocondrias de diferentes organismos eucariotas modelos. Estos valores son una buena aproximación ya que algunas proteínas están en muy baja cantidad. Los valores en las barras coloreadas son el número de proteínas codificadas en el genoma mitocondrial de cada organismo.

sorprendente variedad en cuanto a su tamaño. Los dos mayores tienen aproximadamente 7 y 11 Mbp; son mucho mayores que la mayoría de los genomas bacterianos.

A diferencia de los genomas de los cloroplastos, que son todos moléculas individuales de DNA circular, entre los genomas mitocondriales existe bastante diversidad. Por ejemplo, algunos son lineales, como los de algunas especies de algas, protozoos y hongos. En otros casos, como en la levadura *S. cerevisiae*, los análisis genéticos indican que el genoma mitocondrial es circular, pero la forma física consiste en moléculas grandes lineales que contienen copias múltiples del genoma. (Algunos virus como el bacteriófago T4 tiene un genoma genéticamente circular pero que físicamente es lineal; ↻ Sección 8.6.) Por último, las mitocondrias de muchos hongos y plantas con flores contienen pequeños plásmidos lineales o circulares, además del genoma mitocondrial principal.

Las mitocondrias necesitan muchas más proteínas de las que codifican. Por ejemplo, para la traducción son necesarias muchas más proteínas de las que codifica el genoma del orgánulo. Las proteínas que se necesitan para muchas funciones de los orgánulos están codificadas por genes nucleares. La mitocondria de la levadura contiene 800 proteínas diferentes (su proteoma, Sección 6.8). Sin embargo, solo 8 de ellas están codificadas por el genoma mitocondrial; el resto lo son por genes nucleares (**Figura 6.13**). Los genes de la mayoría de las proteínas de los orgánulos se encuentran en el núcleo, se transcriben allí y se traducen en los ribosomas 80S del citoplasma eucariótico, desde donde se transportan hasta el orgánulo. Las proteínas codificadas en el núcleo necesarias para la traducción y la generación de energía en las mitocondrias están mucho más relacionadas con sus correspondientes bacterianas que con las que cumplen estas funciones en el citoplasma eucariótico, de acuerdo con la historia evolutiva de la mitocondria.

Variabilidad en el código genético

La creencia original de que todas las células utilizan el mismo código genético llevó a considerar el código genético como universal (↻ Tabla 4.5). Sin embargo, descubrimientos posteriores indicaron que algunas mitocondrias y unas pocas células usan códigos genéticos con algunas variaciones respecto al «universal». Los códigos genéticos alternativos se descubrieron en el genoma de mitocondria animales. Estos códigos modificados usan normalmente codones de parada como codones con sentido. Por ejemplo, las mitocondrias animales (pero no las de las plantas) usan el codón UGA para codificar el triptófano en lugar de usarlo como codón de parada. Las mitocondrias de la levadura también usan UGA para codificar el triptófano, pero además usa los cuatro codones CUN (siendo N cualquier nucleótido) para la treonina en lugar de usarlo para la leucina. Estos cambios pueden haber surgido por presión selectiva para genomas pequeños; por ejemplo, al vivir en ambientes donde muchos nutrientes necesarios ya estaban disponibles. Por tanto, los 22 tRNA producidos en las mitocondrias son insuficientes para leer el código genético universal, incluso teniendo en cuenta el apareamiento con balanceo (↻ Figura 4.32). Así pues, el apareamiento de bases entre el codón y el anticodón es todavía más flexible en las mitocondrias que en las células.

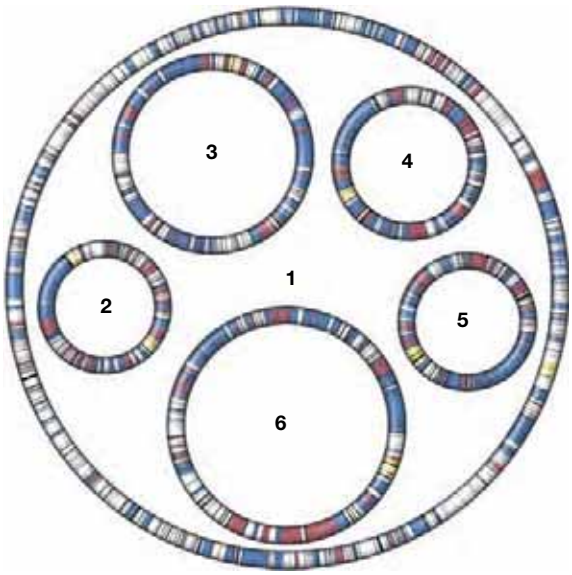
Se sabe también que varios organismos usan un código genético ligeramente diferente. Por ejemplo, en los géneros *Mycoplasma* (*Bacteria*) y *Paramecium* (*Eukarya*), algunos codones de parada codifican aminoácidos. Por consiguiente, estos organismos tienen menos codones de parada. Ciertos hongos usan el codón para leucina CUG para codificar la serina. Sin embargo, curiosamente estos codones son algo ambiguos, ya que CUG se

traduce el 97 % de las veces en serina y un 3 % de las veces en leucina.

Simbiontes y orgánulos

Muchos insectos y algunos otros invertebrados, como algunos nematodos y moluscos, contienen bacterias simbióticas dentro de sus células. Algunas de estas bacterias simbióticas ya no pueden existir de modo independiente y muestran una reducción en el tamaño de su genoma (↻ Sección 22.9). El genoma de los simbiontes tienen un rango de tamaño que va desde el mismo que las bacterias de vida libre hasta alrededor de los 140 kbp para *Tremblaya* y *Hodgkinia* (Tabla 6.1 y Figura 6.8), que son los dos ejemplos más pequeños conocidos (**Figura 6.14**). Por tanto, los genomas de algunos simbiontes contienen menos genes que algunos orgánulos y virus. Son simbiontes totalmente dependientes de las células del insecto hospedador para sobrevivir y obtener nutrientes. A su vez, los simbiontes proporcionan al insecto aminoácidos esenciales y otros nutrientes que el insecto no puede sintetizar.

Algunos insectos tienen dos simbiontes bacterianos. Por ejemplo, algunos saltahojas (cicadélidos) contienen *Baumannia cicadellinicola*, que les proporciona vitaminas y cofactores,



1. ***Mycoplasma genitalium*** (*Mollicutes*)
   580,1 kbp
   GC: 31,7 %
2. ***Tremblaya*** (*Betaproteobacteria*)
   138,9 kbp
   GC: 58,8 %
3. ***Zinderia*** (*Betaproteobacteria*)
   208,5 kbp
   GC: 13,5 %
4. ***Carsonella*** (*Gammaproteobacteria*)
   159,6 kbp
   GC: 16,6 %
5. ***Hodgkinia*** (*Alphaproteobacteria*)
   143,7 kbp
   GC: 58,4 %
6. ***Sulcia*** (*Bacteroidetes*)
   245,5 kbp
   GC: 22,4 %

Figura 6.14 Genomas de simbiontes. Los genomas de cinco especies de simbiontes se muestran dibujados a escala dentro de un círculo mayor que representa el genoma de un *Mycoplasma*. Azul, genes que codifican el procesamiento de la información genética; rojo, genes que codifican la biosíntesis de aminoácidos y de vitaminas; amarillo, genes de rRNA; blanco, otros genes. Los huecos indican DNA no codificante. Kbp, kilopares de bases (*kilobase pairs*).

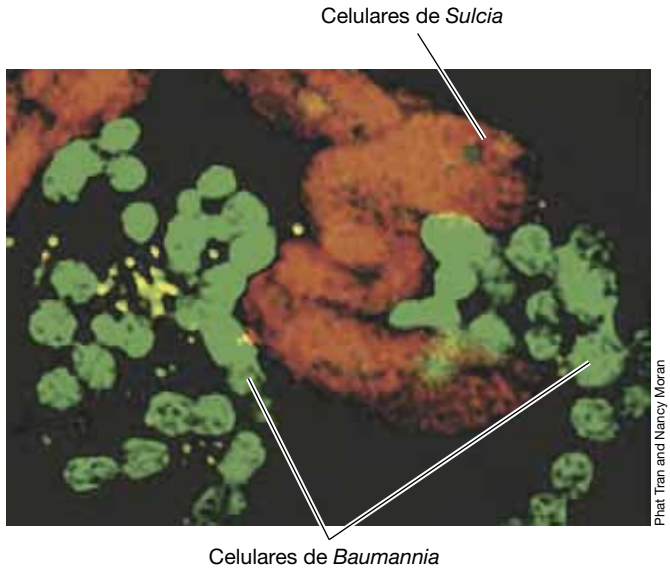


Figura 6.15 *Sulcia* y *Baumannia*, dos endosimbiontes que habitan en la misma célula de un insecto. Se utilizó hibridación *in situ* con fluorescencia usando sondas que se hibridan selectivamente con el rRNA de *Sulcia* (rojo) y de *Baumannia* (verde).

y también *Sulcia muelleri*, que les suministra muchos de lo aminoácidos esenciales que necesita el insecto (**Figura 6.15**). La mayoría de los simbiontes son especies de uno o dos de los grupos principales de bacterias gramnegativas, los filos *Proteobacteria* y *Bacteroidetes*. La mayor parte de estos genomas tan reducidos también tienen un contenido de AT sorprendentemente alto, alrededor del 80 %, excepto, paradójicamente, en el caso de los dos más pequeños, *Tremblaya* y *Hodgkinia*, que tienen alrededor del 40 %. Algunos de estos genomas tan reducidos han perdido aparentemente varios genes considerados esenciales para la replicación, como el gen que codifica FtsZ, la proteína clave en la división celular (↻ Sección 5.2). Por tanto, no se conoce la manera en que estos simbiontes logran replicarse.

Los simbiontes antes mencionados difieren de las mitocondrias y los cloroplastos en varios aspectos. Los simbiontes están restringidos a unos pocos tejidos, incluso en un organismo hospedador concreto. Apenas hay pruebas de la transferencia de genes simbióticos al núcleo celular del hospedador, y las proteínas sintetizadas en el citoplasma del hospedador no entran en el simbionte para realizar funciones vitales. Sin embargo, algunos simbiontes son totalmente necesarios para la supervivencia del hospedador y ellos mismos no pueden sobrevivir fuera del hospedador. Esto nos lleva a hacernos una pregunta importante, para la cual no hay actualmente una respuesta definitiva: ¿dónde está la línea divisoria entre un simbionte y un orgánulo?

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué hay de inusual en relación a los genes que codifican las proteínas mitocondriales?
- ¿Qué codifican normalmente los genomas de los cloroplastos?
- ¿Qué hay de inusual en relación a los genomas de simbiontes de insectos?

6.6 El genoma de los microorganismos eucariotas

Se ha secuenciado el genoma de muchos eucariotas microbianos (Tabla 6.5) y su tamaño puede ser muy variado. Algunos protozoos unicelulares, como el ciliado de vida libre *Paramecium* (40.000 genes) y el patógeno *Trichomonas* (60.000 genes) tienen un número significativamente más alto de genes que los humanos (Tabla 6.5). De hecho, *Trichomonas* tiene el récord actual en número de genes de cualquier organismo. Es sorprendente, porque *Trichomonas* es un parásito humano y estos organismos tienen normalmente genomas pequeños en relación con los organismos de vida libre comparables, porque los parásitos dependen de su hospedador para algunas o incluso muchas funciones.

Genomas de parásitos microbianos

Aparte de *Trichomonas*, los microorganismos eucariotas parásitos tienen genomas que varían entre los 10 y los 30 Mbp, y contienen entre 4.000 y 11.000 genes. Por ejemplo, *Trypanosoma brucei*, el agente de la enfermedad del sueño africana, tiene 11 cromosomas, 35 Mbp de DNA y casi 11.000 genes. El parásito eucariota más importante es *Plasmodium*, que causa la malaria (↔ Sección 17.5). Las cuatro especies de *Plasmodium* que infectan humanos tienen genomas que van desde 23 hasta 27 Mbp, con 14 cromosomas y alrededor de 5.500 genes. Pero la mitad de esos genes tienen intrones y casi un tercio codifican proteínas hipotéticas conservadas con función desconocida. La ameba social de vida libre *Dictyostelium* tiene unos 12.500 genes (pero obsérvese que en su ciclo de vida *Dictyostelium* tiene fases unicelulares y pluricelulares, ↔ Sección 17.8), y la ameba patógena *Entamoeba histolytica*, agente causal de la disentería amebiana, tiene aproximadamente 10.000 genes.

El genoma eucariota celular más pequeño conocido pertenece a *Encephalitozoon cuniculi*, un patógeno intracelular de los humanos y otros animales que causa infecciones pulmonares. *E. cuniculi* carece de mitocondrias y, aunque su genoma haploide contiene 11 cromosomas, el tamaño genómico es de solo 2,9 Mbp, con aproximadamente 2.000 genes (Tabla 6.5), un tamaño menor que el de muchos genomas procarióticos (Tabla 6.1). Al igual que ocurre en los procariotas, el genoma eucariota más pequeño pertenece a un endosimbionte (↔ Sección 13.4). Conocido como *nucleomorfo*, son los restos degenerados de un endosimbionte eucariota encontrado en determinadas algas verdes que adquirieron la fotosíntesis por endosimbiosis secundaria (↔ Sección 17.1). El genoma de los nucleomorfos varía entre los 0,45 Mbp y los 0,85 Mbp.

El genoma de la levadura

De los eucariotas unicelulares, la levadura *Saccharomyces cerevisiae* es el más utilizado como organismo modelo y también es usado en panadería y en la elaboración de cerveza. El genoma haploide de la levadura contiene 16 cromosomas, cuyo tamaño

Tabla 6.5 Algunos genomas nucleares eucariotas[a]

Organismo	*Comentarios*	*Estilo de vida*[b]	*Tamaño del genoma (Mbp)*	*Cromosomas haploides*	*ORFs*
Nucleomorfo de *Bigelowiella natans*	Núcleo degenerado endosimbiótico	E	0,37	3	331
Encephalitozoon cuniculi	El menor genoma eucariota conocido; patógeno humano	P	2,9	11	2.000
Cryptosporidium parvum	Protozoo parásito	P	9,1	8	3.800
Plasmodium falciparum	Malaria	P	23	14	5.300
Saccharomyces cerevisiae	Levadura, modelo de eucariota	VL	12,1	16	5.800
Ostreococcus tauri	Alga verde marina; el menor eucariota de vida libre	VL	12,6	20	8.200
Aspergillus nidulans	Hongo filamentoso	VL	30	8	9.500
Giardia lamblia	Protozoo flagelado; causa gastroenteritis aguda	P	12	5	9.700
Dictyostelium discoideum	Ameba social	VL	34	6	12.500
Drosophila melanogaster	Mosca del vinagre; organismo modelo en genética	VL	180	4	13.600
Caenorhabditis elegans	Gusano nematodo; organismo modelo en estudios de desarrollo animal	VL	97	6	19.100
Mus musculus	Ratón, mamífero modelo	VL	2.500	23	25.000
Homo sapiens	Humano	VL	2.850	23	25.000
Arabidopsis thaliana	Planta modelo en genética	VL	125	5	26.000
Oryza sativa	Arroz; la planta de cultivo más importante del mundo	VL	390	12	38.000
Paramecium tetraurelia	Protozoo ciliado	VL	72	>50	40.000
Populus trichocarpa	Árbol, álamo que crece en Norteamérica	VL	500	19	45.000
Trichomonas vaginalis	Protozoo flagelado; patógeno humano	P	160	6	60.000

[a]Todos los datos son para los genomas nucleares haploides de estos organismos en megapares de bases. Para la mayoría de los genomas grandes, el tamaño y los ORF listados son las mejores estimaciones debido al gran número de secuencias repetidas y/o intrones en estos genomas.
[b]E, endosimbionte; P, parásito; VL, vida libre.

varía entre los 220 kbp y los 2.352 kbp. El genoma nuclear total de la levadura (excluyendo las mitocondrias y algunos plásmidos y elementos genéticos similares a los virus) es, aproximadamente, de 13.400 kbp. El cromosoma XII de la levadura contiene un fragmento de aproximadamente 1.260 kbp que contiene entre 100 y 200 repeticiones de genes de rRNA. Además de estas copias múltiples de los genes de rRNA, el genoma nuclear de la levadura tiene aproximadamente 300 genes para los tRNA (solo algunos son idénticos) y casi 100 genes de otros tipos de RNA no codificante. La levadura tiene aproximadamente 6.000 ORF, menos que los que hay en algunos genomas bacterianos (Tablas 6.1 y 6.5). Alrededor de las dos terceras partes de los ORF de la levadura codifican proteínas de las que se desconoce su función.

¿Cuántos genes de levadura conocidos son realmente esenciales? Esta pregunta se puede intentar responder desactivando sistemáticamente los genes de uno en uno con *mutaciones por desactivación* (en inglés, *knockout mutations*, mutaciones que desactivan completamente un gen; ↻ Sección 11.5). Normalmente, las mutaciones por desactivación no se pueden producir en genes esenciales en un organismo haploide. Sin embargo, la levadura se puede cultivar en ambos estados, el diploide y el haploide (↻ Sección 17.13). Generando mutaciones por desactivación en células diploides y después investigando si también pueden existir en células haploides, es posible determinar si un gen concreto es esencial para la viabilidad de la célula. Mediante mutaciones por desactivación se ha demostrado que alrededor de 900 ORF de levadura (17 %) son esenciales. Obsérvese que este número de genes esenciales es mucho mayor que los aproximadamente 300 genes (Sección 6.4) predichos como el número mínimo necesario en procariotas. No obstante, debido a que los eucariotas son mucho más complejos que los procariotas, es de esperar un complemento génico mínimo más grande.

Por ser eucariota, el genoma de la levadura contiene intrones (↻ Sección 4.9). Sin embargo, el número total de intrones en los genes codificadores de proteina de levadura es solamente 225. La mayoría de genes de levadura con intrones contienen solamente un intrón pequeño próximo al extremo 5′ del gen. Esta situación difiere en gran medida de lo que se aprecia en eucariotas de mayor complejidad (**Figura 6.16**). Por ejemplo, en el gusano *Caenorhabditis elegans*, el gen promedio

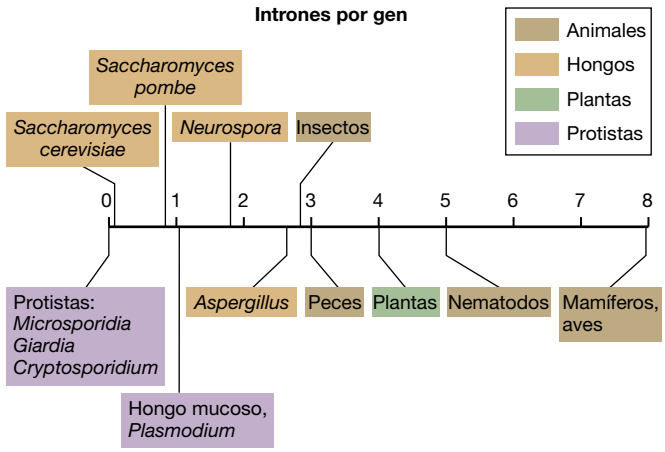


Figura 6.16 Frecuencia de intrones en diferentes eucariotas. Se muestra el promedio de intrones por gen para una gama de organismos eucarióticos.

posee cinco intrones, y en la mosca de la fruta, *Drosophila*, el gen promedio tiene cuatro. Los intrones son comunes en los genes de plantas, con una media de unos cuatro por gen. El modelo promedio para la planta superior *Arabidopsis* es de cinco intrones por gen y por encima del 75 % de los genes de *Arabidopsis* poseen intrones. En los humanos casi todas las proteínas que codifican genes tienen intrones, y es normal que un gen individual tenga diez o más. Sin embargo, los intrones humanos son mucho más grandes que los exones, es decir, el DNA que realmente codifican proteínas. Ciertamente, los exones constituyen solamente el 1 % del genoma humano, mientras que los intrones son el 24 %.

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué rango de tamaño de sitúan los genomas eucariotas?
- Compárese esta medida con la de los procariotas
- ¿De qué manera indicaría que un gen es esencial?
- ¿Qué hay de inusual en el genoma del eucariota *Encephalitozoon*?

III • Genómica funcional

Apesar del gran esfuerzo necesario para generar la secuencia registrada de un genoma, en cierto modo el resultado neto es, simplemente, un «listado de piezas». Para entender cómo funciona una célula, necesitamos saber algo más que los genes que están presentes. También es necesario investigar la expresión génica (transcripción) y la función del producto génico final. Por analogía con el término «genoma», el complemento entero de RNA producido en determinadas condiciones se conoce como **transcriptoma**. Una terminología similar se aplica a los productos de la traducción, el metabolismo, y otras áreas relacionadas, añadiendo el sufijo «ómica». La **Tabla 6.6** resume las terminologías «ómicas» usadas en este capítulo.

6.7 Micromatrices y el transcriptoma

La transcriptómica se refiere al estudio global de la transcripción y se realiza mediante la inspección de todo el RNA generado en unas condiciones de crecimiento determinadas. En el caso de genes cuya función es aún desconocida, descubrir en qué condiciones se transcriben puede dar pistas acerca de su función. Se pueden usar dos enfoques: el uso de micromatrices, que depende de la hibridación entre el DNA y el RNA, o mediante RNA-Seq, que depende de métodos de secuenciación de segunda generación (o posteriores).

Tabla 6.6 Terminología «ómica»

DNA	**Genoma:** información genética total de una célula o un virus **Metagenoma:** complemento genético total de todas las células presentes en un ambiente particular **Epigenoma:** número total de posibles cambios epigenéticos **Metiloma:** número total de sitios metilados en el DNA (ya sean epigenéticos o no)
RNA	**Transcriptoma:** RNA total producido en un organismo en condiciones específicas
Proteína	**Proteoma:** conjunto total de proteínas codificadas por un genoma **Traductoma:** conjunto total de proteínas presentes en condiciones específicas **Interactoma:** conjunto total de interacciones entre proteínas (o otras macromoléculas)
Metabolitos	**Metaboloma:** conjunto total de pequeñas moléculas y metabolitos intermediarios **Glicoma:** conjunto total de azúcares y otros carbohidratos
Organismos	**Microbioma:** conjunto total de microorganismos en un ambiente dado (también aquellos asociados con organismos superiores) **Viroma:** conjunto total de virus en un ambiente **Micobioma:** conjunto total de hongos en un ambiente natural

Micromatrices y chips de DNA

Las **micromatrices** son pequeños soportes sólidos sobre los cuales se fijan y disponen espacialmente y según un patrón conocido, genes o, con más frecuencia, porciones de genes. A menudo se las denomina **chips génicos** o chips de DNA (Figura 6.17). La tecnología de las micromatrices requiere de la hibridación entre el DNA y el RNA. Cuando se desnaturaliza el DNA (es decir, se separan las dos cadenas), las cadenas sencillas pueden formar moléculas híbridas de cadena doble con otras moléculas de DNA o RNA de cadena sencilla mediante el apareamiento complementario o parcialmente complementario de sus bases (↻ Sección 11.2). Este proceso es conocido como *hibridación de ácidos nucleicos*, o para abreviar **hibridación**, y es muy usado para detectar, caracterizar e identificar segmentos de DNA o RNA. Los fragmentos de ácidos nucleicos de cadena simple cuya identidad es conocida, y que son usados en la hibridación, se denominan **sondas de ácidos nucleicos** o, simplemente, sondas. Para permitir la detección, las sondas pueden ser radiactivas o estar marcadas con fluorescencia. Modificando las condiciones es posible ajustar la «exactitud» de la hibridación de modo que el apareamiento de las bases complementarias sea exacto, o casi exacto. Esto evita apareamientos no específicos entre secuencias que son solo complementarias parcialmente.

En una micromatriz, los segmentos génicos pueden ser sintetizados por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, ↻ Sección 11.3) o, alternativamente, se diseñan y sintetizan oligonucleótidos para cada gen a partir de la secuencia genómica. Una vez unidos al soporte sólido, estos segmentos de DNA se pueden hibridar con RNA de células cultivadas en condiciones específicas, escanearse y analizarse por ordenador. La hibridación entre un RNA específico y un segmento de DNA en el chip indica que el gen se ha transcrito (Figura 6.17; véase también Figura 6.18*b*). Cuando se estudian los genes que codifican proteínas, se debe analizar el RNA mensajero. En la práctica, el mRNA está presente en cantidades demasiado bajas para su uso directo. Por tanto, las secuencias de mRNA deben ser amplificadas previamente. Esto se hace usando una versión modificada de la PCR después de convertir el RNA en su *DNA complementario* (cDNA, ↻ Sección 11.3).

La fotolitografía, un proceso utilizado para fabricar los chips informáticos, se ha adaptado para producir chips de DNA. Estos chips tienen entre 1 y 2 cm de tamaño, y están insertados en soporte plástico que puede ser manipulado fácilmente (Figura 6.18*a*). Cada chip puede albergar miles de fragmentos diferentes de DNA. En la práctica, normalmente cada gen está representado más de una vez en la matriz con el fin de aumentar la fiabilidad. Las matrices de genomas completos contienen segmentos de DNA que, en conjunto, representan el genoma entero de un organismo. Por ejemplo, un chip que abarque el genoma humano completo (Figura 6.18*a*) puede analizar unos 47.000 transcritos humanos y tiene espacio para 6.500 oligonucleótidos adicionales para su uso en diagnóstico clínico.

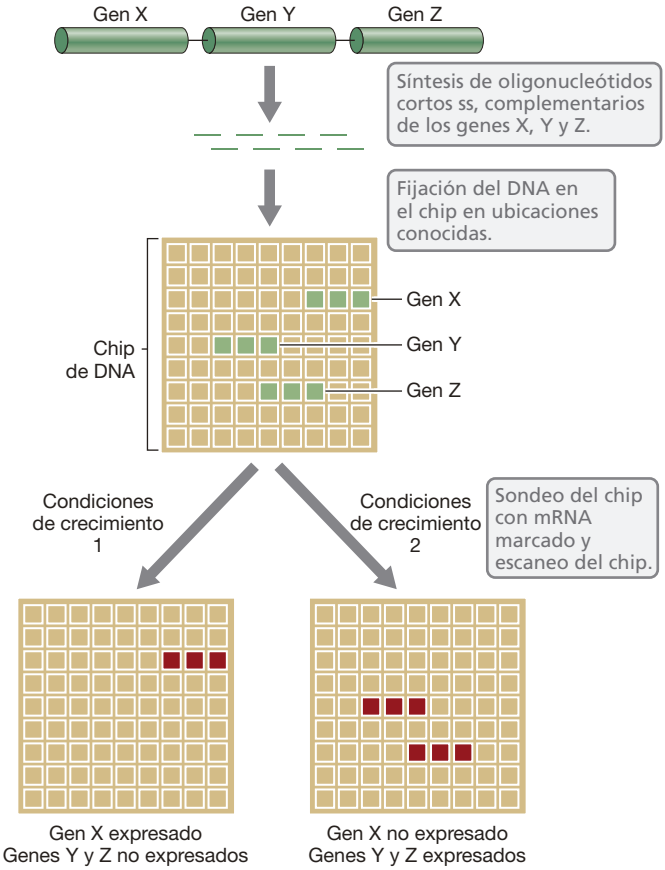
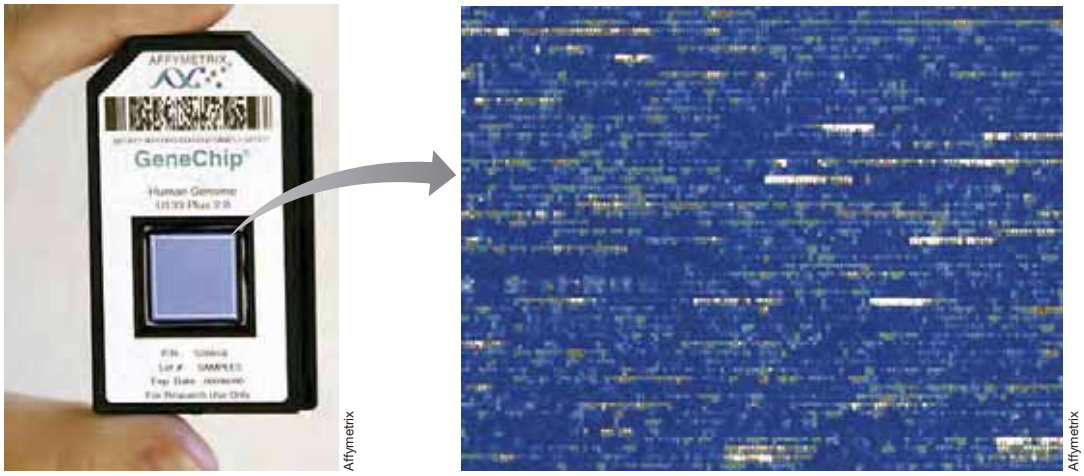


Figura 6.17 Elaboración y uso de micromatrices de DNA. Se sintetizan individualmente oligonucleótidos cortos monocatenarios correspondientes a todos los genes de un organismo, y se fijan en posiciones conocidas del chip para elaborar una micromatriz. El chip se analiza por hibridación a las sondas de DNA del chip mRNA marcados con fluorescencia, obtenidos de células cultivadas en condiciones específicas, y escaneando después el chip con un láser.



(a) (b)

Figura 6.18 Uso de chips génicos para ensayar la expresión génica. *(a)* El chip del genoma humano contiene más de 40.000 fragmentos génicos. La ampliación de *(a)* en *(b)* indica la localización real de la micromatriz. *(b)* Chip de levadura ya hibridado que muestra fragmentos de una cuarta parte del genoma de la levadura de panadería, *Saccharomyces cerevisiae,* fijado a un chip génico. Cada gen está presente en varias copias y se ha sondeado con cDNAs marcado con fluorescencia derivado del mRNA extraído de células de levadura cultivadas en condiciones específicas. El fondo del chip es azul. Los sitios en los que el cDNA ha hibridado están indicados con una gradación de color hasta el máximo de hibridación, que se muestra con el color blanco. Dado que se conoce la ubicación de cada gen en el chip, cuando se escanea el chip se detectan los genes expresados.

Aplicaciones de los chips génicos: expresión génica

Los chips génicos se pueden usar de diferentes maneras, dependiendo de los genes que sean fijados al chip. La expresión génica global se controla mediante el ensamblado de una matriz de oligonucleótidos complementarios a cada gen en el genoma y usando luego la población completa de mRNA como muestra de estudio. La Figura 6.18*b* muestra un fragmento de un chip utilizado para estudiar la expresión génica en *Saccharomyces cerevisiae*. Este chip alberga fácilmente los 6.000 genes que codifican proteínas de *S. cerevisiae* (Tabla 6.5), de modo que en un solo experimento se puede medir la expresión génica global de este organismo. Para ello, el chip se hibrida con cRNA o cDNA derivado del mRNA obtenido de las células de levadura cultivadas en condiciones específicas. Para visualizar la unión, se marcan los ácidos nucleicos con un pigmento fluorescente, y se escanea el chip con un detector de fluorescencia inducida por láser. Se observan patrones de hibridación diferentes, según qué secuencias de DNA correspondan a cada uno de los mRNA (Figura 6.18*b*). La intensidad de la fluorescencia mide la expresión génica de manera cuantitativa, lo cual permite al ordenador elaborar una lista con los genes expresados y los grados de expresión. Esto pone de manifiesto el *transcriptoma* del organismo de interés cultivado en condiciones específicas (Tabla 6.6).

El chip génico de *S. cerevisiae* se ha utilizado para estudiar el control metabólico en este importante organismo industrial. La levadura puede crecer por fermentación o por respiración. Los análisis transcriptómicos pueden demostrar qué genes se desactivan y cuáles se activan cuando las células de levadura cambian del metabolismo fermentativo (anaeróbico) al respiratorio o viceversa. Los análisis transcriptómicos de esta expresión génica muestran que la levadura sufre una «reprogramación» metabólica fundamental durante el paso del crecimiento anaerobio al aerobio. Los genes que controlan la producción de etanol (un producto clave de la fermentación) son fuertemente reprimidos, mientras que las funciones del ciclo del ácido cítrico (necesario para el crecimiento aeróbico) son fuertemente activadas por el cambio. En conjunto, unos 700 genes son activados y unos 1.000 son desactivados durante esta transición metabólica. Además, utilizando una micromatriz se puede hallar también el patrón de expresión de genes de función desconocida, lo que aporta pistas sobre su posible papel.

Aplicaciones en identificación

Las micromatrices se pueden utilizar también para identificar microorganismos. En este caso, la matriz contiene un grupo de secuencias características de DNA de cada uno de una serie de organismos o virus. Este método se puede utilizar para diferenciar especies o cepas muy relacionadas entre sí a partir de las diferencias en sus patrones de hibridación. Esto permite una identificación muy rápida de virus o bacterias patógenas a partir de muestras clínicas o la detección de estos organismos en otras sustancias, como alimentos. Por ejemplo, los chips de identificación (ID) se han utilizado en la industria alimentaria para detectar patógenos específicos, como *Escherichia coli* O157:H7. Otro uso similar de las micromatrices de DNA es la comparación de genes en organismos que guardan una estrecha relación. Por ejemplo, se ha utilizado para estudiar la evolución de bacterias patógenas a partir de sus parientes inocuos.

En estudios ambientales, micromatrices conocidas como *filochips* se han utilizado para evaluar la diversidad microbiana. Los filochips contienen oligonucleótidos complementarios de las secuencias de rRNA 16S de diferentes especies bacterianas, una molécula muy utilizada en la sistemática procariótica (Capítulo 12). Tras extraer el DNA o el RNA en masa de un ambiente, se puede evaluar la presencia o ausencia de cada especie por la presencia o ausencia de hibridación en el chip (↻ Sección 18.6).

También se pueden diseñar chips génicos para identificar organismos superiores. Un chip disponible comercialmente,

llamado *FoodExpert-ID*, contiene 88.000 fragmentos génicos de vertebrados, y se utiliza en la industria alimentaria para controlar la pureza de los alimentos. El chip puede confirmar que la carne indicada en una etiqueta alimentaria es la que se muestra, y también puede detectar carne de animales diferentes que pueden haberse añadido como suplementos o sustitutos de los ingredientes indicados. El FoodExpert-ID también puede utilizarse para detectar subproductos vertebrados en piensos, una preocupación creciente desde la aparición de infecciones priónicas como la enfermedad de las vacas locas (↔ Sección 9.13).

Analisis por RNA-Seq

El análisis por *RNA-Seq* es un método mediante el cual se secuencian todas las moléculas de RNA de una célula. Siempre que la secuencia genómica esté disponible para una comparación, este método no solo indicará qué genes se transcriben, sino también cuántas copias de cada RNA se hacen. El RNA-Seq se emplea para medir la expresión de los mRNA y para identificar y caracterizar RNA pequeños no codificantes; necesita de técnicas de secuenciación de alto rendimiento (secuenciación de segunda o tercera generación, Sección 6.2) y es complicado debido a que el RNA más abundante en la célula es el RNA ribosomal (rRNA). Sin embargo, hay varios métodos disponibles para eliminar el rRNA o aumentar la cantiad de mRNA en la mezcla inicial de RNA total. Además, algunas mejoras recientes en las tecnologías de secuenciación pueden permitir la secuenciación sin necesidad de eliminar el rRNA.

El RNA-Seq empieza a superar los análisis con micromatrices como método de elección para estudios globales de la expresión de los genes. Por ejemplo, la **Figura 6.19** muestra una comparación mediante RNA-Seq de cultivos de una especie de *Clostridium* en fase exponencial y estacionaria. Los clostridios son bacilos grampositivos, que pueden producir endosporas, el estadio de su ciclo de vida en el que están latentes y son muy resistentes (↔ Sección 2.16). Como se pudiera predecir, la transcripción de los genes de la ruta glicolítica (la forma principal por la cual el organismo produce ATP) es elevada durante el crecimiento exponencial, mientras que la expresión de los genes de la esporulación aumenta en la fase estacionaria, cuando los nutrientes son limitantes. El RNA-Seq también se emplea para el análisis de las comunidades microbianas y puede dar información acerca de los niveles relativos de la transcripción cuando una secuencia genómica no está disponible para la comparación. En este caso, las secuencias detectadas deben identificarse por homología con secuencias presentes en los bancos de datos de secuencias.

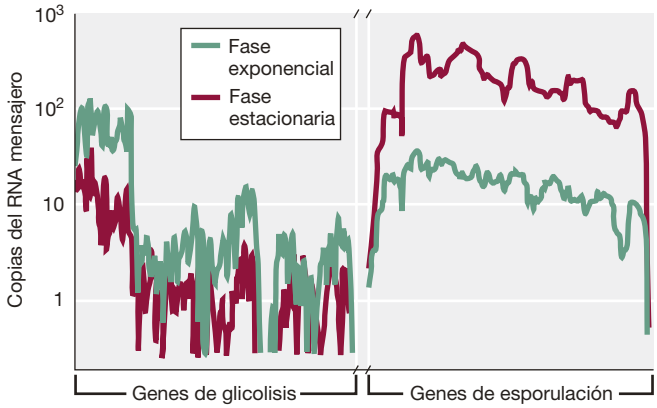


Figura 6.19 Análisis por RNA-Seq. El transcriptoma de una especie de *Clostridium* cultivada durante 4,5 h (células en fase exponencial) o 14 h (células en fase estacionaria). Se muestran dos regiones genómicas: (1) segmento de ~5,4 kb que incluye el operón glicolítico *gap-pgk-tpi*, y (2) un segmento de ~1,2 kb que incluye el operón para la esporulación *cotJC-cotJB*. La producción de endosporas se activa por limitación de nutrientes (↔ Sección 2.16). Datos tomados de Wang, Y., X. Li, Y. Mao, and H.P. Blaschek. 2011. Single-nucleotide resolution analysis of the transcriptome structure of *Clostridium beijerinckii* NCIMB 8052 using RNA-Seq. *BMC Genomics 12:* 479-489.

Como veremos en la Sección 6.10, la *metagenómica* es el análisis genómico del conjunto de DNA o RNA extraído de un ambiente. El análisis metagenómico, utilizando el método de RNA-Seq se ha utilizado para el cultivo en el laboratorio de bacterias procedentes de muestras naturales que previamente no se habían podido cultivar. Esto se realizó usando RNA-Seq para averiguar qué genes estaban siendo transcritos a niveles altos por una comunidad microbiana particular. A partir de aquí el análisis de las secuencias identificó las proteínas que se correspondían con los mRNA más abundantes. Esto permitió a los investigadores deducir qué nutrientes podría estar usando la bacteria de la muestra a partir de las actividades enzimáticas más probables de esas proteínas. Usando esta información como guía, se diseñaron los medios de cultivos y se pudo cultivar bacterias previamente no cultivables.

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué es útil investigar la expresión del genoma completo en determinadas condiciones?
- ¿Qué nos dice el estudio de la expresión génica mediante las micromatrices que no nos puede decir el estudio de enzimas individuales?
- ¿De qué avances tecnológicos depende el método RNA-Seq?

6.8 Proteómica e interactoma

El estudio a nivel de todo el genoma de la estructura, la función y la regulación de las *proteínas* de un organismo recibe el nombre de **proteómica**. El número y el tipo de proteínas presentes en una célula están sometidos a cambios como respuesta al ambiente del organismo o a otros factores, como sus ciclos de desarrollo. En consecuencia, el término **proteoma** es, lamentablemente, un término ambiguo. En su sentido más amplio, un proteoma incluye *todas* las proteínas codificadas por el genoma de un organismo. Sin embargo, en un sentido más restringido se refiere a las proteínas presentes en una célula *en cualquier momento determinado*. Para esta última situación, algunas veces se usa el término *traductoma*s es decir, para referirse a cada proteína producida en condiciones determinadas.

Métodos en proteómica

El primer enfoque destacado de la proteómica comenzó con la llegada de la electroforesis bidimensional (2D) en gel de poliacrilamida. Esta técnica puede separar, identificar y estimar la abundancia de todas las proteínas presentes en una muestra celular. En la **Figura 6.20** se muestra una separación en gel 2D de

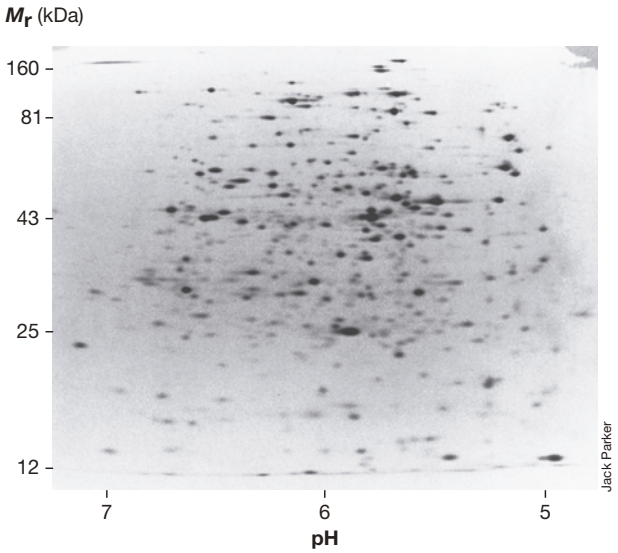


Figura 6.20 Electroforesis bidimensional en gel de poliacrilamida de proteínas de *Escherichia coli*. Cada mancha del gel es una proteína diferente, marcada radiactivamente para permitir su visualización y la cuantificación. En la dirección horizontal las proteínas se separaron por isoelectroenfoque en condiciones desnaturalizantes y en la dirección vertical se separan por sus masas (M_r, en kilodalton). Las proteínas más grandes están en la parte superior del gel.

las proteínas de *Escherichia coli*. En su primera dimensión (la dimensión horizontal de la Figura 6.20), las proteínas se separan por diferencias en su punto isoeléctrico, el pH en el que la carga neta de cada proteína es cero. En la segunda dimensión, las proteínas son desnaturalizadas de modo que cada residuo de aminoácidos adquiere una carga fija. A continuación, las proteínas se separan por tamaño (en gran parte igual que sucede con las moléculas de DNA; ↻ Sección 11.1).

En estudios en *E. coli* y algunos otros organismos, se han identificado cientos de proteínas separadas en geles 2D por medios bioquímicos o genéticos, y su presencia o ausencia se ha estudiado en diversas condiciones de crecimiento. Con los geles 2D se puede medir la abundancia de una proteína concreta y relacionarla con las condiciones ambientales. Un método para conectar una proteína desconocida con un gen concreto utilizando el sistema de geles 2D es eluir la proteína del gel y secuenciar un fragmento de ella, normalmente desde su extremo N-terminal. Alternativamente, las proteínas eluidas pueden ser identificadas mediante una técnica llamada *espectrometría de masas* (Sección 6.9), normalmente tras una digestión preliminar para obtener un grupo característico de péptidos. La información sobre la secuencia que se obtiene con estas técnicas puede ser suficiente para identificar completamente la proteína. Por otra parte, a partir de los datos de secuencias parciales se pueden diseñar sondas de oligonucleótidos o cebadores para localizar el gen que codifica la proteína en el DNA genómico por hibridación o PCR. Después, tras la secuenciación del DNA se puede determinar la identidad del gen.

Actualmente, la cromatografía líquida se usa cada vez más para separar mezclas de proteínas. En la cromatografía líquida de alta resolución o alta presión (HPLC, del inglés *high pressure liquid chromatography*), la muestra se disuelve en un líquido adecuado y se fuerza a pasar, mediante presión, por una columna empaquetada con un material que constituye la fase estacionaria, que separa las proteínas por variaciones en sus propiedades químicas, como el tamaño, la carga iónica o la hidrofobicidad. A medida que la mezcla se desplaza por la columna, se va separando por interacción de las proteínas con la fase estacionaria. Las fracciones se recogen a la salida de la columna. Las proteínas de cada fracción se digieren con proteasas y los péptidos se identifican por espectrometría de masas.

Genómica y proteómica comparativas

A pesar de que a menudo la proteómica requiere una experimentación intensa, la informática también puede resultar muy útil. Una vez obtenida la secuencia del genoma de un organismo, se puede comparar con la de otros organismos para localizar genes similares a los que ya se conocen. La secuencia que es más importante en este caso es la *secuencia de aminoácidos* de las proteínas codificadas. Puesto que el código genético es degenerado (↻ Sección 4.11), las diferencias en la secuencia del DNA no necesariamente conllevan diferencias en la secuencia de aminoácidos.

Las proteínas con más del 50 % de identidad de secuencia a menudo tienen funciones similares. Las proteínas con una identidad superior al 70 % es casi seguro que tienen funciones similares. Muchas proteínas están formadas por diferentes módulos estructurales, llamados *dominios proteicos*, cada uno de ellos con funciones características. Estas regiones incluyen dominios de unión a metales, dominios de unión a nucleótidos o dominios para determinadas clases de actividad enzimática, como helicasa o deshidrogenasa. La identificación de dominios de función conocida dentro de una proteína nos dice mucho de sus funciones, incluso en ausencia de la homología completa de secuencia. Por ejemplo, hay muchas proteínas que contienen como cofactor el metal zinc y a veces se encuentran en el sitio activo de enzimas o en dominios de unión al DNA. La **Figura 6.21** muestra la distribución de las proteínas que contienen zinc en los procariotas y en los eucariotas. Mientras que ambos grupos sintetizan muchas enzimas que contienen zinc, el uso de factores de transcripción que contienen zinc es un rasgo predominantemente eucariota.

La *proteómica estructural* se refiere a la determinación a lo largo de todo el proteoma de las estructuras tridimensionales (3D) de las proteínas. Actualmente no es posible predecir directamente la estructura en 3D de las proteínas a partir de su secuencia de aminoácidos. Sin embargo, a menudo se puede modelar la estructura de una proteína desconocida si está disponible la estructura en 3D de una proteína cuya secuencia de aminoácidos coincida con ella en un 30 % o más.

El acoplamiento de la proteómica con la genómica está dando pistas importantes sobre la relación entre la expresión génica y los estímulos ambientales en los diferentes organismos. Esta información aporta grandes ventajas a la investigación básica y puede tener aplicaciones en avances en medicina, en agricultura y para la protección del ambiente. En todas estas áreas, el conocimiento de la conexión entre el genoma y el proteoma y de cómo se regula esta conexión puede ayudar a combatir las enfermedades y la contaminación, así como aportar beneficios importantes en la productividad agrícola.

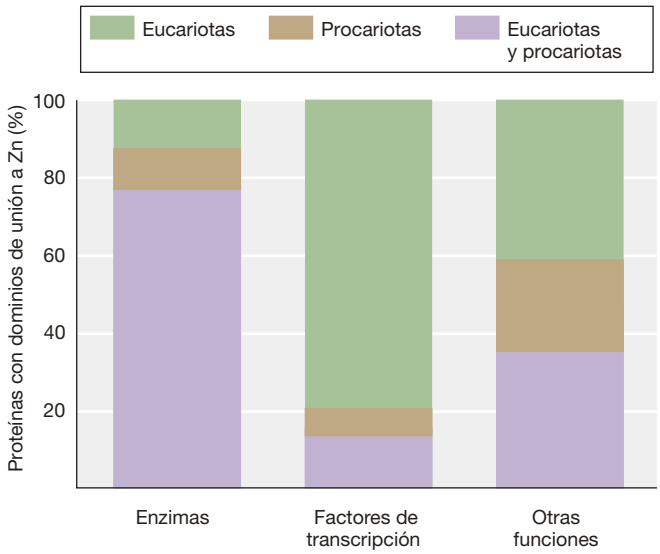


Figura 6.21 **Proteómica comparativa.** Compararon por categorías funcionales de las secuencias de proteínas que contienen dominios de unión a zinc de 40 *Bacteria,* 12 *Archaea* y 5 Eukarya. Las proteínas que contienen zinc son del 5 % al 6 % del total de proteínas en procariotas y del 8 % al 9 % en eucariotas, y muchas son enzimas. Los eucariotas también contienen factores de transcripción exclusivos que contienen zinc.

El interactoma

Por analogía con los términos «genoma» y «proteoma», el **interactoma** es el conjunto completo de interacciones entre las macromoléculas dentro de la célula (Figura 6.22). Originalmente, el término interactoma se aplicó a las interacciones entre proteínas, muchas de las cuales se ensamblan en complejos. Sin embargo, también es posible considerar las interacciones entre diferentes clases de macromoléculas, como es el caso del interactoma proteína-RNA.

Los datos del interactoma se expresan normalmente en la forma de diagramas de redes, donde cada nodo representa una proteína y las líneas de conexión representando las interacciones. Los diagramas de interactomas completos pueden ser muy complejos; por tanto, interactomas más centrados en una función, como la red de proteínas de la motilidad de la bacteria *Campylobacter jejuni* (Figura 6.22), son más instructivos. Esta figura muestra las interacciones fundamentales entre componentes bien conocidos del sistema de quimiotaxia (↻ Secciones 2.19 y 7.8) e incluye todas las otras proteínas que interaccionan con estas.

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué el término «proteoma» es ambiguo, mientras que el término «genoma» no lo es?
- ¿Cuáles son los métodos experimentales más frecuentes para estudiar el proteoma?
- ¿Qué es el interactoma?

6.9 La metabolómica y la biología de sistemas

El **metaboloma** es el conjunto completo de *intermediarios metabólicos* y otras moléculas pequeñas producidas en un organismo. La metabolómica ha ido a la zaga de otras «ómicas», en gran parte debido a la inmensa diversidad química de los pequeños metabolitos que pueden estar presentes en una célula. Esto convierte el estudio sistemático en un desafío técnico. Los primeros intentos se hicieron mediante análisis de resonancia magnética nuclear (RMN) de extractos celulares marcados con ^{13}C-glucosa (^{13}C es un isótopo pesado de carbono, la mayoría de estos son ^{12}C). Sin embargo, la sensibilidad este método es limitada y el número de compuestos que se pueden identificar

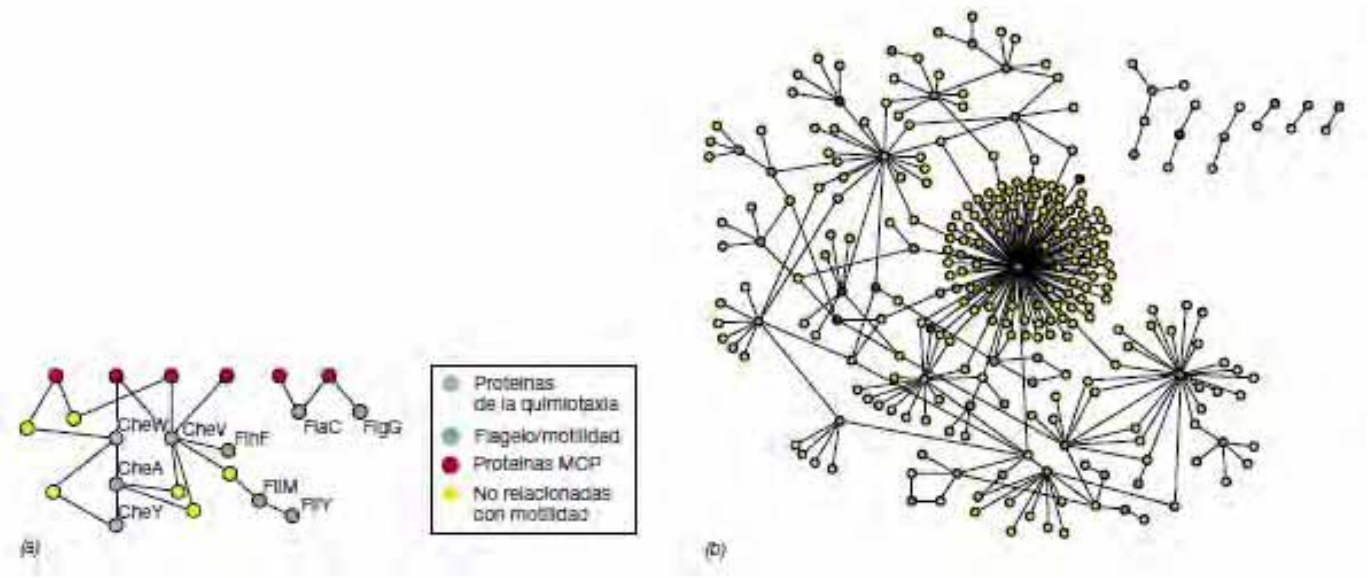


Figura 6.22 **Interactoma de las proteínas de la motilidad en *Campylobacter jejuni*.** Esta red ilustra cómo se representan usualmente los datos del interactoma. *(a)* Subsección de la red que muestra proteínas bien conocidas de la ruta de transducción de señales de la quimiotaxia (CheW, CheA, y CheY) y sus compañeras. MCP, proteínas de la quimiotaxia aceptoras de metilo (↻ Sección 7.8). *(b)* Interacciones más probables entre todas las proteínas conocidas que participan en la motilidad. Nótese que hay seis redes pequeñas que quedan fuera de la red principal.

simultáneamente en una mezcla es demasiado pequeño como para resolver extractos celulares completos.

Nuevas técnicas de espectrometría de masas: MALDI-TOF

El enfoque más prometedor de la metabolómica es el uso de las nuevas técnicas desarrolladas por la espectrometría de masas. Esta estrategia no se limita a tipos concretos de moléculas, y puede ser extremadamente sensible. La masa del ^{12}C se define exactamente como 12 unidades de masa molecular (dáltones). Sin embargo, la masa de otros átomos, como el ^{14}N o el ^{16}O no son valores exactos. La espectrometría de masas usada con una resolución másica extremadamente alta, permite la determinación inequívoca de la fórmula molecular de cualquier molécula pequeña. Obviamente, los isómeros tendrán la misma fórmula molecular, pero se les puede distinguir por sus patrones de fragmentación diferentes durante la espectrometría de masas. El mismo enfoque se utiliza para identificar los fragmentos peptídicos de las proteínas digeridas durante los análisis proteómicos (Sección 6.8). En este caso, la identificación de varios oligopéptidos permite deducir la identidad de la proteína parental siempre que su secuencia de aminoácidos sea conocida.

En la espectrometría de masas, técnica conocida como MALDI (del inglés *matrix-assisted laser desorption/ionization*), la muestra es ionizada y vaporizada por un láser (**Figura 6.23**). Los iones generados se aceleran por un campo eléctrico a lo largo de una columna hasta alcanzar el detector. El tiempo de vuelo (TOF, de *time of flight*) de cada ion depende de su relación masa/carga; cuanto menor sea esta relación, más rápidamente se moverá el ion. El detector mide el TOF de cada ion y el ordenador calcula la masa y por tanto la fórmula molecular. La combinación de estas dos técnicas se conoce como *MALDI-TOF*.

El análisis del metaboloma es especialmente útil en el estudio de la bioquímica de las plantas, que producen varios miles de metabolitos diferentes, más que la mayoría de los organismos de otros tipos. Entre los metabolitos de las plantas muchos son los que se conocen como *metabolitos secundarios*, compuestos químicos como esencias, sabores, alcaloides o pigmentos, muchos de los cuales tienen importancia comercial. La investigación metabolómica ha monitorizado los niveles de varios cientos de metabolitos en la planta modelo *Arabidopsis*, y se han observado cambios significativos en las cantidades de muchos de estos metabolitos como respuesta a cambios de temperatura. Las futuras directrices en metabolómica incluyen la evaluación del efecto de las enfermedades en el metaboloma de varios órganos y tejidos humanos. Los resultados podrían ayudarnos a conocer mucho mejor cómo combate el cuerpo humano las enfermedades infecciosas y no infecciosas y a identificar compuestos clave de relevancia para la defensa del hospedador. Tales compuestos podrían quizás desarrollarse como fármacos para el tratamiento clínico de enfermedades específicas.

Biología de sistemas

El término **biología de sistemas** se ha usado mucho en los últimos años para referirse a la integración de diferentes campos de investigación con el fin de brindar una visión general de un organismo o una célula, o incluso de toda una especie o de un ecosistema entero. La biología de sistemas integra todas las «ómicas» que hemos estudiado aquí: la genómica, la transcriptómica, la proteómica, la metabolómica, etcétera (**Figura 6.24**). Poder almacenar y analizar gran cantidad de información biológica mediante la informática es esencial para la biología de sistemas, y la comprensión de sistemas biológicos completos está evolucionando en paralelo con la potencia y la capacidad de almacenamiento de los ordenadores.

La estrategia básica de la biología de sistemas es compilar un conjunto de dat «ómicos», y a partir de aquí construir un modelo informático del sistema en estudio (Figura 6.24). Tales modelos permitirán predecir el comportamiento o las propiedades de un organismo en particular que no eran evidentes a partir de observaciones preliminares. Estas se conocen como las *propiedades emergentes* de un organismo. Se prevé que el conocimiento de las propiedades emergentes de un organismo proporcionará una visión más profunda de la biología general del organismo que las que un único estudio «ómico» pueda proporcionar por sí mismo.

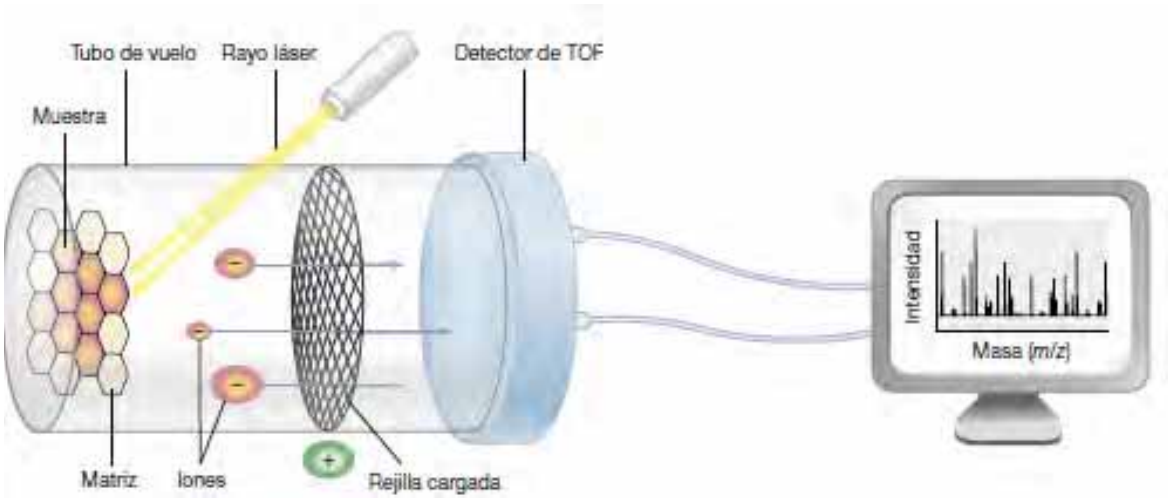


Figura 6.23 **Espectrometría de masas por MALDI-TOF.** En la espectroscopia por desorción/ionización láser asistida por matriz (MALDI), la muestra es ionizada por un láser y los iones viajan por el tubo hacia el detector. El tiempo de vuelo (TOF) depende de la relación masa/carga (*m/z*) del ion. Un ordenador identifica los iones basándose en su tiempo de vuelo, que es el tiempo que tarda en llegar al detector. La técnica MALDI-TOF tiene una sensibilidad y una resolución excepcionalmente alta.

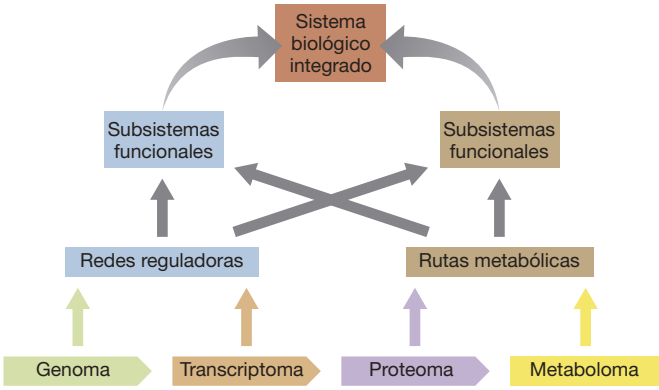


Figura 6.24 **Componentes de la biología de sistemas.** El resultados de los análisis de varias «ómicas» se combinan y se integran sucesivamente para obtener una visión más amplia de la biología completa de un organismo.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué técnicas son utilizadas para monitorizar el metaboloma?
- ¿Qué es un metabolito secundario?
- ¿Por qué la biología de sistemas depende de la potencia de los ordenadores? ¿Qué es una «propiedad emergente»?

6.10 Metagenómica

Las comunidades microbianas contienen muchas especies de *Bacteria* y de *Archaea*, la mayoría de las cuales nunca han sido cultivadas o identificadas oficialmente. La **metagenómica**, también llamada *genómica ambiental*, se ocupa de analizar el conjunto de DNA o RNA procedente de una muestra ambiental que contiene organismos que no han sido previamente aislados o identificados. Del mismo modo que el contenido total de genes de un organismo es su genoma, el contenido total de genes de los organismos que habitan un ambiente es conocido como su **metagenoma** (Tabla 6.6). Además de los análisis metagenómicos basados en la secuenciación del DNA, se pueden usar análisis basados en RNA o proteínas para explorar los patrones de expresión génica en comunidades microbianas naturales. Con las tecnologías actuales, estos estudios pueden hacerse incluso en células individuales (véase Explorando el mundo microbiano, «Genómica, una célula a la vez»). La genómica de células individuales se tratará con más profundidad en el Capítulo 18.

Ejemplos de estudios metagenómicos

Se han investigado varios ambientes mediante proyectos de secuenciación del metagenoma a gran escala. Los ambientes extremos, como las aguas ácidas de escorrentía de las minas suelen tener una diversidad limitada de especies. En estos ambientes ha sido posible aislar DNA comunitario y ensamblar muchas de sus secuencias en genomas individuales casi completos. En cambio, los ambientes complejos como los suelos fértiles o ambientes acuáticos plantean más dificultades y en estos casos es mucho más difícil ensamblar genomas completos. Sin embargo, a partir de los estudios metagenómicos llevados a cabo hasta ahora se ha realizado un hallazgo sorprendente: la mayoría de los genes de las muestras ambientales no pertenecen a organismos celulares sino a virus. Esto se trata más profundamente en el Capitulo 9 donde se estudia la genómica y la filogenia de los virus.

Incluso cuando los genomas completos no se pueden ensamblar, se puede obtener abundante información útil a partir de estudios metagenómicos. Por ejemplo, se puede analizar la presencia y distribución de los diferentes grupos taxonómicos de bacterias en un ambiente. Su abundancia relativa varían mucho en ambientes diferentes y la **Figura 6.25** ilustra esta variación para los subgrupos principales de *Proteobacteria* (Capítulo 15) en un sitio de muestreo cerca de Hawaii, en el océano Pacífico. La luz, el oxígeno, los nutrientes y la temperatura cambian con la profundidad, y puede establecerse una correlación con los subgrupos de proteobacterias más competitivos según la profundidad (Figura 6.25). Un curioso descubrimiento que ha emergido de tales estudios metagenómicos es que la mayoría del DNA en los hábitats naturales no pertenece a células vivas. Por ejemplo, entre el 50 % y el 60 % del DNA de los océanos es DNA extracelular encontrado en los sedimentos de fondos marinos profundos. Presumiblemente sea DNA depositado allí cuando los organismos muertos de las capas superiores del océano se hunden hacia el fondo y se desintegran. Como los ácidos nucleicos son los depósitos principales de fosfato, este DNA contribuye en gran manera al ciclo global del fósforo.

Metagenómica y el estudio del «bioma»

Se estima que el cuerpo humano contiene alrededor de 10 billones (10^{13}) de células, pero cada uno de nosotros también es portador de alrededor de diez veces más células procariotas que células humanas. Este conjunto de células procariotas es conocido como el *microbioma* humano. La mayoría de estos procariontes habitan en el intestino y la mayoría pertenecen a dos grupos bacterianos, *Bacteroidetes* y *Firmicutes* (Capítulo 15). Un descubrimiento fascinante ha sido que la composición del

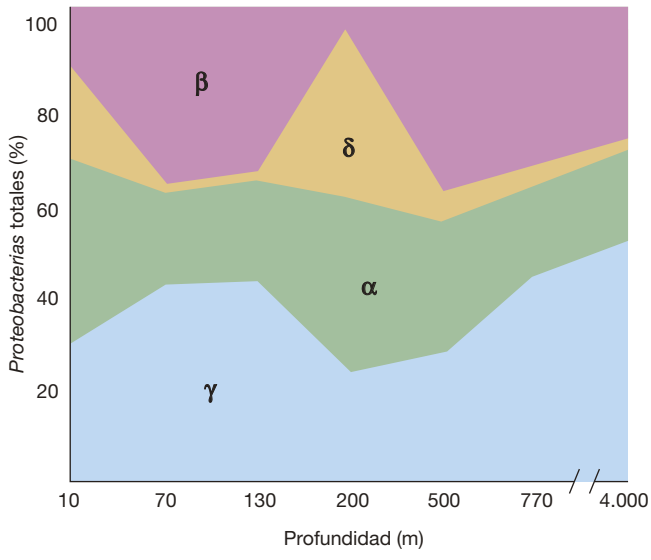


Figura 6.25 **Metagenómica de proteobacterias en el océano.** Se muestra la distribución según la profundidad de los principales subgrupos de proteobacterias (alfa α, beta β, gamma γ, y delta δ) en el océano Pacífico. Muchos otros tipos de bacterias también están presentes (no se muestran). Datos adaptados de Kembel, S.W., J.A. Eisen, K.S. Pollard, and J.L. Green. 2011. *PLoS One 6:* e23214.

EXPLORANDO EL MUNDO MICROBIANO

Genómica, una célula a la vez

El análisis de los genomas en la actualidad ha sido impulsado gracias al aumento en el número de muestras que se pueden analizar simultáneamente y también debido a la reducción en el tamaño de las muestras. La reducción del tamaño de muestra que necesita la genómica ha permitido poder analizar incluso una sola célula —una técnica conocida como genómica de células únicas (*single-cell genomics*)—, y así se ha obtenido resultados sorprendentes.

Es posible aislar una sola célula mediante varias técnicas físicas y después analizarla por procedimientos genómicos (**Figura 1**). La secuenciación del genoma y los análisis del transcriptoma y el proteoma se han realizado en células bacterianas aisladas individualmente. La secuenciación de DNA de células individuales se basa en una versión muy modificada de la PCR conocida como amplificación genómica por desplazamiento múltiple o MDA (del inglés *multiple displacement amplification*) (↻ Sección 18.11 y Figura 18.32). Esta técnica amplifica cantidades de DNA del orden de femtogramos (10^{-15} g), presente en una célula bacteriana, hasta los microgramos de DNA necesarios para la secuenciación (una amplificación de mil millones de veces). De igual modo, el RNA puede ser analizado por RNA-Seq o mediante una amplificación por la versión modificada de la PCR. La proteómica de células únicas es mucho más complicada, pero hay métodos muy sensibles de fluorescencia disponibles para esta finalidad.

Se han aislado células individuales de muestras del suelo u otros hábitats y se ha secuenciado su DNA. Mediante la genómica de células únicas es posible identificar los genes metabólicos presentes en el ambiente e incluso asignarlos a una especie concreta. Por tanto, la genómica de células únicas puede poner de manifiesto qué organismos de una comunidad microbiana están degradando nutrientes y qué tipo de nutrientes degradan. Por ejemplo, la genómica de células únicas se usa para analizar la degradación de hidrocarburos por bacterias en ambientes contaminados, y conocer así mejor qué organismos están haciendo qué en todo el proceso. De modo semejante, los plásmidos y los virus pueden ser asignados al hospedador correcto cuando se secuencian células aisladas.

Un descubrimiento sorprendente logrado al estudiar células aisladas ha sido que los niveles de transcritos y proteínas varían mucho de una célula a otra en un cultivo axénico bacteriano, presumiblemente como consecuencia de que la transcripción y la traducción ocurren en ráfagas en lugar de lenta y continuamente. Esto es especialmente cierto para proteínas expresadas a niveles bajos. Por tanto, y contra lo que cabría esperar, para genes individuales hay poca correlación entre el número de copias del mRNA y su proteína correspondiente en un momento dado. Esto se debe en parte a la diferencia en el tiempo de vida medio entre las moléculas de mRNA y las proteínas. Mientras que la mayoría de las proteínas sobreviven mucho más allá de una generación celular, el mRNA de las bacterias se degrada normalmente dos o tres minutos después de su síntesis. Por tanto, los niveles de mRNA en cualquier momento dado están determinados por la velocidad de transcripción que hubo en los minutos precedentes, mientras que los niveles de una proteína son reflejo de la síntesis durante el transcurso de una hora más o menos.

La genómica de células únicas tiene un futuro prometedor para investigar muchas facetas importantes de la biología de un organismo a nivel de una célula individual y no de una población de células. Este método cuestiona suposiciones previas acerca de la uniformidad bioquímica de las células en los cultivos durante la fase exponencial. Es probable que surjan muchas otras cuestiones para las cuales las tecnologías ómicas de células únicas serán el modo ideal para encontrar respuestas que no se pueden encontrar en ensayos con cultivos masivos. La genómica de células únicas es también un ejemplo excelente de cómo los métodos científicos diseñados para un propósito (es decir, el análisis genómico de una *población* de células) pueden ser modificados por mentes creativas para responder cuestiones científicas como nunca antes se creyó posible.

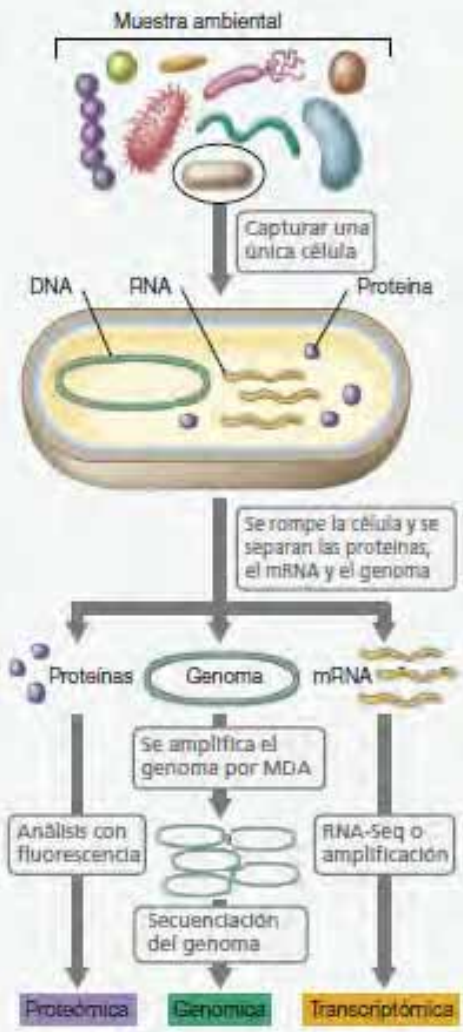


Figura 1 **Genómica de células únicas.** Una sola célula aislada de una muestra ambiental puede ser la fuente de una gran variedad de estudios «ómicos».

microbioma del intestino guarda una correlación con la obesidad tanto en humanos como en modelos experimentales en ratón. Cuanto mayor es la proporción de *Firmicutes* (principalmente *Clostridium* y especies cercanas), más grueso es el humano o el ratón. Un posible mecanismo es que las especies de *Firmicutes* convierten más fibras de la dieta en ácidos grasos de cadena corta de los que puede absorber el hospedador. Por tanto, el hospedador engorda más a partir de la misma cantidad de alimento. Por otro lado, aunque *Escherichia coli* es un organismo modelo importante para la biología, esta bacteria solo constituye el 1 % del total de la población bacteriana del intestino.

Estudios recientes del microbioma intestinal humano y de ratón han puesto de manifiesto varias especies de hongos (Figura 6.26) no detectados anteriormente. Conforman lo que se conoce como el *micobioma* (el prefijo «mico-» significa «fúngico»). Muchos son levaduras comunes, como *Saccharomyces* y *Candida*, mientras que algunos de los hongos detectados en el intestino, como *Aspergillus* y *Trichosporon*, son posibles patógenos importantes (Figura 6.26). Además, a pesar que los hongos intestinales constituyen menos del 1 % del microbioma, se sabe que ciertas condiciones como la enfermedad inflamatoria intestinal guardan una fuerte correlación con poblaciones específicas de hongos. Por tanto, la metagenómica es una gran promesa para detectar posibles conexiones entre poblaciones microbianas específicas y enfermedades particulares en los humanos y en otros animales.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué es el metagenoma?
- ¿Cómo se analiza el metagenoma?
- ¿Cuál es la diferencia entre el microbioma y el micobioma humano?

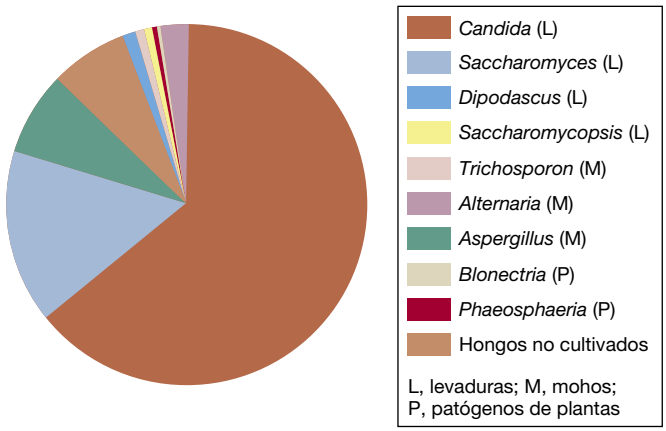


Figura 6.26 El micobioma del ratón. Los datos muestran la población de hongos en el intestino del ratón. El gráfico circular muestra que los hongos más comunes presentes son las levaduras. M, mohos; L, levaduras; P, patógenos de plantas. Datos adaptados de Iliev, I.D., *et al. Science 336:* 1314-1317 (2012).

IV • Evolución del genoma

Además de entender cómo funcionan los genes y cómo interaccionan los organismos con el ambiente, la genómica comparativa puede poner de manifiesto relaciones evolutivas entre los organismos. La reconstrucción de las relaciones evolutivas a partir de las secuencias genómicas ayuda a distinguir entre características primitivas y características derivadas, y puede resolver ambigüedades en los árboles filogenéticos basados en análisis de un solo gen, como el de la subunidad pequeña del rRNA (↻ Sección 12.4). La genómica también es un enlace para entender las formas de vida primitivas y, finalmente, puede responder a la más fundamental de todas las preguntas de la biología: ¿Cómo surgió la vida?

6.11 Familias génicas, duplicaciones y deleciones

Los genomas de procariotas y de eucariotas contienen con frecuencia múltiples copias de genes que están relacionados entre sí en cuanto a secuencia, porque comparten un ancestro evolutivo: estos genes reciben el nombre de **genes homólogos**. Los grupos de genes homólogos se llaman **familias génicas**. Como era de esperar, los genomas más grandes suelen contener más miembros individuales de una familia génica concreta.

Parálogos y ortólogos

La genómica comparativa ha demostrado que muchos genes surgieron por *duplicación* de otros genes. Estos homólogos se pueden subdividir según sus orígenes. Los genes cuya semejanza es el resultado de duplicación génica en algún momento de la evolución de un organismo se denominan **parálogos**. Los genes encontrados en un organismo que son similares a los genes de otro organismo porque tienen un antepasado común, se llaman **ortólogos** (Figura 6.27). Con frecuencia los ortólogos no son idénticos debido a la evolución divergente de los linajes después de la especiación. Un ejemplo de genes parálogos lo constituyen los genes que codifican diferentes variantes de la enzima lactato-deshidrogenasa (LDH) en humanos. Estas variantes, llamadas *isoenzimas*, son estructuralmente distintas, aunque todas ellas están muy relacionadas y catalizan la misma reacción enzimática. En cambio, la LDH correspondiente en la bacteria del ácido láctico *Lactobacillus* es ortóloga a todas las isoenzimas humanas de la LDH. Por tanto, las familias génicas contienen tanto parálogos como ortólogos.

Duplicación génica

La idea de que la duplicación génica es el mecanismo para la aparición de la mayoría de los genes nuevos está muy difundida. Si un segmento de DNA duplicado es lo suficientemente largo para incluir un gen completo o un grupo de genes, el organismo con la duplicación contendrá varias copias de esos genes concretos. Después de la duplicación, uno de los duplicados es libre para evolucionar mientras la otra copia sigue aportando a la célula la función original (Figura 6.28*a*). De este modo, la evolución puede «experimentar» con una copia del gen. Estos eventos de duplicación génica, seguidos de la diversificación de una copia, se consideran los acontecimientos principales que impulsan la evolución microbiana. Los análisis genómicos han puesto de manifiesto numerosos ejemplos de genes que codifican proteínas, claramente derivados de duplicaciones génicas. La Figura 6.28*b* muestra esto para la enzima RubisCO, una enzima clave del metabolismo autotrófico (↻ Sección 13.5). Aquí, un gen ancestral dio lugar a enzimas con actividades catalíticas diferentes pero relacionadas.

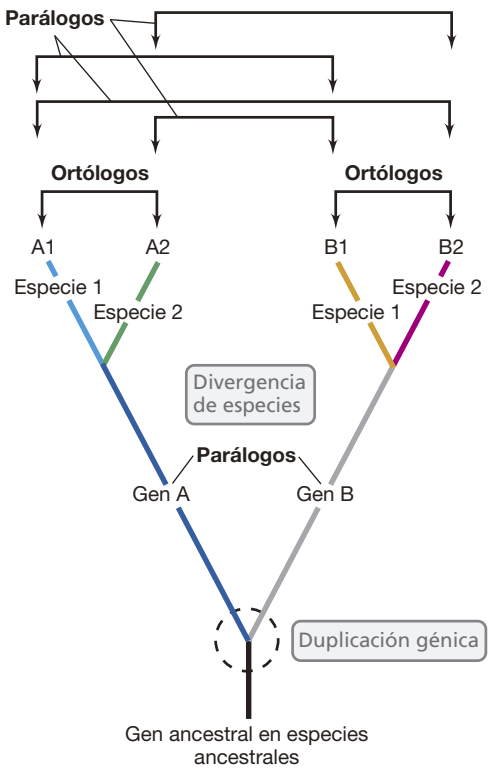


Figura 6.27 **Ortólogos y parálogos.** Este árbol filogenético muestra un gen ancestral que se duplicó y divergió en dos genes parálogos, A y B. Más tarde, las especies ancestrales divergieron en las especies 1 y 2, ambas con genes para A y B (designados respectivamente A1 y B1, y A2 y B2). Estos pares son parálogos. No obstante, como las especies 1 y 2 son ahora especies independientes, A1 es un ortólogo de A2 y B1 es un ortólogo de B2.

Las duplicaciones que se producen en el material genético pueden incluir solo un puñado de bases o incluso genomas enteros. Por ejemplo, la comparación de los genomas de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y de otros hongos sugiere que el ancestro de *Saccharomyces* duplicó su genoma completo. A ello le siguieron deleciones extensas que eliminaron mucho del material genético duplicado. El análisis del genoma de la planta modelo *Arabidopsis* sugiere que también hubo una o más duplicaciones del genoma completo en el ancestro de las plantas con flores.

¿Evolucionaron los genomas bacterianos por duplicación de genomas completos? La distribución de genes duplicados y familias génicas en los genomas de las bacterias sugiere que se produjeron muchas duplicaciones muy frecuentes pero relativamente pequeñas. Por ejemplo, la bacteria del suelo *Myxococcus* tiene un genoma de 9,1 Mbp, que es aproximadamente el doble que los genomas de otras especies próximas. Entre un grupo de bacterias gramnegativas conocidas como *Alfaproteobacterias*, el tamaño del genoma varía entre 1,1 y 1,5 Mbp para los miembros parásitos y 4 Mbp para la bacteria de vida libre *Caulobacter*, y hasta 7 a 9 Mbp para bacterias asociadas a plantas, como *Rhizobium* (Tabla 6.1). Sin embargo, en todos estos casos, los análisis de distribución génica apuntan a duplicaciones frecuentes a pequeña escala más que a duplicaciones del genoma completo. En cambio, en las bacterias parásitas, deleciones frecuentes sucesivas han eliminado genes que ya no eran necesarios para un estilo de vida parasitario, lo que las ha llevado a tener un genoma inusualmente pequeño (Sección 6.4, Tabla 6.1, y Figura 6.8 y 6.14).

Análisis génicos en diferentes dominios

La comparación de genes y familias génicas es un aspecto muy importante de la genómica comparativa. Dado que ya se han

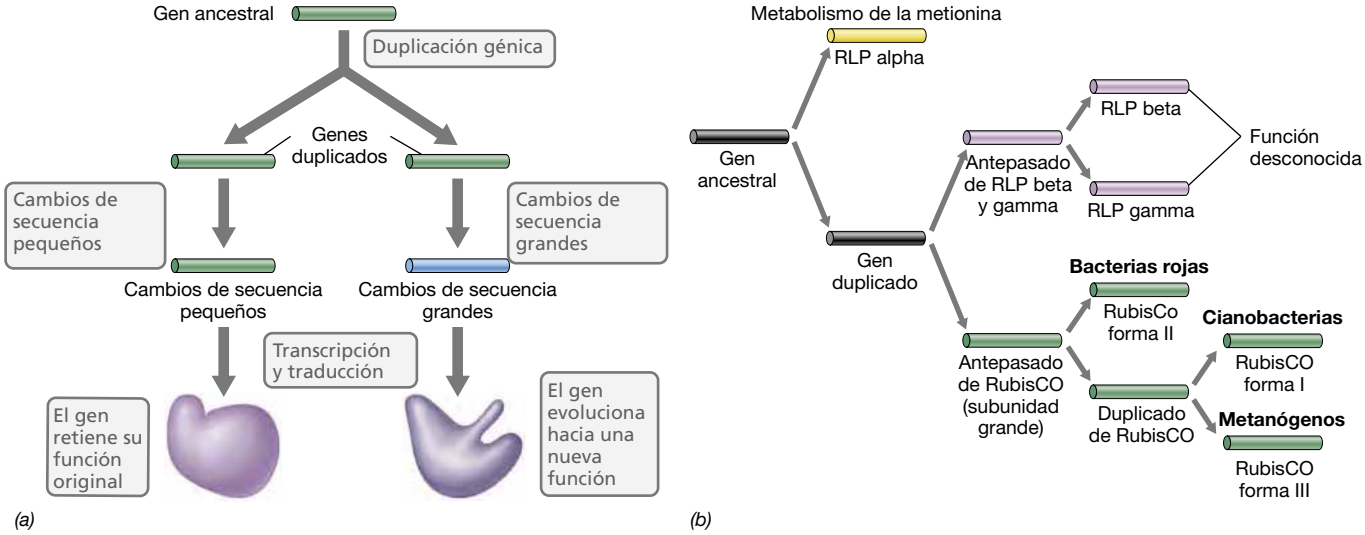


Figura 6.28 **Evolución por duplicación génica.** *(a)* El principio de la duplicación génica. Después de la duplicación, la copia «de recambio» de un gen es libre de evolucionar para dar una nueva función. *(b)* La familia de genes RubisCO (*rbcL*). La subunidad mayor de la enzima RubisCO que fija CO_2 durante la fotosíntesis, se ha dividido en tres formas muy relacionadas entre sí (I, II y III) que mantienen toda su función original (barras verdes). Sin embargo, la RubisCO deriva a su vez de un gen ancestral (barras negras) de función desconocida que se dividió para producir un gen que codifica una enzima del metabolismo de la metionina (barra amarilla) y varios genes cuyas funciones son aún desconocidas (barras moradas). RLP, proteína similar a RubisCO.

secuenciado los cromosomas de muchos microorganismos diferentes, esas comparaciones son fáciles de hacer, y los resultados son, a menudo, sorprendentes. Por ejemplo, los genes de *Archaea* que intervienen en la replicación, la transcripción y la traducción del DNA son más parecidos a los de *Eukarya* que a los de *Bacteria*. Sin embargo, contra todo pronóstico, otros muchos genes arqueanos, por ejemplo los que codifican funciones metabólicas diferentes del procesamiento de la información, son más parecidos a los de *Bacteria* que a los de *Eukarya*. Las herramientas analíticas de la bioinformática permiten deducir muy rápidamente relaciones genéticas entre organismos cualesquiera, a nivel de genes individuales, de grupos de genes o del genoma completo. Los resultados obtenidos hasta el momento no hacen sino confirmar el diseño filogenético de la vida deducido originalmente por comparación de secuencias de rRNA (↪ Sección 12.4), a la vez que sugieren que muchos genes en todos los organismos tienen raíces evolutivas comunes. No obstante, estos análisis también han revelado ejemplos de transferencia horizontal, un aspecto importante sobre el que vamos a centrar nuestra atención.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué son genes homólogos?
- ¿Qué es una familia génica?
- Compare genes parálogos con genes ortólogos

6.12 Transferencia horizontal de genes y estabilidad del genoma

La evolución está basada en la transferencia de rasgos genéticos de una generación a la siguiente. No obstante, entre los procariotas también se da la **transferencia horizontal de genes** (a veces denominada *transferencia lateral de genes*), y esto puede complicar el estudio de los genomas.

La transferencia horizontal de genes se produce cada vez que los genes son transferidos de una célula a otra de modo diferente al proceso habitual de herencia (vertical), en el que el genoma es transferido de una célula madre a una célula hija (**Figura 6.29**).

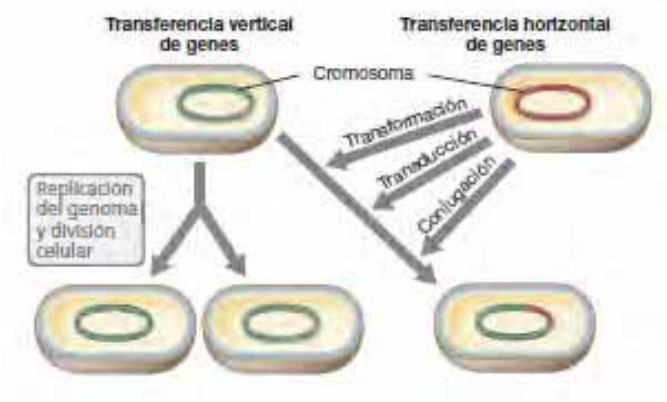


Figura 6.29 Transferencia genética vertical y horizontal. La transferencia vertical de genes ocurre cuando una célula se divide. La transferencia horizontal de genes ocurre cuando una célula donadora aporta genes suyos a una célula receptora. En los procariotas, la transferencia horizontal ocurre mediante uno de estos tres mecanismos: transformación, transducción y conjugación.

En los procariotas se conocen al menos tres mecanismos de transferencia horizontal de genes: *transformación*, *transducción* y *conjugación* (Capítulo 10). El flujo horizontal de genes puede estar muy extendido en la naturaleza y, en ocasiones, puede traspasar incluso las fronteras de dominios filogenéticos. No obstante, para ser detectable por genómica comparativa, la diferencia entre los organismos debe ser bastante grande. Por ejemplo, se han encontrado varios genes de origen eucariótico en *Chlamydia* y *Rickettsia*, dos patógenos humanos. En concreto, se han hallado dos genes que codifican proteínas similares a la histona H1 en el genoma de *Chlamydia trachomatis*, lo que sugiere su transferencia horizontal desde una fuente eucariótica, quizás incluso el hospedador humano. Obsérvese que es la situación contraria a la de la mitocondria, en la que los genes del ancestro de las mitocondrias fueron transferidos al núcleo eucariótico (Sección 6.5).

Detección del flujo horizontal de genes

Las transferencias horizontales de genes se pueden detectar en los genomas una vez que se han anotado los genes (Sección 6.3). La presencia de genes que codifican proteínas encontrados normalmente solo en especies con un parentesco muy lejano es una señal de que los genes se originaron por transferencia horizontal. Sin embargo, otro indicio de transferencia horizontal es la presencia de un fragmento de DNA cuyo contenido en guanina/citosina (GC) o cuya preferencia de codones difieran significativamente del resto del genoma (Figura 6.29). Con ayuda de estas pistas se han documentado muchos ejemplos de transferencia horizontal probable en los genomas de varios procariotas. Un ejemplo clásico es el que se da en el organismo *Thermotoga maritima*, una especie de *Bacteria* de la que se ha visto que contiene más de 400 genes (más del 20 % de su genoma) de origen arqueano. De estos genes, 81 se encontraron en grupos discretos, lo que sugiere que se obtuvieron por transferencia horizontal, probablemente de *Archaea* termófilas que comparten los ambientes calientes habitados por *Thermotoga*.

Los genes transferidos horizontalmente codifican normalmente funciones metabólicas diferentes de los procesos moleculares centrales de la replicación, la transcripción y la traducción del DNA y pudiera explicar la semejanza previamente mencionada entre los genes metabólicos de *Archaea* y *Bacteria* (Sección 6.4). Además, hay varios ejemplos de genes de virulencia de patógenos que han sido adquiridos por transferencia horizontal. Es evidente que, en la naturaleza, los procariotas están activamente intercambiando genes y este proceso funciona probablemente mejorando el genoma de un organismo para una situación o un hábitat concretos. No obstante, es necesario ser cautos al recurrir a la transferencia horizontal para explicar la distribución de genes en un organismo dado. Por ejemplo, cuando el genoma humano se secuenció por primera vez, se identificaron unos 200 genes como producto de la transferencia horizontal desde los procariotas. Sin embargo, cuando se dispuso de más genomas eucariotas para comparar, se encontraron homólogos de la mayoría de estos genes en muchos linajes eucarióticos. Por tanto, parece ser que la mayoría de estos genes, en realidad, tienen un origen eucariótico. Solo una docena de genes humanos se aceptan hoy en día como fuertes candidatos a tener un origen procariótico relativamente reciente. La expresión «relativamente reciente» se refiere aquí

a genes transferidos desde procariotas tras la separación de los principales linajes eucarióticos (↻ Sección 12.4), no a genes de posible origen procariótico que estén compartidos por todos los eucariotas en conjunto.

Evolución del genoma y elementos móviles

El término «DNA móvil» se refiere a los segmentos de DNA que se mueven de un sitio a otro en las moléculas de DNA hospedador (↻ Sección 10.11). La mayor parte del DNA móvil consiste en *elementos transponibles*, pero también son comunes las secuencias de inserción y los genomas víricos integrados. Todos estos elementos móviles desempeñan un papel importante en la evolución del genoma (**Figura 6.30**).

Los *transposones* son una forma común del DNA móvil y se pueden desplazar entre diferentes moléculas de DNA hospedador, como cromosomas, plásmidos y virus, por la actividad de una enzima llamada *transposasa* (↻ Sección 10.11). En su desplazamiento, pueden coger y transferir horizontalmente genes de unas características variadas, como la resistencia a antibióticos o la producción de toxinas. No obstante, los transposones también pueden mediar una serie de cambios cromosómicos a gran escala (Figura 6.30). Las bacterias que están experimentando cambios evolutivos rápidos a menudo contienen un gran número de elementos móviles, sobre todo secuencias de inserción, que son elementos transponibles sencillos cuyos genes solo codifican la transposición. La recombinación entre elementos idénticos genera reordenaciones cromosómicas como deleciones, inversiones o translocaciones, lo que proporciona una fuente de diversidad al genoma sobre la que puede actuar la selección natural. Así, las reordenaciones cromosómicas que se acumulan en las bacterias cuando crecen en condiciones de estrés suelen estar flanqueadas por repeticiones o secuencias de inserción.

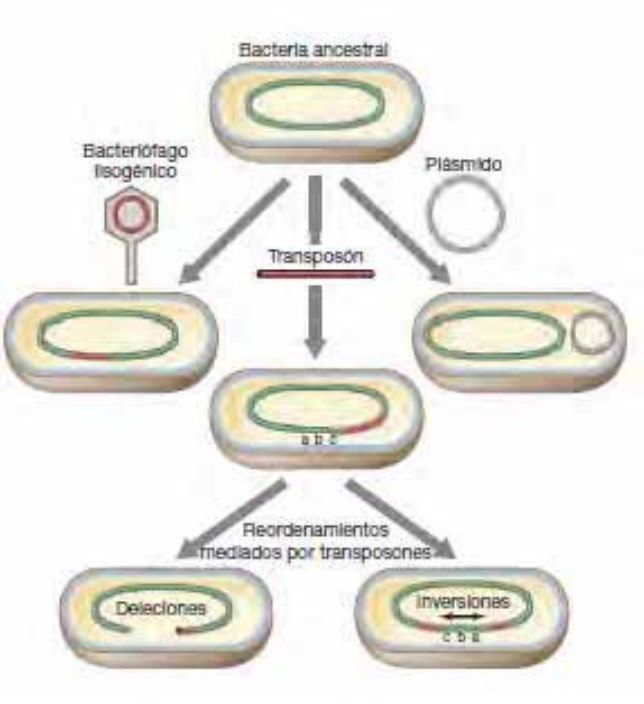


Figura 6.30 Los elementos móviles estimulan la evolución de los genomas. Diferentes elementos móviles se pueden desplazar de un organismo a otro, añadiendo así genes al genoma del receptor. Los más comunes de todos son los plásmidos, los bacteriófagos y los transposones. En el caso de los transposones, la actividad de la transposasa puede mediar reorganizaciones cromosómicas, tales como deleciones e inversiones de fragmentos de DNA cercanos al transposón.

En cambio, cuando una especie se establece en un nicho evolutivo estable, aparentemente la mayoría de los elementos móviles se pierden. Por ejemplo, los genomas de las especies de *Sulfolobus* (*Archaea*) tienen cantidades inusualmente altas de secuencias de inserción y muestran una alta frecuencia de translocación de genes. Por el contrario, *Pyrococcus* (*Archaea*) casi no tiene secuencias de inserción y un número proporcionalmente bajo de translocación de genes. Esto sugiere que, por alguna razón, quizás debido a fluctuaciones en las condiciones de su hábitat, el genoma de las especies de *Sulfolobus* es más dinámico que el de *Pyrococcus*, que es más estable.

Las reordenaciones cromosómicas debidas a las secuencias de inserción parece ser que han contribuido a la evolución de varios patógenos bacterianos. En *Bordetella*, *Yersinia* y *Shigella*, las especies más patógenas muestran una frecuencia mucho más alta de secuencias de inserción. Por ejemplo, *Bordetella bronchiseptica* tiene un genoma de 5,34 Mbp y ninguna secuencia de inserción conocida. Su pariente más patógeno, *Bordetella pertussis*, que causa la tosferina (↻ Sección 29.3), tiene un genoma más pequeño (4,1 Mbp) pero con más de 260 secuencias de inserción. La comparación de estos genomas sugiere que las secuencias de inserción son responsables de reordenaciones importantes del genoma, como las deleciones que reducen el tamaño del genoma de *B. pertussis*.

Las secuencias de inserción también tienen una función en el ensamblaje de módulos genéticos para generar nuevos plásmidos. Así, el 46 % del megaplásmido de virulencia de 220 kbp de *Shigella flexneri* consiste en secuencias de inserción de DNA. Además de las secuencias de inserción completas, en este plásmido hay muchos fragmentos que sugieren múltiples reordenaciones ancestrales.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué clases de genes son raramente transferidos horizontalmente? ¿Por qué?
- Enumere los mecanismos fundamentales causantes de la transferencia horizontal de genes en los procariotas.
- ¿Cómo podrían los transposones ser especialmente importantes en la evolución de las bacterias patógenas?

6.13 Genoma esencial y pangenoma

Uno de los conceptos más importantes que surgen de comparar las secuencias genómicas de varias cepas de una misma especie es la distinción entre el **pangenoma** y el **genoma esencial** (*core genome* en inglés). El genoma esencial es aquel compartido por todas las cepas de la especie, mientras que el pangenoma incluye el esencial más todos los complementos opcionales presentes en una o más cepas, pero no en todas las cepas de la especie (**Figura 6.31**). Como hemos visto, es posible la transferencia horizontal de genes de elementos genéticos enteros como plásmidos, virus y elementos transponibles. Como consecuencia, entre cepas de una misma especie bacteriana

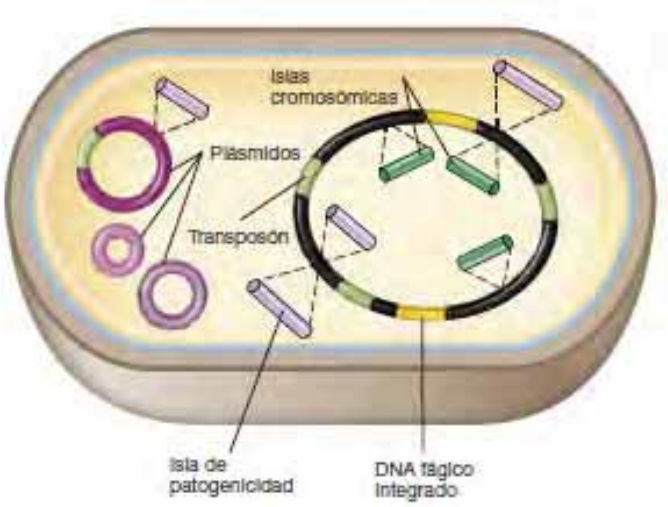


Figura 6.31 **Pangenoma y genoma esencial.** El genoma esencial está representado por las regiones de color negro del cromosoma, y está presente en todas las cepas de una especie. El pangenoma incluye elementos que están presentes en una o más cepas, pero no en todas. Cada cuña coloreada representa una sola inserción. Cuando dos cuñas salen del mismo sitio del cromosoma, representan islas alternativas que se pueden insertar en ese punto. No obstante, solo una inserción puede estar presente en una ubicación determinada. Los plásmidos, como el cromosoma, pueden tener inserciones que no estén presentes en todas las cepas.

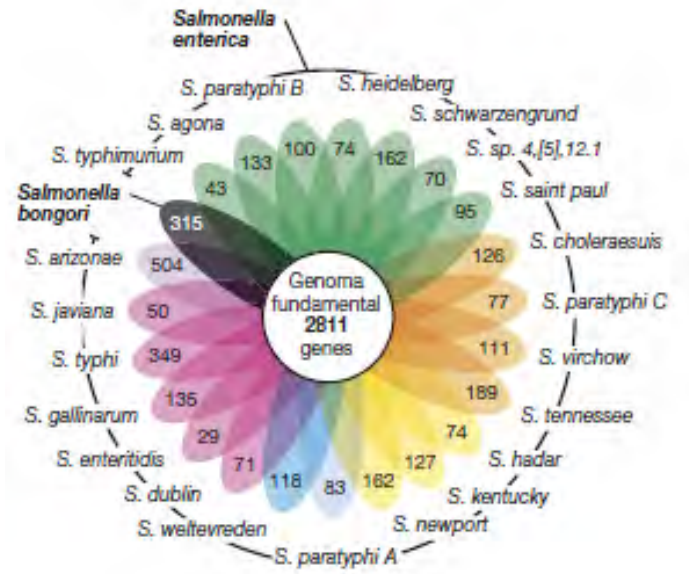


Figura 6.32 **Pangenoma de *Salmonella enterica*.** Diagrama en forma de flor de las familias génicas en los serovares (cepas) de la bacteria patógena gramnegativa *Salmonella enterica* (los nombres alrededor de la flor son serovares [S.] diferentes desde el punto de vista inmunológico de *S. enterica*). La figura muestra el promedio de familias génicas encontradas en cada genoma como exclusivas de cada serovar. *Salmonella bongori* es una especie distinta de *S. enterica.* El serovar 4,[5],12.1 ha sido identificado recientemente y aun no tienen nombre. Datos de Jacobsen, A., R.S. Hendriksen, F.M. Aaresturp, D.W. Ussery, and C. Friis. 2011. The *Salmonella enterica* pan-genome. *Microb Ecol 62:* 487-504.

puede haber grandes diferencias en la cantidad total de DNA y el conjunto de capacidades accesorias (virulencia, simbiosis o biodegradación). En otras palabras, se podría decir que el genoma esencial es típico de la especie en conjunto mientras que los otros componentes del pangenoma, con frecuencia también elementos móviles, son exclusivos de cepas concretas dentro de la especie.

Es complicado definir el tamaño del pangenoma precisamente porque va aumentando a medida que se van secuenciando los genomas de más cepas de la especie. En algunos casos, como en las bacterias entéricas *Escherichia coli* y *Salmonella enterica*, se han encontrado muchas cepas diferentes con una gran variedad de plásmidos, transposones, y otros elementos diferentes. Por tanto, el pangenoma es extremadamente grande. La **Figura 6.32** muestra el pangenoma de varios serotipos (o *serovars*) del patógeno humano *Salmonella enterica* representados en un diagrama en forma de flor.

Islas cromosómicas

La comparación de los genomas esenciales y los pangenomas de bacterias concretas o de los genomas de especies determinadas con sus parientes cercanos, pone de manifiesto bloques adicionales de material genético que son parte del cromosoma y que no son ni plásmidos ni virus integrados. Estos bloques, conocidos como **islas cromosómicas**, contienen grupos de genes con funciones especializadas que no son necesarias para la simple supervivencia (Figura 6.31). Por tanto, dos cepas de la misma especie bacteriana pueden tener diferencias significativas en el tamaño de sus genomas.

No es de extrañar que las islas cromosómicas de las bacterias patógenas hayan suscitado el máximo interés. Por otro lado, se sabe que hay islas cromosómicas que contienen genes para la biodegradación de contaminantes como hidrocarburos aromáticos y herbicidas. Además, muchos de los genes esenciales para la relación simbiótica de *Rhizobium* con las plantas en los nódulos radicales (↻ Sección 22.3) están en islas cromosómicas. Quizás la isla cromosómica más exclusiva sea la isla del magnetosoma de las bacteria *Magnetospirillum*; este fragmento de DNA contiene los genes necesarios para la formación de magnetosomas, partículas magnéticas intracelulares utilizadas para orientar al organismo en un campo magnético e influir en la dirección de su motilidad (↻ Sección 2.14).

Varias observaciones hacen suponer un origen «foráneo» para las islas cromosómicas. En primer lugar, estas regiones extra suelen estar flanqueadas por repeticiones invertidas, lo que significa que la región entera se insertó en el cromosoma por transposición (Sección 6.12) en algún período del pasado evolutivo reciente. En segundo lugar, la composición de bases y el uso de codones (Tabla 6.3) de las islas cromosómicas a menudo son muy diferentes de los del propio genoma. En tercer lugar, las islas cromosómicas se encuentran con frecuencia en algunas cepas de una especie concreta, pero no en otras.

Algunas islas cromosómicas contienen un gen para una integrasa, y se cree que se mueven de forma análoga a los transposones conjugativos (Sección 6.12). Las islas cromosómicas se insertan normalmente en genes para tRNA; no obstante, como el sitio diana se duplica por la inserción, se regenera un gen de tRNA durante el proceso de inserción. En algunos casos se ha demostrado experimentalmente la transferencia de una isla

cromosómica entera entre bacterias relacionadas; la transferencia puede darse por cualquiera de los mecanismos de transferencia horizontal: transformación, transducción y conjugación (Figura 6.29). Se piensa que tras la inserción en el genoma de una nueva célula hospedadora, las islas cromosómicas van acumulando mutaciones de forma gradual, de modo que después de muchas generaciones las islas cromosómicas suelen perder su capacidad para desplazarse.

Islas de patogenicidad y evolución de la virulencia

La comparación de los genomas de las bacterias patógenas con los de sus parientes cercanos inocuos revela a menudo la existencia de islas cromosómicas que codifican *factores de virulencia*, proteínas especiales u otras moléculas o estructuras que ayudan a desencadenar la enfermedad (Capítulo 23). Algunos genes de virulencia se encuentran en plásmidos o en bacteriófagos lisogénicos (↬ Secciones 8.8 y 10.7). No obstante, muchos otros están agrupados en regiones cromosómicas llamadas **islas de patogenicidad** (Figuras 6.31 y 6.33).

Las islas de patogenicidad son las islas cromosómicas mejor estudiadas. A pesar que se consideran como una subclase de las islas cromosómicas, islas genéticamente relacionadas que comparten genes homólogos para la integración y la conjugación pueden tener genes de virulencia en algunas bacterias mientras que en otras llevan genes para la biodegradación. Por ejemplo, la identidad y ubicación en el cromosoma de la mayoría de los genes de las cepas patógenas de *Escherichia coli* corresponden a los de la cepa de laboratorio inocua *E. coli* K-12, como cabría esperar. Sin embargo, la mayoría de las cepas patógenas contienen islas de patogenicidad de tamaño considerable que no se encuentran en el cromosoma de *E. coli* K-12 (**Figura 6.33**). En consecuencia, dos cepas de la misma especie bacteriana pueden mostrar diferencias significativas en el tamaño de su genoma debido a la presencia o ausencia de la isla. Así, como se puede ver en la Tabla 6.1, la cepa enterohemorrágica *E. coli* O157:H7 contiene un 20 % más de DNA y genes de la cepa *E. coli* K-12.

En determinadas cepas de la bacteria patógena grampositiva *Staphylococcus aureus* se encuentran pequeñas islas de patogenicidad que codifican una serie de factores de virulencia, y que pueden ser desplazadas a otras células por bacteriófagos atemperados (↬ Sección 10.7). Las islas son menores que el genoma del fago y cuando se escinden del cromosoma y se replican, inducen la formación de partículas fágicas defectivas que portan los genes de las islas pero que son demasiado pequeñas para contener el genoma del fago. De este modo las cepas de *S. aureus* que no tienen islas pueden obtenerlas rápidamente y convertirse en patógenos más efectivos.

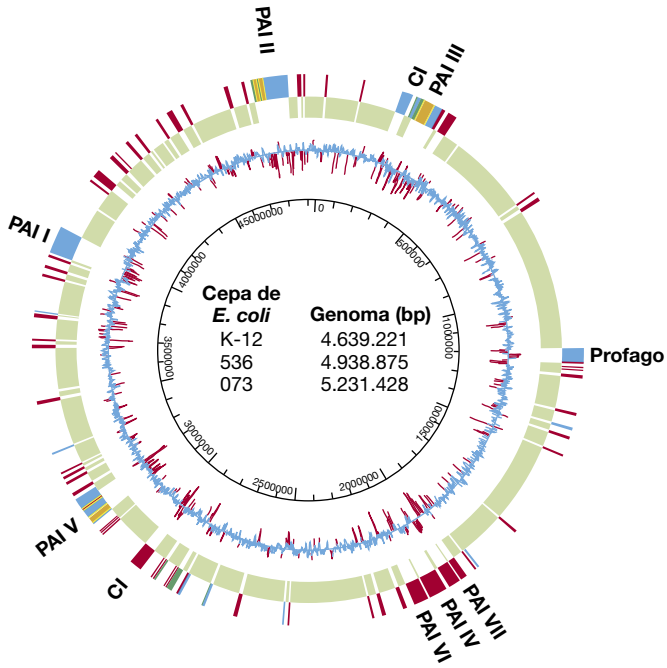


Figura 6.33 Islas de patogenicidad en *Escherichia coli*. Mapa genético de la cepa *E. coli* 536, un patógeno del aparato urinario, comparado con una segunda cepa patógena (073) y la cepa no patógena K-12. Las cepas patógenas contienen islas de patogenicidad, de modo que sus cromosomas son más largos que el de K-12. En el círculo interior se muestran los pares de bases de nucleótidos. En el círculo irregular se indica la distribución del contenido GC del DNA; las regiones donde el contenido en GC varía bruscamente respecto a la media del genoma, aparecen en rojo. En el círculo exterior se comparan los tres genomas: en verde, los genes comunes a las tres cepas; en rojo, los genes presentes solo en las cepas patógenas; en azul, los genes presentes únicamente en la cepa 536; en naranja, los genes de la cepa 536 presentes en una ubicación distinta que en la cepa 073. Algunos insertos muy pequeños se han eliminado para mayor claridad. PAI, isla de patogenicida; CI, isla cromosómica. Profago, DNA de un bacteriófago atemperado. Obsérvese la correlación entre las islas genómicas y la variación en el contenido en GC. Datos adaptados de *Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103:* 12879-12884 (2006).

MINIRREVISIÓN

- ¿Cuál es la diferencia entre el genoma esencial y el pangenoma?
- ¿Qué es una isla cromosómica y cómo se puede identificar que tienen un origen «foráneo»?
- ¿Qué es una isla de patogenicidad y cómo se mueven entre las especies bacterianas?

IDEAS PRINCIPALES

6.1 • Los virus pequeños fueron los primeros organismos cuyos genomas se secuenciaron, pero en la actualidad hay muchos genomas celulares de procariotas y eucariotas secuenciados.

6.2 • La tecnología de secuenciación del DNA avanza muy rápidamente. El método original de Sanger se usa cada vez menos y hoy en día existen cuatro generaciones sucesivas de tecnología de secuenciación. Los adelantos en la tecnología han aumentado significativamente la velocidad de secuenciación del DNA. Las técnicas al azar usan la clonación aleatoria y la secuenciación de fragmentos pequeños del genoma seguido del ensamblado, que es generado en un ordenador.

6.3 • El análisis informático de los datos de secuenciación es una parte vital de la genómica. Se usan herramientas informáticas para almacenar y analizar las secuencias y las estructuras de macromoléculas biológicas.

6.4 • Los genomas procariotas secuenciados tienen tamaños que van desde 0,15 Mbp hasta 13 Mbp. Los genomas procarióticos más pequeños son menores que los de los virus más grandes, mientras que los genomas más grandes tienen más genes que algunos eucariotas. El contenido de genes en los procariotas es casi siempre proporcional al tamaño del genoma. Muchos genes pueden ser identificados por la semejanza de sus secuencias con genes encontrados en otros organismos. Sin embargo, se desconoce la función de una proporción significativa de los genes secuenciados.

6.5 • Prácticamente todas las células eucariotas tienen mitocondrias y, además, las células de las plantas tienen cloroplastos. Ambos orgánulos contienen genomas de DNA circular que codifican rRNA, tRNA y algunas proteínas necesarias para el metabolismo energético. A pesar de que los genomas de los orgánulos son independientes del genoma nuclear, los propios orgánulos no lo son. Muchos genes del núcleo codifican proteínas necesarias para la función del orgánulo.

6.6 • Se ha determinado la secuencia genómica completa de muchos eucariotas microbianos. El genoma de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* codifica unas 6.000 proteínas, de las cuales solo 900 parecen ser esenciales. Relativamente pocos genes que codifican proteínas en la levadura contienen intrones. El número de genes en los eucariotas microbianos va desde 2.000 (menos que muchos procariotas) hasta 60.000 (más del doble que los humanos).

6.7 • Las micromatrices consisten en genes o fragmentos de genes unidos a un soporte sólido según un patrón conocido. Muestras de mRNA se hibridan con el DNA de la matriz para determinar el patrón de expresión génica. Estas matrices con suficientemente grandes como para analizar el patrón de transcripción del genoma completo (el transcriptoma) que se analiza. El método RNA-Seq necesita de la secuenciación masiva de cDNA para análisis transcriptómicos y de tecnologías de secuenciación de tercera o cuarta generación.

6.8 • La proteómica es el análisis de todas las proteínas presentes en un organismo. El principal objetivo de la proteómica es comprender la estructura, función y regulación de todas estas proteínas. El interactoma es el conjunto total de interacciones entre macromoléculas dentro de la célula.

6.9 • El metaboloma es el conjunto completo de intermediarios metabólicos producidos por un organismo. La biología de sistemas usa datos de la genómica, la transcriptómica, y otras ómicas para construir modelos informáticos de las actividades moleculares e interacciones en la célula.

6.10 • La mayoría de los microorganismos en el ambiente nunca han sido cultivados. Sin embargo, el análisis de muestras de DNA ha puesto de manifiesto una diversidad de secuencias enorme en muchos hábitats. El concepto de metagenómica abarca el contenido genético total de todos los organismos en un hábitat concreto.

6.11 • La genómica puede ser utilizada para estudiar la historia evolutiva de un organismo. Los organismos contienen familias de genes, que son genes con secuencias relacionadas. Si estos genes relacionados han surgido por duplicación génica, se dice que son parálogos. Si han surgido por especiación, se llaman ortólogos.

6.12 • Los organismos pueden adquirir genes de otros organismos en su ambiente por transferencia génica horizontal, que pueden cruzar incluso barreras de dominios filogenéticos. Los elementos móviles de DNA, como los transposones e integrones y los virus, son importantes en la evolución del genoma y suelen portar genes que codifican factores de virulencia o resistencia a antibióticos.

6.13 • La comparación de los genomas de muchas cepas de la misma especie bacteriana muestra un componente conservado (el genoma esencial) además de muchos módulos genéticos variables solo presentes en algunos miembros de la especie (el pangenoma). Muchas bacterias contienen insertos relativamente grandes de origen foráneo conocido como islas cromosómicas. Estos insertos contienen grupos de genes que codifican funciones metabólicas especializadas o factores de virulencia y patogénesis (islas de patogenicidad).

MasteringMicrobiology®

Revise lo que sabe y descubra lo que ha aprendido con MasteringMicrobiology. Acceda a material de estudio, revisiones de los capítulos, animaciones y tutoriales de microbiología práctica en el Área de Estudio y asegúrese de que ha asimilado todo el contenido de este capítulo.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Biblioteca genómica: colección de fragmentos clonados de DNA que comprenden un genoma completo.
Bioinformática: uso de herramientas informáticas para adquirir, analizar, almacenar y acceder a las secuencias de DNA y de proteínas.
Biología de sistemas: integración de los datos de la genómica y otras «ómicas» para construir una visión general de un sistema biológico.
Cebador: oligonucleótido al que la DNA polimerasa une el primer desoxirribonucleótido durante la síntesis del DNA.
Chip génico: pequeño soporte en estado sólido al que se fijan genes o porciones de genes y se disponen espacialmente siguiendo un patrón conocido (también llamado chip de DNA o micromatriz).
Familia génica: genes cuyas secuencias están relacionadas entre sí como consecuencia de un origen evolutivo común.
Genoma: complemento total de información genética de una célula o un virus.
Genoma esencial: parte del genoma compartida por todas las cepas de una especie.
Genómica: disciplina que mapea, secuencia, analiza y compara genomas.
Hibridación: unión por apareamiento de bases complementarias de dos moléculas de ácidos nucleicos de cadena sencilla para formar una molécula híbrida de cadena doble de DNA o de DNA-RNA.
Homólogos: genes relacionados en cuanto a su secuencia en un grado que indica la presencia de un antepasado genético común; incluye los ortólogos y los parálogos.
Interactoma: conjunto total de interacciones entre proteínas (o otras macromoléculas) en un organismo.
Isla cromosómica: región del cromosoma bacteriano de origen foráneo que contiene genes agrupados para alguna propiedad adicional como la virulencia o la simbiosis.
Isla de patogenicidad: región del cromosoma bacteriano de origen foráneo que contiene genes para virulencia agrupados.
Marco abierto de lectura (ORF): secuencia de DNA o RNA que puede ser traducida en un polipéptido.
Metaboloma: conjunto total de pequeñas moléculas e intermediarios metabólicos de una célula o de un organismo.
Metagenoma: conjunto genético total de todas las células presentes en un ambiente concreto.
Metagenómica: análisis genómico del conjunto de DNA o RNA recogido de una muestra ambiental que contiene organismos no aislados previamente. Lo mismo que la genómica ambiental.
Micromatriz: pequeño soporte sólido al que se fijan genes o porciones de genes y se disponen espacialmente siguiendo un patrón conocido (también llamado chip génico).
Ortólogo: gen de un organismo que es similar a un gen de otro organismo porque descienden de un antepasado común (véase también *parálogo*).
Pangenoma: la totalidad de los genes presentes en las diferentes cepas de una especie.
Parálogo: gen cuya semejanza con uno o más genes del mismo organismo es el resultado de la duplicación génica (véase también *ortólogo*).
Preferencia codónica: proporción relativa de los diferentes codones que codifican un mismo aminoácido; esto varía en organismos diferentes. Igual que el uso de codones.
Proteoma: conjunto total de proteínas codificadas por un genoma, o conjunto total de proteínas de un organismo.
Proteómica: estudio a escala genómica de la estructura, función y regulación de las proteínas de un organismo.
Secuenciación: deducción del orden de los nucleótidos en una molécula de DNA o RNA por una serie de reacciones químicas.
Secuenciación al azar: secuenciación del DNA a partir de fragmentos pequeños del genoma clonados de manera aleatoria. Este proceso es seguido por métodos informáticos para reconstruir la secuencia genómica completa.
Sonda de ácido nucleico: cadena de ácido nucleico marcada que puede utilizarse para hibridarla con una molécula complementaria en una mezcla de ácidos nucleicos.
Transcriptoma: complemento de todo el mRNA producido por un organismo en unas condiciones específicas.
Transferencia horizontal de genes: transferencia de información genética entre organismos por oposición a la herencia vertical a partir de los organismos progenitores.

PREGUNTAS DE REPASO

1. ¿Por qué los didesoxirribonucleótidos funcionan como terminadores de cadena? (Sección 6.1)
2. De un ejemplo de sistemas de secuenciación de primera, segunda y tercera generación. (Sección 6.2)
3. ¿Qué características se utilizan para identificar los marcos abiertos de lectura usando datos de secuencias? (Sección 6.3)
4. ¿Qué relación hay entre el tamaño del genoma y el contenido de los marcos abiertos de lectura en los procariotas? (Sección 6.4)
5. ¿Qué clases de genes, como proporción del genoma total, predominan en los organismos de genoma pequeño, y cuáles en los organismos de genoma grande? (Sección 6.4)

6. ¿Qué genomas son más grandes, los de los cloroplastos o los de las mitocondrias? Describa alguna característica inusual del genoma de cada uno de estos orgánulos. (Sección 6.5)
7. Compare el genoma humano con el de la levadura en cuanto a tamaño total y número de genes. (Sección 6.6)
8. ¿Qué diferencia hay entre los términos genoma, proteoma, y transcriptoma? (Secciones 6.7 y 6.8)
9. ¿Qué nos muestra una electroforesis bidimensional (2D) de proteínas? ¿Cómo se pueden establecer una correlación entre estos resultados y la función de las proteínas? (Sección 6.8)
10. ¿Por qué la investigación del metaboloma va a la zaga de los estudios proteómicos? (Sección 6.9)
11. ¿Cuál es el objetivo de la biología de sistemas? (Sección 6.9)
12. ¿Cómo puede medirse la expresión génica en bacterias no cultivables? (Sección 6.10)
13. La mayor parte de la información genética de nuestro planeta no pertenece a organismos celulares. ¿Por qué? (Sección 6.10)
14. ¿Cuál es la mayor diferencia en cuanto a la contribución de las duplicaciones a la evolución entre los genomas procariotas y los eucariotas? (Sección 6.11)
15. Explique cómo se puede detectar en un genoma la transferencia horizontal de genes. (Sección 6.12)
16. Explique cómo los elementos transponibles contribuyen a la evolución del genoma de las bacterias. (Sección 6.12)
17. Explique cómo las islas cromosómicas pueden desplazarse entre diferentes bacterias hospedadoras. (Sección 6.13)
18. ¿Qué son las islas de patogenicidad y por qué son importantes? (Sección 6.13)

EJERCICIOS PRÁCTICOS

1. Además del tamaño del genoma, ¿qué factores hacen que el ensamblado completo de un genoma eucariota sea más complejo que ensamblar un genoma procariota?
2. Describa cómo se podría determinar qué proteínas de *Escherichia coli* se reprimen cuando un cultivo se traslada de un medio mínimo (que contiene solo una fuente de carbono) a un medio rico con gran cantidad de aminoácidos, bases y vitaminas. Describa cómo se podría estudiar qué genes se expresan en cada una de estas condiciones de crecimiento.
3. El gen que codifica la subunidad beta de la RNA polimerasa de *Escherichia coli* se considera ortólogo del gen *rpoB* de *Bacillus subtilis*. ¿Qué nos dice esto sobre la relación entre los dos genes? ¿Qué proteína se supone que codifica el gen *rpoB* de *B. subtilis*? Los genes de los diferentes factores sigma de *E. coli* son parálogos. ¿Qué significa esto en cuanto a la relación entre esos genes?

CAPÍTULO

7 · Regulación metabólica

microbiología **actual**

¿Luminiscencia o letalidad?

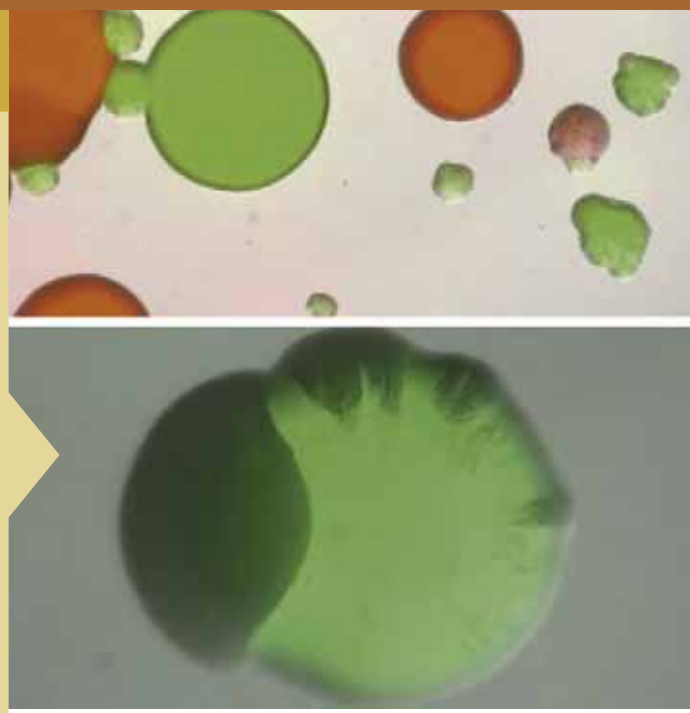
Todas las células humanas contienen la misma información genética, pero ¿qué hace a una célula cerebral diferente de una célula del hígado? Esta diferenciación celular es controlada por el modo elegante con que la célula hace uso de su genoma, lo que se conoce normalmente como *regulación de la expresión génica*. Aunque la diferenciación celular se asocia principalmente a los organismos multicelulares, algunos procariotas también pueden alterar su morfología o cambiar de formas benignas a patógenas por cambios en su expresión génica.

Photorhabdus luminescens, una bacteria bioluminiscente que coloniza el intestino de un gusano, pone de manifiesto un ejemplo sorprendente de este cambio en la patogenia. Aunque se podría suponer que la colonización por *Photorhabdus* sería perjudicial para el gusano, la relación entre estos dos organismos es sorprendentemente beneficiosa. En la etapa no patogénica, la bacteria reside en el intestino del gusano sin causarle daño. Cuando el gusano se prepara para reproducirse, este entra en un insecto hospedador y regurgita sus bacterias intestinales. Mediante cambios en la expresión génica, algunas células de *Photorhabdus* cambian al modo patógeno y secretan primero toxinas insecticidas que matan al insecto hospedador y después enzimas que disuelven su cuerpo, liberándose así nutrientes tanto para el gusano como para la bacteria.

Mediante el uso de genes reporteros fluorescentes, los microbiólogos han podido visualizar este elegante cambio fenotípico en un cultivos axénico de *Photorhabdus*[1]. Las células que están en el modo de vida de colonización beneficiosa suelen formar colonias más pequeñas (foto superior, verde), mientras las colonias de células patógenas, que contienen las toxinas insecticidas, son más grandes (rojo). Los investigadores también han demostrado que ambos fenotipos pueden coexistir dentro de una misma colonia aislada. Esto se muestra como un sector negro dentro de la colonia grande verde en la foto inferior.

La investigación con *Photorhabdus* ilustra claramente cómo un cambio sencillo en la expresión de los genes puede provocar un cambio significativo en el fenotipo de una bacteria, modificando su estilo de vida de forma espectacular.

[1] Somvanshi, V.S., *et al.* 2012. A single promoter inversion switches *Photorhabdus* between pathogenic and mutualistic states. *Science 337*: 88-92.



I Generalidades de la regulación 226

II Proteínas de unión al DNA y regulación de la transcripción 227

III Percepción y transducción de señales 235

IV Regulación del desarrollo en bacterias modelo 243

V Regulación basada en el RNA 247

VI Regulación de enzimas y otras proteínas 251

Para orquestar eficientemente la gran cantidad de reacciones que se dan en una célula y para aprovechar al máximo los recursos disponibles, las células deben *regular* el tipo, la cantidad y la actividad de las proteínas y otras macromoléculas que produce. La regulación ocurre a todos los niveles moleculares en una célula. Después de la transcripción del DNA a RNA, la información es traducida para producir proteínas específicas. En conjunto, estos procesos reciben el nombre de **expresión génica**. Una vez que se han traducido las proteínas, se pueden usar otros mecanismos adicionales para regular su actividad. Este capítulo se centrará en los sistemas que controlan la expresión génica y la actividad de las proteínas.

I • Generalidades de la regulación

Algunas proteínas y moléculas de RNA son necesarias en la célula en aproximadamente las mismas cantidades en cualquier condición de cultivo. La expresión de estas moléculas se dice que es *constitutiva*. No obstante, es más frecuente que una determinada molécula de proteína o RNA sea necesaria en determinadas condiciones pero no en otras. Por ejemplo, las enzimas necesarias para el catabolismo de la lactosa son útiles para la célula solo si la célula tiene lactosa a su disposición. Los genomas microbianos codifican muchas más proteínas de las que hay realmente presentes en la célula en cualquier condición particular de cultivo (Capítulo 6). Por tanto, la regulación es un proceso fundamental en todas las células y un mecanismo que ayuda a la conservación de la energía y los recursos.

Las células regulan la función de las proteínas de dos maneras diferentes. Una es mediante el control de la *actividad* de enzimas preexistentes u otras proteínas, y la segunda mediante el control de la *cantidad* de una enzima u otra proteína. La actividad de una proteína se puede regular solo después de haber sido sintetizada (es decir, a nivel postraduccional). La regulación de la actividad enzimática es normalmente un proceso rápido (se produce en segundos o menos), mientras que la síntesis enzimática es relativamente lenta (lleva algunos minutos). Cuando empieza la síntesis de una nueva enzima, pasará algún tiempo hasta que esté presente en la célula en la cantidad suficiente para afectar al metabolismo. Alternativamente, cuando se detiene la síntesis de una enzima, puede transcurrir un tiempo considerable antes de que la enzima existente esté suficientemente diluida para dejar de afectar al metabolismo. Sin embargo, trabajando conjuntamente, la regulación de la actividad enzimática y la de la síntesis enzimática se controla de modo eficiente el metabolismo de la célula.

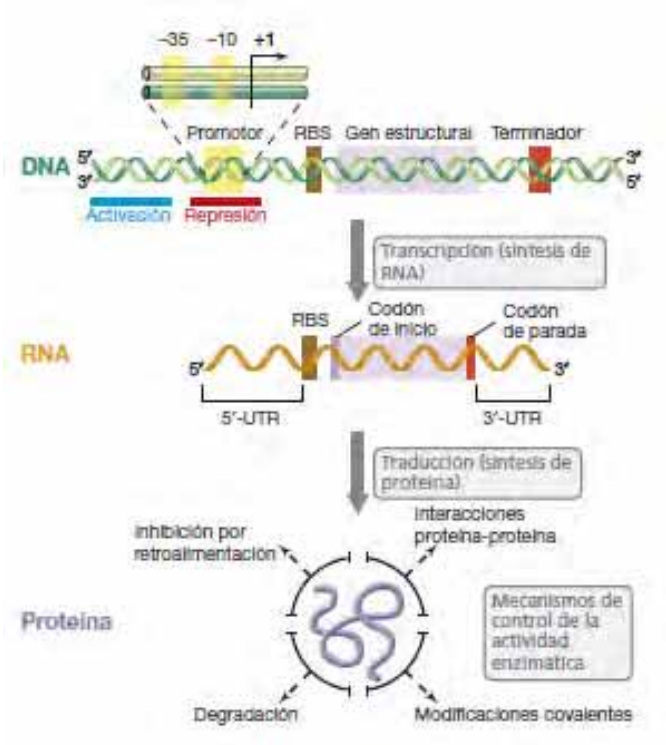


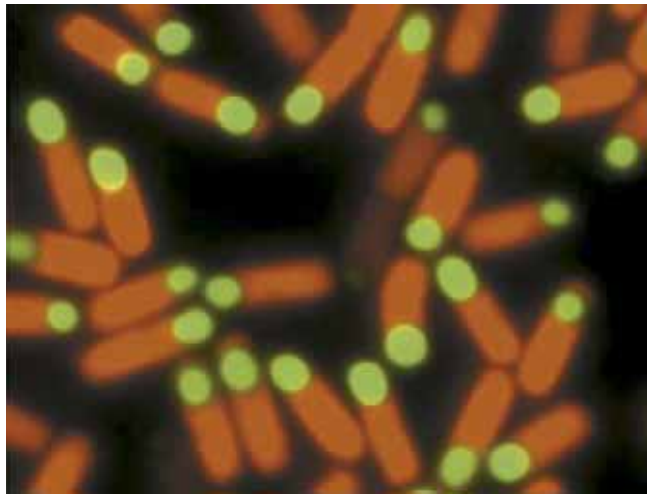
Figura 7.1 Expresión génica y regulación de la actividad de las proteínas. Se indican el promotor, el terminador, y las regiones que intervienen en la activación y represión de la transcripción. La región 5′ no traducida (5′-UTR) es una región pequeña entre el inicio de la transcripción y el inicio de la traducción, mientras que la región 3′ no traducida (3′-UTR) es una región pequeña entre el codón de parada y el terminador transcripcional. Estas son las regiones donde la regulación transcripcional ocurre con más frecuencia. Los mecanismos que regulan la actividad de las proteínas se muestran en la parte inferior.

7.1 Principales tipos de regulación

La mayoría de los genes bacterianos se transcriben en RNA mensajero (mRNA), el cual es a su vez traducido en una proteína, como se vio en el Capítulo 4. Los componentes de un gen típico y los puntos dentro del flujo de la información genética donde se puede controlar la cantidad del producto específico de ese gen (RNA o proteína) y su actividad correspondiente se muestran resumidos en la Figura 7.1. La cantidad de proteína sintetizada puede ser regulada tanto a nivel de la transcripción, modificando la cantidad de moléculas sintetizadas de mRNA, como a nivel de la traducción, traduciendo o no traduciendo el mRNA. El gen estructural codifica el producto génico y su expresión es controlada por secuencias que están hacia la región del extremo 5′ del gen (↻ Sección 4.7). Obsérvese que las secuencias que determinan el inicio y el fin de la transcripción son distintas de aquellas que determinan el inicio y el final de la traducción. Estas están separadas por unas pequeñas regiones espaciadoras, las regiones no traducidas 5′ y 3′ o 5′-UTR y 3′-UTR (del inglés *un*translated *r*egions). Después de la traducción, otros procesos reguladores pueden regular la actividad de algunas proteínas. Algunos de esos procesos son la inhibición por retroalimentación, las modificaciones covalentes, la degradación o interacciones con otras proteínas.

Para monitorizar los niveles de expresión génica de proteínas específicas, se pueden emplear *genes reporteros* (↻ Sección 11.6). Los genes reporteros codifican un producto proteínico que es fácil de detectar y analizar y que además puede fusionarse a otros genes o elementos reguladores para monitorizar la expresión génica.

La **proteína fluorescente verde** (**GFP**, del inglés *green fluorescente protein*), que emite fluorescencia verde brillante cuando es expuesta a una longitud de onda de la luz específica, se usa normalmente para estudiar la expresión génica. Si el marco abierto de lectura para GFP se une directamente a una región reguladora o se fusiona al final del gen que interesa, se puede establecer una correlación entre el nivel de fluorescencia y el nivel de expresión del gen. La **Figura 7.2** ilustra el uso de la GFP y sus derivados para monitorizar la expresión de factores sigma alternativos necesarios para la esporulación en *Bacillus* (Sección 7.11). El uso de proteínas fluorescentes unidas al promotor de dos factores sigma distintos permite determinar la localización celular de cada factor sigma. La expresión de σF, marcada con fluorescencia verde, se localiza al final de la célula donde se desarrollan las endósporas. La expresión de σE, que es necesaria para la transcripción génica en la célula madre, puede verse mediante fluorescencia roja por todo el resto de la célula (Figura 7.2).



T. Doan, R. Losick, and D. Rudner

Figura 7.2 Expresión génica en *Bacillus* durante la esporulación usando la proteína fluorescente verde (GFP). Durante la formación de la endóspora, los factores sigma alternativos se localizan en regiones específicas de la célula (Sección 7.11). El factor σF unido a GFP indica la expresión y actividad de la proteína en las endósporas en desarrollo (en un extremo de cada célula). El factor σE unido a una proteína reportera que emite fluorescencia roja indica la expresión y actividad de la proteína por toda le célula madre antes de la formación de la endóspora. Las regiones se corresponden con el modelo descrito en la Figura 7.25*b*.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué etapas de la síntesis de proteínas pueden estar sujetas a regulación?
- ¿Qué es probablemente mucho más rápido, la regulación de la actividad o la regulación de la síntesis? ¿Por qué?
- ¿Qué mecanismos pueden usarse para regular la actividad de algunas proteínas?

II • Proteínas de unión al DNA y regulación de la transcripción

Como hemos dicho, la cantidad de una proteína concreta presente en una célula se puede controlar a nivel transcripcional, a nivel traduccional o, en ocasiones, por degradación de la proteína. Nuestro análisis comienza con el control a nivel transcripcional, ya que es el principal medio de regulación en procariotas.

7.2 Proteínas de unión al DNA

Para que un gen sea transcrito, la RNA-polimerasa debe reconocer un promotor específico en el DNA y comenzar su actividad (↻ Sección 4.7). A menudo, en la regulación de la transcripción intervienen moléculas pequeñas. No obstante, rara vez actúan de manera directa, sino que influyen normalmente en la unión de determinadas proteínas, llamadas *proteínas reguladoras*, a sitios específicos del DNA. La presencia de estas proteínas regula la expresión génica alternando la puesta en marcha o la suspensión de la transcripción.

Interacción de las proteínas con los ácidos nucleicos

Las interacciones entre proteínas y ácidos nucleicos son fundamentales para la replicación, la transcripción y la traducción, así como para la regulación de estos procesos. Las interacciones proteína-ácido nucleico pueden ser inespecíficas o específicas, según si la proteína se une al ácido nucleico en cualquier lugar a lo largo de la molécula o si lo hace en un sitio específico. La mayoría de las proteínas de unión al DNA interaccionan con el DNA de manera específica a una secuencia. La especificidad la proporcionan las interacciones entre las cadenas laterales específicas de aminoácidos de las proteínas y grupos químicos específicos de las bases nitrogenadas y el esqueleto azúcar-fosfato del DNA. A causa de su tamaño, el *surco mayor* del DNA es el sitio principal de unión de las proteínas. En la Figura 4.2 se identifican los átomos de las bases del surco mayor que se sabe que interaccionan con proteínas. Para conseguir una alta especificidad, la proteína de unión debe interaccionar simultáneamente con varios nucleótidos.

Anteriormente hemos descrito una estructura del DNA llamada *repetición invertida* (↻ Figura 4.23*a*). Estas repeticiones invertidas son, frecuentemente, las secuencias a las que las proteínas reguladoras se unen al DNA de manera específica (**Figura 7.3**). Obsérvese que esta interacción no implica la formación de estructuras tallo-bucle en el DNA. Las proteínas de unión al DNA son típicamente homodiméricas, lo que significa que están compuestas por dos subunidades de polipéptidos idénticos, que subdivididos a su vez en **dominios** —regiones de la proteína con una estructura y función específicas. Cada subunidad tiene un dominio que interacciona específicamente con una región del DNA en el surco mayor. Cuando los dímeros proteínicos interaccionan con repeticiones invertidas en el DNA, cada uno de los polipéptidos se une a una de las repeticiones invertidas. De este modo, el dímero como un todo se une a las dos cadenas del DNA (Figura 7.3).

Estructura de las proteínas de unión al DNA

Las proteínas de unión al DNA de los procariotas y de los eucariotas tienen varias clases de dominios proteínicos que son fundamentales para la unión correcta al DNA. Uno de los

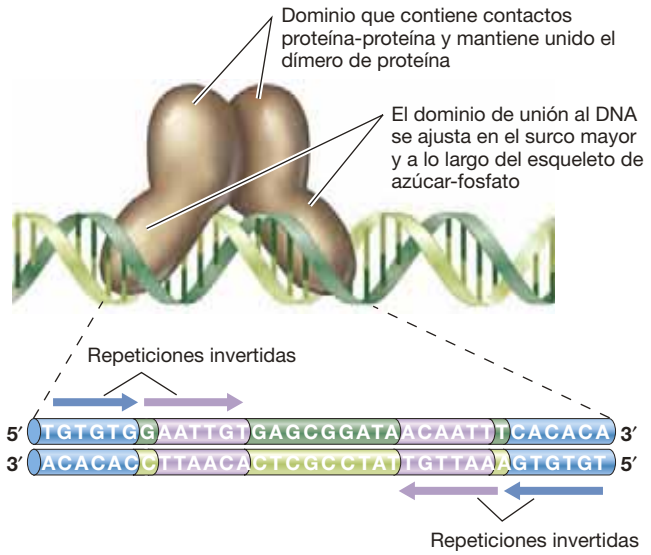


Figura 7.3 **Proteínas de unión al DNA.** Muchas de proteínas de unión al DNA son dímeros que se combinan de manera específica con dos sitios en el DNA. Las secuencias específicas de DNA que interaccionan con la proteína son repeticiones invertidas. Se muestra la secuencia de nucleótidos del gen operador del operón lactosa (Sección 7.3), con las repeticiones invertidas, que son los sitios del DNA a los que se une el represor *lac*, en azul y lila.

dominios más comunes es el motivo estructural *hélice-giro-hélice* (**Figura 7.4*a***). Dicho dominio consiste en dos segmentos de cadena polipeptídica con una estructura secundaria en hélice α conectadas entre sí por una secuencia corta que forma el «giro». La primera hélice es la *hélice de reconocimiento*, que interacciona específicamente con el DNA. La segunda hélice es la *hélice estabilizadora*, y estabiliza la primera hélice interaccionando de manera hidrófoba con ella. El giro que une las dos hélices está formado por tres aminoácidos, el primero de los cuales es normalmente una glicina. Las secuencias son reconocidas por interacciones no covalentes que incluyen puentes de hidrógeno e interacciones de van der Waals, entre la hélice de reconocimiento de la proteína y grupos químicos específicos en la secuencia de pares de bases del DNA.

Muchas proteínas bacterianas diferentes de unión al DNA contienen la estructura hélice-giro-hélice. Entre ellas se incluyen muchas proteínas represoras, como los represores *lac* y *trp* de *Escherichia coli* (Sección 7.3 y véase la Figura 7.4) y algunas proteínas de bacteriófagos, como el represor del fago lambda (Figura 7.4*b*). En realidad, en *E. coli* se conocen unas 250 proteínas diferentes con este motivo que se unen al DNA para regular la transcripción. Hay otros dos tipos de dominios proteicos habituales en las proteínas de unión al DNA. Uno de ellos, el *dedo de zinc*, se encuentra frecuentemente en las proteínas reguladoras de los eucariotas, y como su nombre indica, se une a un ion zinc. El otro dominio proteico encontrado normalmente en las proteínas de unión al DNA es la *cremallera de leucina*, que contiene residuos de leucina espaciados regularmente y que funcionan manteniendo dos hélices de reconocimiento en la orientación correcta para que se unan al DNA.

Cuando una proteína se une a un sitio específico del DNA, son posibles varios resultados. En algunos casos, la proteína de

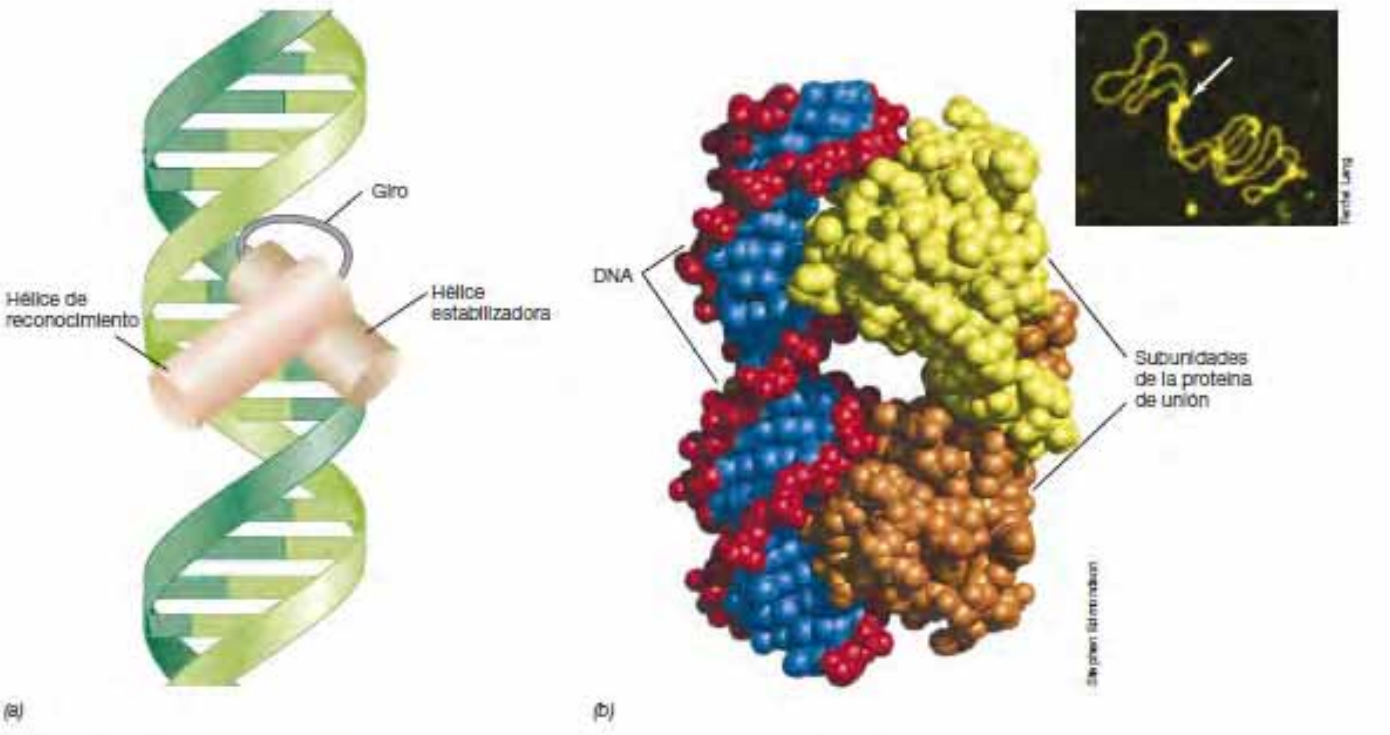


Figura 7.4 **Estructura hélice-giro-hélice de algunas proteínas de unión al DNA.** *(a)* Modelo sencillo de la estructura hélice-giro-hélice en una subunidad individual de proteína. *(b)* Modelo informático de las dos subunidades del represor del bacteriófago lambda unidas a su operador. El DNA es rojo y azul. Una subunidad del represor dimérico se muestra de color marrón oscuro y la otra de color amarillo. Cada subunidad contiene una estructura hélice-giro-hélice. Las coordenadas utilizadas para generar esta imagen proceden del Protein Data Base (http://www.pdb.org). Recuadro: microscopía de fuerza atómica que muestra varias copias de la proteína represora LacI (flecha) unida a varias regiones operadoras de una molécula de DNA.

unión al DNA es una enzima que cataliza una reacción específica en el DNA, como la transcripción. En otros casos, sin embargo, la unión puede bloquear la transcripción (*regulación negativa*, Sección 7.3) o activarla (*regulación positiva*, Sección 7.4).

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué es un dominio proteico?
- ¿Por qué la mayoría de las proteínas de unión al DNA son específicas a ciertos grupos químicos dentro del DNA?

7.3 Control negativo de la transcripción: represión e inducción

La transcripción es el primer paso del flujo de la información biológica; por ello, es relativamente fácil influir en la expresión génica en este punto. Si un gen se transcribe con más frecuencia que otro, habrá más de su mRNA disponible para la traducción y, por tanto, más cantidad del producto proteínico en la célula. Para empezar describiremos la represión y la inducción, formas sencillas de regulación que dirigen la expresión génica a nivel de la transcripción. En esta sección nos ocuparemos del **control negativo** de la transcripción, un mecanismo regulador que *impide* la transcripción.

Represión e inducción enzimáticas

A menudo, las enzimas que catalizan la síntesis de un producto específico no se sintetizan si el producto está presente en el medio en cantidad suficiente. Por ejemplo, en *Escherichia coli* y muchas otras bacterias, las enzimas necesarias para sintetizar el aminoácido arginina solo se producen cuando la arginina está ausente del medio de cultivo; un exceso de arginina reprime la síntesis de estas enzimas. Este proceso recibe el nombre de **represión** enzimática.

Como se puede ver en la Figura 7.5, si se añade arginina a un cultivo que está creciendo exponencialmente en un medio que carece de arginina, el crecimiento continúa a la misma velocidad, pero la producción de las enzimas necesarias para la síntesis de arginina se detiene. Obsérvese que se trata de un efecto *específico*, ya que la síntesis del resto de enzimas de la célula continúa a la velocidad anterior. Esto es debido a que las enzimas afectadas por un acto de represión concreto solo suponen una pequeña cantidad del complemento total de proteínas de la célula. La represión enzimática está muy extendida entre las bacterias como medio para controlar la síntesis de las enzimas necesarias para la biosíntesis de aminoácidos y de los purinas y pirimidinas precursoras de los nucleótidos. En la mayoría de los casos, el producto final de una ruta biosintética determinada reprime las enzimas de dicha ruta. Esto asegura que el organismo no malgasta energía y nutrientes sintetizando enzimas innecesarias.

La **inducción** enzimática es conceptualmente opuesta a la represión enzimática. En la inducción, una enzima es sintetizada solo cuando su sustrato está *presente*. La represión enzimática afecta normalmente a las enzimas biosintéticas

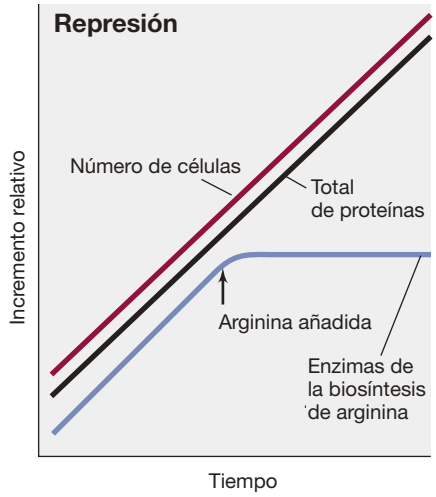


Figura 7.5 Represión enzimática. En un cultivo bacteriano, la adición de arginina al medio reprime específicamente la producción de las enzimas necesarias para sintetizar arginina. La síntesis neta de proteínas no se ve afectada.

(anabólicas); en cambio, la inducción suele afectar a las enzimas degradadoras (catabólicas). Consideremos, por ejemplo, el uso del azúcar lactosa como fuente de carbono y de energía por parte de *Escherichia coli*, para lo cual las enzimas están codificadas por el operón *lac* (↻ Sección 4.3). En la Figura 7.6 se muestra la inducción de β-galactosidasa, la enzima que escinde la lactosa en glucosa y galactosa. Esta enzima es necesaria para que *E. coli* pueda crecer en un medio con lactosa. Si el medio no contiene lactosa, no se sintetiza la enzima, pero su síntesis empieza casi inmediatamente tras la adición de lactosa. Los tres genes del operón *lac* codifican tres proteínas, entre las que se incluye la β-galactosidasa, que son inducidas simultáneamente cuando se añade lactosa. Este tipo de mecanismo de control garantiza la síntesis de enzimas específicas únicamente cuando son necesarias.

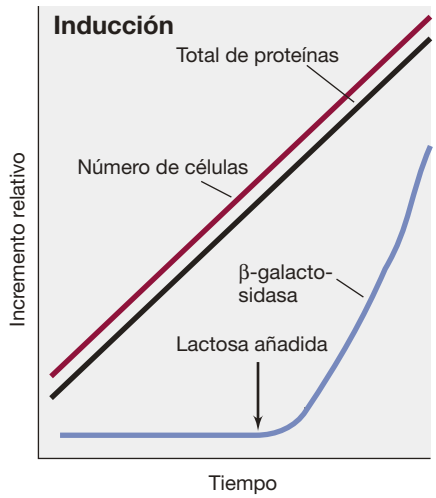


Figura 7.6 Inducción enzimática. En un cultivo bacteriano, la adición de lactosa al medio induce específicamente la síntesis de la enzima β-galactosidasa. La síntesis neta de proteína no se ve afectada.

Inductores y correpresores

La sustancia que induce la síntesis enzimática se llama *inductor* y la sustancia que reprime dicha síntesis recibe el nombre de *correpresor*. Estas sustancias, que normalmente son moléculas pequeñas, tienen el nombre genérico de *efectores*. Curiosamente, no todos los inductores y correpresores son verdaderos sustratos o productos finales de las enzimas implicadas. Así, los análogos estructurales pueden inducir o reprimir una enzima a pesar de no ser sustratos de esta. El isopropil-tiogalactósido (IPTG), por ejemplo, es un inductor de la β-galactosidasa a pesar de que no puede ser hidrolizado por ella. No obstante, en la naturaleza los inductores y los correpresores es probable que sean metabolitos normales de las células. Estudios detallados sobre la utilización de la lactosa en *E. coli* han demostrado que el verdadero inductor de la β-galactosidasa no es la lactosa, sino su isómero alolactosa, que es sintetizado a partir de la lactosa.

Mecanismo de represión e inducción

¿Cómo pueden los inductores y los correpresores afectar a la transcripción de un modo tan específico? Lo hacen de manera indirecta uniéndose a proteínas específicas de unión al DNA que, a su vez, afectan a la transcripción. Como ejemplo de una enzima reprimible consideraremos el operon de la arginina (Figura 7.5). La **Figura 7.7*a*** muestra la transcripción de los genes de arginina, que ocurre cuando la célula necesita arginina. Sin embargo, cuando la arginina está en abundancia, actúa como correpresor. Como muestra la Figura 7.7*b*, la arginina se une a una **proteína represora** específica, el *represor de arginina*, que está presente en la célula. La proteína represora es una proteína **alostérica**, es decir, que su conformación se altera cuando la molécula efectora se une a ella (Sección 7.17).

Al unirse a su efector, la proteína represora se *activa* y puede unirse a una región específica del DNA cercana al promotor del gen, el *operador*. Esta región es la que dio lugar al término **operón** para describir una agrupación de genes consecutivos, cuya expresión está controlada por un solo operador (↻ Sección 4.3). Todos los genes de un operón se transcriben en una sola unidad que genera un único mRNA (↻ Sección 4.8). El operador está situado después del promotor donde empieza la síntesis del mRNA (Figura 7.7). Si el represor se une al operador, la transcripción se bloquea físicamente porque la RNA-polimerasa no puede ni unirse ni trabajar. De este modo, los polipéptidos codificados por los genes del operón no pueden ser sintetizados. Si el mRNA es policistrónico (↻ Sección 4.8), todos los polipéptidos codificados por este mRNA estarán reprimidos.

La inducción enzimática también puede estar controlada por un represor. En este caso, la proteína represora está *activa* en ausencia del inductor y bloquea completamente la transcripción. Cuando se añade el inductor, este se combina con la proteína represora y la inactiva; la inhibición se supera y la transcripción puede llevarse a cabo (**Figura 7.8**).

Todos los sistemas reguladores que utilizan represores tienen el mismo mecanismo subyacente: la inhibición de la síntesis de mRNA mediante la actividad de proteínas represoras específicas que están a su vez controladas por pequeñas moléculas efectoras. Y, como se ha indicado anteriormente, debido a que la función del represor es parar la transcripción, la regulación por represores recibe el nombre de *control negativo*. Un elemento a aclarar es que los genes no son activados y desactivados completamente como se encienden y apagan los interruptores de la electricidad. Las proteínas de unión al DNA varían en concentración y afinidad y por tanto el control es cuantitativo. Incluso cuando un gen es completamente reprimido, frecuentemente hay un pequeñísimo nivel de expresión basal.

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué el control negativo es llamado así?
- ¿Cómo un represor inhibe la síntesis de un mRNA específico?

7.4 Control positivo: activación

El control negativo recae en una proteína (la proteína represora) que lleva a cabo la represión de la síntesis de mRNA. Por

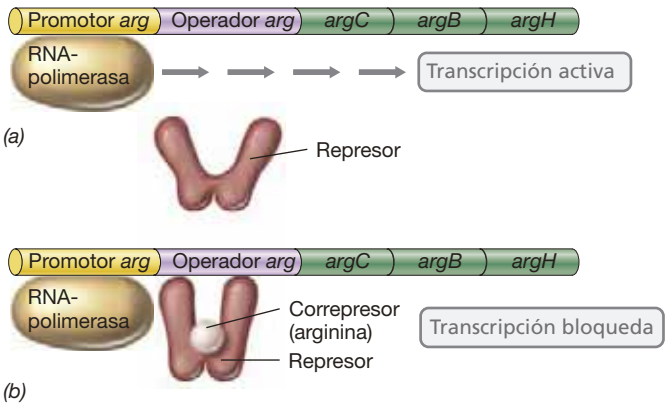


Figura 7.7 Represión enzimática en el operón arginina. *(a)* El operón se transcribe porque el represor es incapaz de unirse al operador. *(b)* Cuando el correpresor (una molécula pequeña) se une al represor, este se une al operador y bloquea la transcripción; el mRNA y las proteínas que codifica no se sintetizan. Para el operón *argCBH*, el aminoácido arginina es el correpresor que se une al represor de arginina.

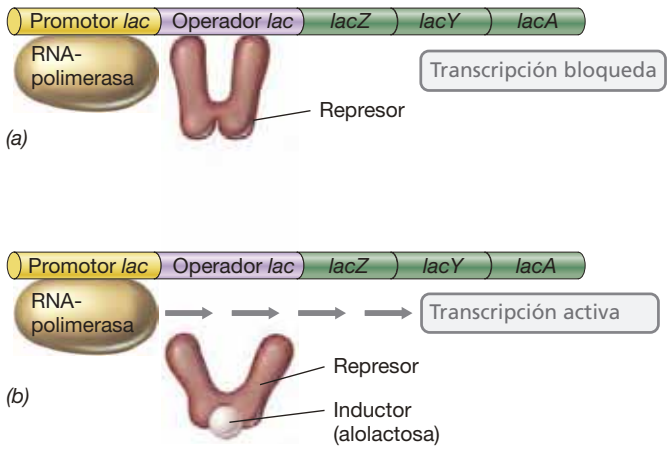


Figura 7.8 Inducción enzimática en el operón lactosa. *(a)* Una proteína represora se une a la región del operador y bloquea la unión de la RNA-polimerasa. *(b)* Una molécula inductora se une al represor y lo inactiva de manera que ya no pueda unirse al operador. Entonces la RNA-polimerasa transcribe el DNA y sintetiza un mRNA a partir del operón. Para el operón *lac*, el azúcar alolactosa es el inductor que se une al represor de lactosa.

otra parte, en el **control positivo** de la transcripción la proteína reguladora es un *activador* que activa la unión de la RNA-polimerasa al DNA. Un buen ejemplo de regulación positiva es el catabolismo del disacárido maltosa en *Escherichia coli*.

Catabolismo de la maltosa en *Escherichia coli*

Las enzimas del catabolismo de la maltosa en *E. coli* se sintetizan solo tras la adición de maltosa al medio. Así, la expresión de estas enzimas sigue el patrón descrito para la *β*-galactosidasa en la Figura 7.6, excepto en que la enzima necesaria para inducir la expresión génica es la maltosa en lugar de la lactosa. No obstante, la síntesis de las enzimas para la degradación de la maltosa no está sometida a control negativo como el operón *lac*, sino a control positivo; la transcripción necesita la unión de una **proteína activadora** al DNA.

La proteína activadora de maltosa no puede unirse al DNA a menos que primero se una a la maltosa, que es el inductor. Cuando la proteína activadora de maltosa se une al DNA, permite que la RNA-polimerasa empiece la transcripción (**Figura 7.9**). Al igual que las proteínas represoras, las proteínas activadoras se unen de manera específica solo a determinados grupos químicos del DNA. No obstante, la región del DNA donde se encuentra el centro del activador no recibe el nombre de operador (Figuras 7.7 y 7.8), sino el de *centro de unión del activador* (Figura 7.9). Sin embargo, los genes controlados por este centro de unión del activador siguen llamándose operón.

Unión de proteínas activadoras

Los promotores de los operones regulados positivamente poseen secuencias nucleotídicas que se unen débilmente a la RNA-polimerasa y guardan poca semejanza con la secuencia consenso (↻ Sección 4.7). Así, incluso con el factor sigma (σ) adecuado, la RNA-polimerasa tiene dificultad para unirse a estos promotores. La función de la proteína activadora es ayudar a que la

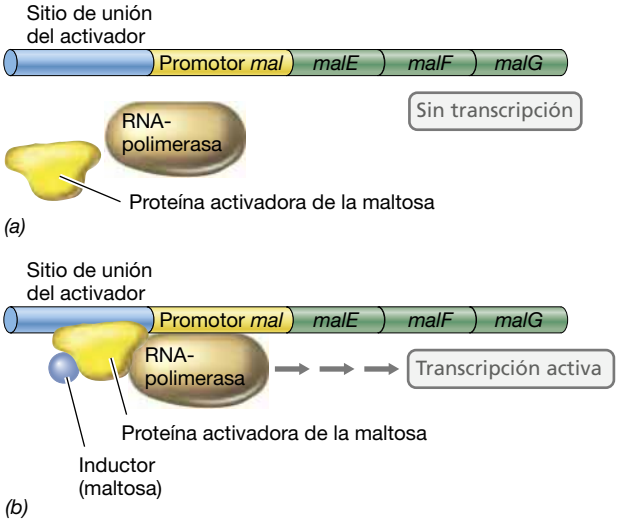


Figura 7.9 Control positivo de la inducción enzimática en el operón maltosa. *(a)* En ausencia de inductor, ni la proteína activadora ni la RNA-polimerasa pueden unirse al DNA. *(b)* Una molécula inductora (para el operón *malEFG* es el azúcar maltosa) se une a la proteína activadora (MalT) que, a su vez, se une al centro de unión del activador. Esto permite la incorporación de RNA-polimerasa que se une al promotor y empieza la transcripción.

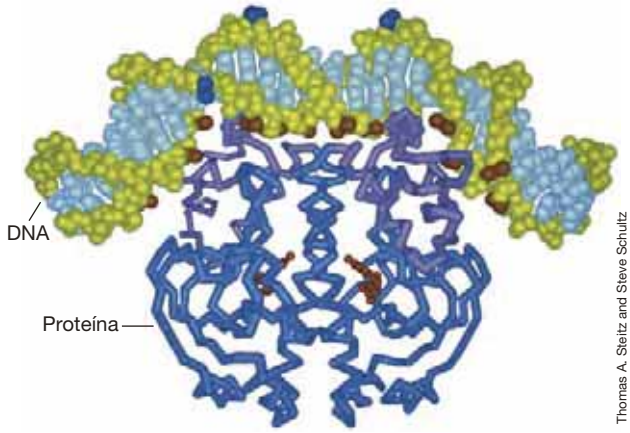


Figura 7.10 Modelo informático de la interacción de una proteína reguladora positiva con el DNA. Este modelo muestra la proteína receptora de AMP cíclico (CRP), una proteína reguladora que participa en el control de varios operones. El esqueleto de carbonos α de esta proteína se muestra en azul y lila. La proteína se une a una doble hélice de DNA (verde y azul claro). Obsérvese que la unión de la proteína CRP al DNA ha doblado el DNA.

RNA-polimerasa reconozca el promotor y empiece la transcripción. Por ejemplo, la proteína activadora puede provocar un cambio en la estructura del DNA doblándolo (**Figura 7.10**), lo que permite que la RNA-polimerasa establezca los contactos necesarios con los nucleótidos de la región del promotor y empiece la transcripción. O bien, la proteína activadora puede interaccionar directamente con la RNA-polimerasa. Esto puede ocurrir cuando el sitio de unión del activador está cerca del promotor (**Figura 7.11*a***) o cuando está a unos cientos pares de bases de distancia de este, situación en la que es necesaria la formación de un bucle en el DNA para establecer los contactos necesarios entre la proteína y el ácido nucleico (Figura 7.11*b*).

Muchos genes de *E. coli* tienen promotores sometidos a control positivo y muchos otros a control negativo. Además,

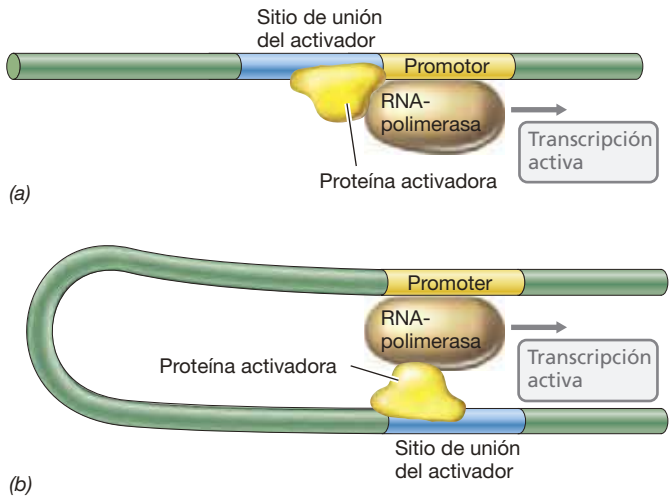


Figura 7.11 Interacciones de la proteína activadora con la RNA-polimerasa. *(a)* El centro de unión del activador está cerca del promotor. *(b)* El centro de unión del activador está a unos cientos de pares de bases del promotor. En este caso, el DNA debe formar un bucle para permitir que el activador y la RNA-polimerasa entren en contacto.

muchos operones tienen un promotor con múltiples tipos de control y otros tienen más de un promotor, cada uno con su propio sistema de control. Por tanto, el esquema sencillo que hemos descrito anteriormente no es típico de todos los operones. El control múltiple es habitual en los operones de prácticamente todos los procariotas, de modo que su regulación global puede necesitar de una red de interacciones.

Operones y regulones comparados

En *E. coli*, los genes necesarios para la utilización de la maltosa están esparcidos por todo el cromosoma en varios operones, cada uno de ellos con un centro de unión del activador al que se puede unir una copia de proteína activadora de maltosa (Figura 7.12). Por tanto, la proteína activadora de maltosa controla en realidad la transcripción de más de un operón. Cuando hay más de un operón controlado por una sola proteína reguladora, estos operones reciben colectivamente el nombre de **regulón**. Así, las enzimas para la utilización de la maltosa están codificadas por el regulón de la maltosa.

También se conocen regulones de operones sometidos a control negativo. Por ejemplo, las enzimas de la biosíntesis de arginina (Sección 7.3) están codificadas por el regulón de la arginina, cuyos operones están controlados por la proteína represora de arginina (en la Figura 7.7 solo se muestra uno de los operones de la arginina). En el control del regulón, una proteína específica de unión al DNA solo se une a los operones que esta proteína controla, independientemente de que funcione como activador o como represor; los otros operones no se ven afectados.

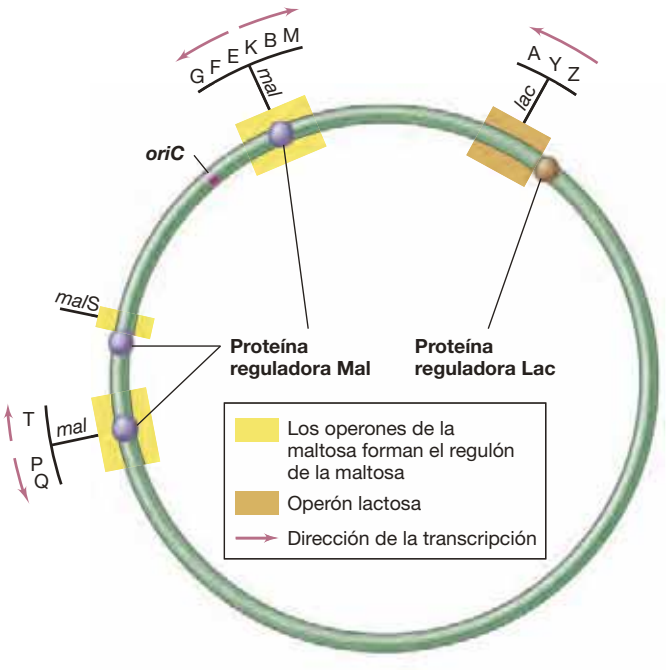


Figura 7.12 Regulón de la maltosa en *Escherichia coli*. Los genes y operones necesarios para la utilización de maltosa (*mal*) están dispersos por el genoma de *E. coli* y son regulados por la misma proteína reguladora de maltosa. Obsérvese que el represor Lac se une solamente al operón *lac*, el cual está localizado solo en una posición del cromosoma, mientras que el represor Mal se une a varios operones (regulón *mal*).

MINIRREVISIÓN

- Compare y contraste las actividades de una proteína activadora y de una proteína represora.
- ¿Qué diferencia existe entre un operón y un regulón?

7.5 El control global y el operón *lac*

Un organismo, en respuesta a un cambio en su ambiente, necesita regular con frecuencia y simultáneamente muchos genes no relacionados entre sí. Los mecanismos reguladores que responden a señales ambientales regulando la expresión de muchos genes diferentes son conocidos como *sistemas de control global*. Tanto el operón lactosa como el regulón de la maltosa responden a controles globales además de a sus propios controles, como ya vimos en las Secciones 7.3 y 7.4. Comenzaremos a estudiar la regulación global mediante un repaso del operón *lac* y viendo cómo responden las células cuando se enfrentan a más de un tipo de azúcar.

Represión por catabolito

No habíamos tenido aún en cuenta la posibilidad de que las bacterias pudieran encontrarse con varias posibles fuentes diferentes de carbono. Por ejemplo, *Escherichia coli* puede utilizar muchos azúcares diferentes. Cuando se encuentran con varios azúcares, incluida la glucosa, ¿las células de *E. coli* los utilizan simultáneamente o solo uno cada vez? La respuesta es que la *glucosa siempre se utiliza en primer lugar*. Sería un derroche inducir a las enzimas a usar otros azúcares si la glucosa está disponible, porque *E. coli* crece más rápidamente con glucosa que con cualquier otra fuente de carbono. La **represión por catabolito** es un mecanismo de control global, que controla el uso de las fuentes de carbono si hay presente más de un azúcar.

Cuando las células de *E. coli* se cultivan en un medio que contiene glucosa, la síntesis de enzimas necesarias para utilizar otras fuentes de carbono es reprimida, incluso si estas otras fuentes de carbono están presentes. Por tanto, la presencia de una fuente de carbono preferida reprime la inducción de rutas que catabolizan otras fuentes de carbono. La represión por catabolito también se conoce como «efecto glucosa», porque la glucosa fue la primera sustancia que se descubrió que causaba esta respuesta. No obstante, la represión por catabolito no está siempre ligada a la glucosa. El aspecto fundamental es que el sustrato preferido es una mejor fuente de carbono y de energía que otras fuentes de carbono disponibles. Por tanto, la represión por catabolito asegura que el organismo utiliza en primer lugar la *mejor* fuente de carbono y energía.

¿Por qué la represión por catabolito es llamada un control *global*? En *E. coli* y otros organismos para los que la glucosa es la mejor fuente de energía, la represión por catabolito impide la expresión de la mayoría de los otros operones catabólicos mientras que la glucosa esté presente. Esto afecta a docenas de operones catabólicos, incluidos los de la lactosa, la maltosa, una serie de otros azúcares, y la mayoría de las otras fuentes de carbono y energía usadas normalmente por *E. coli*. Además, los genes para la síntesis de los flagelos están controlados por la represión por catabolitos porque si la bacteria tiene una buena fuente de carbono disponible, no necesita nadar en busca de nutrientes.

Una consecuencia de la represión por catabolito es que puede conducir a dos fases de crecimiento exponencial, una situación llamada *crecimiento diáuxico*. Si hay disponibles dos fuentes de energía útiles, las células crecen primero utilizando la mejor. El crecimiento se detiene cuando la mejor fuente de carbono se agota, pero tras un período de latencia, el crecimiento se reanuda con la otra fuente de energía. En la **Figura 7.13** se ilustra el crecimiento diáuxico de un cultivo de *E. coli* que crece con una mezcla de glucosa y lactosa. Las células crecen más rápidamente en glucosa que en lactosa. A pesar que ambos azúcares son una fuente excelente de energía para *E. coli*, la glucosa es superior, y el crecimiento es más rápido.

Las proteínas del operón *lac*, incluida la enzima *β*-galactosidasa, son necesarias para utilizar la lactosa, y son inducidas en su presencia (Figuras 7.6 y 7.8). Pero, además, su síntesis está sujeta a la represión por catabolito. Mientras la glucosa está presente, el operón *lac* no se expresa y la lactosa no se utiliza. Sin embargo, cuando se agota la glucosa, desaparece la represión por catabolito, se expresa el operón *lac* y las células crecen con lactosa.

AMP cíclico y proteína receptora de AMP cíclico

A pesar de su nombre, la represión por catabolito se basa en una proteína activadora y es en realidad una forma de control positivo (Sección 7.4). La proteína activadora se llama *proteína receptora del AMP cíclico* (*CRP*). Un gen que codifique una enzima reprimible por catabolito se expresa solo si la proteína CRP se une al DNA en la región del promotor. Esto permite la unión de la RNA-polimerasa al promotor. La CRP es una proteína alostérica que se une al DNA solamente si se ha unido previamente a una pequeña molécula llamada *monofosfato cíclico de adenosina* (*AMP cíclico o cAMP*) (**Figura 7.14**). Al igual que la mayor parte de las proteínas de unión al DNA (Sección 7.2), la CRP se une al DNA en forma de dímero.

El **AMP cíclico** es una molécula fundamental en muchos sistemas de control metabólico, tanto en los procariotas como en los eucariotas. Como deriva de un precursor de un ácido nucleico, es un **nucleótido regulador**. Otros nucleótidos reguladores son el monofosfato cíclico de guanosina (GMP cíclico; importante sobre todo en eucariotas), el di-GMP cíclico (importante en la formación de biofilm; Sección 7.9) y el tetrafosfato de guanosina (ppGpp; importante en la respuesta estricta). El AMP cíclico se sintetiza a partir del ATP mediante una enzima llamada *adenilato-ciclasa*. No obstante, la glucosa inhibe la síntesis del AMP cíclico y también estimula su transporte al exterior de la célula. Cuando la glucosa entra en la célula, el nivel de AMP cíclico disminuye, la proteína CRP no puede unirse al DNA y la RNA-polimerasa es incapaz de unirse a los promotores de los operones sujetos a la represión por catabolito. Así, la represión por catabolito es, en realidad, un resultado indirecto de la presencia de una fuente de energía mejor (la glucosa). La causa directa de la represión por catabolito es un nivel bajo de AMP cíclico.

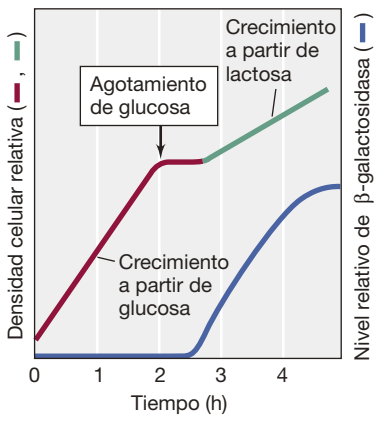


Figura 7.13 Crecimiento diáuxico de *Escherichia coli* en una mezcla de glucosa y lactosa. La presencia de glucosa reprime la síntesis de *β*-galactosidasa, la enzima que escinde lactosa en glucosa y galactosa. Una vez que la glucosa se ha agotado, se produce una demora hasta que se sintetiza *β*-galactosidasa. Después se reanuda el crecimiento con lactosa, aunque a velocidad menor, como indica la línea verde.

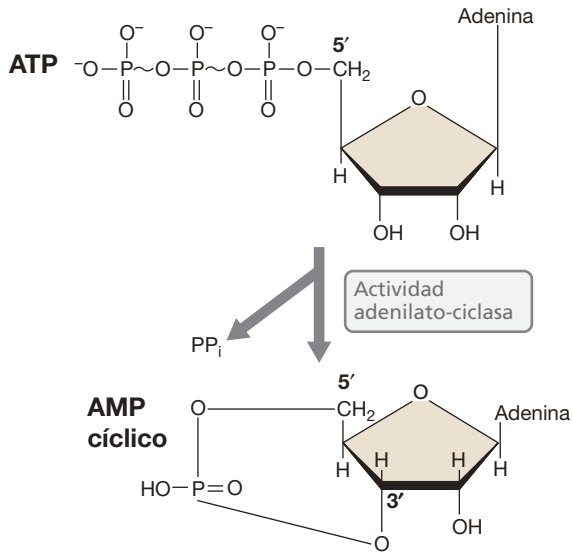


Figura 7.14 AMP cíclico. El monofosfato de adenosina cíclico (AMP cíclico) es sintetizado por la enzima adenilato-ciclasa a partir del ATP.

Volvamos ahora al operón *lac* y consideremos la represión por catabolito. En la **Figura 7.15** se ha esquematizado la región reguladora completa del operón *lac*. Para que se transcriban los genes *lac* se deben cumplir dos requisitos: 1) el nivel de AMP cíclico debe ser lo bastante alto para que la proteína CRP se una al centro de unión de CRP (control positivo), y 2) la lactosa u otro inductor apropiado debe estar presente de manera que el represor de lactosa (proteína LacI) no bloquee la transcripción uniéndose al operador (control negativo). Si se cumplen estas dos condiciones, la célula recibe la señal de que no hay glucosa y sí que hay lactosa; entonces, y solo entonces empieza la transcripción del operón *lac*.

MINIRREVISIÓN

- Explique por qué la represión por catabolito depende de una proteína activadora.
- ¿Qué papel desempeña el AMP cíclico en la regulación de la glucosa?
- Explique cómo se controla el operón *lac* tanto positiva como negativamente.

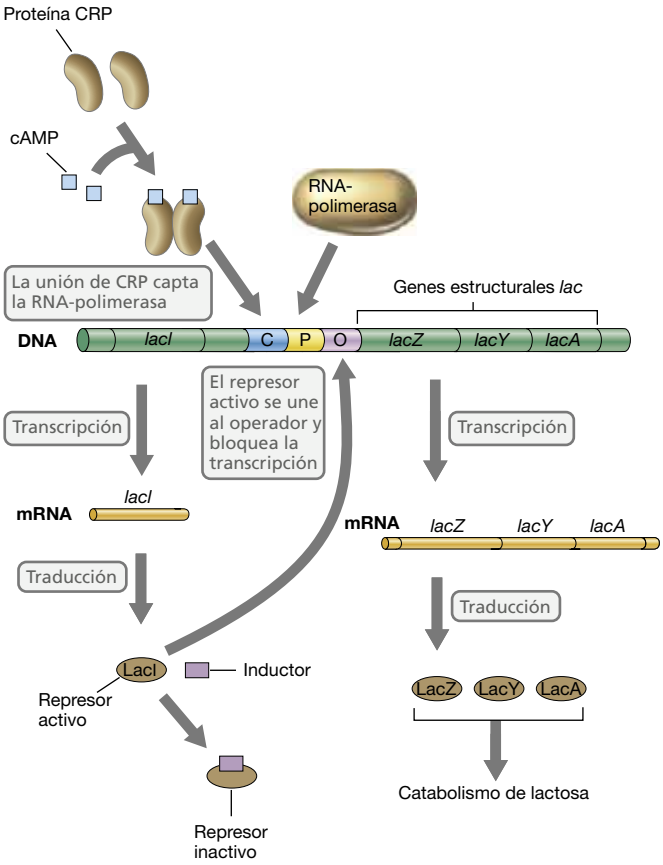


Figura 7.15 Regulación global del operón *lac*. El operón *lac* está formado por *lacZ*, que codifica la enzima β-galactosidasa, *lacY*, que codifica la lactosa-permeasa, y *lacA* que codifica la lactosa-acetilasa. La proteína represora LacI, que está codificada por un gen separado, *lacI*, se une al operador (O) excepto cuando el inductor está presente. CRP se une al sitio C cuando está activado por AMP cíclico y capta RNA-polimerasa para unirse al promotor (P). Para que el operón *lac* sea transcrito por la RNA-polimerasa, el represor LacI debe estar ausente (que es lo mismo que el inductor esté presente) y los niveles de AMP cíclico deben ser altos (debido a la ausencia de glucosa), por tanto permitiendo la unión de CRP.

7.6 Control de la transcripción en *Archaea*

Hay dos estrategias alternativas para regular la actividad de la RNA-polimerasa. Una de ellas, de uso predominante en *Bacteria*, consiste en utilizar las proteínas de unión al DNA que bloquean la actividad RNA-polimerasa (proteínas represoras) o bien la promueven (proteínas activadoras). La otra estrategia, más frecuente en los eucariotas, consiste en coordinar numerosas proteínas de unión a DNA, conocidas como *factores de transcripción*, para que interaccionen con la RNA-polimerasa. Quizá resulte sorprendente que, a pesar de que los mecanismos de transcripción en las arqueas y en los eucariotas *Eukarya* (Capítulo 4) son más parecidos, la regulación de la transcripción en las arqueas se parezca más a la de las bacterias.

Se han caracterizado pocas proteínas activadoras o represoras de *Archaea* en detalle, pero parece claro que en ese dominio existen ambos tipos de proteínas reguladoras. Las proteínas represoras arqueanas funcionan bloqueando la unión de la propia RNA-polimerasa o bloqueando la unión de las proteínas TBP (proteína de unión a TATA) y TFB (factor de transcripción B), que son necesarias para que pla RNA-polimerasa se una al promotor en las arqueas (↻ Sección 4.9). Al menos algunas proteínas activadoras de arqueas funcionan justo en sentido contrario, incorporando la TBP al promotor y facilitando así la transcripción.

Control de la asimilación de nitrógeno en *Archaea*

Un buen ejemplo de represor en arqueas es la proteína NrpR del metanógeno *Methanococcus maripaludis*. Esta proteína reprime los genes implicados en la asimilación del nitrógeno (**Figura 7.16**), como los que intervienen en la fijación de nitrógeno (↻ Sección 3.17) o en la síntesis de glutamina (↻ Sección 3.15). Cuando hay una gran cantidad de nitrógeno orgánico en la célula de *M. maripaludis*, NrpR reprime los genes de asimilación de nitrógeno. Sin embargo, si la cantidad de compuestos de nitrógeno se vuelve limitante, el α-cetoglutarato se acumula en grandes niveles. Esto ocurre porque el α-cetoglutarato, un intermediario del ciclo del ácido cítrico, es también el aceptor principal de amonio durante la asimilación de nitrógeno.

Un aumento de la cantidad de α-cetoglutarato indica a la célula que el amoníaco es limitante y que es necesario activar otras rutas para obtenerlo, como la fijación de nitrógeno o la enzima de alta afinidad de asimilación de nitrógeno glutamina-sintetasa. Un nivel alto de α-ceto glutarato actúa como inductor mediante la unión a la proteína NrpR. En este caso, NrpR pierde

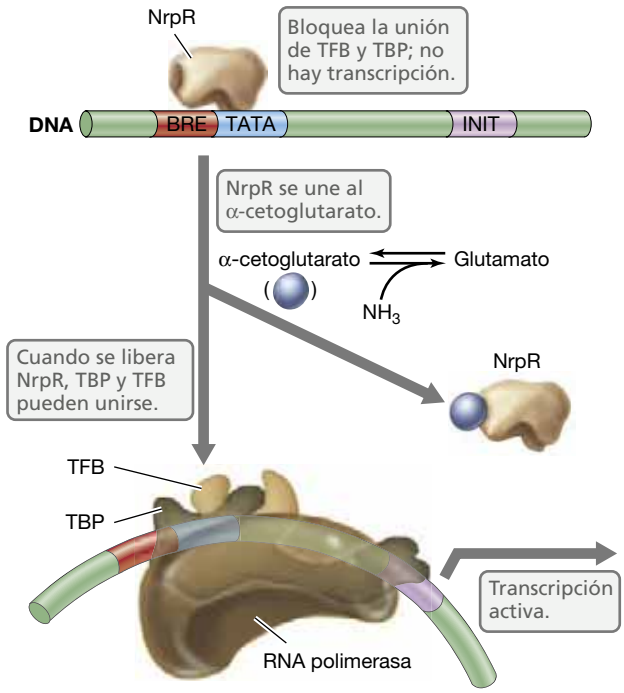


Figura 7.16 Represión de los genes del metabolismo del nitrógeno en *Archaea*. La proteína NrpR de *Methanococcus maripaludis* actúa como represor. Bloquea la unión de las proteínas TFB y TBP, necesarias para el reconocimiento del promotor, al sitio BRE y a la caja TATA, respectivamente. Si hay escasez de amoníaco, el α-cetoglutarato no se transforma en glutamato. Así, el α-cetoglutarato se acumula y se une a NrpR, de forma que lo libera del DNA. Ahora pueden unirse las proteínas TBP y TFB, lo que, a su vez, permite la unión de la RNA polimerasa y la transcripción del operón.

su afinidad por la región promotora de los genes que regula y deja de bloquear la transcripción a partir de estos promotores. En este aspecto, la proteína NrpR se asemeja al represor LacI y a otras proteínas bacterianas similares (Sección 7.3).

Sistemas de regulación positiva en *Archaea*

Existen otras proteínas en las arqueas que regulan la transcripción de manera positiva. Por tanto, su unión a la región promotora incrementa la transcripción. Algunos de estos activadores de la transcripción están relacionados con proteínas bacterianas, mientras que otros parecen ser exclusivos de las arqueas. La proteína SurR de la arquea hipertermófila *Pyrococcus furiosus* es un ejemplo de proteína reguladora que funciona como activadora o como represora, dependiendo de la localización de su sitio de unión dentro de la región promotora. SurR controla el cambio metabólico de *P. furiosus* de la fermentación y producción de H_2 a la reducción de azufre S^0 (una forma de respiración anaerobia) y producción de H_2S. Cuando no hay S^0, SurR activa los genes necesarios para la producción de hidrogenasa de modo que *P. furiosus* pueda crecer por fermentación. Al mismo tiempo, esta proteína actúa como un represor que bloquea la transcripción de los genes que codifican proteínas que participan en el metabolismo del azufre. Sin embargo, cuando hay S^0, SurR ya no puede unirse al DNA debido a la oxidación de residuos de cisteína en el motivo de unión al DNA de esta proteína reguladora. La liberación de SurR en la región reguladora activa la expresión de genes que participan en el metabolismo del S^0 y al mismo tiempo reprime la expresión de los genes la hidrogenasa necesarios para la fermentación.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cuáles son las diferencias principales entre la regulación transcripcional de *Archaea* y de los eucariotas?
- ¿En qué suelen diferenciarse los mecanismos de los activadores transcripcionales de *Archaea* y los de *Bacteria*?

III • Percepción y transducción de señales

Los procariotas regulan su metabolismo celular en respuesta a muchas fluctuaciones ambientales diferentes, como los cambios de temperatura, de pH y de disponibilidad de oxígeno o nutrientes, incluso los cambios en el número de células presentes. Por tanto, debe haber mecanismos por los que las células reciben las señales del ambiente y las transmiten al objetivo específico que debe regularse. Algunas de estas señales son moléculas pequeñas que entran en la célula y funcionan como efectores. No obstante, en muchos casos la señal externa no se transmite directamente a la proteína reguladora, sino que es detectada por un sensor que la transmite al resto de la maquinaria reguladora mediante un proceso llamado **transducción de señales**.

7.7 Sistemas reguladores de dos componentes

La mayoría de los sistemas de transducción de señales tienen dos partes, por lo que se llaman **sistemas reguladores de dos componentes**. Típicamente, estos sistemas incluyen dos proteínas diferentes: una **proteína quinasa sensora** específica situada normalmente en la membrana citoplasmática, y una **proteína reguladora de respuesta** presente en el citoplasma.

Una quinasa (o cinasa) es una enzima que fosforila compuestos químicos, normalmente con fosfato procedente de ATP. Las quinasas sensoras detectan una señal del ambiente y se fosforilan a sí mismas (un proceso llamado autofosforilación) en un residuo específico de histidina (Figura 7.17). Por ello, las quinasas sensoras se llaman también *histidina-quinasas*. El grupo fosfato se transfiere después desde el sensor a otra proteína del interior de la célula, el regulador de respuesta, que es normalmente una proteína de unión al DNA que regula la transcripción, sea positiva o negativamente. En el ejemplo de la Figura 7.17 la regulación es negativa; el regulador de respuesta fosforilado actúa como un represor que se une al DNA, bloqueando de ese modo la transcripción. Una vez que se desfosforila, el regulador de respuesta es liberado y se permite la transcripción.

Un sistema regulador equilibrado debe tener un bucle de retroalimentación, que es un modo de completar el circuito regulador y terminar la señal inicial. Esto deja el sistema listo para otro ciclo. Este bucle de retroalimentación implica la presencia de una fosfatasa, una enzima que elimina el grupo fosfato

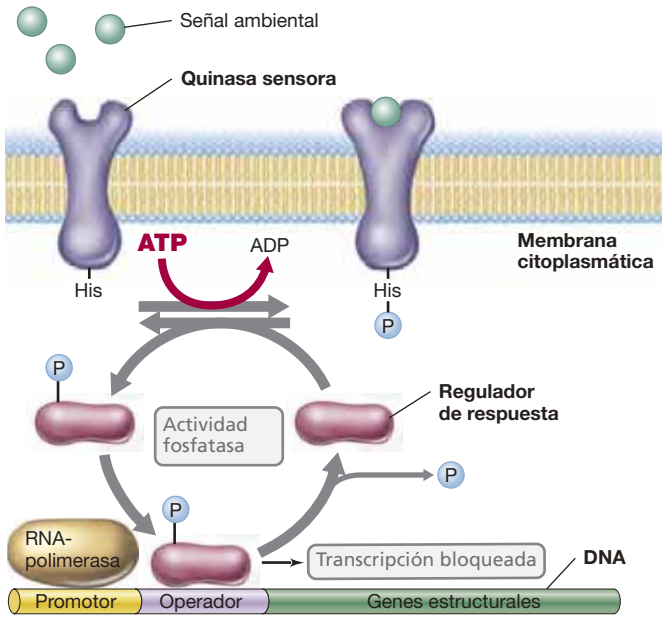


Figura 7.17 Control de la expresión génica por un sistema regulador de dos componentes. Un componente es una quinasa sensora de la membrana citoplasmática que se autofosforila en respuesta a una señal ambiental. El grupo fosforilo es transferido al segundo componente, un regulador de respuesta. La forma fosforilada del regulador de respuesta se une entonces al DNA. En el sistema mostrado aquí, el regulador de respuesta fosforilado es una proteína represora. La actividad fosfatasa del regulador de respuesta libera lentamente el fosfato del regulador de respuesta y reinicia el sistema.

de la proteína reguladora de respuesta a velocidad constante. En muchos sistemas, esta reacción es llevada a cabo por el propio regulador de respuesta, pero en algunos casos son necesarias proteínas independientes (Figura 7.17). La actividad fosfatasa es normalmente más lenta que la fosforilación. Sin embargo, si la fosforilación se detiene por la reducida actividad de la quinasa sensora, la actividad de la fosfatasa acabará volviendo el regulador de respuesta a su estado completamente desfosforilado y se reiniciará el sistema.

Ejemplos de sistemas reguladores de dos componentes

Los sistemas reguladores de dos componentes regulan una gran cantidad de genes de muchas bacterias diferentes. Curiosamente, los sistemas de dos componentes están ausentes o son extremadamente raros entre las *Archaea* y *Bacteria* que viven como parásitos de organismos superiores. Entre los ejemplos clave de los sistemas de dos componentes se encuentran los que responden a la limitación de fosfato, a la limitación de nitrógeno y a la presión osmótica.

En *Escherichia coli* existen casi cincuenta sistemas diferentes de dos componentes; algunos de ellos se indican en la **Tabla 7.1**. Por ejemplo, la osmolaridad del ambiente controla los niveles relativos de las proteínas OmpC y OmpF en la membrana externa de *E. coli*. OmpC y OmpF son *porinas*, proteínas que permiten el paso de metabolitos a través de la membrana externa de las bacterias gramnegativas (↻ Sección 2.11). Si la presión osmótica es *baja*, aumenta la síntesis de OmpF, una porina con un poro más grande; en cambio, si la presión osmótica es *alta*, se sintetiza más cantidad de OmpC, una porina con un poro más pequeño. La proteína EnvZ, que es una histidina quinasa sensora de la membrana citoplasmática, detecta los cambios en la presión osmótica. Cuando ocurre un cambio, EnvZ se autofosforila y transfiere su grupo fosfato a OmpR, el regulador de respuesta de este sistema (**Figura 7.18**). En condiciones de *baja* presión osmótica, la OmpR fosforilada (OmpR-P) *activa* la transcripción de los genes *ompF*. Por el contrario, cuando la presión osmótica es *alta*, OmpR-P reprime la transcripción de los genes *ompF* y activa en su lugar la transcripción de *ompC* (Figura 7.18). La expresión de *ompF* también está regulada por un mecanismo adicional: los RNA reguladores, que veremos en la Sección 7.14.

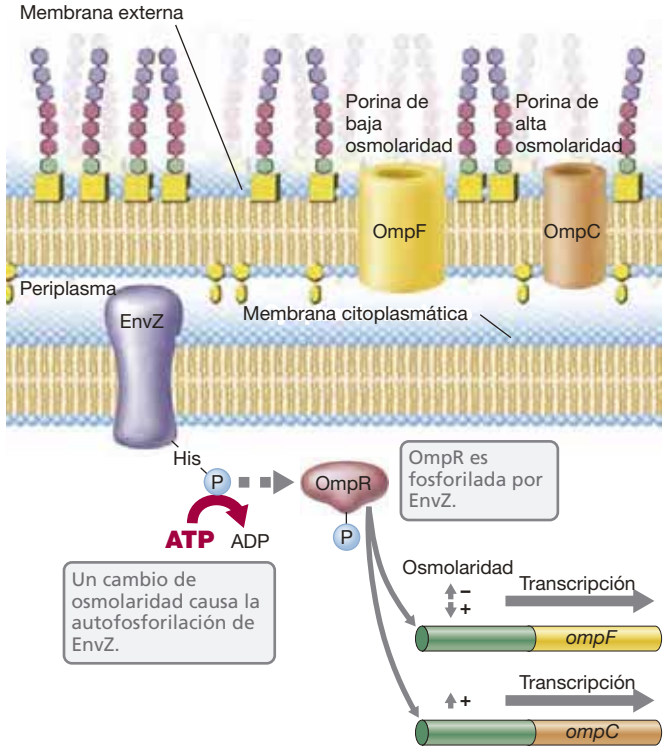


Figura 7.18 Regulación de proteínas de la membrana externa en *Escherichia coli*. La histidina quinasa de la membrana interna EnzZ se autofosforila cuando hay cambios de la presión osmótica y activa el regulador transcripcional OmpR por fosforilación. OmpR-P se une a una región anterior al gen *ompF* y activa la transcripción cuando la presión osmótica es baja, pero la reprime cuando la presión osmótica es alta. OmpR-P solo activa la transcripción del gen *ompC* en condiciones de osmolaridad alta.

Sistemas de dos componentes con múltiples reguladores

Algunos sistemas de transducción de señales tienen más de un elemento regulador y sus actividades pueden hacerse complejas rápidamente. Por ejemplo, en el sistema regulador Ntr, que regula la asimilación de nitrógeno en muchas *Bacteria*, el regulador de respuesta es la proteína activadora llamada *regulador de nitrógeno I* (*NRI*). NRI activa la transcripción de promotores reconocidos por la RNA-polimerasa mediante σ^{54} (RpoN), un

Tabla 7.1 Ejemplos de sistemas reguladores de dos componentes que regulan la transcripción en *Escherichia coli*

Sistema	*Señal ambiental*	*Quinasa sensora*	*Regulador de respuesta*	*Actividad del regulador de respuesta a*
Sistema Arc	Oxígeno	ArcB	ArcA	Represor/activador
Respiración de nitrato y nitrito (Nar)	Nitrato y nitrito	NarX NarQ	NarL NarP	Activador/represor Activador/represor
Utilización de nitrógeno (Ntr)	Escasez de nitrógeno orgánico	NRII (═GlnL)	NRI (═GlnG)	Activador de promotores que necesitan RpoN/p^{54}
Regulón Pho	Fosfato inorgánico	PhoR	PhoB	Activador
Regulación de porinas	Presión osmótica	EnvZ	OmpR	Activador/represor

[a]Obsérvese que muchas proteínas reguladoras de respuesta actúan como activadores o como represores, según los genes que haya que regular. Aunque ArcA puede hacer tanto de activador como de represor, funciona como represor en la mayoría de los operones que regula.

factor sigma alternativo (↔ Sección 4.7). La quinasa sensora del sistema Ntr es una proteína llamada *regulador de nitrógeno II* (*NRII*) que funciona como quinasa y como fosfatasa. La actividad de la NRII está regulada, a su vez, por otra proteína llamada *PII*, cuya misma actividad es regulada por la adición o la eliminación de grupos de monofosfato de uridina (UMP). En condiciones de deficiencia de nitrógeno, se añade UMP a PII, el complejo PII-UMP resultante induce la actividad quinasa de NRII que conlleva a la fosforilación de NRI. Por otro lado, la eliminación de UMP de PII induce la actividad fosfatasa de NRII.

El *sistema regulador Nar* (Tabla 7.1) es otro ejemplo de sistema regulador de dos componentes con múltiples reguladores. Este sistema controla un conjunto de genes que permiten el uso del nitrato (NO_3^-) o del nitrito (NO_2^-) (o de ambos) como aceptores alternativos de electrones durante la respiración anaerobia (↔ Sección 13.17). El sistema Nar contiene dos quinasas sensoras diferentes y dos reguladores de respuesta también diferentes. Además, todos los genes regulados por este sistema están también controlados por la proteína FNR (regulador de fumarato y nitrato), un regulador global para genes implicados en la respiración anaerobia (véase la Tabla 7.2). Este tipo de regulación, en la que una jerarquía de sistemas actúa a modo de cascada, es frecuente en sistemas de importancia fundamental para el metabolismo de la célula.

También se encuentran sistemas de dos componentes muy relacionados con los de las *Bacteria* en eucariotas microbianos como la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, e incluso en plantas. No obstante, la mayoría de las rutas de transducción de señal eucarióticas se basan en la fosforilación de residuos de serina, treonina o tirosina de proteínas que no están relacionadas con las de los sistemas de dos componentes que en las bacterias fosforilan residuos de histidina (Figuras 7.17 y 7.18).

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué son las quinasas y cuál es su función en los sistemas reguladores de dos componentes?
- ¿Qué son las fosfatasas y cuál es su función en los sistemas reguladores de dos componentes?

7.8 Regulación de la quimiotaxia

Ya hemos visto antes cómo algunos procariotas pueden moverse hacia sustancias atrayentes o escapar de las repelentes, un comportamiento denominado *quimiotaxia* (↔ Sección 2.19). Hemos observado que los procariotas son demasiado pequeños para percibir gradientes espaciales de un compuesto químico, pero pueden responder a gradientes temporales. Es decir, pueden percibir el *cambio* en la concentración de una sustancia en el tiempo en lugar de la concentración absoluta del estímulo químico. Utilizan un sistema modificado de dos componentes para percibir los cambios temporales en los atrayentes o repelentes y procesan esta información para regular la rotación flagelar. Obsérvese que en el caso de la quimiotaxia tenemos un sistema de dos componentes que regula directamente la actividad de los flagelos preexistentes y no la transcripción de los genes que codifican los flagelos.

Respuesta a la señal

El mecanismo de quimiotaxia depende de señales en cascada de múltiples proteínas. Varias proteínas sensoras se localizan en la membrana citoplasmática y perciben la presencia de atrayentes y repelentes. Estas proteínas sensoras no son quinasas sensoras, pero interaccionan con las quinasas sensoras del citoplasma y permiten a la célula detectar la concentración de distintas sustancias a lo largo del tiempo.

Las proteínas sensoras se llaman *proteínas quimiotácticas aceptoras de metilo* (*MCP*). *Escherichia coli* tiene cinco MCP diferentes, y todas ellas son proteínas transmembrana y cada una es específica para determinados compuestos. Por ejemplo, la MCP Tar de *E. coli* percibe el aspartato y la maltosa, que son atrayentes, y el cobalto y el níquel, que son repelentes. Las MCP se unen a los atrayentes o a los repelentes directamente o, en algunos casos, indirectamente mediante interacciones con proteínas de unión periplasmáticas. La unión de un atrayente o un repelente inicia una serie de interacciones con proteínas citoplasmáticas que al final afectarán a la rotación flagelar.

Las MCP están en contacto con las proteínas citoplasmáticas CheW y CheA (**Figura 7.19**). CheA es la quinasa sensora en la quimiotaxia. Cuando una MCP se une a un compuesto químico, cambia su conformación y con la ayuda de CheW, conduce a la autofosforilación de CheA para formar CheA-P. Los atrayentes *disminuyen* la velocidad de autofosforilación, mientras que los repelentes la incrementan. A continuación, CheA-P pasa el fosfato a CheY (que forma CheY-P); este es el regulador

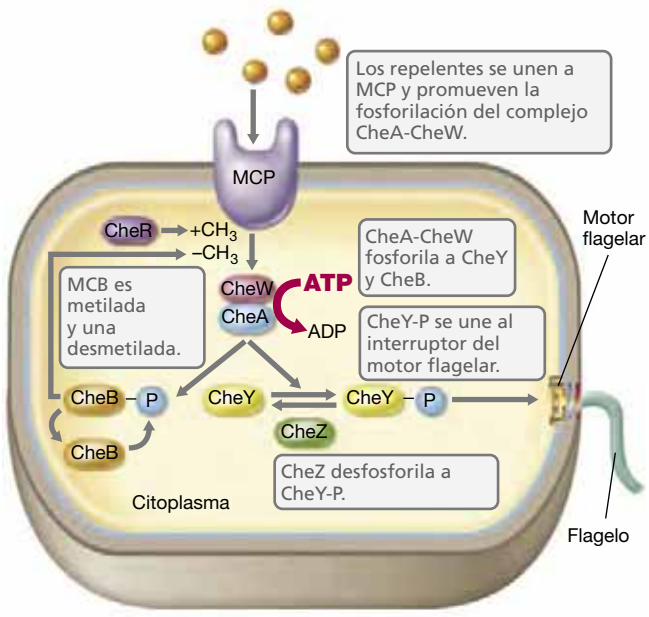


Figura 7.19 Interacciones entre MCP, proteínas Che y el motor flagelar en la quimiotaxia bacteriana. La proteína quimiotáctica aceptora de metilo (MCP, del inglés *methyl-accepting chemotaxis protein*) forma un complejo con la quinasa sensora CheA y la proteína acopladora CheW. Esta combinación provoca una autofosforilación, que puede entonces fosforilar los reguladores de respuesta CheB y CheY. El CheY fosforilado (CheY-P) se une directamente con el interruptor del motor flagelar. CheZ desfosforila a CheY-P. CheR añade continuamente grupos metilo a la MCP y CheB-P (pero no CheB) los elimina. El grado de metilación de las MCP controla su capacidad para responder a los atrayentes y repelentes y conduce a la adaptación.

de respuesta que controla la rotación flagelar. CheA-P también puede transferir el fosfato a CheB, que intervierne en la adaptación, como analizaremos más adelante.

Control de la rotación flagelar

CheY es una proteína clave en el sistema, ya que gobierna la dirección de la rotación del flagelo. Recordemos que si la rotación del flagelo es en sentido antihorario, la célula continuará desplazándose en carreras, mientras que si el flagelo rota en sentido horario la célula comenzará a dar vuelcos (tambaleo) (↻ Sección 2.19). Cuando CheY está fosforilada, interacciona con el motor flagelar e induce la rotación del flagelo en el sentido horario, lo que causa los vuelcos de la bacteria. Si no está fosforilada, CheY no puede unirse al motor flagelar y el flagelo sigue rotará en sentido antihorario; esto hace que la célula se desplace en carrera. Otra proteína, CheZ, desfosforila a CheY y la devuelve a la forma que permite el desplazamiento directo en lugar de dando vuelcos. Como los repelentes aumentan el nivel de CheY-P, provocan los vuelcos, mientras que los atrayentes generan un nivel más bajo de CheY-P y, por tanto, provocan una natación suave (desplazamiento en carrera).

Adaptación

Una vez que un organismo ha respondido satisfactoriamente a un estímulo, debe detenerse y reiniciar el sistema sensor en espera de nuevos estímulos. Esto se conoce como *adaptación*. Durante la adaptación del sistema de quimiotaxia, un bucle de retroalimentación es el que reinicia el sistema. Esto depende del regulador de respuesta CheB que hemos mencionado anteriormente.

Como su nombre indica, las MCP (proteínas quimiotácticas aceptoras de metilo) se pueden metilar. Cuando están completamente metiladas ya no responden a los atrayentes, pero son más sensibles a los repelentes. Por el contrario, cuando las MCP no están metiladas, responden muy bien a los atrayentes pero son insensibles a los repelentes. Variaciones en los niveles de metilación permiten una adaptación para percibir las señales. Esto se logra por metilación y desmetilación de las MCP por CheR y CheB fosforilada (CheB-P), respectivamente (Figura 7.19).

Si la cantidad de atrayente se mantiene alta, el nivel de autofosforilación de CheA se mantiene bajo. Esto provoca que CheY y CheB estén sin fosforilar y por tanto la célula nada suavemente. El nivel de metilación de las MCP aumenta durante este período porque CheB-P no está presente para desmetilarlas rápidamente. Sin embargo, las MCP dejan de responder al atrayente cuando están completamente metiladas. Por tanto, si la cantidad de atrayente se mantiene alta pero constante, la célula empieza a dar vuelcos. Finalmente CheB se fosforila y CheB-P desmetila las MCP. Esto reinicia los receptores y así pueden una vez más responder a nuevas variaciones en los niveles del atrayente. Por tanto, la célula deja de nadar si la concentración del atrayente se mantiene constante y solo continuará nadando si encuentra niveles más elevados del atrayente.

El curso de los acontecimientos es exactamente el contrario para los repelentes. Las MCP completamente metiladas responden mejor a un aumento en el gradiente de repelentes y envían una señal para que empiece el movimiento en vuelco de la célula. Esta, entonces, se mueve al azar mientras las MCP son desmetiladas lentamente. Con este mecanismo de adaptación, la quimiotaxia adquiere la capacidad de detectar pequeños cambios en la concentración de atrayentes y de repelentes a lo largo del tiempo.

Otros tactismos

Además de la quimiotaxia, se conocen otros tactismos (taxias) microbianos, como por ejemplo la *fototaxia* (movimiento hacia la luz) y la *aerotaxia* (movimiento hacia el oxígeno) (↻ Sección 2.19). Muchas de las proteínas Che citoplasmáticas que funcionan controlando la actividad flagelar en la quimiotaxia cumplen también alguna función en estos otros tactismos. En la fototaxia, por ejemplo, una proteína que detecta la luz sustituye a las MCP de la quimiotaxia, y en la aerotaxia, una proteína redox detecta los niveles de oxígeno. Estos sensores interaccionan después con las proteínas Che citoplasmáticas para dirigir desplazamientos directos (carreras) o dar vuelcos en respuesta a estas otras señales. Así, parece que varios tactismos procarióticos diferentes tienen un mismo sistema de control flagelar y esto permite a la célula economizar en sus sistemas reguladores.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué son el regulador de respuesta primario y la quinasa sensora primaria que regulan la quimiotaxia?
- ¿Por qué es importante la adaptación durante la quimiotaxia?
- ¿En qué se diferencia la respuesta del sistema de regulación de la quimiotaxia a un estímulo atrayente y la respuesta a uno repelente?

7.9 Percepción de quórum

Muchos procariotas responden ante la presencia en sus alrededores de otras células de la misma especie, y en algunos casos, las vías reguladoras están controladas por la densidad de células de su mismo tipo. Este es un fenómeno llamado **percepción de quórum** (la palabra quórum, en este sentido, significa «número suficiente»).

Mecanismo de percepción de quórum

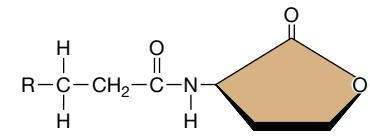
La percepción de quórum es un mecanismo por el cual las bacterias evalúan su densidad de población. Muchas bacterias lo usan para asegurarse de que hay la suficiente cantidad de células antes de iniciar una respuesta que requiera de una cierta densidad celular para surtir efecto. Por ejemplo, una bacteria patógena (causante de alguna enfermedad) que secreta una toxina no tendrá efecto como célula individual; la producción de toxina por una sola célula sería un desperdicio de recursos. Sin embargo, si hay una población de células lo bastante alta, la expresión coordinada de la toxina puede iniciar la enfermedad con éxito y liberar recursos del hospedador que pueden ser usados por el patógeno.

La percepción de quórum está muy extendida entre las bacterias gramnegativas, pero también se da en las bacterias grampositivas. Todas las especies que utilizan la percepción de quórum sintetizan una molécula señal específica llamada **autoinductor**. Normalmente esta molécula se difunde libremente a través de la envoltura celular en las dos direcciones. Por tanto, el autoinductor alcanza una alta concentración en el interior de la célula solo si hay muchas células cerca, cada una

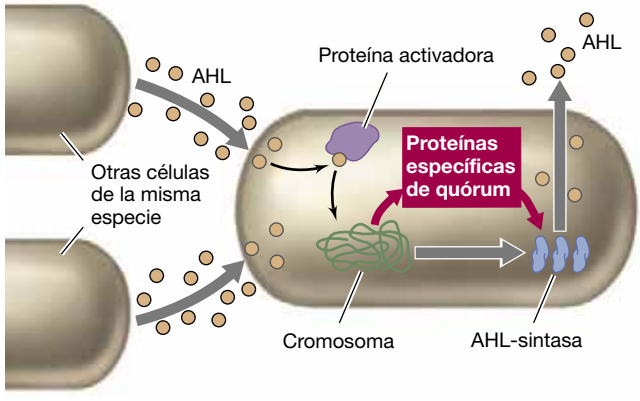
sintetizando el mismo autoinductor. En el interior de la célula, el autoinductor se une a una proteína activadora transcripcional específica o a una quinasa sensora de un sistema de sus componentes y, de este modo, activa la transcripción de genes específicos (Figura 7.20*b*).

Aunque existen diferentes clases de autoinductores, los primeros que se identificaron fueron las *acilhomoserina lactonas* (AHL) (**Figura 7.20*a***). Se han encontrado varias AHL diferentes, con grupos acilo de distintas longitudes, en diferentes especies de bacterias gramnegativas. Además, muchas bacterias gramnegativas sintetizan el autoinductor 2 (AI-2; un derivado furánico cíclico), que parece ser utilizado como un autoinductor común entre muchas especies de bacterias. Las bacterias grampositivas usan generalmente determinados péptidos cortos como autoinductores.

La percepción de quórum se descubrió como el mecanismo para regular la emisión de luz en las bacterias bioluminiscentes (↻ Sección 15.4). Algunas especies bacterianas, como la bacteria marina *Aliivibrio fischeri*, pueden emitir luz. En la **Figura 7.21** se muestran colonias bioluminiscentes de *A. fischeri*. La luz es generada por a la actividad de una enzima llamada *luciferasa*. Los operones *lux*, que codifican las proteínas necesarias para la bioluminiscencia, están bajo el control de la proteína activadora LuxR y son inducidos cuando la concentración de la AHL específica de *A. fischeri*, la *N*-3-oxohexanoilhomoserina lactona, es suficientemente alta. Esta AHL es sintetizada por la enzima codificada por el gen *luxI*.



(a)



(b)

Figura 7.20 **Percepción de quórum.** *(a)* Estructura general de una acilhomoserina lactona (AHL). Las diferentes AHL son variantes de la estructura original. R = grupo alquilo (C_1—C_{17}); a menudo, el carbono junto al grupo R está modificado por un grupo cetónico (C═O). *(b)* Una célula con percepción de quórum expresa la AHL-sintasa a nivel basal. Esta enzima sintetiza la AHL específica de la célula. Cuando las células de la misma especie alcanzan una densidad determinada, la concentración de AHL aumenta lo suficiente para unirse a la proteína activadora, que activa la transcripción de genes específicos de quórum.



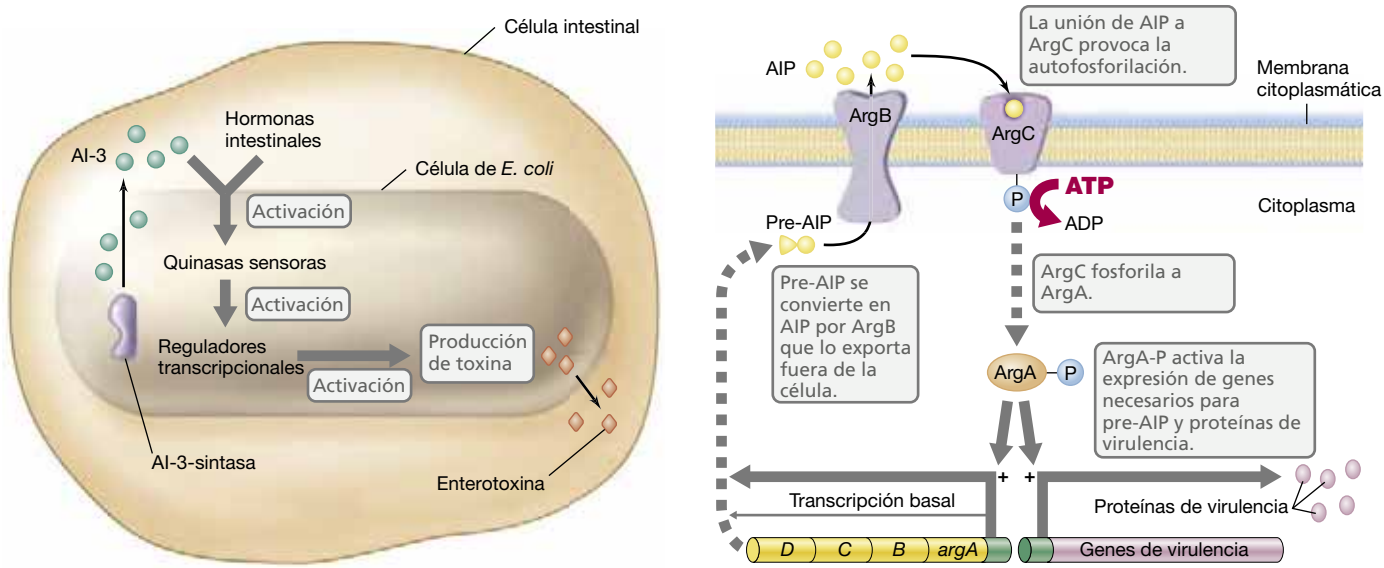
Timothy C. Johnston

Figura 7.21 **Bacterias bioluminiscentes que producen la enzima luciferasa.** Las células de la bacteria *Aliivibrio fischeri* se sembraron por estría en agar nutritivo en una placa de Petri y se dejaron crecer durante toda la noche. La fotografía se tomó en una cámara oscura usando solo la luz generada por las bacterias.

La percepción de quórum también se da en los eucariotas microbianos. Por ejemplo, en la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, se producen alcoholes aromáticos específicos como autoinductores que controlan la transición entre el crecimiento de *S. cerevisiae* como células individuales y como filamentos alargados. Se han encontrado transiciones semejantes en otros hongos, algunos de los cuales causan enfermedades en los humanos. Un ejemplo es *Candida*, cuya percepción de quórum está mediada por el alcohol de cadena larga farnesol. El aumento de la concentración de farnesol en este hongo dimórfico impide la transición entre la forma de levadura formadora de gemas y la forma de hifas alargadas.

Factores de virulencia

Varios genes están controlados por la percepción de quórum, entre ellos algunos genes de bacterias patógenas. Por ejemplo, las cepas de *Escherichia coli* productoras de la toxina Shiga, como el importante patógeno alimentario *E. coli* O157:H7 (↻ Sección 31.11), producen una AHL llamada AI-3 que induce genes de virulencia. Cuando la población de *E. coli* en el intestino aumenta, las células bacterianas producen AI-3 mientras que las células intestinales del hospedador producen las hormonas de estrés epinefrina y norepinefrina. Estas tres moléculas señal se unen a dos quinasas sensoras separadas en la membrana citoplasmática de *E. coli*, provocando la fosforilación y activación de dos proteínas activadoras transcripcionales (**Figura 7.22*a***). Estas proteínas activan la transcripción de genes que codifican funciones de motilidad y la secreción de la enterotoxina, así como genes que codifican proteínas que causan lesiones en la mucosa intestinal del hospedador. Esto es un ejemplo poco usual de un sistema que detecta señales químicas bacterianas y eucarióticas para regular la expresión de los genes.



(a) **Producción del factor de virulencia en *E. coli* productora de la toxina tipo Shiga**

(b) **Producción de factores de virulencia en *Staphylococcus***

Figura 7.22 **Regulación de factores de virulencia por la percepción de quórum.** *(a)* Cuando la población bacteriana aumenta, se acumulan la AI-3 producida por *E. coli* y la epinefrina y norepinefrina producidas por las células intestinales y se unen a quinasas sensoras, iniciando una cascada de actividades necesaria para la producción de factores de virulencia (por ejemplo, endotoxinas). *(b)* El nivel basal de transcripción del operón *argABCD* en *Staphylococcus* conduce a la producción de ArgD, el péptido pre-autoinductor (AIP). ArgB corta a ArgD en el péptido funcional AIP y lo exporta fuera de la célula. Al aumentar la población celular, la concentración de AIP aumenta y se une a ArgC, provocando la autofosforilación de esta última. ArgC-P activa entonces el activador transcripcional ArgA por transferencia de un grupo fosfato. ArgA-P aumenta la transcripción del operón *argABCD* al mismo tiempo que activa la transcripción de un RNA que lleva a la producción de proteína de virulencia.

La patogenia de *Staphylococcus aureus* (↔ Sección 29.9) implica, entre otras muchas cosas, la producción y secreción de pequeños péptidos extracelulares que dañan las células hospedadoras o interfieren con el sistema inmunitario del hospedador. Los genes que codifican estos factores de virulencia están controlados por un sistema de percepción de quórum que utiliza un pequeño péptido llamado *péptido autoinductor* (AIP, del inglés *auto*inducing *p*eptide), codificado por el gen *argD*, como el propio autoinductor. Después de la síntesis de ArgD (pre-AIP), otra proteína unida a la membrana, ArgB, corta el péptido en su forma activa AIP y secreta este pequeño péptido fuera de la célula (Figura 7.22*b*). Cuando aumenta la densidad celular de *S. aureus*, aumenta también la concentración de AIP. ArgC es una quinasa sensora unida a la membrana que se une AIP, lo que provoca su autofosforilación. Arg-P transfiere su fosfato al activador transcripcional ArgA. ArgA-P aumenta la transcripción de los genes *argABCD* que codifican el sistema de transducción de señales así como una molécula de RNA que controla la producción de un conjunto de factores de virulencia proteínicos.

Algunos eucariotas producen moléculas que interfieren específicamente con el sistema de percepción de quórum bacteriano. Hasta el momento, la mayoría de estas moléculas son derivados de la furanona que contienen un átomo halógeno. Estos componentes imitan a la AHL o al AI-2 e interfieren con los mecanismos bacterianos que dependen de la percepción del quórum. Estas moléculas que interfieren con el sistema de percepción del quórum se han propuesto como fármacos potenciales para dispersar los biofilms bacterianos e impedir la expresión de genes de virulencia.

Formación de biofilms

Numerosas señales, incluida la comunicación intercelular, provocan en las bacterias la transición desde vivir libremente, suspendidas en medio líquido (crecimiento planctónico), a vivir en una matriz semisólida llamada *biofilm* (o *biopelícula*) (↔ Sección 19.4 y Explorando el mundo microbiano, «Pegarse o nadar», en el Capítulo 5). *Pseudomonas aeruginosa* forma biofilms mediante la producción de polisacáridos específicos que hacen que aumente su patogenicidad e impiden la penetración de los antibióticos. La percepción del quórum induce la expresión de un subgrupo de genes necesarios para la formación del biofilm (**Figura 7.23**). Las células de *P. aeruginosa* poseen dos sistemas de percepción del quórum separados: Las y Rhl. Mientras el número de células se incrementa estos sistemas responden a AHL específicas y activan la transcripción de genes que codifican la síntesis de exopolisacáridos a medida que aumenta el número de células.

La señalización intracelular también interviene en la formación de biofilms en *P. aeruginosa*. Uno de los mensajeros secundarios importante en la arquitectura del biofilm es el monofosfato de di-guanosina cíclico (c-di-GMP), que es nucleótido regulador. Aunque los nucleótidos reguladores desempeñan una función importante en todos los dominios de la vida (Sección 7.5), el di-GMP cíclico solo es producido por los procariotas. De hecho, los genomas procarióticos codifican varias proteínas que sintetizan y catabolizan di-GMP cíclico. La síntesis o degradación de este nucleótido regulador depende tanto de señales ambientales como de la propia célula, y su síntesis conlleva numerosos cambios fisiológicos y la expresión de genes de virulencia. Las proteínas efectoras que unen di-GMP cíclico participan en diferentes actividades como producción



Figura 7.23 **Formación de biofilm en *Pseudomonas.*** *(a)* Secuencia de las fases que conducen a la formación de biofilm en *P. aeruginosa*. Según se incrementa la densidad de población, aumenta la producción de las moléculas señal AHL (acilhomoserina lactona) y c-di-GMP. Estas moléculas señal participan en la activación de la síntesis de exopolisacáridos y flagelos, necesarios para la formación completa del biofilm. *(b)* Microscopía confocal láser de barrido que muestra la progresión de la formación del biofilm en *P. aeruginosa* durante un período de 144 horas. Las células se tiñeron con el marcador de viabilidad LIVE/DEAD, que tiñe las células vivas de color verde (↻ Figura 18.7). Cada rectángulo con células tiene unos 0,2 mm de ancho. El biofilm maduro tiene unos 0,1 mm de ancho por 60 μm de alto. Datos adaptados de Petrova, O.E., and K. Sauer. 2009. A novel signaling network essential for regulating *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. *PLoS Pathogens* 5(11): e1000668.

de exopolisacárido, motilidad, regulación de la transcripción, y localización de las proteínas (tanto secreción como superficie celular). El di-GMP cíclico también une moléculas pequeñas de un tipo de RNA regulador conocido como riboregulador o interruptor de RNA (Sección 7.15).

En muchas bacterias la formación del biofilm es inducida por la acumulación de di-GMP cíclico en la célula. En *P. aeruginosa*, un productor importante de biofilms, la síntesis de un exopolisacárido llamado Pel ayuda a la formación del biofilm. Dicho polisacárido es producido por la proteína receptora de di-GMP cíclico PelD y funciona como armazón principal para la comunidad bacteriana y como mecanismo de resistencia a los antibióticos. Igualmente, la expresión de los genes para la biosíntesis del flagelo en *P. aeruginosa* está bajo control positivo por la proteína de unión a di-GMP cíclico FleQ. Los flagelos ayudan a formar las uniones de las células de *P. aeruginosa* durante las etapas iniciales de formación del biofilm.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué propiedades ha de tener una molécula para que funcione como un autoinductor?
- ¿Cuál es la diferencia entre los autoinductores que usan las bacterias gramnegativas en la percepción de quórum y los que usan las grampositivas?
- Además de la síntesis de autoinductores, ¿qué molécula intracelular induce la formación de biofilms en muchas bacterias?

7.10 Otras redes de control global

La represión por catabolito (Sección 7.5) y la percepción de quórum (Sección 7.9) son dos ejemplos de *control global*. Existen otros sistemas de control global en *E. coli* (y probablemente en todos los procariotas); en la Tabla 7.2 se muestran algunos de ellos. Los sistemas de control global regulan muchos genes que tienen más de un regulón (Sección 7.4). Las redes de control global pueden incluir activadores, represores, moléculas señal, sistemas reguladores de dos componentes, RNA regulador (Sección 7.14) y factores sigma (σ) alternativos (↻ Sección 4.7).

Un ejemplo de respuesta global, que está muy extendida en los tres dominios de la vida, es la respuesta a temperaturas altas. En muchas bacterias, esta **respuesta al choque térmico** está controlada en gran parte por factores σ alternativos.

Proteínas de choque térmico

La mayoría de las proteínas son relativamente estables, incluso con aumentos pequeños de temperatura. Sin embargo, las hay que son menos estables a altas temperaturas y suelen desplegarse (desnaturalizarse). Estas proteínas plegadas incorrectamente son reconocidas y degradadas por proteasas de la célula. En consecuencia, las células sometidas a estrés por calor inducen la síntesis de un conjunto de proteínas, las **proteínas de choque térmico**, que ayudan a contrarrestar el daño y ayudan a las células a recuperarse del estrés. No son inducidas solo por

Tabla 7.2 Ejemplos de sistemas de control global de *Escherichia coli*[a]

Sistema	*Señal*	*Actividad principal de la proteína reguladora*	*Número de genes regulados*
Respiración aerobia	Presencia de O_2	Represora (ArcA)	>50
Respiración anaerobia	Ausencia de O_2	Activadora (FNR)	>70
Represión por catabolito	Nivel de AMP cíclico	Activadora (CRP)	>300
Choque térmico	Temperatura	Factores sigma alternativos (RpH y RpoE)	36
Utilización de nitrógeno	Escasez de NH_3	Activadora (NRI)/sigma alternativo RpoN	>12
Estrés oxidativo	Agentes oxidantes	Activadora (OxyR)	>30
Respuesta SOS	DNA dañado	Represora (LexA)	>20

[a]Para muchos sistemas de regulación global, la regulación es compleja. Una sola proteína reguladora puede ejercer más de una función. Por ejemplo, la proteína reguladora de la respiración aerobia es un represor para muchos promotores y un activador para otros, mientras la proteína reguladora de la respiración anaerobia es una proteína activadora para muchos promotores y un represor para otros. La regulación también puede ser indirecta o precisar más de una proteína reguladora. Muchos genes están regulados por más de un sistema global.

calor, también por otros factores de estrés que pueden afectar a las células. Por ejemplo, la exposición a niveles altos de determinados compuestos químicos, como el etanol, o a altas dosis de radiación ultravioleta (UV).

En *E. coli* y en la mayoría de los procariotas analizados, existen tres clases principales de proteínas de choque térmico, Hsp70, Hsp60 y Hsp10. Ya hemos visto estas proteínas anteriormente, aunque no con estos nombres (↻ Sección 4.14 y Figura 4.41). La proteína Hsp70 de *E. coli* es DnaK, que impide la agregación de las proteínas recién sintetizadas y estabiliza las proteínas desplegadas. Los principales representantes de las familias Hsp60 y Hsp10 en *E. coli* son las proteínas GroEL y GroES, respectivamente. Son *chaperonas moleculares* que catalizan el plegamiento correcto de proteínas que se habían plegado de modo incorrecto. Otra clase de proteínas de choque térmico comprende varias proteasas que degradan proteínas desnaturalizadas o proteínas agregadas irreversiblemente.

Respuesta al choque térmico

En muchas bacterias, como *E. coli*, la respuesta al choque térmico está controlada por los factores σ alternativos RpoH (σ^{32}) y RpoE (**Figura 7.24**). El factor sigma RpoH controla la expresión de las proteínas de choque térmico en el citoplasma, y RpoE regula la expresión de un grupo diferente de proteínas de choque térmico que actúan en el periplasma y en la envoltura celular. RpoH se degrada normalmente uno o dos minutos después de su síntesis. No obstante, cuando las células sufren un choque térmico, la degradación de RpoH es inhibida y, por tanto, su concentración aumenta. En consecuencia, la transcripción de aquellos operones cuyo promotor es reconocido por la RpoH aumenta también. La velocidad de degradación de RpoH depende de la concentración de la proteína DnaK libre, que inactiva a RpoH. En las células no sometidas a estrés, la concentración de DnaK libre es relativamente alta y, por tanto, la de RpoH intacta es baja. Sin embargo, cuando el calor causa el desplegamiento de las proteínas, DnaK se une preferentemente a las proteínas desplegadas, de manera que deja de estar libre para promover la degradación de RpoH. Así, cuantas más proteínas desnaturalizadas haya, menor será la concentración de DnaK libre y mayor la de RpoH; el resultado es la expresión de las proteínas de choque térmico. Cuando termina la situación de estrés, por ejemplo por una bajada de la temperatura, RpoH es inactivada de nuevo por DnaK, y la síntesis de las proteínas de choque térmico se reduce en gran medida.

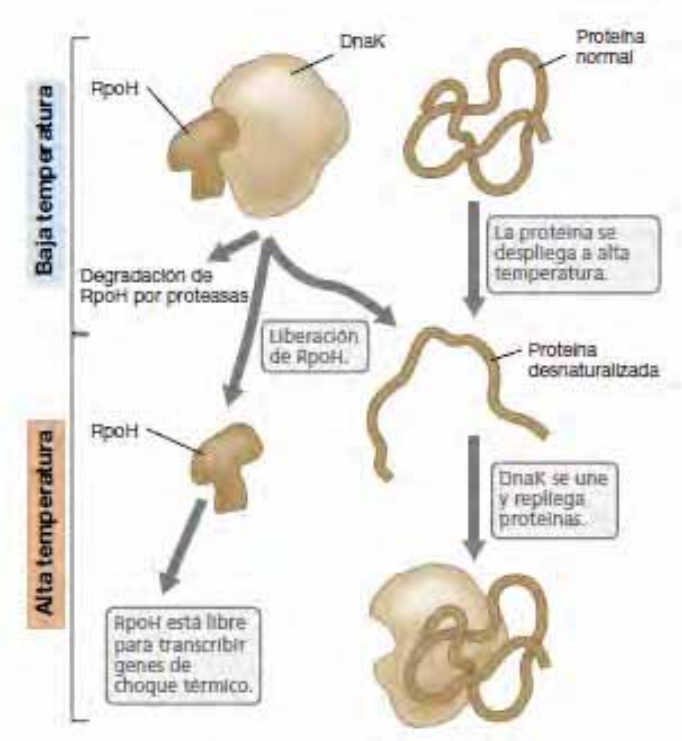


Figura 7.24 Control del choque térmico en *Escherichia coli*. El factor sigma alternativo RpoH es degradado rápidamente por proteasas a temperaturas normales. Esto es estimulado por la unión de la chaperonina DnaK a RpoH. A temperaturas altas se desnaturalizan algunas proteínas y la DnaK reconoce a las cadenas polipeptídicas desplegadas, se une a ellas y vuelve a plegarlas. Esto libera la DnaK de RpoH, lo que ralentiza su degradación. Cuando el nivel de RpoH aumenta, se transcriben los genes de choque térmico.

Como las proteínas de choque térmico realizan funciones vitales para la célula, siempre hay una pequeña cantidad de estas proteínas, incluso cuando las células se encuentran en condiciones óptimas. Sin embargo, la rápida síntesis de las proteínas de choque térmico en células estresadas pone de manifiesto su importancia para la supervivencia en situaciones de excesivo calor, o presencia de agentes químicos o físicos. Estas situaciones de estrés pueden generar grandes cantidades de proteínas inactivas que necesitan volver a plegarse (y, en el proceso, reactivarse) o ser degradadas para liberar aminoácidos para la síntesis de proteínas nuevas.

También en las arqueas se produce una respuesta al choque térmico, incluso en especies que crecen mejor a temperaturas muy altas. En muchas arqueas se ha encontrado un análogo de la proteína Hsp70 bacteriana, y su estructura es bastante parecida a las que se han encontrado en especies de bacterias grampositivas. La Hsp70 también está presente en eucariotas. Además, hay otros tipos de proteínas de choque térmico en arqueas que no están relacionadas con las proteínas de estrés bacterianas.

El frío también puede ser causa de estrés. Un problema que encuentran todas las células durante el choque de frío es que el RNA, incluido el mRNA, suele formar estructuras secundarias estables, especialmente estructuras de tipo tallo-bucle, que pueden interferir con la traducción. Para evitar esto, entre las diversas proteínas de choque de frío que están presentes en la célula hay varias proteínas de unión a RNA. Algunas de ellas impiden la formación de estructuras secundarias del RNA y otras (las RNA helicasas) que desacoplan regiones de apareamientos en el RNA.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué induce la respuesta de choque térmico?
- ¿Por qué las células tienen más de un tipo de factor σ?
- ¿Por qué las proteínas inducidas durante el choque térmico podrían no ser necesarias durante el choque de frío?

IV • Regulación del desarrollo en bacterias modelo

La diferenciación y el desarrollo son, en gran medida, característicos de los organismos multicelulares. Como la mayoría de los microorganismos procariotas crecen como células individuales, pocos presentan diferenciación. No obstante, hay ejemplos aislados entre procariotas unicelulares que ilustran el principio básico de la diferenciación, es decir, que una célula da lugar a dos descendientes genéticamente idénticos que desempeñan funciones diferentes y, por tanto, deben de expresar conjuntos de genes distintos. Vamos a analizar tres ejemplos bien conocidos: la formación de endósporas en la bacteria grampositiva *Bacillus,* la formación de dos tipos de células, unas con movilidad y otras inmóviles, en la bacteria gramnegativa *Caulobacter* y la formación de heterocistos en la cianobacteria fijadora de nitrógeno *Anabaena*.

Aunque la formación de solo dos tipos de células diferentes puede parecer superficialmente algo sencillo, los sistemas reguladores que controlan estos procesos son muy complejos. La regulación de la diferenciación consta de tres fases principales: 1) desencadenamiento de la respuesta, 2) desarrollo de la célula diferenciada y 3) comunicación recíproca entre las células no diferenciadas y las que se están diferenciando.

7.11 Esporulación en *Bacillus*

Muchos microorganismos, tanto procarióticos como eucarióticos, responden a las condiciones adversas mediante la conversión de células en crecimiento, llamadas *células vegetativas*, en esporas (↔ Sección 2.16). Cuando se vuelve a las condiciones favorables, la espora germina y el microorganismo regresa a su estilo de vida normal. Entre las bacterias, el género *Bacillus* es bien conocido por la formación de *endósporas*, que son esporas formadas en el interior de una célula madre. Antes de la formación de la endóspora, la célula se divide asimétricamente. La célula más pequeña se desarrolla para formar la endóspora, que está rodeada por la célula madre más grande. Cuando se ha completado el desarrollo, la célula madre se rompe y libera la endóspora.

Desarrollo de la endóspora

La formación de endósporas en *Bacillus subtilis* está desencadenada por condiciones adversas como la inanición, la desecación o las temperaturas que inhiben el crecimiento. Algunos factores ambientales son monitorizados por un grupo de cinco quinasas sensoras que funcionan a través de un sistema de relé de fosfotransferencia cuyo mecanismo recuerda al sistema regulador de dos componentes (Sección 7.7), pero es mucho más complejo (**Figura 7.25**). El resultado neto de muchas condiciones adversas es la fosforilación sucesiva de varias proteínas llamadas *factores de esporulación*, y culmina con el factor de esporulación Spo0A. Cuando Spo0A está muy fosforilado, se produce la esporulación. Spo0A controla la expresión de varios genes y el producto de uno de ellos, SpoIIE, tiene como función eliminar el fosfato de SpoIIAA. Esto permite a SpoIIAA que a su vez elimine un factor anti-sigma, SpoIIAB, y liberar el factor sigma σF, como veremos más adelante.

Una vez iniciado, el desarrollo de la endóspora está controlado por cuatro factores sigma diferentes, dos de los cuales, σF y σG, activan los genes necesarios en la propia endóspora en desarrollo, y otros dos, σE y σK, activan los genes necesarios para la célula madre que envuelve la endóspora (Figura 7.25*b*).

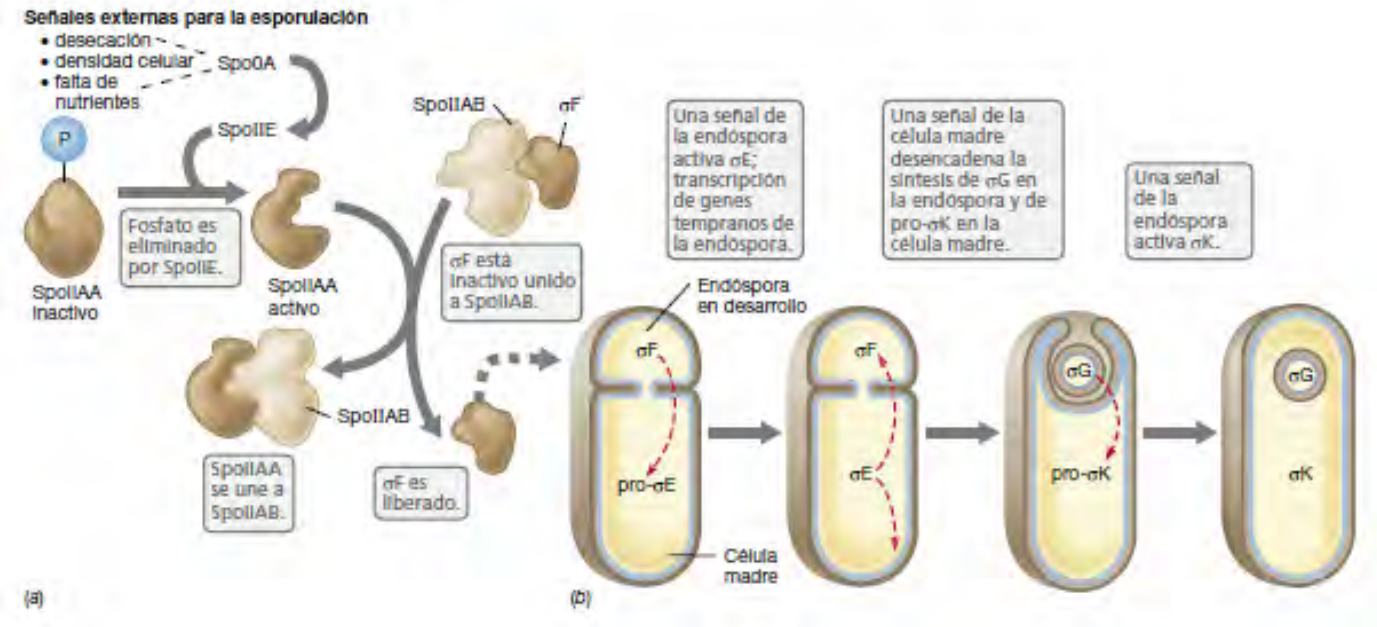


Figura 7.25 **Control de la formación de endósporas en *Bacillus*.** Cuando se recibe una señal externa determinada, una cascada de factores sigma (σ) controla la diferenciación. *(a)* La SpoIIAA activa se une al factor anti-sigma SpoIIAB, y libera el primer factor sigma, σF. *(b)* El factor sigma σF inicia una cascada de factores sigma, algunos de los cuales ya existen y necesitan ser activados, y otros no están aún presentes y sus genes tienen que expresarse. Después, estos factores σ promueven la transcripción de los genes necesarios para el desarrollo de la endóspora.

La señal de esporulación, transmitida a través de Spo0A, activa σF en la célula más pequeña, destinada a convertirse en endóspora (σF ya está presente, pero se encuentra inactiva, al estar unida a un factor anti-sigma, Figura 7.25*a*). Una vez libre, σF se une a la RNA-polimerasa y promueve la transcripción (en el interior de la pre-espora) de los genes cuyos productos serán necesarios en la siguiente etapa de la esporulación. Entre ellos se encuentra el gen del factor sigma σG y los genes de las proteínas que entran a la célula madre y activan el factor σE. El factor σE activo es necesario para la transcripción en el interior de la célula madre de más genes, incluido el gen del factor sigma σK. Los factores sigma σG (en la endóspora) y σK (en la célula madre) son necesarios para la transcripción de genes necesarios incluso más adelante en el proceso de esporulación (Figura 7.25). Finalmente, se forman todas las capas de la espora y otras estructuras exclusivas típicas de la endóspora (↔ Sección 2.16 y Tabla 2.3) y la espora madura se libera.

Nutrientes y formación de la endóspora

La limitación de nutrientes es un inductor común de la esporulación en *Bacillus* (↔ Sección 2.16). En este caso, ¿cómo adquieren las células nutrientes suficientes para completar la formación de endósporas? Un aspecto fascinante de la regulación de este proceso es otra acción reguladora en la que las células en proceso de esporulación canibalizan su propia especie. Aquellas células en las que Spo0A ya ha sido activada secretan una proteína que destruye células vecinas cuya proteína Spo0A no está aún activa. Esta proteína tóxica va acompañada por una segunda proteína que retrasa la esporulación de las células vecinas. Las células destinadas a la esporulación también sintetizan una proteína antitoxina para protegerse de los efectos de su propia toxina. Las células hermanas sacrificadas son utilizadas como fuente de nutrientes por las endósporas en desarrollo. De hecho, la escasez de determinados nutrientes, especialmente el fosfato, aumenta la expresión del gen que codifica la toxina.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cómo se expresan los diferentes grupos de genes en la endóspora en desarrollo y en la célula madre?
- ¿Qué es un factor anti-sigma y cómo se puede contrarrestar su efecto?

7.12 Diferenciación de *Caulobacter*

La bacteria gramnegativa *Caulobacter* nos ofrece otro ejemplo de célula que se divide en dos células hijas idénticas genéticamente que son estructuralmente distintas, desarrollan funciones diferentes y expresan conjuntos de genes distintos. *Caulobacter* es una especie de *Proteobacteria* común en ambientes acuáticos, normalmente en aguas muy pobres en nutrientes (oligotróficas) (↔ Sección 19.8). En el ciclo de vida de *Caulobacter*, las células nadadoras alternan con otras que carecen de flagelos y están unidas a superficies por un pedúnculo con un ancla en el extremo. La función de las células nadadoras es la dispersión, porque no pueden dividirse ni replicar su DNA. En cambio, la función de las células pedunculadas es la reproducción (**Figura 7.26**).

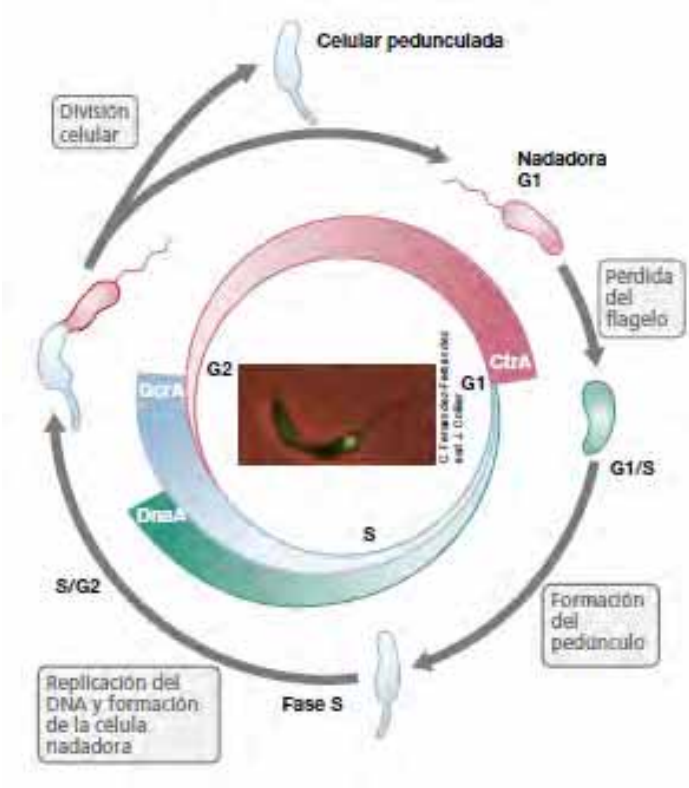


Figura 7.26 Regulación del ciclo celular de *Caulobacter*. Las cantidades de tres reguladores globales, CtrA, DnaA y GcrA, oscilan a lo largo del ciclo, como se muestra en la figura. G1 y G2 son las dos fases de crecimiento y S es la fase de síntesis del DNA. En las células nadadoras de G1, CtrA reprime la iniciación de la replicación del DNA y la expresión de GcrA. En la transición G1/S, CtrA es degradado y la cantidad de DnaA aumenta. DnaA se une al origen de replicación e inicia la replicación (véase la fotografía en el centro). GcrA también aumenta y activa los genes de la división celular y de la síntesis de DNA. En la transición S/G2, la cantidad de CtrA empieza a aumentar de nuevo y detiene la expresión de GcrA. La cantidad de GcrA disminuye lentamente en la célula pedunculada, pero es rápidamente degradada en las nadadoras. CtrA es degradada en la célula pedunculada. Fotografía en el centro: Usando fusión a la proteína verde fluorescente como reportera (Sección 7.1), se localiza una subunidad de la DNA polimerasa en el extremo de la célula pedunculada de *Caulobacter* donde ocurre la replicación del DNA. Cada célula *Caulobacter* del par de la división tiene aproximadamente 2 µm de longitud.

Características de la regulación

El ciclo de vida de *Caulobacter* está controlado por tres proteínas reguladoras principales cuyas concentraciones oscilan sucesivamente. Dos de ellas son los reguladores transcripcionales GcrA y CtrA. La tercera es DnaA, una proteína que opera con su función habitual en la replicación del DNA, y también como regulador transcripcional. Cada uno de estos reguladores está activo en una etapa específica del ciclo celular, y cada uno controla otros muchos genes necesarios en dicho ciclo en concreto.

CtrA se activa por fosforilación como respuesta a señales externas. Una vez fosforilada, CtrA-P activa los genes necesarios para la síntesis de los flagelos y de otras funciones de las células nadadoras. Por otra parte, reprime la síntesis de GcrA e inhibe la iniciación de la replicación del DNA uniéndose al origen de replicación y bloqueándolo (Figura 7.26). A medida

que se transcurre el ciclo celular, CtrA es degradada por una proteasa específica; en consecuencia, los niveles de DnaA aumentan. La ausencia de CtrA-P permite el acceso al origen cromosómico de la replicación y, como en todas las bacterias, DnaA se une al origen e induce la iniciación de la replicación del DNA (↻ Sección 4.5). Además, en *Caulobacter*, la DnaA activa algunos otros genes necesarios para la replicación cromosómica. La cantidad de DnaA desciende después a causa de la degradación por proteasas, y la cantidad de GcrA aumenta. El regulador GcrA promueve la fase de elongación de la replicación cromosómica, la división celular y el crecimiento del pedúnculo en la célula hija inmóvil. Finalmente, la cantidad de GcrA disminuye y aumenta de nuevo el contenido en CtrA (en la célula hija destinada a nadar) (Figura 7.26).

Caulobacter como un modelo para el ciclo celular eucariótico

Estímulos externos y factores internos como los niveles de nutrientes y metabolitos llevan a una coordinación precisa de los procesos metabólicos y morfológicos dentro del ciclo celular de *Caulobacter*. Como su genoma ha sido ya secuenciado y hay disponibles excelentes sistemas genéticos para la transferencia y análisis de genes, la diferenciación en *Caulobacter* se ha usado también como sistema modelo para estudiar el proceso de desarrollo celular en otros organismos. Este enfoque es debido al ciclo celular estricto que tiene *Caulobacter*, que se asemeja al de las células eucarióticas en muchos aspectos. De hecho, la terminología usada para describir el ciclo celular eucariótico ha sido adaptada del sistema en *Caulobacter*.

En las células eucariotas, en la fase G1 de la división celular el crecimiento y el metabolismo son normales mientras que en la fase G2 la célula se prepara para los procesos mitóticos siguientes, que ocurren en la fase M. Entre las fases G1 y G2 está la fase S, donde se produce la replicación del DNA. En el ciclo de vida de *Caulobacter* no hay mitosis, por supuesto, pero hay fases análogas a G1, G2 y S (Figura 7.26), y esto hace a esta bacteria un modelo excelente para estudiar la división celular en organismos superiores.

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué está regulada la cantidad de proteína DnaA durante el ciclo celular de *Caulobacter*?
- ¿Cuándo llevan a cabo sus funciones principales los reguladores CtrA y GcrA durante el ciclo de vida de *Caulobacter*?

7.13 Fijación de nitrógeno, nitrogenasas y formación de heterocistos

La fijación de nitrógeno es el proceso de reducción de N_2 a NH_3 para incorporarlo en moléculas biológicas. La fijación de nitrógeno es catalizada por la enzima *nitrogenasa*, que está compuesta de dos proteínas, *dinitrogenasa* y *dinitrogenasa reductasa* (↻ Sección 3.17). Debido a que el proceso de fijación de N_2 exige una gran cantidad de energía, la síntesis y actividad de las nitrogenasas y muchas otras enzimas necesarias para la fijación de N_2 están muy reguladas. La nitrogenasa es también inactivada por el oxígeno, por tanto, sería un gasto inútil sintetizar la enzima en condiciones aerobias.

Algunas cianobacterias filamentosas, como los géneros *Anabaena* y *Nostoc*, son capaces de fijar nitrógeno a pesar de que producen oxígeno durante la fotosíntesis. Para evitar esta incompatibilidad, estas cianobacterias desarrollan unas células dedicadas a fijar nitrógeno llamadas *heterocistos* a intervalos regulares a lo largo del filamento (véase la Figura 7.28*a*). Los heterocistos son anóxicos y carecen del fotosistema II, la serie de reacciones que llevan a la producción de O_2. Los heterocistos surgen de la diferenciación de células vegetativas que realizan la fotosíntesis normal (↻ Sección 14.2). Su desarrollo es un proceso coordinado que necesita la monitorización de las condiciones externas y de la señalización intercelular. Comenzaremos con la regulación de la nitrogenasa y terminaremos con el desarrollo del heterocisto.

Regulación de la síntesis de la nitrogenasa

Aunque la bacteria quimioorganótrofa *Klebsiella pneumoniae* no forma heterocistos, la regulación de sus nitrogenasas ha sido bien estudiada y será nuestro objetivo ahora. Los genes para la fijación de nitrógeno forman un regulón (Sección 7.4) denominado regulón *nif*, el cual ocupa 24 kbp en el DNA y contiene 20 genes dispuestos en operones de tal modo que los genes cuyos productos tienen funciones similares son cotranscritos (**Figura 7.27**). Además de los genes estructurales de la nitrogenasa, en el regulón del *nif* también están presentes los genes para la síntesis de FeMo-co (FeMo-co es un cofactor necesario para la función de las nitrogenasas, ↻ Sección 3.17), los genes que controlan las proteínas del transporte de electrones, y una serie de genes reguladores. Dentro del regulón, los genes *nifD* y *nifK codifican* la dinitrogenasa, mientras que el gen *nifH* codifica la dinitrogenasa reductasa. El FeMo-co se sintetiza con la participación de varios genes, entre ellos *nifN*, *V*, *Z*, *W*, *E*, *B* y *Q*.

La nitrogenasa tiene una regulación muy estricta. El O_2 y algunas formas de nitrógeno fijado, como el NH_3, el NO_3^- y algunos aminoácidos, reprimen la fijación de nitrógeno. La mayor parte de esta regulación se realiza sobre la expresión de los genes estructurales *nif*, cuya transcripción se activa por la proteína reguladora *positiva* NifA (Figura 7.27). En cambio, NifL es un regulador *negativo* de la expresión del gen *nif* y contiene una molécula de FAD (recuérdese que el FAD es una coenzima rédox de las flavoproteínas, ↻ Sección 3.10) que funciona como un sensor del O_2. Si hay suficiente O_2, NifL FAD es oxidada y la proteína puede reprimir entonces la transcripción de otros genes *nif*, lo que bloquea la síntesis de la nitrogenasa, que es sensible al oxígeno.

El amoníaco impide la fijación del N2 mediante una segunda proteína, llamada NtrC, cuyos genes no son parte del operón *nif*. La actividad de NtrC está regulada por el estado del nitrógeno de la célula. Cuando el NH_3 escasea, se activa NtrC y favorece la transcripción de *nifA*, que codifica NifA, la proteína activadora de la fijación del nitrógeno, y comienza la transcripción de *nif*. Por sí mismo, el NH_3 producido por la nitrogenasa (↻ Figura 3.33) no bloquea la síntesis de la enzima porque, en cuanto aparece, se incorpora a los aminoácidos y se utiliza para la biosíntesis. Pero cuando hay un exceso de NH_3 (como en los ambientes naturales o los medios de cultivo con una

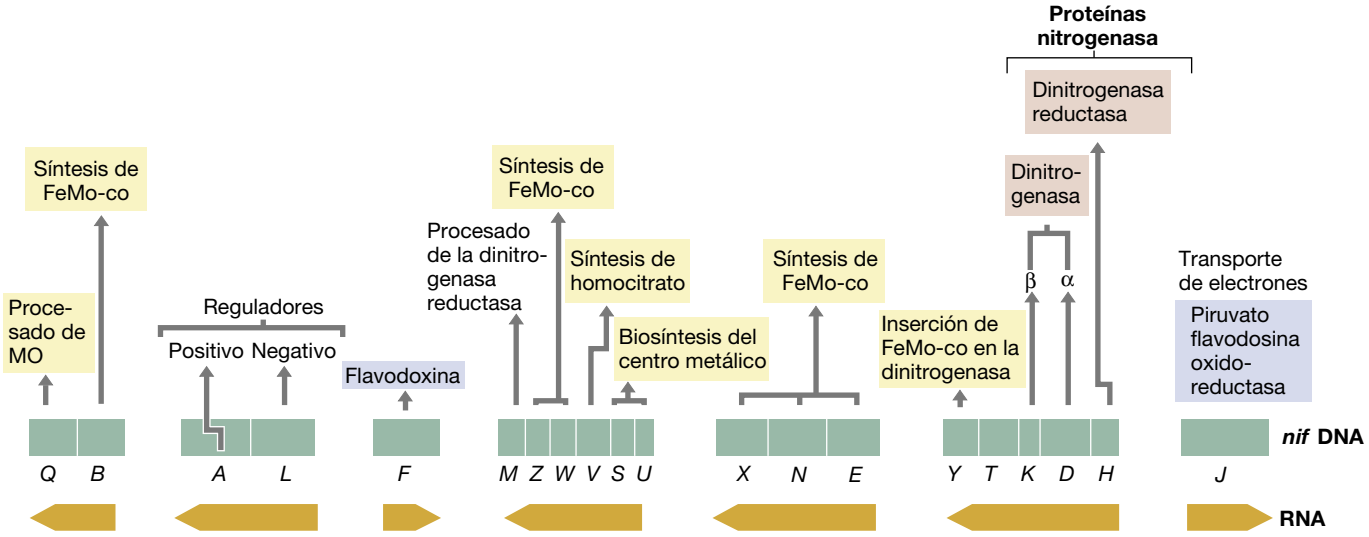


Figura 7.27 **El regulón *nif* de *Klebsiella pneumoniae*, la bacteria fijadora de nitrógeno más estudiada.** Se desconoce la función del producto del gen *nifT*. Los ARNm que se transcriben se muestran por debajo de los genes; las flechas indican la dirección de la transcripción. Las proteínas que catalizan la síntesis del FeMo-co se muestran en amarillo.

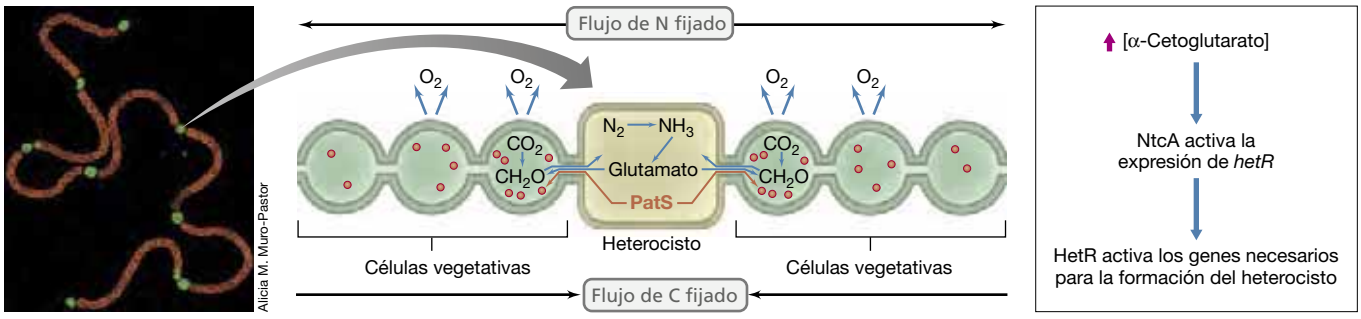
concentración elevada de amoníaco), se reprime la síntesis de la nitrogenasa. De este modo, no se malgasta ATP en sintetizar amoníaco cuando ya está disponible en grandes cantidades.

Formación del heterocisto

La formación de heterocistos en las cianobacterias filamentosas necesita de numerosos cambios metabólicos y morfológicos que son regulados por una red de sistemas que perciben las condiciones externas y las moléculas señaladoras intracelulares. Este proceso incluye la formación de una gruesa envoltura que impide la difusión de O_2 hacia el interior de la célula, la inactivación del fotosistema II, la expresión de la nitrogenasa y «modelar» la diferenciación del heterocisto a lo largo del filamento (**Figura 7.28*a***). Debido a que los heterocistos y las células vegetativas adyacentes pueden intercambiar nutrientes, deben iniciarse otras etapas reguladoras para impedir que las células vegetativas vecinas se conviertan también en heterocistos.

La cascada de procesos que conducen a la formación del heterocisto se inicia por una limitación de nitrógeno, lo cual es detectado por un aumento en la célula de los niveles de α-cetoglutarato, la molécula aceptora para la formación de glutamato. Cuando la célula esta carente de nitrógeno, el α-cetoglutarato se acumula y activa el regulador global de la transcripción NtcA. Este activa entonces la transcripción del gen *hetR*, que codifica HetR, que es el principal regulador transcripcional que controla la formación del heterocisto. HetR activa una cascada de genes necesarios para la diferenciación del heterocisto, la expresión de la citocromo *c* oxidasa que elimina el O_2, así como la expresión del operón *nif* (Figura 7.27) para la síntesis de la nitrogenasa (Figura 7.28*c*).

El desarrollo del heterocisto en *Anabaena* es inducido por la escasez de nitrógeno, y solamente algunas células específicas dentro del filamento forman los heterocistos. Curiosamente, esto ocurre siguiendo un patrón bastante constante



(*a*) **Un filamento de *Anabaena***

(*b*) **Interacciones heterocisto-célula vegetativa**

(*c*) **Inducción de la formación del heterocisto**

Figura 7.28 **Regulación de la formación del heterocisto.** *(a)* Microscopía de fluorescencia que muestra filamentos de *Anabaena* que expresan la proteína verde fluorescente unida a genes específicos del heterocisto. Las células vegetativas son rojas debido a la fluorescencia de la clorofila *a*. *(b)* Dispersión de las moléculas en los heterocistos. El carbono procedente de la fotosíntesis fijado en las células vegetativas se transfiere al heterocisto, mientras que el nitrógeno producido por el heterocisto es compartido con las células vegetativas. La proteína PatS, que es sintetizada por el heterocisto, también se dispersa a las células vegetativas vecinas donde inhibe la expresión de los genes necesarios para la formación del heterocisto. *(c)* Cascada de las fases de activación de los genes necesarios para la formación del heterocisto. La cascada se inicia por un incremento en la concentración de α-cetoglutarato.

(Figura 7.28*a*) y está bajo un control estricto. Las conexiones entre las células de un filamento de *Anabaena* permiten a las células vegetativas proveer de carbón fijado al heterocisto (como un donador de electrones para la fijación de N_2) a cambio de nitrógeno fijado. Sin embargo, las conexiones de las células también permiten la comunicación intercelular mediante moléculas reguladoras. En este sentido, las células en diferenciación producen un péptido pequeño llamado PatS que se difunde desde el heterocisto en desarrollo para formar un gradiente a lo largo de las células vegetativas del filamento (Figura 7.28*b*). Se cree que PatS inhibe la diferenciación en las células vegetativas impidiendo que HetR active los genes necesarios para la formación del heterocisto. Un segundo regulador llamado PatA, que es un regulador de respuesta análogo al regulador de respuesta en la quimiotaxia CheY (Figura 7.19), también participa en el desarrollo del patrón de los heterocistos. PatA promueve la actividad de HetR, disminuye la actividad de PatS, y puede también participar en la división celular.

A pesar que otros aspectos de la regulación de la formación del heterocisto están aún bajo estudio, la conversión de células vegetativas en heterocistos en las cianobacterias es un ejemplo excepcional de un patrón multicelular entre los procariotas.

V • Regulación basada en el RNA

Hasta aquí hemos analizado los mecanismos reguladores en los que las proteínas detectan señales o se unen al DNA. En algunos casos, una sola proteína desempeña estas dos funciones; en otros, hay proteínas independientes para cada una de ellas. Sin embargo, todos estos mecanismos dependen de *proteínas reguladoras*. No obstante, en algunos casos el propio RNA puede regular la expresión génica, tanto a nivel de la transcripción como de la traducción.

Las moléculas de RNA que no se traducen para dar proteínas se conocen en conjunto como **RNA no codificante** (**ncRNA**). Esta categoría incluye las moléculas de rRNA y de tRNA que participan en la síntesis de proteínas, así como el RNA presente en la partícula de reconocimiento de señal, que cataliza algunos tipos de secreción de proteínas (↔ Sección 4.14). El RNA no codificante también incluye las moléculas de RNA pequeño necesarias para el procesamiento del RNA, especialmente el empalme del mRNA en eucariotas. Los *RNA pequeños* (sRNA) tienen una longitud aproximada de entre 40 y 400 nucleótidos y regulan la expresión génica tanto en procariotas como en eucariotas. En *Escherichia coli*, por ejemplo, una serie de moléculas de sRNA regulan distintos aspectos de la fisiología celular como respuesta a señales ambientales o celulares; lo hacen uniéndose a otros RNA o en algunos casos a otras moléculas pequeñas, todo ello para controlar la expresión génica.

7.14 RNA reguladores: RNA pequeños y RNA antisentido

Los RNA pequeños (sRNA) ejercen su función mediante el apareamiento de bases directamente con otras moléculas de RNA, normalmente mRNA, que tienen regiones con complementariedad de secuencia. Esta unión modula al momento la velocidad de la traducción del mRNA complementario, porque el ribosoma no pude traducir RNA de cadenas dobles. Por tanto, los sRNA brindan un mecanismo adicional para regular la síntesis de proteínas una vez que el mRNA correspondiente ha sido ya transcrito.

Mecanismos de la actividad del sRNA

Los RNA pequeños alteran, mediante cuatro mecanismos distintos, la traducción de las moléculas de mRNA a las que se unen (Figura 7.29). Algunos sRNA se unirán a su mRNA complementario ya sea cambiando su estructura secundaria para

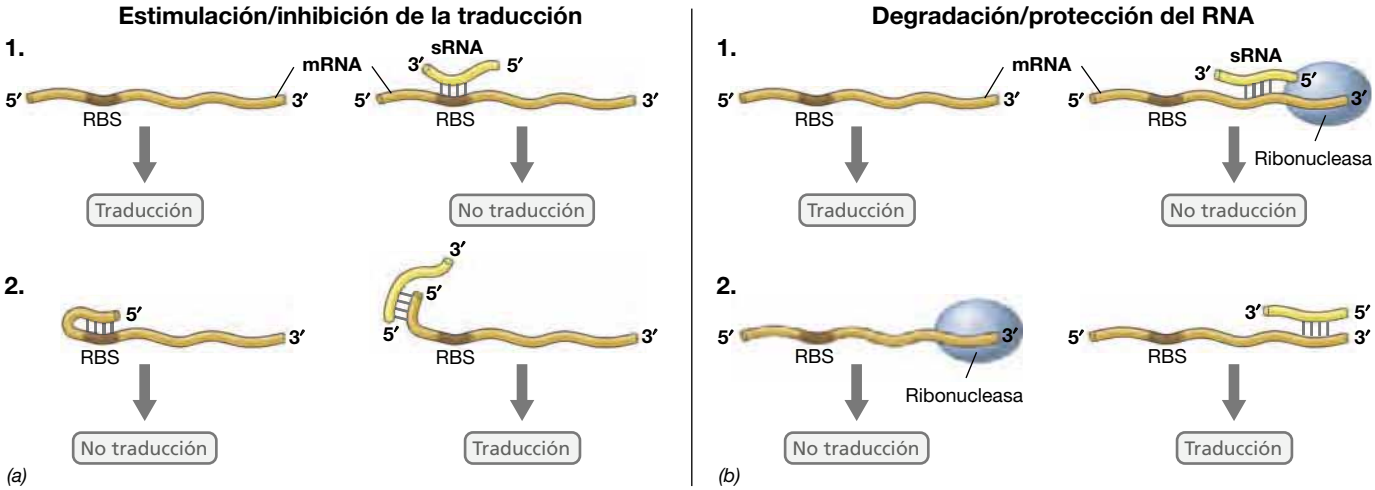


Figura 7.29 **Mecanismos del RNA pequeño (sRNA) para modular la traducción del mRNA.** *(a)* La unión del ribosoma al mRNA necesita que el sitio de unión al ribosoma (RBS) del mRNA sea de cadena sencilla. La unión de un sRNA al RBS (mostrado en 1) puede inhibir la traducción, mientras que la unión de un sRNA a un mRNA cuyo RBS tiene una estructura secundaria (mostrado en 2) puede estimular la traducción. *(b)* La ribonucleasa degrada el RNA. La unión de la ribonucleasa a RNA de doble cadena parcial causa la degradación del RNA (mostrado en 1), mientras que la unión de un sRNA al sitio de unión de la ribonucleasa (mostrado en 2) puede proteger el mRNA de la degradación.

bloquear el sitio de unión al ribosoma (RBS) (↩ Sección 4.11) que estaba previamente accesible o abriendo un RBS previamente bloqueado, lo que permite el acceso del ribosoma. Estos dos procesos disminuyen o aumentan respectivamente la expresión de las proteínas codificadas en el mRNA complementario. Los otros dos mecanismos de interacción del sRNA afectan la estabilidad del mRNA. La unión del sRNA a sus secuencias complementarias puede aumentar o disminuir la degradación del transcrito por las ribonucleasas bacterianas, modulando por tanto la expresión de la proteína. Un aumento en la degradación del mRNA impide la síntesis de nuevas proteínas a partir de esa molécula de mRNA. Alternativamente, un aumento en la estabilidad del mRNA conllevará niveles mayores en la célula de la proteína correspondiente (Figura 7.29).

Tipos de RNA pequeños

Los RNA pequeños (sRNA) que son sintetizados transcribiendo la cadena no molde del mismo gen que produce un determinado mRNA se conocen como RNA pequeños *antisentido* y son por tanto complementarios en su secuencia. La transcripción del RNA antisentido se ve estimulada en condiciones en las que los genes diana necesitan ser desactivados. Así, por ejemplo, el RNA antisentido RyhB de *Escherichia coli* se transcribe cuando el hierro resulta limitante para el crecimiento. Lo hace uniéndose a varios mRNA complementarios que codifican proteínas necesarias para el metabolismo del hierro o que utilizan el hierro como cofactor. La unión del sRNA RyhB bloquea el RBS del mRNA y por tanto inhibe la traducción (Figura 7.29). Las moléculas apareadas RyhB/mRNA son degradadas a continuación por ribonucleasas, en concreto la ribonucleasa E. Esto forma parte del mecanismo mediante el cual *E. coli* y otras bacterias relacionadas responden a la escasez de hierro. Otras respuestas a la limitación de hierro en *E. coli* incluyen el control transcripcional con proteínas represoras y activadoras (Secciones 7.3 y 7.4) que actúan disminuyendo o aumentando respectivamente la capacidad de las células para captar hierro o acceder a las reservas intracelulares de hierro.

Hay otros sRNAs llamados *trans-sRNAs* que están codificados en regiones intergénicas y pueden estar separados espacialmente de su mRNA complementario. Por tanto, estos sRNAs usualmente tienen una complementariedad limitada con la molécula con la que interaccionan y solo puueden aparearse con regiones de 5 a 11 nucleótidos. La unión de los trans-sRNAs a su región complementaria muchas veces depende de una proteína pequeña llamada Hfq (**Figura 7.30**) que se une a ambas moléculas de RNA para facilitar su interacción. Dicha proteína forma anillos hexaméricos con los sitios de unión del RNA en ambas superfícies. Hfq y otras proteínas semejantes en cuanto a su funcionalidad son denominadas *chaperonas de RNA*, ya que ayudan a moléculas pequeñas de RNA, incluidos muchos sRNA, a mantener su estructura correcta (Figura 7.30).

Los RNA pequeños no siempre actúan sobre el mRNA. Por ejemplo, la replicación del plásmido con alto número de copias ColE1 en *Escherichia coli* está regulada por un sRNA que inicia la síntesis del DNA en el plásmido y por su pareja antisentido que bloquea la iniciación de la síntesis del DNA. Los niveles de RNA antisentido determinan la frecuencia de inicio de la replicación. Algunos sRNA también se unen a proteínas para modular su actividad.

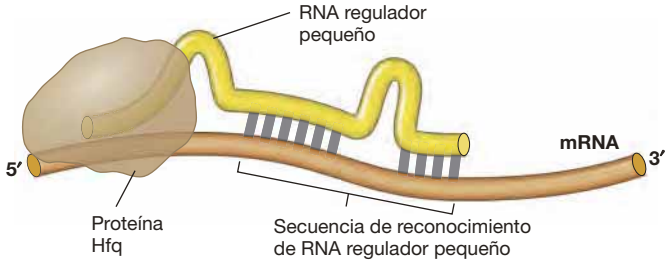


Figura 7.30 La chaperona Hfq de RNA mantiene los RNA juntos. Para la unión de un RNA pequeño (sRNA) a un mRNA frecuentemente se necesita la proteína Hfq. Las moléculas de RNA pequeños tienen usualmente varias estructuras tipo tallo-bucle. Una consecuencia de ello es que la secuencia de bases complementarias que reconoce el mRNA no es contigua.

MINIRREVISIÓN

- ¿De qué modo los sRNA modifican la traducción de sus mRNA complementarios?
- ¿Por qué los trans-sRNAs necesitan con frecuencia de proteínas chaperonas?

7.15 Interruptores de RNA

El RNA puede llevar a cabo muchas funciones que se creía que eran exclusivas de las proteínas. En concreto, el RNA puede reconocer específicamente otras moléculas, incluidos metabolitos de bajo peso molecular, y unirse a ellas. Conviene destacar que estas uniones no necesitan apareamiento de bases complementarias (como ocurre con los sRNA descritos en la sección anterior), sino que son consecuencia del plegamiento del RNA en una estructura tridimensional específica que reconoce la molécula diana, de modo muy parecida a cómo una enzima reconoce su sustrato. Las moléculas de RNA que tienen actividad catalítica se llaman *ribozimas*. Otras moléculas de RNA se parecen a los represores y a los activadores en que se unen a metabolitos pequeños y regulan la expresión génica. Estas moléculas son los **interruptores de RNA** (en inglés *riboswitches*).

Los interruptores de RNA contienen regiones anteriores a las secuencias codificantes que pueden plegarse en estructuras tridimensionales específicas y unir pequeñas moléculas. Estos dominios de reconocimiento son interruptores de RNA y existen con dos estructuras alternativas, una con la molécula pequeña unida y la otra sin ella (**Figura 7.31**). La alternancia entre las dos formas del interruptor de RNA depende, pues, de la presencia o ausencia de la molécula pequeña, que a su vez controla la expresión del mRNA. Se han encontrado interruptores de RNA que controlan la síntesis de enzimas de las rutas biosintéticas de varias vitaminas, de algunos aminoácidos, algunas bases nitrogenadas, y de un precursor en la síntesis del peptidoglicano (**Tabla 7.3**).

Mecanismo de los interruptores de RNA

Anteriormente en este capítulo, hemos analizado la regulación de la expresión génica por control negativo de la transcripción (Sección 7.3). En este caso, la presencia de un metabolito específico interacciona con una proteína represora específica e impide la transcripción de los genes que codifican enzimas para

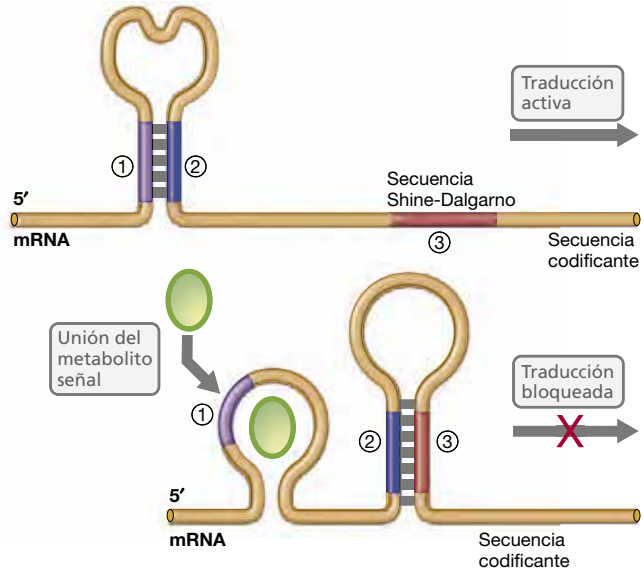


Figura 7.31 **Regulación por interruptor de RNA.** La unión de un metabolito específico altera la estructura secundaria del dominio del interruptor de RNA, que está situado en la región 5′ sin traducir del mRNA e impide la traducción. Los números indican las regiones del interruptor de RNA que pueden aparearse juntas. La secuencia de Shine-Dalgarno es el lugar en el que el ribosoma se une al RNA.

Tabla 7.3 Interruptores de RNA en rutas biosintéticas de *Escherichia coli*

Tipo	*Ejemplo*
Vitaminas	Cobalamina (B_{12}), tetrahidrofolato (ácido fólico), tiamina
Aminoácidos	Glutamina, glicina, lisina, metionina
Bases nitrogenadas de los ácidos nucleicos	Adenina, guanina (purinas)
Otros	Flavín mononucleótido (FMN), *S*-adenosilmetionina (SAM), glucosamina 6-fosfato (precursor del peptidoglicano), di-GMP cíclico (molécula señalizadora en la formación del biofilm)

la ruta biosintética de aquel metabolito. En cambio, en el caso de un interruptor de RNA, no existe ninguna proteína reguladora, sino que el metabolito se une directamente al interruptor en el extremo 5′ del mRNA. Los interruptores de RNA normalmente ejercen su control cuando el mRNA ya ha sido sintetizado. Por tanto, la mayoría funcionan controlando la *traducción* del mRNA en lugar de su *transcripción* (Figura 7.31).

El metabolito que va unido al interruptor de RNA es normalmente el producto de una ruta biosintética cuyas enzimas constituyentes están codificadas por los mRNA portadores de los interruptores correspondientes. Por ejemplo, el interruptor de RNA de tiamina que se une al pirofosfato de tiamina se encuentra en las zonas anteriores a las secuencias codificantes de las enzimas que participan en la ruta biosintética de la tiamina. Cuando la reserva de pirofosfato de tiamina en la célula es suficiente, este metabolito se une a su interruptor específico en el mRNA. La nueva estructura secundaria del interruptor de RNA bloquea la secuencia de unión al ribosoma en el mRNA e impide que el mRNA se una al ribosoma, lo que, a su vez, impide la traducción (Figura 7.31). Si la concentración de pirofosfato de tiamina desciende lo suficiente, esta molécula puede disociarse de su mRNA interruptor. Esto provoca el desplegamiento del mRNA y la exposición de la secuencia de unión, de manera que el mRNA se puede unir al ribosoma y ser traducido.

A pesar de formar parte del mRNA, algunos interruptores de RNA sí que controlan la transcripción. El mecanismo es similar al que hemos visto en la atenuación (Sección 7.16) donde un cambio conformacional en el interruptor de RNA causa la terminación prematura de la síntesis del mRNA que lo contiene.

Interruptores de RNA y evolución

¿Cómo de extendidos están los interruptores de RNA y cómo se originaron? Hasta ahora, los interruptores de RNA se han encontrado únicamente en algunas bacterias, y en unas pocas plantas y hongos. Algunos científicos creen que se trata de reminiscencias del mundo de RNA, un período de hace miles de millones de años, antes de la existencia de las células, el DNA y las proteínas, cuando se supone que los RNA catalíticos eran la única forma de vida autorreplicante. En aquel ambiente, los interruptores de RNA pueden haber sido un mecanismo primitivo de control metabólico, un medio sencillo por el que las formas de vida de RNA podrían haber controlado la síntesis de otros RNA. A medida que se originaron las proteínas, los interruptores de RNA podrían haber sido también los primeros mecanismos de control para la síntesis de estas. Si esto fue así, los interruptores de RNA de hoy en día pueden ser los últimos vestigios de esta forma sencilla de control porque, como hemos visto en este capítulo, la regulación metabólica, excepto en este caso, es llevada a cabo exclusivamente por *proteínas* reguladoras.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué ocurre cuando un interruptor de RNA se une al metabolito pequeño que lo regula?
- ¿Cuáles son las diferencias principales entre la acción de una proteína represora y la de un interruptor de RNA en el control de la expresión génica?

7.16 Atenuación

La **atenuación** es una forma de control transcripcional en *Bacteria* (y probablemente en *Archaea* también) que funciona por terminación prematura de la síntesis de mRNA. Es decir, en la atenuación, el control es ejercido *después* de la iniciación de la transcripción, pero *antes* de su finalización. En consecuencia, el número de transcritos terminados procedentes de un operón se reduce, aunque el número de transcritos iniciados no disminuya.

El principio básico de la atenuación es que la primera parte del mRNA que se va a sintetizar, llamada región *líder*, puede plegarse en dos estructuras secundarias alternativas. En este aspecto, el mecanismo de atenuación recuerda al de los interruptores de RNA (Figura 7.31). En la atenuación, una estructura secundaria del mRNA permite la síntesis continuada del

mRNA, mientras que la otra estructura secundaria causa la terminación prematura. Según el organismo, el plegamiento del mRNA depende de lo que sucede en el ribosoma o bien de la actividad de proteínas reguladoras. Entre los mejores ejemplos de atenuación está la regulación de genes que controlan la biosíntesis de determinados aminoácidos en las *Bacteria* gramnegativas. El primero de estos sistemas que se describió se encontró en el operón triptófano de *Escherichia coli*, y vamos a centrarnos en él. Como los procesos de transcripción y traducción están separados espacialmente en los eucariotas, el control por atenuación está ausente en *Eukarya*.

La atenuación en el operón triptófano

El operón triptófano contiene genes estructurales para cinco proteínas de la ruta biosintética del triptófano, más el promotor habitual y las secuencias reguladoras al principio del operón (**Figura 7.32**). Como muchos operones, el operón triptófano tiene más de un tipo de regulación. La transcripción de todo el operón triptófano se regula por control negativo (Sección 7.3). No obstante, además de las regiones promotora y operadora necesarias para el control negativo, hay una secuencia en el operón llamada *secuencia líder* que codifica un polipéptido corto, el *péptido líder*. La secuencia líder contiene codones de triptófano en tándem cerca de su extremo terminal y funciona como un atenuador (Figura 7.32).

La base del control del atenuador de triptófano es la siguiente. Si el triptófano es abundante en la célula, habrá una reserva suficiente de tRNA cargado con triptófano y se sintetizará el péptido líder. Dicha síntesis causa la terminación de la transcripción del operón *trp* restante, que incluye los genes estructurales para las enzimas biosintéticas. Por otra parte, si el triptófano es escaso, no se sintetizará el péptido líder rico en triptófanoy se transcribirá el resto del operón.

Mecanismo de atenuación

¿Cómo puede la traducción del péptido líder regular la transcripción de los genes de triptófano que hay a continuación? Consideremos que en las células procariotas la transcripción y la traducción son procesos simultáneos; a medida que el mRNA es liberado del DNA, el ribosoma se une a él y empieza la traducción (↻ Sección 4.13). Es decir, mientras que aun se está realizando la *transcripción* de las secuencias posteriores del DNA, ya ha empezado la *traducción* de las secuencias transcritas (**Figura 7.33**).

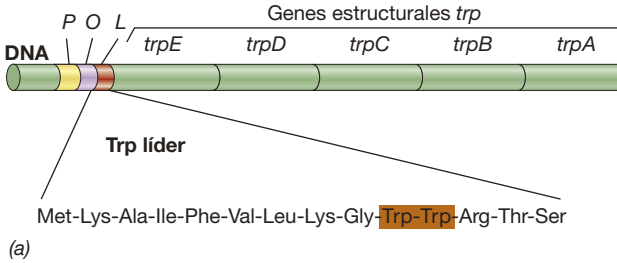


Figura 7.32 **Atenuación y péptidos líder en *Escherichia coli*.** Estructura del operón triptófano (*trp*) y del péptido líder del triptófano y de otros péptidos líder de *E. coli*. *(a)* Disposición del operón *trp*. Obsérvese que el líder (L) codifica un pequeño péptido que contiene dos residuos de triptófano cerca del extremo terminal (después del codón Ser hay un codón de parada). El promotor está representado por una *P* y el operador por una *O*. Los genes marcados del *trpE* al *trpA* codifican las enzimas necesarias para la síntesis de triptófano. *(b)* Secuencias de aminoácidos de los péptidos líder de algunos operones para la síntesis de aminoácidos. Como la isoleucina se sintetiza a partir de la treonina, es un importante constituyente del péptido líder de la treonina.

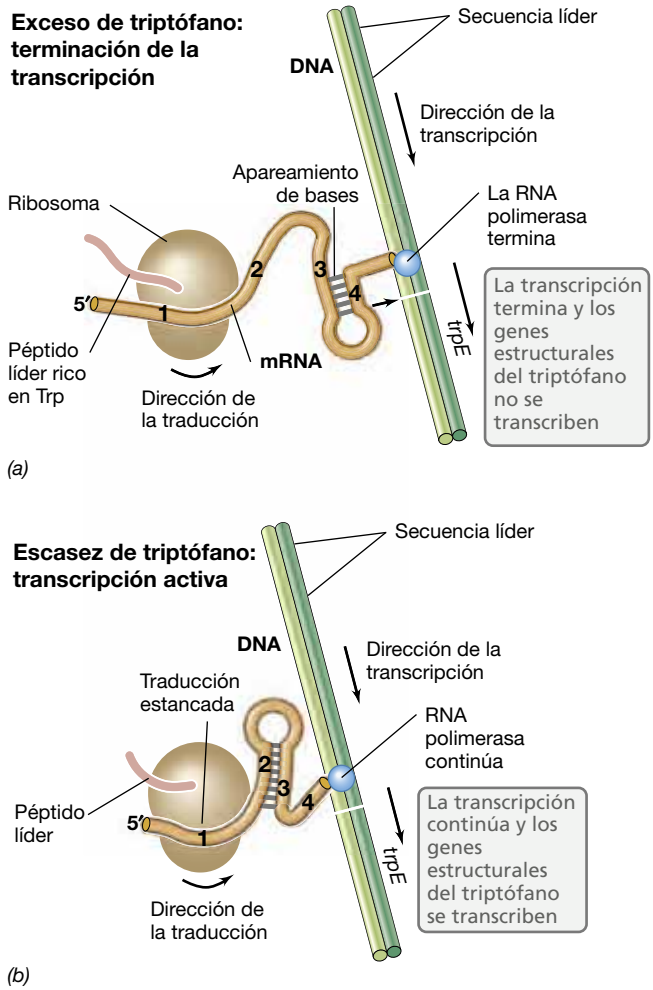


Figura 7.33 **Mecanismo de la atenuación.** Control de la transcripción de los genes estructurales del operón triptófano (*trp*) por atenuación en *Escherichia coli*. Las regiones 1 y 2 del mRNA codifican el péptido líder. Hay dos regiones de la cadena de mRNA en crecimiento capaces de formar bucles de doble cadena, mostrados como 3:4 y 2:3. *(a)* Cuando hay un exceso de triptófano, el ribosoma traduce el péptido líder completo, de manera que la región 2 no puede aparearse con la región 3. Las regiones 3 y 4 se aparean entonces para formar un bucle que detiene la transcripción. *(b)* Si la traducción se estanca debido a la carencia de triptófano, se forma un bucle por apareamiento de las regiones 2 y 3; el bucle 3:4 no se forma y la transcripción procede más allá la secuencia líder.

La atenuación de la transcripción se produce porque una porción del mRNA recién formado se pliega en una estructura tallo-bucle especial que inhibe la actividad de la RNA-polimerasa. Esta estructura tallo-bucle se forma en el mRNA porque hay dos secuencias de nucleótidos cercanas entre sí que son complementarias y pueden aparearse. Si el triptófano es abundante, el ribosoma traducirá la secuencia líder hasta llegar al codón de parada líder. El resto del RNA líder adopta entonces una estructura tallo-bucle, un centro de pausa de la transcripción, que va seguido de una secuencia con abundantes uracilos que es la que en realidad causa la terminación (Figura 7.33*a*).

Si el triptófano es escaso, obviamente es deseable la transcripción de los genes que codifican las enzimas para la síntesis del triptófano. Durante la transcripción del líder, el ribosoma se detiene en un codón de triptófano debido a la escasez de tRNA cargados con triptófano. La presencia del ribosoma estancado en esta posición permite la formación de una estructura tallo-bucle diferente del tallo-bucle terminador (sitios 2 y 3 en la Figura 7.33*b*). Esta estructura alternativa no es una señal de terminación de la transcripción, sino que impide la formación de la estructura tallo-bucle terminadora (sitios 3 y 4 de la Figura 7.33*a*). Esto permite a la RNA-polimerasa desplazarse más allá del sitio de terminación y empezar la transcripción de los genes estructurales del triptófano. Así pues, en el control por atenuación, la velocidad de la transcripción está influida por la velocidad de la traducción.

MINIRREVISIÓN

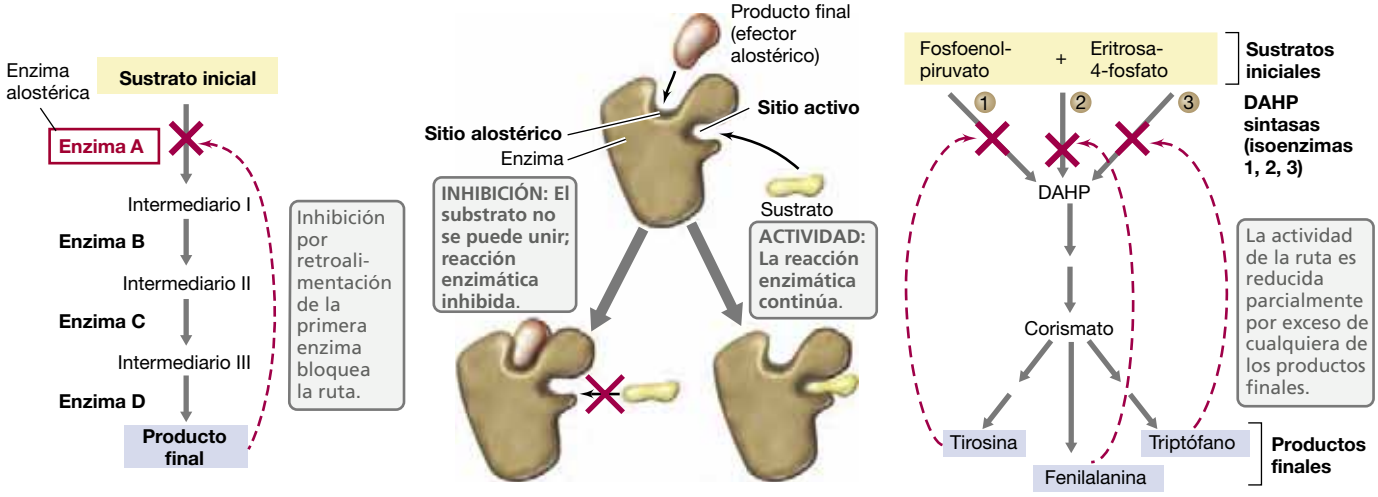
- ¿Por qué el control de la atenuación no se da en los eucariontas?
- Explique cómo la formación de una estructura tallo-bucle en el RNA puede bloquear la formación de otra.

VI • Regulación de enzimas y otras proteínas

Hemos visto algunos de los mecanismos básicos que controlan la *cantidad* (o incluso la total ausencia o presencia) de una enzima u otra proteína dentro de la célula. Aquí nos centraremos en los mecanismos que la célula emplea para controlar la *actividad* de enzimas que ya existen en la célula a través de procesos como la inhibición por retroalimentación y la regulación post-traduccional.

7.17 Inhibición por retroalimentación

Un mecanismo importante para el control de la actividad enzimática es la **inhibición por retroalimentación**, que detiene temporalmente las reacciones de una ruta biosintética completa. Las reacciones se detienen porque un exceso del producto final de la vía inhibe la actividad de una enzima de las primeras fases (normalmente la *primera* enzima) de esta ruta. La inhibición de una etapa temprana silencia de modo eficaz toda la ruta porque no se generan intermediarios para otras enzimas que actúan posteriormente en la vía (**Figura 7.34*a***). Sin embargo, la inhibición por retroalimentación es reversible y cuando los niveles del producto final son de nuevo limitantes la ruta vuelve a ser funcional.



(a) **Inhibición por retroalimentación** *(b)* **Inhibición alostérica** *(c)* **Inhibición por isoenzimas**

Figura 7.34 **Inhibición de la actividad enzimática.** *(a)* En la inhibición por retroalimentación, la actividad de la primera enzima de la ruta es inhibida por el producto final, bloqueando así la producción de los tres intermediarios y del producto final. *(b)* Mecanismo de inhibición alostérica por el producto final de una ruta. Cuando el producto final se combina con el sitio alostérico, se altera la conformación de la enzima de modo que el sustrato ya no se puede unir al centro activo. Sin embargo, la inhibición es reversible, y una escasez del producto final volverá a activar la enzima. *(c)* Inhibición por isoenzimas. La ruta que conduce a la síntesis de aminoácidos aromáticos en *Escherichia coli* contiene tres isoenzimas de DAHP sintasa; cada una de ellas es inhibida específicamente por retroalimentación por uno de los aminoácidos aromáticos. Sin embargo, obsérvese que un exceso de los tres aminoácidos es necesario para bloquear completamente la síntesis de DAHP. Además de la inhibición por retroalimentación en el sitio del DAHP, cada aminoácido inhibe también por retroalimentación su metabolismo ulterior en las etapas del corismato.

¿Cómo puede el producto final de una ruta inhibir la actividad de una enzima cuyo sustrato no guarda relación con él? Eso es posible porque la enzima inhibida tiene dos sitios de unión, el *sitio activo* (donde se une el sustrato, ↩ Sección 3.5) y el *sitio alostérico*, donde se une el producto final de la vía. Cuando hay un exceso del producto final, este se une al sitio alostérico, cambiando la conformación de la enzima de modo que el sustrato ya no se puede unir al sitio activo (Figura 7.34*b*). Cuando la concentración del producto final comienza a descender en la célula, el producto final ya no se unirá más al sitio alostérico y por tanto la enzima vuelve a su forma catalítica y recobra su actividad.

Isoenzimas

Algunas rutas biosintéticas controladas mediante inhibición por retroalimentación emplean *isoenzimas* («iso» significa «igual»). Las isoenzimas son proteínas diferentes que catalizan la misma reacción pero que están sujetas a diferentes controles de regulación. Algunos ejemplos son las enzimas necesarias para la síntesis de los aminoácidos aromáticos tirosina, triptófano y fenilalanina en *Escherichia coli* (Figura 7.34*c*).

La enzima 3-desoxi-D-arabino-heptulosonato-7-fosfato (DAHP) sintasa desempeña un papel central en la biosíntesis de los aminoácidos aromáticos. En *E. coli* tres isoenzimas DAHP sintasas catalizan la primera reacción de esa vía, y cada una es regulada independientemente por solo uno de los aminoácidos que son productos terminales. Sin embargo, a diferencia del ejemplo de inhibición por retroalimentación, donde el producto final inhibe por completo la actividad enzimática, en el caso de la DAPH sintasa, la actividad disminuye de forma escalonada; la actividad enzimática cae a cero solo cuando *los tres* productos están presentes en exceso (Figura 7.34*c*).

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué es una inhibición por retroalimentación?
- ¿Cuál es la diferencia entre un sitio alostérico y un sitio activo?

7.18 Regulación post-traduccional

Algunas enzimas biosintéticas están reguladas por modificación covalente, generalmente por unión o eliminación de alguna pequeña molécula de la proteína, lo que afecta la actividad enzimática. Ya hemos visto la *fosforilación*, un mecanismo muy común para regular las proteínas después de la traducción, cuando consideramos los sistemas de regulación de dos componentes (Sección 7.7). Las enzimas biosintéticas pueden también ser reguladas por la unión de otras moléculas pequeñas, como los nucleótidos monofosfato de adenosina (AMP) y difosfato de adenosina-(ADP), o por metilación. Aquí consideraremos el caso bien estudiado de la glutamina sintetasa, una enzima fundamental en la asimilación del amoníaco (NH_3) (↩ Sección 3.15) y cuya actividad es modulada por AMP en un proceso conocido como *adenilación*.

Regulación de la actividad de la glutamina sintetasa

Cada molécula de glutamina sintetasa (GS) se compone de 12 subunidades idénticas, y cada subunidad puede ser adenilada. Cuando la GS está completamente adenilada (cada molécula de enzima contiene 12 grupos AMP) es catalíticamente inactiva y cuando está parcialmente adenilada es parcialmente activa. Si en la célula aumenta el nivel de glutamina, GS se adenila gradualmente y su actividad disminuye. Cuando esos niveles disminuyen, GS se desadenila y su actividad aumenta (**Figura 7.35**). Otras enzimas celulares añaden o eliminan grupos AMP de la molécula de GS y estas enzimas están a su vez controladas en última instancia por los niveles de amoníaco en la célula.

¿Por qué existe esta regulación tan complicada de la enzima GS? La actividad de GS requiere ATP, y la asimilación del nitrógeno es un proceso importante para la célula. Sin embargo, cuando hay altos niveles de amoníaco en la célula, este puede ser asimilado en aminoácidos mediante enzimas que no consumen ATP; en tales condiciones GS permanece inactiva. Sin embargo, cuando los niveles de amoníaco son bajos, GS se hace catalíticamente activa. Manteniendo GS solo cuando los niveles de amoníaco son bajos, la célula conserva ATP que se emplearía innecesariamente si GS fuera activa en presencia de altos niveles de amoníaco.

La modulación de la actividad de GS de un modo tan preciso contrasta con las enzimas sujetas a inhibición por retroalimen-

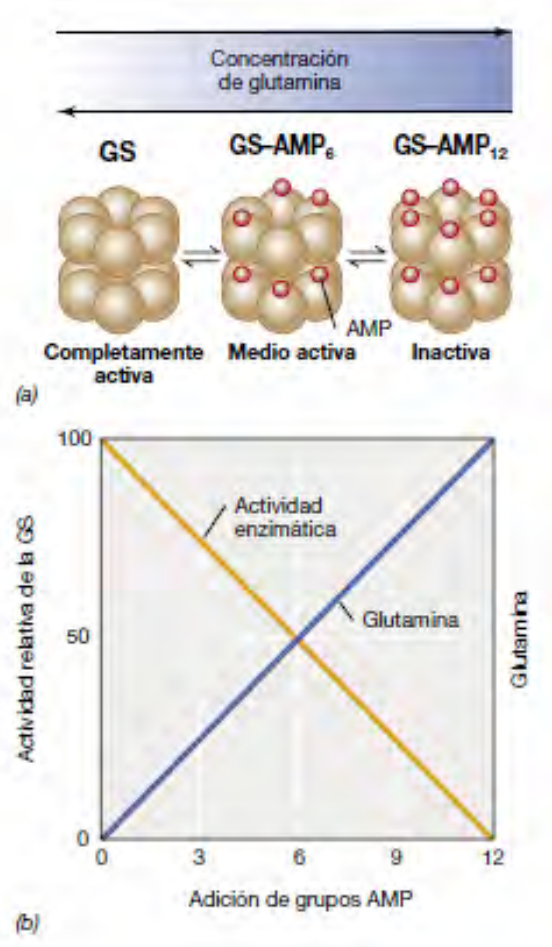


Figura 7.35 Regulación de la glutamina sintetasa por modificación covalente. *(a)* Cuando las células crecen con exceso de amoniaco (NH_3), la glutamina sintetasa (GS) se modifica covalentemente por adenilación; se pueden añadir hasta 12 grupos AMP. Cuando las células tienen una limitación de NH_3, los grupos se eliminan, formándose ADP. *(b)* Las subunidades de GS adeniladas son catalíticamente inactivas, y la actividad GS global disminuye progresivamente a medida que se adenilan más subunidades.

tación (Figura 7.34) cuya actividad se activa o desactiva dependiendo de la concentración de una molécula efectora. Este control más fino para la GS permite a esta enzima mantenerse parcialmente activa hasta que el amoniaco esté a niveles tan altos que los sistemas de asimilación de NH_3, que tienen una menor afinidad por el NH_3 y que no necesitan ATP, estén totalmente activos.

Otros ejemplos de regulación post-traduccional

En este capítulo hemos visto otras vías por las cuales las células regulan la actividad de las proteínas. Uno de estos mecanismos es la interacción proteína-proteína. En la Sección 7.10 hemos descrito como el factor σ RpoH es inactivado por DnaK bajo condiciones normales de temperatura en la respuesta al choque térmico (Figura 7.24). Además, la regulación por interacciones proteína-proteína ocurre durante la esporulación en *Bacillus* cuando el factor antisigma SpoIIAB se une al factor σF, impidiendo su asociación con la RNA polimerasa (Sección 7.11 y Figura 7.25). La formación del heterocisto está también controlada en parte por una regulación postraduccional. En las células vegetativas, el péptido PatS impide que HetR active la transcripción de los genes de formación del heterocisto (Sección 7.13 y Figura 7.28).

Las enzimas proteasas pueden también emplearse para eliminar rápidamente proteínas del conjunto proteico celular, mientras que las chaperonas moleculares hacen justamente lo contrario mediante el replegado de proteínas desnaturalizadas. Sin embargo, sea cual sea el mecanismo, en el análisis final debe quedar claro que la regulación de la síntesis y la actividad de las proteínas celulares es (1) muy importante para su biología, (2) es posible de muchos modos diferentes, y (3) una inversión genética importante. Pero este coste merece la pena. En un ambiente altamente competitivo y a cada momento, la supervivencia de un microorganismo puede depender en gran medida de su capacidad para conservar los recursos y la producción de energía.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué es la inhibición por retroalimentación?
- ¿Qué hace la adenilación a la actividad enzimática de la glutamina sintetasa?

IDEAS PRINCIPALES

7.1 • La mayoría de los genes codifican proteínas y la mayoría de las proteínas son enzimas. La expresión de un gen que codifica una enzima está regulada controlando la actividad de la enzima o controlando la cantidad de la enzima producida.

7.2 • Algunas proteínas se unen al DNA cuando dominios específicos de la proteína se unen a regiones específicas en la molécula de DNA. En la mayoría de los casos la interacción es específica de la secuencia. Las proteínas que se unen al DNA son con frecuencia proteínas reguladoras que afectan la expresión génica.

7.3 • La cantidad de una enzima específica en la célula puede estar controlada por proteínas reguladoras que se unen al DNA y aumentan (inducen) o disminuyen (reprimen) la cantidad de RNA mensajero (mRNA) que codifica la enzima. En el control negativo de la transcripción, la proteína reguladora se llama represor y funciona inhibiendo la síntesis del mRNA.

7.4 • Los reguladores positivos de la transcripción se llaman proteínas activadoras. Estas se unen a los sitios de unión del activador en el DNA y estimulan la transcripción. Los inductores modifican la actividad de las proteínas activadoras. En el control positivo de inducción de una enzima, el inductor promueve la unión de la proteína activadora y estimula la transcripción.

7.5 • Los sistemas de control global regulan la expresión de muchos genes simultáneamente. La represión por catabolito es un sistema de control global que ayuda a la célula a usar de la manera más eficiente las fuentes de carbono disponibles. El operón *lac* está bajo control de la represión por catabolito así como por su propio sistema específico de regulación negativa.

7.6 • Las *Archaea* se parecen a las *Bacteria* en la manera como utilizan las proteínas represoras y activadoras de unión al DNA para regular la expresión génica a nivel de la transcripción.

7.7 • Los sistemas de transducción de señales transmiten señales ambientales a las células. En los procariotas, la transducción de señales es llevada a cabo normalmente por un sistema regulador de dos componentes que incluye una quinasa sensora integrada a la membrana y un regulador de respuesta citoplasmático. La actividad del regulador de respuesta depende de su estado de fosforilación.

7.8 • El comportamiento quimiotáctico responde de manera compleja a los atrayentes y repelentes. La regulación de la quimiotaxia afecta la actividad de proteínas en lugar de afectar a su síntesis. La adaptación por metilación permite al sistema reiniciarse ante la presencia continuada de una señal.

7.9 • La percepción del quórum permite a las células detectar la presencia en el ambiente de células de su mismo tipo. La percepción del quórum depende del intercambio de pequeñas moléculas específicas conocidas como autoinductores. Una vez que se ha alcanzado una

concentración suficiente del autoinductor, se activa la expresión de genes específicos.

7.10 • Las células pueden controlar grupos de genes empleando factores sigma alternativos. Estos reconocen solo ciertos promotores; así, pues, permiten la transcripción de un grupo selecto de genes que son apropiados en determinadas condiciones ambientales. Las células responden tanto ante el calor y el frío expresando genes cuyos productos ayudan a las células a superar el estrés.

7.11 • La esporulación en *Bacillus* durante condiciones adversas se induce mediante un sistema complejo de relés de fosfotransferencia que monitoriza muchos aspectos ambientales. Entonces, el factor de esporulación Spo0A pone en funcionamiento una cascada de respuestas reguladoras bajo el control de varios factores sigma alternativos.

7.12 • La diferenciación en *Caulobacter* consiste en la alternancia entre células móviles y otras que están ancladas a una superficie. Hay tres proteínas reguladoras principales —CtrA, GcrA, y DnaA— que actúan sucesivamente para controlar las tres fases del ciclo celular. Cada una de ellas controla a su vez muchos otros genes necesarios en momentos específicos del ciclo celular.

7.13 • Para la formación del heterocisto es necesario que la proteína principal reguladora HetR se exprese en el protoheterocisto. Sin embargo, la proteína debe ser inactivada en las células vegetativas por difusión del péptido PatS a lo largo del filamento.

7.14 • Las células pueden controlar los genes de diferentes modos empleando moléculas de RNA reguladoras. Una manera es aprovechando el apareamiento de bases y usando sRNA para promover o inhibir la traducción de los mRNA.

7.15 • Los interruptores de RNA son dominios en el extremo 5′ de los mRNA que reconocen moléculas pequeñas y responden modificando su estructura tridimensional, lo que afecta la traducción y la terminación de la transcripción del mRNA. Se usan prinicipalmente para controlar las rutas biosintéticas de aminoácidos, purinas y unos pocos más metabolitos.

7.16 • La atenuación es un mecanismo mediante el cual se controla la transcripción después de iniciada la síntesis del mRNA. Los mecanismos de atenuación dependen de una estructura tallo-bucle alternativa en el mRNA.

7.17 • En la inhibición por retroalimentación, un exceso del producto final de una ruta biosintética inhibe una enzima alostérica al inicio de la ruta. La actividad enzimática puede también ser modulada por isoenzimas.

7.18 • La actividad de las proteínas puede ser regulada después de la traducción. Modificaciones covalentes reversibles o interacciones con otras proteínas pueden modular la actividad de las proteínas.

MasteringMicrobiology®

Revise lo que sabe y descubra lo que ha aprendido con MasteringMicrobiology. Acceda a material de estudio, revisiones de los capítulos, animaciones y tutoriales de microbiología práctica en el Área de Estudio y asegúrese de que ha asimilado todo el contenido de este capítulo.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

AMP cíclico: nucleótido regulador que participa en la represión por catabolito.
Atenuación: mecanismo de control de la expresión génica; termina la transcripción después de la iniciación pero antes de que se haya sintetizado completamente el mRNA.
Autoinductor: pequeña molécula señal que participa en la percepción de quórum.
Control negativo: mecanismo de regulación de la expresión génica en el que una proteína represora impide la transcripción de genes.
Control positivo: mecanismo de regulación de la expresión génica en el que una proteína activadora funciona promoviendo la transcripción de genes.
Dominio: región de una proteína con una estructura y función específicas.
Expresión génica: transcripción de un gen seguida de traducción del mRNA resultante en una proteína.
Inducción: producción de una enzima en respuesta a una señal (a menudo la presencia del sustrato de la enzima).
Inhibición por retroalimentación: inhibición de la actividad de la primera enzima de una ruta causada por un exceso del producto final de la misma.
Interruptor de RNA: dominio de RNA, normalmente en una molécula de mRNA, que puede unirse a una pequeña molécula específica y alterar su estructura secundaria; esto, a su vez, controla la traducción del mRNA.
Nucleótido regulador: nucleótido que funciona como señal en lugar de incorporarse al RNA o al DNA.
Operón: uno o más genes transcritos en un solo mRNA y sometidos al control de un solo centro regulador.
Percepción de quórum: sistema regulador que detecta la cantidad de población y controla la expresión génica basándose en la densidad celular.
Proteína activadora: proteína reguladora que se une a secuencias específicas del DNA y estimula la transcripción; interviene en el control positivo.

Proteína alostérica: una proteína que contiene un sitio activo para unir el sustrato y un sitio alostérico para unir una molécula efectora como el producto final de una ruta bioquímica.

Proteína fluorescente verde (GFP): proteína que confiere fluorescencia verde, muy usada en análisis genéticos.

Proteína quinasa sensora: uno de los miembros de un sistema regulador de dos componentes; una proteína que se autofosforila en respuesta a una señal externa y después transfiere el grupo fosforilo a una proteína reguladora de respuesta.

Proteína reguladora de respuesta: uno de los miembros de un sistema regulador de dos componentes; una proteína que es fosforilada por una quinasa sensora y actúa como reguladora, a menudo uniéndose al DNA.

Proteína represora: proteína reguladora que se une a secuencias específicas del DNA y bloquea la transcripción; interviene en el control negativo.

Proteínas de choque térmico: proteínas inducidas por alta temperatura (u otras situaciones de estrés determinadas) que protegen de las altas temperaturas, especialmente volviendo a plegar proteínas parcialmente desnaturalizadas o degradándolas.

Regulón: serie de operones controlados como una unidad.

RNA no codificante (ncRNA): RNA que no se traduce en una proteína; por ejemplo, el RNA riubosómico, el RNA de transferencia y los RNA reguladores pequeños.

Represión: mecanismo que impide la síntesis de una enzima en respuesta a una señal.

Represión por catabolito: supresión de rutas catabólicas alternativas por la presencia de una fuente preferente de carbono y energía.

Respuesta al choque térmico: respuesta a las altas temperaturas que incluye la síntesis de proteínas de choque térmico y otros cambios en la expresión génica.

Sistema regulador de dos componentes: sistema regulador formado por dos proteínas: una quinasa sensora y un regulador de respuesta.

Transducción de señales: véase sistema regulador de dos componentes.

PREGUNTAS DE REPASO

1. ¿En qué dos puntos puede ser regulada la cantidad de síntesis de una proteína? (Sección 7.1)
2. ¿Por qué una proteína que se une a una secuencia específica del DNA bicatenario no puede unirse a la misma secuencia si el DNA es monocatenario? (Sección 7.2)
3. La mayoría de los operones biosintéticos necesitan estar sometidos solo a control negativo para que su regulación sea eficaz, mientras que la mayor parte de los operones catabólicos necesitan estar bajo control negativo y positivo. ¿Por qué? (Secciones 7.3 y 7.4)
4. ¿Qué diferencia existe entre un operón y un regulón? (Sección 7.4)
5. Describa el mecanismo de funcionamiento de la proteína receptora de cAMP (CRP), que es la proteína reguladora de la represión por catabolito. Use como ejemplo el operón lactosa. (Sección 7.5)
6. ¿Cuáles son los dos mecanismos usados por las proteínas represoras para reprimir la transcripción en las arqueas? (Sección 7.6)
7. ¿Cuáles son los dos componentes que dan su nombre a un sistema de transducción de señales en los procariotas? ¿Cuál es la función de cada uno de ellos? (Sección 7.7)
8. La adaptación permite reiniciar el mecanismo de control de la rotación flagelar. ¿Cómo se consigue? (Sección 7.8)
9. ¿Por qué se puede considerar la percepción de quórum como un mecanismo regulador para la conservación de los recursos de la célula? (Sección 7.9)
10. Describa las proteínas producidas cuando las células de *Escherichia coli* sufren un choque térmico. ¿Para que le sirven a la célula estas proteínas? (Sección 7.10)
11. Explique cómo los factores sigma alternativos controlan la esporulación en *Bacillus*. (Sección 7.11)
12. ¿Qué función tiene la proteína DnaA en la diferenciación de *Caulobacter*? (Sección 7.12)
13. ¿Qué molécula producida por los heterocistos impide la diferenciación en células vegetativas? y ¿cómo alcanza las células vegetativas el inhibidor de este sistema? (Sección 7.13)
14. ¿En qué se diferencia la regulación por sRNAs de la de los interruptores de RNA? (Secciones 7.14 y 7.15)
15. Describa cómo funciona la atenuación transcripcional. ¿Qué es en realidad ser «atenuado»? (Sección 7.16)
16. Compare la regulación de la DAHP sintasa y la de la glutamina sintasa. (Sección 7.17)
17. ¿Cuál es la modificación covalente más común que afecta la actividad de las proteínas? (Sección 7.18)

EJERCICIOS PRÁCTICOS

1. ¿Qué ocurriría en la regulación de un promotor sometido a control negativo si la región a la que se une la proteína reguladora fuera eliminada? ¿Y si el promotor estuviera bajo control positivo?
2. Los promotores de *Escherichia coli* sometidos a control positivo no se parecen a la secuencia promotora consenso para *E. coli* (↻ Sección 4.7). ¿Por qué?

3. El control por atenuación de los genes de la ruta de biosíntesis de triptófano en *Escherichia coli* implica el acoplamiento entre la transcripción y la traducción. ¿Puede describir por qué este mecanismo de regulación pudiera no ser apropiado para regular los genes que intervienen en la utilización de la lactosa?
4. La mayoría de los sistemas reguladores descritos en este capítulo utilizan proteínas reguladoras. No obstante, el RNA regulador también es importante. Describa cómo se podría obtener un control negativo del operón *lac* usando uno de los dos tipos diferentes de RNA regulador.
5. Muchos operones de biosíntesis de aminoácidos bajo control por atenuación están también sometidos a control negativo. Teniendo en cuenta que el ambiente de una bacteria puede ser muy dinámico, ¿qué ventaja podría conferir el uso de la atenuación como segundo mecanismo de control?
6. ¿Cómo diseñaría un sistema regulador para hacer que *Escherichia coli* use ácido succínico de manera preferente en lugar de glucosa? ¿Cómo modificaría esto para que *E. coli* prefiera usar el ácido succínico en la luz pero glucosa en la oscuridad?

CAPÍTULO

8 · Virus y virología

microbiología **actual**

¿De dónde vienen los virus?

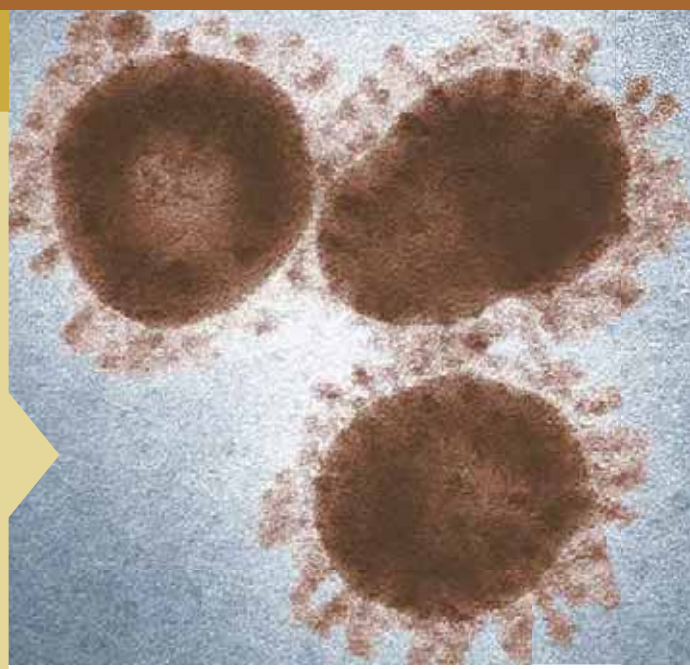
A pesar de todo lo que conocemos acerca de las propiedades moleculares de los virus, de cómo adaptan las actividades celulares en beneficio propio, y de las enfermedades que causan muchos de ellos, sabemos muy poco acerca de su origen. Pero este misterio del mundo de los virus puede que esté comenzando a mostrar algunas fisuras[1].

Ahora parece probable que los virus surgieran antes de la aparición del primer antepasado común universal (LUCA, del inglés *last universal common ancestor*). Esta hipótesis ha ganado el sostén de al menos dos fuentes. Primero, los estudios estructurales han mostrado que algunas proteínas de las cubiertas víricas (cápsidas), que rodean los genomas víricos, tienen una homología estructural significativa entre una la gran variedad de virus de RNA (coronavirus en la foto) y de virus de DNA. Esto sugiere, que a pesar de la diversidad genómica, los virus tienen distintos linajes que son anteriores al origen de LUCA.

En segundo lugar, está claro que la frecuencia de mutaciones y el tamaño del genoma son inversamente proporcionales y que los virus pequeños de RNA tienen la mayor frecuencia de mutación conocida. Además, los virus de DNA monocatenario tienen una frecuencia de mutación menor que los virus de RNA monocatenarios, y los virus de DNA bicatenarios tienen menor tasa que los virus de DNA monocatenarios. La menor frecuencia la tienen las células, con frecuencias de mutación varios órdenes de magnitud menores que las de los virus.

Tal vez las primeras entidades autorreplicativas de la Tierra tuvieran el aspecto de virus de RNA monocatenarios que mutaron muy pronto y con frecuencia, lo que hizo aumentar gradualmente sus capacidades adaptativas. A partir de aquellos mutantes, se seleccionaron aquellos que en su evolución originaron genomas más estables (basados en DNA), y de estos surgieron las primeras células. A pesar de que es aún una hipótesis, este proceso de aumento de la estabilidad genómica podría haber sido el paso más importante en el origen de las primeras células. Si esto es cierto, el estudio de las proteínas de las cápsidas víricas y de la frecuencia de mutación puede haber proporcionado inadvertidamente pistas importantes a los científicos empeñados en entender cómo comenzó la vida.

[1]Holmes, E.C. 2011. What does viral evolution tell us about virus origins? *J. Virol. 85:* 5247-5251.



I Naturaleza de los virus 258
II Ciclos de vida de los bacteriófagos 263
III Diversidad vírica y ecología 270

Un **virus** es un elemento genético que puede replicarse solamente dentro de una célula viva, llamada **célula hospedadora**. Los virus poseen sus propios genomas, y en este sentido son independientes del genoma de la célula hospedadora. Sin embargo, dependen de la célula hospedadora para obtener energía e intermediarios metabólicos y para sintetizar proteínas. Los virus son por tanto *parásitos intracelulares obligados*.

Los virus infectan a los procariotas y a los eucariotas y son responsables de muchas enfermedades infecciosas en humanos y en otros organismos. El estudio de los virus se llama *virología*, y en este capítulo abarcaremos los principios básicos de esta ciencia. En el Capítulo 9 trataremos con más detalle los aspectos relacionados con la genómica y diversidad de los virus.

I • Naturaleza de los virus

8.1 ¿Qué es un virus?

Aunque los virus no son células, poseen un genoma de ácido nucleico que codifica las funciones necesarias para su replicación y para formar una estructura extracelular, llamada **virión**, que les permite desplazarse de una célula hospedadora a otra. Los virus no pueden replicarse a menos que el propio virión (o su genoma, en el caso de los virus bacterianos) haya logrado entrar en una célula hospedadora adecuada, un proceso llamado *infección*.

Estructuras y actividades de los virus

El virión de un virus consiste en una cubierta proteínica, denominada **cápsida**, que contiene el genoma vírico. La mayoría de los virus bacterianos son *desnudos*, sin capas adicionales, mientras que muchos virus de animales contienen una capa externa formada por proteínas y lípidos denominada *envoltura* (Figura 8.1). En los virus con envoltura (recubiertos), la estructura interna de ácido nucleico más la cápsida de proteínas se denomina **nucleocápsida**. El virión protege el genoma vírico cuando el virus está fuera de la célula hospedadora, y las proteínas de la superficie del virión son importantes para adherirse a la célula hospedadora. El virión puede contener también una o más enzimas víricas específicas que intervienen en la infección y la replicación, como veremos más adelante.

Una vez dentro de la célula hospedadora, el genoma vírico puede orquestar uno de dos posibles procesos muy diferentes. El virus se puede replicar y destruir el hospedador en una infección **virulenta** (**lítica**). En ese caso, el virus redirecciona el metabolismo del hospedador para permitir la replicación vírica y el ensamblado de nuevos viriones. Finalmente, se liberan nuevos viriones y el proceso se puede repetir en nuevas células hospedadoras. Alternativamente, algunos virus pueden llevar a cabo una infección *lisogénica*. En este caso, la célula hospedadora no es destruida, sino alterada genéticamente porque el genoma vírico pasa a formar parte del genoma de la célula hospedadora.

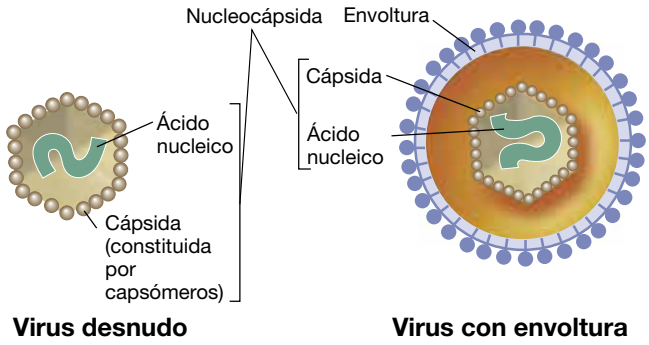


Figura 8.1 Comparación entre una partícula vírica desnuda y una con envoltura. La envoltura se origina a partir de la membrana citoplasmática del hospedador.

Genomas víricos

Todas las células contienen genomas de DNA bicatenario. Los genomas víricos, en cambio, pueden ser de DNA o de RNA y se subdividen según sea *monocatenario* o *bicatenario*. Algunos genomas víricos muy poco frecuentes usan DNA y RNA como material genético, pero en diferentes etapas de su ciclo de vida (Figura 8.2).

Los genomas víricos pueden ser circulares o lineales, y los que son monocatenarios pueden ser de *cadena positiva* o de *c<adena negativa* en cuanto a su secuencia de bases. Los genomas víricos de configuración positiva tienen *exactamente la misma* secuencia que el mRNA vírico que será traducido para formar las proteínas víricas. En cambio, los genomas víricos de configuración negativa son *complementarios* a la secuencia del mRNA vírico. Esta característica interesante de los genomas víricos necesita de procesos diferentes para el flujo de la información genética, y hemos reservado el Capítulo 9 para presentar los detalles de estos procesos.

Los genomas víricos son normalmente más pequeños que los de la mayoría de las células. El menor genoma bacteriano conocido tiene unos 145 kbp y codifica unos 170 genes. La mayoría de los genomas víricos codifican desde unos pocos hasta

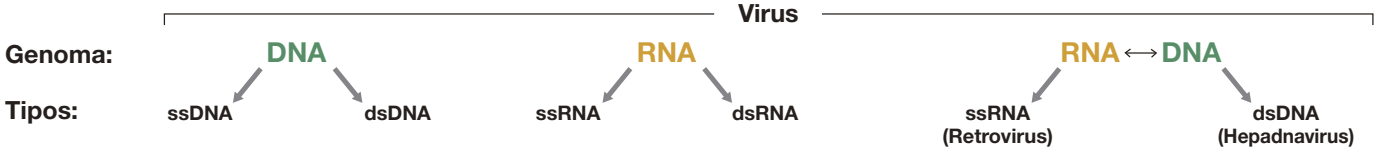


Figura 8.2 Genomas víricos. Los genomas de los virus pueden ser de DNA o de RNA, y algunos usan ambos materiales genómicos en diferentes etapas de su ciclo de replicación. No obstante, en el virión de un tipo particular de virus solo hay un tipo de ácido nucleico. Los genomas víricos pueden ser monocatenarios (ss) o bicatenarios (ds) y circulares o lineales.

aproximadamente 350 genes. Los genomas víricos más pequeños son los de algunos virus de RNA que infectan animales. Los genomas de estos minúsculos virus contienen menos de 2.000 nucleótidos y solamente dos genes. Se conocen algunos genomas víricos muy grandes, como el genoma de DNA de 1,25 Mpb de un virus marino llamado *Megavirus*, que infecta a protozoos. Típicamente los virus de RNA tienen los genomas más pequeños y solamente los virus de DNA tienen genomas con más de 40 genes.

Los virus pueden clasificarse según el hospedador al que infectan y también por su estructura genómica. Así, tenemos virus bacterianos, virus arqueanos, virus de animales, virus de plantas, virus protozooarios, etc. Los virus bacterianos son llamados **bacteriófagos** (o *fagos* para abreviar), han sido estudiados profundamente como sistemas modelo para la biología molecular y la genética de la replicación vírica. En este capítulo usaremos bacteriófagos muchas veces para ilustrar principios sencillos de los virus. En realidad, muchos de los principios básicos de la virología se descubrieron en los bacteriófagos y posteriormente se aplicaron a los virus de organismos superiores. A causa de su frecuente importancia médica, los virus de animales también se han estudiado en profundidad, mientras que los virus vegetales, a pesar de su enorme importancia en la agricultura moderna, han sido menos estudiados.

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué se diferencia un virus de una célula?
- ¿Por qué un virus necesita de una célula hospedadora?
- Comparados con las células, ¿qué es inusual en los genomas víricos?

8.2 Estructura del virión

Los viriones pueden tener muchos tamaños y formas. La mayoría de los virus son más pequeños que las células procariotas, con un tamaño que varía entre 0,02 y 0,3 µm (20-300 nanómetros, nm). El virus de la viruela, uno de los más grandes, tiene unos 200 nm de diámetro, aproximadamente el tamaño de las células bacterianas más pequeñas. El poliovirus, uno de los virus más pequeños, tiene solo 28 nm de diámetro, que es el tamaño de un ribosoma, la maquinaria que sintetiza las proteínas de una célula.

Estructura del virión

La estructura de los viriones es muy variada, tanto en tamaño como en forma o composición química (ver Figuras 8.19 y 8.21). Su ácido nucleico siempre está rodeado por la cápsida (Figura 8.1). Esta cubierta proteica está compuesta por una serie de moléculas proteínicas individuales llamadas **capsómeros**, que se disponen alrededor del ácido nucleico según un patrón preciso y enormemente repetitivo.

El pequeño tamaño del genoma de la mayoría de los virus restringe el número de proteínas víricas diferentes que pueden ser codificadas. Debido a esto, algunos virus tienen solo una única clase de proteína en su cápsida. Un ejemplo muy bien estudiado es el virus del mosaico del tabaco (TMV), que causa enfermedades en las plantas del tabaco, del tomate y otras relacionadas. Se trata de un virus de RNA monocatenario en el que las 2.130 copias de la sencilla proteína del capsómero están dispuestas formando una hélice con dimensiones de 18 × 300 nm (Figura 8.3).

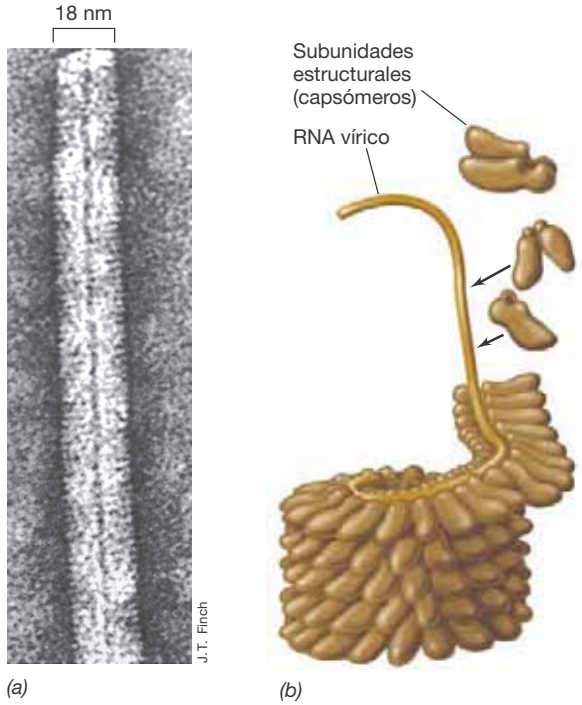


Figura 8.3 Disposición del RNA y de la cubierta proteínica en un virus sencillo, el virus del mosaico del tabaco. *(a)* Micrografía electrónica de alta resolución de un fragmento de la partícula vírica. *(b)* Diagrama mostrando la estructura del virión. El RNA forma una hélice rodeada por las subunidades de proteína (capsómeros). El centro de la partícula vírica está hueco.

La información necesaria para el plegado y ensamblado correctos de las proteínas víricas en capsómeros y posteriormente en cápsidas, está usualmente incorporada en la propia secuencia de aminoácidos de las proteínas víricas. Cuando esto es así, el ensamblado del virión es un proceso espontáneo denominado *autoensamblado*. Sin embargo, algunas estructuras y proteínas víricas necesitan la ayuda de proteínas ensambladoras de la célula hospedadora para un correcto plegamiento y ensamblado. Por ejemplo, la proteína de la cápsida del bacteriófago lambda (Sección 8.8) necesita la ayuda de la chaperonina GroE de *Escherichia coli* (↻ Sección 4.14) para plegarse en su conformación activa.

Simetría de los virus

Los virus son muy simétricos. Cuando se hace rotar una estructura simétrica alrededor de un eje, la misma forma se ve de nuevo tras un cierto número de grados de rotación. En los virus se reconocen dos tipos de simetría, que corresponden a las dos formas principales, de bastón y esférica. Los virus en forma de bastón tienen simetría *helicoidal*, mientras que en los virus esféricos la simetría es *icosaédrica*. Un virus típico de simetría helicoidal es el TMV (Figura 8.3). La longitud de los virus helicoidales está determinada por la longitud de su ácido nucleico, y la anchura del virión helicoidal viene dada por el tamaño y el empaquetamiento de los capsómeros.

Los virus con simétrica icosaédrica tienen 20 caras triangulares y 12 vértices y una forma más o menos esférica (Figura 8.4*a*). Los ejes de simetría dividen el icosaedro en 5, 3 o 2 segmentos de tamaño y forma idénticas (Figura 8.4*b*). La simetría

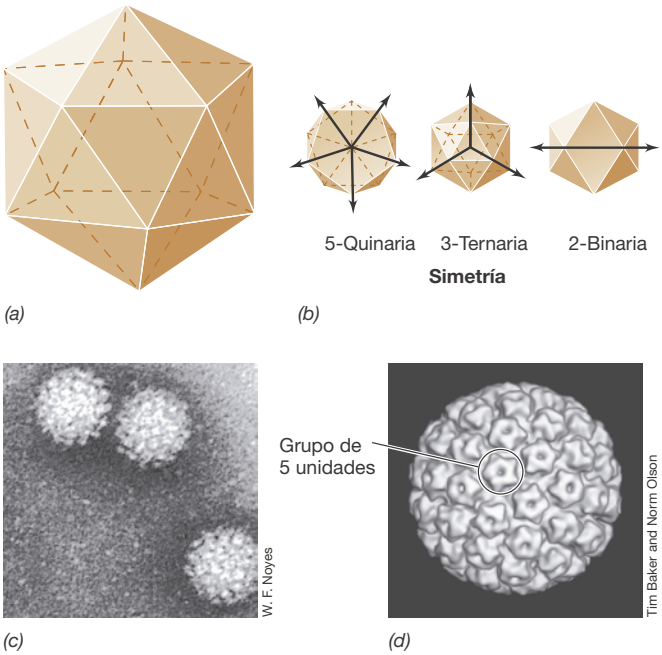


Figura 8.4 Simetría icosaédrica. *(a)* Modelo de un icosaedro. *(b)* Tres vistas de un icosaedro en que se muestran las simetrías quinaria, ternaria y binaria. *(c)* Micrografía electrónica del virus del papiloma humano, un virus con simetría icosaédrica. El virión tiene unos 55 nm de diámetro. *(d)* Reconstrucción tridimensional del virus del papiloma humano; el virión contiene 360 unidades dispuestas en 72 grupos de 5 unidades cada uno.

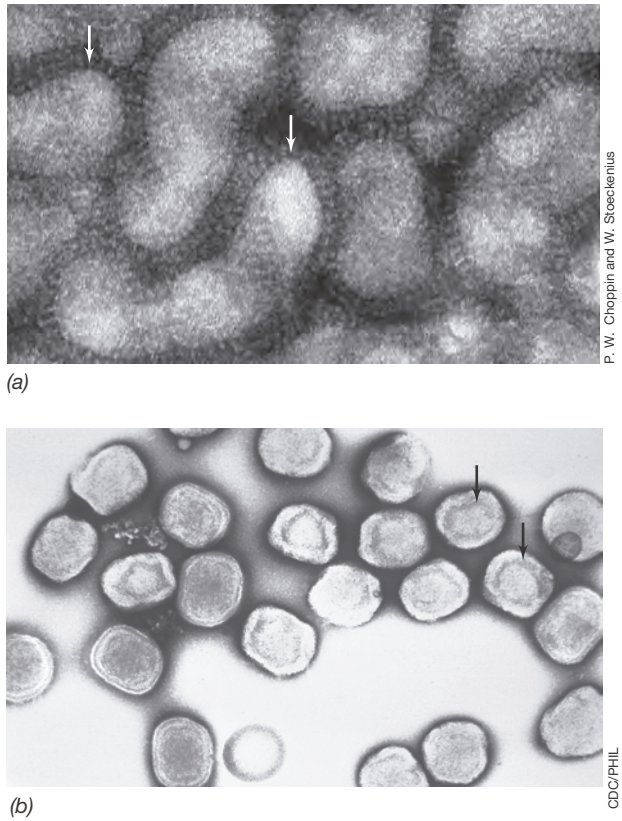


Figura 8.5 Virus con envoltura. *(a)* Micrografía electrónica del virus de la gripe. Los viriones tienen unos 80 nm de diámetro y pueden adoptar muchas formas. *(b)* Micrografía electrónica del virus vaccinia, un poxvirus con envoltura y simetría icosaédrica de unos 350 nm de ancho. Las flechas en ambas micrografías señalan la envoltura que rodea la nucleocápsida.

icosaédrica es la disposición más eficiente de las subunidades de una cubierta cerrada, ya que utiliza el mínimo número de los capsómeros para construir la cubierta. La disposición más sencilla de capsómeros es de tres por cara triangular, con un total de 60 capsómeros por virión. Sin embargo, la mayoría de los virus tienen más ácido nucleico del que se puede empaquetar en una cubierta formada por solo 60 capsómeros, y por tanto son más frecuentes los virus que tienen estructuras con 180, 240 o 360 capsómeros. Por ejemplo, la cápsida del virus del papiloma humano (Figura 8.4*c*) está formada por 360 capsómeros organizados en 72 grupos de cinco (Figura 8.4*d*).

La estructura de algunos virus es extremadamente compleja, con un virión consistente en varias partes cada una con su propia forma y simetría. Los virus más complejos de todos son los bacteriófagos que tienen cabeza y cola y que infectan a *Escherichia coli*, como el fago T4. Un virión de T4 está constituido por una cabeza icosaédrica y una cola helicoidal (véanse las Figuras 8.19 y 8.20). Algunos virus grandes que infectan a eucariotas también tienen estructuras complejas, aunque de algún modo bastante distintas a los bacteriófagos que tienen cabeza y cola. Los mimivirus y poxvirus (véase la Figura 8.5*b*) son buenos ejemplos y se estudiarán con más detalle en el Capítulo 9.

Virus con envoltura

Los virus con **envoltura** poseen una membrana que rodea la nucleocápsida (Figura 8.5) y pueden tener el genoma de RNA o de DNA. La mayoría de los virus con envoltura (por ejemplo el virus de la gripe) (Figura 8.5*a*) infectan a células animales, en las que la membrana citoplasmática está en contacto directo con el ambiente. En cambio, las células de plantas y bacterias están rodeadas por una pared celular por fuera de la membrana citoplasmática, y por tanto se conocen pocos ejemplos de virus con envoltura en estos organismos. Normalmente, el virión entero entra en la célula animal durante la infección y la envoltura, si está presente, ayuda en el proceso de infección ya que se fusiona con la membrana del hospedador. Los virus recubiertos también salen más fácilmente de las células animales. A medida que van saliendo de la célula hospedadora, quedan cubiertos por material de la membrana. La envoltura vírica está formada principalmente por membrana citoplasmática de la célula hospedadora, pero algunas proteínas víricas de superficie se van incorporando en la envoltura a medida que el virus sale de la célula.

La envoltura de un virus es importante en la infección ya que es el componente del virión que establece contacto con la célula hospedadora. Por tanto, la especificidad de la infección de los virus con envoltura y algunos aspectos de su penetración dependen en parte de la composición química de sus envolturas. Las proteínas víricas específicas de la envoltura son fundamentales tanto para la unión del virión a la célula hospedadora durante la infección como para la liberación del virión después de la replicación.

Enzimas de los viriones

Los virus no llevan a cabo procesos metabólicos y, por tanto, son inertes metabólicamente. Sin embargo, algunos virus llevan enzimas en sus viriones que desempeñan funciones

importantes en la infección. Por ejemplo, algunos bacteriófagos contienen una enzima que se asemeja a la lisozima (↔ Sección 2.10), que utilizan para hacer un pequeño orificio en el peptidoglicano de la bacteria, lo que permite la entrada del ácido nucleico del virión en el citoplasma hospedador. Una proteína similar es producida en las etapas posteriores de la infección para causar la lisis de la célula hospedadora y liberar los viriones nuevos. Algunos virus de animales también contienen enzimas que ayudan en su liberación del hospedador. Por ejemplo, el virus de la gripe (Figura 8.5*a*) tiene proteínas de la envoltura llamadas *neuraminidasas* que destruyen las glicoproteínas y los glicolípidos del tejido conectivo de las células animales y liberan así los viriones (↔ Sección 9.9).

Los virus de RNA llevan sus propias polimerasas de ácido nucleico (llamadas *RNA replicasas*) para la replicación del genoma vírico y para producir el RNA específico del virus. Estas enzimas son necesarias porque las células no pueden sintetizar RNA a partir de un molde de RNA. Los retrovirus son virus de RNA de animales atípicos porque se replican a través de intermediarios de DNA. Dado que la síntesis de DNA a partir de un molde de RNA es otro proceso que la célula no puede hacer, los viriones retrovirales poseen una DNA-polimerasa dependiente de RNA, llamada *transcriptasa inversa* (Sección 8.10). Por tanto, aunque la mayoría de los virus no necesitan llevar enzimas especiales en sus viriones, en los que las poseen, son absolutamente necesarias para que la replicación y la infección se completen.

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué se diferencian una cápsida y un capsómero? ¿Qué tipo de simetría es corriente para los virus esféricos?
- ¿Cuál es la diferencia entre un virus desnudo y un virus con envoltura?
- ¿Qué clases de enzimas se pueden encontrar en los viriones de los virus de RNA? ¿Por qué están estas enzimas allí?

8.3 Esquema del ciclo de vida de un virus

Para que un virus pueda replicarse, debe inducir a una célula viva hospedadora a sintetizar todos los componentes esenciales necesarios para producir nuevos viriones. Debido a estos requerimientos biosintéticos y energéticos, las células hospedadoras muertas no podrán replicar los virus. Durante una infección activa, los componentes víricos se ensamblan para formar nuevos viriones que escaparán de la célula. Veamos la replicación de un virus bacteriano como un ejemplo sencillo de un ciclo de vida de un virus.

Una célula que soporta el ciclo de replicación completo de un virus se dice que es *permisiva* para ese virus. En un hospedador permisivo, el ciclo de replicación vírica se puede dividir en cinco etapas (**Figura 8.6**):

1. *Unión* (adsorción) del virión a la célula hospedadora.
2. *Penetración* (entrada, inyección) del ácido nucleico del virión en la célula hospedadora.
3. *Síntesis* del ácido nucleico y las proteínas del virus por la maquinaria celular redirreccionada por el virus.
4. *Ensamblado* de las cápsidas y *empaquetamiento* del genoma vírico en nuevos viriones.
5. *Liberación* de los viriones maduros fuera de la célula.

Estas etapas de la replicación vírica se ilustran con una curva de crecimiento en la **Figura 8.7**. Esta curva toma la forma de una *curva de crecimiento de una sola etapa* («one step growth»), llamada así porque en el transcurso del tiempo el número de viriones en el medio de cultivo no muestra un aumento importante durante el ciclo de replicación hasta que las células estallan y liberan los viriones recién sintetizados. En los primeros minutos tras la infección, los virus entran en lo que se conoce como fase de *eclipse*. Una vez unido a una célula hospedadora permisivas, el virión ya no estará disponible para infectar a otra célula. A esto le sigue la entrada del ácido nucleico vírico (Figura 8.6) en la célula hospedadora. Si en este momento la célula infectada se abre, el virión deja de existir como entidad infecciosa, puesto que ya no tiene el genoma vírico dentro de la cápsida.

La fase de *maduración* (Figura 8.7) empieza cuando las moléculas de ácido nucleico vírico recién sintetizadas son empaquetadas dentro de las cápsidas. Durante esta fase, el número de viriones infecciosos dentro de la célula aumenta de manera considerable. No obstante, los nuevos viriones aún no pueden detectarse en el medio de cultivo a menos que las células sean lisadas artificialmente para liberarlos. Puesto que los viriones recién sintetizados aún no se encuentran en el exterior de la célula, los períodos de eclipse y maduración en conjunto reciben el nombre de *período de latencia* de la infección vírica (Figura 8.7).

Al final de la maduración, los viriones maduros son liberados, bien como resultado de la lisis celular o por gemación o excreción, según el virus. El número de viriones liberados por célula, llamado *tamaño de la explosión*, varía según el virus y

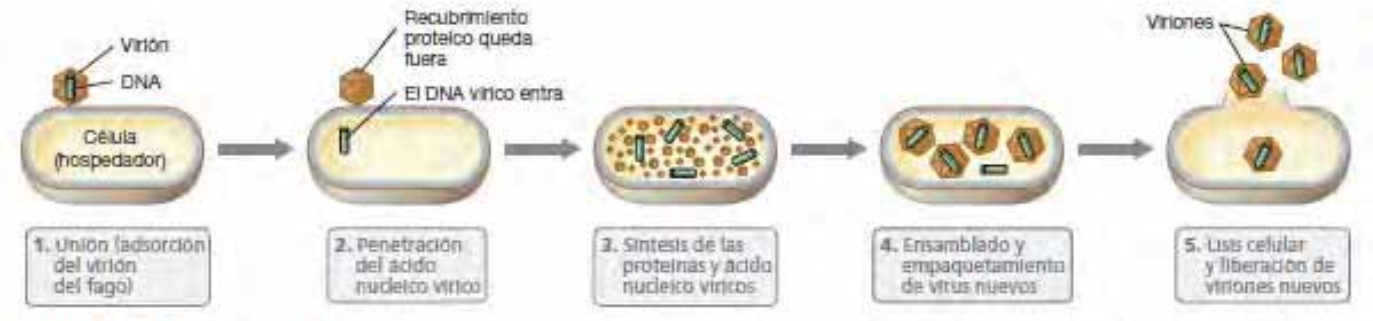


Figura 8.6 Ciclo de replicación de un virus bacteriano. Los virus y la célula no están representados a escala. El tamaño de la explosión puede ser de cientos o más viriones por célula hospedadora.

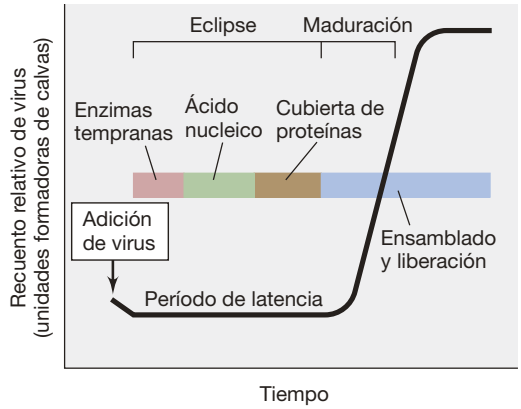


Figura 8.7 Curva de una sola etapa de la replicación vírica. Después de la adsorción, los viriones infecciosos no pueden ser detectados en el medio de crecimiento, un fenómeno llamado *eclipse*. Durante el período de latencia, que incluye el eclipse y las primeras fases de maduración, el ácido nucleico se replica y se realiza la síntesis de proteínas. Durante el período de maduración, el ácido nucleico y las proteínas se ensamblan para formar viriones maduros que finalmente son liberados.

la célula hospedadora en concreto y puede ir de unos pocos a varios miles. La duración del ciclo completo de replicación también varía, de entre 20 y 60 minutos (en muchos virus bacterianos) a entre 8 y 40 horas (en la mayoría de los virus de animales).

En las Secciones de la 8.5 a la 8.7 usaremos un ejemplo específico para repasar estas etapas del ciclo de replicación vírica y examinaremos cada una en más detalle.

MINIRREVISIÓN

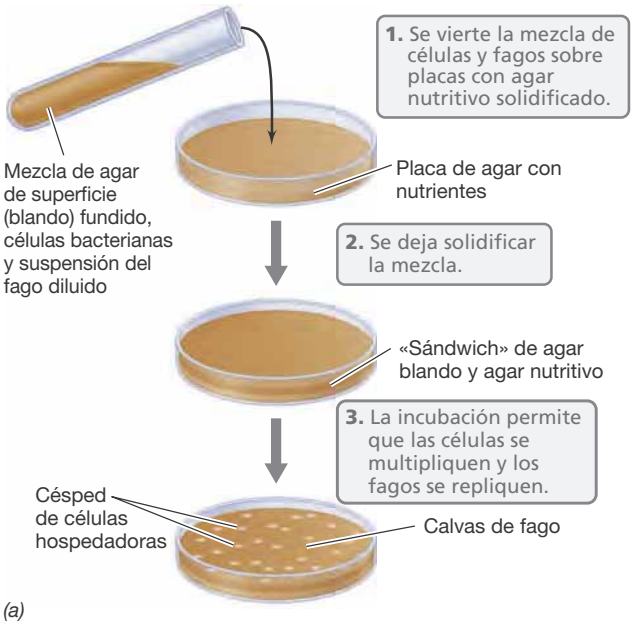
- ¿Qué es lo que se empaqueta en las cápsidas durante la maduración?
- Explique el término «tamaño de la explosión».
- ¿Por qué el período de latencia se denomina así?

8.4 Cultivo, detección y recuento de virus

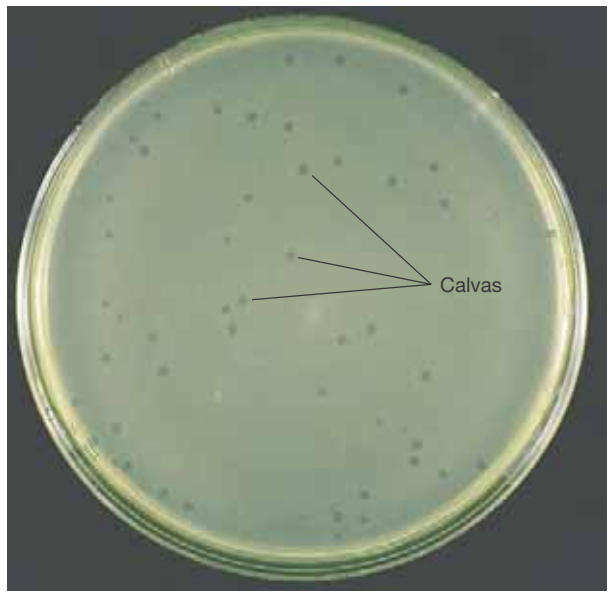
Es necesario cultivar las células hospedadoras para poder replicar los virus en ellas. Se utilizan cultivos puros de bacterias hospedadoras crecidas en medios líquidos o como un césped sobre la superficie de placas de agar y se inoculan con una suspensión vírica. Los virus de animales se pueden cultivar en *cultivos celulares* que son células tomadas inicialmente de un órgano de un animal y cultivadas en recipientes estériles de plásticos o de vidrio que contengan un medio de cultivo apropiado (véase la Figura 8.9). Los medios para los cultivos tisulares suelen ser muy complejos, ya que contienen una gran variedad de nutrientes como suero sanguíneo o agentes antimicrobianos para prevenir la contaminación por bacterias.

Detección y recuento de virus: el ensayo de calvas

Una suspensión vírica puede ser cuantificada determinando la cantidad de viriones infecciosos por volumen de fluído, una cantidad llamada **título** (o concentración). Esto se realiza normalmente haciendo un *ensayo de calvas*. Cuando un virus infecta células que crecen sobre una superficie plana, se forma una zona de lisis que se denomina **calva** (o placa de lisis) y aparece como una zona más clara en el césped de células hospedadoras. Con los bacteriófagos, las calvas se pueden obtener mezclando viriones en un volumen pequeño de agar fundido que contenga las bacterias hospedadoras y que se ha extendido sobre la superficie de un medio de agar (**Figura 8.8*a***). Durante la incubación del cultivo, las bacterias crecen y forman una capa turbia (césped) que se puede ver a simple vista. No obstante,



(a)



(b)

Figura 8.8 Recuento de virus bacterianos por ensayo de calvas. *(a)* Se mezcla una dilución de una suspensión que contiene el virus con una pequeña cantidad de agar fundido y la bacteria hospedadora sensible y se vierte en la superficie de una placa que ya contiene una capa de agar. Las células hospedadoras se lisan y forman calvas en el césped. *(b)* Calvas (de 1 a 2 mm de diámetro) formadas por el bacteriófago T4.

siempre que una infección vírica prospera, las células se lisan y se forma una calva (Figura 8.8*b*). Mediante el recuento del número de calvas se puede calcular el título o concentración de la muestra (a menudo expresado como «unidades formadoras de calvas» por mililitro). Para replicar virus de animales, se prepara un cultivo tisular y se añade sobre este una dilución de una suspensión vírica. Como para los virus bacterianos, las calvas se ponen de manifiesto como unos claros en la capa de células del cultivo y, a partir del número de calvas producidas, se puede obtener una estimación del título de los virus (**Figura 8.9**).

El concepto *eficiencia de la siembra* es importante en la virología cuantitativa, ya sea para virus bacterianos o de animales. En una preparación vírico dada, el número de unidades formadoras de calva es siempre menor que el recuento real de partículas víricas realizado al microscopio (con un microscopio electrónico). Esto es debido a que la eficiencia con la que los viriones infectan las células hospedadoras es rara vez del 100 % y a menudo puede ser considerablemente menor. Los viriones que no producen infección pueden haberse ensamblado de manera incompleta durante la maduración o pueden contener genomas defectivos. Por otra parte, una eficiencia de la siembra baja puede significar que las condiciones de crecimiento de los virus no han sido las óptimas o que algunos viriones se dañaron por la manipulación o las condiciones de conservación. Aunque con los virus bacterianos la eficiencia de la siembra es a menudo mayor del 50 %, con muchos virus de animales puede ser mucho más baja, 0,1 % o 1 %. Conocer la eficiencia de siembra es útil para cultivar virus porque nos permite estimar el título necesario para obtener un número determinado de calvas.

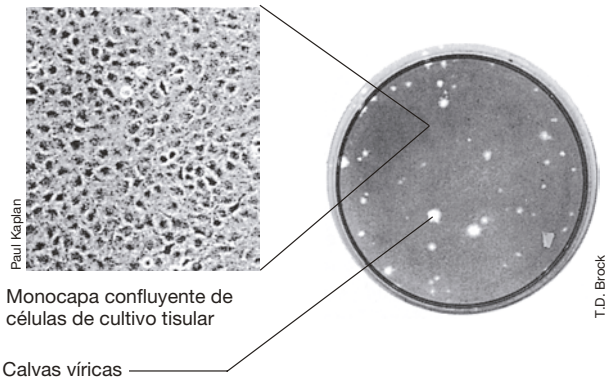


Figura 8.9 Cultivos de células animales y calvas víricas. Las células animales permiten la replicación del virus y las células lisadas forman calvas.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué se entiende por el término título vírico?
- ¿Qué es una unidad formadora de calvas?
- ¿Qué significa eficiencia de siembra?

II • Ciclo de vida de los bacteriófagos

Gran parte de nuestros conocimientos de la replicación de los virus líticos proviene del estudio de la infección de *Escherichia coli* por bacteriófagos. Muchos bacteriófagos de RNA así como de DNA se replican en *E. coli* (**Tabla 8.1**). Aquí hemos escogido uno, el bacteriófago T4, como modelo para revisar las etapas individuales del ciclo de vida de los virus (Figura 8.6).

Tabla 8.1 Algunos bacteriófagos de *Escherichia coli*

Bacteriófago	*Estructura del virión*	*Composición del genoma*[a]	*Estructura del genoma*	*Tamaño del genoma*[b]
MS2	Icosaédrico	ssRNA	Lineal	3.600
ϕX174	Icosaédrico	ssDNA	Circular	5.400
M13, f1, y fd	Filamentoso	ssDNA	Circular	6.400
Lambda	Cabeza y cola	dsDNA	Lineal	48.500
T7 y T3	Cabeza y cola	dsDNA	Lineal	40.000
T4	Cabeza y cola	dsDNA	Lineal	169.000
Mu	Cabeza y cola	dsDNA	Lineal	39.000

[a] ss, monocatenarios; ds, bicatenarios.
[b] En número de bases, para los genomas monocatenarios, y de pares de bases, para los bicatenarios. Estos genomas víricos han sido secuenciados y por tanto sus tamaños se conocen con precisión. Sin embargo, a menudo la secuencia y la longitud varían un poco entre los diferentes aislados del mismo virus. Por tanto, los tamaños de los genomas que se listan aquí están redondeados en todos los casos.

8.5 Unión y penetración del bacteriófago T4

Las etapas más tempranas en el ciclo de vida de cualquier bacteriófago son la unión a la superficie de su célula hospedadora, seguido de la penetración a través de la capa o capas externas de la célula hospedadora y la entrada del genoma vírico dentro de la célula.

Unión

Uno de los factores principales de la especificidad del hospedador de un virus es la *unión*. El propio virión tiene una o más proteínas en su superficie externa que interaccionan con componentes específicos de la superficie de la célula hospedadora llamados *receptores*. En ausencia de su receptor específico, el virus no puede unirse a la célula y por tanto no puede infectar. Además, si el receptor se modifica, por ejemplo, por una mutación, el hospedador puede volverse resistente a la infección vírica. El rango de hospedadores de un virus determinado está por tanto determinado en gran medida por la presencia de un receptor adecuado que el virus pueda reconocer y al que se pueda unir.

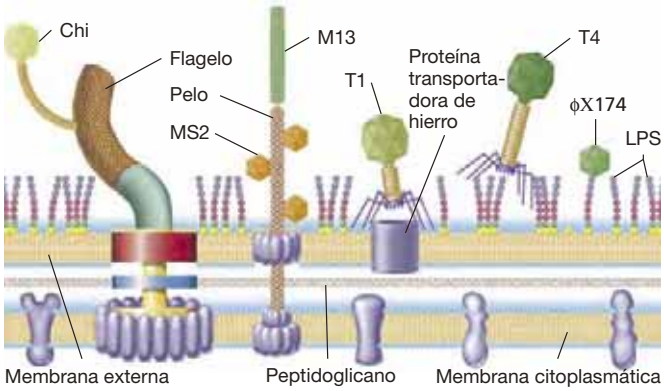


Figura 8.10 Receptores para el bacteriófago. Ejemplos de receptores celulares empleados por diferentes bacteriófagos que infectan *Escherichia coli*. Todos los fagos representados son fagos de DNA, excepto el MS2.

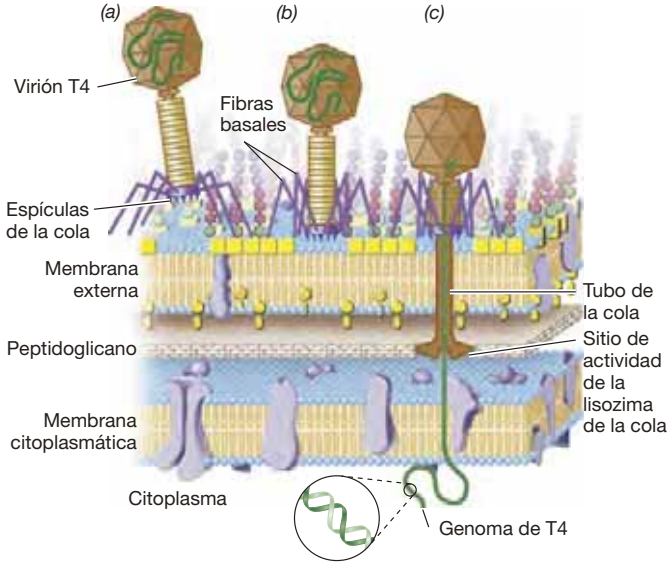


Figura 8.11 Unión del bacteriófago T4 a una célula de *Escherichia coli*. *(a)* Unión inicial de un virión T4 a la membrana externa celular mediante la interacción de las fibras basales con el lipopolisacárido (LPS). *(b)* Contacto de la pared celular con las espículas de la cola. *(c)* Contracción de la vaina de la cola e inyección del genoma de T4. El tubo de la cola penetra en la membrana externa y la lisozima del virus forma una pequeña abertura a través del peptidoglicano.

Los receptores víricos son componentes de la superficie del hospedador, como proteínas, carbohidratos, glicoproteínas, lípidos, lipoproteínas o estructuras celulares constituidas por estas macromoléculas (Figura 8.10). Los receptores desempeñan funciones normales en la célula. Por ejemplo, el receptor del bacteriófago T1 es una proteína de captación de hierro (Figura 8.10), y el del bacteriófago lambda actúa en la captación de maltosa. Los carbohidratos de la membrana externa de lipopolisacárido (LPS) de las bacterias gramnegativas son los receptores reconocidos por el bacteriófago T4, un fago que se une al LPS de *Escherichia coli* (Figura 8.10). Los apéndices que se proyectan desde la superficie celular, como flagelos y pelos bacterianos, también son receptores usuales de los virus bacterianos. Los virus pequeños icosaédricos se unen frecuentemente por los lados de estas estructuras, mientras que los bacteriófagos filamentosos usualmente se unen al extremo, como en el pelo (Figura 8.10). Sin embargo, independientemente del receptor utilizado, una vez que ha ocurrido la unión, todo está ya listo para la infección vírica.

Penetración

La unión de un virus a su célula hospedadora causa cambios en la superficie del virus y en la de la célula que llevan a la penetración. Los bacteriófagos dejan la cápsida fuera de la célula y solo el genoma vírico alcanza el citoplasma. Sin embargo, la replicación del genoma vírico dentro de la célula hospedadora solo se producirá si se puede leer el genoma vírico. Por tanto, para la replicación de algunos virus, por ejemplo los virus de RNA, junto con el genoma vírico deben entrar en la célula hospedadora proteínas víricas específicas (Sección 8.2).

Los mecanismos de penetración vírica más complejos pertenecen a los bacteriófagos con cola. El bacteriófago T4 está formado por una cabeza icosaédrica, en cuyo interior se encuentra plegado el DNA bicatenario lineal del virus y una cola larga y compleja, que termina en una serie de fibras basales y espículas que contactan con la superficie celular. Al principio, los viriones del fago T4 se unen a las células de *Escherichia coli* mediante las fibras basales (Figura 8.11). Los extremos de las fibras interaccionan específicamente con polisacáridos de la capa de LPS de la célula y entonces estas fibras basales se retraen, permitiendo que la propia cola entre en contacto con la pared celular de la bacteria mediante las espículas de la cola. La actividad de la lisozima T4 forma entonces un pequeño poro en la capa de peptidoglicano y se contrae la vaina de la cola. Cuando esto ocurre, el DNA vírico penetra en el citoplasma de la célula de *E. coli* a través de un tubo que forma la cola de manera similar a una inyección con una jeringa. En cambio, la cápsida del virus se queda en el exterior de la célula (Figura 8.11). El DNA dentro de la cabeza del bacteriófago está sometido a una presión alta, y dado que el interior de la célula bacteriana también está sometido a presión por las fuerzas osmóticas, la inyección del DNA fágico tarda varios minutos en completarse.

Ahora estudiaremos algunas de las propiedades especiales del genoma del bacteriófago T4 que afectan su replicación y la expresión génica.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cómo contribuye el proceso de unión a la especificidad virus-hospedador?
- ¿Por qué el fago T4 necesita una proteína parecida a la lisozima para infectar a su hospedador?
- ¿Qué parte del fago T4 penetra en el citoplasma hospedador?

8.6 El genoma de T4

Cuando una célula hospedadora permisiva es infectada por un virus, la primera fase de la infección está relacionada con la síntesis de nuevas copias del genoma vírico. Debido a que existen muchos tipos de genomas víricos (Figura 8.2), hay muchos esquemas diferentes de su replicación (↻ Sección 9.1). En los virus de DNA pequeños, la replicación de su genoma es llevada

a cabo por la DNA polimerasa de la célula. Sin embargo, en los virus de DNA más complejo, como el bacteriófago T4, el virus codifica su propia DNA polimerasa. Otras proteínas que participan en la replicación del DNA vírico, como las primasas y las helicasas (↻ Secciones 4.4 y 4.5) también están codificadas en el genoma del T4. En realidad, para facilitar la síntesis de su propio genoma específico, el fago T4 produce su propio complejo del replisoma del DNA, que tiene ocho proteínas (↻ Sección 4.6).

Replicación del genoma y permutación cíclica

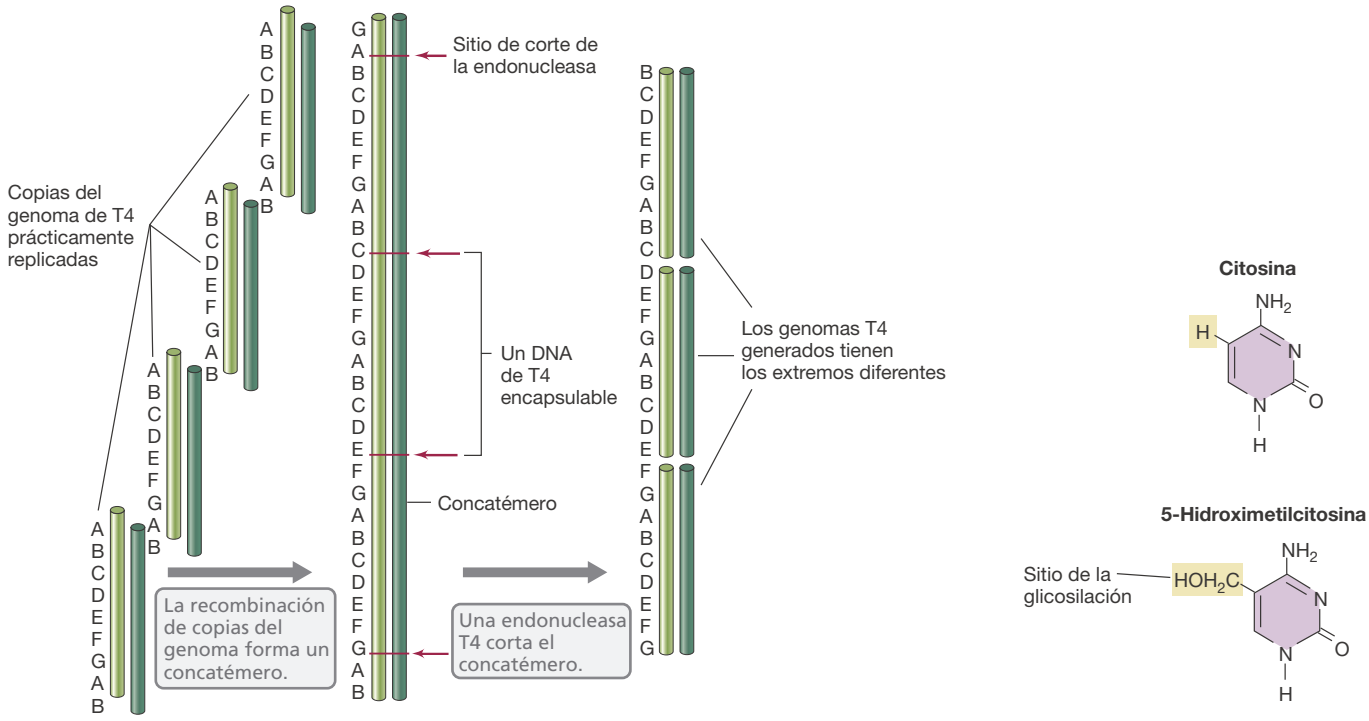
Los cromosomas de los organismos superiores y los genomas de las bacterias contienen los mismos genes en el mismo orden en las células de diferentes individuos de la misma especie. Esto también se cumple en muchos genomas víricos, pero no en todos. Algunas veces una población de viriones de un mismo virus contiene genomas con el mismo conjunto de genes pero distribuidos en un orden diferente. Este fenómeno se conoce como *permutación cíclica* y es una característica del genoma de T4. El término permutación cíclica se debe a que las moléculas de DNA que son permutadas circularmente parecen haber sido linealizadas mediante la obertura, en distintos puntos, de genomas circulares idénticos. Los genomas permutados circularmente son también *redundantes en sus extremos*, lo que significa que el DNA tiene secuencias duplicadas en cada extremo debido al mecanismo que los genera.

El genoma de T4 se replica en primer lugar como una unidad; después se recombinan varias unidades genómicas, extremo con extremo, para formar una larga molécula de DNA llamada **concatémero** (Figura 8.12*a*). Durante el empaquetamiento del DNA de T4 para formar las cápsidas, el concatémero no se corta en una secuencia específica, sino que se cortan segmentos lineales de DNA lo bastante largos para llenar la cabeza de un fago. Esto se conoce como *encapsulación de cápsida llena* y es común entre los bacteriófagos. Sin embargo, como en la cabeza de T4 cabe algo más que la longitud de un genoma, este mecanismo de encapsulación genera repeticiones terminales de entre 3 y 6 kbp en cada extremo de la molécula de DNA (Figura 8.12*a*).

Restricción y modificación

A pesar de que los procariotas carecen del sistema inmunitario de los animales, las bacterias poseen varias armas contra el ataque vírico. Uno de ellos es el sistema antiviral llamado CRISPR (↻ Sección 10.12). Además, las bacterias pueden destruir DNA vírico bicatenario mediante la actividad de las *endonucleasas de restricción*, enzimas bacterianas que cortan DNA foráneo en sitios específicos (↻ Sección 11.1). Este fenómeno se llama *restricción* y es un mecanismo general del hospedador para impedir la invasión de DNA vírico o cualquier otro DNA ajeno. sin embargo, para que este sistema sea eficaz, el hospedador debe proteger su propio DNA del ataque de las enzimas de restricción. El hospedador logra esto mediante una *modificación* de su propio DNA, normalmente por metilación de los nucleótidos en los sitios por donde las enzimas de restricción cortan el DNA.

Las enzimas de restricción son específicas para el DNA bicatenario, de modo que no afectan a los virus de DNA monocatenario ni a los virus de RNA. Aunque los sistemas de restricción del hospedador confieren un grado significativo de protección



(a) **Permutación cíclica del genoma T4** *(b)* **Base exclusiva en el DNA T4**

Figura 8.12 Permutación cíclica y DNA exclusivo del bacteriófago T4. *(a)* Generación de moléculas de DNA de T4 de la longitud del genoma de un virus con secuencias permutadas por una endonucleasa que corta longitudes constantes de DNA a partir de un concatémero, independientemente de la secuencia. *(b)* 5-Hidroximetilcitosina, base exclusiva del DNA de los fagos; cuando está glicosilada, el DNA del T4 es resistente al ataque de las enzimas de restricción.

contra el ataque vírico, algunos virus de DNA bicatenarios han sorteado los mecanismos de restricción de sus hospedadores modificando su propio DNA, de manera que dejan de estar sujetos al ataque de las enzimas de restricción. Se conocen muchos mecanismos de protección, pero en el fago T4 esto se realiza por la sustitución de la citosina del DNA vírico por la base modificada *5-hidroximetilcitosina*. El grupo hidroxilo de esta base modificada es glicosilado, lo que significa que se le añade una molécula de glucosa (Figura 8.12*b*), y el DNA con esta modificación es resistente al ataque por las enzimas de restricción. Gracias a este mecanismo de protección vírica, las copias del genoma T4 se conservan hasta que se empaquetan más tarde en el ciclo de replicación del fago.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué tiene de característico un genoma con permutación cíclica y extremos redundantes?
- ¿Qué es un concatémero?
- ¿Cómo trata de protegerse *Escherichia coli* del ataque de los fagos, y cómo se protege el propio bacteriófago T4 de estas defensas bacterianas?

8.7 Replicación del bacteriófago T4

Examinaremos ahora las etapas del ciclo de replicación del bacteriófago T4, basándonos en lo que ya hemos visto en las dos secciones anteriores acerca de la unión y la penetración de T4 y de las propiedades de su genoma.

Transcripción y traducción

Poco después de la infección, el DNA del fago T4 se transcribe y traduce, y comienza el proceso de síntesis de nuevos viriones. En menos de media hora, el proceso termina con la liberación de los nuevos viriones de las células destruidas. Los pasos fundamentales se resumen en la **Figura 8.13**.

Aproximadamente un minuto después de que el DNA del fago T4 entre en el citoplasma hospedador, se detiene la síntesis de DNA y RNA del hospedador y empieza la transcripción de los genes específicos del fago. La traducción del mRNA vírico empieza también enseguida, y en cuatro minutos ha dado comienzo la replicación del DNA. El genoma de T4 codifica tres conjuntos principales de proteínas, llamadas **proteínas tempranas**, **proteínas medias** y **proteínas tardías**; los términos hacen referencia al orden general en que estas aparecen en la célula. Entre las proteínas tempranas hay enzimas para la síntesis y glicosilación de una base del T4 poco frecuente, la 5-hidroximetilcitosina (Figura 8.12*b*), además de enzimas que actúan en el replisoma T4 para producir copias del genoma específico del fago, y proteínas tempranas que modifican la RNA polimerasa del hospedador. Por otro lado, entre las proteínas medias y tardías hay más proteínas que modifican la RNA polimerasa y proteínas estructurales y de liberación de los viriones. Estas comprenden, en concreto, las proteínas de la cabeza y la cola del virus y las enzimas necesarias para liberar viriones nuevos fuera de la célula (Figura 8.13).

El genoma de T4 no codifica su propia RNA-polimerasa. En cambio, unas proteínas específicas del virus modifican la especificidad de la RNA-polimerasa del hospedador para que reconozca solo los promotores del fago (recuérdese que los promotores son las regiones inmediatamente delante de un gen estructural por donde la RNA polimerasa se une para iniciar la transcripción, Sección 4.7). Estas proteínas modificadoras están codificadas por genes tempranos del T4 que son transcritos por la RNA polimerasa del hospedador. La transcripción en la célula se detiene poco después de esto por la acción de un factor anti-sigma codificado por el fago que se une al factor sigma de la RNA polimerasa del hospedador e impide el reconocimiento de los promotores de los genes del hospedador. Es un modo eficaz de cambiar la actividad de la RNA polimerasa, que pasa de transcribir los propios genes del hospedador a transcribir los genes del fago T4. Más tarde en el proceso de infección otras proteínas del fago modifican la RNA polimerasa de la

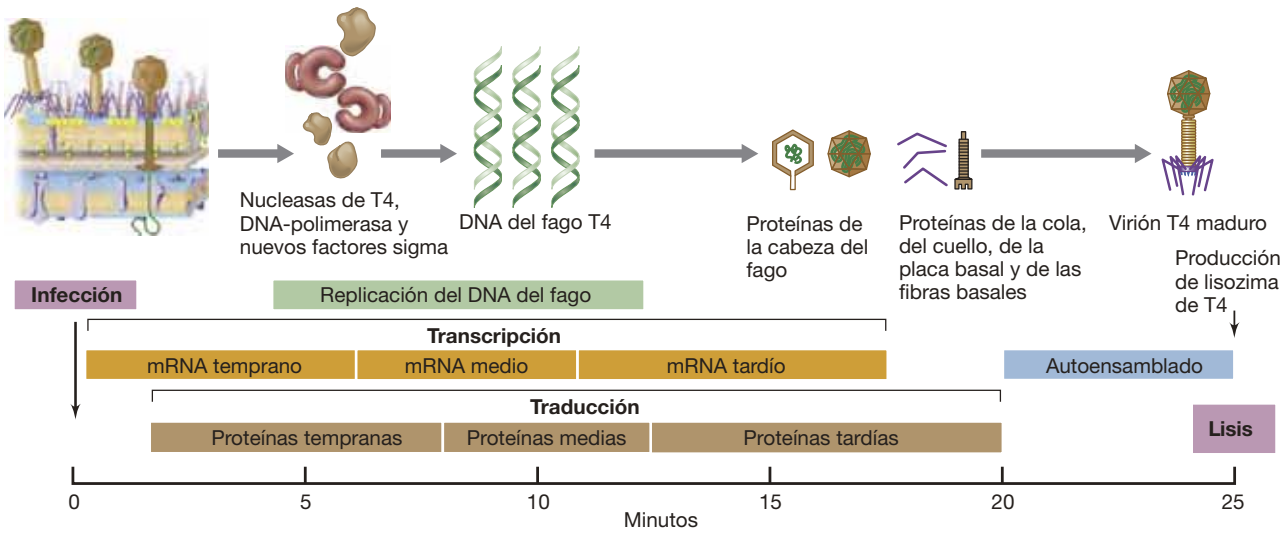


Figura 8.13 Acontecimientos en la infección por el fago T4. Después de la inyección del DNA se sintetizan los mRNA tempranos y medios que codifican las nucleasas, la DNA-polimerasa del T4, los nuevos factores sigma específicos del fago y otras proteínas necesarias para la replicación del DNA. El mRNA tardío codifica proteínas estructurales del virión del fago y la lisozima T4, necesaria para lisar la célula y liberar los nuevos viriones.

célula para que reconozca los promotores de los genes medios. Finalmente comienza la transcripción de los genes tardíos, y esto necesita de un nuevo factor sigma codificado por el fago, que dirige la RNA polimerasa del hospedador solamente hacia los promotores de estos genes. En este punto puede comenzar el ensamblado del virus.

Empaquetamiento del genoma T4, ensamblado y liberación del virión

El genoma de DNA del bacteriófago T4 es bombeado de modo forzado hacia una cápsida pre-ensamblada usando un motor de empaquetado que necesita energía. Los componentes de este motor están codificados por los genes víricos, pero es necesario el metabolismo de la célula hospedadora para producir las proteínas y suministrar el ATP que se necesita para el proceso de bombeo. El proceso de empaquetamiento se puede dividir en tres etapas (**Figura 8.14**). Primero, unos precursores de la cabeza de los bacteriófagos llamados *pro-cabezas* son ensamblados pero permanecen vacíos. Las *pro-cabezas* contienen temporalmente «proteínas de andamiaje» así como proteínas estructurales de la cabeza. En segundo lugar, el sistema de empaquetamiento se ensambla en la abertura de las pro-cabezas. El genoma de DNA del T4, bicatenario y lineal (Figura 8.12), es bombeado entonces a presión hacia el interior de la pro-cabeza usando el ATP como fuerza motriz. La pro-cabeza se expande al aumentar su presión interna debido a la entrada del DNA y al mismo tiempo se retiran las proteínas de andamiaje. En tercer lugar, el sistema de empaquetamiento se desprende por sí mismo y se sella la cabeza de la cápsida.

Después de que la cabeza se haya rellenado, se añaden la cola, las fibras basales y los otros componentes del virión, principalmente por auto-ensamblado (Figuras 8.13 y 8.14). El genoma del fago codifica un par de enzimas muy tardías que se combinan para abrir una brecha en la membrana citoplasmática y la capa de peptidoglicano del hospedador, que forman la barrera principal durante la liberación del virión. Cuando estas estructuras están deterioradas, la célula se rompe por lisis osmótica y los viriones recién sintetizados se liberan. Después de cada ciclo de replicación, que dura solo veinticinco minutos (Figura 8.13), se liberan más de 100 viriones nuevos de cada célula hospedadora (*tamaño de la explosión*, Sección 8.3), y estos pueden ahora infectar otras células hospedadoras vecinas.

MINIRREVISIÓN

- Dé un ejemplo de una proteína temprana, de una media y de una tardía.
- ¿Cómo dirige el fago T4 la RNA polimerasa del hospedador para que actué sobre sus genes específicos?
- ¿Qué se necesita para empaquetar el genoma del fago T4 dentro de su cabeza?

UNIDAD 2

8.8 Bacteriófagos atemperados y lisogenia

El bacteriófago T4 es un virus virulento y una vez que comienza la infección, siempre mata su hospedador. Sin embargo, algunos virus bacterianos de DNA bicatenario, aunque son capaces de realizar un ciclo virulento, también pueden infectar y establecer una relación genética estable de larga duración con el hospedador. Estos virus reciben el nombre de **virus atemperados**.

Los virus atemperados pueden entrar en un estado llamado **lisogenia**. En este estado la mayoría de sus genes no se transcriben; en vez de hacerlo, el genoma del virus se replica en sincronía con el cromosoma del hospedador y pasa a las células hijas durante la división celular. El estado lisogénico puede conferir a la célula bacteriana hospedadora nuevas propiedades genéticas —una condición llamada *conversión lisogénica*— y veremos varios ejemplos en otros capítulos sobre bacterias patógenas cuya virulencia (capacidad de causar una enfermedad) va ligada a un bacteriófago lisogénico. Una célula que alberga un virus atemperado se denomina **lisógena**.

Ciclo de replicación de un fago atemperado

Dos fagos atemperados que se conocen muy bien son lambda y P1. En la **Figura 8.15** se muestra un esquema del ciclo de vida de un bacteriófago atemperado. Durante la lisogenia, el genoma del virus atemperado o bien se integra en el cromosoma bacteriano (por ejemplo, el fago lambda) o bien se encuentra en el citoplasma en forma de plásmido (como el bacteriófago P1). En cualquier caso, el DNA vírico, que es llamado ahora **profago**, se replica a la vez que la célula huésped siempre que no se expresen los genes para activar su ruta virulenta.

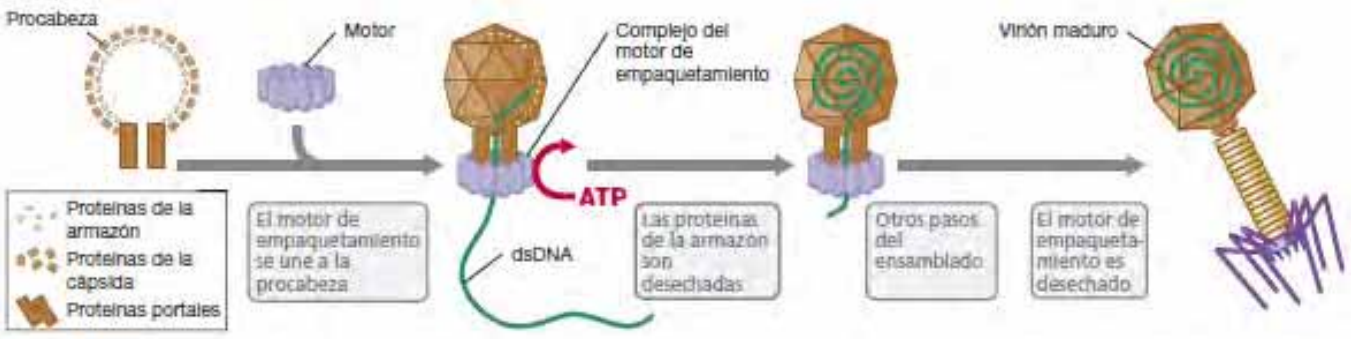


Figura 8.14 Empaquetado del DNA en la cabeza del fago T4. Las pro-cabezas se ensamblan a partir de proteínas de la cápsida y proteínas portales, las cuales se conservarán en el virión maduro. Mientras la cabeza se va rellenando con el DNA, esta se expande y se vuelve más angular. Cuando ya está llena, el motor de empaquetamiento se desprende y se añaden los componentes de la cola.

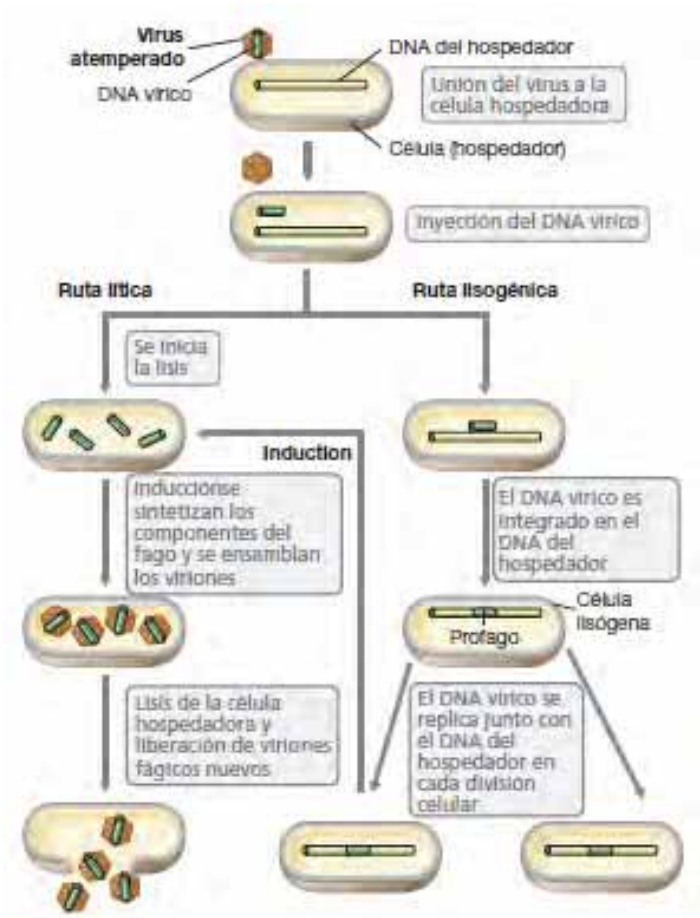


Figura 8.15 Consecuencias de la infección por un fago atemperado. Las alternativas tras la infección son la replicación y liberación del virus maduro (lisis) o la lisogenia, a menudo por integración del DNA del virus en el DNA del hospedador, como se muestra aquí. La célula lisógena puede ser inducida para producir virus maduros y lisarse.

El estado lisogénico se mantiene gracias a una *proteína represora* codificada por el fago. Normalmente los bajos niveles de transcripción de los genes represores y su consiguiente traducción mantienen el represor a niveles bajos en la célula. Sin embargo, si se inactiva el represor del fago o si su síntesis es detenida por algún motivo, el profago será inducido a entrar en la fase lítica. Si la inducción ocurre cuando el DNA vírico está incorporado en el cromosoma bacteriano, el DNA vírico se escinde y los genes del fago son transcritos y traducidos. Se producen entonces nuevos viriones y se lisa la célula hospedadora (Figura 8.15). Varias condiciones de estrés, especialmente si se daña el DNA de la célula hospedadora, pueden inducir el estado lítico. Por otro lado, la «decisión» del virus para tomar la vía lítica o la lisogénica tras la infección vírica inicial, es otra cuestión totalmente diferente que ha sido muy bien estudiada en el bacteriófago lambda. Exploraremos este tema ahora.

El bacteriófago lambda

El bacteriófago lambda, que infecta a *Escherichia coli*, es un virus de DNA bicatenario con cabeza y cola (**Figura 8.16**). En el extremo 5′ de cada cadena del DNA genómico lineal del fago lambda hay una región de 12 nucleótidos de cadena sencilla. Estos extremos monocatenarios «cohesivos» son complementarios en sus

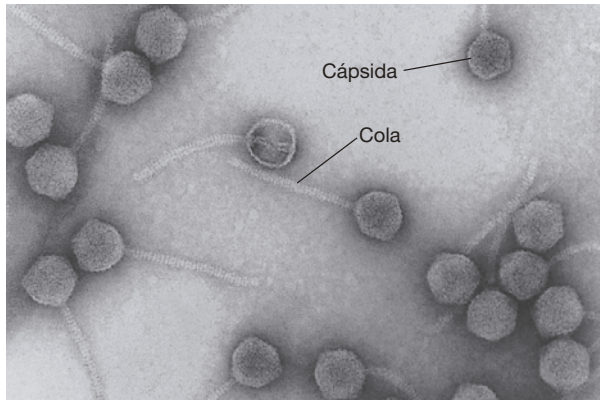


Figura 8.16 El bacteriófago lambda. Micrografía electrónica de transmisión de viriones del fago lambda. La cabeza de cada virión tiene un diámetro de unos 65 nm y contiene dsDNA lineal.

secuencias de bases, y cuando el DNA de lambda penetra en la célula hospedadora, se aparean para formar el sitio *cos* y el genoma se vuelve circular (**Figura 8.17*a***).

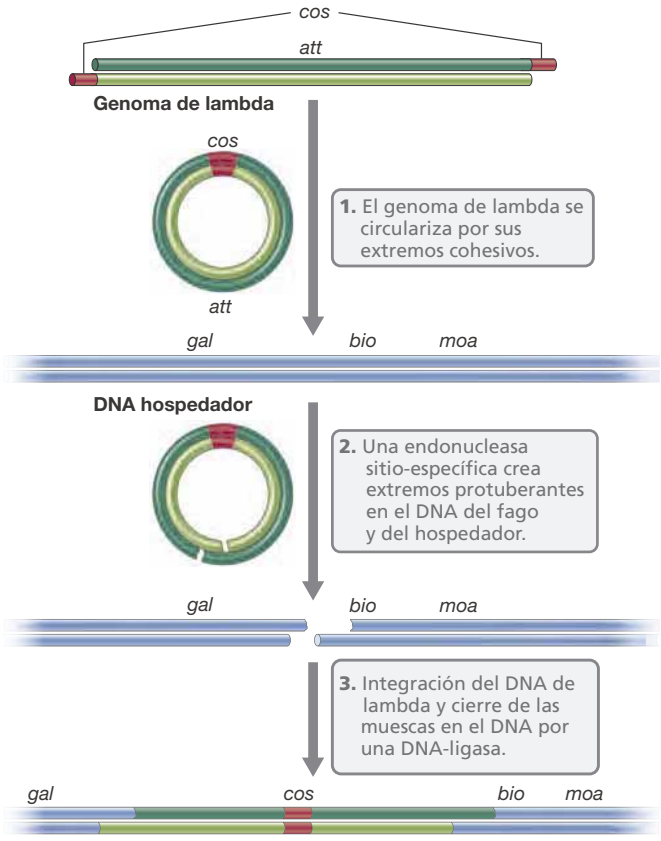
Cuando lambda entra en el estado lítico, se sintetizan concatémeros de DNA genómico largos y lineales mediante un mecanismo llamado **replicación por círculo rodante**. En este proceso, se produce un corte en una cadena del genoma circular de lambda, la cual se desenrolla y sirve de molde para la síntesis de la cadena complementaria (Figura 8.17*b*). Entonces el concatémero de doble cadena se corta en fragmentos del tamaño del genoma en los sitios *cos*, y los genomas resultantes se empaquetan en la cabeza de los fagos. Una vez que se añaden las colas y los viriones lambda maduros se han ensamblado (Figura 8.16), se lisa la célula y se liberan los viriones. En su fase de fago lítico, lambda puede también empaquetar en los nuevos viriones algunos genes del cromosoma de su hospedador lisado y transferirlos a una segunda célula hospedadora, en un proceso llamado *transducción*. La transducción es un medio importante de transferencia horizontal de genes en la naturaleza (Sección 8.11) y es también una herramienta importante en la genética bacteriana (↻ Sección 10.7).

Si en lugar de seguir la ruta lítica, lambda toma la ruta lisogénica, su genoma se integra en el cromosoma de *E. coli*. Para ello se necesita una proteína llamada *integrasa de lambda*, una enzima codificada por el fago que reconoce los sitios de unión tanto en el genoma del fago como en el de la bacteria (*att* en la Figura 8.17*a*) y facilita la integración del genoma de lambda. A partir de este estado relativamente estable, ciertas circunstancias como que se dañe el DNA del hospedador pueden volver a iniciar el ciclo lítico. Después de una inducción de ese tipo, una proteína de escisión de lambda separa el genoma de lambda del cromosoma hospedador, comienza la transcripción del DNA de lambda y se inicia la fase lítica.

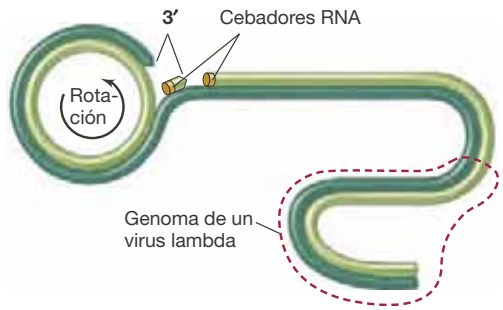
Consideraremos ahora cómo se controlan estos dos procesos opuestos de lisis y lisogenia después de la infección inicial de una célula de *E. coli* por un virión del fago lambda.

¿Lisis o lisogenia?

Que se produzca la lisis o la lisogenia durante una infección por lambda depende en gran medida de los niveles de dos proteínas represoras clave que pueden acumularse en la célula después de la infección: el *represor de lambda* o *proteína cI* y un segundo



(a) **Integración del DNA de lambda en el hospedador**



(b) **Replicación por círculo rodante del genoma lambda**

Figura 8.17 Integración del DNA de lambda y replicación por círculo rodante. *(a)* El DNA del fago lambda se integra en sitios de unión específicos (*att*) del DNA del fago y del genoma hospedador. Se indican algunos genes del hospedador cercanos a *att*: *gal*, utilización de galactosa; *bio*, síntesis de biotina; y *moa*, síntesis de cofactores de molibdeno. Se necesita la integrasa de lambda, y el apareamiento específico de los extremos complementarios da lugar a la integración del DNA del fago lambda. *(b)* Durante la replicación por círculo rodante, a medida que una cadena (verde oscuro) se desenrolla, va siendo replicada por su extremo opuesto y al mismo tiempo sirve como molde para la síntesis de la cadena complementaria.

represor llamado *Cro*. En pocas palabras, el primer represor que se acumule controlará la progresión de la infección.

Si los genes que codifican la proteína cI se transcriben rápidamente después de la infección y se acumula cI, esta proteína reprime la transcripción de todos los otros genes de lambda, entre ellos, *cro*. Cuando esto sucede, el genoma de lambda se integra en el genoma del hospedador y se convierte en un

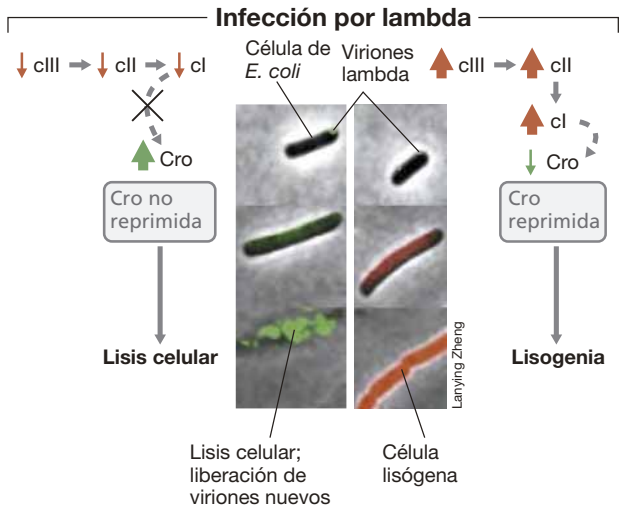


Figura 8.18 Regulación de los procesos lítico y lisogénico en el fago lambda. Las micrografías muestran el curso de los acontecimientos en células de *Escherichia coli* que siguen un proceso lítico (panel izquierdo, verde) o uno lisogénico (panel derecho, rojo), controlados por varios represores. Los colores se han originado mediante fagos lambda modificados genéticamente que inducen la producción de proteínas fluorescentes específicas cuando se expresan genes líticos (verde) o lisogénicos (rojo). Las células líticas son eliminadas mientras que los lisógenos de *E. coli* continúan creciendo y dividiéndose.

profago (Figura 8.18). Por otra parte, Cro reprime la expresión de una proteína llamada cII, cuya función es activar la síntesis de cI. Así, después de la infección, si los niveles de cI son insuficientes para reprimir la expresión de los genes del fago, Cro se puede acumular en la célula. Si esto sucede, lambda sigue la ruta lítica.

El control de estos modos de vida alternativos del fago lambda —lisis o lisogenia— ha sido comparado con un «interruptor genético», donde deben producirse una serie de procesos definidos para que una ruta sea favorecida respecto a la otra. A pesar que la infección de una célula de *E. coli* por un virión lambda normalmente causa un ciclo lítico, tal como hemos dicho, los procesos líticos pueden ser desconectados si hay una concentración suficiente de cII que asegure un nivel adecuado de cI (Figura 8.18). Pero, ¿cómo sucede esto? Los niveles de la proteína cII están controlados por la actividad relativa de una proteasa de la célula hospedadora que degrada lentamente a cII y por los niveles de otra proteína, cIII, cuya función es estabilizar cII e impedir su degradación por el ataque de la proteasa. Tenemos pues una cascada de procesos reguladores: cIII que controla a cII, que a su vez controla a cI. Pero incluso este no es el final de la historia. Existen otras proteínas no descritas aquí que también participan en la «decisión» de lambda de seguir una ruta lítica o lisogénica. Por tanto, el desarrollo de la infección de lambda es una serie de procesos muy complejos. En realidad, este minúsculo bacteriófago utiliza uno de los mecanismos reguladores más complejos conocidos en virología.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué es un lisógeno y qué es un profago?
- ¿En qué se diferencian la replicación del fago lambda y la de su hospedador?
- ¿Qué mueve el fago lambda a seguir la ruta lítica o la ruta lisogénica?

III • Diversidad vírica y ecología

8.9 Visión general de los virus bacterianos

Los bacteriófagos más frecuentes son fagos con cabeza y cola con el genoma de DNA bicatenario (Secciones 8.5-8.7). No obstante, se conocen muchos otros bacteriófagos, incluidos una gran variedad con genoma monocatenario. Algunos ejemplos de diversas clases de bacteriófagos, según las propiedades de sus genomas (Figura 8.2), se muestran esquemáticamente en la Figura 8.19.

Bacteriófagos de cadena sencilla

Los bacteriófagos ϕX174, M13 y MS2 (Figura 8.19) son tres fagos de *Escherichia coli* bien caracterizados que contienen genomas de cadena sencilla. El bacteriófago ϕX174 presenta un virión icosaédrico de solamente 25 nm de diámetro que contiene un genoma circular de DNA de cadena sencilla. Estos pequeños virus de DNA contienen solo unos pocos genes y dependen completamente de la maquinaria de replicación del DNA de la célula hospedadora. M13 es un bacteriófago filamentoso que también contiene un genoma circular de DNA. Los genomas monocatenarios de los bacteriófagos ϕX174 y M13 son de cadena positiva (Sección 8.1), y antes de que se produzca la replicación, adoptan una **forma replicativa** de cadena doble. A partir de esta se derivan las copias del genoma monocatenario y comienza la transcripción de los genes víricos.

El bacteriófago MS2 es un virus pequeño icosaédrico (Figura 8.19) cuyo genoma de RNA monocatenario codifica solo cuatro proteínas. La más importante de estas es la **RNA replicasa**, la enzima necesaria para replicar el genoma vírico de RNA. Una enzima así es necesaria porque las células de animales y bacterias no poseen enzimas que sinteticen RNA a partir de un molde de RNA. Dado que el genoma del fago MS2 es de RNA de cadena positiva (Sección 8.1), el genoma es también un mRNA y puede por tanto ser traducido directamente tras ser introducido en la célula por la maquinaria de traducción del hospedador.

Una característica curiosa de muchos bacteriófagos con DNA o RNA pequeño son sus **genes solapados**. Los genomas de estos virus minúsculos contienen normalmente demasiado pocos genes para codificar todas las proteínas que necesitan. Para solucionar este problema, algunos de sus marcos abiertos de lectura se solapan, lo que permite al virus producir más de un solo polipéptido a partir de un gen dado. Mostraremos con más detalles en el Capítulo 9 ejemplos de genes solapados y de algunas otras características interesantes de los bacteriófagos con DNA o RNA pequeño.

Bacteriófagos con cabeza y cola

Los bacteriófagos con cabeza y cola con genomas de DNA bicatenario se han usado como modelos de replicación vírica y han revelado muchos de los principios fundamentales de la biología molecular y la genética. La primera serie de fagos con cola que se estudió fueron designados como T1, T2, etc. hasta T7, donde la T se refiere a la cola (*tail* en inglés). El T4 tiene un genoma mucho mayor que los otros fagos T y, junto con los fagos lambda (Sección 8.8), son probablemente los bacteriófagos mejor estudiados. Las etapas en la infección por un fago T se han detallado en las Secciones 8.5–8.7.

La estructura del virión de T4 es quizá la más complicada de todos los virus. El virión consiste en una cabeza icosaédrica alargada cuyas dimensiones totales son 85 × 110 nm (Figura 8.20). Esta cabeza lleva unida una cola compleja consistente en 20

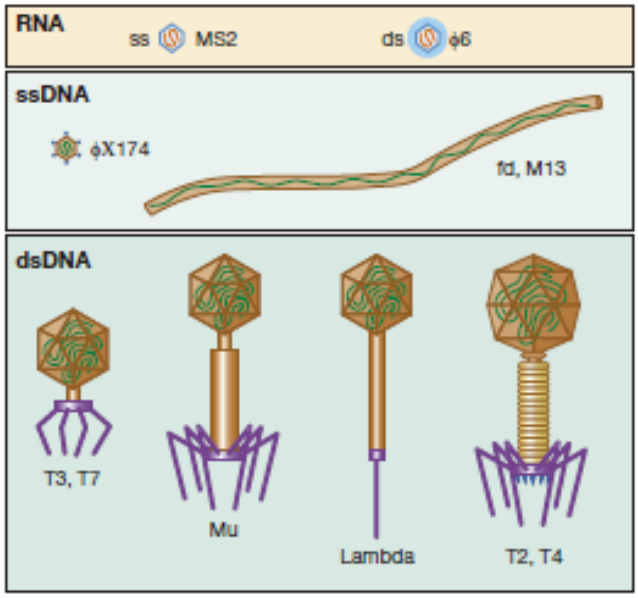


Figura 8.19 Representación esquemática de los principales tipos de virus bacterianos. Los tamaños están aproximadamente a escala. La nucleocápsida del bacteriófago $\phi 6$ está rodeada por una membrana (azul).

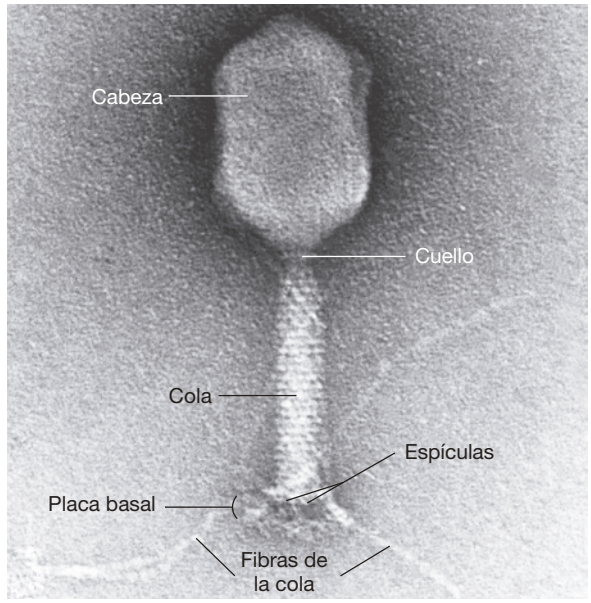


Figura 8.20 Estructura de T4, un bacteriófago complejo. Micrografía electrónica de transmisión del bacteriófago T4 de *Escherichia coli*. Los componentes de la cola actúan en la unión del virión al hospedador y la inyección del ácido nucleico (véase la Figura 8.11). La cabeza de T4 tiene un diámetro de unos 85 nm.

proteínas diferentes que forman un tubo helicoidal rodeado por una vaina. Uno de los extremos de la cola está unido a la cabeza por un «cuello» con un «collar» y el otro extremo es una placa basal, a la que se unen largas fibras basales (Figura 8.20). Después de que el virión T4 se una a la célula hospedadora (por medio de sus fibras basales, Figura 8.11), la cola se contrae para hacer una pequeña incisión en la capa de peptidoglicano y en la membrana citoplasmática del hospedador e inyectar el genoma del fago dentro de la célula. El genoma de T4 es una molécula de DNA lineal de unos 170 kbp que codifica alrededor de 300 proteínas, muchas de las cuales son necesarias para la replicación del DNA del fago (Sección 8.7). A pesar que el virus no codifica su propia maquinaria de traducción, el genoma de T4 codifica ocho de sus tRNA propios. Estos parece que participan en la lectura de algunos codones del fago, ya que la preferencia codónica (↬ Sección 4.11) de T4 difiere significativamente de la de *E. coli*.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué tipo de ácido nucleico es más común entre los genomas de los bacteriófagos?
- ¿Cuál es la función de la RNA replicasa?
- ¿Qué significa la letra T en el nombre del fago T4?

8.10 Visión general de los virus de animales

Los virus que infectan plantas y animales comparten muchas propiedades con los virus bacterianos pero se diferencian de ellos en algunos aspectos cruciales. Los principios más importantes de la virología —presencia de una cápsida que transporta el genoma vírico de RNA o DNA, infección y control de los procesos metabólicos del hospedador y ensamblado y liberación fuera de la célula— son universales, independiente de la naturaleza del hospedador. No obstante, dos diferencias fundamentales entre los virus bacterianos y los de animales son que 1) en la célula animal penetra el virión entero en lugar de solo el ácido nucleico, y 2) las células eucariotas tienen un núcleo y es donde se replican muchos virus de animales. Veremos aquí algunos aspectos generales de los virus de animales.

Clasificación de los virus de animales

En la **Figura 8.21** se muestran varios tipos de virus de animales. Como los virus bacterianos, la clasificación de los virus de animales se basa en la estructura de su genoma (Figura 8.2). Se conocen virus de animales en todas las categorías genómicas, y la mayoría de los que se han estudiado en detalle son los que pueden replicarse en cultivos celulares (Sección 8.4 y Figura 8.9).

La mayoría de las enfermedades humanas víricas importantes están causadas por virus de RNA, y en la **Tabla 8.2** se pueden ver algunos ejemplos. La mayoría de estos virus de RNA tienen genomas monocatenarios, con la única excepción de los reovirus, cuyo genoma consiste en RNA de cadena doble. Como puede verse, los virus de RNA en general tienen genomas relativamente pequeños en comparación con los dos virus de DNA que aparecen en la Tabla 8.2, el virus herpes y el de la viruela.

A diferencia de la infección por los bacteriófagos, en la que una de dos consecuencias —lisis o lisogenia— es posible dependiendo

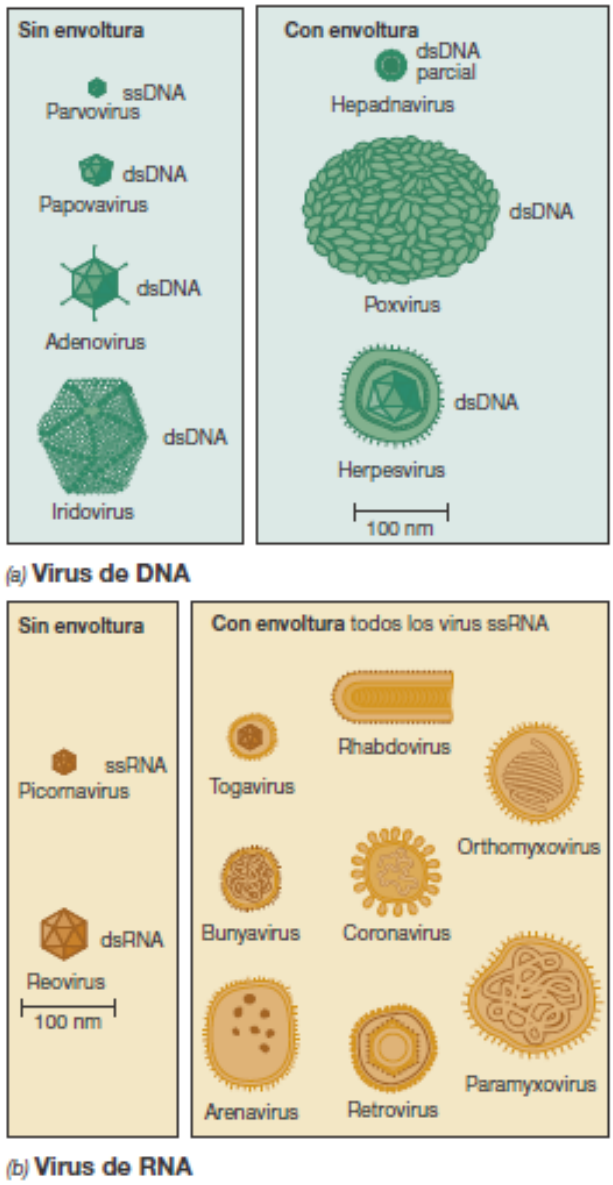


Figura 8.21 **Diversidad de los virus de animales.** Formas y tamaños relativos de los principales grupos de virus de vertebrados. El genoma del hepadnavirus tiene una cadena completa de DNA y parte de la cadena complementaria.

del virus, en la infección por virus de animales son posibles otras situaciones. Exploraremos estas posibilidades ahora.

Consecuencias de la infección vírica en las células animales

Las infecciones por diferentes virus de animales pueden producir al menos cuatro tipos distintos de resultado (**Figura 8.22**). Una *infección virulenta* causa la destrucción de la célula hospedadora, y esta sería la consecuencia más común. En cambio, en una *infección latente*, el DNA vírico no se replica y las células hospedadoras no se dañan. En algunos virus de animales con envoltura, la liberación de los viriones, que se produce por una especie de proceso de gemación, puede ser lenta y es posible

Tabla 8.2 Enfermedades víricas representativas en humanos

Enfermedad	*Virus*	*Genoma DNA o RNA*[a]	*Tamaño*[b]
Herpes labial/herpes genital	Herpes simple	dsDNA	152.000
Viruela	Variola virus	dsDNA	190.000
Poliomielitis	Poliovirus	ssRNA (+)	7.500
Rabia	Virus de la rabia	ssRNA (–)	12.000
Gripe o influenza	Influenzavirus A	ssRNA (–)	13.600
Sarampión	Virus del sarampión	ssRNA (–)	15.900
Fiebre hemorrágica del Ébola	Virus del Ébola	ssRNA (–)	19.000
Síndrome respiratorio agudo grave	SARS coronavirus	ssRNA (–)	29.800
Diarrea infantil	Rotavirus	dsRNA	18.600
Síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA)	Virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)	ssRNA/dsDNA (un retrovirus) (+)	9.700

[a] ss, monocatenarios; ds, bicatenarios. +, virus de cadena positiva; –, virus de cadena negativa (Sección 8.1).
[b] En número de bases, para los genomas monocatenarios, y de pares de bases, para los bicatenarios. Estos genomas víricos han sido secuenciados y por tanto sus tamaños se conocen con precisión. Sin embargo, a menudo la secuencia y la longitud varían un poco entre los diferentes aislados del mismo virus. Por tanto, los tamaños de los genomas que se listan aquí están redondeados en todos los casos.

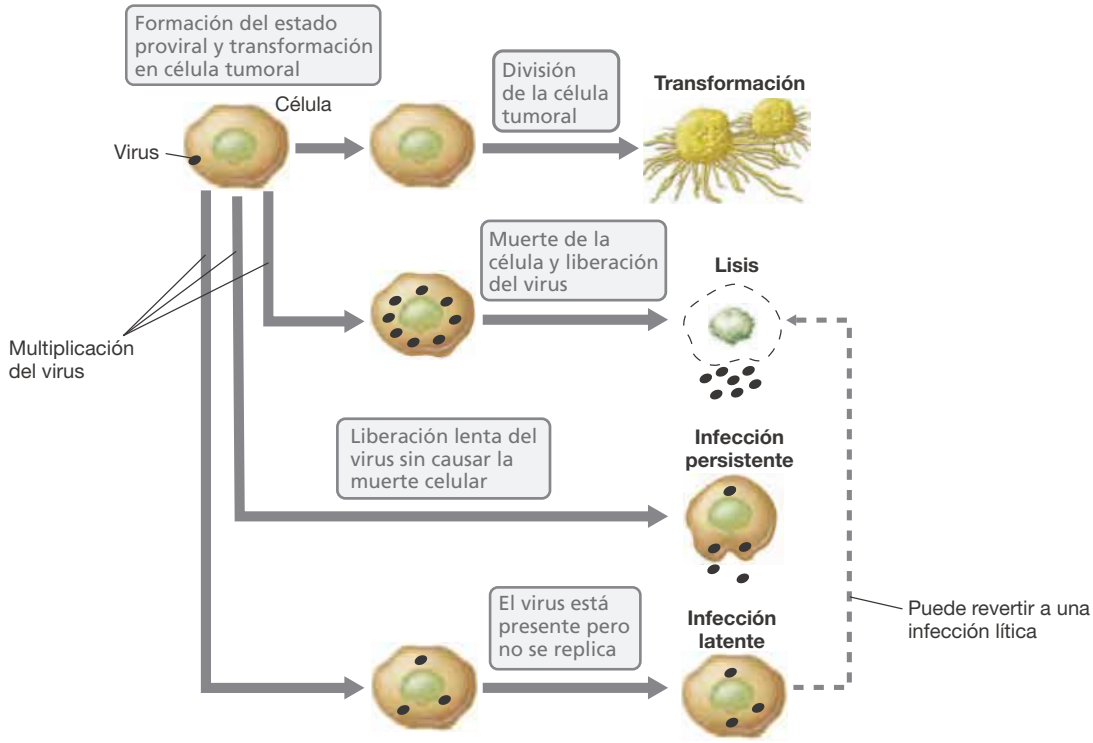


Figura 8.22 Posibles efectos que los virus de animales podrían tener en las células que infectan. La mayoría de los virus de animales son líticos, y solo se conocen unos pocos que causen la transformación cancerosa de la célula.

que no se lise la célula hospedadora. Estas infecciones se llaman *infecciones persistentes*. Finalmente, algunos virus de animales pueden convertir una célula normal en una célula tumoral, en un proceso llamado *transformación*.

Los receptores para los virus de animales son típicamente macromoléculas de la superficie celular usadas en el mecanismo de contacto célula-célula o que forman parte del sistema inmunitario. Por ejemplo, el receptor para el poliovirus y para el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH, agente causal del SIDA) se emplean normalmente en la comunicación intercelular entre células humanas. En organismos multicelulares, las células de los diferentes tejidos u órganos expresan frecuentemente diferentes proteínas en sus superficies celulares. Por tanto, los virus que infectan animales con frecuencia infectan solo ciertos tejidos. Por ejemplo, los virus que causan el resfriado común infectan solo las células de las vías respiratorias superiores.

Los virus de animales deben perder por último su envoltura externa para exponer el genoma vírico. Algunos virus la pierden

en la membrana citoplasmática del hospedador, liberando la nucleocápsida al citoplasma. Sin embargo, el virión completo de virus desnudos de animal y muchos virus de animales con envoltura penentran en la célula mediante endocitosis. En estos casos, el virión es despojado de su envoltura en el citoplasma y el genoma pasa a través de la membrana nuclear hacia el núcleo, donde se produce la replicación del ácido nucleico vírico. Muchos virus de animales tienen envoltura, y cuando salen de la célula toman una parte de la membrana citoplasmática de la célula y la utilizan como parte de su envoltura vírica.

De todos los virus que aparecen en la Figura 8.2 y en la Tabla 8.2, hay un grupo que destaca por tener un modo absolutamente exclusivo de replicación. Se trata de los retrovirus. Los exploraremos a continuación como ejemplo complejo y muy poco frecuente de virus animal, con implicaciones médicas significativas.

Retrovirus y transcriptasa inversa

Los **retrovirus** contienen un genoma de RNA. Sin embargo, el genoma se replica dentro de la célula a través de un intermediario de DNA. El prefijo *retro* significa «hacia atrás» y se les dio el nombre *retrovirus* porque transfieren la información del RNA al DNA (en sentido contrario al que sigue normalmente el flujo de información genética en la célula). Los retrovirus utilizan la enzima **transcriptasa inversa** o **retrotranscriptasa** para llevar a cabo este proceso inusual. Los retrovirus fueron los primeros virus de los que se demostró que causaban cáncer, y el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) es un retrovirus que causa el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA).

Los retrovirus son virus con envoltura que tienen varias enzimas en el virión (Figura 8.23*a*), como la *transcriptasa inversa*, la *integrasa* y una *proteasa* específica del retrovirus. El genoma de los retrovirus es exclusivo y consiste en dos moléculas idénticas de RNA monocatenario de cadena con orientación positiva (Sección 8.1). El genoma contiene los genes *gag*, que codifica proteínas estructurales; *pol*, que codifica la transcriptasa inversa y la integrasa; y *env*, que codifica las proteínas de la envoltura (Figura 8.23*b*). En cada extremo del genoma hay secuencias repetidas que son esenciales para el proceso de replicación vírica.

La replicación de un retrovirus comienza con el virión que penetra en la célula hospedadora, donde se elimina la envoltura y comienza la transcripción inversa en la nucleocápsida (Figura 8.24). Se produce un DNA monocatenario y la transcriptasa inversa lo utiliza como molde para hacer una cadena complementaria; el producto final es una molécula de DNA bicatenario. Este DNA es liberado de la nucleocápsida y entra en el núcleo hospedador junto con la proteína integrasa, la cual facilita la incorporación del genoma retroviral al genoma del

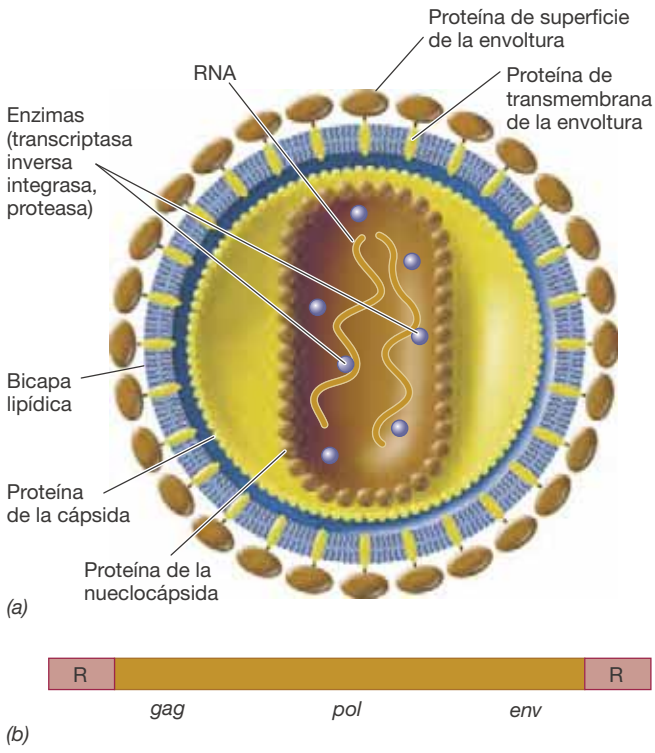


Figura 8.23 Estructura y función de los retrovirus. *(a)* Estructura de un retrovirus. *(b)* Mapa genético del genoma típico de un retrovirus. Cada extremo del RNA genómico contiene repeticiones directas (R).

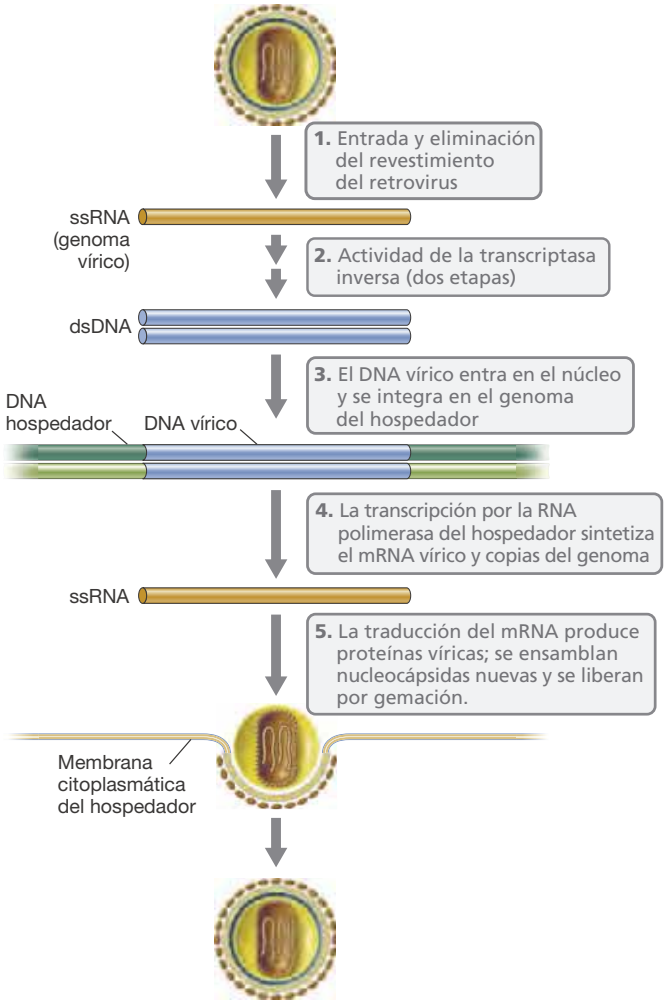


Figura 8.24 Replicación de un retrovirus. El virión contiene dos copias idénticas del genoma de RNA (naranja). La transcriptasa inversa, que también está contenida en el virión, sintetiza DNA monocatenario a partir del RNA vírico y después DNA bicatenario que se integra en el genoma hospedador como un provirus. La transcripción y traducción de los genes províricos lleva a la producción de viriones nuevos que son liberados por gemación.

hospedador. El DNA retroviral es ahora un **provirus**, que se mantiene en el genoma del hospedador indefinidamente y el DNA proviral puede ser transcrito por la RNA polimerasa del hospedador para formar copias del genoma de RNA retroviral y mRNA. Finalmente, las nucleocápsidas que se ensamblan contienen dos copias del genoma retroviral de RNA y adquieren la envoltura cuando dejan la célula hospedadora a través de la membrana citoplasmática, de modo parecido a la gemación (Figura 8.24). A partir de aquí, los viriones maduros del retrovirus ya pueden infectar las células vecinas.

MINIRREVISIÓN

- Compare cómo entran en sus respectivos hospedadores los virus de animales y los bacterianos
- ¿Cuál es la diferencia entre una infección vírica persistente y una latente?
- ¿Por qué los retrovirus son llamados así? ¿Qué se necesita para llevar a cabo este proceso?

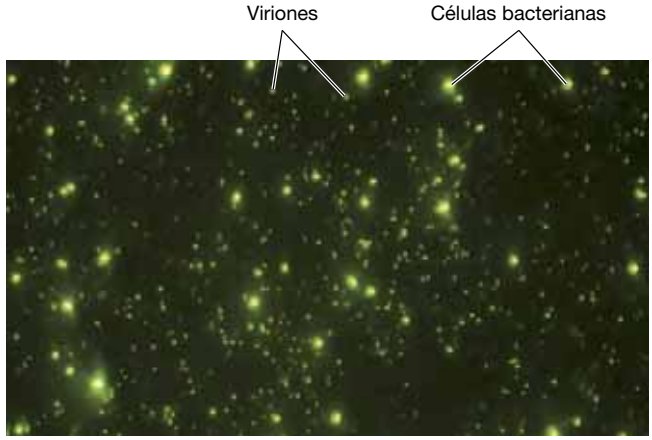


Figura 8.25 Virus y bacterias en agua de mar. Micrografía de fluorescencia de agua de mar teñida con el colorante SYBR Green para mostrar las células procarióticas y los virus. A pesar que los virus son muy pequeños para ser vistos con el microscopio óptico, la fluorescencia que emiten los virus teñidos sí que es visible.

8.11 La virosfera y la ecología vírica

Los virus están presentes en todos los ambientes de la Tierra que contengan células y están presentes en un número enorme. El número de células procariotas de la Tierra es mucho mayor que el número total de células eucariotas. Una estimación del total de células procariotas está en el orden de 10^{30} (↻ Tabla 1.2). Sin embargo, el número de virus es aún mayor, se estima que es del orden de 10^{31}. Las mejores estimaciónes del número de células y de virus en la naturaleza viene de estudios hechos en el agua de mar.

Virus de procariotas

En el agua de mar, la concentración de procariotas es de alrededor de 10^6 por ml y la de virus es aproximadamente 10 veces la de los procariotas. Se estima que entre un 5 % y un 50 % de los procariotas de las aguas marinas son destruidos por bacteriófagos diariamente, y la mayoría de los restantes son consumidos por protozoos. A pesar que los virus representan la mayor parte de los microorganismos totales presentes en el mar en cuanto a su número, debido a su pequeño tamaño solamente constituyen aproximadamente el 5 % de la biomasa total (**Figura 8.25**).

El tipo más común de bacteriófagos, al menos en el mar, son los fagos con cabeza y cola con genoma de DNA bicatenario. En cambio, los bacteriófagos de RNA son comparativamente más raros. Como hemos visto, los bacteriófagos lisogénicos pueden integrarse en el genoma de sus bacterias hospedadoras (Sección 8.8), y cuando lo hacen, pueden conferir nuevas propiedades a la célula. Además, algunos fagos líticos facilitan la transferencia de genes bacterianos de una célula a otra por transducción, que es un medio importante de transferencia horizontal entre procariotas (↻ Sección 10.7). Como agentes de transducción, se cree que los bacteriófagos tienen una influencia fundamental en la evolución bacteriana. Por ejemplo, los genes transferidos pueden conferir nuevas propiedades metabólicas o otras propiedades beneficiosas a las células receptoras y permitir la colonización y el éxito en hábitats nuevos.

Muchos procariotas de los ambientes marinos son arqueas. En concreto, un grupo destacado de arqueas marinas con gran importancia ecológica son las *Thaumarchaeota*. Las especies de este filo son oxidadoras de amoniaco y pueden consumir los niveles infinitamente bajos de amoniaco de las aguas planctónicas de mar abierto. A pesar de que no se han encontrado virus arqueanos líticos de este grupo, al menos en una especie de *Thaumarchaeota* se ha encontrado un genoma vírico dentro de su propio genoma (lo que significa que contiene un provirus). Es por tanto probable que al menos algunos, y quizá muchos, de los virus marinos infecten arqueas marinas en lugar de bacterias marinas. Esto se ve reforzado por la observación de que prácticamente todos los virus arqueanos conocidos son virus de DNA bicatenario, el grupo más común detectado en el mar.

Estrategias de supervivencia y diversidad de los virus en la naturaleza

Cuando hay abundancia de hospedadores en la naturaleza, se cree que los bacteriófagos adoptan el ciclo lítico y por tanto un gran número de células hospedadoras muere. En cambio, cuando el número de hospedadores es bajo, puede ser difícil para los virus encontrar una nueva célula hospedadora, y en estas circunstancias, se ve favorecida la lisogenia si el virus es lisogénico. En estas condiciones, el virus puede sobrevivir como un profago hasta que el número de hospedadores se recupere. Apoya esto la observación de que en las profundidades del océano donde el número de bacterias es menor que en las aguas superficiales, cerca de la mitad de las bacterias examinadas tenían uno o más virus lisogénicos. Por lo que se sabe hasta ahora, los virus de DNA monocatenario y todos los virus de RNA no pueden entrar en estado lisogénico. Por tanto, se desconoce cómo estos virus pueden sobrevivir durante los períodos en que hay un número bajo de células hospedadoras.

La diversidad genética en la Tierra reside en su mayor parte en los virus, principalmente en los bacteriófagos. El *metagenoma vírico* es la suma total de todos los genes de virus en un ambiente en particular. Se han realizado varios estudios de metagenómica de virus y todos muestran indefectiblemente

que en la Tierra hay una inmensa diversidad vírica. Por ejemplo, aproximadamente el 75 % de las secuencias de genes encontradas en estudios de metagenómica de virus no muestran semejanza con ningún otro gen vírico o celular depositado en las bases de datos. Como comparación, los estudios de metagenomas bacterianos normalmente revelan aproximadamente un 10 % de genes desconocidos. Por tanto, muchos virus esperan aún por ser descubiertos y la mayoría de los genes víricos tienen funciones desconocidas. Esto hace del estudio de la diversidad de los virus una de las áreas más apasionantes de la microbiología hoy en día.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué tipos de bacteriófagos son más comunes en el mar?
- ¿Cómo pueden los bacteriófagos afectar la evolución de las bacterias?
- ¿Qué nos sugiere el metagenoma vírico?

IDEAS PRINCIPALES

8.1 • Un virus es un parásito intracelular estricto que necesita una célula hospedadora adecuada para su replicación. Un virión es la forma extracelular de un virus y contiene un genoma de RNA o DNA dentro de una cubierta de proteínas. Una vez dentro de la célula, el virión o su ácido nucleico desvía el metabolismo del hospedador para permitir la replicación vírica. Los virus se clasifican por las características de sus genomas y por sus hospedadores. Los bacteriófagos infectan células bacterianas.

8.2 • En el virión de un virus desnudo, solo encontramos proteínas y ácidos nucleicos. Esta unidad se conoce como nucleocápsida. Los virus con envoltura tienen una o más capas de lipoproteínas rodeando la nucleocápsida. La nucleocápsida se organiza de una manera simétrica y la morfología más común es la icosaédrica. A pesar de que algunos virus son inertes metabólicamente, podemos encontrar una o más enzimas importantes dentro del virión de algunos virus.

8.3 • El ciclo de replicación de un virus puede dividirse en cinco etapas fundamentales: unión (adsorción), penetración (entrada del virión completo o solo inyección del ácido nucleico), síntesis de proteínas y del ácido nucleico, ensamblado y empaquetado, y liberación del virión.

8.4 • Los virus se pueden replicar solamente en sus células hospedadoras adecuadas. Los virus bacterianos han demostrado ser útiles como sistemas modelos porque sus células hospedadoras son fáciles de cultivar y manipular en los cultivos. Muchos virus de animales pueden desarrollarse en células animales cultivadas. Los virus pueden ser cuantificados (se puede calcular su título) mediante el ensayo de calvas. Las calvas son zonas claras que se desarrollan sobre césped de células hospedadoras y, de modo análogo a las colonias de bacterias, surgen como una infección vírica de una sola célula.

8.5 • La unión del virión a la célula hospedadora es un proceso muy específico. Las proteínas de reconocimiento del virus reconocen receptores específicos en la célula hospedadora. Algunas veces el virión completo entra en la célula hospedadora, mientras que en otros casos, como ocurre en la mayoría de los bacteriófagos, solo entra el genoma vírico.

8.6 • El bacteriófago T4 contiene un genoma de DNA bicatenario que tiene permutación cíclica y es redundante en sus extremos. El genoma de T4 codifica su propia DNA polimerasa y otras varias proteínas de la replicación. Las células utilizan enzimas de restricción para intentar destruir el DNA vírico o de otros organismos intrusos, pero el T4 ha modificado químicamente su DNA para hacerlo resistente a estos ataques. Las células también modifican su propio DNA para protegerlo de sus propias enzimas de restricción.

8.7 • Después de que el virión T4 penetre en la célula hospedadora, los genes víricos se expresan y regulan para desviar la maquinaria de sintesis del hospedador para que fabrique proteínas y ácidos nucleicos víricos. Los genes víricos tempranos codifican las fases de replicación del genoma vírico, y los medios y tardíos codifican proteínas estructurales y el ensamblado de la cápsida. Cuando se han sintetizado los componentes del fago T4, se fabrican los nuevos viriones (fundamentalmente mediante autoensamblado), que son liberados después de la lisis de la célula hospedadora.

8.8 • Algunos bacteriófagos son atemperados, lo que significa que pueden entrar en estado lítico o integrarse en el genoma del hospedador como un profago. En este último caso inician un estado llamado lisogenia en el cual el virus no destruye la célula. Un virus lisogénico de *Escherichia coli* muy bien estudiado es el fago lambda. Este fago usa un sistema regulador complejo para «decidir» si se inicia el estado lítico o lisogénico después de la infección.

8.9 • Los virus más frecuentes en la Tierra son los bacteriófagos complejos con cabeza y cola, como el T4 y lambda. El genoma de DNA bicatenario de estos fagos codifica cientos de proteínas. Estos virus se han usado como sistemas modelo no solo de la replicación vírica sino también en biología molecular y genética.

8.10 • Hay virus de animales con todos los tipos conocidos de replicación del genoma vírico. Muchos

virus de animales tienen una envoltura hecha de una porción de la membrana de la célula hospedadora que atrapan al abandonar la célula. El resultado de la infección vírica de las células hospedadoras animales puede ser la lisis celular, pero también son frecuentes las infecciones persistentes o latentes, y algunos virus de animales pueden causar cáncer. Los retrovirus como el virus del SIDA son virus de RNA que utilizan la enzima transcriptasa inversa para replicar su genoma de RNA a través de un intermediario de DNA. El DNA vírico puede integrarse en el cromosoma del hospedador donde puede ser más tarde transcrito para producir mRNA vírico y RNA genómico.

8.11 • El número de virus en la Tierra es diez veces mayor que el número de células. La diversidad genética en la Tierra reside en su mayor parte en los genomas víricos, muchos de los cuales aún no han sido investigados. Los virus afectan sus células hospedadoras ya sea eliminando a su población o realizando la transferencia horizontal de genes de una célula bacteriana a otra. En el mar es probable que tanto las bacterias como las arqueas sean infectadas por virus.

MasteringMicrobiology®

Revise lo que sabe y descubra lo que ha aprendido con MasteringMicrobiology. Acceda a material de estudio, revisiones de los capítulos, animaciones y tutoriales de microbiología práctica en el Área de Estudio y asegúrese de que ha asimilado todo el contenido de este capítulo.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Bacteriófago: virus que infecta células bacterianas.
Calva: zona de lisis o inhibición del crecimiento causada por infección vírica de un césped de células hospedadoras sensibles.
Cápsida: cubierta proteínica que rodea al genoma de una partícula vírica.
Capsómero: subunidad de una cápsida.
Célula hospedadora: célula en cuyo interior se replica un virus.
Concatémero: dos o más moléculas de ácidos nucleicos lineales unidas covalentemente en tándem.
Forma replicativa: molécula de DNA bicatenario que actúa como intermediario de la replicación de los virus con genoma de DNA monocatenario.
Genes solapados: dos o más genes en los cuales una parte o todo un gen está integrado en el otro.
Lisógena: bacteria que contiene un profago.
Lisogenia: estado en el que el genoma del virus se replica al mismo tiempo que el genoma del hospedador.
Nucleocápsida: complejo de ácido nucleico y proteínas de un virus.
Proteína media: proteína con función catalítica o estructural sintetizada después de las proteínas tempranas en una infección vírica.
Proteína tardía: proteína, normalmente estructural, sintetizada en una fase tardía de la infección vírica.
Proteína temprana: proteína que se sintetiza muy pronto después de la infección vírica y antes de la replicación del genoma del virus.
Profago: la forma lisogénica de un bacteriófago (véase *provirus*).
Provirus: genoma de un virus de animal atemperado o latente cuando se replica al mismo tiempo que el cromosoma del hospedador.
Recubierto: con referencia a un virus, que tiene una membrana de lipoproteínas rodeando al virión.
Replicación en círculo rodante: mecanismo de replicación del DNA, que se inicia con el corte y el desenrollamiento de una de las cadenas para ser usada como molde para la síntesis de una cadena complementaria.
Retrovirus: virus cuyo genoma de RNA se replica con un intermediario de DNA.
RNA replicasa: enzima que puede sintetizar RNA a partir de un molde de RNA.
Ruta lítica: tipo de infección vírica que conducen a la replicación del virus y a la destrucción (lisis) de la célula hospedadora.
Título: número de viriones infecciosos en una suspensión vírica.
Transcriptasa inversa (o retrotranscriptasa): enzima retroviral que puede producir DNA a partir de un molde de RNA.
Virión: partícula vírica infecciosa; genoma vírico rodeado por una cubierta proteínica y, en algunos casos, otro tipo de capas.
Virus: elemento genético que contiene RNA o DNA rodeado por una cápsida proteínica y que se replica solo en el interior de las células hospedadoras.
Virus atemperado: virus cuyo genoma puede replicarse junto con el de su hospedador sin causar la muerte celular, en un estado llamado lisogenia (en los virus bacterianos) o latencia (en los virus de animales).
Virus virulento: virus que lisa o mata la célula hospedadora tras la infección.

PREGUNTAS DE REPASO

1. Defina lo que es un virus. ¿Cuáles son las mínimas características necesarias para encajar en esta definición? (Sección 8.1)
2. ¿En qué se diferencian los genomas víricos de los genomas celulares? (Sección 8.1)
3. ¿Cuáles son los componentes fundamentales de una partícula vírica? (Sección 8.2)
4. ¿Por qué una curva de crecimiento de una sola etapa se diferencia en su forma de una curva de crecimiento bacteriano? (Sección 8.3)

5. Describa lo que ocurre en una placa de agar que contiene un césped bacteriano cuando una sola partícula de bacteriófago causa la formación de una calva. (Sección 8.4)
6. ¿Cómo se cuantifica una suspensión vírica y qué se entiende por la palabra «título»? (Sección 8.4)
7. ¿Qué se necesita para que un virión del bacteriófago T4 se adhiera a una célula de *Escherichia coli*? (Sección 8.5)
8. ¿Cuál es la diferencia entre el proceso de penetración de un bacteriófago y el de un virus de animal? (Secciones 8.5 y 8.10)
9. En términos de estructura, ¿en qué se parecen y en qué se diferencian el genoma del bacteriófago T4 y el de *Escherichia coli*? (Sección 8.6)
10. El bacteriófago T4 tiene genes tempranos y genes tardíos. ¿Qué significan estas dos clasificaciones y qué tipo de proteínas codifican los unos y los otros? (Sección 8.7)
11. ¿Qué es un bacteriófago atemperado? Mencione un fago atemperado bien estudiado que infecte células de *Escherichia coli*. (Sección 8.8)
12. Describa diferentes formas de virus bacterianos. ¿Cuál es la más común en la naturaleza? (Sección 8.9)
13. Describa los tipos de genomas encontrados en los virus bacterianos. De un ejemplo de un virus para cada tipo de genoma. (Sección 8.9)
14. Describa los tipos de genomas encontrados en los virus de animales. (Sección 8.10)
15. ¿Por qué podemos decir que el genoma de un retrovirus es único en toda la biología? (Sección 8.10)
16. ¿Cómo son de abundantes en el mar los virus en comparación con las bacterias? (Sección 8.11)
17. Explique de qué modo los virus pueden afectar a las bacterias y las arqueas en la naturaleza, tanto de manera positiva como negativa. (Sección 8.11)

EJERCICIOS PRÁCTICOS

1. ¿Qué hace que las calvas víricas que aparecen en un césped bacteriano dejen de crecer?
2. Los promotores en los genes que codifican las proteínas tempranas en los virus como el T4 tienen una secuencia diferente de la de los promotores en los genes que codifican las proteínas tardías del mismo virus. Explique por qué esto beneficia al virus.
3. En ciertas condiciones, es posible obtener de algunos virus la envoltura proteínica (cápsida) libre de ácidos nucleicos. Bajo el microscopio electrónico estas cápsidas son muy parecidas a viriones completos. ¿Qué nos dice esto acerca del papel del ácido nucleico vírico en el proceso de ensamblado del virus? ¿Esperaría qué estas partículas fueran infeccionas?
4. Compare la(s) enzima(s) presente(s) en los viriones de un retrovirus con las de un bacteriófago de RNA de cadena positiva. ¿En qué se diferencian, si ambos tienen RNA monocatenario de complementariedad positiva en su genoma?

CAPÍTULO

9 · Genomas y diversidad de los virus

microbiología **actual**

Diversidad vírica en continua expansión

Los virus infectan todos los organismos incluidos *Bacteria* y *Archaea*, y en conjunto representan el mayor repositorio de diversidad genética del planeta. Hasta ahora se han aislado y caracterizado muchos virus bacterianos (bacteriófagos) y de *Archaea*. En el caso de las bacterias, esto incluye fagos de DNA y de RNA, algunos con genomas monocatenarios y otros, bicatenarios. Sin embargo, no se conoce virus de *Archaea* de RNA. ¿Será porque no existen?

Todos los virus arqueanos conocidos tienen genomas de DNA, y con excepciones raras, genomas de DNA bicatenario y circular. En la década pasada, unos investigadores que estudiaban la diversidad vírica en fuentes termales del parque nacional de Yellowstone, en los Estados Unidos (fotografía), encontraron un gran número de estos parásitos de arqueas con formas extrañas y estructuralmente resistentes (fotografía del recuadro). Estos investigadores siempre se cuestionaron por qué no han detectado nunca en estos estudios la presencia de virus arqueanos con genomas de RNA. Pues bien, ahora ya sí.

Usando las potentes herramientas de la metagenómica, unos investigadores que estudiaban unas fuentes termales de Yellowstone muy ácidas y dominadas por arqueas han detectado segmentos de genomas víricos de RNA. Son secuencias filogenéticamente muy divergentes de los genomas de los virus de RNA de eucariotas y aun más distantes de los genomas de bacteriófagos con genoma de RNA[1]. Las piezas de RNA víricos fueron ensambladas para formar varios genomas completos distintos que eran todos monocatenarios y de cadena positiva. Los análisis de las secuencias confirmaron que cada genoma codificaba una RNA replicasa —una característica distintiva de los virus de RNA— y que algunos de estos virus de *Archaea* parecían replicarse mediante la formación de una poliproteína, un mecanismo de replicación empleado por algunos virus de eucariotas de RNA de cadena positiva, como los poliovirus.

Este enfoque metagenómico de la diversidad de los virus ha revelado que en realidad existen los virus de *Archaea* de RNA. Cuando esta investigación se complemente con trabajos futuros relacionados con el aislamiento real de viriones de RNA que se repliquen en cultivos de arqueas, la virología dispondrá de una ventana nueva para explorar la increíble diversidad del mundo de los virus.

[1]Bolduc, B., *et al.* 2012. Identification of novel positive-strand RNA viruses by metagenomic analysis of *Archaea*-dominated Yellowstone hot springs. *J. Virol. 86*: 5562-5573.



I Genomas víricos y evolución 280
II Virus con genomas de DNA 284
III Virus con genomas de RNA 292
IV Agentes subvíricos 300

Los virus tienen genomas de DNA o de RNA que pueden ser monocatenarios o bicatenarios. En comparación con las células, los genomas víricos presentan retos insólitos para el flujo de información genética. En este capítulo exploraremos la diversidad de los virus desde una perspectiva genómica. Los virus se presentarán agrupados por la estructura de sus genomas en lugar de por el tipo de células que infectan, ya que los virus con estructuras genómicas iguales se enfrentan a los mismos retos en el flujo de información genética.

I • Genomas víricos y evolución

9.1 Tamaño y estructura de los genomas víricos

El tamaño de los genomas víricos varía casi mil veces desde los genomas más pequeños hasta los más grandes. Los virus de DNA existen dentro de este rango de tamaños, desde los pequeños circovirus, con genomas monocatenarios de 1,75 kb, hasta los 1,25 Mbp del genoma de DNA bicatenario de *Megavirus* (Figura 9.1). Los genomas de RNA, ya sean monocatenarios o bicatenarios, son normalmente menores que el genoma de los virus de DNA. Aunque algunos genomas víricos son mayores que los de algunos procariotas, los genomas procarióticos son normalmente mucho mayores que los de los virus, y los genomas eucarióticos son a su vez mayores que los de los procariotas (Figura 9.1).

Ya sea el genoma vírico grande o pequeño, una vez que el virus ha infectado su hospedador, se debe producir la transcripción del genoma vírico y se deben sintetizar copias nuevas del mismo. Solo después, cuando las proteínas víricas empiezan a aparecer a partir de la traducción de los transcritos víricos, puede iniciarse el ensamblado de los virus. Para algunos virus de RNA, el genoma representa también el mRNA. Para muchos virus, sin embargo, el mRNA vírico debe ser sintetizado antes por transcripción del genoma de DNA o RNA. Consideraremos ahora las diferentes versiones de este proceso.

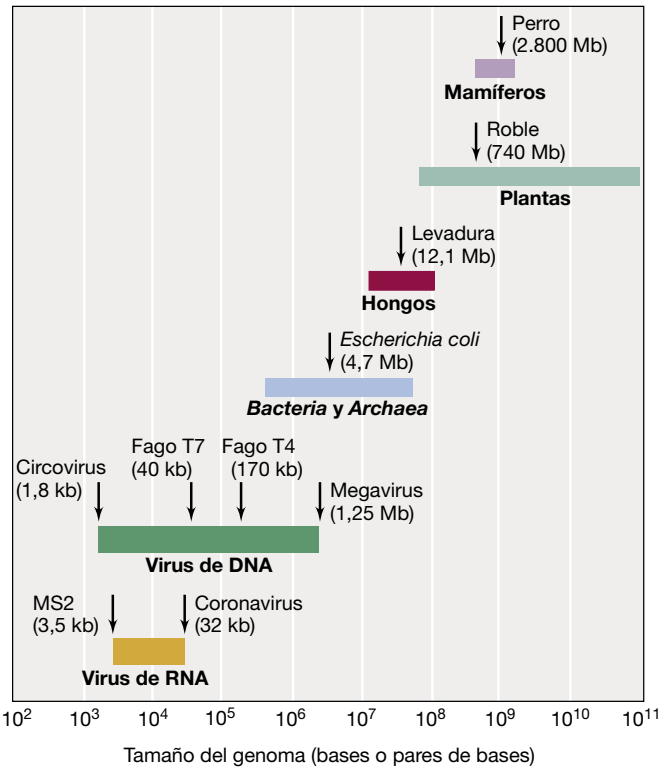


Figura 9.1 **Genómica comparativa**. Comparación del tamaño de los genomas víricos con los de los principales grupos de organismos vivos.

Estructura de los genomas víricos: la clasificación de Baltimore

El virólogo David Baltimore, que compartió el Premio Nobel de Fisiología o Medicina de 1975 con Howard Temin y Renato Dulbecco por el descubrimiento de los retrovirus y la transcriptasa inversa, desarrolló un esquema de clasificación de los virus. Este esquema se basa en la relación del genoma vírico con su mRNA y reconoce siete clases de virus (Figura 9.2). Por convenio en virología, el mRNA vírico siempre se considera que es de cadena o configuración *positiva*. Por tanto, para entender la biología molecular de una clase concreta de virus, se debe conocer la naturaleza del genoma vírico y qué etapas son necesarias para sintetizar mRNA de complementariedad positiva (Figura 9.2).

Los virus de DNA bicatenario son de la clase I en la clasificación de Baltimore. En dicha clase, el mecanismo de producción de mRNA y de replicación del genoma es el mismo que el utilizado por la célula hospedadora, como hemos visto con el bacteriófago T4, un virus típico de clase I (↻ Sección 8.7). Un virus que contenga un genoma monocatenario puede ser de **cadena positiva** (cadena más) o de **cadena negativa** (cadena menos). Los virus de la clase II son virus con el genoma de DNA monocatenario de cadena positiva. La transcripción de estos genomas produciría un mensaje con la configuración negativa. Por tanto, antes de que se sintetice el mRNA de los virus de clase II, se debe sintetizar una cadena de DNA complementaria para formar un intermediario de DNA bicatenario que se denomina **forma replicativa**. Dicho intermediario se utiliza para la transcripción y para generar copias nuevas del genoma. La cadena positiva del intermediario se convierte en el genoma y la otra es desechada (Figura 9.2). Con solo una excepción conocida, todos los virus de DNA monocatenarios son virus de cadena positiva.

En los virus de RNA, la producción de mRNA y la replicación del genoma son diferentes que en los de DNA. Las RNA-polimerasas celulares no catalizan la formación de RNA a partir de un molde de RNA, sino que requieren un molde de DNA. Por tanto, según el virus, los virus de RNA deben llevar en el virión o codificada en su genoma una RNA-polimerasa dependiente de RNA que se conoce como *RNA-replicasa* (↻ Sección 8.2). En los virus de RNA de cadena positiva (clase IV), el genoma es también su mRNA. Pero en los virus de RNA de cadena negativa (clase V), la RNA-replicasa debe sintetizar una cadena positiva de RNA usando la cadena negativa del genoma como molde y esta cadena positiva es utilizada como mRNA y

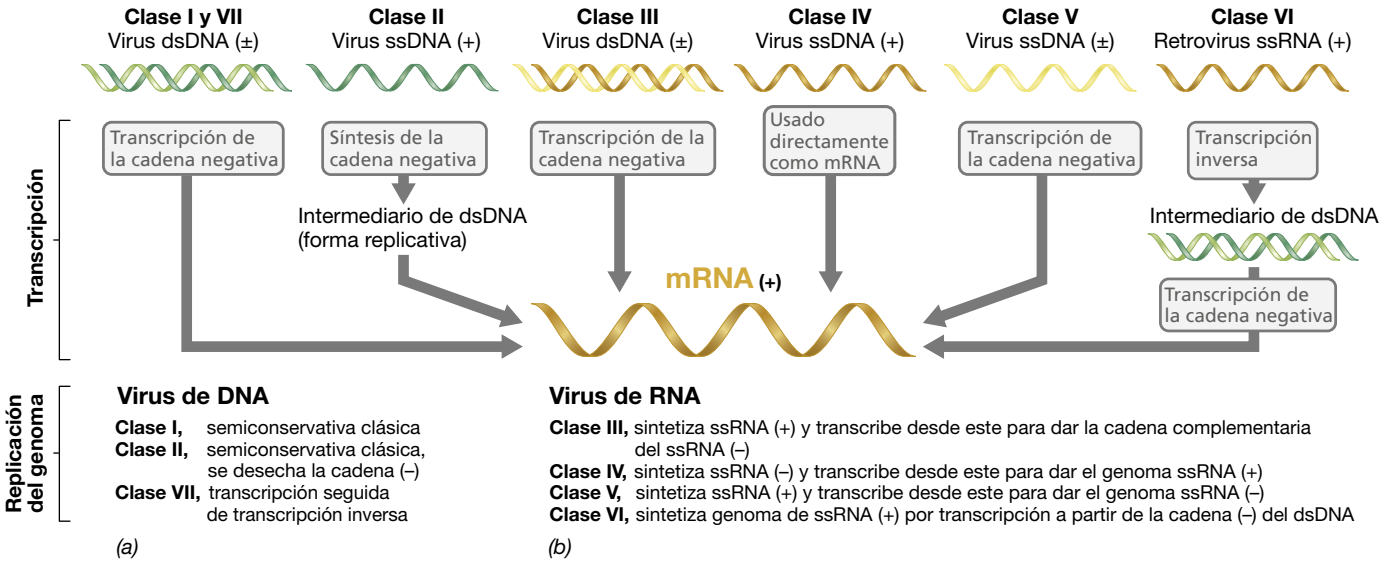


Figura 9.2 **Clasificación de Baltimore de los genomas víricos**. Se conocen siete clases de genomas víricos. Los genomas pueden ser de DNA *(a)* o de RNA *(b)*, y al mismo tiempo monocatenario (ss) o de cadena doble (ds). Se muestra la ruta que toma cada tipo de virus para formar su mRNA y la estrategia para su replicación.

también como molde para sintetizar más genomas de cadena negativa (Figura 9.2). Los virus de RNA de clase III se enfrentan a un problema similar pero parten de un RNA bicatenario (+/–) en lugar de una sola cadena positiva o negativa.

Los retrovirus son virus de animales cuyos genomas consisten en RNA monocatenario de configuración positiva pero que se replican a través de un intermediario de DNA bicatenario (clase VI). El proceso de copiar en el DNA la información que se encuentra en el RNA se llama **transcripción inversa** y es catalizado por una enzima llamada *transcriptasa inversa* o *retrotranscriptasa*. Por último, los virus de clase VII son virus muy poco comunes con genoma de DNA bicatenario pero que se replican a través de un RNA intermediario. Como veremos, estos virus también utilizan la transcriptasa inversa.

En la Tabla 9.1 se muestran algunos ejemplos de virus de cada una de las clases del sistema de clasificación de Baltimore. Según avancemos por este capítulo exploraremos la biología molecular exclusiva de cada una de estas clases.

Tabla 9.1 Algunos tipos de genomas víricos

				Genoma vírico		
Virus	*Hospedador*	*DNA o RNA*	*Mono o bicatenario*	*Estructura*	*Número de moléculas*	*Tamaño (bases o pares de bases)*[a]
Parvovirus H-1	Animal	DNA	Monocatenario	Lineal	1	5.176
ϕX174	*Bacteria*	DNA	Monocatenario	Circular	1	5.386
Virus 40 de los simios (SV40)	Animal	DNA	Bicatenario	Circular	1	5.243
Poliovirus	Animal	RNA	Monocatenario	Lineal	1	7.433
Virus del mosaico de la coliflor	Plantas	DNA	Bicatenario	Circular	1	8.025
Virus del mosaico del caupí	Plantas	RNA	Monocatenario	Lineal	2 diferentes	9.370 (total)
Reovirus de tipo 3	Animal	RNA	Bicatenario	Lineal	10 diferentes	23.549 (total)
Bacteriófago lambda	*Bacteria*	DNA	Bicatenario	Lineal	1	48.514
Virus herpes simplex de tipo 1	Animal	DNA	Bicatenario	Lineal	1	152.260
Bacteriófago T4	*Bacteria*	DNA	Bicatenario	Lineal	1	168.903
Citomegalovirus humano	Animal	DNA	Bicatenario	Lineal	1	229.351

[a]El tamaño se expresa como número de bases o de pares de bases según sea el genoma monocatenario o bicatenario. Estos genomas víricos han sido secuenciados y por tanto su tamaño se conoce con precisión. Sin embargo, debido a que en algunos casos solo se ha secuenciado una cepa o aislado particular del virus, esta exactitud en el tamaño puede ser engañosa. Por tanto, la secuencia y el número exacto de bases de otros aislados puede ser ligeramente diferente. Aquí no hemos intentado escoger el virus más grande y el más pequeño conocidos, sino más bien dar una muestra representativa de los tamaños y estructuras de los genomas de los virus que contienen DNA o RNA, ya sea monocatenario o bicatenario.

Síntesis de las proteínas víricas

Una vez producido el mRNA vírico (Figura 9.2), se pueden sintetizar las proteínas víricas. En todos los virus, estas proteínas se pueden agrupar en dos grandes categorías: (1) proteínas sintetizadas inmediatamente después de la infección, llamadas *proteínas tempranas*, y (2) proteínas sintetizadas más tarde, llamadas *proteínas tardías*. Generalmente, tanto la distribución temporal como la cantidad de proteínas víricas están reguladas de manera estricta. Las proteínas tempranas son normalmente, enzimas que actúan catalíticamente y, por tanto, se sintetizan en cantidades relativamente pequeñas. Estas proteínas comprenden, además de las polimerasas de ácidos nucleicos, proteínas que actúan para detener la transcripción y la traducción en el hospedador. En cambio, las proteínas tardías son normalmente componentes estructurales del virión o otras proteínas que no son necesarias hasta que comienza el ensamblado del virión, y se producen en cantidades mucho mayores (↔ Sección 8.7).

La infección vírica altera los mecanismos reguladores del hospedador porque en la célula infectada hay una sobreproducción acusada de ácido nucleico y proteínas del virus. Finalmente, cuando se ha sintetizado la cantidad suficiente de copias del genoma vírico y de componentes estructurales del virión, se ensamblan viriones nuevos que se liberan de la célula ya sea por lisis y la consecuente muerte de esta o por un proceso de gemación en el cual la célula hospedadora se mantiene viva.

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué se distinguen un virus de RNA de cadena positiva y uno de cadena negativa?
- Compare la producción de mRNA en las dos clases de virus de RNA monocatenario.
- ¿Qué hay de inusual en el flujo de información genética en los retrovirus?

9.2 Evolución vírica

¿Cuándo aparecieron los virus por primera vez en la Tierra y cuál es su relación con las células? Todos los virus conocidos necesitan una célula hospedadora para replicarse y esto naturalmente nos lleva a la conclusión de que los virus surgieron en algún momento después de que aparecieran las primeras células en la Tierra, hace cerca de 4 mil millones de años. Siguiendo esta línea de razonamiento, parece muy probable que los virus sean restos de componentes celulares que desarrollaron la capacidad de replicarse con ayuda de la célula. Sin embargo, se han propuesto otras hipótesis sobre el origen de los virus; por ejemplo, que los virus son vestigios del «mundo de RNA», un período de la evolución en el que se supone que el RNA era la única molécula portadora de información genética (↔ Sección 12.1 y **Figura 9.3**). Otra hipótesis es que los virus fueron primero células que, por alguna razón, quizá para economizar sus genomas, prescindieron de tantos genes que se hicieron dependientes de un hospedador para la mayoría de sus funciones replicativas.

Si bien *cómo* surgieron los virus es una pregunta sin respuesta, también lo es la pregunta de *por qué* aparecieron los virus. Un motor probable de la evolución vírica fue un mecanismo de las células para hacer circular rápidamente sus genes en la naturaleza. Debido a que los virus son formas extracelulares que

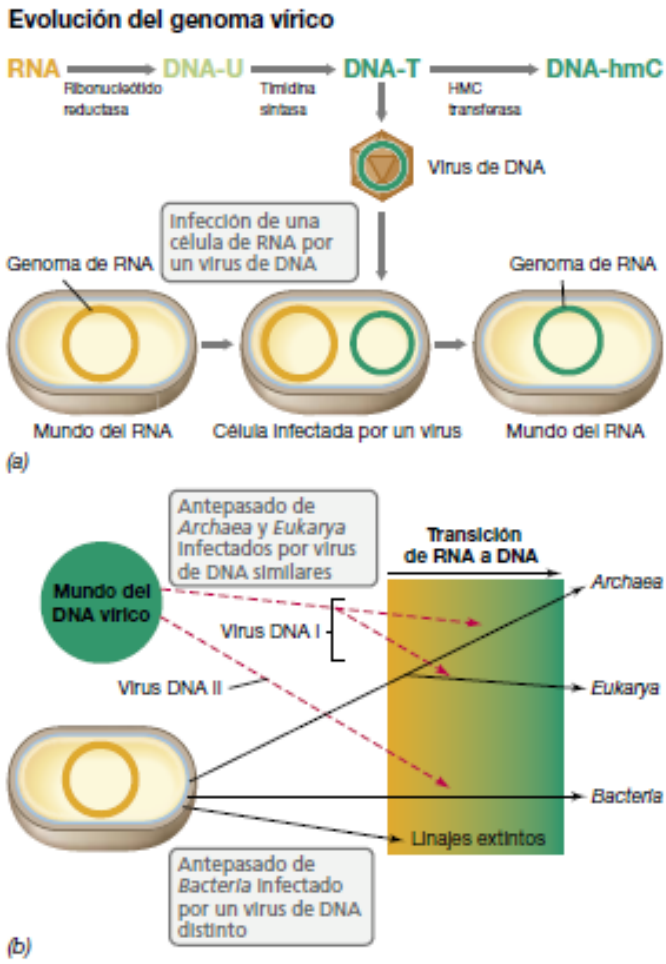


Figura 9.3 **Hipótesis del origen vírico del DNA**. *(a)* La evolución de enzimas específicas para el DNA podría haber permitido que los virus de RNA se convirtieran en virus de DNA. DN. Estas variantes de DNA se conocen en diferentes virus. *(b)* La infección de una célula de RNA por un virus de DNA podría haber expuesto las células a la química del DNA, más estable que la del RNA. La infección de los antepasados de *Bacteria* con un virus de DNA, muy diferente de los que infectaron *Archaea* y *Eukarya*, podría explicar por qué la maquinaria del DNA de *Archaea* y *Eukarya* es diferente de la de *Bacteria*.

protegen en su interior el ácido nucleico, podrían haber sido seleccionados como un medio de enriquecimiento de la diversidad genética (y por tanto la adaptación) de las células al facilitar la transferencia de genes entre ellas. Esta función parece especialmente relevante para las células procariotas, en las que se sabe que la transferencia horizontal de genes es uno de los factores principales de su rápida evolución (↔ Secciones 6.12 y 12.7). A pesar de que muchos virus matan a su célula hospedadora, los virus latentes no lo hacen y es posible que los primeros virus fuesen al principio latentes y que después desarrollasen capacidades líticas para acceder más rápidamente a nuevos hospedadores.

Los virus y la transición del mundo de RNA al de DNA

Además de su posible papel para promover la diversidad genética, es posible que los virus fueran las primeras entidades en contener DNA. La hipótesis del mundo de RNA propone que

el RNA fue el material genético de las primeras células, y que al final fue substituido por el DNA en esa función porque es una molécula más estable que el RNA. Curiosamente, una nueva hipótesis que apuesta por la transición del RNA al DNA pone a los virus en el centro de la historia (Figura 9.3).

Este escenario plantea que los virus de RNA primero evolucionaron a DNA como mecanismo de modificación para proteger su genoma de las ribonucleasas de la célula, que podrían destruirlo. Debido a que el DNA no es RNA, y que las células en el mundo de RNA habrían contenido un genoma de RNA, los virus de DNA habrían tenido que desarrollar su propia maquinaria de replicación para replicar su genoma. Se ha sugerido además que los virus de DNA debieron de infectar a los ancestros de los tres dominios celulares. Gradualmente, por intercambio genético con el DNA de los genomas víricos, cada grupo de células obtuvo la maquinaria necesaria para replicar el DNA y finalmente convertir su genoma de una química basada en RNA a una basada en DNA. Además, las células con genoma de RNA que no fueron infectadas por virus de DNA nunca desarrollaron un genoma de DNA, y la selección darwiniana habría conducido estas células menos aptas a la extinción (Figura 9.3*b*). Es posible que una enzima parecida a la transcriptasa inversa fuera clave en este proceso de conversión del RNA en DNA, justamente como ocurre en los retrovirus hoy en día (Sección 9.11).

¿Por qué es tan atractiva esta hipótesis? La teoría de los tres dominios muestra que *Archaea* y *Eukarya* están más cercanos filogenéticamente entre ellos que cada uno de ellos con *Bacteria* (↻ Figura 1.6). Aunque el análisis molecular de la maquinaria necesaria para la transcripción y la traducción respalda esta hipótesis, el análisis de la maquinaria molecular para la replicación, la recombinación y la reparación del DNA, el esquema de los tres dominios no lleva a la misma conclusión. Algunos procesos relacionados específicamente con el DNA son similares en *Bacteria* y *Archaea*, mientras que la gran mayoría son más similares entre *Archaea* y *Eukarya*. La hipótesis del DNA vírico explica esta discrepancia proponiendo que, aunque la transcripción y la traducción eran procesos ya establecidos antes de que los tres dominios comenzaran a distinguirse, no lo estaban aquellos relacionados con el DNA. La bioquímica del DNA fue más bien consecuencia de infecciones víricas. El conjunto de enzimas del metabolismo del DNA que existen en las células actuales se explica suponiendo que antepasados de las *Archaea* y *Eukarya* fueron infectados por un virus semejante que a su vez era diferente del virus que infectó a un antepasado de las *Bacteria* (Figura 9.3).

La hipótesis del DNA vírico también explica cómo se originó en los inicios el DNA en la célula y cómo los genomas de RNA pudieron ser remplazados gradualmente por DNA. Si esta hipótesis es verdadera, contiene un elemento irónico. Intentando sacar ventaja a sus hospedadores, una de las estrategias de evasión de los virus fue la evolución del DNA. Pero en este caso, la química de esta molécula significó una mejora con respecto a la química del RNA, que las células optaron por seguir también esta estrategia para su beneficio propio.

Filogenia de los virus

La diversidad de los genomas víricos —la mayoría de los genes víricos obtenidos de la naturaleza tienen funciones desconocidas— es tan grande que no ha sido posible construir un árbol filogenético universal de los virus como se ha hecho con las células (↻ Figura 1.6). Solamente en algunos grupos de virus ha sido posible trazar una filogenia de manera fiable, y en estos casos, los árboles se han construido a partir de secuencias de algunos genes concretos o de proteínas compartidas entre los miembros del grupo. Uno de estos ejemplos es el Mimivirus, el virus más grande conocido, y los virus emparentados con él (**Figura 9.4**).

Las cápsidas de los Mimivirus son de múltiples capas e icosaédricas. El virión está cubierto de espículas y tiene casi 0,75 μm de diámetro, mayor que algunas células procarióticas (Figura 9.4*a*). Su genoma, de 1,2 Mbp, es de DNA bicatenario-bicatenario. Esto es más del doble que el siguiente virus más grande conocido, y es mayor que el genoma de algunos procariotas (↻ Tabla 6.1). El Mimivirus infecta el protozoo *Acanthamoeba* y pertenece a un grupo de virus gigantes con genomas grandes conocido como los virus nucleocitoplasmáticos de DNA de gran tamaño (NCLDV, del inglés *nucleocytoplasmic*

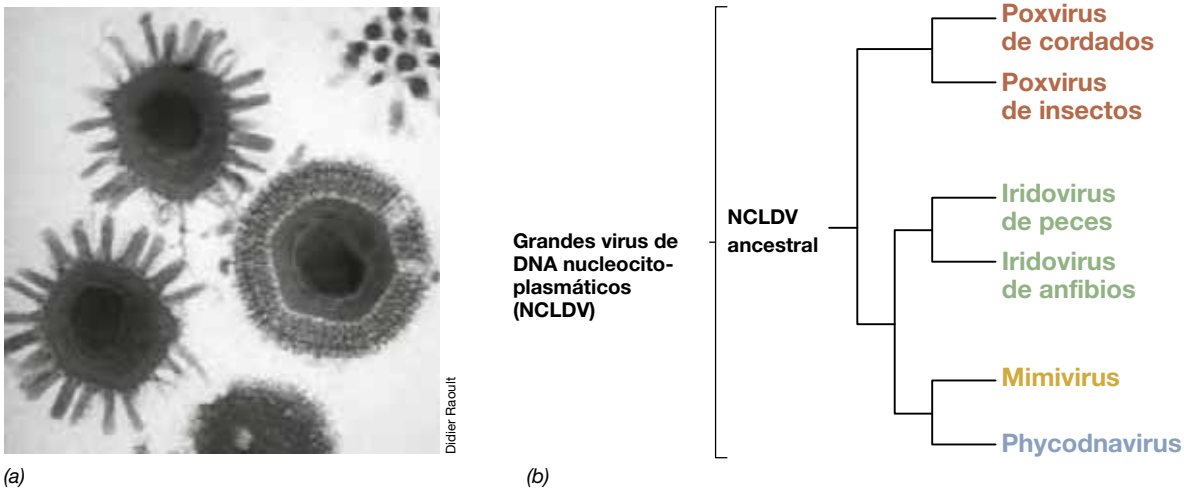


Figura 9.4 Filogenia de los grandes virus de DNA nucleocitoplasmáticos (NCLDV). *(a)* Micrografía electrónica de transmisión de Mimivirus, un miembro del grupo de los NCLDV. Cada virión tiene un diámetro de unos 750 μm. *(b)* Filogenia de los grupos principales de NCLDV basada en la comparación de secuencias de varias proteínas del metabolismo del DNA.

large DNA viruses) (Figura 9.4*b*). Este grupo comprende varias familias víricas, entre las que se incluyen los poxvirus (Sección 9.6), los iridovirus y ciertos virus de plantas. Estos virus tienen en común un conjunto de proteínas altamente homólogas, la mayoría de las cuales intervienen en el metabolismo del DNA. El árbol filogenético de estos virus construido a partir de las secuencias de DNA que codifican estas proteínas muestra cómo han divergido a partir de un antepasado común (Figura 9.4*b*).

Es por tanto posible en algunos casos trazar la filogenia de un grupo de virus. Pero para ello hay que comenzar por un grupo del cual se sepa que los virus comparten un conjunto de propiedades. Otros intentos de trazar la filogenia de los virus comparando la biología estructural de las proteínas de la cápsida, han demostrado también ser útiles en algunos grupos de virus (véase página 257). Aunque los árboles filogenéticos basados en genomas celulares respaldan muy bien la hipótesis de los tres dominios, la evolución ha reordenado tanto los genomas víricos que es improbable que podamos construir un árbol filogenético universal de los virus basado en la comparación de las secuencias completas de sus genomas, al menos usando las herramientas bioinformáticas disponibles en la actualidad.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cómo podrían los virus haber acelerado la evolución de las células?
- Explique cómo los virus podrían haber «inventado» el material genético que se encuentra en todas las células.
- Dé dos razones de por qué resultaría difícil construir un árbol filogenético universal para los virus.

II • Virus con genomas de DNA

9.3 Bacteriófagos con DNA de cadena simple: ϕX714 y M13

En esta sección presentaremos dos bacteriófagos de DNA monocatenario bien conocidos, el fago ϕX714 y el fago M13. Se conocen también muchos virus de DNA monocatenario de plantas y de animales. Sin embargo, dado que sus genomas son, como los de los fagos, de complementariedad positiva (virus de cadena positiva), muchos procesos moleculares son similares. Por tanto, nos centraremos aquí en los fagos. Para que un genoma de DNA monocatenario pueda ser transcrito, antes se debe sintetizar una cadena de DNA complementaria, para obtener la forma replicativa bicatenaria que se usará para obtener mRNA y copias del genoma.

El fago ϕX714

El bacteriófago ϕX714 contiene un genoma circular de 5.386 nucleótidos dentro de un virión icosaédrico pequeño de unos 25 nm de diámetro. Dicho fago tiene solo unos pocos genes y muestra el fenómeno de **genes solapados**, una condición en la que no hay DNA suficiente para codificar todas las proteínas específicas del virus, a no ser que haya partes del genoma que se lean más de una vez, en diferentes marcos de lectura. Por ejemplo, en el genoma ϕX714, el gen B forma parte del gen A y el gen K forma parte de los genes A y C (**Figura 9.5**). Los genes D y E también se solapan, de tal manera que el gen E está completamente incluido dentro del gen D. Además, el codón de terminación del gen D solapa con el codón de inicio del gen J (Figura 9.5*a*).

Los distintos productos génicos de los genes solapados son sintetizados mediante el reinicio de la transcripción *en un marco de lectura diferente* dentro del gen para producir un segundo transcrito diferente. Además del solapamiento génico, una pequeña proteína de ϕX174, llamada A*, que actúa deteniendo la síntesis de DNA del hospedador, es sintetizada al reiniciarse la *traducción* (no transcripción) dentro del mRNA correspondiente al gen A. Así, la proteína A* se lee a partir del mismo marco de lectura del mRNA que la proteína A, pero a partir de un codón de iniciación diferente que se encuentra dentro del marco y es por tanto una proteína de menor tamaño.

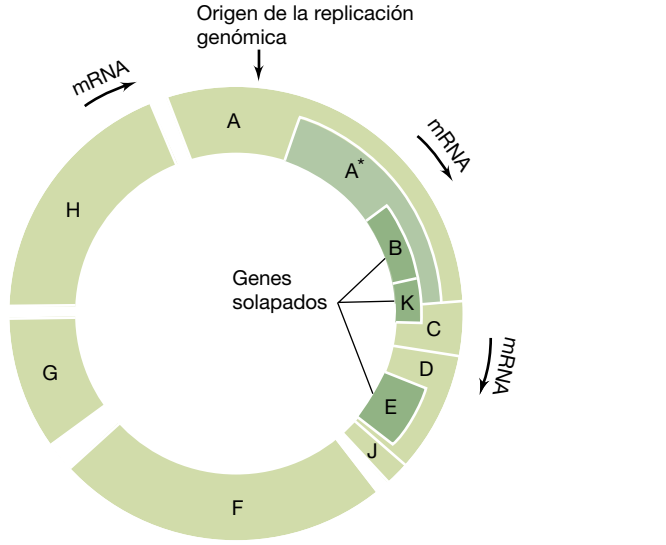
Tras la infección de una célula de *Escherichia coli* por ϕX714, el DNA vírico se separa de la cubierta de proteína y unas enzimas de la célula hospedadora convierten el genoma en una forma replicativa bicatenaria. A partir de la forma bicatenaria se obtienen varias copias por replicación semiconservadora, y se sintetizan los transcritos específicos del fago por transcripción de la cadena negativa de la forma replicativa (Figura 9.5*b*). La forma replicativa es también el punto de partida para hacer copias del genoma del fago por un mecanismo que ya hemos visto que usaba el fago lambda (Sección 8.8): la **replicación por círculo rodante** (**Figura 9.6**).

En la síntesis del genoma de ϕX714, el círculo rodante facilita la producción continua de cadenas positivas a partir de la forma replicativa. Para lograrlo, se corta la cadena positiva de la forma replicativa y el extremo 3′ del DNA que queda expuesto se usa como cebador para iniciar la síntesis de una nueva cadena (Figura 9.6). El corte de la cadena positiva es llevado a cabo por la proteína A (Figura 9.5*a*). La rotación continuada del círculo conduce a la síntesis de un genoma lineal de ϕX174. Hay que destacar que la síntesis de DNA difiere de la replicación semiconservativa ya que solo se usa la cadena negativa como molde.

Cuando la cadena vírica creciente alcanza la longitud correspondiente al genoma (5.386 residuos en el caso de ϕX714, la proteína A la corta y liga los dos extremos de la cadena recién sintetizada y se obtiene así una molécula circular de DNA monocatenario. Finalmente, se produce el ensamblaje de los viriones maduros de ϕX714, seguido de la lisis celular. La proteína E (Figura 9.5*a*) cataliza la lisis celular inhibiendo la actividad de una de las enzimas que intervienen en la síntesis de peptidoglicano (Sección 5.4). De este modo, la pared celular recién sintetizada se debilita y se rompe, liberando los viriones del fago.

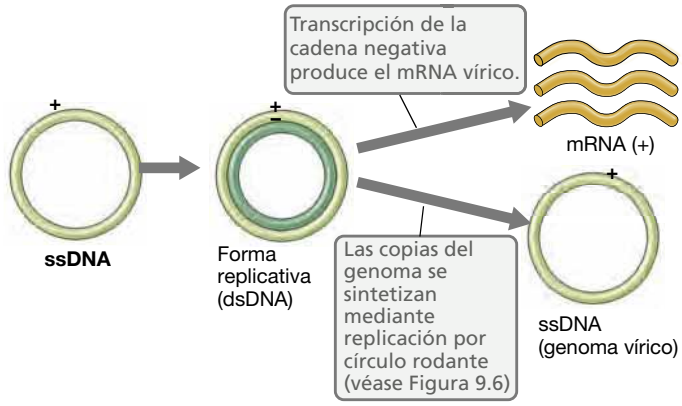
El bacteriófago M13

El bacteriófago M13 es un fago filamentoso de simetría helicoidal que ha sido muy utilizado en los últimos años en ingeniería genética como vector de clonación y secuenciación de DNA. El virión de este fago es largo y delgado y se une al pelo de la célula



A Síntesis del DNA de la forma replicativa
A* Desconexión de la síntesis de DNA del hospedador
B Formación de los precursores de la cápsida
C Maduración del DN
D Ensamblado de la cápsida
E Lisis de la célula hospedadora
F Proteína principal de la cápsida
G Proteína principal de las espículas
H Proteína secundaria de las espículas
J Proteína de empaquetamiento del DNA
K Proteína de función desconocida

(a) **Mapa genético de ϕX 174**



(b) **Sucesión de eventos durante la replicación de ϕX174**

Figura 9.5 **Bacteriófago ϕX174, fago de DNA monocatenario**. *(a)* Mapa genético. Obsérvense las regiones de solapamiento génico. La proteína A* se forma utilizando solo parte de la secuencia codificante del gen A por reiniciación de la traducción. *(b)* Flujo de información genética de ϕX174. El DNA de cadena sencilla de la progenie se produce a partir de la forma replicativa del fago mediante replicación por círculo rodante (véase Figura 9.6).

hospedadora (↬ Sección 8.5). Los fagos filamentosos como el M13 tienen una propiedad poco frecuente y es que salen de la célula infectada sin causar su lisis. Así, una célula infectada puede continuar creciendo y no se producen las típicas calvas. Para ello, el DNA de M13 se recubre con proteínas de la cubierta mientras atraviesa la envoltura celular. Cuatro proteínas minoritarias de la cubierta recubren las puntas del virión mientras que la proteína mayoritaria de la cubierta cubre los lados

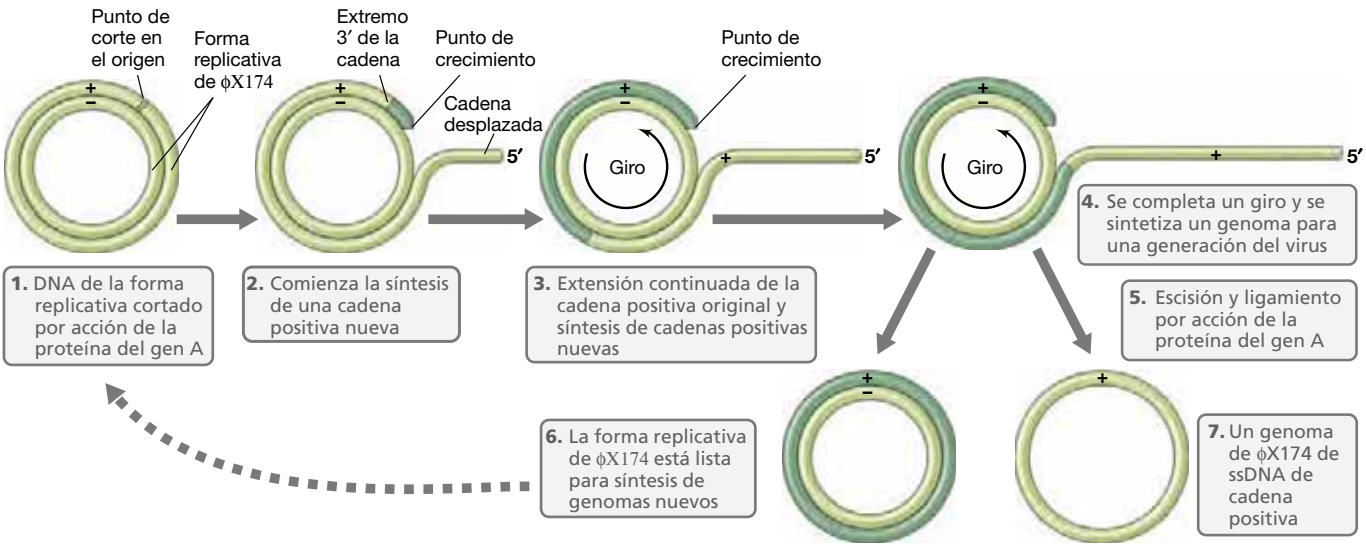


Figura 9.6 **Replicación por círculo rodante del fago ϕX174**. La replicación se inicia en el origen de la forma replicativa de doble cadena con el corte de la cadena positiva por la acción de la proteína A (ambas cadenas de DNA se muestran en verde claro para simplificar el esquema). Tras la síntesis de una cadena de la nueva progenie (una vuelta del círculo), la proteína A corta la nueva cadena y la circulariza uniendo sus extremos.

(Figura 9.7). Por tanto, con el M13 no hay acumulación intracelular de viriones como ocurre con los típicos bacteriófagos líticos. Varios aspectos del fago M13 lo hacen útil como vehículo de clonación y secuenciación de DNA. Por ejemplo, muchos aspectos de la replicación del DNA en M13 son muy parecidos a los del fago ϕX714 y el genoma es muy pequeño, lo que facilita la secuenciación. En segundo lugar, cuando el M13 adquiere su forma replicativa se produce de manera natural DNA bicatenario-bicatenario, que es esencial para la clonación. En tercer lugar, dado que las células infectadas siguen creciendo, pueden mantenerse de manera indefinida, por lo que tenemos una fuente continua del DNA clonado. Y finalmente, como ocurre con el fago lambda (↻ Sección 8.8), el genoma de M13 contiene una región que no codifica proteínas y puede ser reemplazada por fragmentos de DNA ajeno. Por estas y otras razones, M13 es una herramienta importante de la biotecnología.

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué la formación de la forma replicativa de ϕX714 es necesaria para producir moléculas de mRNA específicas del fago?
- En el genoma de ϕX714 ¿cuál es la diferencia entre la síntesis de las proteínas codificadas por el gen B y las del gen A*.
- ¿Cómo pueden ser liberados los viriones de M13 sin que se produzca la muerte de la célula infectada?

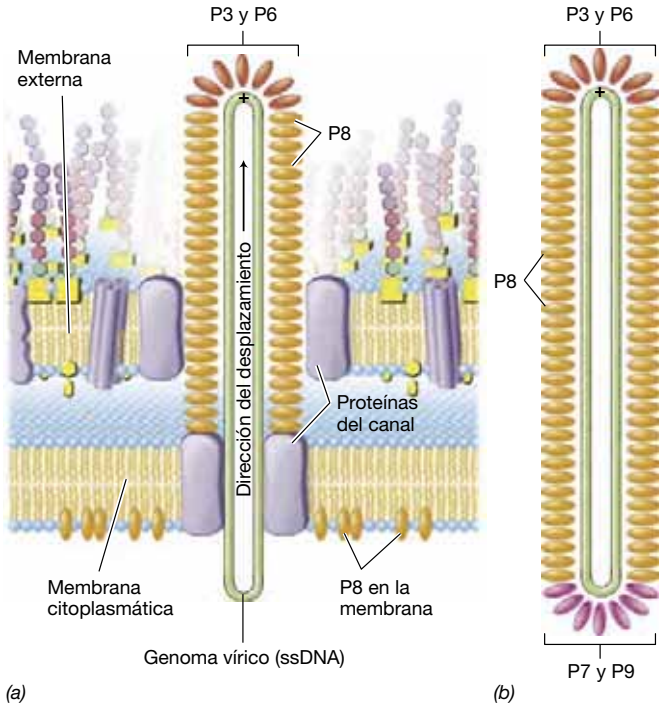


Figura 9.7 Liberación del fago M13. Los viriones del fago M13 salen de la célula infectada sin lisis. *(a)* Gemación. El DNA del virus atraviesa la envoltura celular a través de un canal construido a partir de proteínas víricas. Mientras tanto el DNA es cubierto por proteínas del fago que han sido embebidas en la membrana citoplasmática. *(b)* Virión completo. Los dos extremos del virión están cubiertos por un pequeño número de las proteínas minoritarias de recubrimiento P3 y P6 (extremo anterior) o P7 y P9 (extremo posterior).

9.4 Bacteriófagos con DNA bicatenario: T7 y Mu

Los bacteriófagos de DNA bicatenario (dsDNA) están entre los mejores estudiados de todos los virus y en el Capítulo 8 ya se han descrito dos de los más importantes, T4 y lambda. Dada su importancia en biología molecular, regulación génica y genómica, consideraremos en esta sección dos virus más, el T7 y el Mu.

El bacteriófago T7

El bacteriófago T7 es un virus de DNA relativamente pequeño que infecta *Escherichia coli* y algunas enterobacterias emparentadas con ella. El virión tiene una cabeza icosaédrica y una cola muy corta, y su genoma es una molécula de DNA lineal bicatenario de unos 40 kbp.

Cuando un virión T7 se une a una célula hospedadora y se inyecta el DNA, los genes tempranos son rápidamente transcritos por la RNA polimerasa celular y luego son traducidos. Una de estas proteínas tempranas inhibe el sistema de restricción de la célula hospedadora, un mecanismo que protege la célula de la entrada de DNA ajeno (↻ Sección 8.6). Esto tiene lugar de inmediato, ya que la proteína anti-restricción del T7 se sintetiza y activa antes de que todo el genoma haya entrado en la célula. Otras proteínas tempranas son la RNA polimerasa de T7 y proteínas que inhiben la actividad de la RNA polimerasa celular. La RNA polimerasa de fago T7 reconoce únicamente promotores de T7 que se encuentran distribuidos a lo largo del genoma de T7. Esta estrategia de transcripción es diferente a la del fago T4, ya que este último utiliza la RNA polimerasa de la célula durante su ciclo de replicación, pero la modifica de tal modo que solo reconozca los genes del fago (↻ Sección 8.7).

La replicación del genoma de T7 se inicia en un origen de replicación dentro de la molécula y se desplaza bidireccionalmente a partir de ese punto (Figura 9.8*a*). El fago T7 utiliza su propia DNA polimerasa, que es una proteína compuesta que incluye un polipéptido codificado por el fago y otro codificado por el hospedador. Como en el fago T4, el DNA de T7 tiene una repetición terminal en ambos extremos de la molécula y estas repeticiones son empleadas finalmente para formar *concatémeros* (Figura 9.8*b*). La recombinación y replicación continuadas dan lugar a concatémeros considerablemente largos, pero al final una endonucleasa codificada por el fago corta cada concatémero en un sitio específico dando lugar a la formación de moléculas lineales de DNA con repeticiones terminales que son empaquetadas dentro de la cabeza del fago (Figura 9.8*c*). Sin embargo, dado que la endonucleasa de T7 corta el concatémero en secuencias específicas, las secuencias de DNA de cada virión de T7 son idénticas. Esto es diferente a lo que ocurre en el fago T4, cuyo concatémero de DNA se procesa mediante un mecanismo de «llenado de cabezas» (*head full*) que genera genomas con permutación circular (↻ Sección 8.6).

El bacteriófago Mu

El bacteriófago Mu es un fago atemperado, como lambda (↻ Sección 8.8), pero tiene la propiedad poco frecuente de replicarse por *transposición*. Los elementos transponibles son secuencias de DNA que pueden moverse de un punto a otro dentro del genoma hospedador como unidades genéticas discretas

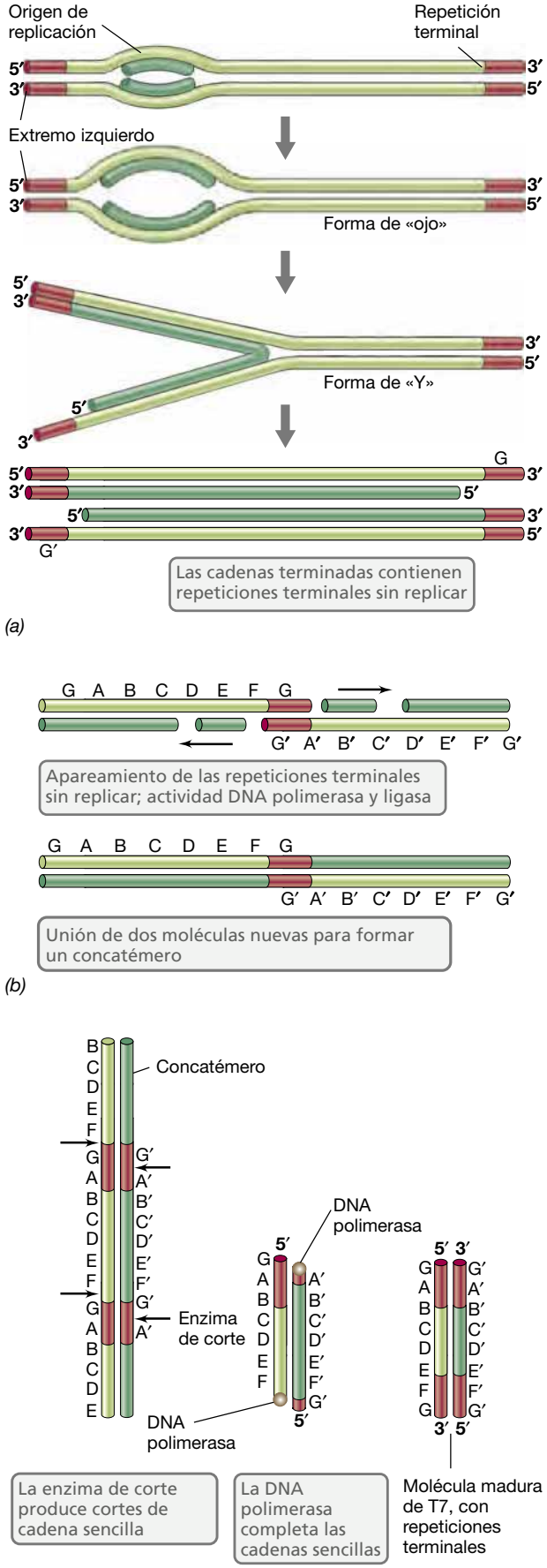


Figura 9.8 **Replicación del genoma del bacteriófago T7**. *(a)* El DNA lineal bicatenario se replica bidireccionalmente dando lugar a un intermediario en forma de «ojo» y a otro en forma de «Y» (para mayor claridad, se muestran las cadenas molde en verde claro y las dos cadenas recién sintetizadas en verde oscuro). *(b)* Formación de concatémeros por la unión de moléculas de DNA en el extremo terminal no replicado. *(c)* Producción de moléculas maduras de DNA vírico a partir de concatémeros de T7 por la actividad de una enzima de corte, una endonucleasa.

(↔ Sección 10.11). Estos movimientos son facilitados por una enzima llamada **transposasa**. Este fago se denominó Mu porque induce *mu*taciones en el genoma de la célula hospedadora en el que se integra. Mu es un fago útil en genética bacteriana ya que puede generar mutantes fácilmente.

El bacteriófago Mu tiene una cabeza icosaédrica, una cola helicoidal y varias fibras de cola (**Figura 9.9*a***). Su genoma está formado por una molécula de DNA bicatenario lineal y la mayoría de sus genes codifican las proteínas de la cabeza y la cola, otros factores de replicación como la transposasa Mu y factores que determinan su rango de hospedadores. El rango de

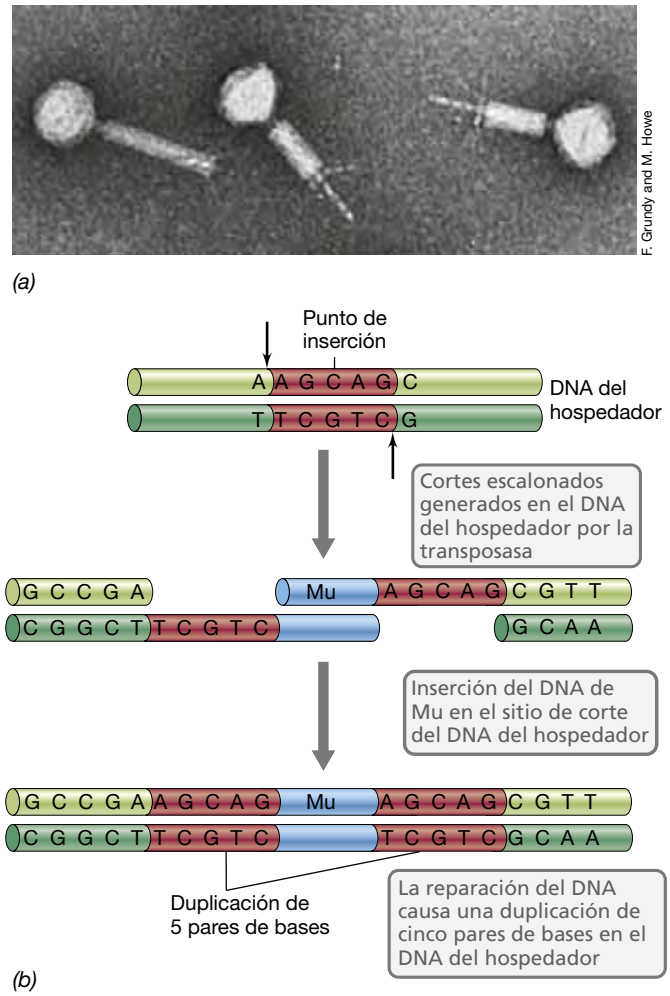


Figura 9.9 **Bacteriófago Mu**. *(a)* Micrografía electrónica de viriones del fago Mu de DNA bicatenario. *(b)* Integración de Mu en el DNA del hospedador, donde se muestra la generación de una duplicación de 5 pares de bases en el DNA del hospedador.

hospedadores está controlado por el tipo de fibras de la cola que se sintetizan; así, un tipo solo permite la infección de células de *Escherichia coli* mientras que otro tipo permite al fago infectar también otros varios tipos de bacterias entéricas.

Mu se replica de manera completamente diferente a los otros bacteriófagos ya que su genoma se replica como parte de una molécula de DNA de mayor tamaño (Figura 9.9*b*). Por tanto, la integración del DNA de Mu en el genoma del hospedador es esencial tanto para la fase lítica como para la fase lisogénica. Su integración requiere la actividad de la transposasa Mu, y en el sitio diana en el que se integra el DNA de Mu se duplica un fragmento del DNA del hospedador de 5 pares de bases. Esta duplicación del DNA hospedador está causada por los cortes escalonados que se producen en el punto de inserción del DNA de Mu. Los segmentos monocatenarios que se producen se convierten en bicatenarios como parte del proceso de integración de Mu (Figura 9.9*b*).

Mu puede entrar en la ruta lítica tras la infección inicial si el represor de Mu no se sintetiza, o puede inducir un lisógeno si se sintetiza el represor. En cualquiera de los casos, el DNA de Mu se replica mediante transposiciones repetidas de Mu en múltiples sitios del genoma del hospedador. Si se induce el ciclo lítico, al principio solo se transcriben los genes tempranos de Mu. Luego, tras la expresión de una proteína activadora de la transcripción de Mu, se sintetizan las proteínas de la cabeza y de la cola. Después del auto-ensamblado, se produce la lisis celular y la liberación de los viriones maduros. El estado lisogénico de Mu necesita la acumulación de suficiente cantidad de proteína represora de Mu para que se inhiba la transcripción del DNA de Mu integrado.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cuáles son las diferencias principales en la transcripción del DNA fágico entre los fagos T4 y T7?
- ¿Qué tiene de inusual el mecanismo de replicación del genoma del fago Mu?

9.5 Virus de *Archaea*

Se han descubierto varios virus de DNA cuyos hospedadores son especies de *Archaea* entre las que se incluyen representantes de los filos *Euryarchaeota* y *Crenarchaeota* (Capítulo 16). La mayoría de los virus que infectan especies de *Euryarchaeota*, entre los cuales hay *Archaea* metanogénicas y halófilas, corresponden al tipo «cabeza y cola» que recuerdan a los virus que infectan enterobacterias, como el fago T4. Un tipo nuevo de virus arqueano que infecta una halófila, es inusual porque es un virus recubierto y tiene un genoma de DNA monocatenario. En cambio, todos los demás virus arqueanos de DNA caracterizados generalmente tienen el genoma de DNA circular y bicatenario.

En ambientes termales habitados por *Crenarchaeota* se han detectado virus arqueanos de RNA. Son virus de RNA monocatenario de configuración positiva (virus de cadena positiva, Sección 9.8), pero no se conoce nada más acerca de ellos ya que está pendiente su caracterización detallada en cultivos de laboratorio. Sin embargo, como ocurre con las bacterias y los eucariotas, está claro que al menos algunas arqueas son infectadas por virus con genomas de RNA (véase página 279).

Los virus arqueanos más distintivos son los que infectan a hipertermófilos miembros de *Crenarchaeota*. Por ejemplo, el quimiolitótrofo del azufre *Sulfolobus* es hospedador de varios virus con estructuras muy poco frecuentes. Uno de estos virus, llamado SSV, forma viriones en forma de huso que a menudo se agrupan formando rosetas (**Figura 9.10*a***). Estos virus son muy comunes en fuentes termales ácidas de todo el mundo. Los viriones de SSV contienen una molecula circular de DNA de

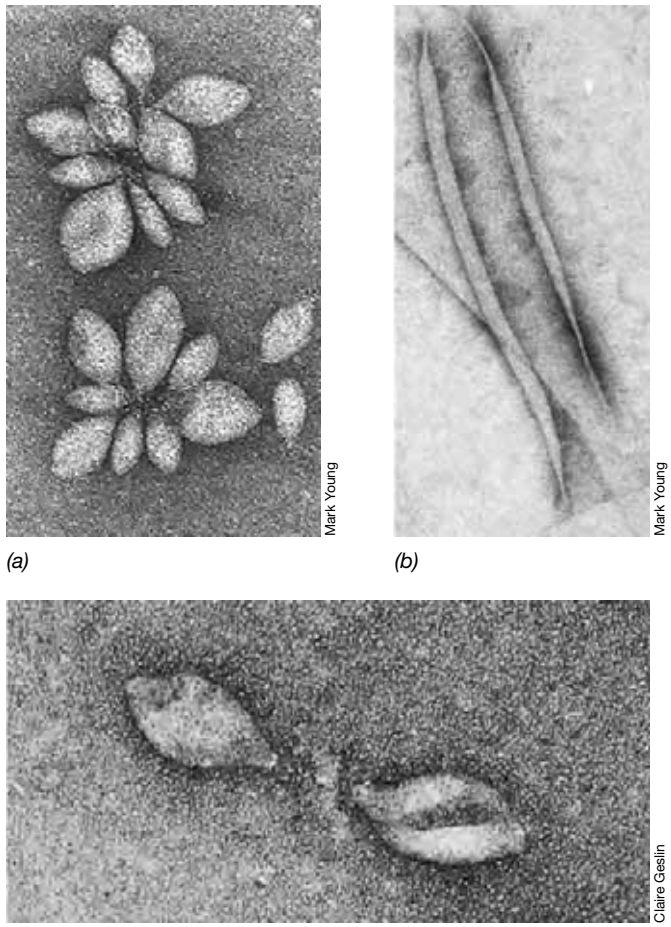


Figura 9.10 Virus de *Archaea*. Micrografía electrónica de algunos virus de *Crenarchaeota (a, b, d)*, y de un virus de *Euryarchaeota (c). (a)* Virus fusiforme SSV1 que infecta *Sulfolobus solfataricus* (los viriones tienen 40 × 80 nm). *(b)* Virus filamentoso SIFV que infecta *S. solfataricus* (los viriones tienen 50 × 900 − 1.500 nm). *(c)* Virus fusiforme PAV1 que infecta *Pyrococcus abyssi* (los viriones tienen 80 × 120 nm). *(d)* ATV, el virus que infecta al hipertermófilo *Acidianus convivator* (los viriones tienen unos 100 nm de diámetro). Cuando son liberados de la célula los viriones tienen forma de limón (virión de la izquierda), pero luego desarrolla un pedúnculo en cada extremo (virión de la derecha).

aproximadamente 15 kbp. Un segundo tipo morfológico de virus de *Sulfolobus* está formado por una estructura con aspecto de bacilo helicolidal rígido (Figura 9.10*b*). Los virus de esta clase, conocidos como SIFV, tienen un genoma lineal de DNA de aproximadamente el doble de tamaño que el de SSV. En estudios de aislamientos de virus de arqueas se han visto muchas variaciones en las estructuras de huso o de bacilo.

Hay un virus fusiforme que infecta al hipertermófilo *Acidianus* y muestra un comportamiento desconocido hasta ahora. El virión, llamado ATV, tiene un genoma circular de unos 68 kbp y tiene forma parecida a la de un limón cuando es liberado de la célula hospedadora. Sin embargo, un momento después de ser liberado, el virión desarrolla una cola larga y delgadas en cada extremo (Figura 9.10*d*). Esas colas son realmente tubos, y a medida que se forman, el virión se hace más delgado y su volumen se reduce. Lo que resulta más llamativo es que representa el primer ejemplo de desarrollo vírico que tiene lugar sin que haya ningún contacto con la célula hospedadora. Se cree que las colas extendidas de ATV le ayudan de alguna manera a sobrevivir en aquel ambiente caliente (85 °C) y ácido (pH 1,5). Este virus de forma tan poco común es también lisogénico, una propiedad raramente vista en otros virus arqueanos.

Otro virus fusiforme también infecta a *Pyrococcus* (*Euryarchaeota*). Este virus, denominado PAV1, se parece a SSV pero es mayor y tiene una cola muy corta (Figura 9.10*c*). Tiene un genoma circular de DNA y es liberado de la célula hospedadora sin que esta se lise, probablemente mediante un mecanismo de gemación similar al del bacteriófago M3 de *Escherichia coli* (Sección 9.3). *Pyrococcus* tiene una temperatura óptima de crecimiento de aproximadamente 100 °C, por lo que los viriones de PAV1 deben ser extremadamente termoestables. A pesar su morfología parecida, la comparación de los genomas de virus del tipo PAV1 y del tipo SSV muestran muy poca semejanza de secuencia, lo que indica que estos dos virus no tienen una raíz evolutiva común.

El proceso de replicación en el ciclo biológico de los virus de arqueas no está del todo claro. No obstante, teniendo en cuenta que los genomas de la mayoría de estos virus son de DNA bicatenario, es poco probable que se descubran grandes novedades en cuanto al modelo de replicación . En cualquier caso, en estos virus tan resitentes hay detalles moleculares importantes aun pendientes de ser aclarados, tales como en qué medida se usan en la replicación polimerasas y otras enzimas propias del virus y no de la célula hospedadora.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué tipo de genoma predomina entre los virus de las arqueas?
- Comparado con otros virus de arqueas, ¿qué dos características fuera de lo común tiene el virus que infecta *Acidianus*?

9.6 Virus animales de DNA con sistemas de replicación únicos

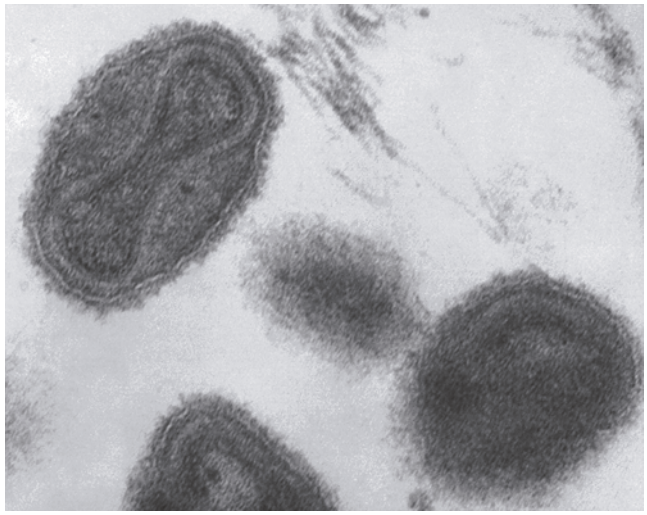
Existen dos grupos de virus animales de DNA que muestran estrategias de replicación fuera de lo común: los poxvirus y los adenovirus. Los poxvirus presentan la particularidad de que todas las fases de la replicación, incluso la replicación del DNA, ocurren en el *citoplasma* de la célula en lugar del núcleo. La singularidad de los adenovirus son únicos, consiste en que la replicación de su genoma se produce de manera similar desde las dos cadenas moldes del DNA, sirviendo ambas como cadenas avanzadas.

Poxvirus

Los poxvirus han sido de gran importancia histórica y también desde el punto de vista médico. El virus de la viruela fue el primer virus que se estudió en detalle y el primero para el cual se desarrolló una vacuna. Los poxvirus están entre los virus más grandes; su virión tiene forma de ladrillo de casi 400 nm de ancho (**Figura 9.11**). Otros poxvirus importantes son el virus de la viruela de las vacas y el virus vaccinia. Debido a que se parece mucho al virus de la viruela pero no es patógeno, el virus vaccinia se emplea como vacuna contra la viruela y como modelo de la biología molecular del virus de la viruela.

El genoma del virus vaccinia está formado por DNA lineal bicatenario de unos 190 kbp y codifica unos 250 genes. Después de la unión, los viriones se introducen dentro de la célula y sus nucleocápsidas (Figura 9.11) se liberan en el citoplasma. Todas las fases de la replicación se producen en el citoplasma. La liberación del genoma vírico (descapsidación) requiere la acción de una proteína vírica que se sintetizan tras la infección (el gen que codifica esta proteína es transcrito por una polimerasa de RNA vírica, que va incluida en el virión). Además del gen para la descapsidación, se transcriben otros genes víricos, incluidos genes que codifican una DNA polimerasa que sintetiza copias del genoma del virus. Las nuevas copias del genoma son incorporadas dentro de los viriones que se acumulan en el citoplasma, y los viriones son liberados cuando las células infectadas se lisan.

El virus vaccinia ha sido modificado genéticamente para albergar proteínas procedentes de otros virus para ser usado



CDC/PHIL, Fred Murphy and Sylvia Whitfield

Figura 9.11 **Virus de la viruela**. Micrografía electrónica de transmisión de una sección fina de viriones de virus de la viruela con tinción negativa. Los viriones tienen aproximadamente 350 nm (0,35 μm) de longitud. La estructura con forma de mancuerna dentro del virión es la nucleocápsida, que contiene el genoma de DNA bicatenario. Todas las funciones de la replicación de los poxvirus ocurren en el citoplasma hospedador.

en vacunas (↔ Sección 11.14). Una vacuna es una sustancia capaz de inducir una respuesta inmunitaria en un animal que sirve para proteger a dicho animal de futuras infecciones por el mismo agente. El virus vaccinia no causa efectos graves en la salud de humanos pero es altamente inmunogénico. Por tanto, como portador de proteínas de virus patógenos, es una herramienta segura y eficaz para estimular una respuesta inmunitaria contra esos patógenos. Se han obtenido muy buenos resultados con vacunas basadas en el virus vaccinia contra el virus de la gripe, el de la rabia, el herpes simple tipo I y el virus de la hepatitis B.

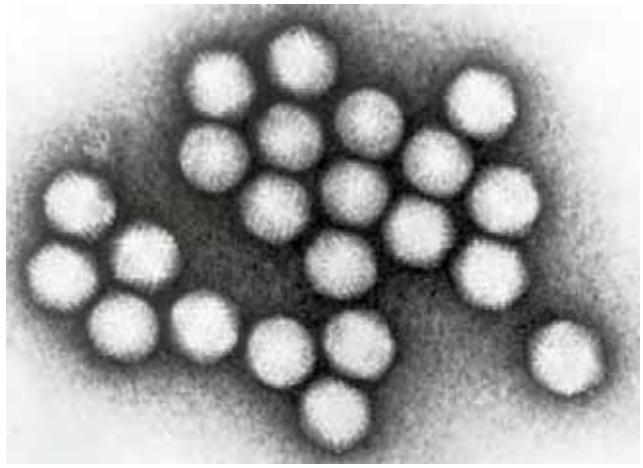
Adenovirus

Los adenovirus son un grupo de virus icosaédricos pequeños y desnudos que tienen el genoma de DNA lineal de cadena doble (**Figura 9.12*a***). Los adenovirus tienen una importancia menor en la salud ya que causan infecciones respiratorias leves en humanos, pero estos virus tienen una importancia excepcional en virología por el mecanismo que poseen de replicación de sus genomas. El extremo 5′ del DNA genómico de los adenovirus lleva unida una proteína denominada *proteína terminal*, esencial para la replicación del DNA. Las cadenas de DNA complementarias también tienen repeticiones terminales invertidas que cumplen una función en el proceso de replicación (Figura 9.12*b*).

Después de la infección, la nucleocápsida del adenovirus es liberada en el núcleo de la célula hospedadora y comienza la transcripción de los genes tempranos mediante la acción de una RNA polimerasa de la célula hospedadora. La mayor parte de los transcritos primarios codifican proteínas importantes en la replicación como la proteína terminal y una DNA polimerasa del virus. La replicación del genoma del adenovirus comienza en cualquiera de los extremos del genoma de DNA lineal y la proteína terminal facilita este proceso ya que contiene un residuo de cisteina unido covalentemente que sirve como cebador para la DNA polimerasa (Figura 9.12*b*). Los productos de la replicación inicial son un genoma vírico bicatenario completo y una molécula de DNA monocatenario de configuración negativa. En este punto se produce un fenómeno fuera de lo común en la replicación. La cadena sencilla de DNA se circulariza gracias a las repeticiones terminales inversas y se sintetiza una cadena de DNA complementaria (de configuración positiva) a partir de su extremo 5′ (Figura 9.12*b*). Este mecanismo de replicación es excepcional porque el DNA bicatenario se replica sin que se forme una cadena retrasada, como ocurre en la replicación convencional semiconservadora del DNA (↔ Sección 4.5). Cuando hay suficientes copias del genoma del adenovirus en la célula hospedadora, se ensamblan los viriones maduros y se liberan después de la lisis celular.

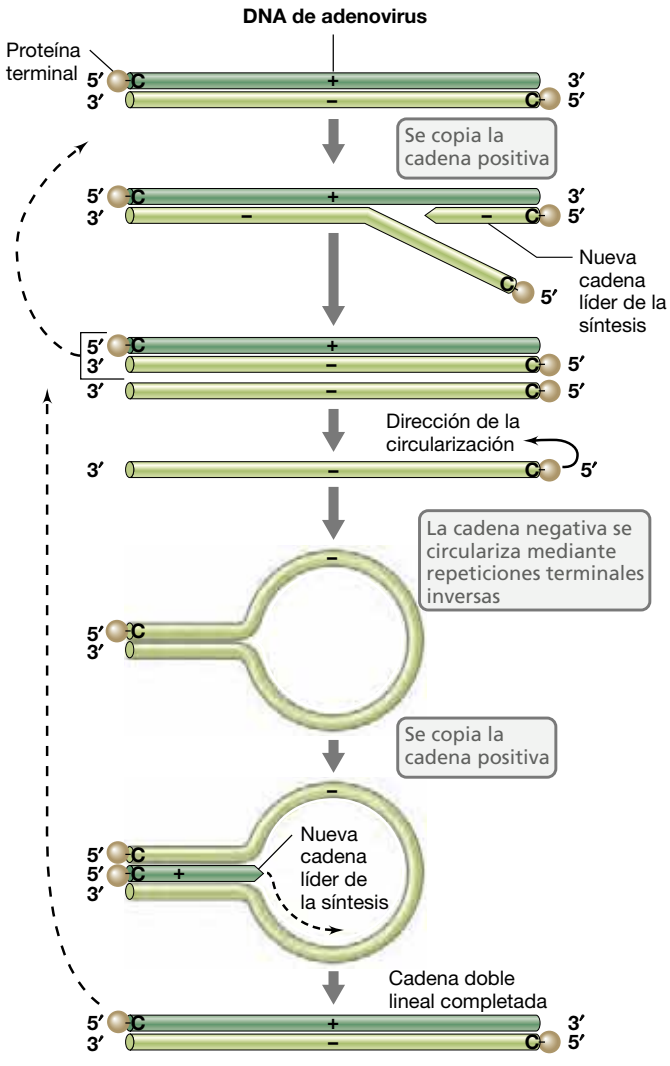
MINIRREVISIÓN

- ¿Qué es poco común en la replicación del genoma de los poxvirus?
- ¿Qué es poco común en la replicación del genoma de los adenovirus?
- ¿Por qué la proteína terminal de los adenovirus es esencial para replicar su genoma?



CDC/PHIL, G. William Gary, Jr.

(a)



(b)

Figura 9.12 **Adenovirus**. *(a)* Micrografía electrónica de transmisión de viriones de adenovirus. Nótese la estructura icosaédrica. *(b)* Replicación del genoma de los adenovirus. Debido a la formación de un bucle, no hay cadena retrasada; la síntesis de DNA se produce de manera líder en ambas hebras. Una citosina (**C**) está unida a la proteína terminal.

9.7 Virus de DNA que causan tumores

Además de catalizar procesos de lisis o de integrarse en un genoma en estado latente, algunos virus de DNA de animales pueden inducir cáncer. Entre estos se encuentran virus de la familia poliomavirus y algunos herpesvirus, ambos con genomas de DNA de cadena doble.

Poliomavirus SV40

El poliomavirus SV40 es un virus icosaédrico desnudo cuyo genoma de DNA es circular y bicatenario (**Figura 9.13*a***). El genoma de SV40 es demasiado pequeño para que codifique su propia DNA polimerasa (Tabla 9.1), por lo que utiliza la del hospedador. El DNA del virus se replica bidireccionalmente a partir de un único origen de replicación. Debido al pequeño tamaño de su genoma, los poliomavirus utilizan la estrategia de los genes solapados, típica de muchos bacteriófagos pequeños (Sección 9.3). La transcripción del genoma vírico ocurre en el núcleo y los mRNA son exportados al citoplasma para la síntesis de proteínas. Finalmente, se produce el ensamblado (en el núcleo) de los viriones de SV40 y la lisis celular para liberar los nuevos viriones.

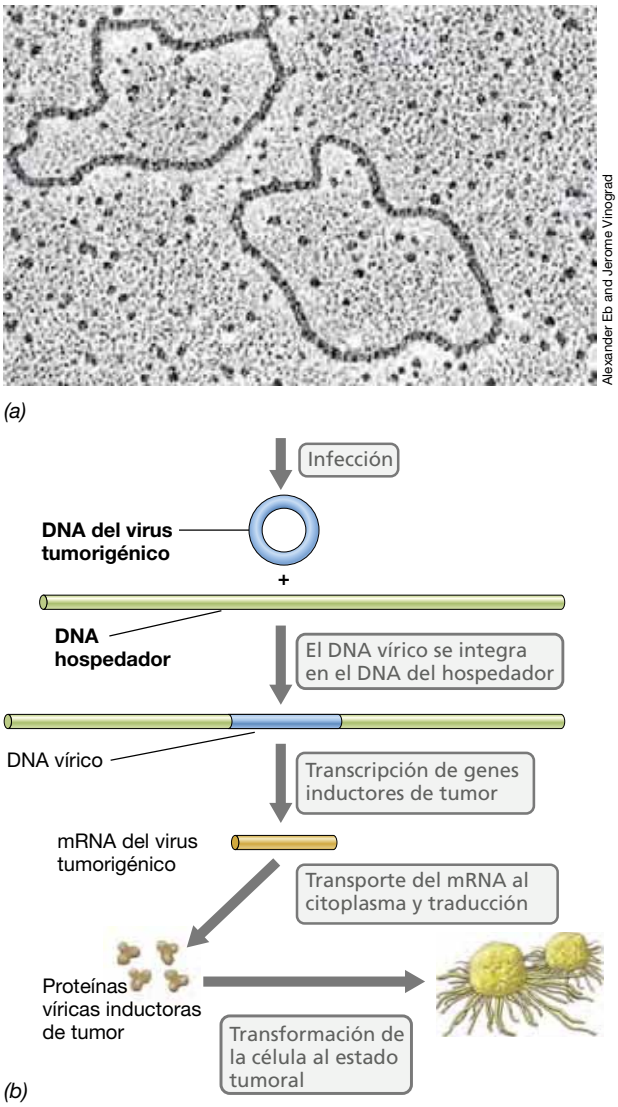


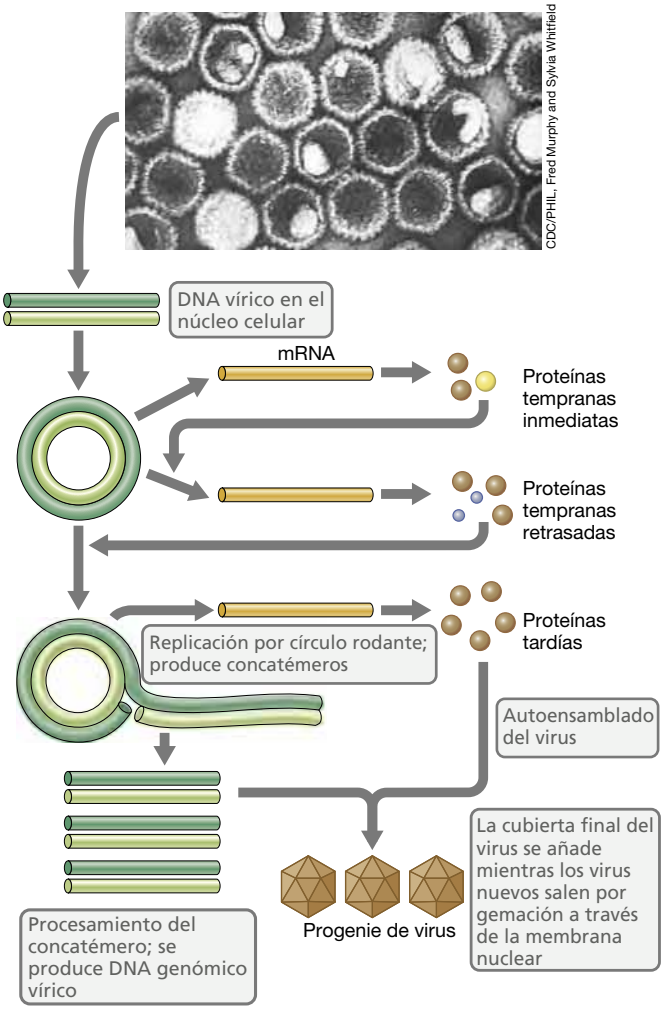
Figura 9.13 Poliomavirus e inducción de tumor. *(a)* Micrografía electrónica de transmisión de DNA circular relajado (no superenrollado) de un virus de un tumor. La longitud del contorno de cada círculo es de unos 1,5 µm. *(b)* Fases de la transformación celular por un poliomavirus como SV40. El DNA vírico se incorpora al genoma de la célula hospedadora. Los genes víricos que codifican las diferentes fases de transformación celular se transcriben y son transportados al citoplasma para su traducción.

Cuando un virus SV40 infecta a una célula, puede dar lugar a dos tipos distintos de consecuencia, que dependen de la célula infectada. En células hospedadoras *permisivas*, la infección vírica da lugar a la habitual formación de nuevos viriones y a la lisis de la célula hospedadora. En células no permisivas, no se llega a producir la lisis y el virus se integra dentro del DNA de la célula hospedadora, alterando genéticamente a la célula en el proceso (Figura 9.13*b*). Dichas células pueden perder la inhibición del crecimiento y volverse malignas, en un proceso que se conoce como *transformación* (↻ Figura 8.22). Como ocurre con algunos retrovirus inductores de tumores (Sección 9.11), es necesaria la expresión de genes específicos del SV40 para convertir las células al estado transformado. Estas proteínas inductoras de tumores se unen a proteínas de la célula hospedadora que controlan la división celular y las inactivan; de ese modo, promueven el desarrollo incontrolado de la célula.

Herpesvirus

Los herpesvirus son un gran grupo de virus de DNA bicatenario que causan diversas enfermedades en humanos, como el herpes labial, el herpes genital, la varicela, el herpes zóster y la mononucleosis infecciosa. Un importante grupo de herpesvirus causan cáncer. Por ejemplo, el virus de Epstein-Barr causa el linfoma de Burkitt, un tumor infantil endémico de África Central y Nueva Guinea. Un herpesvirus muy extendido es el citomegalovirus (CMV), presente en casi las tres cuartas partes de la población adulta mayor de 40 años de los Estados Unidos. En un individuo sano, la infección con CMV no produce ningún síntoma aparente, ni ninguna consecuencia a largo plazo en su salud. No obstante, en individuos inmunodeprimidos el CMV puede causar neumonía, retinitis (una afección ocular) o algunos trastornos gastrointestinales, así como enfermedades graves o incluso la muerte.

El herpesvirus puede permanecer latente en el organismo por largos períodos de tiempo y activarse en condiciones de estrés o cuando el sistema inmunitario está comprometido. El virión de herpesvirus tiene una envoltura y puede tener muchas capas estructuralmente diferentes sobre su nucleocápsida icosaédrica (**Figura 9.14**). Después de la unión del virus, la membrana citoplasmática se funde con la envoltura del virus, liberándose la nucleocápsida al interior de la célula. La nucleocápsida es entonces transportada al núcleo donde el DNA vírico es separado de la cápsida y se producen tres clases de mRNA: *temprano inmediato*, *temprano retrasado* y *tardío* (Figura 9.14). El mRNA temprano inmediato codifica ciertas proteínas reguladoras que estimulan la síntesis de las proteínas tardías. Entre las proteínas fundamentales sintetizadas durante la fase temprana retrasada hay una DNA polimerasa específica del virus y una proteína de unión al DNA, que son necesarias para la replicación del DNA vírico. Como en otros virus, las proteínas tardías son principalmente proteínas víricas estructurales.



La replicación del DNA del herpesvirus tiene lugar en el núcleo. Tras la infección el genoma del herpesvirus se circulariza y se replica por el mecanismo del círculo rodante. Se forman largos concatémeros que son procesados para dar lugar a fragmentos de la longitud del genoma durante el proceso de ensamblado (Figura 9.14). La nucleocápsida vírica se ensambla en el núcleo y la envoltura del virus es añadida mediante un proceso de gemación a través de la membrana del núcleo del hospedador. A continuación, los viriones maduros son liberados a través del retículo endoplasmático hacia el exterior de la célula. Por tanto, el proceso de ensamblado de los viriones del herpesvirus es diferente al de otros virus con envoltura, que normalmente obtienen su envoltura en la membrana citoplasmática.

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué se diferencia la infección por el virus SV40 en una célula permisiva y en una no permisiva?
- Mencione dos enfermedades comunes causadas por herpesvirus.
- ¿Qué es poco usual en la envoltura de un herpesvirus?

Figura 9.14 Herpesvirus. Flujo de acontecimientos en la replicación del virus del herpes simplex empezando por una micrografía electrónica de transmisión del virus del herpes simplex (diámetro de unos 150 nm). El genoma vírico que es lineal cuando está dentro del virión, se hace circular una vez dentro del hospedador.

III • Virus con genomas de RNA

9.8 Virus de RNA de cadena positiva

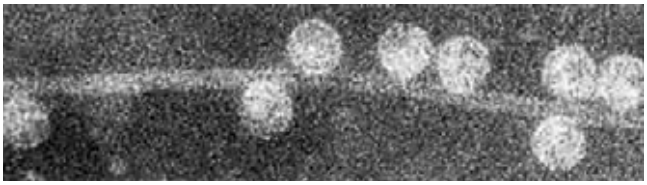
Muchos virus contienen genomas de RNA monocatenario de sentido positivo y son por tanto *virus de RNA de cadena positiva*. En estos virus, la secuencia del genoma y la del mRNA es la misma (Figura 9.2). Se conocen muchos virus bacterianos y de animales de cadena positiva, pero aquí nos ocuparemos solo de unos pocos casos bien estudiados. Empezaremos por el diminuto bacteriófago MS2.

El fago MS2

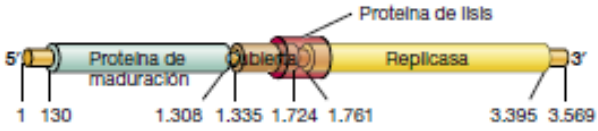
El bacteriófago MS2 tiene unos 25 nm de diámetro y una cápsida icosaédrica. Infecta a *Escherichia coli* mediante unión al pelo de la célula (**Figura 9.15*a***), una estructura cuya función normal es la transferencia horizontal de genes (conjugación) en las bacterias. No se sabe aun cómo entra el RNA de MS2 en la célula de *E. coli* a través del pelo, pero una vez que ya ha entrado, la replicación de MS2 comienza rápidamente. El mapa genético del fago MS2 y las principales actividades de este virus se muestran en la Figura 9.15*b* y *c*.

El genoma de MS2 codifica solo cuatro proteínas: la proteína de maduración, la proteína de la cápsida, la proteína de lisis y una subunidad de **RNA replicasa**, la enzima que replica el RNA vírico. Esta RNA replicasa es una proteína compuesta por una subunidad codificada por el virus y varias subunidades codificadas por el genoma del hospedador. El gen que codifica la proteína de la lisis se solapa con el gen que codifica la proteína de la cápsida y con el que codifica la replicasa (Figura 9.15*b*). Ya hemos visto este fenómeno de los *genes solapados* (Sección 9.3) como una estrategia para una mayor eficacia en los genomas pequeños.

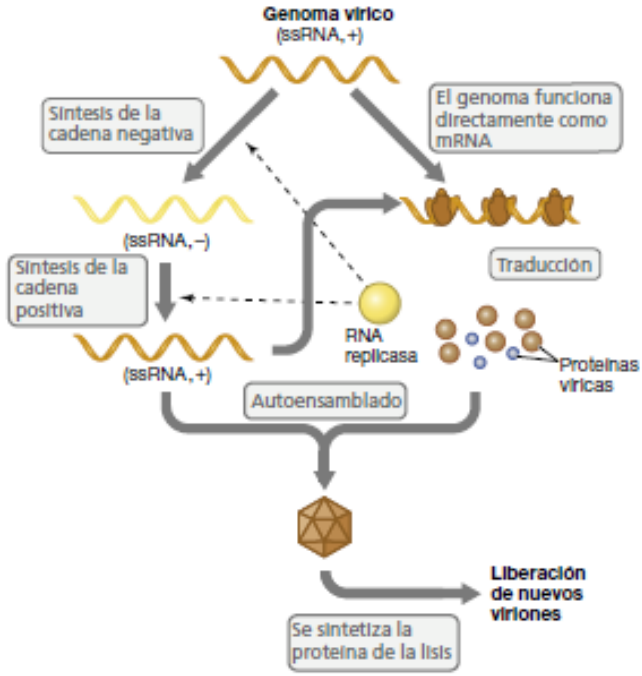
Dado que el genoma del fago MS2 es de RNA de sentido positivo, es traducido directamente por la RNA polimerasa del hospedador tras su introducción en la célula. Cuando se ha sintetizado la RNA empieza la síntesis del RNA de sentido negativo, usando como molde cadenas positivas. A medida que se acumulan copias del RNA de sentido negativo, este puede a su vez ser usado como molde para la producción de más RNA de sentido positivo. Algunas de las nuevas cadenas positivas son entonces traducidas para continuar sintetizando proteínas víricas estructurales.



(a) **Micrografía electrónica del fago MS2**



(b) **Mapa genético de MS2**



(c) **Flujo de acontecimientos durante la multiplicación del virus**

Figura 9.15 **MS2, un bacteriófago pequeño de RNA**. *(a)* Micrografía electrónica de transmisión del pelo de una célula de *Escherichia coli* donadora que muestra viriones del fago MS2 unidos al pelo. *(b)* Mapa genético de MS2. Obsérvese que el gen que codifica la proteína de lisis se solapa con el gen que codifica la proteína de la cápsida y con el que codifica la replicasa. Los números se refieren a las posiciones de los nucleótidos en el RNA. *(c)* Flujo de acontecimientos durante la multiplicación de MS2.

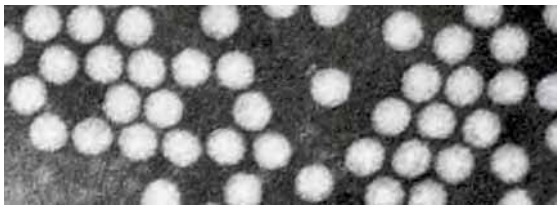
El fago MS2 regula la síntesis de sus propias proteínas controlando el acceso de los ribosomas del hospedador al sitio de inicio de la traducción en su RNA. El RNA genómico de MS2 se pliega en una estructura secundaria compleja. El AUG donde se inicia la traducción (↻ Sección 4.11) de la proteína de la cápsida y la replicasa es el más accesible de los cuatro inicios de traducción del RNA de MS2. Por tanto, la traducción de estas proteínas tiene lugar muy pronto en el proceso de infección. Sin embargo, conforme el número de moléculas de la proteína de la cápsida aumenta, estas se unen al RNA alrededor del sitio de inicio AUG donde se inicia la traducción de la replicasa, y se detiene la síntesis de esta enzima. Aunque el gen que codifica la proteína de maduración se encuentra en el extremo 5′ de la molécula de RNA, al estar el RNA muy plegadomiento queda limitado el acceso al punto de inicio de la traducción de dicho gen. En consecuencia, tan solo se sintetizan unas pocas copias de la proteína de maduración. Así, todas las proteínas de MS2 se producen en las cantidades relativas en las que son necesarias para el ensamblado del virus. Finalmente, se produce el autoensamblado de los viriones MS2 y su liberación como resultado de la lisis celular.

Poliovirus

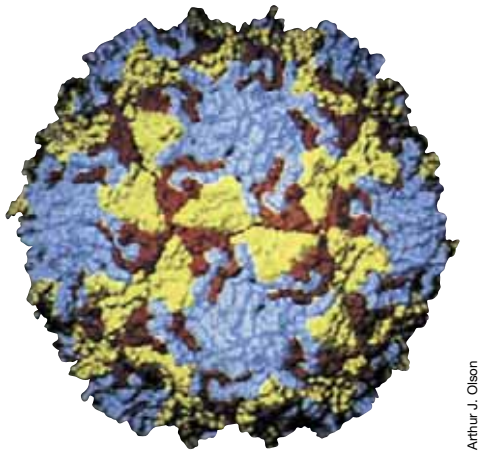
Varios virus de animales de RNA de cadena positiva causan enfermedades en humanos y en otros animales. Pertenecen a este grupo los poliovirus, los rinovirus causantes del resfriado común, los coronavirus que causan síndromes respiratorios, como el síndrome respiratorio agudo y grave (SARS, del inglés *severe acute respiratory syndrome*) y el virus de la hepatitis A. En esta sección nos centraremos en los poliovirus y los coronavirus, ambos con genomas de RNA lineal**.**

El poliovirus es uno de los virus más pequeños con una estructura icosaédrica que contiene el mínimo de 60 unidades morfológicas por virión (**Figura 9.16*a*, *b***). En el extremo 5′ del RNA vírico hay una proteína, llamada *proteína VPg*, que está unida covalentemente al RNA genómico. En el extremo 3′ del RNA hay una cola de poliadeninas (Figura 9.16*c*), que es una característica común de los transcritos en la célula eucariota. El genoma de virus actúa como mRNA y la proteína VPg permite la unión del RNA a los ribosomas de la célula. La traducción da lugar a una **poliproteína**, una única proteína que se autoescinde dando lugar a varias proteínas de menor tamaño, entre las cuales hay proteínas estructurales del virión. Otras proteínas generadas a partir de la poliproteína son la proteína VPg, una RNA replicasa responsable de la síntesis de las cadenas de RNA negativa y positiva y una proteasa codificada por el virus, que lleva a cabo la escisión de la poliproteína (Figura 9.16*c*). Este proceso, denominado *escisión post-traduccional*, es frecuente en muchos virus de animales, así como en células animales.

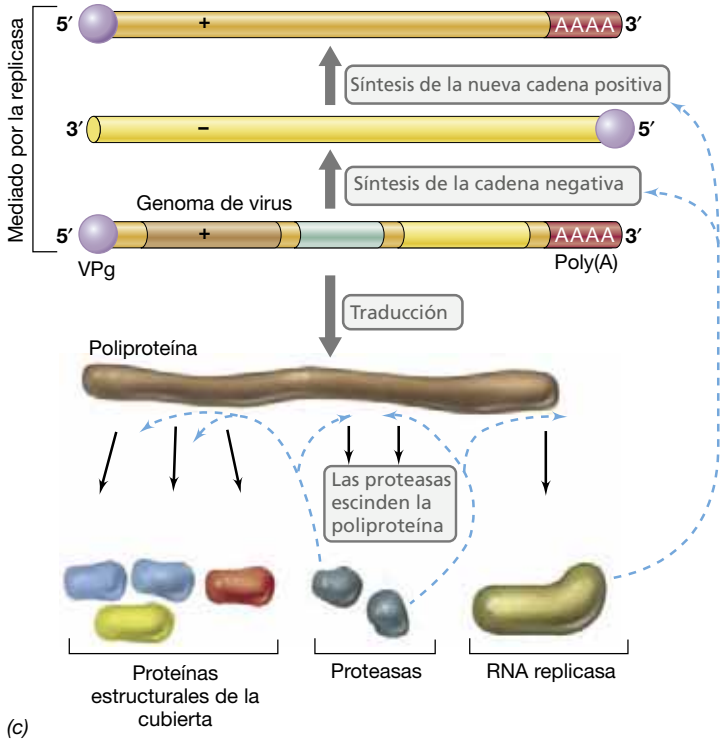
La replicación del poliovirus tiene lugar en el citoplasma de la célula hospedadora. Para iniciar la infección, el virión se une a un receptor específico de la superficie de las células sensitivas y penetra en la célula. Una vez dentro, la partícula vírica pierde la cápsida y el RNA genómico se une a ribosomas donde es traducido para dar lugar a la poliproteína. La replicación del RNA vírico comienza poco después de la infección y es llevada a cabo por la RNA replicasa del virus. Las cadenas positivas y las negativas que se sintetizan se unen a la proteína VPg, que funciona también como cebador para la síntesis de RNA (Figura 9.16*c*). Cuando el proceso de replicación se ha iniciado, se inhibe la actividad de replicación del hospedador, y unas cinco horas después del inicio de la infección se produce la lisis celular con la liberación de nuevos viriones de poliovirus.



(a)



(b)



(c)

Figura 9.16 **Poliovirus**. *(a)* Micrografía electrónica de transmisión de viriones de poliovirus. *(b)* Modelo por ordenador de viriones de poliovirus. Las diferentes proteínas estructurales se muestran en diferentes colores. *(c)* Replicación y traducción de poliovirus. Obsérvese la importancia de la RNA replicasa.

Coronavirus

Los coronavirus son virus de RNA monocatenario y positiva que, como los poliovirus, se replican en el citoplasma, pero se diferencian de estos en su mayor tamaño y en algunos detalles de su replicación. Los coronavirus causan infecciones respiratorias en humanos y otros animales; por ejemplo, causan aproximadamente el 15 % de los resfriados comunes y el SARS, una infección de las vías respiratorias inferiores en humanos que puede ser mortal (↔ Sección 28.3).

Los viriones de coronavirus están recubiertos y tienen en la superficie unas espículas de glicoproteína en forma de palo de golf (**Figura 9.17*a***). Debido a estas estructuras parece que el virus lleve una corona y de ahí su nombre. El genoma de los coronavirus destaca por ser el de mayor tamaño de todos los virus de RNA conocidos, alrededor de 30 kb. El genoma de los coronavirus puede funcionar directamente como mRNA en la célula animal ya que es de configuración positiva. No obstante, la mayor parte de las proteínas del virus no proceden de la traducción de RNA genómico. En vez de eso, tras la infección, solo se traduce una porción del genoma, en concreto la que produce la RNA replicasa (Figura 9.17*b*). Esta enzima utiliza entonces el RNA genómico como molde para producir cadenas negativas complementarias a partir de las cuales se producen varios mRNA, que son luego traducidos para producir proteínas víricas (Figura 9.17*b*). El RNA genómico de extensión completa también se forma a partir de las cadenas negativas de RNA. Los nuevos viriones se ensamblan en el aparato de Golgi, un importante orgánulo secretor de las células eucariotas (↔ Sección 2.22), y los viriones completamente ensamblados son luego liberados en la superficie celular.

Los coronavirus se diferencian de los poliovirus en cuanto al tamaño del virión y del genoma, la ausencia de la proteína VPg y la falta de formación y posterior escisión de una poliproteína. No obstante, su genoma de RNA monocatenario de configuración positiva determina que muchos otros procesos moleculares se realicen de manera parecida.

MINIRREVISIÓN

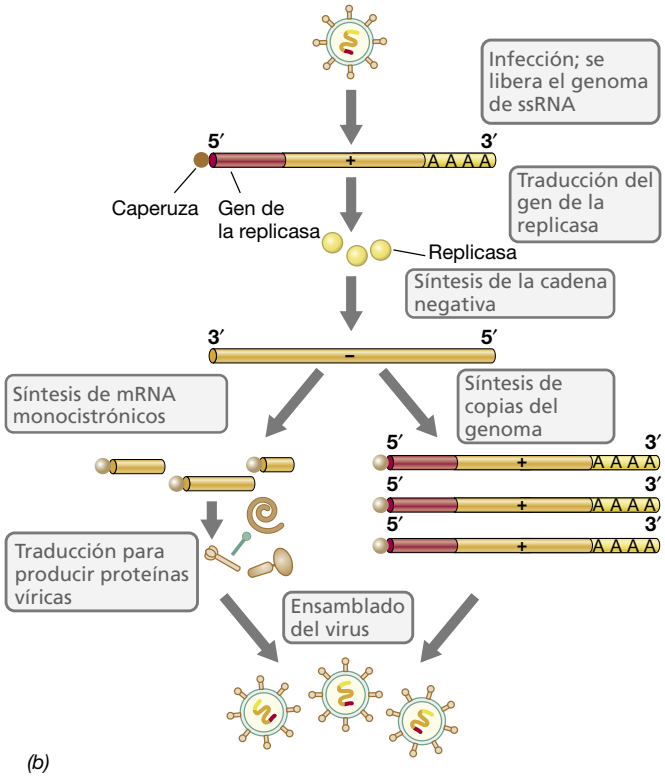
- ¿Por qué se sintetiza en el citoplasma el RNA de los poliovirus mientras que el RNA del hospedador debe sintetizarse en el núcleo?
- ¿Qué es lo que está presente en la poliproteína de los poliovirus?
- ¿En qué se parecen o diferencian la síntesis de proteínas y la replicación genómica en el poliovirus y en el virus causante del SARS?

9.9 Virus de animales de RNA de cadena negativa

A diferencia de los virus considerados en la sección anterior, en un buen número de virus de animales el RNA genómico es de sentido negativo y por tanto sus genomas son complementarios del mRNA en su secuencia de bases. A estos virus se les denomina *virus de RNA de cadena negativa*. Aquí trataremos dos ejemplos importantes: el virus de la rabia y el virus de la gripe. No se conocen bacteriófagos ni virus de arqueas de RNA de cadena negativa.



(a)

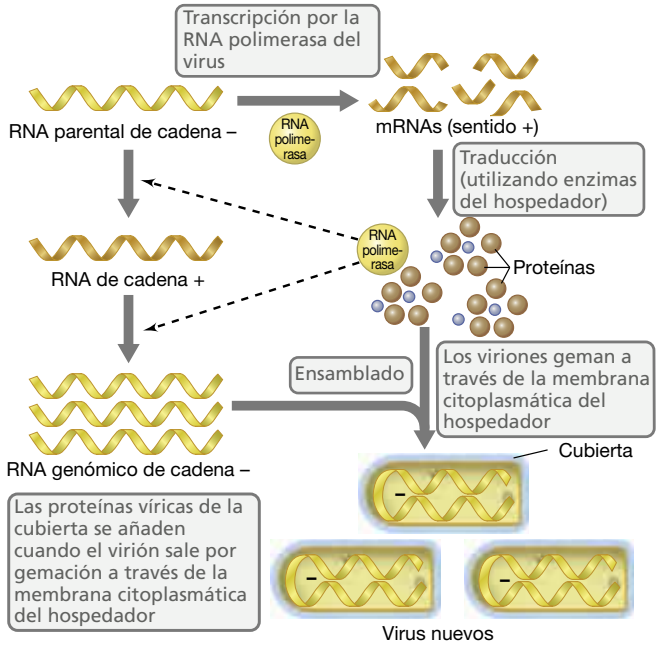


(b)

Figura 9.17 **Coronavirus**. *(a)* Micrografía electrónica de un coronavirus; un virión tiene unos 150 nm de diámetro. *(b)* Pasos de la replicación de un coronavirus. El mRNA que codifica las proteínas víricas se transcribe a partir de la cadena negativa sintetizada por la RNA replicasa utilizando el genoma vírico como molde.



(a)



(b)

Figura 9.18 **Virus de RNA de cadena negativa: Rhabdovirus**. *(a)* Micrografía electrónica de transmisión de un virión del virus de la estomatitis vesicular. Un virión tiene unos 65 nm de diámetro. *(b)* Flujo de acontecimientos durante la replicación de un virus de RNA de cadena negativa. Obsérvese la importancia fundamental de la RNA replicasa codificada por el virus.

Virus de la rabia

El virus de la rabia, que causa esta enfermedad normalmente mortal (↻ Sección 30.1), es un rhabdovirus, cuyo nombre hace referencia a la forma característica del virión. Los rhabdovirus tienen usualmente forma de bala (**Figura 9.18*a***) y poseen una envoltura lipídica extensa y muy compleja que rodea la nucleocápsida, que tiene simetría helicoidal. El virión de rhabdovirus contiene varias enzimas esenciales para el proceso de infección, entre ellas, la RNA replicasa. A diferencia de los virus de cadena positiva, el genoma de un rhabdovirus no puede traducirse directamente, sino que tiene que ser transcrito previamente por la replicasa. Esto ocurre en el citoplasma y se generan dos clases diferentes de RNA. La primera es una serie de mRNA que codifican las diferentes proteínas víricas, y la segunda es una copia complementaria del genoma vírico completo que sirve de molde para la síntesis de copias del RNA genómico (Figura 9.18*b*).

El ensamblado de un virión de rhabdovirus es complejo. Se producen dos tipos de proteínas de envoltura, las de la nucleocápsida y las de la envoltura. La nucleocápsida se forma primero por asociación de las moléculas de proteínas correspondientes alrededor del genómico vírico de RNA. Las proteínas de la envoltura son glicoproteínas que migran hacia la membrana citoplasmática donde se insertan en la membrana del hospedador. Las nucleocápsidas migran entonces a las zonas de la membrana citoplasmática donde se encuentran las glicoproteínas víricas y geman a través de ellas y en este proceso quedan envueltas por membrana citoplasmática rica en glicoproteínas. El resultado final es la liberación de viriones nuevos capaces de infectar las células vecinas.

Virus de la gripe

Otro grupo de virus de cadena negativa incluye a un importante patógeno de humanos, el *virus de la gripe*. Este virus

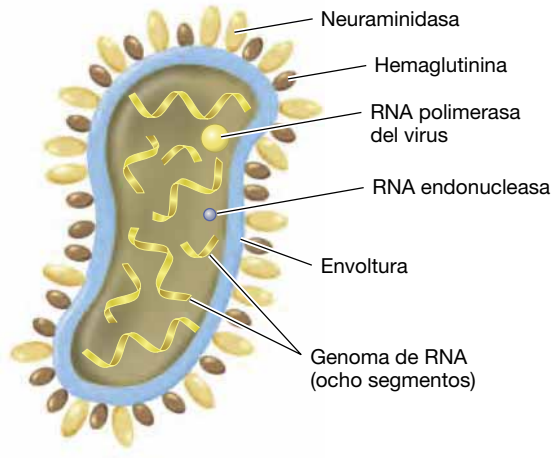
ha sido muy bien estudiado durante muchos años, desde la pandemia de gripe de 1918 que causó la muerte de millones de personas en todo el mundo (↔ Secciones 28.11 y 29.8). El virus de la gripe es un virus con envoltura cuyo genoma está presente en el virón en una serie de fragmentos separados, una condición conocida como *genoma segmentado*. En el caso del virus de la gripe A, una cepa común, el genoma está segmentado en ocho fragmentos lineales monocatenarios con tamaños que varían desde 890 a 2.341 nucleótidos. La nucleocápsida de este virus presenta simetría helicoidal, tiene entre 6 y 9 nm de diámetro y aproximadamente 60 nm de largo, y está embebida en una envoltura que contiene varias proteínas específicas del virus, así como lípidos que proceden de la membrana citoplasmática del hospedador. Debido a la manera en la que se produce la gemación que libera al virus de la gripe de la célula infectada, los viriones no tienen una forma definida, sino que son pleomórficos (**Figura 9.19*a***).

Varias proteínas de la parte exterior de la envoltura interaccionan con la superficie de la célula hospedadora. Una de estas proteínas es la *hemaglutinina*. La hemaglutinina es muy inmunogénica y los anticuerpos específicos contra esta impiden que el virus infecte a una célula. Este es el mecanismo que se utiliza para producir inmunidad contra la gripe en la vacunación (↔ Sección 29.8). Un segundo tipo de proteína de la superficie del virus de la gripe es la enzima llamada *neuraminidasa* (Figura 9.19*b*), que rompe el ácido siálico (un derivado del ácido neuramínico) de la membrana citoplasmática del hospedador. La neuraminidasa actúa principalmente durante el ensamblado del virus, eliminando el ácido siálico de la membrana del hospedador que de otra manera bloquearía el ensamblado o acabaría incorporado dentro del virión. Además de la hemaglutinina y la neuraminidasa, los viriones de la gripe tienen otras dos enzimas fundamentales. Son una RNA replicasa, que convierte el genoma de cadena negativa en cadena positiva, y una RNA endonucleasa, que corta las caperuzas de los mRNA del hospedador (↔ Sección 4.9) y las añade a los mRNA víricos de modo que estos últimos pueden ser traducidos por la maquinaria de traducción de la célula.



CDC/PHIL, Cynthia Goldsmith and T. Tumpey

(a)



(b)

Figura 9.19 **Virus de la gripe**. *(a)* Micrografía electrónica de transmisión de cortes finos de viriones del virus de la gripe humana. *(b)* Algunos de los componentes principales del virus de la gripe, como el genoma segmentado.

Después de que el virión entre en la célula, la nucleocápsida se separa de la envoltura y emigra al núcleo. La liberación de la envoltura activa la RNA replicasa vírica y la transcripción comienza. Los ocho segmentos del genoma del virus de la gripe codifican diez proteínas. Los RNA mensajeros transcritos a partir de seis de los segmentos codifican cada uno de ellos una sola proteína, mientras que los otros dos segmentos codifican dos proteínas cada uno. Algunas de las proteínas que se producen son necesarias para la replicación del RNA del virus, mientras que otras son proteínas estructurales del virión. El patrón general de síntesis de RNA genómico se parece al de los rhabdovirus (Figura 9.18*b*), con el uso de moldes de RNA completos de cadena positiva para producir RNA genómico de cadena negativa. El virión completo con envoltura se forma por gemación como en los rhabdovirus.

El genoma segmentado del virus de la gripe tiene consecuencias prácticas importantes. Este virus presenta un fenómeno llamado **conversión antigénica** mediante el cual se intercambian segmentos del genoma de RNA de dos cepas de virus distintas que se encuentran infectando la misma célula. Esto genera viriones híbridos que expresan un conjunto de proteínas de superficie únicas que no son reconocidas por el sistema inmunitario. La conversión antigénica se cree que desencadena los brotes más importantes de gripe, porque no hay inmunidad en la población contra las nuevas formas del virus. La conversión antigénica, y un fenómeno relacionado llamado *deriva antigénica*, se tratarán en la Sección 29.8.

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué es esencial que los virus de cadena negativa lleven una enzima en el virión?
- ¿Qué es un genoma segmentado?
- ¿Qué es la conversión antigénica en el virus de la gripe y cómo se produce?

9.10 Virus de RNA bicatenario

Virus con genoma de RNA de cadena doble infectan animales, plantas, hongos y algunas bacterias. Nos centraremos aquí en los *reovirus*, una familia importante de virus de animales que tiene genomas de RNA bicatenario y con un tamaño de entre 18 y 30 kbp.

Los rotavirus son reovirus típicos y son la causa más común de diarrea en la primera infancia, entre los 6 y los 24 meses de edad. Otros reovirus causan infecciones respiratorias y algunos infectan plantas. Los viriones de reovirus consisten en una nucleocápsida de entre 60 y 80 nm de diámetro rodeada por un armazón doble de simetría icosaédrica (**Figura 9.20*a*, *b***). Como hemos visto en virus de RNA monocatenario, los viriones de los virus de RNA de cadena doble tienen que tener su propia enzima para sintetizar su mRNA y replicar su genoma de RNA. Como el genoma del virus de la gripe, el genoma de los reovirus está segmentado; en este caso, en 10 o 12 moléculas de RNA lineal bicatenario.

Para iniciar la infección, un virión de reovirus se une a una proteína receptora de la célula. El virus así unido entra en la célula y es transportado a lisosomas, donde sería normalmente destruido (↔ Sección 2.22). No obstante, una vez dentro del lisosoma, solamente la envoltura externa de la partícula vírica es eliminada por enzimas proteolíticas. Entonces la nucleocápsida queda al descubierto y es liberada al citoplasma. Este proceso de eliminación de la envoltura activa la RNA replicasa vírica y se inicia la replicación del virus (Figura 9.20*c*).

La replicación del reovirus se produce exclusivamente en el citoplasma del hospedador pero *dentro* de la propia nucleocápsida (Figura 9.20*c*) porque el hospedador tiene enzimas que reconocen el RNA de cadena doble de origen foráneo lo destruirían. La cadena positiva del genoma de un reoviruses inactiva como mRNA y el primer paso de su replicación es la síntesis de mRNA de cadena positiva que lleva a cabo la RNA replicasa vírica utilizando la cadena negativa como molde. Los trifosfatos del nucleótidos necesarios para la síntesis del RNA son suministrados por el hospedador (Figura 9.20*c*). Los RNA mensajeros se modifican por adición de una caperuza y son metilados (como ocurre normalmente en los mRNA eucariotas, ↔ Sección 4.9) por enzimas víricas y son exportados desde la nucleocápsida al citoplasma para ser traducido por los ribosomas de la célula.

La mayoría de los RNA del genoma de un reovirus codifica una única proteína, aunque en algunos casos la proteína formada es escindida para dar los productos finales. No obstante, uno de los RNA mensajeros de los reovirus codifica dos proteínas, sin que sea necesario procesar el RNA mensajero para traducirlas. En su lugar, lo que ocurre es que un ribosoma «se salta» el codón de iniciación del primer gen de este mRNA y se desplaza hasta el codón de inicio del segundo gen para empezar la traducción. Cuando esto ocurre, se sintetiza la segunda proteína, que es necesaria en menor cantidad, pero no se sintetiza la primera proteína. Este «error molecular» puede considerarse una forma primitiva de control traduccional que asegura que las proteínas víricas se sintetizan en la cantidad adecuada que se necesita.

A medida que las proteínas víricas se van formando en el citoplasma de la célula hospedadora, se agregan para formar nucleocápsidas nuevas, atrapando en su interior copias de la RNA replicasa según se van formando (Figura 9.20*c*). Las nucleocápsidas recién formadas toman los complementos correctos de los fragmentos genómicos de RNA —probablemente por reconocimiento de secuencias específicas en cada fragmento— y a medida que cada molécula de RNA monocatenario entra en una nucleocápsida nueva, la RNA replicasa forma una cadena doble de RNA a partir de la molécula de RNA monocatenario. Cuando se completa la síntesis genómica, se añaden las proteínas víricas de la envoltura en el retículo endoplasmático del hospedador, y los viriones maduros del reovirus son liberados por gemación o por lisis de la célula (Figura 9.20*c*).

A pesar de que el genoma de RNA de los reovirus es de cadena doble, la replicación del RNA en estos virus es realmente un proceso *conservativo* en lugar del proceso *semiconservativo* típico de la replicación del DNA celular (↔ Secciones de 4.4 a 4.6). Esto es debido a que la síntesis de mRNA ocurre solamente usando la cadena negativa como molde en las nucleocápsidas que han infectado la célula, mientras que la síntesis de RNA genómico de cadena doble a partir del RNA de cadena positiva asimilado por los nuevos viriones, ocurre solamente usando la cadena positiva como molde (Figura 9.20*c*). Por tanto, además de tener el genoma de RNA bicatenario, los reovirus también muestran una biología molecular fuera de lo común ya

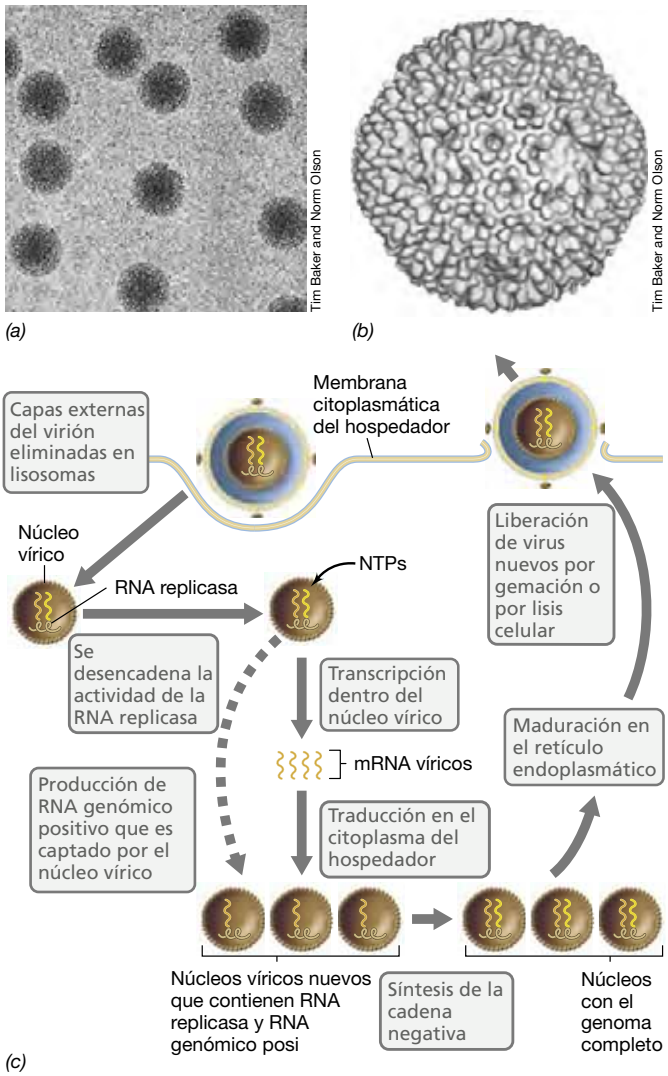


Figura 9.20 Virus de RNA de cadena doble: Los reovirus. *(a)* Micrografía electrónica de transmisión de viriones de reovirus (diámetro, unos 70 nm). *(b)* Reconstrucción tridimensional por ordenador de un virión de reovirus calculado a partir de micrografías electrónicas de viriones congelados e hidratados. *(c)* Ciclo biológico del reovirus. Todas las etapas de la replicación y de la transcripción ocurren dentro de la nucleocápsida. NTPs, nucleótidos trifosfato.

que emplean un mecanismo de replicación de ácidos nucleicos excepcional, que no es de naturaleza semi-conservativa ni por círculo rodante (Figura 9.6).

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué consiste el genoma de un reovirus?
- ¿En qué se parece la replicación del genoma de un reovirus a la del virus de la gripe y en qué se diferencia?
- ¿Por qué el proceso de replicación de un reovirus se produce dentro de la nucleocápsida?

9.11 Virus que usan transcriptasa inversa

Hay dos clases distintas de virus que utilizan la *transcriptasa inversa* y estos difieren en el tipo de ácido nucleico de sus genomas. Los retrovirus tienen el genoma de *RNA*, mientras que los hepadnavirus tienen el genoma de *DNA*. Además de sus propiedades biológicas especiales, ambas clases de virus comprenden patógenos humanos importantes, como el VIH (un retrovirus) y el virus de la hepatitis B (un hepadnavirus).

Retrovirus

Los **retrovirus** tienen viriones con envoltura que contienen dos copias idénticas de su genoma de RNA (↔ Figura 8.23*a*). El virión también contiene varias enzimas, como la transcriptasa inversa o retrotranscriptasa y un tRNA vírico específico. La razón por la que el virión lleva la transcriptasa inversa es porque aunque el genoma de los retrovirus es de cadena positiva, no se utiliza directamente como mRNA. En cambio, el genoma es convertido en DNA por la transcriptasa inversa y se integra en el genoma del hospedador. El DNA que se forma es una molécula lineal de doble cadena que se sintetiza dentro del virión y es después liberado al citoplasma. Un esquema de los pasos que ocurren durante la transcripción inversa se muestra en la **Figura 9.21**.

La transcriptasa inversa posee tres actividades enzimáticas: 1) *transcripción inversa* (para sintetizar DNA a partir de un molde de RNA), 2) *actividad ribonucleasa* (para degradar la cadena de RNA de un híbrido DNA:RNA) y 3) *DNA polimerasa* (para sintetizar DNA bicatenario a partir de un molde de DNA monocatenario). La transcriptasa inversa necesita un cebador para sintetizar DNA y esta es la función del tRNA vírico. Usando este cebador, los nucleótidos cerca del extremo 5′ del RNA son retrotranscritos a DNA. Cuando la transcripción inversa alcanza el extremo 5′ del RNA, el proceso se para. Para copiar el RNA restante, se utiliza un mecanismo diferente. Primero, las secuencias de RNA terminales redundantes del extremo 5′ son eliminadas por la transcriptasa inversa. Esto conduce a la formación de un DNA pequeño monocatenario que es complementario del segmento equivalente de RNA del *extremo opuesto* del RNA vírico. Este pequeño fragmento de DNA monocatenario se hibrida entonces con el otro extremo de la molécula del RNA vírico, donde la síntesis de DNA comienza nuevamente. La retrotranscripción continuada lleva a la formación de una molécula de DNA bicatenario con largas repeticiones terminales que asisten en la integración del DNA retrovírico dentro del cromosoma del hospedador (Figura 9.21).

Una vez integrado, el DNA retrovírico se convierte en una parte permanente del cromosoma hospedador. El genoma retroviral puede expresarse o permanecer en estado latente indefinidamente. Sin embargo, si se activa, el DNA retrovírico es transcrito por una RNA polimerasa de la célula para formar transcritos de RNA que pueden entonces ser encapsidados en viriones o traducidos para producir proteínas retrovíricas. La traducción y procesamiento de esos RNA mensajeros se muestra en la **Figura 9.22**. Todos los retrovirus tienen los genes *gag*, *pol* y *env* dispuestos en ese orden en el genoma (↔ Figura 8.23). El gen *gag* está en el extremo 5′ del RNA mensajero y codifica varias proteínas víricas estructurales. Dichas proteínas son sintetizadas primero como proteína única (poliproteína) que es posteriormente procesada por una proteasa que a su vez es una parte de la poliproteína. Las proteínas estructurales forman la cápsida, y la proteasa se empaqueta en el virión.

Después, el gen *pol* se traduce para dar lugar a una gran poliproteína que también incluye las proteínas *gag* (Figura 9.22*a*). Comparadas con las proteínas *gag*, las proteínas *pol* se requieren solo en cantidades pequeñas. Esta regulación se consigue porque para la síntesis de la proteína *pol* el ribosoma debe o bien saltarse un codón de terminación al final del gen *gag* o cambiar a un marco de lectura diferente en esa región. Estos dos procesos son raros y pueden considerarse como una forma de regulación traduccional. Una vez sintetizado, el producto del gen *pol* se procesa para producir las proteínas *gag*, la transcriptasa inversa y la integrasa. Esta última es la proteína necesaria para la integración del DNA vírico en el cromosoma del hospedador. Para que se traduzca el gen *env*, el mRNA completo debe ser primero procesado para eliminar las regiones *gag* y *pol* y entonces se sintetiza el producto del gen *env*, que es inmediatamente procesado por la proteasa vírica para dar lugar a dos proteínas diferentes de la envoltura (Figura 9.22*b*). El ensamblado de los retrovirus se produce en la cara interna de la membrana citoplasmática de la célula hospedadora y los viriones son liberados a través de la membrana por gemación (↔ Figura 8.24).

Hepadnavirus

Los ciclos biológicos de los virus muestran una gran variedad de estructuras genómicas y esquemas de replicación poco usuales, pero ninguno es tan peculiar como el de los **hepadnavirus**, como el virus de la hepatitis B humana (**Figura 9.23a**). Los minúsculos genomas de los hepadnavirus son poco comunes porque son *parcialmente* bicatenarios. A pesar de su pequeño tamaño (entre 3 y 4 kbp), los genomas de los hepadnavirus codifican varias proteínas usando genes solapados, una estrategia común en los virus muy pequeños (Sección 9.3).

Al igual que los retrovirus, los hepadnavirus emplean una transcriptasa inversa en su ciclo de replicación. Además de la actividad normal de esta enzima, la transcriptasa inversa de los hepadnavirus también funciona como cebador proteínico para la síntesis de una de sus propias cadenas de DNA. En relación a su papel en la replicación, sin embargo, la transcriptasa inversa desempeña funciones diferentes en la replicación del genoma de los retrovirus y del de los hepadnavirus. El genoma de DNA de los hepadnavirus se replica pasando por un intermediario de RNA, mientras que en los retrovirus el genoma de RNA es replicado a través de un intermediario de DNA (Figura 9.21 y 9.23).

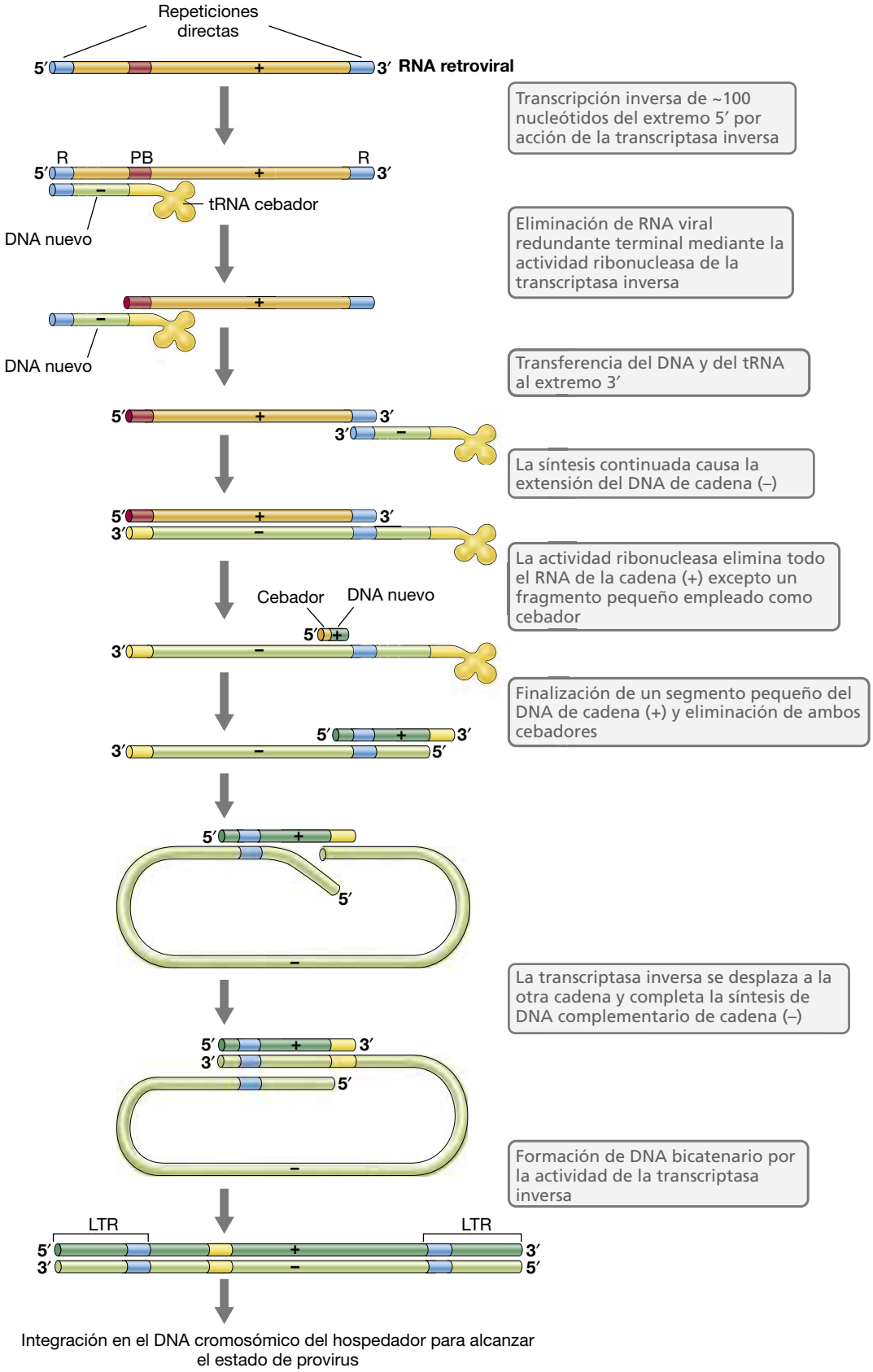


Figura 9.21 **Formación de DNA bicatenario a partir de RNA genómico monocatenario de un retrovirus**. Las secuencias marcadas con R en el RNA son repeticiones directas en ambos lados. La secuencia marcada PB es donde el cebador (tRNA) se une. Obsérvese que la síntesis de DNA produce repeticiones directas en el DNA más largas que las que había originalmente en el RNA. Se denominan repeticiones terminales largas (LTRs).

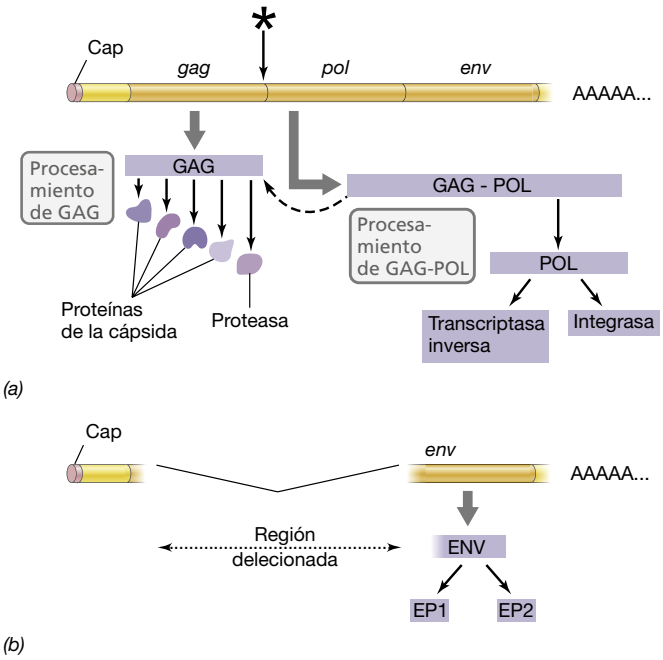
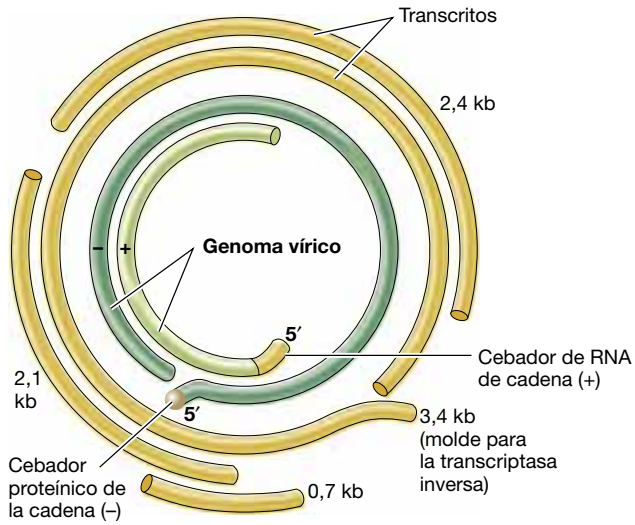


Figura 9.22 Traducción del mRNA de los retrovirus y procesamiento de las proteínas. *(a)* El mRNA retrovíricol completo con los tres genes *gag*, *pol* y *env*. El asterisco muestra el sitio donde el ribosoma debe saltarse el codón de parada o hacer un cambio preciso de marco abierto de lectura para sintetizar la poliproteína GAG-POL. Las flechas gruesas grises indican traducción y las flechas negras indican las fases de procesamiento de las proteínas. Uno de los productos del gen *gag* es una proteasa. El producto POL es procesado para dar lugar a una transcriptasa inversa (RT) y una integrasa (IN). *(b)* El mRNA es procesado para eliminar la mayor parte de la región *gag-pol*. Este mensajero reducido es traducido dando lugar a la poliproteína ENV, que se escinde para dar dos proteínas de la envoltura (EP), EP1 y EP2.



(a)



(b)

Figura 9.23 Hepadnavirus. *(a)* Micrografía al microscopio electrónico de viriones del virus de la hepatitis B. *(b)* Genoma del virus de la hepatitis B. El genoma bicatenario parcial se muestra en verde. También se muestra el tamaño de los transcritos. Todos los genes del virus de la hepatitis B se solapan. La transcriptasa inversa produce un genoma de DNA a partir de un mRNA de la longitud del genoma completo, sintetizado por la RNA polimerasa del hospedador.

Tras la infección, la nucleocápsida del hepadnavirus entra al núcleo de la célula donde la cadena parcial de DNA genómico se completa para formar una molécula completa bicatenaria. La transcripción por la RNA polimerasa del hospedador produce cuatro clases de mRNA vírico de diferentes tamaños (Figura 9.23*b*), que a continuación son traducidos para producir las proteínas víricas. El mayor de estos transcritos es ligeramente mayor que el genoma del virus y junto con la transcriptasa inversa, se asocia con las proteínas víricas en el citoplasma de la célula hospedadora para formar viriones nuevos. La transcriptasa inversa forma entonces DNA monocatenario a partir de este gran transcrito dentro del virión para formar así el genoma de DNA de sentido negativo, que usa como molde para formar una cadena parcial de sentido positivo, produciendo el genoma de cadena doble incompleto característico de los hepadnavirus (Figura 9.23*b*). Cuando se han producido los viriones maduros, estos se asocian con las membranas del retículo endoplasmático y el aparato de Golgi, desde donde son exportados a través de la membrana citoplasmática por gemación.

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué los inhibidores de proteasas son eficaces en el tratamiento del SIDA en humanos?
- Compare los genomas del VIH y del virus de la hepatitis B.
- Describa las diferencias entre el papel que la transcriptasa inversa desempeña en el ciclo de replicación de un retrovirus y en el de un hepadnavirus.

IV • Agentes subvíricos

Terminaremos nuestro viaje genómico por el mundo de los virus considerando dos entidades *subvíricas:* los viroides y los priones. Se trata de agentes infecciosos que se asemejan a los virus pero que carecen de ácido nucleico o de proteínas y por tanto no son virus.

9.12 Viroides

Los **viroides** son moléculas infecciosas de RNA que se diferencian de los virus en que carecen de proteínas. Son moléculas de RNA monocatenario pequeñas y circulares y son los patógenos

más pequeños conocidos. Tienen un tamaño de entre 246 y 399 nucleótidos y presentan un grado considerable de homología de secuencia unos con otros, lo que sugiere que tienen raíces evolutivas comunes. Los viroides causan algunas enfermedades importantes en plantas y pueden tener un gran impacto negativo en la agricultura (**Figura 9.24**). Entre los pocos viroides bien estudiados se encuentran el viroide cadang-cadang del coco (246 nucleótidos), y el viroide del tubérculo fusiforme de la patata (359 nucleótidos). No se conoce ningún viroide que infecte animales o microorganismos.

Estructura y función de los viroides

La forma extracelular de vida de un viroide es de RNA desnudo, sin cápsida proteínica de ninguna clase. Si bien el RNA del viroide es un círculo de cadena sencilla cerrado covalentemente, su estructura secundaria compleja lo hace parecer una molécula de doble cadena en forma de horquilla del pelo con los extremos cerrados (**Figura 9.25**). Aparentemente, esto confiere al viroide la estabilidad suficiente para sobrevivir fuera de la célula hospedadora. Al carecer de cápsida, el viroide no utiliza ningún receptor para penetrar en la célula hospedadora, sino que entra en la planta a través de una herida, como las producidas por insectos o por cualquier tipo de daño mecánico. Una vez dentro, los viroides se desplazan de célula en célula a través de los plasmodesmos, que son unidades continuas de citoplasma que unen las células vegetales (**Figura 9.26**).

El RNA del viroide no codifica proteínas, por lo que el viroide depende totalmente de su hospedador para su replicación. Las plantas tienen varias RNA polimerasas, una de las cuales tiene actividad RNA replicasa, y esta es la enzima que replica el viroide. El mecanismo de replicación se parece al mecanismo del círculo rodante usado para la síntesis del genoma de algunos virus pequeños (Secciones 9.3 y 9.7). El resultado es una molécula de RNA de gran tamaño que contiene muchos viroides unidos por los extremos. El viroide tiene actividad ribozímica (RNA catalítico), que es utilizada para la autoescisión de esta molécula de RNA de gran tamaño, que libera viroides individuales.



Figura 9.25 **Estructura de un viroide**. Los viroides estan constitutidos por RNA circular monocatenario que, mediante el apareamiento intracatenario de bases, forma una estructura que recuerda a una doble cadena.

Enfermedades causadas por los viroides

Las plantas infectadas por viroides pueden carecer de síntomas o desarrollar síntomas que varían de leves a mortales, según el viroide (Figura 9.24). La mayoría de los síntomas están relacionados con el crecimiento, y se creee que los viroides imitan a los RNA reguladores pequeños o interfieren de algún modo con ellos. De hecho, los viroides podrían derivar ellos mismos de RNA reguladores que hubieran evolucionado de contener funciones beneficiosas para la célula a inducir una actividad destructora. Se sabe que los viroides producen RNA pequeños de interferencia (siRNAs) como un producto secundario durante la replicación. Se ha propuesto que estos siRNA puedan actuar como RNA de interferencia inhibidores para suprimir la expresión de genes de las plantas que tengan alguna homología con el RNA del viroide, y de esta manera inducir los síntomas de la enfermedad.

MINIRREVISIÓN

- Si los viroides son moléculas circulares, ¿por qué se suelen dibujar con la forma de horquillas para el pelo?
- ¿Cómo pueden los viroides causar enfermedades en las plantas?



Yijun Qi and Biao Ding

Figura 9.24 **Viroides y enfermedades vegetales**. Fotografía de una tomatera sana (izquierda) y una infectada con el viroide del tubérculo fusiforme de la patata (PSTV) (derecha). La variedad de hospedadores de la mayoría de los viroides es bastante restringida; no obstante, PSTV infecta tomates y patatas, y provoca atrofia del crecimiento, achatamiento de la parte superior y la muerte prematura de la planta.

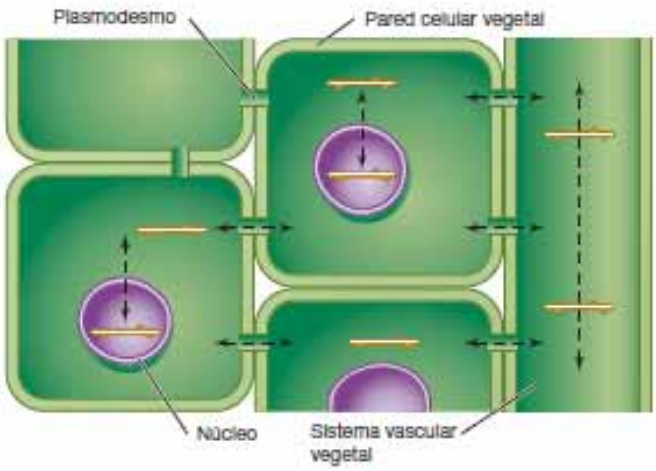


Figura 9.26 **Desplazamiento de los viroides en el interior de las plantas**. Después de entrar en una célula vegetal, los viroides (en naranja) se replican en el núcleo o en el cloroplasto. Los viroides pueden desplazarse entre las células de la planta a través de los plasmodesmos (finas cadenas de citoplasma que penetran la pared celular y conectan las células vegetales). Además, a mayor escala, los viroides se pueden desplazar por la planta a través de su sistema vascular.

9.13 Priones

Los **priones** representan el otro extremo de los viroides. Son agentes infecciosos cuya forma extracelular consiste totalmente de proteína. Esto significa que *un prión no tiene ni DNA ni RNA*. Los priones causan varias enfermedades neurológicas graves como la tembladera (*scrapie*) ovina, la encefalopatía espongiforme bovina (EEB o «enfermedad de las vacas locas») en el ganado bovino, la caquexia crónica en ciervos y alces, y el kuru y la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob en humanos. No se conocen enfermedades priónicas en plantas, pero se han encontrado priones en levaduras. En conjunto, las enfermedades priónicas de animales se conocen como *encefalopatías espongiformes transmisibles*.

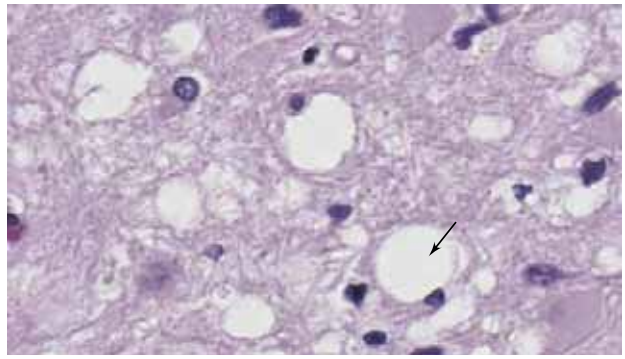
Proteínas priónicas y ciclo infeccioso del prión

Si los priones carecen de ácidos nucleicos, ¿cómo se codifica las proteína priónica? La respuesta a este enigma es que la propia célula hospedadora codifica el prión. El hospedador contiene un gen, *Prnp* (proteína priónica), que codifica la forma nativa de la proteína priónica, conocida como PrP^C (proteína priónica celular). Esta se encuentra principalmente en las neuronas de animales sanos, sobre todo en el cerebro (**Figura 9.27*a***). La forma patógena de la proteína priónica es designada PrP^{Sc} (del inglés, *prion protein Scrapie*), porque la tembladera ovina fue la primera enfermedad priónica que se descubrió. La secuencia de aminoácidos de la forma patógena de la proteína priónica es idéntica a la de PrP^C de la misma especie, pero tiene una conformación diferente. Por ejemplo, los priones nativos están formados en gran parte por segmentos de hélice alfa, mientras que la forma patógena tiene menos hélices alfa y más láminas beta en su estructura secundaria. La secuencia de aminoácidos de las proteínas priónicas de diferentes especies de mamíferos son parecidas, pero no idénticas, y la variedad de hospedadores depende en cierto modo de la secuencia de la proteína. Por ejemplo, el prión PrP^{Sc} de ganado enfermo con EEB puede infectar humanos, mientras que el prión PrP^{Sc} de ovejas con tembladera aparentemente no puede.

Cuando la forma PrP^{Sc} penetra en una célula hospedadora que expresa una proteína priónica normal (PrP^C), el prión patógeno induce la conversión de la proteína PrP^C en la forma patógena (Figura 9.27*b*). Por tanto, el prión patógeno se «replica» mediante la conversión a la forma patógena de priones nativos que ya existían en la célula hospedadora. A medida que los priones patógenos se acumulan, forman agregados insolubles en las neuronas del cerebro (Figura 9.27*a*). Esto provoca los síntomas de enfermedad, entre ellos la destrucción del cerebro o de otros tejidos nerviosos. La proteína PrP^C funcionan en la célula como una glicoproteína de la membrana citoplasmática, y se ha demostrado que es necesaria la unión de los priones patógenos a la membrana para que empiecen a manifestarse los síntomas de la enfermedad. Las versiones mutantes de PrP^{Sc} que no pueden unirse a la membrana citoplasmática de las células nerviosas todavía pueden agregarse, pero no causan la enfermedad.

Priones no de mamíferos

Muchos vertebrados, incluidos peces y anfibios, contienen genes homólogos al gen *Prpn* de los mamíferos, que también



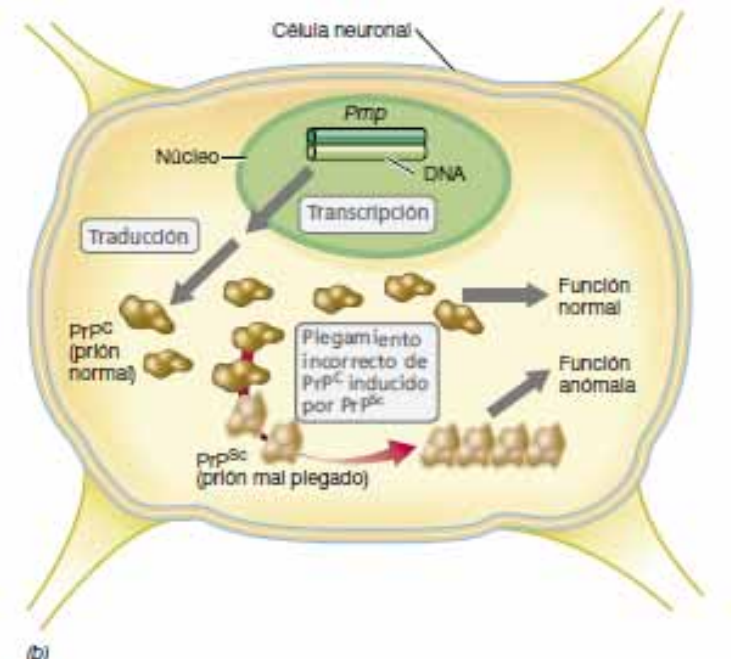


Figura 9.27 **Priones**. *(a)* Sección de tejido cerebral de un humano con la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob. Nótese la naturaleza esponjosa del tejido (zona clara, flecha) dónde se ha perdido tejido nervioso. *(b)* Mecanismo del plegamiento incorrecto de los priones. Las células nerviosas producen la forma normal (nativa) de la proteína priónica. La forma patógena cataliza el nuevo plegamiento de los priones normales para dar la forma anómala y es resistente a las proteasas, insoluble y forma agregados en las células nerviosas. Esto al final provoca la destrucción del tejido nervioso (vea parte a) y la aparición de síntomas neurológicos.

son expresados en tejidos nerviosos. Sin embargo, las proteínas codificadas por estos genes no tienen versiones patógenas mal plegadas y por tanto no tienen priones. Ciertos hongos tienen proteínas que se ajustan a la definición de prión de un cambio en su estructura proteínica heredado y que se autoperpetúa, si bien estas proteínas no causan ninguna enfermedad detectable. Lo que hacen es adaptar las células del hongo cuando cambian sus condiciones nutricionales. En levaduras, por ejemplo, el prión [URE3] es una proteína que regula la transcripción de genes que codifican ciertas funciones del metabolismo del nitrógeno. La forma soluble normal de esta proteína reprime los genes que codifican proteínas que metabolizan ciertas fuentes de nitrógeno. Sin embargo, cuando el

prión [URE3] se acumula, forma agregados insolubles, como una proteína priónica de mamífero. Cuando esto ocurre, deja de reprimirse la transcripción de los genes para las formas del metabolismo del nitrógeno usualmente reprimidas y se inicia la expresión de estos genes.

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué se diferencian los priones de todos los otros agentes infecciosos?
- ¿Cuál es la diferencia entre la forma nativa y la forma patógena de los priones?

IDEAS PRINCIPALES

9.1 • Los genomas víricos pueden ser de DNA o RNA, monocatenario o bicatenario, y su tamaño varía desde unas pocas kilobases hasta miles de kilobases. El mRNA vírico es siempre de configuración positiva por definición, pero los genomas monocatenarios pueden ser de configuración positiva o negativa. Los virus con genoma de RNA pueden tener en sus viriones una replicasa o codificar esta enzima en su genoma para poder sintetizar RNA a partir de un molde de RNA.

9.2 • Los virus pueden haber evolucionado como agentes para la transferencia de genes en las células, o pueden ser células degeneradas que se volvieron dependientes de una célula hospedadora para la replicación. Puede que hayan sido los primeros microorganismos en la Tierra con genoma de DNA y podrían haber trasladado esta propiedad a las células durante la transición de un mundo de RNA a uno de DNA. Construir una filogenia universal para los virus no es posible hoy en día, pero se pueden construir árboles filogenéticos para varios grupos de virus.

9.3 • Los virus de DNA monocatenarios contienen DNA de configuración positiva, y se necesita de una forma replicativa de cadena doble para la transcripción y la replicación del genoma. El genoma del virus ϕX174 es tan pequeño que algunos de sus genes se solapan, y el genoma se replica por el mecanismo de círculo rodante. Algunos virus relacionados, como el M13, tienen viriones filamentosos que se liberan de la célula hospedadora sin lisis celular.

9.4 • El bacteriófago con cabeza y cola T7 contiene un genoma de DNA de cadena doble que codifica genes tempranos, transcritos por la RNA polimerasa del hospedador, y genes tardíos, transcritos por la RNA polimerasa codificada por el virus. La replicación del genoma de T7 emplea una DNA polimerasa T7 y en ella intervienen repeticiones terminales y concatémeros. El bacteriófago Mu es un virus atemperado que es también un elemento transponible. Mu se replica por transposición en el cromosoma del hospedador.

9.5 • Varios virus de DNA de cadena doble infectan células de *Archaea*, la mayoría de las cuales habitan en ambientes extremos. Muchos de estos genomas son circulares a diferencia de los genomas de DNA bicatenarios de los bacteriófagos. Aunque se conocen virus del tipo cabeza y cola, muchos virus arqueanos tienen una morfología fusiforme poco común.

9.6 • Los poxvirus son virus grandes de DNA de cadena doble que se replican completamente en el citoplasma y son responsables de varias enfermedades humanas, entre ellas la viruela. Los adenovirus son virus de DNA de cadena doble que emplean proteínas cebadoras en la replicación genómica y un mecanismo que se produce sin la síntesis de cadena retrasada.

9.7 • Algunos virus de DNA de cadena doble causan cáncer en humanos. El SV40 es uno de estos virus que causan tumores y tiene un genoma muy pequeño, con genes solapados. El virus puede inducir la transformación de las células (inducción de tumor) mediante la actividad de varios genes. Algunos herpesvirus también causan cáncer, pero la mayoría causan varias enfermedades infecciosas en humanos. Los herpesvirus pueden mantenerse indefinidamente en estado latente en el hospedador, e iniciar la replicación vírica periódicamente.

9.8 • En los virus de RNA monocatenario de sentido positivo, el genoma es también el mRNA, y se sintetiza una cadena negativa para producir más copias de mRNA y del genoma. El diminuto bacteriófago MS2 contiene solo cuatro genes, uno de los cuales codifica una subunidad de su RNA replicasa. En los poliovirus, el RNA vírico se traduce directamente, produciendo una poliproteína que es escindida en varias proteínas víricas menores. Los coronavirus son virus de RNA grandes que se asemejan a los poliovirus en algunos aspectos de su replicación pero no en todos.

9.9 • En los virus de cadena negativa, el RNA vírico no actúa como mRNA, sino que debe ser primero copiado por la RNA replicasa presente en el virión para formar el mRNA. La cadena positiva es el molde para la producción de copias del genoma. Entre los virus de cadena negativa hay importantes patógenos, como el virus de la rabia y el de la gripe.

9.10 • Los reovirus contienen un genoma de RNA de cadena doble lineal y segmentado. Como los virus de RNA de cadena negativa, los reovirus tienen dentro del virión una RNA polimerasa dependiente de RNA. Todas las fases de la replicación ocurren dentro de los viriones recién formados.

9.11 • Algunos virus emplean la transcriptasa inversa, entre ello, los retrovirus (VIH) y los hepadnavirus (hepatitis B). Los retrovirus tienen el genoma de RNA monocatenario y emplean la transcriptasa inversa para hacer una copia de DNA. Los hepadnavirus contienen genomas de DNA parcialmente completos y usan la transcriptasa inversa para hacer una cadena sencilla de DNA genómico a partir de una cadena completa de RNA complementario.

9.12 • Los viroides son moléculas circulares de RNA monocatenario que no codifican proteínas y dependen de las enzimas del hospedador para su replicación. A diferencia de los virus, el RNA viroide no está encerrado en una cápsida, y todos los viroides conocidos son patógenos de plantas.

9.13 • Los priones están constituidos por una proteína pero no tienen ácido nucleico de ningún tipo. Los priones existen en dos configuraciones, la forma nativa celular y la forma patógena, que adquiere una estructura proteínica diferente. La forma patógena se «replica» ella misma mediante la conversión a la forma patógenica de las proteínas priónicas nativas, codificadas por la célula hospedadora.

MasteringMicrobiology®

Revise lo que sabe y descubra lo que ha aprendido con MasteringMicrobiology. Acceda a material de estudio, revisiones de los capítulos, animaciones y tutoriales de microbiología práctica en el Área de Estudio y asegúrese de que ha asimilado todo el contenido de este capítulo.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Cadena negativa: cadena de ácido nucleico que tiene el sentido opuesto (es complementaria) a la del mRNA.
Cadena positiva: cadena de ácido nucleico que tiene el mismo sentido que el mRNA.
Conversión antigénica: en el virus de la gripe, cambios importantes en las proteínas víricas (antígenos) debido a reordenamiento de los genes.
Forma replicativa: molécula bicatenario que actúa como intermediario de la replicación de un virus con genoma monocatenario.
Genes solapantes: dos o más genes en los cuales una parte o el total de uno de los genes está superpuesto a otro.
Hepadnavirus: virus cuyo genoma de DNA se replica mediante un intermediario de RNA.
Poliproteína: proteína grande que se expresa a partir de un solo gen y que a continuación es cortada para dar lugar a varias proteínas individuales.
Prión: proteína infecciosa cuya forma extracelular carece de ácido nucleico.
Replicación por círculo rodante: mecanismo que utilizan algunos plásmidos y virus para replicar DNA circular, que se inicia cortando y desenrollando una cadena. En los genomas monocatenarios, la cadena aún circular se usa como molde para la síntesis de DNA. En los genomas bicatenarios, la cadena desenrollada se usa como molde para la síntesis de DNA.
Retrovirus: virus cuyo genoma de RNA tiene un intermediario de DNA como parte de su ciclo de replicación.
RNA replicasa: enzima que puede sintetizar RNA a partir de un molde de RNA.
Transcripción inversa: proceso de copiado de información genética desde el RNA al DNA.
Transposasa: enzima que cataliza la inserción de fragmentos de DNA dentro de otra molécula de DNA.
Viroide: RNA infeccioso cuya forma extracelular carece de proteínas.

PREGUNTAS DE REPASO

1. ¿Cuánto más grande es el genoma de *Escherichia coli* que los genomas de los bacteriófagos T4 y T7? (Sección 9.1)
2. Describa las clases de virus basadas en sus características genómicas. Para cada clase, describa cómo se sintetiza el mRNA vírico y cómo se replica el genoma vírico. (Sección 9.1)
3. ¿Cómo podrían los virus ayudar a explicar las diferencias observadas en la maquinaria de replicación del DNA de las células en los tres dominios? (Sección 9.2)
4. ¿Qué son genes solapados? Dé algunos ejemplos de virus que tengan genes solapados. (Secciones 9.3 y 9.8)
5. Describa cómo se transcribe y traduce el genoma del bacteriófago ϕX174. (Sección 9.3).
6. ¿Por qué puede decirse que la transcripción del bacteriófago T7 necesita de dos enzimas? (Sección 9.4)
7. ¿Por qué es el bacteriófago Mu mutagénico? ¿Qué características debe tener Mu para que se inserte en el DNA? (Sección 9.4)
8. Indique tres características particulares del virus arqueano que infecta a *Acidianus* y que lo distingue del bacteriófago T7. (Sección 9.5)

9. De todos los virus de animales de DNA bicatenario, los poxvirus destacan por un aspecto exclusivo de su proceso de replicación. ¿Cuál es este aspecto particular y cómo se puede conseguir sin que se empaqueten enzimas especiales en el virión? (Sección 9.6)
10. Explique por qué se puede decir que los adenovirus son únicos en la biología. (Sección 9.6)
11. Indique dos enfermedades infecciosas comunes y una enfermedad rara muy grave causadas por herpesvirus. (Sección 9.7)
12. ¿Por qué no podrían replicarse los viriones de MS2 o del poliovirus si no contuvieran una enzima específica? (Sección 9.8)
13. ¿Cuál es la función de la proteína VPg de los polivirus y cómo pueden los coronavirus replicarse sin esa proteína? (Sección 9.8)
14. Describa dos características que diferencian al genoma de los poliovirus del genoma del virus de la gripe. (Secciones 9.8 y 9.9)
15. El virus de la rabia y el poliovirus tienen el genoma de RNA monocatenario, pero solamente en los poliovirus se puede traducir directamente el genoma. Explique por qué. (Secciones 9.8 y 9.9)
16. Compare el genoma del reovirus con el del virus de la gripe y el bacteriófago MS2. (Sección 9.10)
17. ¿Por qué tanto los hepadnavirus como los retrovirus necesitan la transcriptasa inversa si sus genomas son de DNA bicatenario y de RNA monocatenario respectivamente? (Sección 9.11)
18. ¿Cuáles son las semejanzas y las diferencias entre los virus y los viroides? (Sección 9.12)
19. ¿Cuáles son las semejanzas y las diferencias entre los priones y los virus? (Sección 9.13)
20. ¿Cuáles son las semejanzas y las diferencias entre los viroides y los priones? (Secciones 9.12 y 9.13)

EJERCICIOS PRÁCTICOS

1. No todas las proteínas que se sintetizan a partir del genoma de RNA del bacteriófago MS2 se producen en la misma cantidad. ¿Puede explicar por qué? Una de las proteínas funciona como represor pero actúa a nivel traduccional. ¿Qué proteína es y cómo funciona?
2. En los adenovirus, la replicación de ambas cadenas de DNA ocurre de modo continuo (como cadenas líderes). ¿Cómo puede llevarse esto a cabo sin que suponga una excepción a la regla que la síntesis de DNA se produce siempre en dirección 5′ → 3′?
3. Imagine que usted es un investigador de una compañía farmacéutica encargado de desarrollar fármacos nuevos contra virus de RNA patógenos de humanos. Describa al menos dos tipos de fármacos que intentaría desarrollar, los tipos de virus que estos podrían afectar, y por qué cree que estos fármacos no perjudicarían a los pacientes.
4. Los genomas de los reovirus son únicos en la biología. ¿Por qué? ¿Por qué la replicación de los reovirus no puede ocurrir en el citoplasma de la célula? Compare el proceso de replicación genómica del reovirus con el de la célula. ¿Por qué se puede decir que la replicación del genoma de los reovirus no es semi-conservativa aunque el genoma del reovirus esté constituido por cadenas complementarias?

CAPÍTULO

10 · Genética de *Bacteria* y *Archaea*

microbiología **actual**

Virus desaparecidos o agentes secretos de transferencia de genes

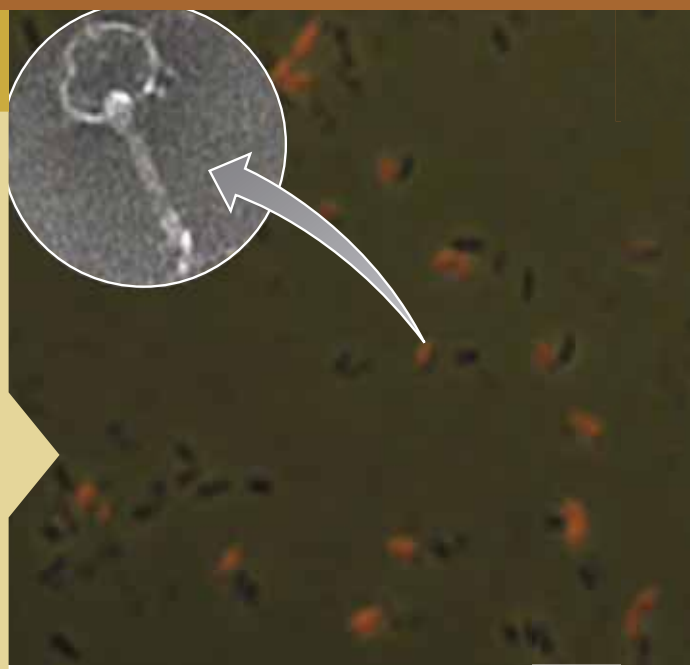
¿Cómo lo hacen los miembros de *Bacteria* y *Archaea* para adquirir características nuevas y fascinantes que se traducen en la enorme diversidad del mundo microbiano? A diferencia de los organismos eucariotas, en los procariotas existen varios mecanismos de intercambio horizontal de genes. Este intercambio genético es la base de la adaptación a los diferentes nichos y desempeña un papel potente en la evolución.

Un ejemplo de este intercambio genético es a través de *agentes de transferencia de genes* (GTAs, del inglés *gene transfer agents*), que son producto de una interacción virus-hospedador fuera de lo común. Los GTA son el resultado del secuestro de virus defectuosos por parte de células microbianas, que los utilizan específicamente para el intercambio de DNA. Los GTA se asemejan a minúsculos bacteriófagos con cola (fotografía en el recuadro) y contienen fragmentos cortos aleatorios de DNA del hospedador. No se consideran virus verdaderos porque no contienen genes que codifiquen su propia multiplicación y no forman las típicas calvas víricas.

Los GTA han sido aislados de una gran variedad de procariotas, entre los cuales, bacterias reductoras de sulfato y arqueas metanógenas, y son particularmente frecuentes en procariotas marinos. Es por tanto probable que los GTA estén bastante extendidos en la naturaleza. Unos microbiólogos genetistas han encontrado que un subgrupo de células de la bacteria fotótrofa *Rhodobacter capsulatus* producen y liberan GTA durante la fase estacionaria y cuando hay fluctuación de nutrientes[1]. Esto se demostró fusionando el promotor de un gen esencial para la producción de GTA a un gen reportero que codifica una proteína de fluorescencia roja. Las células que producían GTA se volvían de color rojo (fotografía).

Mientras que los bacteriófagos son considerados las entidades más abundantes en la Tierra, se desconoce qué número de ellos podrían ser realmente GTA en lugar de virus. Los GTA pueden explicar la poderosa naturaleza de la transferencia de DNA entre procariotas, especialmente de aquellos que habitan en el mar. Esto también plantea otra pregunta. ¿Es posible que dependa de los GTA el predominio de otro fenómeno genético común, como es la resistencia de las bacterias a los antibióticos?

[1]Fogg, P.C., *et al.* 2012. One for all or all for one: Heterogeneous expression and host cell lysis are key to gene transfer agent activity in *Rhodobacter capsulatus*. *PLOS One 7*: e43772.



I Mutación 308

II Transferencia genética en *Bacteria* 316

III Transferencia genética en *Archaea* y otros fenómenos genéticos 326

En este libro se describen muchos ejemplos de la diversidad microbiana. ¿Cómo ha surgido esta diversidad? Aunque los procariotas se reproducen asexualmente, también poseen mecanismos para intercambiar genes. Este intercambio de genes, conjuntamente con innovaciones genéticas que se originan a partir de cambios aleatorios en el mapa genético, puede conferir una ventaja que en última instancia conduce a la diversidad genética.

En este capítulo presentaremos los mecanismos por los cuales *Bacteria* y *Archaea* pueden cambiar sus genomas. Describiremos primeramente cómo se producen cambios en el genoma, y después consideraremos cómo pueden transferirse los genes de un microorganismo a otro mediante *transferencia horizontal de genes*. Si bien la genética de las bacterias es clave para la diversidad microbiana y la adaptación al hábitat, los microorganismos también poseen mecanismos para mantener la estabilidad genómica, que trataremos al final del capítulo. Conjuntamente, los cambios genómicos y la estabilidad genómica son importantes para la evolución de un organismo y su éxito competitivo en la naturaleza.

I • Mutación

Todos los organismos contienen una secuencia específica de bases nucleotídicas en su genoma, su mapa genético. Una **mutación** es una modificación *heredable* en la secuencia de bases del genoma, lo que es lo mismo, un cambio que pasa de las células madres a las células hijas. Las mutaciones pueden causar cambios —algunos buenos y otros malos, pero mayoritariamente de efecto neutro— en las propiedades de un organismo. A pesar que la tasa de mutación espontánea es baja (Sección 10.3), la velocidad con que muchos procariotas se dividen y su crecimiento exponencial aseguran que las mutaciones se acumulen muy rápidamente. Mientras que la mutación solo supone un pequeño cambio genético en la célula, la recombinación genética genera normalmente cambios mucho mayores. En su conjunto, la mutación y la recombinación son las impulsoras del proceso evolutivo.

Empezaremos analizando los mecanismos moleculares de la mutación y las propiedades de los microorganismos mutantes.

10.1 Mutaciones y mutantes

En todas las células, el genoma está formado por DNA bicatenario. En los virus, sin embargo, el genoma puede ser de DNA o de RNA, monocatenario o bicatenario. Una cepa de cualquier célula o virus portadora de un cambio en su secuencia de nucleótidos se denomina **mutante**. Por definición, un mutante difiere de su cepa progenitora en el **genotipo**, que es la secuencia de nucleótidos del genoma. Además, las propiedades observables del mutante —su **fenotipo**— también pueden verse alteradas respecto de la cepa progenitora. Este fenotipo alterado recibe el nombre de *fenotipo mutante*. Es habitual referirse a una cepa aislada de la naturaleza con el término **cepa salvaje**. El término «salvaje» puede ser usado para referirse al organismo completo o solo al estatus de un gen particular que se está investigando. Los derivados mutantes se pueden obtener directamente de las cepas salvajes o de otras cepas previamente derivadas del tipo salvaje, por ejemplo, otro mutante.

Genotipo y fenotipo

Según el tipo de mutación, el fenotipo de una cepa mutante puede ser diferente o no del de su progenitor. Por convenio, en genética bacteriana el *genotipo* de un organismo se designa por tres letras minúsculas seguidas por una mayúscula (todo en cursiva) que indican un gen en concreto. Por ejemplo, el gen *hisC* de *Escherichia coli* codifica una proteína llamada HisC, que participa en la biosíntesis del aminoácido histidina. Las mutaciones en el gen *hisC* se designarán como *hisC1*, *hisC2*, etc., donde los números se refieren al orden en que se aíslan las cepas mutantes. Cada mutación de *hisC* será diferente, y cada una podría afectar a la proteína HisC de forma distinta.

El *fenotipo* de un organismo se designa con una mayúscula seguida por dos minúsculas, con un superíndice con el signo más o el signo menos para indicar la presencia o la ausencia de dicha propiedad. Así, una cepa His^+ de *E. coli* es capaz de sintetizar su propia histidina, mientras que una His^- no lo puede hacer. La cepa His^- necesitará un suplemento de histidina para crecer. Una mutación en el gen *hisC* puede producir un fenotipo His^- si se elimina la función de la proteína HisC.

Aislamiento de mutantes: cribado y selección

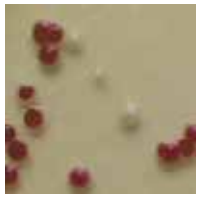
Prácticamente cualquier característica de un organismo puede ser modificada mediante mutación. Sin embargo, algunas mutaciones son *seleccionables*, y confieren algún tipo de ventaja a los organismos que las poseen, mientras que otras no son seleccionables, incluso aunque pudieran llevar a un cambio muy claro en el fenotipo de un organismo. Una mutación seleccionable aporta una clara ventaja para la cepa mutante en determinadas condiciones ambientales, de modo que la progenie de una célula mutante será capaz de superar y sustituir al progenitor. Un buen ejemplo de mutación seleccionable es la resistencia a los fármacos: un mutante resistente a los antibióticos puede crecer en presencia de un antibiótico que inhibe o mata a los progenitores (**Figura 10.1*a***) y por tanto será seleccionada en esas condiciones. Es relativamente fácil detectar y aislar mutantes seleccionables escogiendo las condiciones ambientales adecuadas. Así, la **selección** es, por tanto, una herramienta genética muy potente, ya que permite el aislamiento de un solo mutante en una población de millones o incluso miles de millones de células progenitoras.

Un ejemplo de mutación no seleccionable es la pérdida de color de un organismo pigmentado (Figura 10.1*b*, *c*). Las células no pigmentadas normalmente no representan ninguna ventaja ni ninguna desventaja en relación a las células progenitoras cuando crecen en placas de agar, aunque los organismos pigmentados podrían tener una ventaja selectiva en la naturaleza.



T. D. Brock

(a)



Steven R. Spilatro



Shiladitya DasSarma, Priya Arora, Lone Simonsen

(b) (c)

Figura 10.1 Mutaciones seleccionables y no seleccionables. *(a)* Desarrollo de mutantes resistentes a antibióticos, un tipo de mutación fácilmente seleccionable, dentro de la zona de inhibición de un disco de ensayo de antibióticos. *(b)* Mutaciones no seleccionables. La radiación UV induce la aparición de mutantes no pigmentados de *Serratia marcescens*. El tipo salvaje tiene un pigmento rojo oscuro. Los mutantes blancos o incoloros no sintetizan pigmento. *(c)* Colonias de mutantes de una especie de *Halobacterium*, miembro de *Archaea*. Las colonias de tipo salvaje son blancas. Las colonias marrones anaranjadas son mutantes que carecen de vesículas de gas (↻ Sección 2.15). Las vesículas de gas dispersan la luz y enmascaran el color de la colonia.

Podemos detectar estas mutaciones solo mediante el examen de gran número de colonias y buscando las «diferentes», un proceso llamado **cribado** (en inglés, *screening*).

Aislamiento de auxótrofos nutricionales

Aunque el cribado es siempre más engorroso que la selección, existen métodos para cribar grandes cantidades de colonias en busca de determinados tipos de mutaciones. Por ejemplo, los mutantes nutricionales defectivos pueden ser detectados mediante la técnica de *réplica en placa* (**Figura 10.2**). Las colonias de una placa madre pueden ser transferidas a otra placa con agar pero sin el nutriente con ayuda de un asa o palillo de dientes estériles, o incluso con un brazo robótico. Las colonias progenitoras crecerán con normalidad, y las colonias mutantes, no. Así, la incapacidad de una colonia para crecer en un medio sin el nutriente indica que se trata de una colonia mutante. La colonia de la placa madre correspondiente a la mancha ausente en la placa de réplica se puede coger, purificar y caracterizar. Un mutante con una necesidad nutricional para el crecimiento se llama **auxótrofo**, y el progenitor del que deriva recibe el nombre de *protótrofo*. (Un protótrofo no tiene por qué ser necesariamente del tipo salvaje. Un auxótrofo puede derivar del tipo salvaje o de un mutante derivado del tipo salvaje.) Por ejemplo, los mutantes de *E. coli* con fenotipo His^- son auxótrofos de histidina. En la **Tabla 10.1** se indican ejemplos de clases habituales de mutantes y los medios con los que se detectan.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué diferencia hay entre una mutación y un mutante?
- ¿Qué diferencia hay entre cribado y selección?

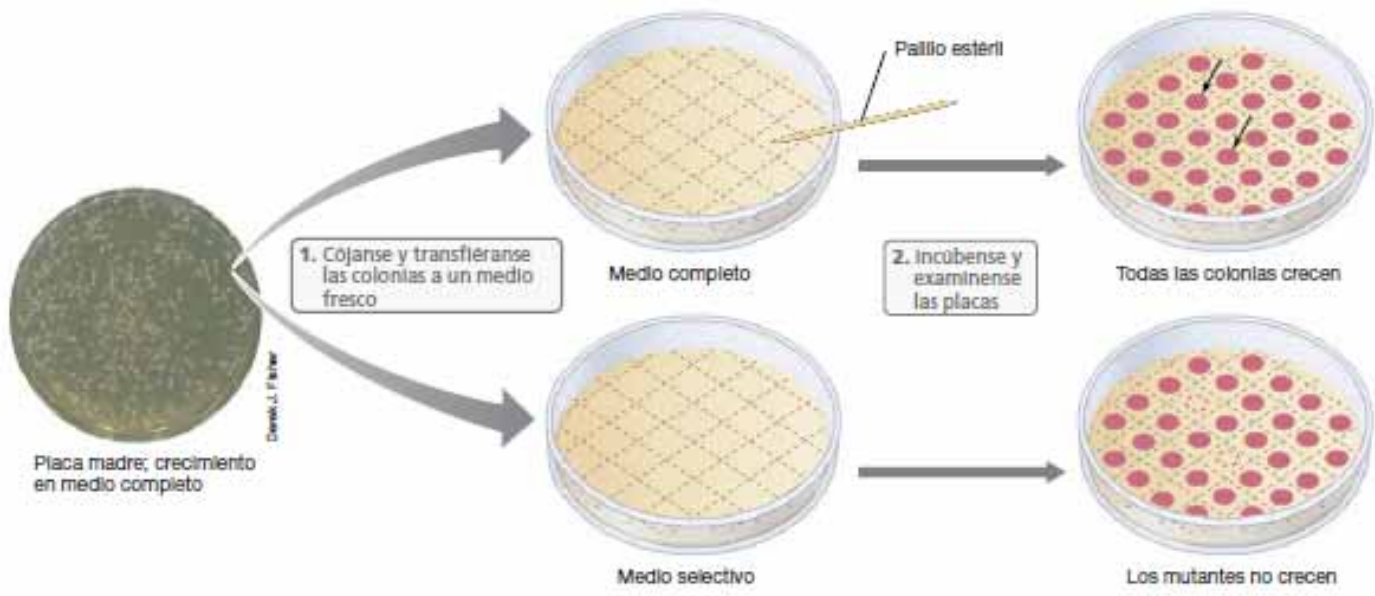


Figura 10.2 Cribado *(screening)* de auxótrofos nutricionales. El método de réplica en placa se puede utilizar para la detección de mutantes nutricionales. Las colonias de la placa madre son transferidas a una placa marcada con una cuadrícula que contiene diferentes medios para la selección. Las colonias que no aparecen en la placa de réplica están indicadas con una flecha. El medio selectivo carecía de un nutriente (leucina) presente en la placa madre. Por tanto, las colonias indicadas con una flecha en la placa madre son auxótrofos de leucina.

Tabla 10.1 Clases de mutantes

Fenotipo	*Naturaleza del cambio*	*Detección del mutante*
Auxótrofo	Pérdida de enzimas de una ruta biosintética	Incapacidad para crecer en un medio que carezca del nutriente
Sensible al calor	Cambio en una proteína esencial, que lo convierte en más sensible al calor	Incapacidad para crecer a temperaturas altas que normalmente promueven el crecimiento
Sensible al frío	Cambio en una proteína esencial de manera que se desactiva a bajas temperaturas	Incapacidad para crecer a bajas temperaturas que normalmente promueven el crecimiento
Resistente a fármacos	Destoxificación de fármacos, cambios en la diana del fármaco o permeabilidad al fármaco	Crecimiento en medios con fármacos en una concentración normalmente inhibidora
Colonia rugosa	Pérdida o modificación de la capa de lipopolisacáridos	Colonias granulares e irregulares en lugar de lisas y brillantes
No encapsulado	Pérdida o modificación de la cápsula superficial	Colonias pequeñas y rugosas en lugar de colonias más grandes y lisas
Inmóvil	Pérdida de flagelos o flagelos no funcionales	Colonias compactas en lugar de planas y esparcidas. Falta de motilidad bajo el microscopio
Sin pigmentación	Pérdida de enzimas de una ruta biosintética que lleva a la pérdida de uno o más pigmentos	Presencia de un color diferente o ausencia de color
Fermentación de azúcares	Pérdida de enzimas de la ruta degradativa	Sin cambio de color en agar que contenga un azúcar y un indicador de pH
Resistencia a virus	Pérdida del receptor del virus	Crecimiento en presencia de gran cantidad de virus

10.2 Bases moleculares de la mutación

Las mutaciones pueden ser espontáneas o inducidas. Las **mutaciones inducidas** son las que se deben a agentes ambientales y comprenden las mutaciones provocadas deliberadamente por los humanos. Pueden ser consecuencia de la exposición a la radiación natural (los rayos cósmicos, etc.) que altera la estructura de las bases en el DNA. Además, una variedad de agentes químicos, entre ellos los radicales de oxígeno (↻ Sección 5.16) pueden modificar químicamente el DNA. Por ejemplo, los radicales de oxígeno pueden convertir la guanina en 8-hidroxiguanina, lo que causa mutaciones. Por otra parte, las **mutaciones espontáneas** son las que ocurren sin intervención externa. La mayor parte de las mutaciones espontáneas se produce por errores ocasionales en el apareamiento de las bases por la DNA polimerasa durante la replicación del DNA.

Las mutaciones que solo cambian un par de bases se llaman **mutaciones puntuales**, y están causadas por sustituciones en el DNA o por la pérdida o la ganancia de un solo par de bases. La mayoría de las mutaciones puntuales realmente no causan ningún cambio fenotípico, como comentaremos después. Sin embargo, como sucede con todas las mutaciones, el cambio fenotípico provocado por una mutación puntual depende de dónde se produce exactamente la mutación en el gen y qué nucleótido se modifica.

Sustituciones de pares de bases

Si una mutación puntual se produce en la región de un gen que codifica un polipéptido, cualquier cambio en el fenotipo de la célula se debe, muy probablemente, al cambio en la secuencia de aminoácidos del polipéptido. El error en el DNA es transcrito al mRNA, y el mRNA erróneo, a su vez, se traduce para dar un polipéptido. En la Figura 10.3 se muestran las consecuencias de varias sustituciones de pares de bases.

Para interpretar los resultados de una mutación, debemos recordar primero que el código genético es degenerado (↻ Sección 4.11 y Tabla 4.5). A causa de esta degeneración, no todas las mutaciones de la secuencia de bases que codifica un polipéptido cambiarán dicho polipéptido. Esto se puede ver en la Figura 10.3, que muestra varios resultados posibles cuando

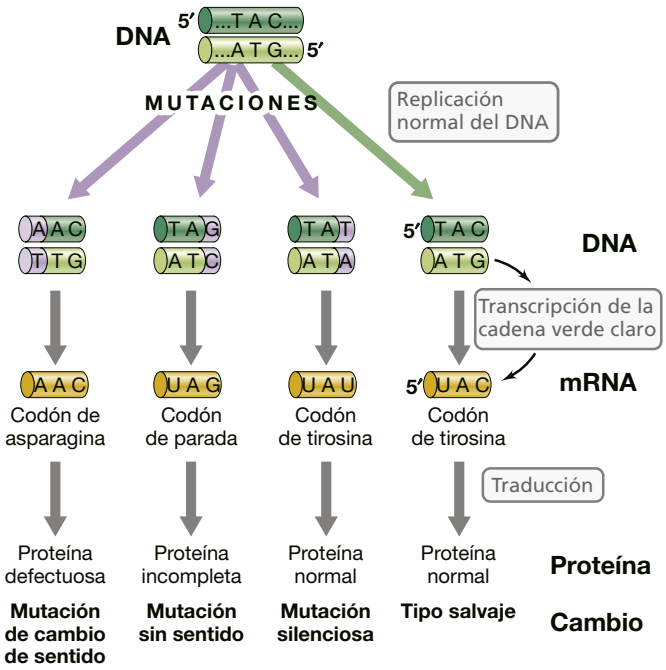


Figura 10.3 Posibles efectos de la sustitución de pares de bases en un gen que codifica una proteína. Hay tres productos diferentes posibles a partir de los cambios en un solo codón del DNA.

muta el DNA que codifica un solo codón de la tirosina en un polipéptido. En primer lugar, un cambio en el RNA de UA*C* a UA*U* no tendría ningún efecto aparente, porque UAU también es un codón de la tirosina. Aunque no afecten a la secuencia del polipéptido codificado, estos cambios en el DNA se consideran un tipo de **mutación silenciosa**; es decir, un tipo de mutación que no afecta al fenotipo de la célula. Obsérvese que las mutaciones silenciosas en las regiones codificantes casi siempre se encuentran en la tercera base del codón (la arginina y la leucina también pueden tener mutaciones silenciosas en la primera posición).

Los cambios en la primera o la segunda base del codón conducen con más frecuencia a cambios significativos en la secuencia de aminoácidos del polipéptido. Por ejemplo, el cambio en una sola base, de *U*AC a *A*AC (Figura 10.3) provoca el cambio de un aminoácido en el polipéptido: de tirosina a asparagina en un sitio específico. Esto se denomina **mutación de cambio de sentido**, porque ha cambiado el «sentido» informativo (la secuencia precisa de aminoácidos) en el polipéptido. Si el cambio se produce en una ubicación crítica en la cadena del polipéptido, la proteína podría ser inactiva o tener una actividad reducida. No obstante, no todas las mutaciones de cambio de sentido conducen necesariamente a proteínas no funcionales. El resultado depende de dónde se produce la sustitución en la cadena del polipéptido y cómo afecta este cambio al plegamiento y a la actividad de la proteína. Por ejemplo, las mutaciones en el centro activo de una enzima es más probable que destruyan su actividad que las mutaciones en otras regiones de la proteína.

Otro resultado posible de la sustitución de un par de bases es la formación de un codón sin sentido (de parada), que provoca la terminación prematura de la traducción y, por tanto, la síntesis de un polipéptido incompleto (Figura 10.3). Las mutaciones de este tipo reciben el nombre de **mutaciones sin sentido**, porque el cambio es de un codón para un aminoácido (codón con sentido) a un codón de parada (sin sentido) (↔ Tabla 4.5). A menos que la mutación sin sentido esté muy cerca del final del gen, el producto se considerará *truncado* o incompleto. Las proteínas truncadas son completamente inactivas o, como mínimo, no pueden realizar su actividad normal.

En genética microbiana con frecuencia se emplean otros términos para describir el tipo de sustitución de base en una mutación puntual. Las **transiciones** son mutaciones en las que una purina (A o G) es sustituida por otra purina, o una pirimidina (C o T) es sustituida por otra pirimidina. Las **transversiones** son mutaciones puntuales en las que una purina se sustituye con una pirimidina o viceversa.

Desplazamiento del marco de lectura y otras inserciones o deleciones

Como el código genético se lee desde un extremo del ácido nucleico en bloques consecutivos de tres bases (los codones), cualquier deleción o inserción de un solo par de bases provoca un desplazamiento del marco de lectura. Estas **mutaciones de desplazamiento** (o **desfase**) **del marco de lectura** suelen tener graves consecuencias. Las inserciones o deleciones de una sola base alteran la secuencia primaria del polipéptido codificado, generalmente de una manera significativa (Figura 10.4). Estas microinserciones o microdeleciones pueden estar causadas por errores en la replicación. La inserción o deleción de dos pares de bases también causa un desplazamiento del marco de lectura; sin embargo, si se trata de tres pares de bases, se añade o se elimina un codón entero. Esto provoca la adición o deleción de un aminoácido en la secuencia del polipéptido. Aunque esto puede resultar perjudicial para la funcionalidad de la proteína, generalmente no es tan malo como el desplazamiento del marco de lectura, que altera toda la secuencia del polipéptido a partir del punto de la mutación.

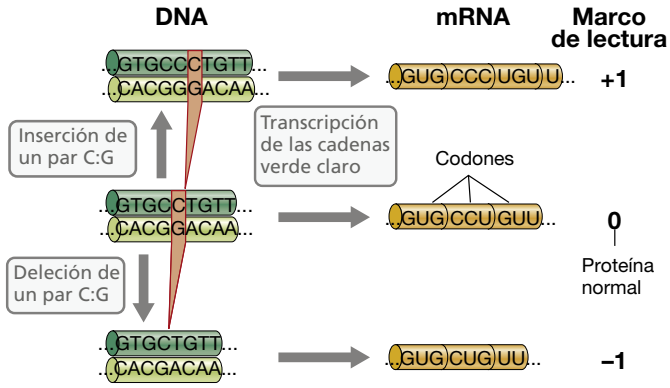


Figura 10.4 Desplazamientos en el marco de lectura del mRNA causados por inserciones o deleciones. El marco de lectura del mRNA es establecida por el ribosoma que empieza en el extremo 5′ (hacia la izquierda en la figura) y avanza por unidades de tres bases (codones). El marco de lectura normal está indicado como pauta 0, el que tiene una base menos se indica como −1, y el que tiene una base más es el marco +1.

Las inserciones y las deleciones también pueden ocasionar la ganancia o la pérdida de cientos o incluso miles de pares de bases. Estos cambios, inevitablemente, conllevan la pérdida completa de funcionalidad del gen. Algunas deleciones son tan grandes que pueden comprender varios genes y, si alguno de los genes eliminados es esencial, la mutación será letal. Estas deleciones no pueden restaurarse mediante mutaciones posteriores; tan solo mediante recombinación genética. Las grandes inserciones y deleciones pueden estar causadas por errores durante la recombinación genética. Además, muchas mutaciones por inserciones grandes se deben a la inserción de secuencias específicas de DNA que son identificables y se denominan *elementos transponibles* (Sección 10.11). El efecto de los elementos transponibles en la evolución de los genomas bacterianos se trató con más detalle en la Sección 6.12.

MINIRREVISIÓN

- ¿Las mutaciones de cambio de sentido se producen en los genes que codifican tRNA? ¿Por qué es así o por qué no?
- ¿Por qué una mutación de desplazamiento del marco de lectura tiene normalmente consecuencias más graves que una mutación de cambio de sentido?

10.3 Frecuencia de mutación y de reversión

La frecuencia con la que se producen los diferentes tipos de mutación varía mucho. Algunos tipos de mutación ocurren tan raramente que es casi imposible detectarlos, mientras que otros

son tan frecuentes que presentan dificultades para un investigador que trate de mantener un cultivo madre genéticamente estable. Algunas veces una segunda mutación puede revertir el efecto de la mutación inicial. Además, todos los organismos poseen sistemas de reparación del DNA; en consecuencia, la tasa de mutación observada depende no solo de la frecuencia de los cambios en el DNA, sino también de la eficacia de la reparación.

Reversiones (Retromutaciones)

Las mutaciones puntuales son normalmente reversibles, mediante un proceso conocido como **reversión**. Un revertiente es una cepa en la que se restablece el fenotipo original que había cambiado en el mutante por una segunda mutación. Los revertientes pueden ser de dos tipos: de un mismo sitio o de segundo sitio. En los *revertientes de un mismo sitio*, la mutación que restaura la actividad se produce en el mismo sitio que la mutación original. Si la retromutación, además de ser en el mismo sitio, restablece la secuencia original, la cepa se denomina *revertiente verdadero*.

En los *revertientes de segundo sitio*, la mutación se produce en un sitio diferente en el DNA. Estas mutaciones pueden restaurar un fenotipo salvaje si funcionan como *mutaciones supresoras*, es decir, son mutaciones que compensan el efecto de la mutación original. Se conocen varios tipos de mutaciones supresoras: (1) una mutación en algún otro lugar del mismo gen que restaura la función de la enzima, como por ejemplo una segunda mutación de desplazamiento del marco de lectura cerca de la primera que restaure el marco de lectura original; (2) una mutación en otro gen que restablezca la función original del gen mutado; (3) una mutación en otro gen cuyo resultado sea la producción de una enzima que pueda sustituir la enzima mutada.

Un tipo interesante de mutaciones supresoras son las que causan cambios en la secuencia de bases de los tRNA. Las mutaciones sin sentido pueden suprimirse por modificación de la secuencia del anticodón de una molécula de un tRNA, de modo que reconozca un codón de parada (**Figura 10.5**). El tRNA así modificado se conoce como *tRNA supresor*, e introducirá el aminoácido que transporta en el codón de parada, que ahora puede leer. Las mutaciones de tRNA supresor serán letales a menos que la célula disponga de más de un tRNA para un codón en particular. En ese caso, aunque un tRNA mute a un supresor, el otro realiza la función original. La mayoría de las células tienen múltiples tRNA, de manera que las mutaciones supresoras por tRNA son relativamente habituales, al menos en los microorganismos. En ocasiones, el aminoácido insertado por el tRNA supresor es idéntico al aminoácido original, y la proteína se restaura completamente. En otros casos, se inserta un aminoácido diferente y se puede producir una proteína parcialmente activa.

La prueba de Ames

La *prueba de Ames* (llamada así por el bioquímico Bruce Ames, que desarrolló esta prueba) hace un uso práctico de la detección de revertientes en grandes poblaciones de bacterias mutantes para evaluar la mutagenicidad de sustancias químicas potencialmente dañinas. El método estándar para analizar sustancias químicas como posibles mutágenos en la prueba de Ames es buscar un aumento en la tasa de retromutación (reversión) en

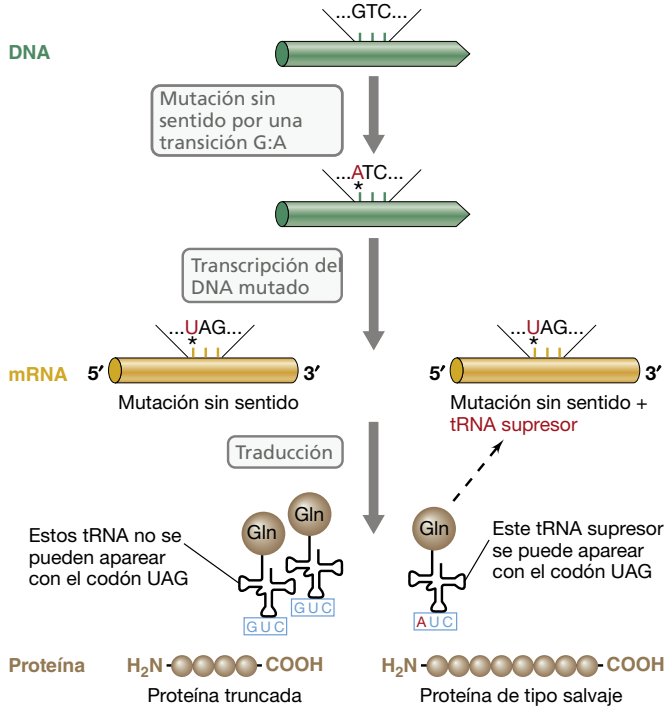


Figura 10.5 Supresión de mutaciones sin sentido. La introducción de una mutación sin sentido en un gen que codifica una proteína causa la incorporación de un codón de parada (indicado por *) en el mRNA correspondiente. Esta única mutación, que lleva a la producción de un polipéptido truncado, se suprime si se produce una segunda mutación en el anticodón del tRNA, un tRNA cargado con glutamina en este ejemplo, la cual permite al tRNA mutado o tRNA supresor unirse al codón sin sentido.

las cepas auxótrofas de las bacterias (**Figura 10.6**). Esta prueba evalúa retromutaciones en lugar de mutaciones directas (la generación de cepas auxótrofas a partir de la cepa salvaje) porque los revertientes son más fáciles de seleccionar.

Es importante que la cepa auxótrofa empleada en el test de Ames contenga una mutación puntual, para que la tasa de

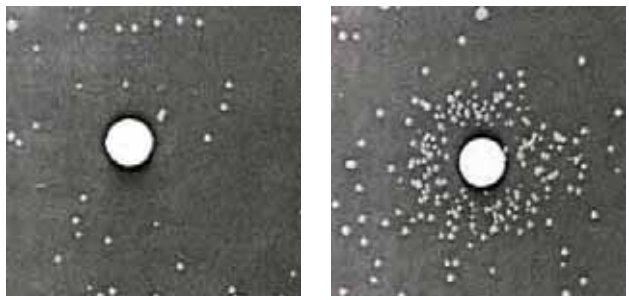


Figura 10.6 La prueba de Ames para evaluar la mutagenicidad de una sustancia química. Se inocularon dos placas con un cultivo de un mutante de *Salmonella enterica* auxótrofo para la histidina. El medio no contiene histidina, de modo que solo las células que revierten al tipo salvaje pueden crecer. Aparecen revertientes espontáneos en las dos placas, pero el compuesto químico del disco de papel de filtro en la placa de la prueba (derecha) ha causado un aumento en la frecuencia de mutación, como se observa por el gran número de colonias que lo rodean. No se ven revertientes muy cerca del disco porque la alta concentración de mutágeno allí es letal. La placa de la izquierda es el control negativo; solo se añadió agua al disco de papel de filtro.

reversión en dicha cepa sea cuantificable. Las células de este auxótrofo no crecerán en un medio que carezca del nutriente necesario (por ejemplo, un aminoácido), e incluso se pueden sembrar en placas grandes cantidades de células sin formación de colonias visibles. Sin embargo, si hay revertientes (retromutantes), estas células formarán colonias. Así, si se extiende una suspensión de 10^8 células en la superficie de una sola placa, es posible detectar cantidades tan pequeñas como 10 o 20 revertientes por las 10 o 20 colonias que forman (Figura 10.6, foto izquierda). Por otra parte, si la tasa de reversión ha *aumentado* por la presencia de un mutágeno químico, el número de colonias revertientes será aún mayor. Tras una noche de incubación, se puede detectar la mutagénesis del compuesto buscando un halo de retromutaciones en la zona alrededor del disco de papel (Figura 10.6).

Se han sometido una gran variedad de sustancias químicas a la prueba de Ames, que se ha convertido en uno de los métodos de cribado más útiles para determinar la mutagenicidad potencial de un compuesto. Como algunos mutágenos pueden causar cáncer en animales, la prueba de Ames sirve también como medio de detección de agentes carcinógenos potenciales.

Tasas de mutación

Para la mayoría de los microorganismos, los errores en la replicación del DNA se producen a una frecuencia de entre 10^{-6} y 10^{-7} por miles de bases durante un solo ciclo de replicación. Un gen típico tiene unos 1.000 pares de bases, de modo que la frecuencia de una mutación *en un gen determinado* será también de entre 10^{-6} y 10^{-7} por ciclo de replicación. Por ejemplo, en un cultivo bacteriano con 10^8 células/ml, es probable que haya diferentes mutantes para cada gen en cada mililitro de cultivo. En los eucariotas con genomas muy grandes la frecuencia de error en la replicación suele ser unas diez veces menor que en las bacterias típicas, mientras en los virus de DNA, especialmente los que tienen genomas muy pequeños, la frecuencia de error puede ser entre 100 y 1.000 veces más alta que en los organismos celulares. En los virus de RNA la frecuencia de error es aún más alta debido a la falta de sistemas de corrección (↻ Sección 4.6) y de mecanismos de reparación del RNA.

Es mucho más probable que los errores de una sola base durante la replicación del DNA provoquen mutaciones de cambio de sentido que mutaciones sin sentido, porque la mayoría de las sustituciones de una sola base generan codones que codifican otros aminoácidos (↻ Tabla 4.5). El siguiente tipo más frecuente de cambio de codón causado por el cambio de una sola base provoca una mutación silenciosa. Esto es así porque la mayor parte de los codones alternativos para un aminoácido determinado difieren entre sí en una sola base en la tercera posición «silenciosa». Un codón determinado puede transformarse en cualquiera de otros 27 por la sustitución de una sola base y, como promedio, dos de estos cambios serán mutaciones silenciosas, uno será una mutación sin sentido y el resto serán mutaciones de cambio de sentido. También hay algunas secuencias de DNA, normalmente secuencias con repeticiones cortas, que son puntos sensibles a las mutaciones, porque la frecuencia de error de la DNA polimerasa es relativamente alta allí. La frecuencia de error en un punto sensible está influida por la secuencia de bases de su alrededor.

A menos que una mutación se pueda seleccionar, es difícil detectarla experimentalmente, y gran parte de las técnicas empleadas por los genetistas microbianos intentan aumentar la eficacia de la detección de mutaciones. Esto se puede hacer más fácilmente aumentando la cantidad de mutaciones. Como veremos en la próxima sección, es posible aumentar la frecuencia de mutación de manera significativa mediante tratamientos con agentes mutagénicos. Además, la frecuencia de mutación puede cambiar en determinadas situaciones, como por ejemplo cuando las células se someten a fuertes condiciones de estrés.

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué la prueba de Ames mide la frecuencia de retromutación en lugar de la frecuencia de mutación?
- ¿Qué tipo de mutación es más habitual, la de cambio de sentido o la sin sentido? ¿Por qué?

10.4 Mutagénesis

La frecuencia de mutación espontánea es muy baja, pero hay una variedad de agentes químicos, físicos y biológicos que pueden aumentarla y por tanto, se dice que inducen mutaciones. Estos agentes reciben el nombre de **mutágenos**. A continuación analizaremos algunas de las categorías principales de mutágenos y sus actividades.

Mutágenos químicos

En la Tabla 10.2 se da una visión general de los principales mutágenos químicos y su modo de acción. Existen varias clases de mutágenos químicos. Una clase la constituyen los *análogos de bases de nucleótidos*, moléculas que se parecen a las bases púricas y pirimidínicas del DNA en cuanto a su estructura, pero presentan propiedades de apareamiento defectuosas (Figura 10.7).

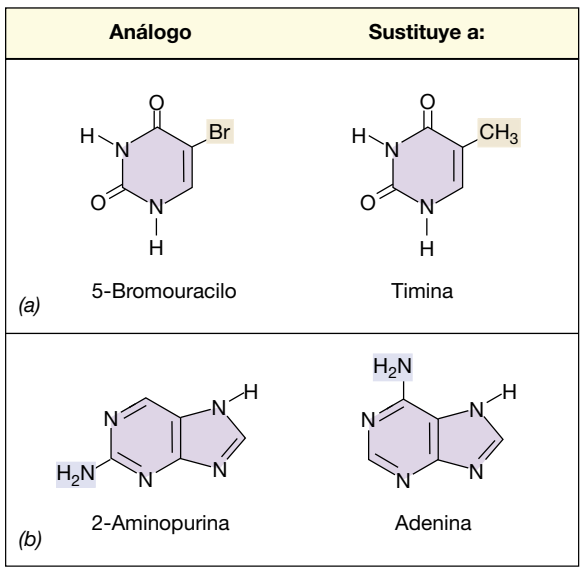


Figura 10.7 Análogos de bases nucleotídicas. Estructura de dos análogos de bases nucleotídicas utilizados habitualmente para inducir mutaciones, y las bases normales a las que sustituyen en los ácidos nucleicos. *(a)* El 5-bromouracilo puede aparearse con guanina y causar sustituciones AT por GC. *(b)* La 2-aminopurina puede aparearse con citosina y causar sustituciones AT por GC.

Tabla 10.2 Mutágenos químicos y físicos y sus modos de acción

Agente	*Acción*	*Resultado*
Análogos de base		
5-Bromouracilo	Incorporado como T; error ocasional en el apareamiento con G	AT → GC y en ocasiones GC → AT
2-Aminopurina	Incorporado como A; error en el apareamiento con C	AT → GC y en ocasiones GC → AT
Sustancias químicas que reaccionan con el DNA		
Ácido nitroso (HNO_2)	Desamina A y C	AT → GC y GC → AT
Hidroxilamina (NH_2OH)	Reacciona con C	GC → AT
Agentes alquilantes		
Monofuncionales (por ejemplo, sulfonato de etilmetano)	Añade un grupo metilo a G; error en el apareamiento con T	GC → AT
Bifuncionales (por ejemplo, mitomicina, mostazas de nitrógeno, nitrosoguanidina)	Entrecruza las cadenas de DNA; cortes por DNasa en la región defectuosa	Mutaciones puntuales y deleciones
Agentes intercalantes		
Acridinas, bromuro de etidio	Se insertan entre dos pares de bases	Microinserciones y microdeleciones
Radiaciones		
Ultravioleta	Formación de dímeros de pirimidina	La reparación puede causar errores o deleciones
Radiación ionizante (por ejemplo, rayos-X)	Ataque de radicales libres al DNA, con ruptura de la cadena	La reparación puede causar errores o deleciones

Si uno de estos análogos de bases se incorpora al DNA en lugar de la base natural, el DNA se puede replicar normalmente la mayor parte del tiempo. Sin embargo, en este sitio se producirán errores de replicación del DNA con mayor frecuencia, a causa del apareamiento incorrecto de las bases. La consecuencia es la incorporación de una base errónea en la nueva cadena del DNA y, por tanto, la introducción de una mutación. Durante la correspondiente segregación de esta cadena en la división celular, se pondrá de manifiesto la mutación.

Otros mutágenos químicos inducen *modificaciones químicas* en una u otra base, y provocan errores en el apareamiento o cambios relacionados (Tabla 10.2). Por ejemplo, los agentes alquilantes (sustancias químicas que reaccionan con los grupos amino, carboxilo e hidroxilo en las proteínas y los ácidos nucleicos y los sustituyen por grupos alquilo) como la nitrosoguanidina, son poderosos mutágenos y generalmente inducen mutaciones a frecuencias más altas que los análogos de bases. A diferencia de los análogos de bases, que ejercen su efecto solo cuando se incorporan durante la replicación del DNA, los agentes alquilantes pueden introducir cambios incluso en DNA que no se está replicando. Tanto los análogos de bases como los agentes alquilantes suelen inducir sustituciones de pares de bases (Sección 10.2).

Otro grupo de mutágenos químicos, las acridinas, son moléculas planas que funcionan como *agentes intercalantes*. Estos mutágenos se insertan entre dos pares de bases de DNA y las separan. Durante la replicación, esta conformación anómala puede provocar inserciones o deleciones en la región del DNA que tiene la acridina insertada. Así, normalmente las acridinas inducen mutaciones de desplazamiento del marco de lectura (Sección 10.2). El bromuro de etidio, que se usa normalmente para detectar el DNA en la electroforesis en gel, también es un agente intercalante y, por tanto, un mutágeno.

Radiación

Hay varias formas de radiación que son muy mutágenas. Podemos dividir las radiaciones electromagnéticas mutágenas en dos categorías principales, las *no ionizantes* y las *ionizantes* (**Figura 10.8**). Aunque ambas clases de radiación se utilizan para generar mutaciones, las radiaciones no ionizantes como la ultravioleta (UV) se usa mucho más.

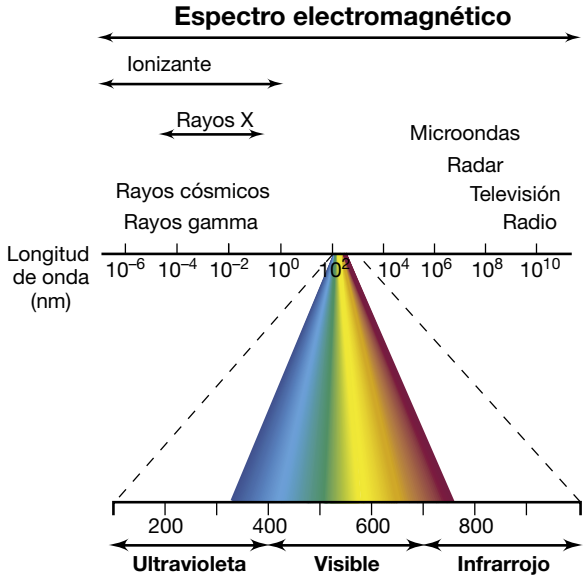


Figura 10.8 Longitudes de onda de la radiación. La radiación ultravioleta está formada por longitudes de onda un poco más cortas que la luz visible. Para cualquier radiación electromagnética, cuanto más corta es su longitud de onda, mayor es su energía. El DNA absorbe fuertemente a 260 nm.

Las bases púricas y pirimidínicas de los ácidos nucleicos absorben fuertemente la radiación UV, y el máximo de absorción para el DNA y el RNA está en 260 nm. La muerte celular por radiación UV se debe principalmente, a su efecto sobre el DNA. Aunque se conocen varios efectos, uno bien estudiado es la producción de *dímeros de la pirimidina*, en los que dos bases adyacentes de pirimidina (citosina o timina) en la misma cadena de DNA se unen covalentemente entre sí. Esto impide en gran medida el paso de la DNA-polimerasa o aumenta mucho la probabilidad de que la DNA-polimerasa se equivoque al leer la secuencia en este punto.

Las radiaciones ionizantes son una forma más potente de radiación que la UV, y comprende los rayos de longitud de onda corta como los rayos X, los rayos cósmicos y los rayos gamma (Figura 10.8). Estos rayos causan la ionización del agua y otras sustancias, lo que provoca la formación de radicales libres, como el radical hidroxilo, OH · (↔ Sección 5.16). Los radicales libres reaccionan con las macromoléculas de la célula, incluido el DNA, y las dañan. Esto causa rupturas en el DNA, tanto bicatenario como monocatenario, que pueden producir reordenamientos o deleciones grandes. A dosis bajas de radiación ionizante solo se producen algunos «impactos» en el DNA, pero a dosis más altas, aumenta el número de «impactos» lo que provoca la fragmentación del ADN que a veces no puede ser reparada, y por tanto llevan a la muerte de la célula.

Reparación del DNA y el sistema SOS

Por definición, una mutación es un cambio *heredable* en el material genético. Por tanto, si el DNA dañado se puede corregir antes de que la célula se divida, no se producirá ninguna mutación. La mayoría de las células disponen de varios mecanismos diferentes de reparación del DNA para corregir los errores o reparar el daño. Mientras que la mayoría de estos sistemas de reparación del DNA están prácticamente libres de errores, algunos son propensos a errores y el propio sistema de reparación introduce la mutación. Algunos tipos de daño en el DNA, especialmente el daño a gran escala causado por productos químicos muy mutágenos o por grandes dosis de radiación, pueden interferir con la replicación. Si las lesiones causadas no pueden ser reparadas antes de que comience la replicación, esta se estancará y en el cromosoma se producirán roturas con efectos letales. El estancamiento de la replicación, así como algunos tipos de daño importante en el DNA activan el **sistema de reparación SOS**. Dicho sistema empieza una serie de procesos de reparación del DNA, alguno de ellos libres de errores. No obstante, en el sistema SOS, la reparación del DNA se puede realizar sin necesidad de cadena molde, es decir, con la incorporación aleatoria de dNTPs. Como es de esperar, esto ocasiona muchos errores y, por tanto, muchas mutaciones. Sin embargo, estas mutaciones pueden ser menos perjudiciales para la vida de la célula que rupturas en el cromosoma, ya que las mutaciones normalmente pueden ser corregidas mientras que las rupturas no.

El sistema SOS de reparación de *Escherichia coli* regula la transcripción de aproximadamente 40 genes localizados por todo el cromosoma que participan en la reparación del DNA y la tolerancia a daños causados en el DNA. En la tolerancia a los daños del DNA, las lesiones en el DNA no desaparecen, pero estas son soslayadas por una DNA polimerasa especializada que puede desplazarse por encima del DNA dañado —un proceso conocido como síntesis por translesión—. Incluso cuando no hay una cadena molde disponible que permita la inserción de las bases correctas, es menos dañino para la célula rellenar estos huecos que permitir dejar que esten allí. Como consecuencia, la síntesis por translesión causa muchos errores. En *E. coli*, donde el proceso de mutagénesis ha sido muy detalladamente, las dos polimerasas reparadoras propensas a cometer errores son: la DNA polimerasa V, una enzima codificada por los genes *umuCD* (**Figura 10.9**), y la DNA polimerasa IV, codificada por *dinB*. Ambas son inducidas como parte del sistema de reparación SOS.

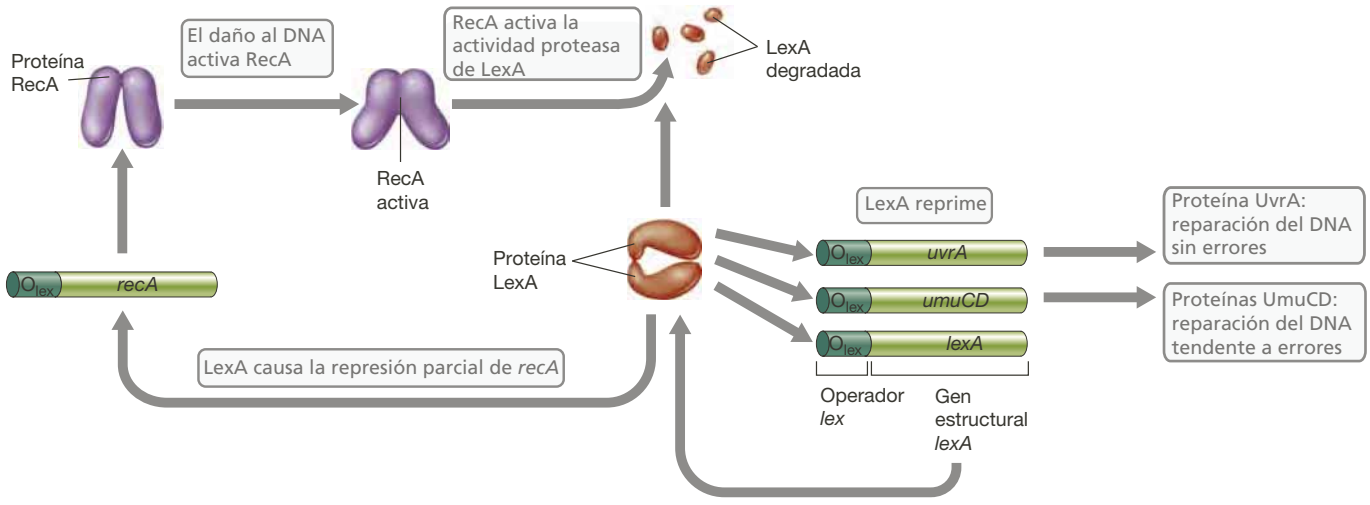


Figura 10.9 **Mecanismo de la respuesta SOS**. El daño en el DNA activa la proteína RecA que, a su vez, activa la actividad proteasa de LexA. Entonces la proteína LexA se corta a sí misma. Normalmente, la proteína LexA reprime la actividad del gen *recA* y de los genes de reparación del DNA *uvrA* y *umuCD* (las proteínas UmuCD forman parte de la DNA-polimerasa V). Sin embargo, la represión no es completa. Se produce un poco de proteína RecA incluso en presencia de la proteína LexA. Con LexA inactivada, estos genes se hacen muy activos.

El sistema SOS está regulado por dos proteínas, LexA y RecA. LexA es una proteína represora que normalmente impide la expresión del sistema SOS. La proteína RecA, que normalmente actúa en la recombinación genética (Sección 10.5), se activa por la presencia de daño en el DNA, en particular por el DNA monocatenario que se forma debido al estancamiento de la replicación (Figura 10.9). La forma activada de RecA estimula la autoinactivación de LexA por autoescisión. Esto conduce a la desrepresión del sistema SOS y causa la expresión coordinada de una serie de proteínas que participan en la reparación del DNA. Como algunos de los mecanismos de reparación del DNA del sistema SOS son inherentemente propensos a cometer errores, pueden producirse muchas mutaciones. Una vez que se ha reparado el daño original en el DNA, el regulón SOS es reprimido y cesa la mutagénesis.

Cambios en la frecuencia de mutación y sus consecuencias evolutivas

La alta fidelidad (o baja frecuencia de error) en la replicación del DNA es esencial para que los organismos permanezcan estables genéticamente. Por otra parte, la fidelidad perfecta es contraproducente, porque impediría la evolución. Dado que organismos tan separados filogenéticamente como *Archaea* y *Bacteria* tienen aproximadamente la misma frecuencia de mutación, podríamos pensar que la presión evolutiva ha seleccionado los organismos con la fecuencia más baja posible de mutación. Sin embargo, esto no es así. Por ejemplo, en el laboratorio se han seleccionado mutantes de algunos organismos que son extremadamente precisos en la replicación y reparación de su DNA. No obstante, como consecuencia de estos mecanismos mejorados de corrección de errores y reparación, estas cepas crecen más lentamente; por tanto los mutantes extremadamente precisos en realidad podrían estar en desventaja en su ambiente natural.

A diferencia de la precisión extrema, algunos organismos en realidad se benefician de un aumento de la frecuencia de mutación. Los sistemas de reparación de DNA también están codificados genéticamente y, por tanto, sujetos a mutación. Por ejemplo, la subunidad proteínica de la DNA polimerasa III necesaria para la corrección de errores (↻ Sección 4.6) está codificada por el gen *dnaQ*. Determinadas mutaciones en *dnaQ* generan mutantes que siguen siendo viables pero tienen una frecuencia de mutación aumentada. Se les conoce como hipermutables o **cepas mutadoras**. También se conocen mutaciones que conducen a un fenotipo mutador en otros sistemas de reparación de DNA. Aparentemente, el fenotipo mutador es seleccionado en entornos complejos y cambiantes, porque las cepas de las bacterias con fenotipos mutadores parecen ser más abundantes en estas condiciones. Es probable que cualquier desventaja que pueda tener un aumento en la frecuencia de mutación en estos ambientes sea contrarrestada por la capacidad de generar un mayor número de mutaciones útiles. Estas mutaciones, en última instancia, aumentan la adaptabilidad evolutiva de la población y hacen que el organismo tenga más éxito en su nicho ecológico.

Como ya hemos indicado anteriormente, en las cepas de tipo salvaje las situaciones de estrés pueden inducir un fenotipo mutador. Por ejemplo, el sistema de reparación SOS induce reparaciones con tendencia a errores. Por tanto, cuando se activa la respuesta SOS, la frecuencia de mutación aumenta. En algunos casos es simplemente una consecuencia colateral inevitable de la reparación del DNA, pero en otros casos, un aumento en la frecuencia de mutación puede ser, por sí mismo, de valor selectivo para el organismo por razones de supervivencia.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cómo actúan los mutágenos?
- ¿Por qué un fenotipo mutador podría tener éxito en un ambiente en continuo cambio?
- ¿Qué significa reparación del DNA «con tendencia a cometer errores»?

II • Transferencia genética en *Bacteria*

Los análisis de genómica comparativa de microorganismos estrechamente relacionados que presentan fenotipos diferentes han mostrado claras diferencias en los genomas. Con frecuencia estas diferencias distintivas son el resultado de la *transferencia horizontal de genes*, el desplazamiento de genes entre células que no descienden directamente unas de otras (↻ Sección 6.12). La transferencia horizontal de genes permite a las células adquirir rápidamente características nuevas y promueve la diversidad metabólica.

En los procariotas se conocen tres mecanismos de intercambio genético: 1) *transformación*, mediante la cual el DNA libre procedente de una célula es captado por otra (Sección 10.6); 2) *transducción*, mediante la cual la transferencia de DNA es mediada por un virus (Sección 10.7); y 3) *conjugación*, mecanismo en el que para la transferencia de DNA es necesario el contacto entre células y la presencia de un plásmido conjugativo en la célula donadora (Secciones 10.8 y 10.9). En la **Figura 10.10** se comparan estos procesos, y se puede apreciar que la transferencia del DNA normalmente ocurre solo en una dirección, de la célula donadora a la receptora.

Antes de analizar los mecanismos de transferencia, debemos tener en cuenta el destino del DNA transferido. Tanto si se transfiere por transformación como por transducción o conjugación, el DNA introducido en la célula por transferencia génica horizontal tiene tres destinos posibles: (1) puede ser degradado por enzimas de restricción; (2) puede autorreplicarse (pero solo si posee su propio origen de replicación como un plásmido o el genoma de un fago), o (3) puede recombinarse con el cromosoma del hospedador.

10.5 Recombinación genética

La **recombinación** es el intercambio físico de DNA entre *elementos genéticos* (estructuras que portan la información genética). En esta sección nos centraremos en la recombinación *homóloga*, un proceso cuya consecuencia es el intercambio

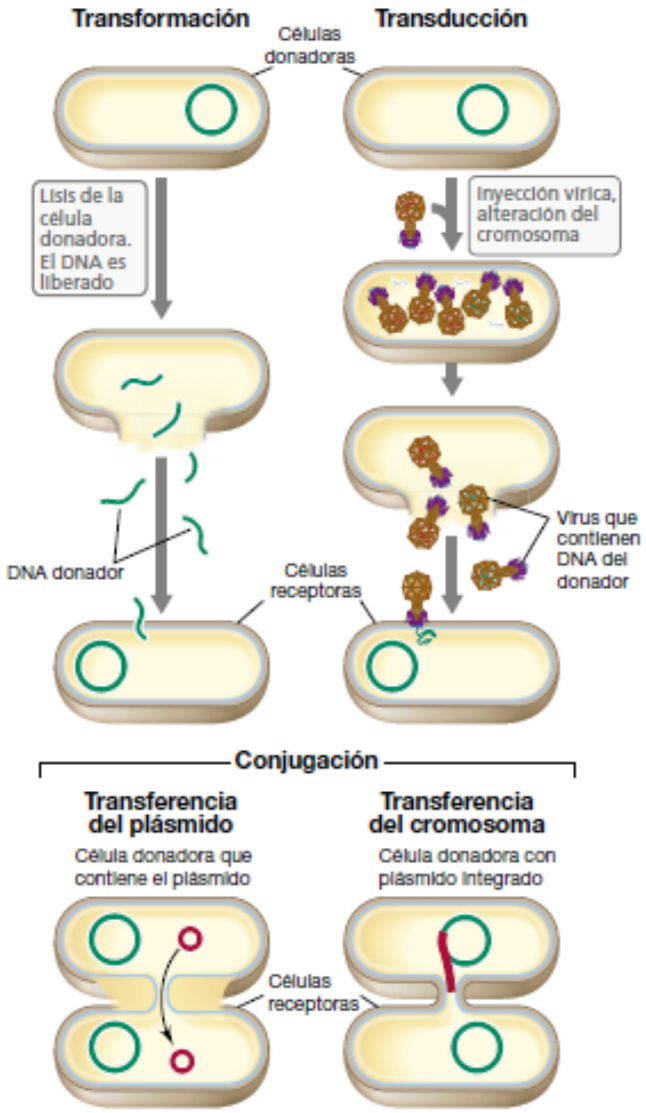


Figura 10.10 Procesos de transferencia de DNA de una célula bacteriana donadora a una receptora. Se muestran únicamente los pasos iniciales de la transferencia.

genético entre secuencias homólogas de DNA de dos orígenes diferentes. Secuencias homólogas de DNA son aquellas que tiene casi la misma secuencia; por tanto, las bases se pueden aparear a lo largo de gran parte de las dos moléculas de DNA. Este tipo de recombinación induce el proceso denominado «entrecruzamiento» en la genética clásica.

Mecanismo molecular de la recombinación homóloga

La proteína RecA, previamente mencionada en relación al sistema de reparación SOS (Sección 10.4 y Figura 10.9), es la clave de la recombinación homóloga. RecA es esencial en casi todo el proceso de recombinación homóloga. Se han encontrado proteínas de tipo RecA en todas las bacterias examinadas, así como en *Archaea* y en la mayoría de los eucariotas.

En la Figura 10.11 se muestra un mecanismo molecular de recombinación homóloga entre dos moléculas de DNA. Una enzima llamada *endonucleasa* que corta el DNA en medio de una cadena, empieza el proceso haciendo una incisión en una cadena de la molécula de DNA donadora. Esta cadena cortada es separada de la otra cadena por proteínas con actividad helicasa (↻ Sección 4.5). El segmento monocatenario resultante une la proteína de unión a cadena sencilla (↻ Sección 4.5) y la proteína RecA. De esta unión se forma un complejo que facilita el apareamiento con la secuencia complementaria en la molécula de DNA receptora. Este apareamiento de bases a su vez desplaza la otra cadena en la molécula de DNA receptora (Figura 10.11) y este proceso se denomina, de manera apropiada, *invasión de cadena*.

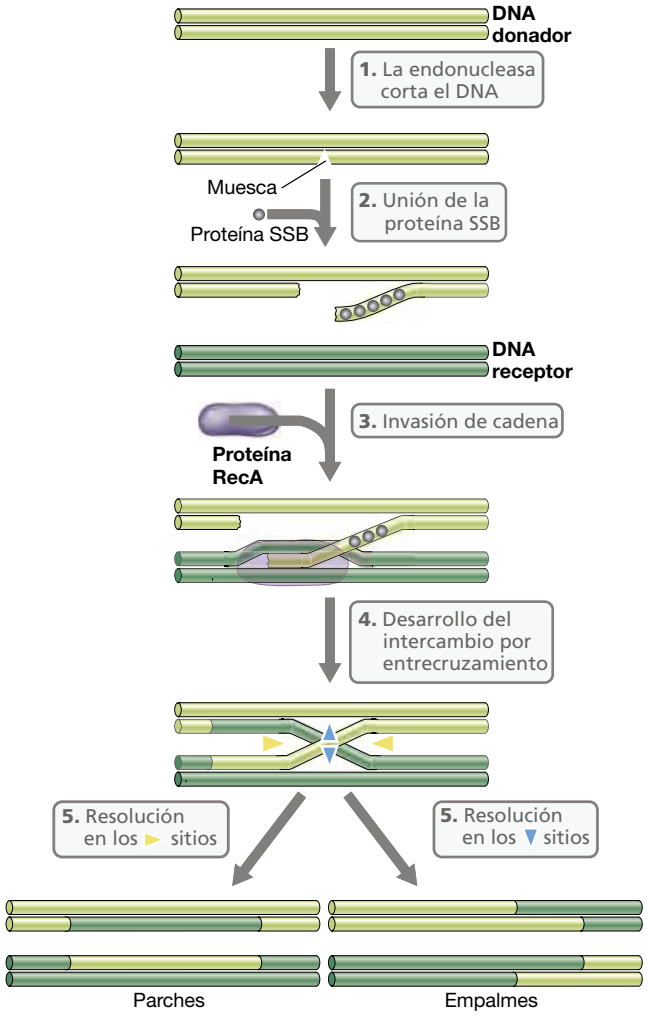


Figura 10.11 Versión simplificada de la recombinación homóloga. Las moléculas homólogas de DNA se aparean e intercambian segmentos de DNA. El mecanismo requiere la ruptura y reunión de segmentos apareados. Se muestran solo dos de las proteínas que intervienen, la proteína de unión a cadena sencilla (SSB) y la proteína RecA. El esquema no está a escala: el apareamiento puede ocurrir a lo largo de cientos o miles de bases. La resolución se produce mediante el corte y la unión de nuevo de las moléculas de DNA entrecruzadas. Obsérvese que hay dos resultados posibles, los parches y los empalmes, según dónde se corten las cadenas durante el proceso de resolución.

El apareamiento de bases de una cadena de cualquiera de las dos moléculas de DNA a lo largo de tramos largos lleva a la formación de intermediarios de la recombinación que contienen grandes regiones **heterodúplex**, en las que cada cadena procede de un cromosoma diferente. Por último, las moléculas unidas se separan (resuelven) por la acción de las enzimas resolvasas, que cortan y vuelven a unir las cadenas intactas de las moléculas originales de DNA. Según la orientación de la unión durante la resolución, se forman dos tipos de productos, llamados «parches» o «empalmes», que difieren en la conformación de las regiones de heterodúplex que quedan tras la resolución (Figura 10.11).

Efectos de la recombinación homóloga en el genotipo

Para que la recombinación homóloga genere nuevos genotipos, es esencial que las dos secuencias homólogas estén relacionadas, pero sean genéticamente distintas. Este es, obviamente, el caso de las células eucariotas diploides, que tienen dos juegos de cromosomas, uno de cada progenitor. En los procariotas, las moléculas de DNA genéticamente distintas pero homólogas se juntan mediante métodos diferentes. La recombinación genética en los procariotas se produce tras la transferencia de fragmentos de DNA homólogo de un cromosoma donador a una célula receptora mediante transformación, transducción o conjugación. La recombinación homóloga se produce solo después de la transferencia, cuando el fragmento de DNA del donador está en la célula receptora. En los procariotas se transfiere solo un fragmento del cromosoma; por tanto, si la recombinación no se produce, el fragmento del DNA se perderá porque no puede replicarse de manera independiente. Así, en procariotas, la transferencia es solo el primer paso en la generación de organismos recombinantes.

Para detectar el intercambio físico de segmentos de DNA, las células resultantes de la recombinación deben ser diferentes de ambos progenitores en cuanto al fenotipo (**Figura 10.12**). Los cruzamientos genéticos en las bacterias normalmente, dependen de que se utilicen cepas receptoras que carezcan de algún carácter seleccionable que los recombinantes ganarán. Por ejemplo, el receptor puede ser incapaz de crecer en un medio concreto, y se seleccionarán los recombinantes genéticos que sí puedan crecer. En la Sección 10.1 se han tratado varios tipos de marcadores seleccionables, como la resistencia a fármacos y las necesidades nutricionales. La enorme sensibilidad del proceso de selección permite detectar incluso un número reducido de células recombinantes en una población grande de células no recombinantes. Por tanto, esta selección es una herramienta importante para los microbiólogos genetistas.

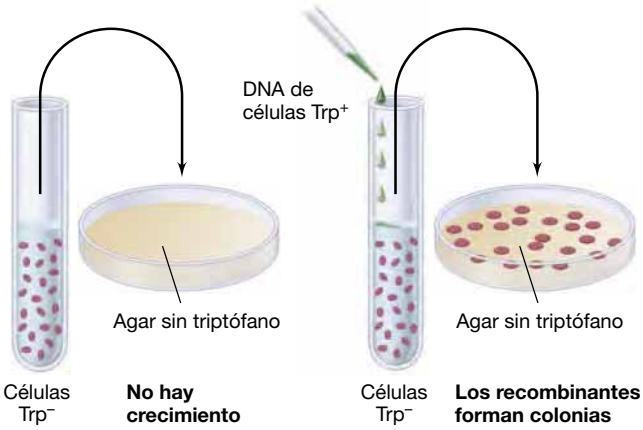


Figura 10.12 Uso de un medio selectivo para detectar recombinantes genéticos raros. En el medio selectivo, solo los recombinantes raros forman colonias aunque se haya sembrado una población muy grande de bacterias. Normalmente, procedimientos como este, que ofrecen una alta resolución para el análisis genético, solo pueden utilizarse con microorganismos. El tipo de intercambio genético que se ilustra es la transformación, pero un resultado similar podría obtenerse con cualquier otro tipo de transferencia horizontal de genes.

Complementación

En los tres métodos de transferencia bacteriana de genes, solo un fragmento del cromosoma donador entra en la célula receptora. Por tanto, a menos que la recombinación se produzca con el cromosoma receptor, el DNA del donador se perderá porque no puede replicarse independientemente en la célula receptora. Sin embargo, es posible mantener de manera estable un estado de diploidía parcial para su uso en los análisis de genética bacteriana. Una cepa bacteriana con dos copias de un segmento cromosómico concreto se conoce como diploide parcial o *merodiploide*. En general, una copia está presente en el propio cromosoma y la otra en otro elemento genético, como un plásmido o un bacteriófago.

Por consiguiente, si la copia cromosómica de un gen es defectiva a causa de una mutación, es posible proporcionar una copia funcional (de tipo salvaje) del gen en un plásmido o en un fago. Por ejemplo, si uno de los genes para la biosíntesis del aminoácido triptófano tiene una mutación que resulta en una enzima no funcional, se obtendrá un fenotipo Trp^-. Es decir, la cepa mutante será auxótrofa para el triptófano y necesitará este aminoácido para crecer. Sin embargo, si se inserta una copia del gen salvaje en la misma célula mediante un plásmido o un virus, este gen codificará la proteína necesaria y restablecerá el fenotipo salvaje. Este proceso se llama *complementación*, porque se dice que el gen salvaje complementa la mutación, en este caso convirtiendo la célula Trp^- en Trp^+ (Figura 10.12).

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué proteína que se encuentra en todos los procariotas facilita el apareamiento necesario para la recombinación homóloga?
- Explique qué ocurre en los procariotas con el DNA cromosómico transferido si no se produce la recombinación.
- ¿Qué es un merodiploide?

10.6 Transformación

La **transformación** es un proceso de transferencia genética por el cual se incorpora *DNA libre* en una célula receptora y se produce un cambio genético. Algunos procariotas son transformables de forma natural, y entre ellos se encuentran determinadas especies de bacterias grampositivas y gramnegativas y algunas especies de *Archaea* (Sección 10.10). Dado que en los procariotas el DNA está presente en la célula en forma de una sola molécula larga, cuando la célula se lisa poco a poco,

el DNA sale. Debido a su gran longitud (1.700 µm en *Bacillus subtilis*, por ejemplo), los cromosomas bacterianos se rompen con facilidad. Incluso tras una extracción lenta, el cromosoma de *B. subtilis*, de 4,2 Mbp, se convierte en fragmentos de unos 10 kbp cada uno. De promedio, el DNA que corresponde a un gen tiene unos 1.000 nucleótidos, de manera que cada uno de los fragmentos de DNA de *B. subtilis* contiene unos 10 genes, que es un tamaño transformable típico. Normalmente, una célula individual incorpora solo uno o unos pocos fragmentos de DNA, de modo que solo una pequeña proporción de los genes de una célula se pueden transferir a otra mediante un acto individual de transformación.

La competencia en la transformación

Una célula que puede aceptar DNA y ser transformada se dice que es *competente*, y esta capacidad está determinada genéticamente. La competencia en la mayoría de las bacterias transformables naturalmente está regulada, y algunas proteínas especiales intervienen en la captación y el procesamiento del DNA. Estas proteínas específicas de competencia comprenden una proteína de unión al DNA asociada a la membrana, una autolisina de la pared celular y varias nucleasas. Una vía de competencia natural en *B. subtilis* —una especie fácil de transformar— está regulada por la percepción de quórum, un sistema regulador que responde a la densidad celular (↻ Sección 7.9). Las células producen y excretan un pequeño péptido durante su crecimiento, y la acumulación de este péptido en altas concentraciones induce la competencia en las células. Pero no todas las células se vuelven competentes. En *Bacillus*, aproximadamente el 20 % de las células de un cultivo se vuelven competentes y permanecen así durante varias horas. Sin embargo, en *Streptococcus*, pueden volverse competentes el 100 % de las células, pero solo por un breve período durante el ciclo de crecimiento.

La transformación natural de alta eficiencia es rara entre las bacterias. Por ejemplo, *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Haemophilus*, *Neisseria* y *Thermus* son competentes de forma natural y se transforman fácilmente. Por el contrario, muchos procariotas se transforman muy poco o nada en condiciones naturales. Por ejemplo, *Escherichia coli* y otras muchas otras bacterias gramnegativas entran dentro de esta categoría. Sin embargo, si las células de *E. coli* se tratan con concentraciones elevadas de iones calcio y después se enfrían durante varios minutos, se vuelven competentes. Las células tratadas de este modo captan DNA de doble cadena, de modo que la transformación de este organismo por DNA plasmídico es relativamente eficaz. Esto es importante, porque *E. coli* es el caballo de batalla de la ingeniería genética y poder introducir DNA en esta bacteria resulta fundamental para la biotecnología, como veremos en el Capítulo 11.

La *electroporación* es una técnica física que se utiliza para introducir DNA en organismos difíciles de transformar, especialmente aquellos que tienen paredes celulares gruesas. En la electroporación, las células se mezclan con DNA y después se exponen a breves pulsos eléctricos de alto voltaje. Esto hace permeable la envoltura celular y permite la entrada del DNA. La electroporación es un proceso rápido y funciona para la mayoría de las células, incluida *E. coli*, para la mayoría de las otras bacterias, para algunos miembros de *Archaea* e incluso para levaduras y determinadas células vegetales.

Captación de DNA en la transformación

Durante la transformación natural, las bacterias competentes unen el DNA de forma reversible. Sin embargo, muy pronto la unión se hace irreversible. Las células competentes unen mucho más DNA que las no competentes, hasta unas mil veces más. Como se ha dicho anteriormente, los fragmentos transformantes son mucho más pequeños que el genoma completo, y se degradan aun más durante el proceso de captación. En *Streptococcus pneumoniae* cada célula puede unir solo unas diez moléculas de DNA bicatenario de entre 10 y 15 kbp cada una. No obstante, cuando estos fragmentos se introducen en la célula se convierten en trozos de cadena sencilla de unos 8 kb, y la cadena complementaria correspondiente es degradada. Los fragmentos de DNA de la mezcla compiten entre sí por la captación, y por tanto disminuye la probabilidad de que un transformante tome un DNA que le confiera una ventaja o que sea un marcador de selección.

Curiosamente, para la transformación en *Haemophilus influenzae*, el fragmento de DNA debe tener una secuencia concreta de 11 bp para que se produzca la unión irreversible y la captación. Esta secuencia se encuentra en el genoma de *Haemophilus* en una frecuencia inesperadamente alta. Pruebas como esta, y el hecho de que algunas bacterias se vuelvan competentes en su ambiente natural, sugiere que la transformación no es un artefacto de laboratorio, sino que desempeña un papel importante en la transferencia horizontal de genes en la naturaleza. Al inducir nuevas combinaciones de genes, las bacterias naturalmente transformables aumentan la diversidad y la adaptación de la comunidad microbiana en conjunto.

Integración del DNA transformante

Durante la transformación, el DNA transformante se une a la superficie celular mediante una proteína de unión a DNA (**Figura 10.13**). A continuación, según el organismo, o bien se introduce el fragmento bicatenario completo o bien una nucleasa degrada una cadena, y se introduce la cadena que queda. Tras la captación, el DNA se une a una proteína específica de competencia, que protege el DNA del ataque de las nucleasas hasta que alcanza el cromosoma, donde la proteína RecA toma el control. El DNA se integra en el genoma del receptor por recombinación (Figuras 10.13 y 10.11). Si se integra DNA monocatenario, se forma un DNA heterodúplex. Durante el siguiente ciclo de replicación del cromosoma se genera una molécula de DNA progenitora y una de DNA recombinante. Durante la segregación, en la división celular, la molécula recombinante está presente en la célula transformada, que ahora está alterada genéticamente respecto de su progenitora. Todo esto solo se aplica a fragmentos pequeños de DNA lineal. Muchas bacterias transformables naturalmente se transforman muy poco con DNA plasmídico porque, para poder replicarse, el plásmido debe mantenerse bicatenario y circular.

MINIRREVISIÓN

- Durante la transformación una célula normalmente incorpora solo uno o pocos fragmentos de DNA. Explique la razón.
- Incluso en las células transformables naturalmente, la competencia es normalmente inducible. ¿Qué significa esto?

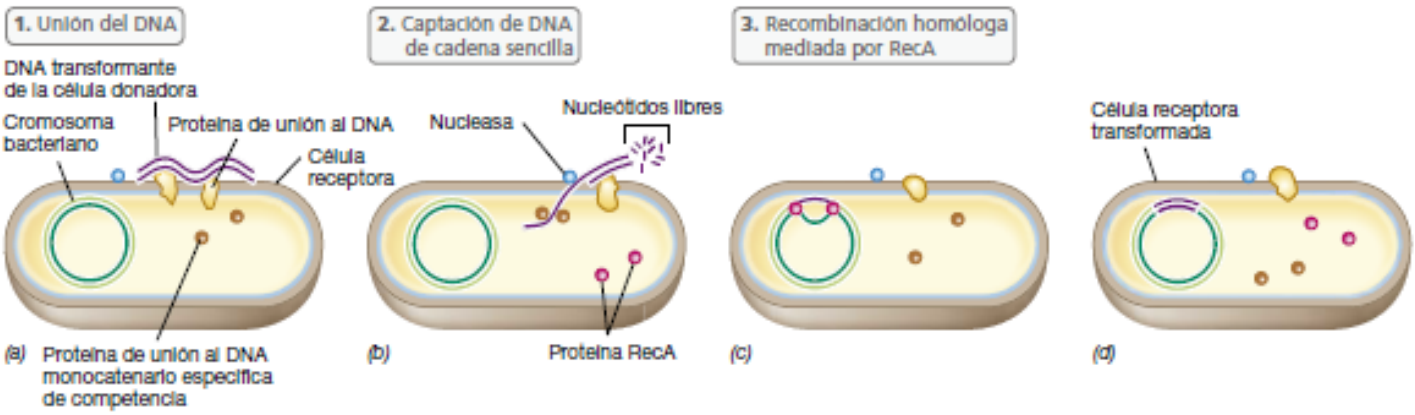


Figura 10.13 **Mecanismo de transformación de una bacteria grampositiva.** *(a)* Unión del DNA bicatenario por una proteína de unión al DNA asociada a membrana. *(b)* Entrada de una de las dos cadenas a la célula y degradación de la otra cadena por una nucleasa. *(c)* La cadena sencilla se une a proteínas específicas y la recombinación con regiones homólogas del cromosoma bacteriano es mediada por la proteína RecA. *(d)* Célula transformada.

10.7 Transducción

En la **transducción**, un virus bacteriano (un bacteriófago) transfiere el DNA de una célula a otra. Los virus pueden transferir los genes del hospedador de dos maneras. En la primera, llamada *transducción generalizada*, el DNA derivado de prácticamente cualquier fragmento del genoma del hospedador es empaquetado en el interior del virión maduro en lugar del genoma vírico. En la segunda, llamada *transducción especializada*, el DNA de una región específica del cromosoma del hospedador se integra directamente en el genoma del virus, normalmente reemplazando alguno de los genes víricos. Esto solo ocurre con algunos virus atemperados como el fago lambda (↻ Sección 8.8).

En la transducción generalizada, los genes donadores no pueden replicarse independientemente y no forman parte de un genoma vírico. Por tanto, a menos que los genes donadores se recombinen con el cromosoma bacteriano receptor, se perderán. En la transducción especializada también se puede producir recombinación homóloga. No obstante, como el DNA bacteriano del donador en realidad forma parte del genoma de un fago atemperado, se puede integrar en el cromosoma del hospedador durante la lisogenia (↻ Sección 8.8).

La transducción se produce en toda una serie de bacterias, que comprende los géneros *Desulfovibrio*, *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Rhodobacter*, *Salmonella*, *Staphylococcus* y *Xanthobacter*, así como en *Methanothermobacter thermoautotrophicus*, una especie de *Archaea*. No todos los fagos pueden transducir, ni todas las bacterias son transducibles, pero con una abundancia de bacteriófagos en la naturaleza que se estima superior en 10 veces al número de células procariotas, el fenómeno desempeña un papel importante en la transferencia de genes en el ambiente. Entre los genes transferidos por bacteriófagos transductores hay genes de resistencia múltiple a antibióticos entre cepas de *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, genes para la toxina tipo Shiga en *Escherichia coli*, factores de virulencia en *Vibrio cholerae*, y genes que codifican proteínas fotosintéticas en cianobacterias.

Mientras que la transducción desempeña un papel en la transferencia horizontal de DNA en la naturaleza, en genética microbiana se usan los dos mecanismo de transducción —generalizada y especializada— de los bacteriófagos para transferir DNA a células bacterianas diana. La transducción puede usarse para transferir DNA a cepas en las cuales la transformación y la conjugación no son eficaces. Los bacteriófagos pueden ser empleados también para transferir fragmentos grandes de DNA a células hospedadoras. Un fago con cola típico de DNA de cadena doble puede empaquetar hasta 40 kpb de DNA. Los bacteriófagos usados en el laboratorio para la transducción son principalmente de tipo no lítico porque los genes bacterianos han remplazado todos o algunos genes víricos necesarios. Para seleccionar proceso de transducción, un fago transductor debe infectar un hospedador donador que tenga un marcador de selección.

Transducción generalizada

En la transducción generalizada, prácticamente cualquier gen del cromosoma donador se puede transferir al receptor, y se genera un *transductante*. La transducción generalizada se descubrió y se ha estudiado extensivamente en la bacteria *Salmonella enterica* con el fago P22, y también se ha estudiado con el fago P1 en *Escherichia coli*. En la **Figura 10.14** se muestra un ejemplo de cómo se forman las partículas transductoras. Cuando una célula bacteriana es infectada por un fago, se puede producir el ciclo lítico. Sin embargo, durante la infección lítica, las enzimas que intervienen en el empaquetamiento del DNA vírico en el bacteriófago a veces empaquetan DNA del hospedador de forma accidental. El resultado recibe el nombre de *partícula transductora*. Como las partículas transductoras no pueden provocar una infección vírica porque no contienen DNA vírico, se dice que son *defectivas*. Durante la lisis de la célula, estas partículas son liberadas junto con los viriones normales que contienen el genoma del virus. Por consiguiente, el lisado contiene una mezcla de viriones normales y partículas transductoras.

Cuando este lisado se utiliza para infectar a una población de células receptoras, la mayoría de dichas células son infectadas por el virus normal. Sin embargo, una pequeña proporción de la población recibe las partículas transductoras, que inyectan el DNA que tienen empaquetado de la bacteria hospedadora previa. Aunque este DNA no puede replicarse, puede recombinarse (Sección 10.5) con el DNA del nuevo hospedador. Como solo

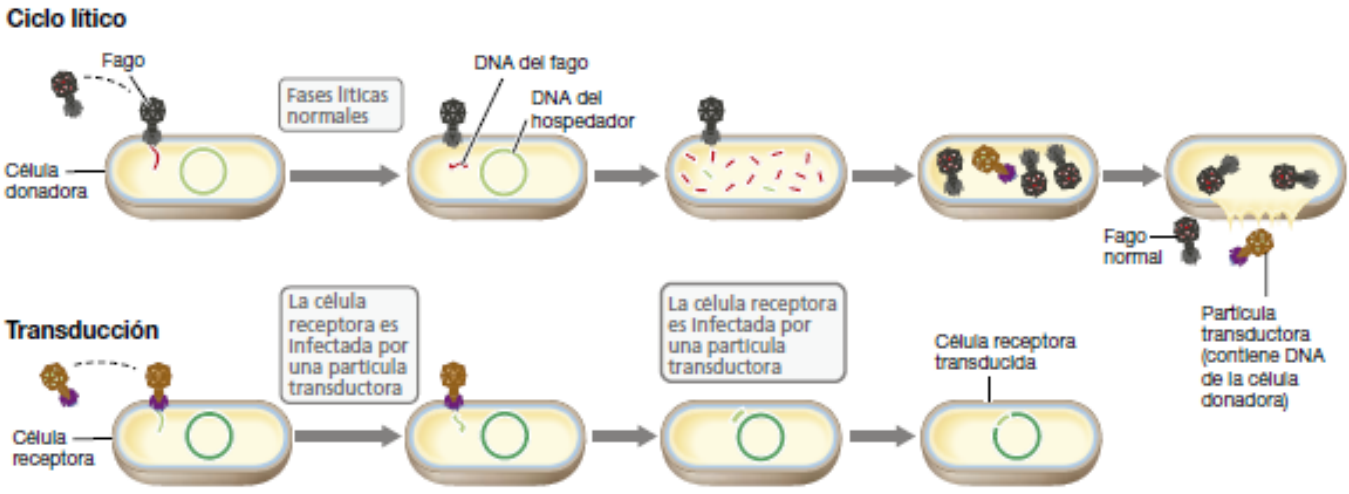


Figura 10.14 **Transducción generalizada.** Obsérvese que los viriones «normales» contienen genes del fago, mientras que una partícula transductora contiene genes del hospedador.

una pequeña proporción de las partículas del lisado son defectivas, y cada una de ellas contiene solo un pequeño fragmento del DNA donador, la probabilidad de que una partícula transductora determinada contenga un gen en concreto es bastante baja. Normalmente, para un gen determinado solo tiene éxito la transducción en una célula de entre 10^6 a 10^8 células.

Lisogenia y la transducción especializada

La transducción generalizada permite la transferencia de cualquier gen de una bacteria a otra, pero a baja frecuencia. Por el contrario, la transducción especializada permite una transferencia extremadamente eficiente, pero es selectiva y transfiere solo una pequeña región del cromosoma bacteriano. En el primer caso de transducción especializada que se descubrió, los genes para el catabolismo de la galactosa fueron transducidos por el fago atemperado lambda de *E. coli*.

Cuando lambda convierte en lisógena una célula hospedadora, el genoma del fago se integra en el cromosoma de *E. coli* en un sitio específico (↻ Sección 8.8). Este sitio está próximo al grupo de genes que codifican las enzimas para la utilización de la galactosa. Después de la inserción, la replicación del DNA vírico está bajo el control del cromosoma bacteriano. Tras la inducción, el DNA vírico se separa del DNA del hospedador mediante un proceso que es el inverso a la integración (**Figura 10.15**). Normalmente, el DNA de lambda se escinde de manera precisa, pero en ocasiones, el genoma del fago se escinde incorrectamente. Algunos de los genes bacterianos adyacentes a una parte del profago (por ejemplo, el operón de la galactosa) se escinden junto con el DNA del fago, al tiempo que algunos de los genes de este se quedan en el cromosoma (Figura 10.15*b*). Esta transferencia puede ser detectada solamente si una cepa negativa para la galactosa (Gal^-) es infectada por esta partícula transductora y se seleccionan los transductantes Gal^+.

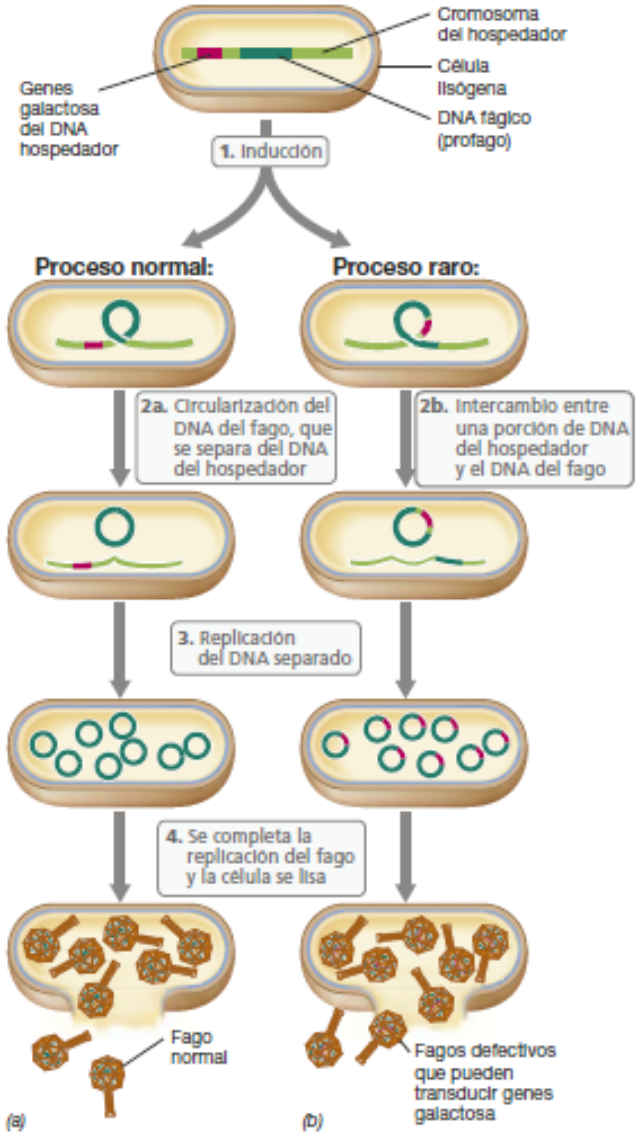


Figura 10.15 **Transducción especializada.** *(a)* Mecanismo lítico normal, y *(b)* producción de partículas transductoras de genes galactosa en una célula de *Escherichia coli* que contiene un profago lambda. Solamente se muestra en la figura una región corta del cromosoma circular del hospedador.

Para que un virión de lambda sea infectivo, hay un límite en la cantidad de DNA fágico que se puede sustituir con DNA del hospedador. El virión debe retener suficiente DNA del fago para codificar la cubierta proteica y otras proteínas fágicas necesarias para la lisis y la lisogenia. Sin embargo, si se usa un fago auxiliar junto con un fago defectivo en una infección mixta, entonces son necesarios menos genes específicos en el fago defectivo. Solo son necesarios la región *att* (unión), el sitio *cos* (extremos cohesivos, para el empaquetamiento), y el origen de replicación del genoma de lambda (↻ Figura 8.17*a*).

Conversión fágica

La alteración del fenotipo de una célula hospedadora por lisogenia se denomina *conversión fágica*. Cuando un fago atemperado normal (es decir, no defectivo) convierte una célula en lisógena y él mismo se convierte en un profago, la célula se vuelve inmune a la infección por otro fago del mismo tipo. Esta inmunidad se puede ver en sí misma como un cambio en el fenotipo, pero en las células lisógenas a menudo se observan otros cambios fenotípicos que no están relacionados con la inmunidad a los fagos.

Hay dos casos especialmente bien estudiados de conversión fágica. Uno de ellos causa un cambio en la estructura de un polisacárido de la superficie celular de *Salmonella enterica* serovar Anatum después de la lisogenia por el bacteriófago ε^{15}. El segundo ocasiona la conversión de cepas de *Corynebacterium diphteriae* (la bacteria que causa la difteria) que no producen toxinas a cepas productoras de toxinas (patógenas) después de la lisogenia con el bacteriófago β (↻ Sección 29.3). En ambos casos, los genes responsables de los cambios están en una parte integral del genoma del fago y, por tanto, se transfieren automáticamente durante la infección del fago y la lisogenia.

Es probable que la lisogenia aporte un fuerte valor selectivo a la célula hospedadora, ya que confiere resistencia a la infección por virus del mismo tipo. La conversión fágica también puede tener una importancia evolutiva significativa porque da lugar a cambios genéticos en las células hospedadoras. Muchas bacterias aisladas de la naturaleza son lisógenos naturales, y por tanto es probable que la lisogenia sea esencial para la supervivencia de muchas células hospedadoras en la naturaleza.

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué difiere una partícula transductora de un bacteriófago infeccioso?
- ¿Cuál es la diferencia principal entre la transducción generalizada y la transformación?
- ¿Por qué se puede considerar que la conversión fágica es beneficiosa para la célula hospedadora?

10.8 Conjugación

La **conjugación** bacteriana (apareamiento) es un mecanismo de transferencia genética que requiere el contacto entre células. La conjugación es un mecanismo codificado por un plásmido que puede mediar la transferencia de DNA entre células no relacionadas, incluso entre géneros diferentes. Los plásmidos conjugativos usan este mecanismo para transferir a nuevas células hospedadoras copias de sí mismos y los genes que codifican, como los de la resistencia a antibióticos.

El proceso de conjugación implica una célula *donadora*, que contiene el plásmido conjugativo, y una célula *receptora*, que no lo contiene. Además, algunos elementos genéticos que no pueden transferirse a sí mismoa, en ocasiones pueden *movilizarse* durante la conjugación. Estos otros elementos genéticos pueden ser otros plásmidos o el propio cromosoma del hospedador. En realidad, la conjugación se descubrió porque el plásmido F de *Escherichia coli* puede movilizar el cromosoma del hospedador (véase la Figura 10.21). Los mecanismos de transferencia pueden diferir según el plásmido implicado, pero la mayoría de los plásmidos de las bacterias gramnegativas utilizan un mecanismo similar al que usa el plásmido F.

El plásmido F

El plásmido F (la F le viene de «fecundidad») es una molécula de DNA circular de 99.159 pb. En la **Figura 10.16** se muestra su mapa genético. Una región del plásmido contiene genes que regulan la replicación del DNA. También contiene algunos elementos transponibles (Sección 10.11) que permiten al plásmido integrarse en el cromosoma del hospedador. Además, el plásmido F tiene una región grande de DNA, la región *tra*, que contiene genes que codifican funciones de transferencia. Muchos genes de la región *tra* intervienen en la formación del par de apareamiento, y la mayoría de ellos están relacionados con la síntesis de una estructura superficial, el pelo o pilus sexual (↻ Sección 2.13). Solo las células donadoras producen estos pelos (pili). Los distintos plásmidos conjugativos tienen regiones *tra* ligeramente diferentes, y los pelos pueden variar un poco en su

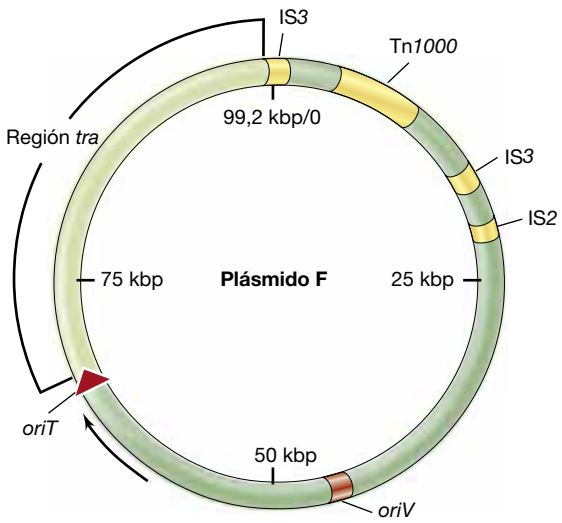


Figura 10.16 Mapa genético del plásmido F (fertilidad) de *Escherichia coli*. Los números en el interior del círculo muestran el tamaño del plásmido en kilopares de bases (el tamaño exacto es de 99.159 pb). La región verde oscuro de la parte inferior del mapa contiene genes responsables principalmente de la replicación y la segregación del plásmido F. El origen de replicación vegetativa es *oriV*. La región verde claro, la región *tra*, contiene los genes necesarios para la transferencia conjugativa. El sitio *oriT* es el origen de transferencia durante la conjugación. La flecha indica la dirección de la transferencia (la región *tra* se transfiere la última). Las regiones en amarillo son secuencias de inserción, que pueden recombinarse con elementos idénticos en el cromosoma bacteriano, lo que lleva a la integración y a la formación de diferentes cepas Hfr.

estructura. El plásmido F y los plásmidos relacionados con él codifican los pelos F.

Los pelos permiten el apareamiento específico entre las células donadoras y las receptoras. Se cree que toda la conjugación en las bacterias gramnegativas depende del apareamiento de las células a través de los pelos. El pelo establece un contacto específico con un receptor de la célula receptora y después se retrae desensamblando sus subunidades. Esto atrae entre sí a las dos células (**Figura 10.17**). Después de este proceso, las células donadora y receptora siguen en contacto mediante las proteínas de unión localizadas en la membrana externa de cada célula. Entonces se transfiere el DNA de la célula donadora a la receptora a través de esta conexión conjugativa.

Mecanismo de transferencia del DNA durante la conjugación

La síntesis de DNA es necesaria para la transferencia de DNA por conjugación. Este DNA no se sintetiza por replicación semiconservativa normal (↔ Sección 4.6), sino por **replicación por círculo rodante**, un mecanismo que también utilizan algunos virus (↔ Secciones 8.8 y 9.3) y que se muestra en la **Figura 10.18**. La transferencia del DNA se desencadena por el contacto entre las células, momento en el que una cadena del DNA circular del plásmido es cortada y transferida al receptor. La enzima cortadora necesaria para iniciar el proceso, TraI, está codificada en el operón *tra* del plásmido F. Esta proteína también posee actividad helicasa y, por tanto, también desenrolla la cadena que se va a transferir. A medida que se produce la transferencia, se sintetiza DNA por el mecanismo del círculo rodante y este nuevo DNA reemplaza la cadena transferida en el donador, mientras que en el receptor se sintetiza una cadena de DNA complementario. Así pues, al final del proceso, tanto el donador como el receptor tienen plásmidos completos. Para la transferencia del plásmido F, si una célula donadora que contiene el F, llamada F^+, se acopla con una receptora que carece del plásmido, llamada F^-, el resultado son dos células F^+ (Figura 10.18).

La transferencia del DNA plasmídico es eficaz y rápida; en condiciones favorables, prácticamente todas las células receptoras que se acoplan con una donadora adquieren el plásmido.

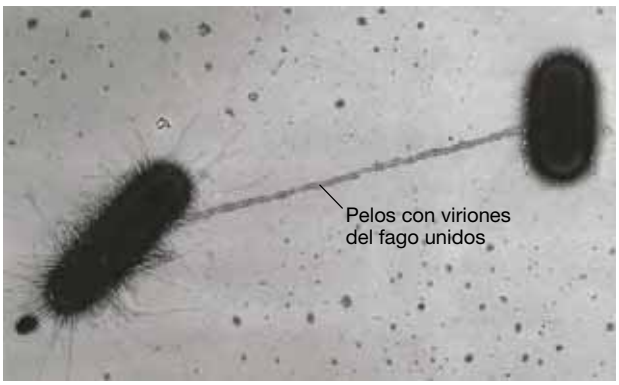


Figura 10.17 Formación de una pareja de acoplamiento. El primer contacto directo entre dos bacterias conjugativas se realiza a través de un pelo (pilus). Después, las células se acercan para formar una pareja de acoplamiento mediante la retracción del pelo, lo que se consigue por despolimerización. Algunos fagos pequeños (bacteriófagos específicos de F) utilizan el pelo sexual como receptor y se pueden ver aquí unidos a él.

La transferencia del plásmido F, que comprende aproximadamente 100 kbp de DNA, tarda unos 5 minutos. Si los genes del plásmido se pueden expresar en la célula receptora, esta se convierte a su vez en donadora y puede transferir el plásmido a otras receptoras. De este modo, los plásmidos conjugativos pueden extenderse rápidamente entre las poblaciones bacterianas, comportándose en gran medida como agentes infecciosos. Esto es de una gran importancia ecológica, porque se han encontrado plásmidos conjugativos en muchas *Bacteria* y algunas *Archaea* (Sección 10.10), y unas pocas células con plásmido introducidas en una población de receptores puede convertir a toda la población en células portadoras de plásmido (y por tanto donadoras) en un corto espacio de tiempo.

MINIRREVISIÓN

- En la conjugación, ¿cómo entran en contacto la célula donadora y la célula receptora?
- Explique por qué la replicación del DNA por círculo rodante permite que tanto el donador como el receptor terminen con una copia completa del plásmido transferido por conjugación.
- ¿Por qué el plásmido F tiene dos orígenes de replicación diferentes?

10.9 Formación de cepas Hfr y movilización cromosómica

Los genes cromosómicos se pueden transferir por conjugación mediada por plásmidos. Como ya hemos mencionado, el plásmido F de *Escherichia coli* puede, en determinadas circunstancias, movilizar el cromosoma para la transferencia durante el contacto entre células. El plásmido F es, en realidad, un *episoma*, un plásmido que puede integrarse en el cromosoma del hospedador. Cuando el plásmido F se integra, se pueden transferir los genes cromosómicos junto con el plásmido. Después de la recombinación genética entre el DNA donador y el receptor, la transferencia horizontal de genes por este mecanismo puede ser muy grande.

Las células que poseen un plásmido F no integrado se llaman F^+. Las que tienen un plásmido F integrado en el cromosoma son **células Hfr** (del inglés, h*igh frequency of recombination*, alta frecuencia de recombinación). Este término se refiere a la alta frecuencia de recombinación genética entre genes del cromosoma donador y del cromosoma receptor. Tanto las células F^+ como las Hfr son donadoras, pero a diferencia de lo que ocurre entre una célula F^+ y una F^-, la conjugación entre un donador Hfr y un F^- lleva a la transferencia de genes del cromosoma del hospedador, ya que ahora, el cromosoma y el plásmido forman una sola molécula de DNA. Por consiguiente, cuando el plásmido F inicia la replicación por círculo rodante, esta continúa después con el cromosoma. Así, el cromosoma también se replica y se transfiere. Por tanto, la integración de un plásmido conjugativo proporciona un mecanismo para movilizar el genoma de la célula.

En resumen, la presencia del plásmido F provoca tres cambios diferentes de las propiedades de una célula: (1) la capacidad de sintetizar el pelo F (Figura 10.17); (2) la movilización del DNA para su transferencia a otra célula; y (3) la modificación

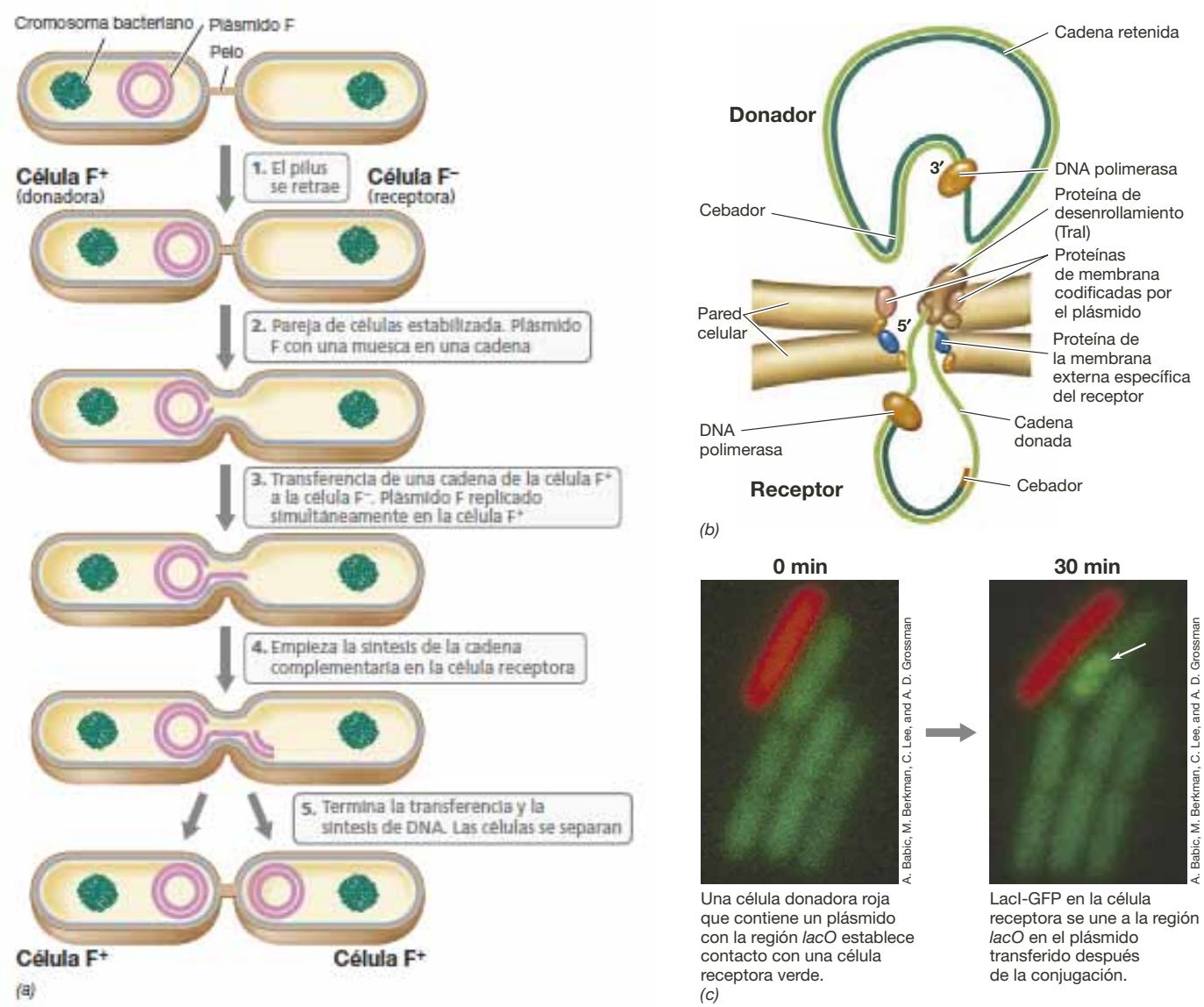


Figura 10.18 **Transferencia de DNA plasmídico por conjugación**. *(a)* La transferencia del plásmido F convierte una célula receptora F^- en una célula F^+. Obsérvese el mecanismo de replicación por círculo rodante. *(b)* Detalles de la replicación y del proceso de transferencia. *(c)* Visualización de la transferencia de DNA por conjugación en *Bacillus subtilis* usando microscopía de fluorescencia. La célula donadora expresa esencialmente una proteína de fluorescencia roja, mientras que las células receptoras emiten fluorescencia verde debido a la proteína verde fluorescente (GFP) fusionada a LacI (↻ Figura 7.15). El DNA transferido de la célula donadora contiene la región operadora *lacO* que se une a LacI-GFP. Las flechas indican puntos focales en la célula receptora donde LacI-GFP se une a la región *lacO* procedente de la conjugación.

de los receptores superficiales, de manera que la célula deja de actuar como un receptor en la conjugación y es incapaz de captar una segunda copia de plásmido F ni plásmidos relacionados genéticamente.

Integración de F y movilización cromosómica

El plásmido F y el cromosoma de *E. coli* contienen varias copias de elementos móviles llamados *secuencias de inserción* (IS; Sección 10.11). Las IS proporcionan regiones de homología de secuencia entre el DNA cromosómico y el DNA del plásmido F. Por consiguiente, la recombinación homóloga entre una IS del plásmido F y una IS correspondiente en el cromosoma conduce a la integración del plásmido F en el cromosoma del hospedador, como se muestra en la **Figura 10.19**. Una vez integrado, el plásmido deja de replicarse independientemente, pero el operón *tra* sigue funcionando con normalidad y la cepa sintetiza los pelos. Cuando la célula encuentra un receptor, se desencadena la conjugación como si se tratara de una célula F^+, y se inicia la transferencia de DNA en el sitio *oriT* (origen de la transferencia). Sin embargo, como el plásmido forma ahora parte del cromosoma, cuando se ha transferido parte del DNA plasmídico, los genes cromosómicos empiezan a transferirse también (**Figura 10.20**). Como ocurre en la conjugación de solo el plásmido F (Figura 10.18), la transferencia del DNA cromosómico también implica replicación.

Debido a que la cadena de DNA normalmente se rompe durante la transferencia, solo se transfiere una parte del cromosoma del donador. Por consiguiente, la célula receptora no

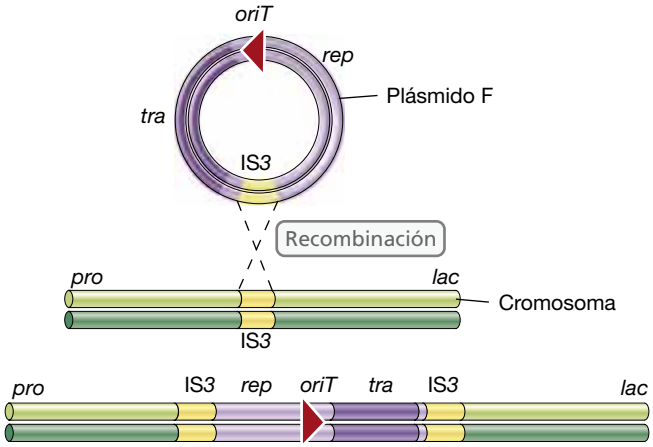


Figura 10.19 **Formación de una cepa Hfr.** La integración del plásmido F en el cromosoma puede ocurrir en varios sitios específicos en los que se encuentran los elementos IS. El ejemplo de la figura es un IS*3* situado entre los genes cromosómicos *pro* y *lac*. Se muestran algunos de los genes del plásmido F. La flecha indica el origen de transferencia, *oriT*, con la flecha como extremo conductor. Así, en esta Hfr, *pro* sería el primer gen cromosómico en ser transferido, y *lac* estaría entre los últimos.

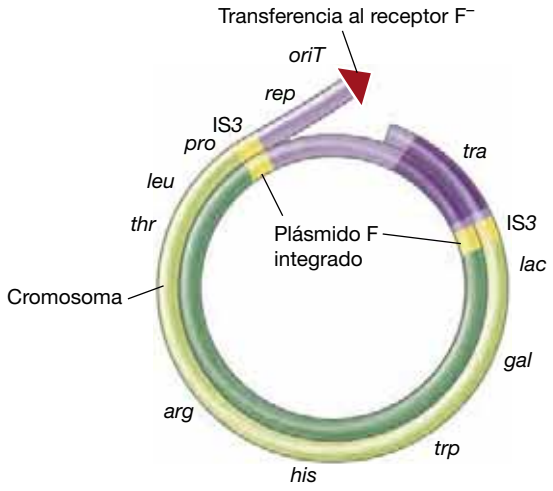


Figura 10.20 **Transferencia de genes cromosómicos por una cepa Hfr.** El cromosoma de Hfr se rompe en el origen de transferencia en el plásmido F integrado. La transferencia de DNA al receptor empieza en este punto. El DNA se replica durante la transferencia como ocurría en el caso de un plásmido F libre (Figura 10.18). Esta figura no está a escala; el plásmido F insertado supone, en realidad, menos del 3 % del tamaño del cromosoma de *Escherichia coli*.

se convierte en Hfr (o F^+) porque solo se ha transferido una parte del plásmido F integrado (**Figura 10.21**). Sin embargo, después de la transferencia, las cepas Hfr se mantienen Hfr porque retienen una copia del plásmido F integrado. Y puesto que un cromosoma parcial no se puede replicar, para que el DNA donador entrante pueda sobrevivir, debe recombinarse con el cromosoma del receptor. Después de la recombinación, la célula receptora puede expresar un nuevo fenotipo debido a la incorporación de genes del donador. Aunque la frecuencia de los genes cromosómicos transmitidos por las cepas Hfr es alta, generalmente no convierten las células F^- en F^+ o Hfr, porque

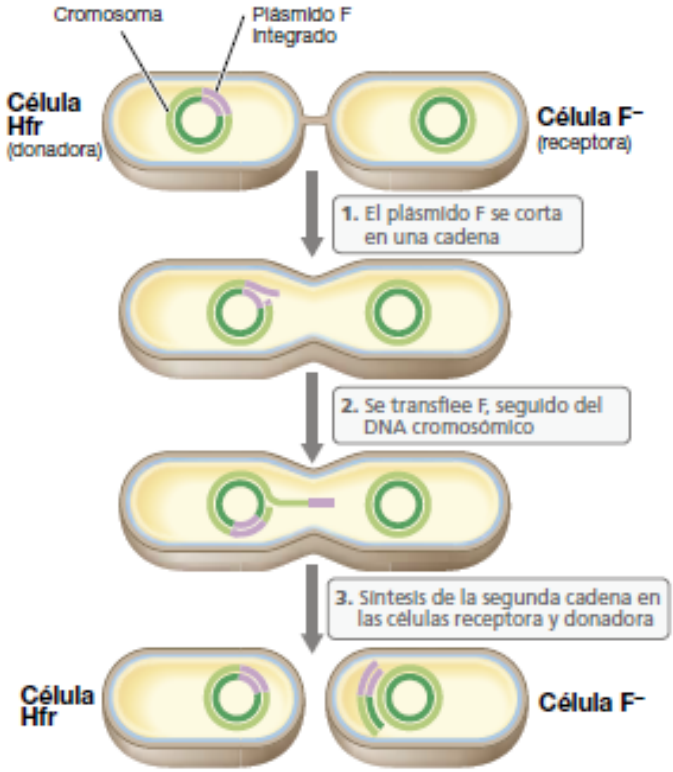


Figura 10.21 **Transferencia de DNA cromosómico por conjugación.** La transferencia del plásmido F integrado procedente de una cepa Hfr ocasiona la cotransferencia del DNA cromosómico porque este va unido al plásmido. Las etapas de la transferencia son similares a las que tienen lugar en la Figura 10.18a. Sin embargo, el receptor sigue siendo F^- y recibe un fragmento lineal del cromosoma donador unido a parte del plásmido F. Para que el DNA donador sobreviva, debe recombinarse con el cromosoma receptor tras la transferencia (no se muestra).

raramente se transfiere el plásmido F entero. En cambio, un cruce Hfr × F^- genera el Hfr original y una célula F^- que ahora tiene un genotipo nuevo. Al igual que en la transformación y en la transducción, la recombinación genética entre los genes de Hfr y los genes de F^- implica la recombinación homóloga en la célula receptora.

Debido a que hay varias secuencias de inserción distintas presentes en el cromosoma, son posibles distintos tipos de cepas Hfr. Una cepa Hfr dada siempre donará los genes en el mismo orden, comenzando desde la misma posición. Sin embargo, las cepas Hfr que se diferencian en el sitio de integración en el cromosoma del plásmido F transferirán los genes en un orden diferente (**Figura 10.22**). En algunos sitios de inserción, el plásmido F se integra con su origen apuntando hacia una dirección, mientras que en otros sitios apunta en la dirección opuesta. La orientación del plásmido F determina qué genes cromosómicos entran primero en la célula receptora y nos muestra cómo los genes adquiridos por transferencia horizontal y recombinados en el cromosoma pueden ser trasferidos a una nueva célula receptora (Figura 10.22). Mediante el uso de varias cepas Hfr en experimentos de apareamiento, se ha podido determinar la disposición y orientación de la mayoría de los genes en el cromosoma de *E. coli* (↻ Sección 4.3) mucho antes de que fuera secuenciado.

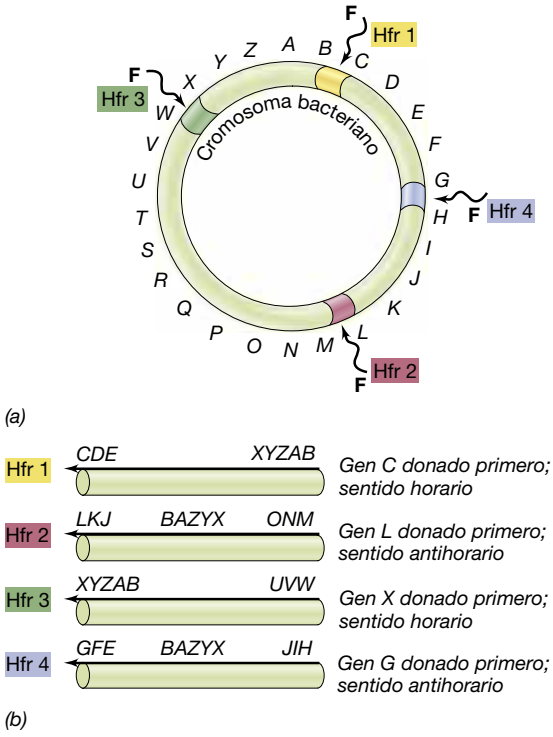


Figura 10.22 Formación de diferentes cepas Hfr. Las diferentes cepas donan sus genes en orden diferente y a partir de diferentes orígenes. *(a)* Los plásmidos F se pueden insertar en varias secuencias de inserción en el cromosoma bacteriano y formar diferentes cepas Hfr. *(b)* Orden de transferencia génica para diferentes cepas Hfr.

Transferencia de genes cromosómicos al plásmido F

En ocasiones, los plásmidos F integrados se pueden escindir del cromosoma. Durante la escisión se pueden incorporar algunos genes cromosómicos al plásmido F liberado. Esto ocurre porque el plásmido F y el cromosoma tienen múltiples secuencias de inserción idénticas donde puede ocurrir la recombinación (Figura 10.20). Los plásmidos F que contienen genes cromosómicos se llaman *plásmidos F′*. Cuando estos plásmidos promueven la conjugación, transfieren estos genes cromosómicos con una alta frecuencia a los receptores. La transferencia mediada por F′ se parece a la transducción especializada (Sección 10.7) en que un plásmido F′ determinado transfiere solo un grupo restringido de genes cromosómicos. La transferencia de un F′ conocido a un receptor permite el establecimiento de diploides (dos copias de cada gen) para una región concreta del cromosoma. Estos diploides parciales (merodiploides) son importantes para los análisis de complementación (Sección 10.5).

MINIRREVISIÓN

- En la conjugación en que participa el plásmido F de *Escherichia coli*, ¿cómo se moviliza el cromosoma del hospedador?
- ¿Por qué un emparejamiento Hfr × F^- no produce dos células Hfr?
- ¿En qué sitios del cromosoma se puede integrar el plásmido F?

III • Transferencia genética en *Archaea* y otros fenómenos genéticos

Aunque menos estudiada que la genética en *Bacteria*, la de *Archaea* está comenzando a emerger junto con las herramientas genéticas diseñadas para arqueas y necesarias para estudios más detallados. Además, otros fenómenos genéticos de *Bacteria* son aspectos generales importantes pero no están relacionados por sí mismos con el flujo horizontal de genes. En este apartado trataremos sobre estos temas.

10.10 Transferencia horizontal de genes en *Archaea*

Aunque las arqueas tienen un solo cromosoma circular como la mayoría de las *Bacteria* (Figura 10.23) y los análisis genómicos indican que también ocurre la transferencia horizontal de genes arqueanos en la naturaleza, el desarrollo de sistemas de transferencia génica en el laboratorio sigue estando muy por detrás del de las *Bacteria*. Uno de los problemas prácticos es que la mayoría de las *Archaea* mejor estudiadas viven en condiciones extremas, capaces de crecer bajo condiciones extremas de salinidad y temperatura (Capítulo 16). Así, las temperaturas necesarias para cultivar algunos hipertermófilos fundirían el agar, y son necesarios materiales alternativos para formar medios sólidos y obtener colonias.

Otro problema es que la mayoría de los antibióticos no afectan a las *Archaea*. Así, por ejemplo, las penicilinas no les afectan porque sus paredes celulares carecen de peptidoglicano. La elección de marcadores seleccionables para los cruzamientos genéticos está, pues, limitada. No obstante, la novobiocina

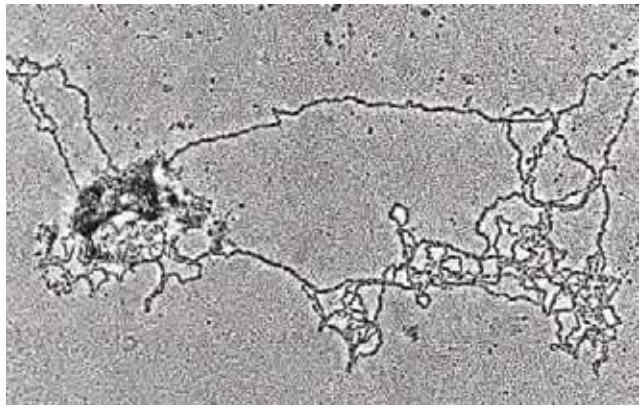


Figura 10.23 Cromosoma de *Archaea* visto al microscopio electrónico. Cromosoma circular del hipertermófilo *Sulfolobus*, un miembro de *Archaea*.

(un inhibidor de la DNA girasa) y la meviolina (un inhibidor de la biosíntesis de isoprenoides) se utilizan para inhibir el crecimiento de los halófilos extremos, y la puromicina y la neomicina (ambos inhibidores de la síntesis de proteínas) inhiben a los metanógenos. Se han aislado también algunas pocas cepas de *Archaea* auxótrofas para utilizarlas en selección genética.

Ejemplos de la genética de las arqueas

Ninguna especie de *Archaea* se ha convertido en organismo modelo para la genética de las arqueas, aunque se ha trabajado mucho en la genética de una minoría de especies de halófilos extremos (*Halobacterium*, *Haloferax*, ↻ Sección 16.1) que en cualquier otra *Archaea*. En cambio, se han hallado mecanismos individuales para la transferencia de genes dispersos por toda una variedad de *Archaea*. Además, se han aislado varios plásmidos en *Archaea* y algunos se han utilizado para construir vectores de clonación, lo que ha permitido el análisis genético mediante la clonación y la secuenciación en lugar de los cruzamientos genéticos tradicionales. La mutagénesis por transposones (Sección 10.11) está muy desarrollada en algunas especies de metanógenos, como *Methanococcus* y *Methanosarcina*, y también se han desarrollado otras herramientas como vectores lanzadera y otros métodos *in vitro* de análisis genético para el estudio de la bioquímica tan inusual de los metanógenos (↻ Secciones 13.20 y 16.2).

La transformación funciona razonablemente bien en varias *Archaea*, aunque hay detalles y requisitos que varían de organismo a organismo. Uno de los procedimientos empleados implica la eliminación de iones metálicos divalentes, que a su vez causa el desensamblaje de la capa de glicoproteínas de la pared celular que rodea muchas células de las *Archaea* y, por tanto, permite el acceso del DNA para la transformación. No obstante, las *Archaea* con paredes celulares rígidas han resultado difíciles de transformar, aunque la electroporación funciona a veces. Una excepción la encontramos en las especies de *Methanosarcina*, que son organismos con una pared celular gruesa, para las que se han desarrollado sistemas de transformación muy eficaces que utilizan preparaciones lipídicas (liposomas) cargadas con el DNA que liberan en el interior de la célula.

Si bien hay multitud de virus que infectan a *Archaea*, la transducción vírica es extremadamente rara. Solo en un virus, que infecta al termófilo metanógeno *Methanobacterium thermoautotrophicum*, se ha demostrado la transducción de genes de su hospedador. Lamentablemente, el pequeño tamaño de explosión (unos seis fagos liberados por célula) hace poco práctico este sistema para la transferencia de genes.

Conjugación en *Archaea*

En *Archaea* se han detectado dos tipos de conjugación. Algunas cepas de *Sulfolobus solfataricus* (↻ Sección 16.10) contienen plásmidos que promueven la conjugación entre dos células de un modo semejante al que se ha visto en *Bacteria*. En este proceso, el apareamiento entre células se produce antes de la formación de pelos y la transferencia del plásmido, y la transferencia del DNA es unidireccional. Sin embargo, la mayoría de los genes que codifican estas funciones parecen guardar poca semejanza con los de las bacterias gramnegativas. La excepción es un gen similar a *traG* del plásmido F, cuyo producto proteínico interviene en la estabilización de las parejas de acoplamiento. Así, parece probable que el mecanismo real de conjugación en *Archaea* sea bastante diferente al de las *Bacteria*.

Por otra parte, algunas halobacterias desarrollan una nueva forma de conjugación en la que no intervienen plásmidos de fertilidad, y la transferencia de DNA es bidireccional. Entre las células acopladas se forman puentes citoplasmáticos, que parecen usarse para la transferencia del DNA. No se ha desarrollado ningún tipo de conjugación hasta el punto de poder utilizarla para la transferencia de genes rutinaria ni para el análisis genético. No obstante, es probable que en el futuro estos recursos genéticos sean útiles para desarrollar sistemas de transferencia génica rutinarios en estos organismos.

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué normalmente es más difícil seleccionar recombinantes de *Archaea* que de *Bacteria*?
- ¿Por qué las penicilinas no matan a las especies de *Archaea*?

10.11 DNA móvil: elementos transponibles

Como ya hemos visto, las moléculas de DNA pueden moverse de una célula a otra, pero para un genetista, el término «DNA móvil» tiene un especial significado. El DNA móvil se refiere a segmentos concretos de DNA que se desplazan como unidades de una ubicación a otra *dentro* de otras moléculas de DNA.

Si bien el DNA de algunos virus puede insertarse en el genoma de la célula hospedadora y escinderse luego, la mayor parte de DNA móvil está constituida por **elementos transponibles**. Se trata de porciones de DNA que pueden moverse de un sitio a otro. Sin embargo, los elementos transponibles se encuentran siempre insertos en otra molécula de DNA, como un plásmido, un cromosoma o un genoma vírico. Los elementos transponibles, que no poseen su propio origen de replicación, se replican cuando lo hace la molécula de DNA hospedador en la que están insertos.

Los elementos transponibles se mueven por un proceso, llamado *transposición*, que es importante tanto en la reorganización genómica como en el análisis genético. La frecuencia de transposición es muy variable, y va desde 1 entre 10^3 a 1 entre 10^7 por elemento transponible en cada generación de células, según el elemento transponible y según el organismo. Los elementos transponibles, que son abundantes y están bastante esparcidos en la naturaleza, se pueden encontrar en los genomas de los tres dominios de la vida así como en muchos virus y plásmidos, lo que sugiere que brindan una ventaja evolutiva al acelerar la reorganización de los genomas.

Los dos tipos principales de elementos transponibles en *Bacteria* son las *secuencias de inserción* (IS) y los *transposones*. Estos elementos tienen dos importantes rasgos en común: contienen genes que codifican la *transposasa*, que es la enzima necesaria para la transposición, y tienen repeticiones invertidas cortas en los extremos, que también son necesarias para la transposición (los extremos de los elementos transponibles no son libres, sino continuos con la molécula de DNA del hospedador en la que se ha insertado el elemento transponible). La **Figura 10.24** muestra el mapa genético del elemento de inserción IS*2* y del transposón Tn*5*.

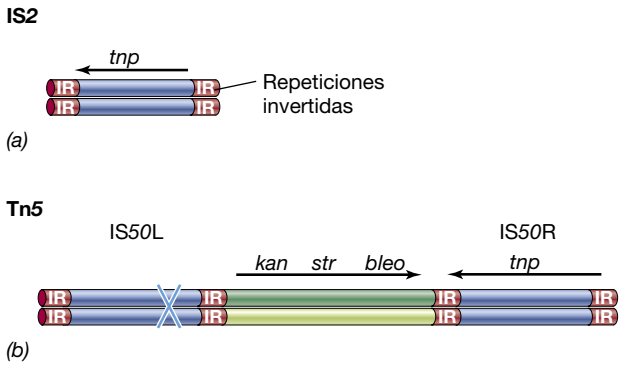


Figura 10.24 Mapas de los elementos transponibles IS*2* y Tn*5*. Las flechas encima de los mapas indican el sentido de la transcripción de algunos genes de los elementos. El gen que codifica la transposasa es *tnp*. *(a)* IS*2* es una secuencia de inserción de 1.327 bp con repeticiones invertidas de 41 bp en sus extremos. *(b)* Tn*5* es un transposón compuesto de 5,7 kbp que contiene las secuencias de inserción IS*50*L e IS*50*R en los extremos izquierdo y derecho, respectivamente. IS*50*L no puede realizar la transposición independientemente porque en su gen transposasa hay una mutación sin sentido, marcada por una cruz azul. Los genes *kan*, *str* y *bleo* confieren resistencia a los antibióticos kanamicina (y neomicina), estreptomicina y bleomicina.

Secuencias de inserción y transposones

Las **secuencias de inserción** son los elementos transponibles más sencillos que se conocen. Son segmentos cortos de DNA, de unos 1.000 nucleótidos, que normalmente contienen repeticiones invertidas de entre 10 y 50 bp. Cada IS diferente tiene un número específico de pares de bases en sus repeticiones terminales y el único gen que poseen es el de la transposasa. Se han caracterizado algunos centenares de elementos IS diferentes, que se encuentran en cromosomas y plásmidos de *Bacteria* y *Archaea*, así como en algunos bacteriófagos. Las cepas individuales de las mismas especies bacterianas varían en la cantidad y la ubicación de los elementos IS que contienen. Por ejemplo, el genoma de una cepa de *Escherichia coli* tiene cinco copias de IS*2* y cinco de IS*3*. Muchos plásmidos, como el plásmido F, también contienen secuencias de inserción. En realidad, la integración del plásmido F en el cromosoma de *E. coli* (Figura 10.19) se debe a la recombinación entre secuencias de inserción idénticas entre el plásmido F y el cromosoma (Sección 10.9).

Los **transposones** son mayores que las secuencias de inserción, pero tienen los mismos componentes esenciales: repeticiones invertidas en ambos extremos y un gen que codifica la transposasa (Figura 10.24*b*). La transposasa reconoce las repeticiones invertidas y mueve el segmento de DNA flanqueado por ellas de un sitio a otro. Por consiguiente, cualquier DNA que se encuentra entre las dos repeticiones invertidas se mueve y forma, a todos los efectos, parte del transposón. Los genes incluidos en los transposones varían mucho. Algunos de ellos, como los genes de resistencia a antibióticos, confieren importantes propiedades nuevas al organismo que alberga el transposón. Como la resistencia a antibióticos es importante y fácil de detectar, los transposones que más se han investigado contienen, como marcadores seleccionables, genes de resistencia a antibióticos. Algunos ejemplos son el transposón Tn*5*, que contiene resistencia a kanamicina (Figura 10.24*b*) y el Tn*10*, con resistencia a tetraciclina. Debido a que cualquier gen que se encuentre entre las repeticiones invertidas se convierte en parte de un transposón, es posible conseguir transposones híbridos que muestren comportamientos complejos. Por ejemplo, los transposones conjugativos contienen genes *tra* y pueden moverse entre especies bacterianas por conjugación, así como transponerse de un sitio a otro dentro del genoma de una misma bacteria. Aún más complejo es el bacteriófago Mu, que es a la vez un virus y un transposón (↻ Sección 9.4). En este caso, se trata de un genoma vírico completo contenido dentro de un transposón. Otros elementos genéticos compuestos están constituidos por un segmento de DNA situado entre dos secuencias de inserción idénticas. Toda esta estructura se puede mover como una unidad que se conoce como *transposón compuesto*. El comportamiento de los transposones compuestos indica que probablemente surjan transposones nuevos de manera periódica en las células que contienen secuencias de inserción situadas cerca una de la otra.

Mecanismos de transposición

Tanto las repeticiones invertidas (en los extremos de los elementos transponibles) como la transposasa son esenciales para la transposición. La transposasa reconoce, corta y liga el DNA durante el proceso de transposición. Cuando un elemento transponible se inserta en el DNA diana, durante el proceso de inserción se duplica una secuencia corta en el sitio de integración de dicho DNA diana (**Figura 10.25**). La duplicación se produce porque la transposasa realiza cortes en una sola cadena del DNA. Después se une el elemento transponible a los extremos de cadena sencilla que se han generado. Por último, las enzimas de la célula hospedadora reparan las porciones de cadena sencilla, lo que ocasiona la duplicación.

Se conocen dos mecanismos de transposición: la transposición *conservativa* y la *replicativa* (**Figura 10.26**). En la conservativa, como es el caso del transposón Tn*5*, el transposón es escindido de una ubicación y reinsertado en otra. Por tanto, el número de copias de un transposón conservativo sigue siendo uno. En cambio, durante la transposición replicativa, se produce una nueva copia, que se inserta en la segunda ubicación. Así, tras la transposición replicativa, una copia permanece en su sitio original y hay una segunda copia en la nueva ubicación.

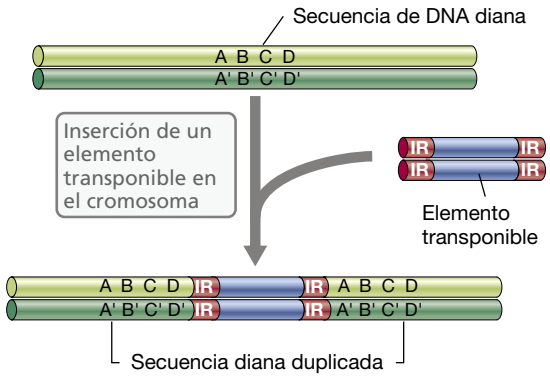


Figura 10.25 Transposición. La inserción de un elemento transponible genera una duplicación de la secuencia diana. Obsérvese la presencia de repeticiones invertidas (IR) en los extremos del elemento transponible.

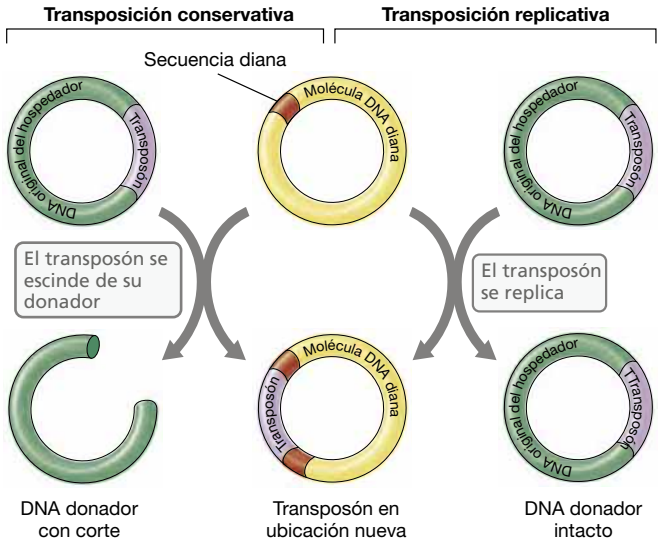


Figura 10.26 **Dos mecanismos de transposición**. El DNA donador (que contiene el transposón) se muestra en verde, y el DNA receptor que contiene la secuencia diana se muestra en amarillo. Tanto en la transposición conservativa como en la replicativa, la transposasa inserta el transposón (lila) en el sitio diana (rojo) del DNA receptor. Durante este proceso, la secuencia diana se duplica. En la transposición conservativa, el DNA donador se queda con un corte en la doble cadena en la ubicación previa del transposón. En cambio, tras la transposición replicativa, tanto el DNA donador como el receptor contienen una copia del transposón.

Mutagénesis con transposones

Cuando un transposón se inserta en el interior de un gen, este gen en concreto sufre una mutación (**Figura 10.27**). Las mutaciones debidas a la inserción de un transposón se producen de forma natural. No obstante, el uso deliberado de transposones para generar mutaciones es un método práctico de crear mutantes bacterianos en el laboratorio. Normalmente se utilizan transposones que contienen genes de resistencia a antibióticos. El transposón se introduce en la célula diana mediante un fago o un plásmido que no pueda replicarse en ese hospedador en concreto. Por consiguiente, las colonias resistentes a antibióticos serán debidas principalmente a la inserción de un transposón en el genoma bacteriano.

Debido a que los genomas bacterianos contienen relativamente poco DNA no codificante, la mayoría de las inserciones de transposones se producirán en genes que codifican proteínas. Esta técnica puede usarse para determinar la función de un gen nuevo (Figura 10.27). Si se inserta un transposón en un gen que codifique un producto de interés como una sintetasa nueva de antibióticos, el mutante por transposición dejará de producir el antibiótico. Se pueden hacer más análisis para descubrir qué genes han sido interrumpidos por el transposón.

Dos transposones muy utilizados para la mutagénesis de *Escherichia coli* y otras bacterias relacionadas son Tn*5* (Figura 10.24*b*), que confiere resistencia a neomicina y kanamicina, y Tn*10*, que confiere resistencia a la tetraciclina. Muchas *Bacteria*, algunas *Archaea* y la levadura *Saccharomyces cerevisiae* han sido mutadas utilizando transposones modificados por ingeniería genética. Más recientemente, los transposones se han utilizado incluso para aislar mutaciones en animales, por ejemplo, ratones.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué características tienen en común las secuencias de inserción y los transposones?
- ¿Cuál es la importancia de las repeticiones invertidas terminales de los transposones?
- ¿Cómo pueden usarse los transposones en genética bacteriana?

10.12 Mantenimiento de la integridad del genoma: interferencia por CRISPR

Bacteria y *Archaea* no solo producen endonucleasas de restricción (↔ Secciones 8.6 y 11.1) que actúan para destruir el DNA extraño. Estás células también tienen un programa de defensa basado en RNA para destruir el DNA invasor de las infecciones víricas y algunas veces de la conjugación. Este tipo de «sistema inmunitario» procariótico ayuda a preservar la estabilidad del genoma y es conocido como el sistema CRISPR (del inglés, *clustered regularly interspaced short palindromic repeats*).

En un cromosoma bacteriano, la región CRISPR es esencialmente un banco de memoria de las secuencias entrantes de ácidos nucleicos que se emplean para la vigilancia del DNA foráneo. Dicha región comprende muchos segmentos diferentes de DNA foráneo llamados *espaciadores*, que se alternan con secuencias idénticas repetidas (**Figura 10.28**). Las secuencias espaciadoras se corresponden con fragmentos de DNA foráneo que ha invadido previamente la célula. Una vez que los espaciadores se han recombinado en la región CRISPR, el sistema brinda protección contra cualquier DNA entrante (y algunas veces RNA) que contenga la misma secuencia o una muy similar a una región espaciadora individual. Las proteínas del sistema CRISPR tienen funciones esenciales en esta «inmunidad» basada en RNA.

Las proteínas del sistema CRISPR, o proteínas Cas (del inglés, *CRISPR-associated proteins*), tienen dos funciones. Algunas

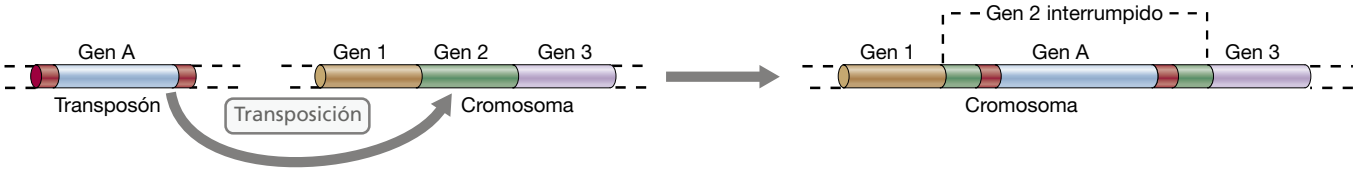


Figura 10.27 **Mutagénesis por transposón**. El transposón se desplaza al medio del gen 2. Así, el gen 2 queda interrumpido por el transposón y se inactiva. El gen A del transposón se expresa en el cromosoma.

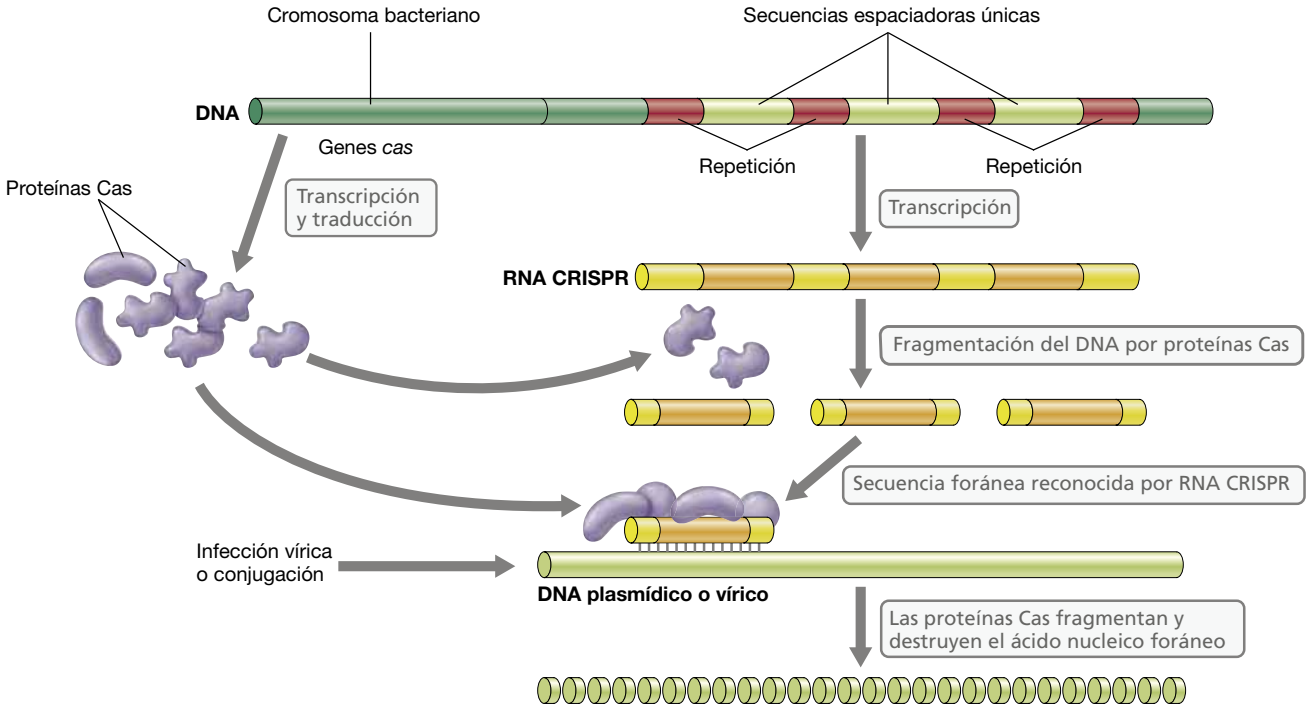


Figura 10.28 **Funcionamiento del sistema CRISPR**. La región CRISPR en el cromosoma bacteriano se transcribe como una molécula larga de RNA que es después procesada en segmentos por algunas de las proteínas Cas. Cada segmento espaciador se corresponde con encuentros previos con ácido nucleico foráneo entrante. Si una de estas moléculas cortas de RNA CRISPR (correspondiente a un espaciador) reconoce y se aparea con ácido nucleico entrante procedente de la transducción o la conjugación, otras proteínas Cas destruirán este ácido nucleico foráneo.

participan en captar y guardar los fragmentos de DNA foráneo como espaciadores mediante el reconocimiento de secuencias específicas de nucleótidos asociadas con los espaciadores. Otras proteínas utilizan la información almacenada de las secuencias para reconocer el DNA invasor y destruirlo. Las propias proteínas Cas están codificadas por genes que se localizan junto a las secuencias de DNA CRISPR (Figura 10.28).

La región CRISPR se transcribe como un todo en una molécula grande de RNA que es después cortada en el centro de cada una de las secuencias repetidas por la actividad nucleasa de las proteínas Cas. Así esta molécula grande de RNA se convierte en segmentos espaciadores de RNA pequeños llamados *CRISPR RNA* (*crRNA*). Si las bases de uno de estos crRNA se aparean con un ácido nucleico invasor, este DNA o RNA foráneo es destruido por la actividad nucleasa de otras proteínas Cas.

El sistema CRISPR está muy extendido tanto en *Archaea* como en *Bacteria*. Aproximadamente el 90 % de los genomas secuenciados de *Archaea* y el 70 % en *Bacteria* contienen el sistema CRISPR. La utilidad de este sistema fue demostrada por primera vez en la industria láctea en la cual los cultivos madre usados para la fermentación de la leche son susceptibles a una infección descontrolada por parte de bacteriófagos. Sin embargo, se encontró una cepa de *Streptococcus thermophilus* que era resistente a bacteriófagos virulentos. La diferencia entre esta cepa de *S. thermophilus* y las susceptibles a la infección vírica eran los espaciadores que tenía dentro de la región CRISPR. Aunque no se conoce por qué algunos virus no son afectados por el sistema CRISPR, experimentos de laboratorio han mostrado que los bacteriófagos pueden superar el reconocimiento por las proteínas Cas y los crRNAs modificando sus genomas mediante mutaciones.

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué se considera el sistema CRISPR un «sistema inmunitario» procariótico?
- ¿Con qué se corresponden los espaciadores que hay dentro de la región CRISPR?

IDEAS PRINCIPALES

10.1 • Una mutación es un cambio heredable en la secuencia del DNA que puede provocar un cambio en el fenotipo. Las mutaciones seleccionables son aquellas que dan al mutante una ventaja selectiva en determinadas condiciones ambientales, y son especialmente útiles en investigación genética. Si la selección no es posible, los mutantes pueden identificarse por cribado.

10.2 • Las mutaciones, que pueden ser espontáneas o inducidas, surgen por cambios en la secuencia de bases del ácido nucleico del genoma de un organismo. Una mutación puntual es debida al cambio en un solo par de bases. En una mutación sin sentido, el codón se convierte en un codón de parada y se sintetiza un polipéptido incompleto. Las deleciones e inserciones provocan cambios más drásticos en el DNA, por ejemplo, las mutaciones por desfase en el marco de lectura que, a menudo, tienen como resultado la pérdida completa de funcionalidad del gen.

10.3 • Diferentes clases de mutaciones se producen a frecuencias diferentes. Para una bacteria típica se encuentran normalmente frecuencias de mutación de entre 10^{-6} y 10^{-7} por par de kilobases. Aunque la DNA polimerasa y la RNA polimerasa cometen errores aproximadamente con la misma frecuencia, normalmente los genomas de RNA acumulan mutaciones con una frecuencia mucho mayor que los genomas de DNA.

10.4 • Los mutágenos son agentes químicos, físicos o biológicos que aumentan la frecuencia de mutación. Los mutágenos pueden alterar el DNA de muchas formas diferentes. No obstante, los cambios en el DNA no son mutaciones a menos que se transmitan por herencia. Algunos daños del DNA pueden causar la muerte de la célula si no son reparados, y existen dos sistemas de reparación, uno propenso al error y otro de alta fidelidad.

10.5 • La recombinación homóloga se produce cuando secuencias estrechamente relacionadas de DNA de dos elementos genéticos distintos se combinan y forman un solo elemento. La recombinación es un proceso evolutivo importante, y las células disponen de mecanismos específicos para asegurarse de que tiene lugar.

10.6 • Algunos procariotas presentan competencia, un estado en el que las células son capaces de captar DNA libre procedente de otras bacterias. Para la incorporación del DNA donador en una célula receptora es necesaria la actividad de una proteína de unión a cadena sencilla, la proteína RecA, y algunas otras enzimas. Solo las células competentes son transformables.

10.7 • La transducción es la transferencia de genes del hospedador de una bacteria a otra mediante un virus bacteriano. En la transducción generalizada, las partículas víricas defectivas incorporan fragmentos al azar de DNA del cromosoma de la célula, pero la eficacia de la transducción es baja. En la transducción especializada, el DNA de un virus atemperado se escinde incorrectamente y toma consigo genes adyacentes del hospedador; la eficacia de la transducción en estos casos puede llegar a ser muy alta.

10.8 • La conjugación es un mecanismo de transferencia de DNA en procariotas que requiere un contacto entre las células. La conjugación está controlada por genes que poseen determinados plásmidos (como el plásmido F) e implica la transferencia del plásmido de una célula donadora a una receptora. La transferencia del DNA del plásmido implica la replicación por círculo rodante.

10.9 • El cromosoma de la célula donadora se puede movilizar para la transferencia a una célula receptora. Para ello, es necesario que el plásmido F se integre en el cromosoma para formar el fenotipo Hfr. Debido a que la transferencia del cromosoma del hospedador rara vez es completa, la célula receptora casi nunca se convierte en F^+. Los plásmidos F′ son plásmidos F previamente integrados que, al escindirse, han capturado algunos genes cromosómicos.

10.10 • Las arqueas están muy por detrás de las bacterias en cuanto a la investigación para el desarrollo de sistemas de transferencia de genes. Muchos antibióticos son ineficaces frente a las *Archaea*, lo que hace difícil la selección de recombinantes. Además, las condiciones de crecimiento poco habituales necesarias para muchas *Archaea* dificultan la experimentación genética. Sin embargo, los sistemas de transferencia genética de las *Bacteria* —transformación, transducción y conjugación— también se han encontrado entre las *Archaea*.

10.11 • Los transposones y las secuencias de inserción son elementos genéticos que pueden moverse de una ubicación en una molécula de DNA hospedador a otra por transposición. La transposición puede ser replicativa o conservativa. A menudo los transposones contienen genes que codifican resistencia a antibióticos y pueden usarse como mutágenos biológicos.

10.12 • El sistema CRISPR (*clustered regularly interspaced short palindromic repeat*) es un mecanismo basado en RNA para proteger el genoma procariótico de DNA invasor resultado de la infección o la conjugación. Si moléculas de RNA pequeñas provenientes de las regiones espaciadora de una región CRISPR se unen por complementariedad a un DNA foráneo, las proteínas Cas destruyen este dúplex de ácido nucleico.

MasteringMicrobiology®

Revise lo que sabe y descubra lo que ha aprendido con MasteringMicrobiology. Acceda a material de estudio, revisiones de los capítulos, animaciones y tutoriales de microbiología práctica en el Área de Estudio y asegúrese de que ha asimilado todo el contenido de este capítulo.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Auxótrofo: organismo que ha desarrollado una necesidad nutricional, a menudo como resultado de una mutación.
Célula Hfr: célula con el plásmido F integrado en el cromosoma.
Cepa de tipo salvaje: cepa bacteriana aislada de la naturaleza o una empleada como parental en investigaciones genéticas.
Cepa mutadora: cepa mutante cuya frecuencia de mutación ha aumentado.
Conjugación: transferencia de genes de una célula procariota a otra mediante un mecanismo que implica el contacto entre las células.
Cribado (*screening*): proceso que permite la identificación de organismos por fenotipo o genotipo, pero no inhibe ni estimula el crecimiento de fenotipos o genotipos concretos.
Desplazamiento del marco de lectura: mutación en la cual la inserción o deleción de nucleótidos cambia el grupo de tres bases en la que se lee el código genético en un mRNA, lo que ocasiona normalmente un producto defectuoso.
Elemento transponible: elemento genético con capacidad para desplazarse (transponerse) de un sitio a otro en las moléculas del DNA hospedador.
Fenotipo: características observables de un organismo.
Genotipo: estructura genética completa de un organismo; descripción completa de la información genética de una célula.
Heterodúplex: doble hélice de DNA compuesta por cadenas sencillas de dos moléculas de DNA diferentes.
Mutación de cambio de sentido: mutación en la que se altera un solo codón, de modo que un aminoácido de la proteína es sustituido por un aminoácido diferente.
Mutación espontánea: mutación que ocurre «naturalmente», sin ayuda de sustancias mutágenas ni radiación.
Mutación inducida: mutación causada por agentes externos como sustancias mutagénicas o radiación.
Mutación puntual: mutación en un solo par de bases.
Mutación silenciosa: cambio en la secuencia del DNA que no tiene ningún efecto en el fenotipo.
Mutación sin sentido: mutación en la que el codón de un aminoácido se ha cambiado por un codón de parada.
Mutación: cambio heredable en la secuencia de bases del genoma de un organismo.
Mutágeno: agente que causa mutación.
Mutante: organismo cuyo genoma contiene una mutación.
Recombinación: una reordenación o reorganización de fragmentos de DNA que ocasiona una nueva combinación de la secuencia.
Reparación SOS: un sistema de reparación del DNA activado por daño en el DNA.
Replicación por círculo rodante: mecanismo de replicación del DNA circular bicatenario que empieza cortando y desenrollando una cadena y utiliza la otra (todavía circular) como molde para la síntesis de DNA.
Reversión: cambio en el DNA que revierte los efectos de una mutación anterior.
Secuencia de inserción (IS): el tipo más sencillo de elemento transponible, que contiene solo genes implicados en la transposición.
Selección: proceso por el que se someten organismos a condiciones en las que el crecimiento de los que presentan un fenotipo o genotipo concreto serán favorecidos o inhibidos.
Transducción: transferencia de genes de la célula hospedadora a otra mediante un virus.
Transformación: transferencia de genes bacterianos en la que interviene DNA libre.
Transición: mutación en la que una base pirimidínica es sustituida por otra base pirimidínica o una púrica es sustituida por otra púrica.
Transposón: clase de elemento transponible que contiene genes adicionales a los que intervienen en la transposición.
Transversión: mutación en la que una base pirimidínica es sustituida por una púrica o viceversa.

PREGUNTAS DE REPASO

1. Escriba una definición de una sola frase para el término «genotipo» y otra para «fenotipo». ¿Cambia automáticamente el fenotipo de un organismo cuando se produce un cambio en el genotipo? ¿Por qué? ¿Por qué no? ¿Puede cambiar el fenotipo sin que se produzca un cambio en el genotipo? En ambos casos, dé ejemplos que apoyen su respuesta. (Sección 10.1)
2. Explique por qué una cepa de *E. coli* que es His^- es auxótrofa y una Lac^- no lo es. (*Pista:* tenga en cuenta cómo metaboliza *E. coli* la histidina y la lactosa y para qué se utiliza cada compuesto). (Sección 10.1)
3. ¿Qué son las mutaciones silenciosas? A partir de su conocimiento del código genético, ¿por qué cree que la mayoría de las mutaciones silenciosas afectan a la tercera posición de un codón? (Sección 10.2)
4. ¿Cuál es la frecuencia media de mutación en una célula? ¿Puede cambiar esa frecuencia? (Sección 10.3)
5. Dé un ejemplo de un mutágeno biológico, uno químico y uno físico y describa el mecanismo por el que cada uno causa la mutación. (Sección 10.4)
6. ¿Qué es una región heterodúplex de DNA y qué proceso conduce a su formación? (Sección 10.5)
7. Explique por qué las células receptoras no toman plásmidos eficientemente durante la transformación natural. (Sección 10.6)
8. Explique en qué se diferencia una partícula transductora generalizada de una partícula transductora especializada. (Sección 10.7)
9. ¿Qué es un pelo sexual y qué células, F^- o F^+ producen esta estructura? (Sección 10.8)
10. ¿Qué tiene que hacer una célula F^+ antes de transferir genes cromosómicos? (Sección 10.9)

11. Por qué es difícil la selección genética cuando se estudian las arqueas. Dé ejemplos de agentes selectivos que funcionan bien con arqueas. (Sección 10.10)
12. ¿Cuáles son las diferencias principales entre las secuencias de inserción y los transposones? (Sección 10.11)
13. Explique por qué un DNA entrante reconocido por una molécula pequeña de RNA expresada por la región CRISPR no puede ser completamente extraño para la célula. (Sección 10.12)

EJERCICIOS PRÁCTICOS

1. Un mutante constitutivo es una cepa que sintetiza continuamente una proteína que es inducible en el tipo salvaje. Describa dos modos por los que un cambio en una molécula de DNA podría conducir a la aparición de un mutante constitutivo. ¿Cómo podrían estos dos tipos de mutantes constitutivos distinguirse genéticamente?
2. Se conoce un gran número de sustancias químicas mutágenas pero ninguna que induzca mutaciones en un solo gen (mutagénesis específica de gen). Con lo que sabe sobre mutagénesis, explique por qué es improbable que se encuentre una sustancia mutagénica específica de gen. ¿Cómo se lleva a cabo entonces la mutagénesis específica de sitio?
3. ¿Por qué es difícil en un único experimento transferir un número grande de genes a una célula receptora mediante transformación o transducción?
4. Los elementos transponibles causan mutaciones cuando se insertan en un gen, porque interrumpen la continuidad de este. Los intrones también interrumpen la continuidad de un gen, y sin embargo dicho gen sigue siendo funcional. Explique por qué la presencia de un intrón en un gen no lo desactiva y sin embargo la inserción de un elemento transponible sí lo hace.

CAPÍTULO

11 · Ingeniería genética y biotecnología

microbiología **actual**

De patógeno a asesino de tumores

Los avances de vanguardia de la biotecnología no solo han brindado información esencial sobre la biología básica de la vida, también han sido piedras angulares en la mejora de productos naturales. Se han usado técnicas moleculares para diseñar la producción de biocombustibles, obtener cultivos más resistentes a la sequía, y modificar hormonas tales como la insulina. Pero, ¿hay alguna esperanza también en enfermedades humanas como el cáncer?

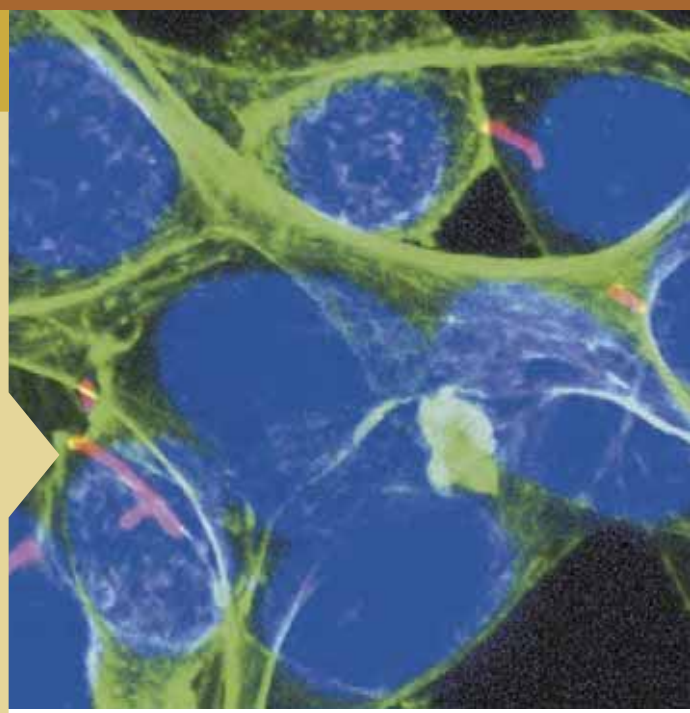
El cáncer de páncreas es una de las causas principales de muerte por cáncer. Los tratamientos actuales de quimioterapia y radioterapia son ineficaces, con una supervivencia muy baja. Aunque existen fármacos para combatir el cáncer, solamente prolongan el tiempo de supervivencia de los pacientes en una fase avanzada de la enfermedad. Por tanto, se necesitan urgentemente tratamientos alternativos, y la biotecnología está acudiendo al rescate.

Listeria monocytogenes es un patógeno que causa listeriosis, una enfermedad grave de transmisión alimentaria. Esta bacteria tiene un ciclo de vida intracelular que le permite eludir el sistema inmunitario humano. Sin embargo, se ha descubierto que el sistema inmunitario puede eliminar de las células sanas una cepa recombinante con virulencia atenuada pero no puede eliminarla de las células tumorales. Esto ha llevado a una idea genial: ¿podría esta cepa de *L. monocytogenes* ser usada para introducir directamente en las células tumorales agentes anticancerígenos, como la terapia con radionúclidos?

Los radionúclidos pueden destruir físicamente las células cancerosas, pero liberar estas moléculas específicamente en las células tumorales ha sido un problema. Siguiendo este ingenioso plan, los científicos unieron el radionúclido ^{188}Renio a una cepa atenuada de *L. monocytogenes*[1]. Esta cepa «destructora de tumores» de *Listeria* (color rosa en la fotografía) además de infectar células pancreáticas tumorales de ratón (azul) y de replicarse en su interior, redujo la incidencia de metástasis sin dañar las células pancreáticas normales.

Esta investigación demuestra como la microbiología y la biotecnología pueden unirse para «domar» una bacteria virulenta y convertirla en un superhéroe terapéutico.

[1]Quispe-Tintaya, W., *et al.* 2013. Nontoxic radioactive *Listeria*^{at} is a highly effective therapy against metastatic pancreatic cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA 110*: 8668-8673.



I Métodos de manipulación del DNA 336

II Clonación génica 346

III Productos de microorganismos modificados genéticamente 354

En este capítulo estudiaremos las técnicas básicas de la ingeniería genética, en concreto las que se usan para clonar genes, modificar genes y expresarlos eficazmente en organismos hospedadores. Realizar experimentos de genética *in vivo* (en organismos vivos) tiene muchas limitaciones que se pueden superar manipulando el DNA *in vitro* (en un tubo de ensayo). Estas técnicas moleculares son la base de la biotecnología. Hacia el final de este capítulo brindaremos algunos ejemplos de cómo pueden usarse los organismos modificados genéticamente pueden para aplicaciones en la industria, la medicina y la agricultura.

I • Métodos de manipulación del DNA

La **ingeniería genética** se refiere al uso de técnicas in vitro para modificar genes en el laboratorio. Estos genes modificados pueden reinsertarse después en el organismo original o en algún otro organismo hospedador. Para la ingeniería genética es necesario poder aislar el DNA en fragmentos específicos y purificar dichos fragmentos para su manipulación posterior. Empezaremos considerando las herramientas básicas de ingeniería genética, que comprenden las enzimas de restricción, la separación de ácidos nucleicos por electroforesis, la hibridación de ácidos nucleicos, amplificación del DNA y la clonación molecular.

11.1 Enzimas de restricción y separación de los ácidos nucleicos

Todas las células contienen enzimas que pueden modificar la composición química del DNA. Una de las clases principales de estas enzimas la constituyen las *endonucleasas de restricción*, o **enzimas de restricción**. Dichas enzimas reconocen secuencias de bases específicas en el DNA (secuencias de reconocimiento) y escinden el enlace fosfodiéster, ocasionando un corte en la cadena doble. Aunque están muy extendidas tanto en *Bacteria* como en *Archaea*, son muy raras en los eucariotas. Indudablemente, las enzimas de restricción protegen a los procariotas del DNA anómalo foráneo, como los genomas víricos. No obstante, las enzimas de restricción se usan también para la manipulación in vitro del DNA y son una herramienta fundamental de la ingeniería genética.

Mecanismo de acción de las enzimas de restricción

Las endonucleasas de restricción se dividen en tres clases principales. Las enzimas de restricción de tipo I y III se unen al DNA en sus secuencias de reconocimiento pero lo cortan a alguna distancia de aquellas. En cambio, las enzimas de restricción de tipo II cortan el DNA en el interior de las secuencias de reconocimiento, lo que hace que este grupo de enzimas sea mucho más útil para la manipulación específica del DNA.

La mayoría de las secuencias de DNA reconocidas por las enzimas de restricción de tipo II son repeticiones invertidas cortas de entre 4 y 8 pares de bases. En la **Figura 11.1** se muestran dos secuencias de 6 pares de bases a las que dos enzimas de restricción de tipo II de *Escherichia coli* diferentes reconocen y cortan. Los sitios de corte están indicados por flechas. Obsérvese que las dos cadenas de la secuencia de reconocimiento tienen la misma secuencia si se leen en sentido opuesto (es decir, si ambas se leen en sentido 5′ → 3′). Estas secuencias de repeticiones invertidas se llaman *palíndromos*. La actividad endonucleasa de *Eco*RI (el acrónimo viene de E*scherichia co*li, cepa RY13, enzima de restricción *I*) hace cortes escalonados, que dejan cadenas sencillas cortas con unos extremos sobresalientes, que se conocen como extremos cohesivos o «que se pueden pegar», en los dos fragmentos. Otras enzimas de restricción como *Eco*RV realizan los cortes en ambas cadenas del DNA directamente uno enfrente del otro, generando extremos romos (Figura 11.1*a*). Como se detalla a continuación, estos fragmentos con extremos cohesivos son ventajosos para la clonación molecular del DNA (véase Figura 11.7).

Consideremos una vez más las enzimas *Eco*RI y *Eco*RV, que reconocen una secuencia específica de 6 bp (Figura 11.1). Cualquier secuencia específica de 6 bases debería aparecer en una cadena de DNA aproximadamente una vez cada 4.096 nucleótidos de promedio ($4.096 = 4^6$; hay 4 posibles bases en cada una de las 6 posiciones), suponiendo que las cuatro bases

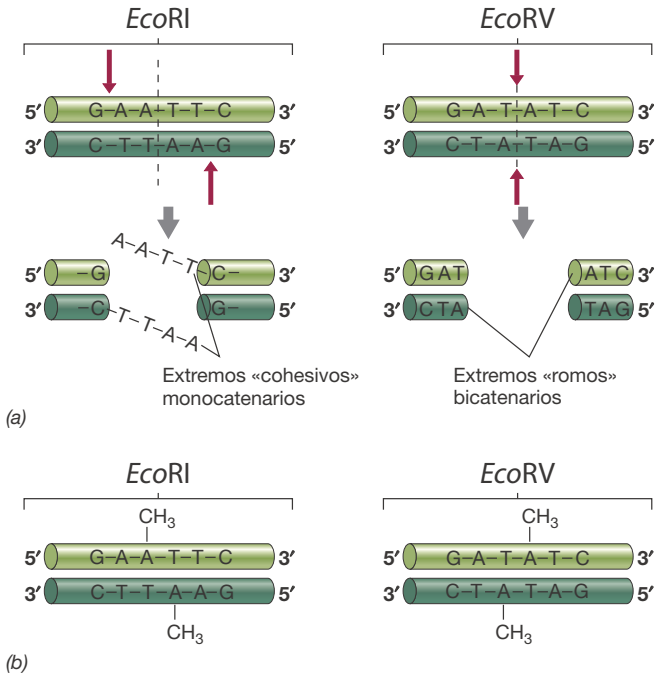


Figura 11.1 Restricción y modificación del DNA. *(a)* (Panel superior) Secuencias de DNA reconocidas por las endonucleasas de restricción *Eco*RI y *Eco*RV. Las flechas rojas indican los enlaces que corta la enzima. La línea discontinua indica el eje de simetría de la secuencia. (Panel inferior) Aspecto del DNA cortado por las enzimas de restricción. Obsérvense los extremos «cohesivos» monocatenarios generados por *Eco*RI y los extremos «romos» generados por *Eco*RV. *(b)* Las mismas secuencias tras ser modificadas por la metilasa correspondiente. Se muestran los grupos metilo añadidos por estas enzimas, que protegen el sitio de restricción del corte por *Eco*RI y *Eco*RV.

puedan aparecer en una posición a determinada con la misma frecuencia y que la proporción de G+C en el DNA sea del 50 %. Por tanto, en una molécula larga de DNA debería haber varios sitios de corte de *Eco*RI y *Eco*RV. Se conocen varios miles de enzimas de restricción con especificidades diferentes, muchas de las cuales están disponibles comercialmente. En la Tabla 11.1 se indican algunas de estas enzimas y sus secuencias de reconocimiento.

Modificación: protección frente a la restricción

La función natural de las enzimas de restricción en la célula es, probablemente, proteger a la célula de la invasión de DNA foráneo, especialmente DNA vírico. Si un DNA foráneo entra en la célula, las enzimas de restricción lo destruirán (Sección 8.6). Sin embargo, una célula debe proteger su propio DNA de la destrucción inadvertida por sus propias enzimas de restricción. Esta protección se obtiene gracias a las **enzimas de modificación**. Cada enzima de restricción está acompañada por la enzima de modificación correspondiente, con la que tiene en común la misma secuencia de reconocimiento. Estas enzimas modifican químicamente nucleótidos específicos en las secuencias de reconocimiento de la restricción, en el DNA de la propia célula. Las secuencias modificadas ya no pueden ser cortadas por las propias enzimas de restricción. Normalmente, la modificación consiste en la metilación de bases específicas dentro de la secuencia de reconocimiento, lo que impide que la endonucleasa de restricción se una a ella. Por ejemplo, las secuencias reconocidas por las enzimas de restricción *Eco*RI y *Eco*RV (Figura 11.1*a*) se pueden modificar por metilación de las dos adeninas más interiores (Figura 11.1*b*). Las enzimas que llevan a cabo esta modificación son llamadas *metilasas*. Solo con que una de las dos cadenas esté modificada, la secuencia de reconocimiento deja de ser sustrato para la enzima de restricción correspondiente.

Tabla 11.1 Secuencias de reconocimiento de algunas endonucleasas de restricción

Organismo	*Nombre de la enzima*[a]	*Secuencia de reconocimiento*[b]
Bacillus globigii	*Bgl*II	A↓GATCT
Brevibacterium albidum	*Bal*I	TGG↓C*CA
Escherichia coli	*Eco*RI	G↓AA*TTC[c]
Escherichia coli	*Eco*RV	GAT↓A*TC[c]
Haemophilus haemolyticus	*Hha*I	GC*G↓C
Haemophilus influenzae	*Hind*III	A↓AGCTT
Klebsiella pneumoniae	*Kpn*I	GGTAC↓C
Nocardia otitidiscaviarum	*Not*I	GC↓GGC*CGC
Proteus vulgaris	*Pvu*I	CGAT↓CG
Serratia marcescens	*Sma*I	CCC↓GGG
Thermus aquaticus	*Taq*I	T↓CGA*

[a]Nomenclatura: La primera letra de la abreviatura de tres letras de una endonucleasa de restricción designa el género del que procede la enzima; las siguientes dos letras, la especie. El número romano indica el orden de descubrimiento de la enzima en ese organismo concreto, y cualquier otra letra adicional es una designación de la cepa.
[b]Las flechas indican el sitio de ataque enzimático. Los asteriscos indican el sitio de metilación (modificación) G, guanina; C, citosina; A, adenina; T, timina. Solo se muestra la secuencia 5′ → 3′.
[c]Véase la Figura 11.1*a*.

Electroforesis en gel: separación de las moléculas de DNA

Para la manipulación de ácidos nucleicos in vitro a menudo es necesario separar estas moléculas según su tamaño. Por ejemplo, muchas enzimas de restricción cortan las moléculas de DNA en segmentos que varían en longitud desde varios cientos hasta varios miles de pares de bases. Una vez cortado el DNA, los fragmentos generados pueden separarse entre sí por **electroforesis en gel** y analizarse. La electroforesis en gel se usa también para verificar que la amplificación de un ácido nucleico se ha realizado correctamente (Sección 11.3).

La electroforesis es una técnica que separa las moléculas cargadas que migran en un campo eléctrico. La velocidad de migración está determinada por la carga de la molécula y por su tamaño y su forma. En la electroforesis en gel (**Figura 11.2*a***) las moléculas se separan en un gel poroso. Los geles de *agarosa*, un polisacárido, se utilizan para separar fragmentos de DNA. Cuando se aplica una corriente eléctrica, los ácidos nucleicos se mueven por el gel hacia el electrodo positivo a causa de sus grupos fosfato cargados negativamente. La presencia de la malla que forma el gel dificulta el progreso del DNA, y las moléculas pequeñas o compactas migran más rápidamente que las grandes. Cuanto mayor es la concentración de agarosa en el gel, mayor será la resistencia que encuentren las moléculas grandes para desplazarse. Por tanto, geles con diferentes concentraciones de agarosa se emplean para separar moléculas con diferentes rangos de tamaños.

Transcurrido el tiempo suficiente para separar las moléculas de DNA, el gel se puede teñir con un compuesto que se una al DNA, como el *bromuro de etidio*, y el DNA emitirá fluorescencia bajo la radiación ultravioleta (Figura 11.2*b*). Para estimar el tamaño del DNA de interés, su migración puede compararse con una muestra control consistente en fragmentos de DNA de tamaños conocidos, llamado el *DNA marcador*. Después de la electroforesis, los fragmentos de DNA se pueden purificar del gel y utilizarse con objetivos variados.

MINIRREVISIÓN

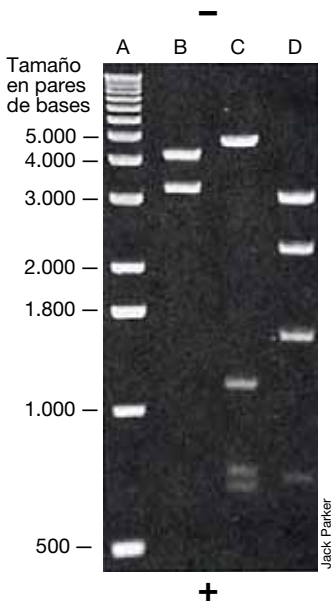
- ¿Por qué son útiles las enzimas de restricción para la biología molecular?
- ¿Cuál es la base de la separación de moléculas por electroforesis?

11.2 Hibridación de ácidos nucleicos

Cuando el DNA se desnaturaliza (es decir, que las dos cadenas se separan), las cadenas sencillas pueden formar moléculas bicatenarias con otras moléculas de DNA (o RNA) monocatenarias, mediante el apareamiento complementario (o casi complementario) de sus bases (↩ Sección 4.2). Este fenómeno recibe el nombre de *hibridación de los ácidos nucleicos*, o **hibridación**, para abreviar, y es muy utilizado para detectar, caracterizar e identificar segmentos de DNA y RNA.



(a)



(b)

Figura 11.2 **Electroforesis del DNA en gel de agarosa**. *(a)* Las muestras de DNA se cargan en pocillos en un gel de agarosa sumergido. *(b)* Fotografía de un gel de agarosa teñido. El DNA se ha cargado en pocillos en la parte superior del gel (polo negativo), y el electrodo positivo está en la parte inferior. La muestra patrón en el carril A (DNA marcador) tiene fragmentos de tamaño conocido, que se usan para determinar el tamaño de los fragmentos en los otros carriles. Las bandas se tiñen menos intensamente en la parte inferior del gel porque los fragmentos son más pequeños, y por tanto hay menos DNA que teñir.

Los segmentos de ácidos nucleicos monocatenarios cuya identidad ya se conoce y que se utilizan en la hibridación se llaman **sondas de ácidos nucleicos** o, simplemente, *sondas*. Para favorecer la detección, las sondas pueden ser radiactivas o ir marcadas con sustancias químicas coloreadas o que generen productos fluorescentes (↻ Sección 18.4). Variando las condiciones de hibridación es posible ajustar la «astringencia» de la hibridación, de tal modo que el apareamiento complementario de las bases sea casi exacto. Esto ayudará a evitar apareamientos no específicos entre secuencias de ácido nucleico que sean solo parcialmente complementarias.

Transferencia Southern y Northern

La hibridación puede resultar muy útil para encontrar secuencias relacionadas en genomas diferentes u otros elementos genéticos, o para determinar si un gen se expresa en un transcrito de RNA. En la *transferencia Southern*, se hibridan sondas de secuencia conocida con fragmentos de DNA diana que se han separado por electroforesis en gel (Sección 11.1). El procedimiento de hibridación en el cual el DNA diana está en el gel y la sonda es DNA o RNA se llama **transferencia Southern**. Por otra parte, cuando en el gel hay RNA diana y la sonda para detectar la expresión de un gen es DNA o RNA, el procedimiento se llama **transferencia Northern**.

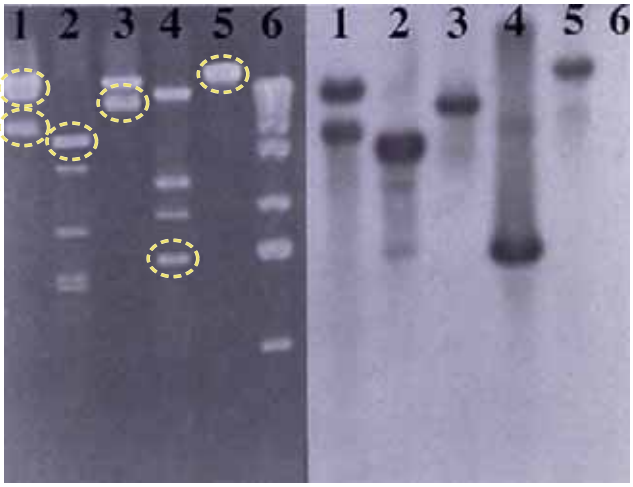
En una transferencia Southern, los fragmentos de DNA del gel primero son desnaturalizados para generar cadenas monocatenarias, que son transferidas a una membrana sintética. Aunque el RNA es ya monocatenario, se añade al gel un agente desnaturalizante para impedir la formación de estructuras secundarias (↻ Sección 4.7). A continuación se expone la membrana a una sonda marcada. Si la sonda es complementaria de alguno de los fragmentos, se forman los híbridos, y la sonda se une a la membrana en las ubicaciones de los fragmentos complementarios. La hibridación se puede detectar monitorizando la sonda marcada que se ha unido a la membrana. En la **Figura 11.3*a*** se muestra cómo se puede utilizar una transferencia Southern para identificar fragmentos de DNA que contienen secuencias que se hibridan con la sonda.

El proceso de transferencia Northern es similar excepto que, en vez de moléculas de DNA, en el gel se separan moléculas de RNA, que son transferidas a una membrana sintética donde son detectadas con una sonda. Esta técnica se usa frecuentemente para identificar RNA mensajero (mRNA) derivado de genes específicos. La intensidad de una transferencia Northern nos da una estimación aproximada de la abundancia del mRNA de un gen determinado y puede ser por tanto empleada para monitorizar la transcripción (Figura 11.3*b*).

Otros métodos de hibridación

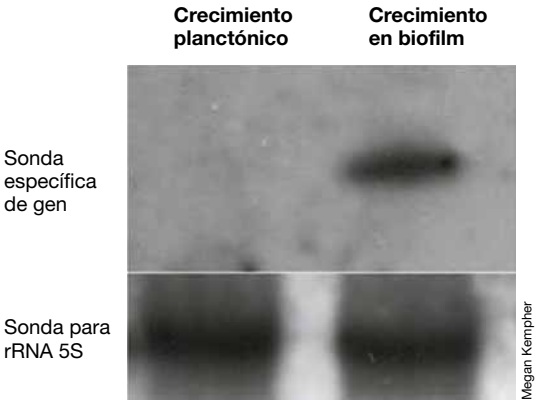
La hibridación se emplea con frecuencia para detectar la presencia de genes específicos en genomas que no han sido aún secuenciados, así como el movimiento de elementos genéticos como los transposones (↻ Sección 10.11). Para encontrar la posición específica en un genoma del gen que interesa, se puede clonar todo el DNA genómico (Sección 11.4). La hibridación en las colonias resultantes usando una sonda de ácido nucleico puede detectar el DNA recombinante en las colonias, como se muestra en la Figura 11.8*a*. Este procedimiento emplea la técnica de *replicación en placa* para obtener un duplicado de la placa madre en un filtro de membrana. Las células son lisadas sobre el filtro para liberar su DNA, y se trata el filtro para separar las dos cadenas del DNA y fijarlas en el filtro. Este filtro se expone luego a las sondas de ácido nucleico marcadas para facilitar la hibridación, y las sondas que no se unen son eliminadas mediante lavados. Si se ha usado una sonda radiactiva, el filtro se cubre con una película de rayos X. Después se revela y se analizan las marcas o manchas en la película de rayos X. Las colonias que se correspondan con manchas en la película son las que se seleccionarán para estudios posteriores.

La hibridación es también el fundamento de la técnica de hibridación fluorescente *in situ* (FISH, del inglés *fluorescence*



Laurie Achenbach

(a)

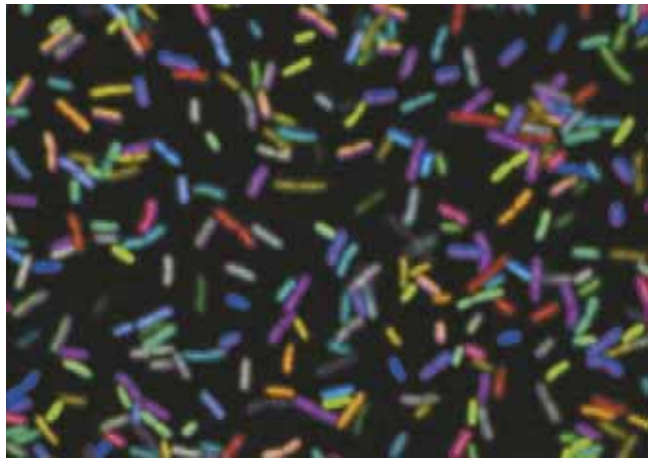


Megan Kempher

(b)

Figura 11.3 Hibridación de ácidos nucleicos. *(a)* Transferencia Southern. (Panel izquierdo) Moléculas de DNA purificado de varios plásmidos se trataron con enzimas de restricción y se sometieron a electroforesis en gel de agarosa. (Panel derecho) Transferencia Southern del gel de DNA que se muestra a la izquierda. Tras la transferencia, el DNA del gel se hibridó con una sonda radioactiva. Las posiciones de las bandas se visualizaron por autorradiografía de rayos X. Obsérvese que solo algunos fragmentos del DNA (rodeados en amarillo) tienen secuencias complementarias a la sonda marcada. El carril 6 contiene el DNA utilizado como marcador de tamaños, y ninguna de las bandas se hibridó con la sonda. *(b)* Transferencia Northern. (Panel superior) Hibridación y detección de una sonda radioactiva específica de gen en una transferencia de RNA total. La sonda solo se une al RNA en células que crecen formando biofilms, lo que indica que el gen diana no se expresa durante el crecimiento planctónico (en suspensión). (Panel inferior) Hibridación y detección de una sonda radioactiva que se corresponde con el rRNA 5S en la misma transferencia del panel superior. La intensidad de la señal indica que existen cantidades iguales de RNA para cada muestra que fue aplicada en el gel.

in situ hybridization) (↻ Sección 18.4, Figura 11.4). Usando esta técnica se pueden unir covalentemente a sondas de oligonucleótidos (moléculas cortas de DNA o RNA monocatenarias) una variedad de señales fluorescentes diferentes para detectar secuencias específicas de DNA. Estas sondas pueden usarse para identificar especies concretas o cepas bacterianas por hibridación a secuencias características en sus genes para el RNA ribosómico 16S o directamente a su RNA ribosómico



Alex Valm and Gary Bonsy, Marine Biological Laboratory, Woods Hole, MA

Figura 11.4 Imagen espectral de fluorescencia de 28 cepas de *Escherichia coli* marcadas de modo diferente. Las células fueron marcadas con diferentes combinaciones de oligonucleótidos conjugados a fluoróforos que son complementarios al rRNA 16S de *E. coli*.

(rRNA). Este enfoque permite la identificación de patógenos en muestras clínicas o bacterias de interés en muestras ambientales. La Figura 11.4 muestra el uso simultáneo de ocho sondas diferentes de oligonucleótidos combinadas para distinguir entre 28 cepas diferentes de *Escherichia coli* cuyas secuencias del rRNA 16S varían solo un poco entre las cepas. La variación en el color da una indicación visual de la especificidad y el poder de las sondas de ácidos nucleicos.

MINIRREVISIÓN

- Mencione algunas aplicaciones de la hibridación de ácidos nucleicos en la biología molecular.
- ¿Cuál es la diferencia entre la transferencia Southern y la transferencia Northern?

11.3 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

La **reacción en cadena de la polimerasa** (**PCR** del inglés *polymerase chain reaction*) es en esencia la replicación del DNA in vitro. La PCR puede copiar segmentos de DNA hasta miles de millones de veces en un tubo de ensayo, un proceso llamado *amplificación*, que genera grandes cantidades de genes específicos u otros segmentos de DNA para toda una serie de aplicaciones en biología molecular. La PCR utiliza la enzima DNA-polimerasa, que copia moléculas de DNA de manera natural (↻ Sección 4.4). Se utilizan oligonucleótidos sintéticos como cebadores (Sección 11.5) para iniciar la síntesis del DNA, pero están hechos de DNA (a diferencia de los cebadores usados por la célula, que son de RNA). La PCR no copia realmente moléculas enteras de DNA sino que amplifica fragmentos específicos de hasta unos miles de pares de bases (la secuencia *diana*) a partir de una molécula más grande de DNA (el *molde*).

Las etapas de la amplificación del DNA por PCR son las siguientes (Figura 11.5):

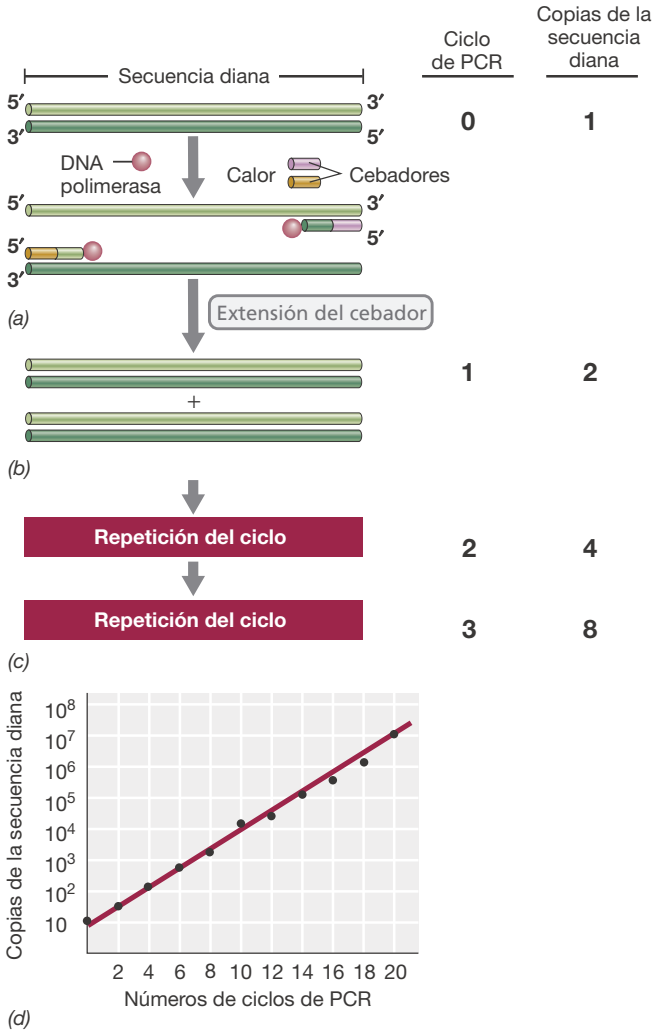


Figura 11.5 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La PCR amplifica secuencias específicas de DNA. *(a)* Se calienta el DNA diana para separar las cadenas, y se añade DNA polimerasa junto con dos oligonucleótidos cebadores en exceso, uno complementario a cada cadena. *(b)* Después del primer apareamiento, la extensión del cebador proporciona una copia del DNA bicatenario original. *(c)* Dos ciclos más de PCR producen cuatro y ocho copias, respectivamente de la secuencia original de DNA. *(d)* Efecto de correr 20 ciclos de PCR en una preparación de DNA que originalmente contenía diez copias del gen diana. Obsérvese que la gráfica es semilogarítmica.

1. El DNA molde se desnaturaliza por calor.
2. Se añaden, en exceso, dos cebadores de oligonucleótidos de DNA artificiales, que flanquean la secuencia diana en cada cadena. Esto garantiza que al enfriarse la mezcla la mayoría de las cadenas molde se aparean con un cebador y no entre sí (Figura 11.5*a*).
3. A continuación, la DNA-polimerasa extiende los cebadores usando el DNA original como molde (Figura 11.5*b*).
4. Tras un período de incubación adecuado, la mezcla se calienta de nuevo para separar las cadenas, pero ahora la secuencia diana está presente en el doble de la cantidad original. Después, la mezcla se enfría para permitir la hibridación de los cebadores con las regiones complementarias del DNA recién sintetizado, y se repite todo el proceso (Figura 11.5*c*).

La PCR es una herramienta poderosa que ha revolucionado toda la biología. Es fácil de realizar, extremadamente sensible, específica y muy eficaz. Durante cada ciclo de amplificación la cantidad de DNA diana original se duplica, lo que provoca un aumento exponencial en el DNA. En la práctica se realizan normalmente de 20 a 30 ciclos, lo que produce un aumento en la secuencia diana de 10^6 a 10^9 veces (Figura 11.5*d*). En pocas horas, se pueden obtener grandes cantidades de DNA a partir de unas pocas moléculas diana en una máquina automática para PCR llamada *termociclador*. Mediante cebadores específicos de unos 15 nucleótidos y temperaturas de hibridación altas, la PCR es tan específica que prácticamente no hay uniones inespecíficas de los cebadores y por tanto el DNA amplificado es prácticamente homogéneo.

PCR y polimerasas

Debido a las altas temperaturas necesarias para desnaturalizar las copias de doble cadena de DNA in vitro, se utiliza una DNA-polimerasa termoestable aislada de la bacteria termófila de fuentes termales *Thermus aquaticus* (↻ Sección 15.20). La DNA polimerasa de *T. aquaticus*, llamada *polimerasa Taq*, es estable a 95 °C y, por tanto, no se ve afectada por la fase de desnaturalización utilizada en la PCR. La DNA-polimerasa de *Pyrococcus furiosus*, un hipertermófilo con una temperatura de crecimiento óptima de 100 °C (↻ Sección 16.4) se llama *polimerasa Pfu* y es aún más termoestable que la polimerasa *Taq*. Además, a diferencia de la polimerasa *Taq*, la polimerasa *Pfu* tiene actividad de corrección de errores (↻ Sección 4.6), lo que hace de ella una enzima especialmente útil cuando resulta crucial una alta precisión. Así, la frecuencia de error de la polimerasa *Taq* en condiciones estándar es de $8{,}0 \times 10^{-6}$ (por base duplicada), mientras que la de la polimerasa *Pfu* es de solo $1{,}3 \times 10^{-6}$. Para satisfacer la demanda de DNA polimerasas termoestables en el mercado, los genes de estas enzimas se han clonado en *Escherichia coli* para poder producir estas enzimas en grandes cantidades.

Aplicaciones de la PCR

La PCR es extremadamente valiosa para obtener DNA para la clonación de genes o con fines de secuenciación, porque el gen o los genes de interés se pueden amplificar fácilmente si se conocen las secuencias que los flanquean. También se utiliza rutinariamente en estudios comparativos o filogenéticos para amplificar genes de diversas procedencias. En estos casos, se producen comercialmente los cebadores para regiones del gen cuya secuencia está conservada en una gran variedad de organismos. Por ejemplo, como el rRNA 16S, una molécula utilizada en análisis filogenéticos tiene regiones muy conservadas y otras muy variables (↻ Sección 12.5), los cebadores específicos para el gen del rRNA 16S de varios grupos taxonómicos se pueden sintetizar y utilizar para analizar diferentes hábitats en busca de grupos específicos de organismos. Esta técnica se usa mucho en ecología microbiana y ha demostrado la enorme diversidad del mundo microbiano, gran parte del cual aún no se ha cultivado (↻ Sección 18.5).

Al tratarse de una técnica muy sensible, la PCR se puede utilizar para amplificar cantidades muy pequeñas de DNA. Por ejemplo, se ha utilizado para amplificar y clonar DNA de procedencias tan variadas como restos humanos momificados y plantas y animales fosilizados. La capacidad de la PCR

para amplificar y analizar DNA de mezclas celulares también ha hecho de ella una técnica habitual en la microbiología diagnóstica (↔ Sección 27.10). También se ha utilizado en ciencias forenses para identificar personas a partir de muestras muy pequeñas de su DNA.

Se han desarrollado variaciones de la técnica estándar de PCR según los objetivos moleculares. La PCR con **transcripción inversa** (RT-PCR) puede emplearse para sintetizar DNA a partir de un mRNA molde (Figura 11.6). Este procedimiento se puede utilizar para detectar si un gen se expresa o para producir genes eucarióticos libres de intrones para su expresión en bacterias, como describiremos en la Sección 11.11 para las hormonas insulina y somatotropina. La RT-PCR utiliza la enzima retrovírica *transcriptasa inversa* para convertir RNA en su *DNA complementario* (cDNA) (↔ Sección 9.11). También se puede utilizar un procedimiento conocido como *PCR cuantitativa* (*qPCR*) para cuantificar la cantidad inicial de DNA o RNA problema en una muestra. Esta técnica utiliza sondas marcadas con fluorescencia para monitorizar el proceso de amplificación (↔ Figuras 27.18 y 27.19).

La Figura 11.6 muestra cómo la transcriptasa inversa sintetiza una cadena sencilla de cDNA a partir de un molde de RNA. Cuando sintetiza DNA usando RNA como molde, la enzima transcriptasa inversa utiliza, para iniciar la síntesis, un cebador complementario en el extremo 3′ del transcrito diana. Si el molde es un mRNA eucariótico, se utiliza un cebador complementario con la cola de poli(A) (↔ Sección 4.9) del mRNA. La actividad de la transcriptasa inversa ocasiona una molécula de ácido nucleico híbrida formada por DNA y RNA. La RNasaH, una ribonucleasa específica para esta molécula híbrida, hidroliza el RNA, dejando el cDNA como molde para una PCR estándar que utiliza un cebador adicional complementario con el extremo 5′. Este procedimiento puede modificarse si se desconoce la secuencia del extremo 5′ del mRNA.

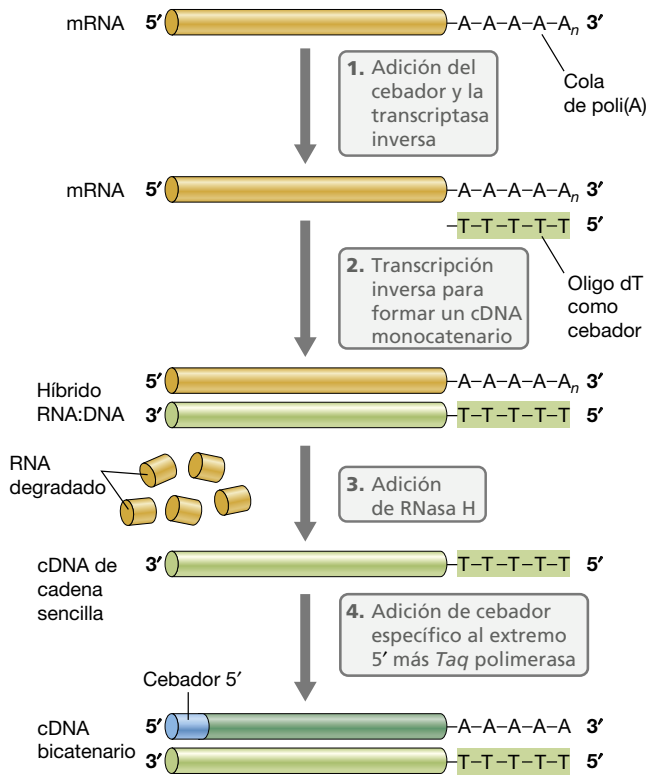


Figura 11.6 PCR con transcriptasa inversa. Etapas de la síntesis de cDNA a partir de mRNA eucariótico. La transcriptasa inversa sintetiza una molécula híbrida que contiene RNA y DNA usando el mRNA como molde y un cebador oligo(T) como sustrato. Posteriormente, la enzima RNasa H hidroliza la fracción de RNA de la molécula híbrida produciendo una molécula de DNA monocatenario complementario (cDNA). Después de añadir un cebador complementario al extremo 5′ del cDNA, la *Taq* polimerasa produce un cDNA bicatenario.

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué es necesario un cebador en cada extremo del segmento de DNA que se amplifica por PCR?
- ¿De qué organismos se obtienen las DNA-polimerasas termoestables?
- ¿En qué se diferencia la RT-PCR de la PCR estándar?

11.4 Fundamentos de clonación molecular

En la **clonación molecular** se aísla y se replica un fragmento de DNA. La estrategia básica de la clonación molecular es aislar el gen que se desea (u otro segmento de DNA) de su ubicación original y desplazarlo a un elemento genético sencillo, pequeño y manipulable, como un plásmido o un virus, que recibe el nombre de **vector** (Figura 11.7). La clonación molecular ocasiona un **DNA recombinante**, que es una molécula de

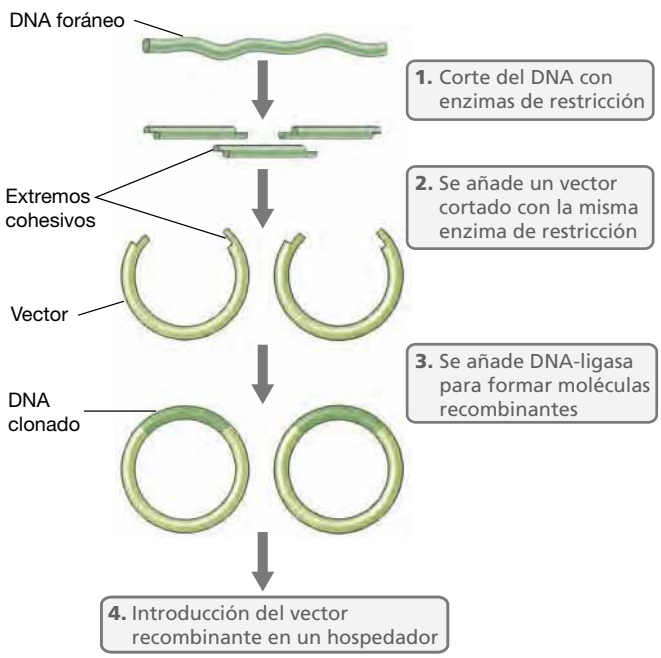


Figura 11.7 Etapas principales de la clonación génica. El vector puede ser un plásmido o un genoma vírico. Cortando el DNA foráneo y el DNA del vector con la misma enzima de restricción, se generan extremos cohesivos complementarios que permiten la inserción del DNA foráneo en el vector.

DNA que contiene DNA de dos o más procedencias. Cuando el vector recombinante se replica, el DNA clonado que contiene se replica también. Una vez clonado, el gen de interés puede ser manipulado de varios modos e incluso ser insertado de nuevo en una célula viva. Este método proporciona la base para gran parte de la ingeniería genética, y ha facilitado en gran medida el análisis detallado de los genomas.

El objetivo principal de la clonación génica es aislar copias de genes específicos en forma pura. Analicemos la naturaleza del problema. Para un organismo genéticamente «sencillo» como *Escherichia coli*, un gen medio es codificado por 1-2 kbp de DNA de un genoma de cerca de 4.600 kbp. Así, un gen de *E. coli* ocupa menos del 0,05 % del DNA total de la célula. En el DNA humano, el problema es aún más complicado, porque las regiones codificantes de los genes normales no son mucho mayores que en *E. coli*, pero normalmente los genes están escindidos en fragmentos y el genoma es casi 1.000 veces mayor. No obstante, nuestro conocimiento de la química del DNA y de la enzimología nos permite cortar, unir y replicar moléculas de DNA in vitro. Las enzimas de restricción, la DNA-ligasa, la reacción en cadena de la polimerasa, y el DNA sintético son herramientas fundamentales para la clonación molecular.

Resumen de la etapas de la clonación génica

La lista siguiente resume la secuencia de fases en la clonación de genes:

1. **Aislamiento y fragmentación del DNA de origen.** El DNA de origen puede ser el DNA genómico total de un organismo de interés, DNA sintetizado a partir de un molde de RNA por la transcriptasa inversa (Sección 11.3), uno o más genes amplificados por la reacción en cadena de la polimerasa (Sección 11.3) o incluso DNA sintetizado completamente in vitro en el laboratorio (Sección 11.5). Si el DNA original es genómico, primero se corta con enzimas de restricción (Sección 11.1) para obtener una mezcla de fragmentos de tamaño manejable (Figura 11.7).
2. **Inserción del fragmento de DNA en un vector de clonación.** Los vectores de clonación son elementos genéticos pequeños que se replican independientemente y que se pueden utilizar para transportar y replicar segmentos clonados de DNA. La mayoría de los vectores son plásmidos o virus diseñados normalmente para permitir la inserción in vitro de DNA foráneo en un sitio de restricción que corta al vector sin afectar a su replicación (Figura 11.7). Si el DNA original y el vector se cortan con *la misma* enzima de restricción que produce extremos cohesivos, la unión de las dos moléculas está muy favorecida por el apareamiento de dichos extremos cohesivos complementarios. Los extremos romos generados por algunas enzimas de restricción se pueden unir por ligación directa o usando ligadores (en inglés *linkers*) o adaptadores sintéticos de DNA. En cualquier caso, las cadenas se unen por la *DNA ligasa*, una enzima que une covalentemente ambas cadenas del vector y el DNA insertado. Si el DNA original es un producto de una PCR, la DNA ligasa se utiliza para unir el DNA amplificado a vectores especializados (ver Figura 11.15).
3. **Introducción del DNA clonado en un organismo hospedador.** Las moléculas de DNA recombinante obtenidas in vitro se introducen en organismos hospedadores adecuados donde se puedan replicar. La transformación (↔ Sección 10.6) se usa a menudo para introducir el DNA recombinante en las células. En la práctica, a menudo esto produce una mezcla de variantes recombinantes. Algunas células contienen el gen de interés clonado, mientras otras células contienen otros genes clonados del mismo DNA original. Esta mezcla se conoce con el nombre de **biblioteca genómica**, porque se pueden purificar muchos clones diferentes a partir de la mezcla, cada uno de ellos con segmentos de DNA diferentes clonados del organismo original. La elaboración de una biblioteca genómica por clonación de fragmentos al azar de un genoma se llama **clonación al azar** y es muy utilizada en los análisis genómicos como veremos en la Sección 11.15 para la *minería de genomas*.

Cómo encontrar el clon correcto

La ingeniería genética usualmente comienza clonando un gen de interés. Pero primero es necesario identificar la colonia hospedadora que contiene el clon correcto. Se pueden aislar células hospedadoras que contengan un plásmido vector mediante la selección de un marcador del vector, como la resistencia a antibióticos, de forma que solo estas células formen colonias. Cuando se emplea un vector vírico, simplemente hay que buscar calvas en el cultivo (↔ Sección 8.4). Estas colonias o calvas también se pueden analizar para detectar vectores recombinantes buscando la inactivación de un gen del vector debido a la inserción del DNA foráneo (Sección 11.7). Cuando se clona un solo fragmento de DNA generado por PCR o purificado por cualquier otro método, normalmente es suficiente con estas selecciones o rastreos sencillos.

Una biblioteca genómica puede contener miles o decenas de miles de clones, y con frecuencia solo uno o unos pocos tienen el gen de interés. Por tanto, la identificación de las células que contienen el DNA clonado es solo el primer paso. El mayor desafío sigue siendo encontrar el clon que contiene el gen de interés. Se deben examinar las colonias de bacterias o las calvas de las células infectadas por el virus que crecen en placas de agar y detectar esas pocas que contienen el gen de interés. Esto se puede hacer por secuenciación del DNA o por análisis de restricción de los plásmidos extraídos de un gran número de colonias. Otro enfoque es usar la hibridación como se describió en la Sección 11.2 y como se muestra en la **Figura 11.8*a***.

Detección de genes foráneos expresados en el hospedador de clonación

Si el gen foráneo se expresa en el hospedador de clonación, se puede realizar un cribado para encontrar la proteína que codifica. Para que esto funcione el hospedador no debe producir por sí mismo la proteína de estudio. La selección de células que contienen genes clonados es relativamente sencilla, siempre que el producto de la expresión de estos genes sea fácil de detectar.

Los anticuerpos se pueden utilizar para detectar una proteína de interés. Los anticuerpos son proteínas del sistema inmunitario que se unen de forma muy específica a una molécula diana,

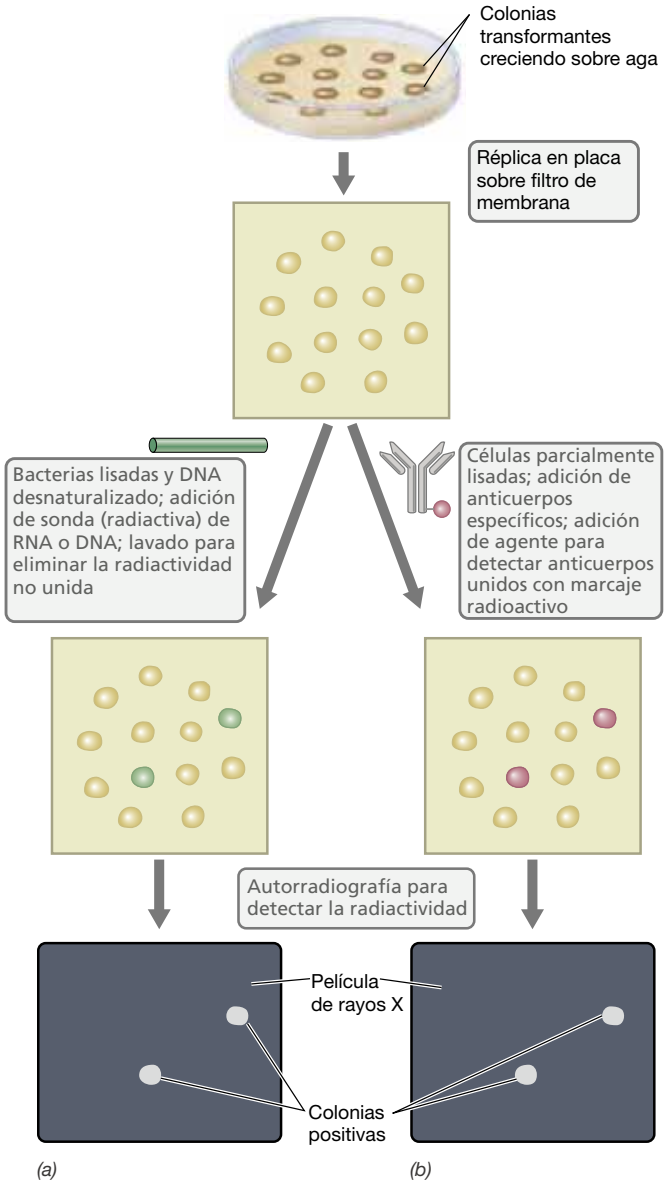


Figura 11.8 **Búsqueda del clon correcto.** *(a)* Método para detectar clones recombinantes por hibridación de las colonias con una sonda radiactiva de ácido nucleico. La formación de un DNA dúplex une la sonda de DNA a una mancha concreta de la membrana. *(b)* Método para detectar la producción de proteínas usando un anticuerpo específico que contiene una señal radiactiva o fluorescente.

el antígeno (↻ Sección 24.4). En este caso la proteína codificada por el gen clonado es el antígeno. Como el anticuerpo se combina específicamente con el antígeno, la localización colonias que contienen el antígeno se puede hacer observando la unión del anticuerpo. Dado que solo una pequeña cantidad del antígeno está presente en cada colonia, solo se une una pequeña cantidad de anticuerpo, de modo que hay que disponer de un método de alta sensibilidad para detectar el anticuerpo unido. En la práctica, la detección se lleva a cabo con radioisótopos, compuestos químicos fluorescentes o enzimas. Estas y otras técnicas para detectar antígenos se describen en el Capítulo 27.

En la Figura 11.8*b* se muestra un esquema del método de detección con anticuerpos. Se utiliza el método de siembra de *réplica en placa* para obtener un duplicado de la placa madre original en un filtro de membrana sintético, y todas las manipulaciones posteriores se hacen sobre este filtro. Las colonias duplicadas se lisan para liberar el antígeno de interés. A continuación se añade el anticuerpo, que reacciona con el antígeno. El anticuerpo que no se ha unido se elimina por lavado y se añade un reactivo radiactivo específico que se une al anticuerpo. Se coloca una película de rayos X sobre el filtro y se expone. Las colonias radiactivas aparecen como manchas en la película de rayos X revelada (Figura 11.8*b*). La localización de las manchas en la película corresponde a la de cada colonia que produce la proteína en la placa original. A continuación se puede tomar dichas colonias de la placa y hacer subcultivos.

Una limitación a este método es que debe disponerse de un anticuerpo específico, que se obtiene inyectando la proteína antigénica específica en un animal. Pero para tener éxito, la proteína inyectada debe ser pura; de lo contrario, se formarán anticuerpos contra múltiples antígenos, lo que provocará resultados falsos positivos. Como es de esperar, estos resultados dificultan el proceso de selección de los clones correctos.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cuál es el propósito de la clonación molecular?
- ¿Cuáles son las funciones de un vector de clonación, de las enzimas de restricción y de la DNA-ligasa en la clonación molecular?
- ¿Cómo se pueden identificar los genes clonados?

11.5 Métodos moleculares de mutagénesis

Como ya hemos visto, los mutágenos convencionales introducen mutaciones *al azar* en el organismo intacto (↻ Sección 10.4). En cambio, la mutagénesis in vitro, más conocida como **mutagénesis dirigida**, utiliza DNA sintético y técnicas de clonación de DNA para introducir mutaciones en genes *en sitios concretos*. Además de cambiar solo una o unas pocas bases, las mutaciones también pueden manipularse mediante la inserción de fragmentos grandes de DNA en ubicaciones determinadas de forma precisa.

Síntesis de DNA

Se pueden sintetizar artificialmente fragmentos de DNA para usarlos como cebadores o sondas para la reacción en cadena de la polimerasa, la hibridación de ácidos nucleicos, o para obtener mutaciones de interés en ubicaciones específicas dentro de un gen o regiones reguladoras. Actualmente hay oligonucleótidos de entre 12 a 40 bases disponibles comercialmente, y se pueden sintetizar oligonucleótidos de hasta unas 100 bases si es necesario. También es posible sintetizar genes enteros si la proteína codificada es pequeña (menos de 600 bp), por ejemplo, las subunidades de la insulina (Sección 11.11).

El DNA se sintetiza in vitro mediante un método automatizado en fase sólida en el que el primer nucleótido de la cadena se sujeta a un soporte insoluble, como esferas diminutas de cristal poroso. Para añadirle cada nucleótido son necesarios varios pasos, y la reacción química es complicada. Una vez completada cada fase, la mezcla de reacción se elimina del soporte

sólido y se repite la serie de reacciones para añadir el nucleótido siguiente. Cuando el oligonucleótido tiene la longitud deseada, se separa del soporte en fase sólida mediante un reactivo específico y se purifica para eliminar subproductos y contaminantes.

Mutagénesis dirigida

La mutagénesis dirigida es una herramienta potente que permite cambiar cualquier par de bases de un gen concreto, de modo que tiene muchas aplicaciones en genética. La mutagénesis dirigida se emplea para cambiar las propiedades de una proteína como la actividad enzimática o la afinidad del sitio de unión (Sección 11.12). Para esto se modifica la secuencia génica de tal modo que provoque un cambio en la secuencia de aminoácidos. El procedimiento básico consiste en sintetizar un oligonucleótido corto de DNA que actúe como cebador y que contenga el cambio de par de bases (la mutación) deseado y permitir que se aparee con el DNA monocatenario que contiene el gen diana. El apareamiento será total excepto en la pequeña región del error. Entonces, usando una DNA polimerasa, se extenderá el oligonucleótido sintético y se copiará el resto del gen. A continuación, la molécula bicatenaria obtenida se inserta en una célula hospedadora por transformación. A menudo, los mutantes se seleccionan mediante algún tipo de selección positiva, como la resistencia a antibióticos; en este caso, el DNA modificado también llevará un marcador de resistencia a antibióticos.

En la **Figura 11.9** se ilustra un método de mutagénesis dirigida. El proceso empieza con la clonación del gen diana en un vector plasmídico. Este vector bicatenario se desnaturaliza para producir DNA monocatenario y el oligonucleótido mutado puede unirse a continuación mediante apareamiento de bases complementarias con el gen diana. Después de la extensión mediante una DNA polimerasa, la molécula de DNA tiene un error de apareamiento en una cadena. Después de la transformación en una célula hospedadora, de la replicación del DNA vector y de la división celular, las dos moléculas hijas estarán completamente apareadas, pero una de ellas llevará una mutación y la otra será de tipo salvaje. Entonces se hace un cribado de las bacterias de la nueva generación en busca de las portadoras de la mutación.

La mutagénesis dirigida también puede llevarse a cabo mediante la PCR. En este caso, el oligonucleótido pequeño de DNA con la mutación de interés se utiliza como cebador en la PCR. El cebador mutágeno se diseña para aparearse con la diana con el error de apareamiento en medio, y debe tener suficientes nucleótidos apareados en ambos lados del sitio de error para que se mantenga estable durante la PCR. El cebador mutágeno es apareado luego con un cebador normal. Cuando la PCR amplifica el DNA diana, incorpora la mutación (o mutaciones) en el producto final amplificado.

Aplicaciones de la mutagénesis dirigida

La mutagénesis dirigida se puede utilizar para estudiar la actividad de las proteínas que contienen sustituciones conocidas de aminoácidos. Supongamos que estudiásemos el centro activo de una enzima. La mutagénesis dirigida podría usarse para cambiar un aminoácido específico de la enzima, y después podríamos ensayar la actividad de la enzima modificada y compararla con la de tipo salvaje. En este experimento, el vector que codifica la enzima mutante se inserta en una cepa hospedadora mutante incapaz de sintetizar la enzima original. Por consiguiente, la actividad que medida será debida únicamente a la versión mutante de la enzima.

Gracias a la mutagénesis dirigida, los enzimólogos pueden relacionar con la secuencia de aminoácidos específicos de la proteína prácticamente cualquier aspecto de la actividad de una enzima, como la catálisis, la resistencia o la sensibilidad a agentes químicos o físicos, o las interacciones con otras proteínas. En concreto, en un ejemplo de la ingeniería genética, la mutagénesis dirigida ha permitido modificar la afinidad del sitio de unión al receptor de la hormona de crecimiento bovino somatotropina, de tal modo que esta estimule el crecimiento y no la producción de leche en los humanos (Sección 11.12).

Mutagénesis por inserción de un casete e interrupción génica

Para hacer cambios en el DNA mayores que unos pocos pares de bases o para reemplazar fragmentos de un gen de interés, se pueden usar fragmentos sintéticos llamados **casetes de DNA** (o cartuchos) para mutar el DNA en un proceso conocido como **mutagénesis por inserción de casete**. Estos casetes, que se pueden sintetizar mediante la reacción en cadena de la polimerasa o por síntesis directa del DNA, podrán reemplazar fragmentos en el DNA de interés usando sitios de restricción. No obstante, si no hay sitios de restricción adecuados en la ubicación que interesa, se pueden insertar por mutagénesis

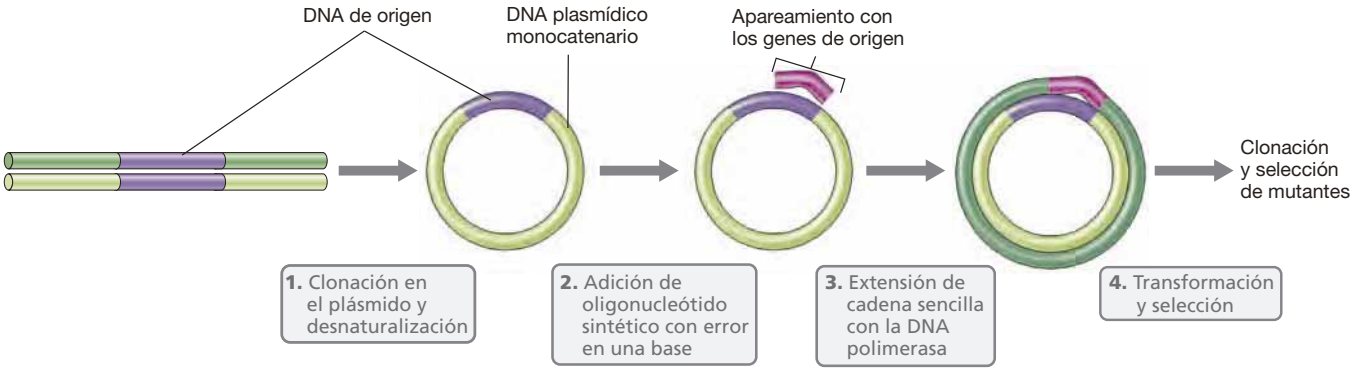


Figura 11.9 **Mutagénesis dirigida usando DNA sintético.** Se pueden utilizar pequeños oligonucleótidos sintéticos para generar mutaciones. Se clona el DNA de origen en un plásmido y se desnaturaliza, lo que genera el DNA monocatenario necesario para la mutagénesis dirigida.

dirigida como se muestra en la Figura 11.9. Los casetes utilizados para sustituir secciones de genes normalmente son del mismo tamaño que los fragmentos de DNA de tipo salvaje a los que sustituyen.

Otro tipo de mutagénesis por inserción de casete es la que se llama **interrupción génica**. En esta técnica, los casetes se insertan en medio de un gen e interrumpen así la secuencia codificadora. Los casetes utilizados para las mutaciones por inserción pueden tener casi cualquier tamaño, e incluso contener un gen entero. Para facilitar el proceso de selección, es frecuente utilizar casetes que codifiquen resistencia a algún antibiótico. El proceso de interrupción génica se ilustra en la Figura 11.10. En este caso, un casete de DNA que contiene un gen que confiere resistencia a la kanamicina (el casete Kan) se inserta en un sitio de restricción en un gen clonado. A continuación se linealiza el vector que contiene este gen mutante cortándolo con una enzima de restricción diferente para impedir su replicación. Por último, el DNA lineal se transforma en el hospedador y se selecciona la resistencia a la kanamicina. El plásmido linealizado no puede replicarse, de modo que las células resistentes se producen principalmente por recombinación homóloga (↔ Sección 10.5) entre el gen mutado en el plásmido y el gen de tipo salvaje en el cromosoma.

Obsérvese que cuando se inserta un casete, las células no solo adquieren resistencia a antibiótico, sino que además *pierden la función del gen* en el que se ha insertado el casete. Estas mutaciones reciben el nombre de *mutaciones de desactivación* (*knockout* en inglés). Son semejantes a las mutaciones por inserción causadas por transposones (↔ Sección 10.11), pero aquí se elige qué gen mutará. Las mutaciones de desactivación en organismos haploides (como los procariotas) producen células viables solo si los genes interrumpidos no son esenciales. De hecho, la desactivación génica se usa con frecuencia para investigar si un gen determinado es esencial o no.

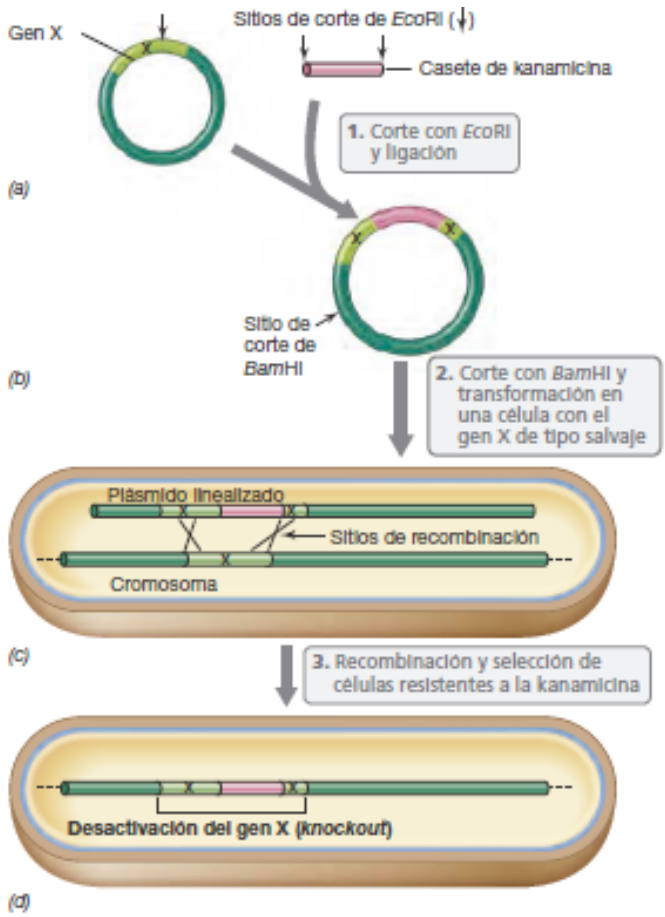


Figura 11.10 Interrupción génica por mutagénesis de casete. *(a)* Una copia de tipo salvaje clonada del gen X, contenida en un plásmido, se corta con *Eco*RI y se mezcla con el casete de kanamicina. *(b)* El plásmido cortado y el casete se unen para crear un plásmido con el casete de kanamicina como una mutación por inserción dentro del gen X. Este nuevo plásmido se corta con *Bam*HI y se transforma en una célula. *(c)* La célula transformada contiene el plásmido linealizado con un gen X interrumpido y su propio cromosoma con una copia de tipo salvaje del gen. *(d)* En algunas células, se produce recombinación homóloga entre las formas de tipo salvaje y mutante del gen X. Las células que pueden crecer en presencia de kanamicina tienen solo una copia del gen X que está desactivada.

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué se utiliza un soporte sólido durante la síntesis química de DNA?
- ¿Por qué es útil la mutagénesis dirigida para los enzimólogos?
- ¿Qué son las mutaciones de desactivación?

11.6 Fusiones génicas y genes reporteros

La manipulación in vitro del DNA ha revolucionado el estudio de la regulación génica. Se puede formar un gen híbrido mediante la fusión de una secuencia codificadora de una procedencia determinada (el gen *reportero*) la región reguladora de otra. Estas fusiones de genes se utilizan con frecuencia para estudiar la regulación génica (↔ Sección 7.1), particularmente cuando el analísis de los niveles de un producto génico naturales es difícil, costoso o lleva mucho tiempo. Estas fusiones pueden servir también para aumentar la expresión de un producto génico de interés.

Genes reporteros

La propiedad fundamental de un **gen reportero** es que codifica una proteína fácil de detectar y de ensayar. Los genes reporteros se utilizan en una gran variedad de experimentos. Se pueden usar para indicar la presencia o ausencia de un elemento genético particular (como un plásmido) o de DNA insertado en un vector. También se pueden fusionar con otros genes o con el promotor de otros genes para estudiar su expresión.

El primer gen usado de manera generalizada como gen reportero fue el gen *lacZ* de *Escherichia coli*, que codifica la enzima β-galactosidasa, necesaria para el catabolismo de la lactosa (↔ Sección 7.3). Las células que producen β-galactosidasa son fáciles de detectar por el color de sus colonias en placas indicadoras que contengan el sustrato artificial Xgal (5-bromo-4-cloro-3-indolil-β-D-galactopiranósido). El Xgal es escindido por la β-galactosidasa y produce un color azul (véase la Figura 11.14). La **proteína de fluorescencia verde** (**GFP**) es muy utilizada como proteína reportera (Figura 11.11). El gen de la GFP se clonó inicialmente de la medusa *Aequorea victoria*, pero se puede expresar en la mayoría de las células. Es

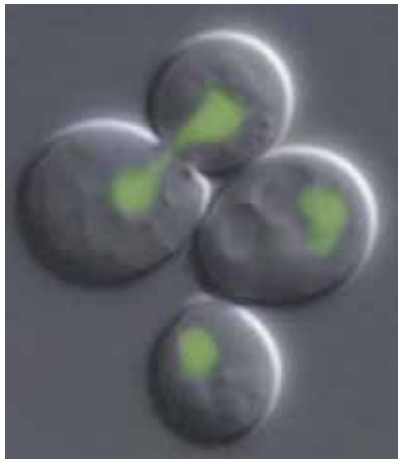


Figura 11.11 **Proteína de fluorescencia verde (GFP).** La GFP se puede utilizar como una marca para la localización de proteínas in vivo. En este ejemplo, el gen que codifica Pho2, una proteína de unión al DNA de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, se fusionó con el gen que codifica la GFP y se fotografió por microscopía de fluorescencia. El gen recombinante se transformó en células de levadura en gemación, que expresaron la proteína fluorescente de fusión localizada en el núcleo.

estable y provoca pocos cambios o ninguno en el metabolismo de la célula hospedadora. Si la expresión de un gen clonado está ligada a la de GFP, la expresión de GFP indica que el gen clonado también se está expresando (Figura 11.11).

Fusiones de genes

Es posible realizar construcciones formadas por segmentos de dos genes diferentes. Estas construcciones se conocen con el nombre de **fusiones de genes**. Si se elimina el promotor que controla una secuencia codificadora, dicha secuencia puede fusionarse con una región reguladora diferente para colocar al gen bajo el control de un promotor distinto. Otra posibilidad es fusionar el promotor con un gen cuyo producto sea fácil de ensayar. Existen dos tipos diferentes de fusiones de genes. En las **fusiones de operón**, una secuencia codificante que mantiene su sitio de inicio y regulación de la traducción se fusiona con las señales de transcripción de otro gen. En las **fusiones de proteínas**, los genes que codifican dos proteínas diferentes se unen de tal modo que ambos comparten las mismas señales de inicio y fin de la transcripción y la traducción. Después de la traducción la fusión de proteínas producirá un único polipéptido híbrido.

Este método se usa a menudo en el estudio de la regulación génica, especialmente cuando resulta difícil, costoso o lento medir la cantidad natural de un producto génico. La región reguladora del gen de interés se fusiona con la región codificadora de un gen reportero, como el de la β-galactosidasa o la GFP. El reportero se somete a condiciones que activarían la expresión del gen diana (**Figura 11.12**). La expresión del gen reportero se puede ensayar en diversas condiciones para determinar cómo está regulado el gen de interés (↬ Sección 7.1). El *control transcripcional* se estudia fusionando a un gen reportero las señales de inicio de la transcripción del gen de interés, mientras que el *control traduccional* se estudia fusionando las señales de inicio de la traducción del gen de interés a un gen reportero bajo el control de un promotor conocido.

Las fusiones de genes también se pueden utilizar para estudiar los efectos de los genes reguladores. Las mutaciones que afectan a dichos genes se introducen en las células que contienen las fusiones génicas; se mide la expresión y se compara con las células que carecen de mutaciones reguladoras. Esto permite el examen rápido de muchos genes reguladores que se supone que controlan el gen diana. Además de usar fusiones para monitorizar la presencia o expresión de un gen, las proteínas que son fáciles de purificar pueden también fusionarse a proteínas de interés para ayudar en su purificación (Sección 11.11).

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué es un gen reportero?
- ¿Por qué son útiles las fusiones de genes para estudiar la regulación génica?

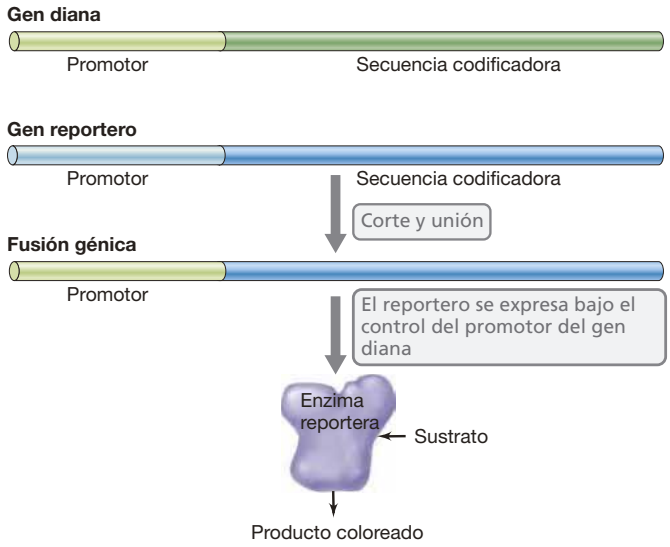


Figura 11.12 **Construcción y utilización de fusiones génicas.** El promotor del gen diana se fusiona con la secuencia codificadora reportera. Por consiguiente, el gen reportero se expresa en las condiciones en las que se expresaría normalmente el gen diana. El reportero de la Figura es una enzima (como la β-galactosidasa) que convierte un sustrato en un producto coloreado fácil de detectar. Este método facilita en gran medida la investigación de los mecanismos reguladores.

II • Clonación génica

Un paso importante en la ingeniería genética es la manipulación del DNA para fines de clonación. En ingeniería genética, la clonación permite aislar genes de interés fuera de su genoma hospedador e insertarlos en moléculas portadoras donde estos pueden ser manipulados y estudiados más fácilmente.

11.7 Los plásmidos como vectores de clonación

Los plásmidos se replican independientemente del control cromosómico en su célula hospedadora. Además de contener los genes necesarios para su propia replicación, la mayoría de los plásmidos son vectores naturales porque a menudo contienen otros genes que confieren importantes propiedades a sus hospedadores (↻ Sección 4.3). Como veremos a continuación, algunos plásmidos tienen otras propiedades muy útiles como *vectores de clonación*.

Si bien en la naturaleza los plásmidos conjugativos son transferidos mediante el contacto entre células (↻ Sección 10.8), la mayoría de los vectores de clonación plasmídicos han sido modificados genéticamente para eliminar la transferencia conjugativa. De este modo se impide la entrada no deseada del vector en otros organismos. No obstante, en el laboratorio la transferencia del vector se puede facilitar por transformación mediada por compuestos químicos o por electroporación (↻ Sección 10.6). Según sea el sistema hospedador–plásmido, la replicación del plásmido puede estar sometida a un control celular estricto, en cuyo caso solo se sintetizan unas pocas copias, o a un control celular relajado, en cuyo caso se obtendrá un gran número de copias. La obtención de muchas copias suele ser importante en la clonación génica y, mediante una selección adecuada del sistema hospedador–plásmido y la manipulación de la síntesis celular de macromoléculas, se puede conseguir varios miles de copias del plásmido por célula.

Un ejemplo de vector de clonación: el plásmido pUC19

Mientras que los primeros vectores de clonación plasmídicos utilizados eran plásmidos naturales aislados, los vectores usados actualmente en biología molecular han sido modificados genéticamente para mostrar propiedades específicas. Por ejemplo, unos vectores de clonación plasmídicos muy utilizados son los derivados del plásmido pUC19 (**Figura 11.13**). Este plásmido se obtuvo en varias etapas a partir del plásmido codificador de toxina ColE1 (↻ Sección 4.3) mediante la eliminación de los genes de colicina y la inserción de los genes de resistencia a la ampicilina y de un sistema de seguimiento basado en color blanco/azul (véase más adelante). Además, en el gen *lacZ*, que codifica la enzima de degradación de la β-galactosidasa (↻ Sección 7.3), se insertó un segmento corto de DNA artificial con sitios de corte para muchas enzimas de restricción, llamado *sitio de clonación múltiple* (*MCS*, del inglés *multiple cloning site*). La presencia de este segmento MCS corto no inactiva a *lacZ* y el resto del vector carece de los sitios de corte de las enzimas de restricción presentes en este MCS. Por tanto, el tratamiento con cualquiera de estas enzimas de restricción abre el vector en una única ubicación, pero no lo corta en fragmentos.

El plásmido pUC19 tiene una serie de características que lo hacen muy adecuado como vehículo de clonación:

1. Es relativamente pequeño, solo 2.686 pares de bases, lo que hace al DNA más fácil de aislar y manipular.
2. Se mantiene estable en su hospedador (*E. coli*) en un número de copias relativamente alto, unas 50 por célula.

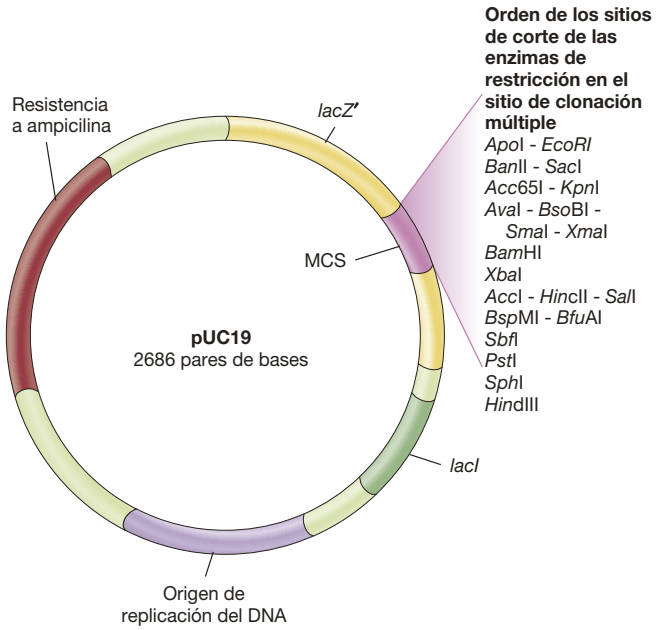


Figura 11.13 **Vector de plasmídico clonación pUC19.** Entre sus características esenciales están el marcador de resistencia a ampicilina y el sitio de clonación múltiple (MCS) con varios sitios de corte de las enzimas de restricción. La inserción del DNA clonado en el MCS inactiva el gen *lacZ′* que codifica la β-galactosidasa y permite la identificación rápida de los transformantes mediante un análisis colorimétrico.

3. Puede ser amplificado si es necesario hasta un número muy elevado (entre 1.000 y 3.000 copias por célula, un 40 % del DNA celular) mediante la inhibición de la síntesis proteica con el antibiótico cloranfenicol.
4. Es fácil de aislar en su forma superenrollada.
5. Se les pueden insertar cantidades moderadas de DNA foráneo, aunque los insertos de más de 10 kpb provocan inestabilidad en el plásmido.
6. Se conoce la secuencia completa de bases del plásmido, lo que permite la identificación de todos los sitios de corte de las enzimas de restricción.
7. El MCS contiene sitios de corte únicos para más de una docena de enzimas de restricción, lo que aumenta la versatilidad del vector.
8. Tiene un gen que confiere resistencia a la ampicilina. Esto permite la rápida selección de células hospedadoras que contengan el plásmido, porque adquieren resistencia al antibiótico.
9. Se puede insertar fácilmente en células mediante transformación.
10. La inserción de DNA foráneo en el MCS se puede detectar mediante un ensayo colorimétrico (véase más adelante) mediante el gen *lacZ*.

Clonación génica en vectores plasmídicos

El uso de vectores plasmídicos como pUC19 en la clonación génica se muestra en la **Figura 11.14**. Se ha escogido una enzima de restricción adecuada con un sitio de corte en el MCS. Tanto el vector como el DNA foráneo que se va a clonar son cortados por esta enzima. El vector es linealizado y los segmentos del DNA foráneo se insertan en el sitio de corte abierto y son

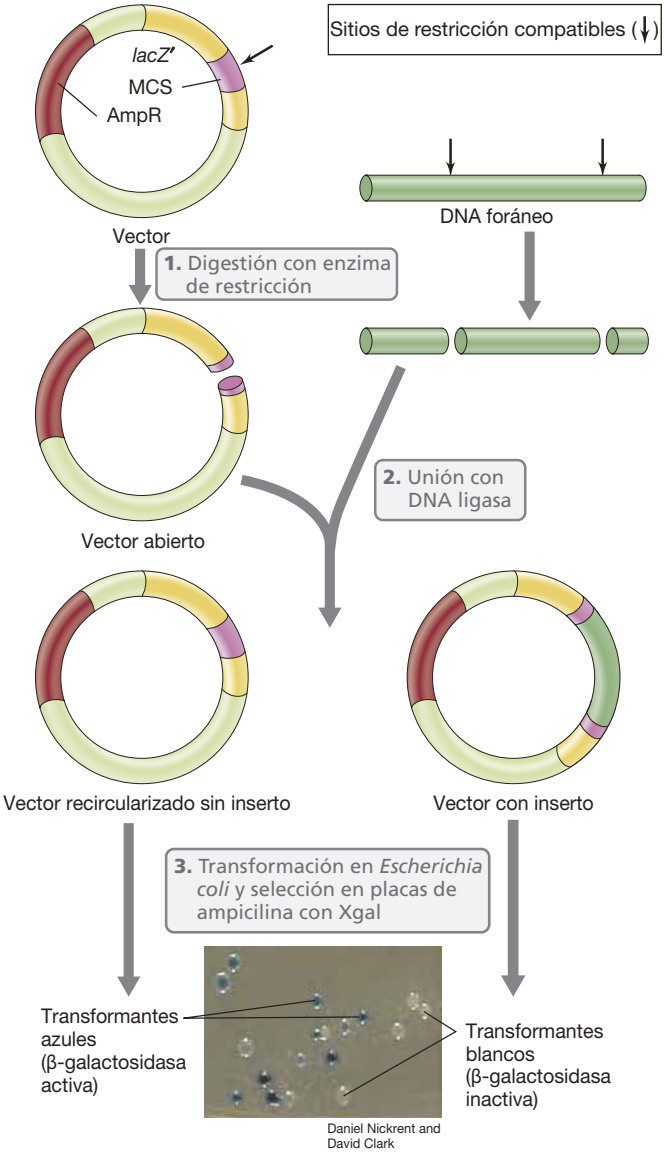


Figura 11.14 Clonación en el vector plasmídico pUC19. El vector de clonación y el DNA foráneo se abren por corte con una enzima de restricción compatible en las posiciones indicadas por las flechas. La inserción del DNA inactiva la β-galactosidasa y permite el cribado colorimétrico para detectar la presencia del inserto. La foto inferior muestra las colonias de *Escherichia coli* en una placa con Xgal. La enzima β-galactosidasa puede cortar el Xgal, normalmente incoloro, para formar un producto azul. AmpR indica el gen que codifica la resistencia a la ampicilina.

ligados en esa posición por la DNA-ligasa. Esto interrumpe el gen *lacZ*, un fenómeno llamado *inactivación por inserción* que puede utilizarse para detectar la presencia de DNA foráneo en el vector. Cuando se añade al medio el reactivo incoloro Xgal, la β-galactosidasa lo escinde y genera un producto azul. Así, la célula que contiene el vector sin DNA clonado forma colonias azules, mientras que las células con el vector con un inserto de DNA clonado no sintetizan β-galactosidasa y, por tanto, son blancas.

Tras la ligación del DNA, los plásmidos resultantes son transformados en células de *E. coli*. Las colonias se seleccionan en medios que contengan ampicilina, para seleccionar la presencia del plásmido, además de Xgal, para probar la actividad β-galactosidasa. Las colonias *azules* contendrán el plásmido sin ningún DNA foráneo insertado (es decir, el plásmido simplemente circularizado sin ningún DNA foráneo), mientras que las colonias que sean *blancas* contendrán el plásmido con DNA foráneo insertado y se seleccionarán para análisis posteriores (véase la Figura 11.20*b* para un ejemplo relacionado del sistema de selección colorimétrico blanco/azul).

Otros vectores plasmídicos

Se han desarrollado muchos vectores posteriores que tienen algunas características similares a las del pUC19 indicadas más arriba y además otras características útiles. Por ejemplo, algunos vectores se han desarrollado especialmente para clonar productos de DNA sintetizados por la polimerasa *Taq* mediante una PCR (Sección 11.3). La actividad enzimática de la polimerasa *Taq* añade un residuo de adenina independiente del molde en el extremo 3′ de los productos de la reacción de PCR. Se comercializan vectores linearizados que contienen extremos prominentes de residuos de timina que permiten el apareamiento de bases con el producto de la PCR y la ligación posterior mediante la DNA ligasa (**Figura 11.15**).

Se han diseñado otros vectores para seleccionar directamente vectores recombinantes mediante la viabilidad celular, en lugar de cribado. Por ejemplo, es posible diseñar un vector con un MCS que contenga un gen tóxico. Cuando no se inserta DNA foráneo en el MCS que interrumpa el gen que codifica la toxina, el vector codifica una proteína letal en la célula hospedadora. Por tanto, solo pueden crecer las células que contengan el plásmido recombinante, en el que el gen se ha inactivado.

La clonación con vectores plasmídicos es versátil y se utiliza mucho en ingeniería genética, especialmente cuando el fragmento que se desea clonar es relativamente pequeño. A menudo también, se utilizan plásmidos como vectores de clonación si se desea la expresión del gen clonado, ya que los elementos reguladores se pueden manipular en el plásmido para obtener la expresión de los genes clonados en condiciones específicas (Sección 11.9).

MINIRREVISIÓN

- Explique por qué en clonación es necesario utilizar una enzima de restricción que corte el vector en un solo sitio.
- ¿Qué es un sitio de clonación múltiple o MCS?
- ¿Qué es la inactivación por inserción?

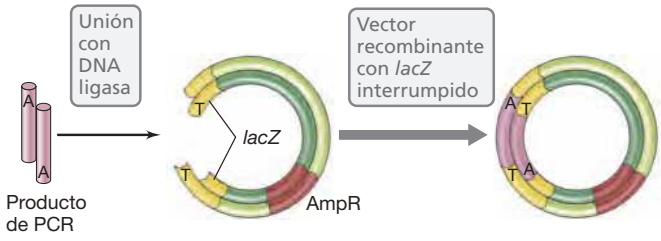


Figura 11.15 Vector para productos de PCR. El vector de clonación linealizado contiene residuos de timina sobresalientes que se aparean con los residuos de adenina presentes en el extremo 3′ del producto de PCR generado por la *Taq* polimerasa. La unión de estos dos fragmentos de DNA producirá un plásmido circular con el gen *lacZ* interrumpido. AmpR indica el gen que codifica la resistencia a la ampicilina.

11.8 Hospedadores de los vectores de clonación

Para obtener grandes cantidades de DNA clonado, un hospedador ideal debería crecer rápidamente en un medio de cultivo que no fuera caro. Además, no debería ser patógeno y tendría que ser capaz de incorporar DNA modificado, ser genéticamente estable en cultivo y tener las enzimas adecuadas que permitieran la replicación del vector. También resultaría útil que existiera ya una cantidad de información considerable sobre él y toda una batería de herramientas para su manipulación genética.

Los hospedadores más útiles para la clonación son microorganismos de crecimiento fácil y de los que se dispone de mucha información. Entre ellos se encuentran las bacterias *Escherichia coli* y *Bacillus subtilis* y la levadura *Saccharomyces cerevisiae* (**Figura 11.16**). Se dispone de la información completa de los genomas de todos estos organismos, y son muy utilizados como hospedadores para la clonación. No obstante, en algunos casos puede ser necesario utilizar otros hospedadores y vectores especializados para clonar y expresar adecuadamente el DNA.

Hospedadores procariotas

Aunque la mayor parte de las clonaciones moleculares se han realizado en *Escherichia coli* (Figura 11.16), este hospedador presenta algunos inconvenientes. Aunque *E. coli* es una elección excelente para los trabajos iniciales de clonación, resulta problemático como hospedador de expresión, ya que se encuentra en el intestino humano y algunas cepas de tipo salvaje podrían ser patógenas (↻ Sección 31.12). No obstante, se han diseñado algunas cepas modificadas de *E. coli* específicamente a efectos de clonación, de modo que sigue siendo el organismo preferido para la mayor parte de clonaciones moleculares. El problema principal de utilizar una bacteria como hospedador, incluso *E. coli*, es la falta de sistemas para modificar correctamente proteínas eucarióticas. Como veremos a continuación, este problema se puede solucionar usando células hospedadoras eucariotas.

Otro problema de usar *E. coli*, o cualquier otra bacteria gramnegativa, es que posee una membrana externa que dificulta la secreción de proteínas. Este problema puede ser solucionado utilizando como hospedador de la clonación la bacteria grampositiva *Bacillus subtilis* (Figura 11.16). Aunque la tecnología para la clonación en *B. subtilis* está menos avanzada que en *E. coli*, se han desarrollado varios plásmidos y fagos adecuados para la clonación en esta bacteria, y la transformación es una técnica muy bien desarrollada en este organismo. Su principal inconveniente como hospedador de clonación es la inestabilidad de los plásmidos. A menudo es difícil mantener la replicación plasmídica a lo largo de muchos subcultivos del organismo. Además, el DNA foráneo no se mantiene tan bien en *B. subtilis* como en *E. coli*, de modo que a menudo el DNA clonado se pierde inesperadamente.

Con frecuencia, los organismos hospedadores para clonación deben tener genotipos específicos para que resulten eficaces. Por ejemplo, si el vector de clonación utiliza el gen *lacZ* para el cribado, entonces el hospedador debe ser naturalmente deficiente de *lacZ* o llevar una mutación que deshabilite este gen. Al elegir un hospedador de clonación hay que tener en cuenta este tipo de consideraciones y otras, como la facilidad de selección de los transformantes.

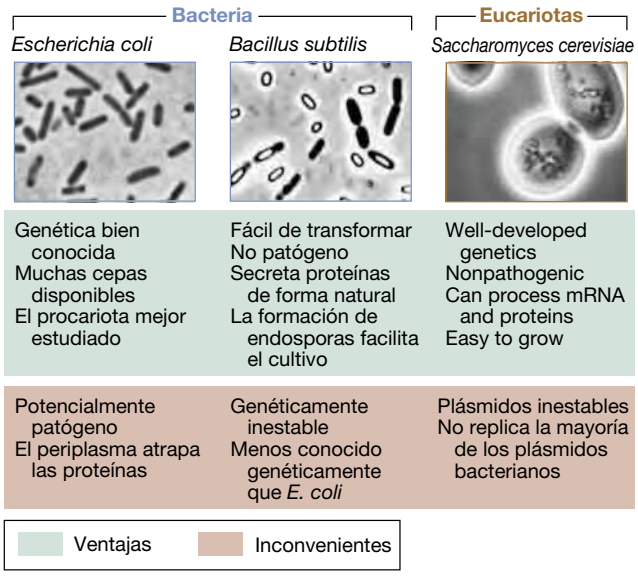


Figura 11.16 Hospedadores para la clonación molecular. Resumen de las ventajas e inconvenientes de algunos hospedadores de clonación habituales.

Hospedadores eucariotas

La clonación en microorganismos eucariotas se ha centrado en la levadura *Saccharomyces cerevisiae* (Figura 11.16). Para esta levadura se han desarrollado plásmidos vectores y cromosomas artificiales (Sección 11.10). Una ventaja importante de las células eucariotas como hospedadoras de los vectores de clonación es que ya poseen los sistemas complejos de procesamiento de RNA y etapas post-traduccionales necesarios para la producción de proteínas eucarióticas. Por tanto, no hay que introducir estos sistemas en el vector ni en las células hospedadoras, como sería necesario si se clonara DNA eucariótico y tuviera que expresarse en un hospedador procariota.

Se ha llevado a cabo la clonación de genes en células de mamíferos para muchas aplicaciones. En cierto modo, los sistemas de cultivo de células de mamíferos se pueden manipular como los cultivos microbianos, y se usan mucho en la investigación en genética humana, cáncer, enfermedades infecciosas y fisiología. Un inconveniente de las células de mamífero como hospedadoras es que son caras y difíciles de producir en condiciones a gran escala. Las líneas celulares de insectos son más fáciles de cultivar, y se han desarrollado vectores a partir de un virus de DNA de insectos, el baculovirus. Para algunas aplicaciones, en concreto para la agricultura, el hospedador de clonación puede ser una línea de cultivo de tejidos vegetales, o incluso una planta completa. De hecho, la ingeniería genética tiene muchas aplicaciones en agricultura como veremos en la Sección 11.13. No obstante, independientemente del tipo de hospedador eucariótico, es necesario introducir el DNA del vector en la célula hospedadora. Las técnicas para transferir DNA al interior de células eucariotas, que no se describirán aquí, comprenden la transfección (ver Figura 11.28), la microinyección y la electroporación.

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué es necesario un hospedador para la clonación molecular?
- ¿Cuándo resulta ventajoso emplear un hospedador eucariótico para la clonación molecular?

11.9 Vectores lanzadera y vectores de expresión

Los genes clonados se pueden utilizar para muchas finalidades. Se han diseñado vectores especializados para su uso en las aplicaciones más frecuentes, como transferir genes entre organismos de especies diferentes o para optimizar la expresión de un gen clonado en un hospedador determinado. Estos vectores se denominan vectores *lanzadera* y vectores de *expresión* respectivamente.

Vectores lanzadera

Los vectores que pueden replicarse y mantenerse estables en dos (o más) organismos hospedadores no relacionados entre sí se llaman **vectores lanzadera**. Así pues, los genes que contiene un vector lanzadera se desplazan entre organismos no relacionados. Se han desarrollado vectores lanzadera que pueden replicarse en *Escherichia coli* y en *Bacillus subtilis*, en *E. coli* y levadura, y en *E. coli* y células de mamífero, así como en otros muchos pares de organismos. La importancia de un vector lanzadera es que permite que el DNA sea clonado fácilmente en un organismo manipulable genéticamente y se obtiene un vector recombinante que se puede replicar en un segundo hospedador sin ninguna modificación del vector.

Se han diseñado muchos vectores lanzadera para desplazar genes entre *E. coli* y la levadura. Los vectores de plásmidos bacterianos fueron el punto de inicio, y se modificaron para funcionar también en levaduras. Como los orígenes de replicación bacterianos no funcionan en los eucariotas, es necesario aportar un origen de replicación propio de levaduras. Una ventaja es que los orígenes de las secuencias de replicación del DNA son similares en diferentes eucariotas, de modo que el origen de las levaduras funciona también en organismos superiores. Cuando se dividen las células eucariotas, los cromosomas duplicados son separados por los microtúbulos (fibras del huso acromático) unidos a sus centrómeros (↻ Sección 2.20). Por consiguiente, los vectores lanzadera de eucariotas deben contener un segmento de DNA del centrómero para poder distribuirse correctamente en la división celular (**Figura 11.17**). Por suerte, en la levadura la secuencia de reconocimiento del centrómero, la secuencia CEN, es relativamente corta y fácil de insertar en los vectores lanzadera.

Otro requisito es la presencia de un marcador práctico para seleccionar el plásmido en levaduras. Lamentablemente, las levaduras no son sensibles a la mayoría de los antibióticos que son eficaces contra las bacterias. En la práctica se utilizan las cepas hospedadoras de levaduras que son defectivas en la síntesis de algún aminoácido o alguna base purínica o pirimidínica concretos. En el vector lanzadera se inserta una copia funcional del gen biosintético defectivo en el hospedador. Por ejemplo, si se utiliza el gen *URA3*, necesario para la síntesis de uracilo, la levadura no crecerá en ausencia de uracilo, a menos que adquiera una copia del vector lanzadera.

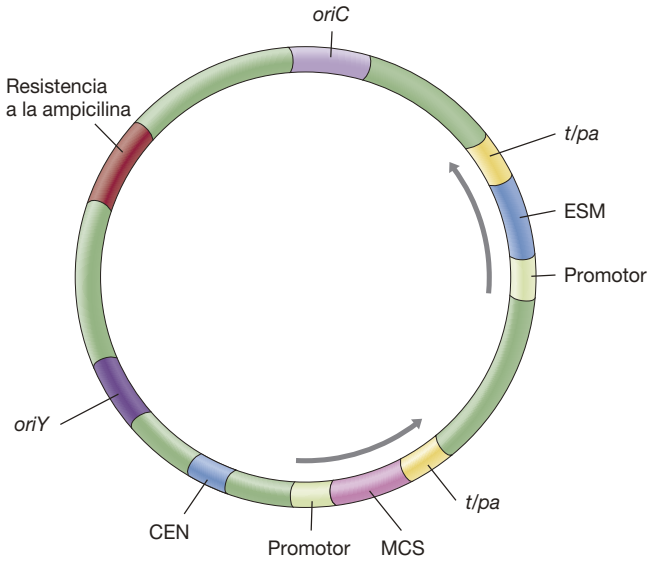


Figura 11.17 Mapa genético de un vector lanzadera utilizado en levadura. El vector contiene componentes que le permiten desplazarse entre *Escherichia coli* y la levadura y ser seleccionado en cada organismo: *oriC*, origen de replicación en *E. coli*; *oriY*, origen de replicación en levadura; MCS, sitio de clonación múltiple; ESM, marcador seleccionable en eucariotas; CEN, secuencia centromérica de levaduras; promotor; *t/pa*, señales de terminación de la transcripción/poliadenilación. Las flechas indican la dirección de la transcripción.

Vectores de expresión

Los organismos tienen sistemas reguladores complejos, y a menudo los genes clonados se expresan poco o nada en una célula hospedadora extraña. Este problema se aborda utilizando **vectores de expresión**, diseñados para permitir al investigador controlar la expresión (transcripción y traducción) de los genes clonados. Generalmente, el objetivo es obtener altos niveles de expresión, especialmente en las aplicaciones biotecnológicas. No obstante, cuando se trata con productos génicos que pueden ser tóxicos puede ser más apropiado obtener un nivel de expresión bajo pero controlado estrictamente. Los vectores de expresión contienen secuencias reguladoras que permiten la manipulación de la expresión génica. Normalmente, el control es transcripcional, porque para obtener altos niveles de expresión es esencial producir gran cantidad de mRNA. En la práctica, los niveles de transcripción altos requieren promotores fuertes que unan la RNA-polimerasa de manera eficaz (↻ Sección 4.7). Sin embargo, el promotor nativo de un gen clonado puede funcionar mal en el nuevo hospedador. Por ejemplo, los promotores de eucariotas o incluso de otras bacterias funcionan mal o no funcionan en absoluto en *E. coli*. De hecho, incluso algunos promotores de *E. coli* funcionan a bajos niveles en *E. coli* porque sus secuencias se ajustan poco a la secuencia consenso del promotor y la RNA-polimerasa se une de manera poco eficaz (↻ Sección 4.7).

Por esta razón, los vectores de expresión deben contener un promotor que funcione eficazmente en el hospedador y que esté correctamente situado para dirigir la transcripción del gen clonado. Entre promotores de *E. coli* que se usan en los vectores de expresión están *lac* (el promotor del operón *lac*), *trp* (el promotor del operón *trp*), *tac* y *trc* (híbridos sintéticos de los promotores *trp* y *lac*). Todos ellos son promotores «fuertes» de *E. coli* y pueden regularse de manera específica.

Regulación de la transcripción de los vectores de expresión

Aunque normalmente se quiere producir una gran cantidad de mRNA y conseguir traducirlo para obtener cantidades grandes de proteína, una superproducción masiva de proteínas extrañas puede ser dañina para la célula hospedadora. Por tanto, es importante regular la expresión de los genes clonados. Frecuentemente, para evitar dañar la célula hospedadora, el cultivo que contiene el vector de expresión se mantiene sin expresar el gen clonado. De este modo, cuando se obtiene una gran población de células «saludables», se activa la expresión del gen deseado mediante un *interruptor genético*.

La regulación de la transcripción por una proteína represora (↻ Sección 7.3) es una forma útil de controlar un gen clonado. Un represor fuerte puede bloquear completamente la síntesis de las proteínas que están bajo su control uniéndose al operador. Cuando se necesita que el gen se exprese, se añade el inductor. El represor une el inductor y se libera del DNA, lo que permite la transcripción de los genes regulados. El vector de expresión está diseñado de forma que el gen clonado se inserte exactamente después del promotor elegido y de la región del operador. A menudo se incluye un sitio de unión fuerte al ribosoma entre el promotor y el gen clonado para permitir una traducción eficaz. El resultado final es el control del gen clonado por el promotor elegido junto con la transcripción y la traducción eficaces.

En la **Figura 11.18** se muestra un vector de expresión controlado por *trc* (promotor *trp* y operador *lac*). Este plásmido contiene también una copia del gen *lacI* que codifica el represor *lac*. La cantidad de represor en una célula que contenga este plásmido es suficiente para impedir la transcripción desde el promotor *trc* hasta que se añada el inductor. La adición de lactosa o inductores de *lac* relacionados desencadena la transcripción del DNA clonado. Además de un promotor fuerte y fácil de regular, la mayoría de los vectores de expresión contienen un terminador de la transcripción eficaz (↻ Sección 4.7), que impide que la transcripción desde el promotor fuerte continúe con otros genes del vector, lo que interferiría con su estabilidad. El vector de expresión que se muestra en la Figura 11.18 posee terminadores fuertes de la transcripción para detenerla inmediatamente después del gen clonado.

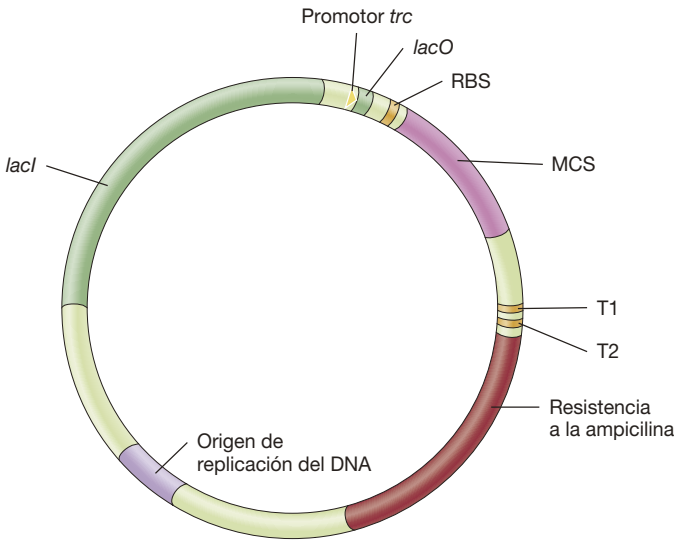


Figura 11.18 Mapa genético del vector de expresión pSE420. Este vector fue desarrollado por Life Technologies Corp., una empresa biotecnológica. El sitio de clonación múltiple (MCS) contiene muchas secuencias de reconocimiento de enzimas de restricción diferentes para facilitar la clonación. Esta región, más el gen clonado insertado, son transcritas por el promotor *trc*, que se encuentra inmediatamente antes del operador *lac* (*lacO*). Inmediatamente antes del MCS hay una secuencia que codifica un sitio de unión al ribosoma (RBS) en el mRNA resultante. Después del MCS hay dos terminadores de la transcripción (T1 y T2). El plásmido contiene también el gen *lacI*, que codifica el represor *lac*, y un gen que confiere resistencia a la ampicilina. Estos dos genes están bajo el control de sus propios promotores, que no se muestran.

Regulación de la expresión con los elementos de control del bacteriófago T7

En algunos casos, el sistema de control transcripcional puede no ser, en absoluto, una parte normal del hospedador. Un ejemplo de ello es el uso del promotor del bacteriófago T7 y la RNA polimerasa de T7 para regular la expresión génica. Cuando T7 infecta a *E. coli*, codifica su propia RNA polimerasa, que reconoce solo los promotores de T7 (↻ Sección 9.4). En los vectores de expresión de T7, los genes clonados se sitúan bajo el control del promotor de T7. Para conseguirlo, el gen de la RNA polimerasa de T7 también debe estar presente en la célula bajo el control de un sistema fácil de regular, como *lac* (**Figura 11.19**). Normalmente se hace integrando el gen de la RNA polimerasa de T7 con un promotor *lac* en el cromosoma de una cepa hospedadora especializada.

La serie BL21 de cepas hospedadoras de *E. coli* está diseñada especialmente para trabajar con la serie pET de los vectores de expresión de T7. Los genes clonados se expresan poco tiempo después de la activación de la transcripción de la RNA polimerasa de T7 por un inductor de *lac*, como el IPTG. La

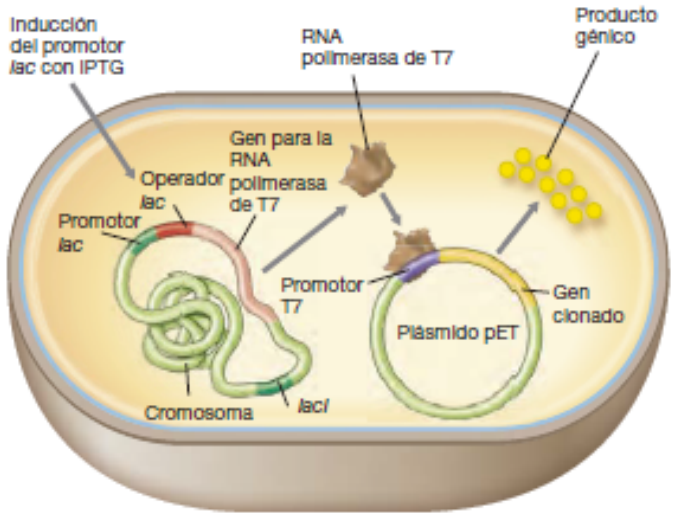


Figura 11.19 Sistema de expresión de T7. El gen de la RNA polimerasa de T7 se encuentra en una fusión génica bajo el control del promotor *lac* y está insertado en el cromosoma de una cepa hospedadora especial de *Escherichia coli*. La adición de IPTG induce el promotor *lac*, lo que causa la expresión de la RNA polimerasa de T7. Esta enzima transcribe el gen clonado, que está bajo el control del promotor de T7 y se encuentra en el plásmido pET.

RNA polimerasa de T7 transcribe solo los genes clonados porque únicamente reconoce los promotores de T7. Esta polimerasa es tan activa que utiliza la mayoría de los precursores del RNA, de forma que limita la transcripción de los genes clonados. Por consiguiente, la mayoría de los genes del hospedador que necesitan la RNA polimerasa propia quedan sin transcribir y, por tanto, la célula deja de crecer. La traducción en estas células produce principalmente la proteína de interés. Por tanto, el sistema de control de T7 es muy eficaz para generar cantidades muy grandes de una proteína de interés concreta.

Traducción del gen clonado

Los vectores de expresión también deben diseñarse para asegurar que el mRNA producido se traduzca de manera eficaz. Para sintetizar una proteína a partir de una molécula de mRNA, es fundamental que los ribosomas se unan al sitio correcto y empiecen a leer en el marco de lectura adecuado. En las bacterias, esto se consigue teniendo un sitio de unión al ribosoma (secuencia de Shine-Dalgarno, ↻ Sección 4.11) y un codón de inicio cercano en el mRNA. Los sitios de unión al ribosoma bacteriano no se encuentran en los genes eucariotas y hay que introducirlos en el vector si se desea obtener altos niveles de expresión del gen eucariota. El vector de la Figura 11.18 contiene uno de estos sitios.

Para asegurar una traducción de alta eficacia puede ser necesario realizar otros ajustes en el gen clonado. Por ejemplo, el *uso codónico*, que está relacionado con la concentración del tRNA adecuado en la célula, puede ser un obstáculo (↻ Sección 6.3 y Tabla 6.3). Debido a que el código genético es redundante, existe más de un tRNA para la mayoría de los aminoácidos (↻ Sección 4.11). Así, si un gen clonado tiene un patrón de uso codónico muy diferente al del hospedador de expresión, probablemente sea traducido de manera ineficaz en dicho hospedador. La mutagénesis dirigida (Sección 11.5) se puede utilizar para cambiar codones seleccionados del gen, y hacerlos más afines al patrón de uso codónico del hospedador.

Por último, si el gen clonado contiene intrones, como tienen normalmente los genes eucarióticos (↻ Sección 4.9), no se sintetizará el producto proteico correcto si el hospedador es un procariota. Este problema también puede solucionarse utilizando DNA sintético. No obstante, el método habitual para crear un gen sin intrones es obtener el mRNA (en el que los intrones ya han sido eliminados) y utilizar la transcriptasa inversa para generar una copia de DNA complementario (cDNA) de este (véanse las Figuras 11.6 y 11.23).

MINIRREVISIÓN

- Describa los componentes necesarios para que un vector lanzadera sea eficaz.
- Describa algunos de los componentes de un vector de expresión que mejoren la expresión del gen clonado.

11.10 Otros vectores de clonación

Los vectores plasmídicos usados normalmente para la clonación molecular están limitados en cuanto a la cantidad de DNA que puede ser insertado, siendo el máximo aproximadamente 10 kbp. Para aplicaciones que necesitan la clonación de regiones genómicas grandes como los operones o los genes eucarióticos, se han desarrollado vectores basados en bacteriófagos, cósmidos o cromosomas artificiales. Aunque no los presentaremos en detalle aquí, los vectores derivados de los virus se emplean con frecuencia como vectores en eucariotas pluricelulares. En particular, los retrovirus pueden usarse para introducir genes en células de mamíferos porque estos virus se replican a través de una forma de DNA que se integra directamente en el cromosoma del hospedador (↻ Sección 9.11).

Clonación con el bacteriófago lambda

El bacteriófago lambda (↻ Sección 8.8) es un vector de clonación útil porque se conoce bien su biología, puede contener más cantidad de DNA que la mayoría de los plásmidos, y su DNA puede empaquetarse eficazmente en partículas fágicas in vitro. También recordaremos que durante la fase lítica del ciclo biológico del fago, la célula hospedadora de *Escherichia coli* es reprogramada para replicar cantidades grandes de DNA de lambda (↻ Sección 10.7).

El fago lambda tiene un gran número de genes, pero un tercio de su genoma no es esencial para la infectividad y puede ser sustituido por DNA foráneo. Esto permite la clonación de fragmentos de DNA relativamente grandes, de hasta unos 20 kbp, que es el doble de la capacidad de clonación de los vectores plasmídicos pequeños normales. Para facilitar el uso de lambda como vector de clonación molecular, muchos de sus sitios para enzimas de restricción han sido modificados y se le ha añadido un sitio de clonación múltiple (MCS) que contiene el gen para la β-galactosidasa para seleccionar los vectores recombinantes.

La clonación con vectores lambda se muestra en la **Figura 10.20*a***. El proceso inicial es similar a la clonación del DNA en vectores plasmídicos en el sentido que se emplean enzimas de restricción y la DNA ligasa. Una vez que el DNA de interés ha sido insertado en el DNA de lambda, se *empaqueta* el vector añadiéndole extractos de células lisadas por lambda que contengan las proteínas de cabeza y cola y permitiendo la formación de manera espontánea de viriones maduros del fago viables. Estos viriones pueden usarse para infectar células hospedadoras apropiadas, y esta infección es mucho más eficaz que la transformación. Entonces se aíslan los clones individuales seleccionando las calvas en una cepa de *E. coli* hospedadora. Se pueden seleccionar los fagos recombinantes detectando la interrupción del gen de la β-galactosidasa usando agar indicador de color (Sección 11.7). Las calvas que contengan un fago que no produce β-galactosidasa pueden ser detectadas rápidamente porque carecen de color mientras que las calvas de fagos no recombinantes serán azules (Figura 11.20*b*). Los métodos de hibridación de ácidos nucleicos (Sección 11.2) y la secuenciación del DNA pueden usarse para determinar si un DNA recombinante de lambda contiene la secuencia de DNA foráneo deseada.

Vectores cósmidos

Los vectores cósmidos utilizan genes lambda específicos y son empaquetados en viriones lambda. Los *cósmidos* son vectores plasmídicos que contienen el sitio *cos* del genoma de lambda, que genera extremos cohesivos cuando se corta (↻ Sección 8.8). El sitio *cos* es necesario para empaquetar el DNA en los viriones lambda. Los cósmidos se construyen a partir de plásmidos ligando la región *cos* de lambda al DNA del

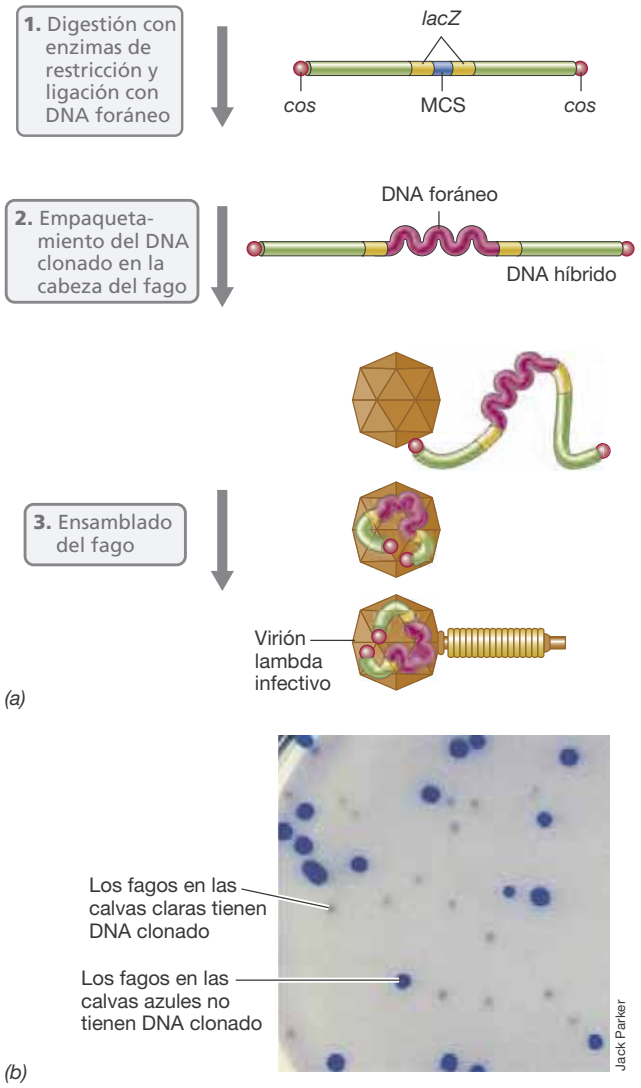


Figura 11.20 **El bacteriófago lambda como vector de clonación.** *(a)* Inserción de DNA foráneo en el DNA de lambda modificado para que contenga un MCS dentro del gen *lacZ* y empaquetamiento posterior de un virión lambda infectivo recombinante. El tamaño máximo del DNA insertado es de unos 20 kbp. *(b)* Vista parcial de una placa de agar con X-gal en la que se muestran calvas blancas formadas por fagos lambda con DNA clonado y calvas azules formadas por el fago sin DNA clonado.

plásmido. Después, se liga el DNA foráneo al vector. El plásmido modificado, más el DNA clonado, se pueden empaquetar a continuación en viriones lambda in vitro como se ha descrito anteriormente, y las partículas fágicas se pueden utilizar para la transducción de *E. coli*.

Una gran ventaja de los cósmidos es que pueden ser utilizados para clonar fragmentos grandes de DNA, con insertos de hasta 50 kbp. Cuanto mayor sea el inserto, menos clones serán necesarios para cubrir un genoma completo. El uso de cósmidos también evita tener que transformar *E. coli*, que resulta especialmente ineficaz con plásmidos grandes. Además, los cósmidos permiten el almacenamiento del DNA en viriones fágicos en lugar de en plásmidos. Puesto que los viriones son más estables, el DNA recombinante se puede guardar durante largos períodos.

Cromosomas artificiales

Los vectores que contienen entre 2 y 10 kbp de DNA clonado son adecuados para elaborar bibliotecas génicas para la secuenciación de genomas procarióticos. Los vectores del fago lambda, que pueden contener 20 kbp o más, también se utilizan mucho en proyectos de genómica. Sin embargo, cuanto mayor sea el tamaño del genoma que se desea secuenciar, mayor será el número de clones necesarios para obtener una secuencia completa. Por tanto, para construir bibliotecas de DNA de organismos eucariotas o de eucariotas superiores, como los humanos, es útil contar con vectores que puedan contener segmentos muy largos de DNA. Esto permite que el tamaño de la biblioteca inicial sea manejable. Estos vectores se han desarrollado y se llaman **cromosomas artificiales**.

El plásmido F, que se encuentra naturalmente en *E. coli*, cuenta con 99,2 kbp de DNA (↻ Sección 10.8) y se conocen derivados llamados plásmidos F′, que pueden contener grandes cantidades de DNA cromosómico (↻ Sección 10.9). A causa de estas propiedades deseables, el plásmido F se ha utilizado para construir vectores de clonación llamados **cromosomas artificiales bacterianos** (**BAC**, del inglés *bacterial artificial chromosomes*). En la Figura 11.21 se muestra la estructura de un BAC de 6,7 kbp que contiene solo algunos genes de F necesarios para la replicación y mantener el número de copias muy bajo. El plásmido también contiene el gen *cat*, que confiere al hospedador resistencia al cloranfenicol, y un MCS que incluye varios sitios de restricción para clonar el DNA. En un vector BAC como este se puede insertar y mantener estable DNA foráneo de más de 300 kbp.

Los **cromosomas artificiales de levadura** (**YAC**, del inglés *yeast artificial chromosomes*) son vectores que se replican en levadura como si fueran cromosomas normales, pero tienen sitios donde se pueden insertar fragmentos muy largos de DNA. Para funcionar como cromosomas eucarióticos normales, los YACs tienen que tener: 1) un origen de replicación del DNA, 2) telómeros para replicar el DNA en los extremos del cromosoma, y 3) un centrómero para su segregación durante la mitosis. También deben tener un sitio de clonación y un gen

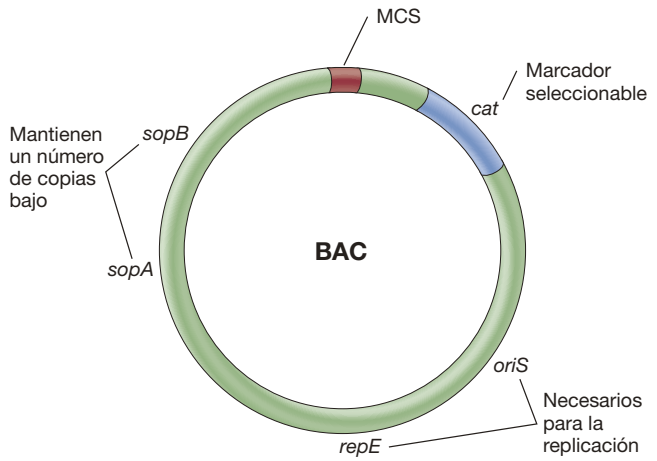


Figura 11.21 **Mapa genético de un cromosoma artificial bacteriano.** El BAC que se muestra en la Figura tiene 6,7 kbp. La región de clonación tiene varios sitios de restricción únicos. Este BAC contiene solo una pequeña fracción del plásmido F de 99,2 kbp.

para la selección después de la transformación en el hospedador, que normalmente es la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. En la **Figura 11.22** se muestra un esquema de un vector YAC en el que se ha clonado DNA foráneo. Es de destacar que los vectores YAC tienen solo unos 10 kbp, pero pueden llevar insertos de DNA clonado de 200 a 800 kbp.

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué resulta útil poder empaquetar DNA recombinante de partículas fágicas en un tubo de ensayo?
- ¿Qué significan los acrónimos BAC y YAC?
- El cromosoma artificial de la levadura se comporta como un cromosoma normal en una célula de levadura. ¿Qué lo hace posible?



Figura 11.22 Cromosoma artificial de levadura con DNA foráneo. El DNA foráneo se clonó en el vector en el sitio de restricción *Not*I. Los telómeros están marcados como TEL y el centrómero como CEN. El origen de replicación o secuencia de replicación autónoma es ARS (del inglés *autonomous replication sequence*). El gen utilizado para la selección es *URA3*. El hospedador en el que se transforma el clon tiene una mutación en *URA3* y necesita uracilo para crecer (Ura^-). Las células hospedadoras que contienen este YAC son Ura^+. El esquema no está a escala; el DNA vector tiene solo 10 kbp, mientras que el DNA clonado puede llegar a los 800 kbp.

III • Productos de microorganismos modificados genéticamente

La ingeniería genética se ha usado para transformar microorganismos en minúsculas fábricas para la producción de productos valiosos como combustibles, sustancias químicas, fármacos, y hormonas humanas como la insulina. Hasta este punto hemos presentado las técnicas empleadas para manipular, clonar y expresar el DNA. Ahora veremos cómo estas técnicas pueden ser aplicadas directamente en **biotecnología**, incluyendo algunos de los principales retos al expresar genes eucariotas en bacterias y purificar el producto proteínico correspondiente. También presentaremos los métodos de ingeniería genética para modificar plantas, animales, vacunas y rutas metabólicas.

11.11 Expresión de genes de mamíferos en bacterias

Algunos problemas frecuentes de los vectores de expresión fueron ya mencionados en la Sección 11.9, pero hay otros obstáculos para expresar genes de mamíferos en bacterias. Entre estos problemas se incluyen los siguientes: 1) los genes eucarióticos deben ser ubicados bajo en control de promotores bacterianos (Sección 11.9); 2) los intrones (↻ Sección 4.9) se deben eliminar; (3) la preferencia codónica puede hacer necesaria la modificación de secuencias génicas (↻ Sección 4.11), y (4) muchas proteínas de mamíferos tienen que ser modificadas después de la traducción para producir la forma activa, y las bacterias no pueden realizar la mayoría de estas modificaciones. En esta sección mostraremos las soluciones para estos retos.

Clonación del gen a partir del RNA mensajero

El método habitual para obtener un gen eucariótico sin intrones consiste en clonarlo a partir de su RNA mensajero (mRNA). Dado que los intrones se eliminan durante el procesamiento de mRNA, el mRNA maduro posee una secuencia codificante ininterrumpida (↻ Sección 4.9 y Figura 4.29). Los tejidos que expresan el gen de interés suelen contener grandes cantidades del mRNA correspondiente, aunque también producen otros tipos de mRNA. Sin embargo, en algunas situaciones un solo mRNA domina en un tipo de tejido, y la extracción de la mayor parte del mRNA de dicho tejido proporciona un punto de partida útil para la clonación del gen.

En una célula de mamífero típica, alrededor del 80 % al 85 % del RNA es ribosómico; del 10 % al 15 % está formado por RNA de transferencia, y solo del 1 % al 5 % es mRNA. Sin embargo, una característica exclusiva del mRNA eucariótico es la presencia de las colas de poli(A) que se encuentran en el extremo 3′ (↻ Sección 4.9), y esto facilita su aislamiento, aunque sea poco abundante. Al pasar un extracto de esta célula por una columna de cromatografía que contenga fragmentos de poli(T) unidos a un soporte de celulosa, la mayor parte del mRNA se separa de los otros RNA y queda unido al soporte mediante el apareamiento específico de las bases A y T. Después se libera el RNA de la columna mediante un tampón bajo en sal, obteniéndose así una preparación muy enriquecida en mRNA.

Una vez se ha aislado el RNA mensajero, se convierte la información genética en DNA complementario (cDNA) mediante una RT-PCR, como se mostró en la Figura 11.6. Este cDNA bicatenario contiene las secuencias codificantes de interés, pero carece de intrones (**Figura 11.23**), y por tanto puede insertarse en un plásmido o en otro vector para proceder a su clonación. No obstante, debido a que el cDNA solo contiene la secuencia de DNA que codifica la proteína, carece de promotor y de otras secuencias reguladoras en su extremo 5′ necesarias para la expresión. En estos casos, se utilizan vectores de expresión especiales con promotores y sitios de unión de los ribosomas bacterianos para obtener altos niveles de expresión con los genes clonados de esta manera (Sección 11.9).

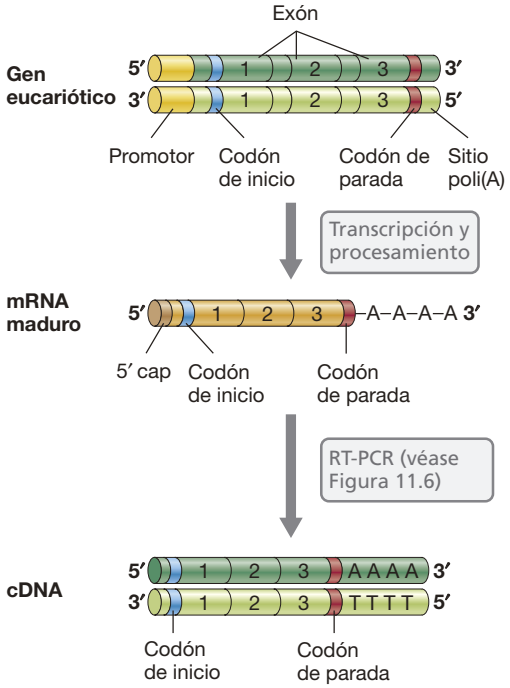


Figura 11.23 **DNA complementario (cDNA).** Pasos de la síntesis de un cDNA sin intrones que se corresponde con un gen eucariótico mediante una PCR con transcriptasa inversa (RT-PCR).

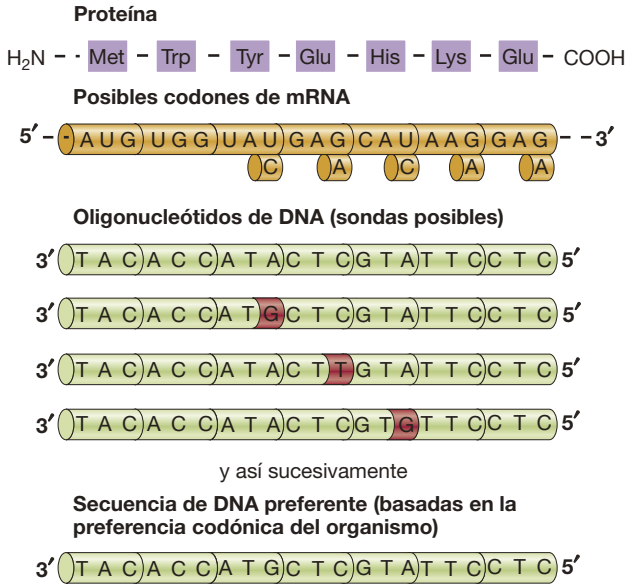


Figura 11.24 **Deducción de la mejor secuencia de una sonda de oligonucleótidos a partir de la secuencia de aminoácidos de la proteína.** Dado que muchos aminoácidos están codificados por varios codones, son posibles muchas sondas de ácido nucleico para una secuencia determinada de polipéptidos. Si se conoce el uso de codones que tiene el organismo deseado, se puede seleccionar una secuencia preferida. No es imprescindible conseguir una precisión exacta, puesto que una pequeña proporción de apareamientos erróneos es tolerable, especialmente en el caso de sondas largas.

Obtención del gen a través de la proteína

El conocimiento de la secuencia de un mRNA permite la producción de cDNA para fines de clonación. En algunos casos, sin embargo, solo se conoce la secuencia de aminoácidos de la proteína de interés. La secuencia de aminoácidos se puede emplear para diseñar y sintetizar una sonda de oligonucleótidos que la codifique, como muestra la Figura 11.24. Lamentablemente, la degeneración del código genético supone una complicación para esta técnica. La mayoría de los aminoácidos están codificados por más de un codón (↻ Tabla 4.5), y el uso de los codones varía de un organismo a otro. Por tanto, la mejor región de un gen para crear una sonda es la que codifica una parte de la proteína donde abunden los aminoácidos especificados por un solo codón (por ejemplo, metionina, AUG; triptófano, UGG) o, como máximo, dos codones (por ejemplo, fenilalanina, UUU, UUC; tirosina, UAU, UAC; histidina, CAU, CAC). Esta estrategia aumenta las posibilidades de que la sonda sea prácticamente complementaria del mRNA o el gen de interés. Si no se conoce la secuencia completa de aminoácidos de la proteína, la información de una secuencia parcial puede ser suficiente.

En el caso de algunas proteínas muy pequeñas puede ser factible sintetizar el gen completo (Sección 11.5). Muchas proteínas de mamíferos (tales como las valiosas hormonas peptídicas) se producen a partir de la escisión de precursores mayores por la proteasa. Así pues, para producir una hormona peptídica pequeña como la insulina, puede ser más eficaz construir un gen artificial que codifique solo la hormona final y no la proteína completa de la que procede de forma natural. La síntesis química también permite sintetizar genes modificados que pueden crear nuevas proteínas de utilidad. El método sintético fue usado inicialmente sobretodo para la producción de insulina humana en bacterias. Cabe mencionar que un gen construido carece de intrones, y por tanto, su mRNA no necesita ser procesado. Además, se pueden construir fácilmente promotores y otras secuencias reguladoras dentro del material genético de las secuencias codificantes, y la preferencia codónica (↻ Secciones 4.11 y 6.3) está garantizada. Mediante estas técnicas, se han expresado muchas proteínas humanas y víricas con un alto rendimiento bajo el control de sistemas reguladores bacterianos. Entre dichas proteínas figuran la insulina, la somatostatina, proteínas de la cápsida vírica y el interferón.

Plegado y estabilidad de las proteínas

En ocasiones, la síntesis de una proteína en un nuevo hospedador va acompañada de problemas adicionales. Por ejemplo, algunas proteínas son susceptibles de degradación por parte de proteasas intracelulares, por lo que pueden destruirse antes de ser aisladas. Además, algunas proteínas eucarióticas son tóxicas para los hospedadores procariotas, de manera que la célula hospedadora del vector de clonación puede morir antes de sintetizar una cantidad suficiente del producto deseado. Estos problemas se pueden solucionar modificando el hospedador o el vector.

En ocasiones, cuando las proteínas foráneas se producen en gran exceso, forman cuerpos de inclusión dentro del hospedador. Los cuerpos de inclusión consisten en una proteína insoluble agregada que con frecuencia se pliega de forma incorrecta o está parcialmente desnaturalizada, y suelen ser tóxicos para la célula hospedadora. Aunque los cuerpos de inclusión son relativamente fáciles de purificar debido a su tamaño, la proteína que contienen suele ser muy difícil de disolver y puede estar inactiva. Una posible solución para este problema consiste en

utilizar un hospedador que produzca un exceso de chaperonas moleculares que ayuden a conseguir el plegado correcto (↻ Sección 4.14).

Fusión de proteínas para mejorar su purificación

La purificación de proteínas se puede simplificar si la proteína del gen clonado se fabrica como una *proteína de fusión* con una proteína portadora codificada por el vector. Para ello, se fusionan los dos genes para obtener una sola secuencia codificante, y entre ellos se inserta un segmento corto que sea reconocido y escindido por una proteasa producida comercialmente. Una vez realizadas la transcripción y la traducción, se forma una única proteína que se purifica por métodos diseñados para la proteína portadora. La proteína de fusión se separa entonces mediante la proteasa, que libera la proteína deseada de la proteína transportadora. Las proteínas de fusión simplifican el proceso de purificación de la proteína deseada porque se puede elegir la proteína transportadora que tenga las propiedades ideales para la purificación.

Existen algunos vectores de fusión para generar proteínas de fusión. La **Figura 11.25** muestra un ejemplo de un vector de fusión que es también un vector de expresión. En este ejemplo, la proteína portadora es la proteína de unión de la maltosa de *Escherichia coli*, y la proteína de fusión se puede purificar fácilmente mediante métodos basados en su afinidad por la maltosa. Una vez purificada la proteína de fusión, se separan las dos porciones mediante una proteasa específica. En algunos casos, la proteína deseada puede separarse de la proteína portadora por métodos químicos específicos, en vez de hacerlo mediante la acción de proteasas.

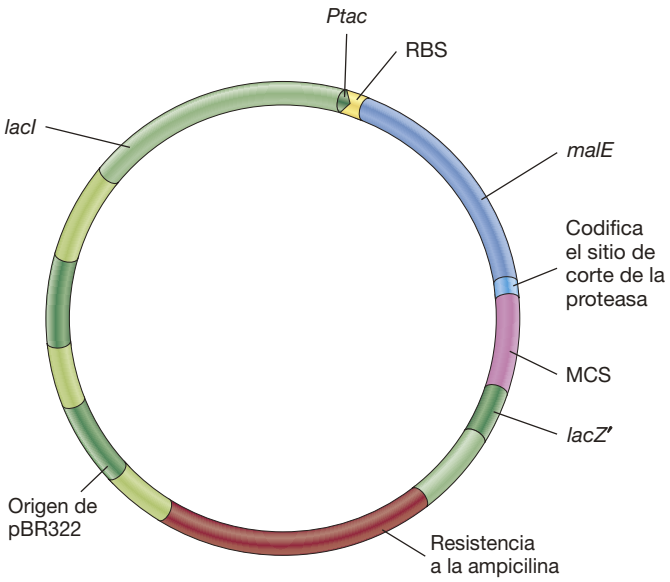


Figura 11.25 Vector de expresión para fusiones. El gen que se va a clonar se inserta en el sitio múltiple de clonación (MCS), de manera que quede en el mismo marco de lectura que el gen *malE*, que codifica la proteína de unión de la maltosa. Esta inserción desactiva el gen por el fragmento alfa de *lacZ*, que codifica la β-galactosidasa. El gen fusionado se encuentra bajo el control del promotor híbrido *tac* (*Ptac*) y un sitio de unión al ribosoma (RBS) de *Escherichia coli*. El plásmido también contiene el gen *lacI*, que codifica el represor *lac*. Por tanto, se debe añadir un inductor a las células con el fin de activar el promotor *tac*. El plásmido contiene un gen que confiere a su hospedador resistencia a la ampicilina. Este vector fue desarrollado por New England Biolabs.

Los sistemas de fusión también pueden utilizarse para otras finalidades. Una de las ventajas de crear una proteína de fusión es que puede elegirse una proteína transportadora que contenga la codificación de la secuencia bacteriana para el *péptido señal*, un péptido abundante en aminoácidos hidrófobos que permite transportar la proteína a través de la membrana citoplasmática (↻ Sección 4.14). Esto posibilita el desarrollo de un sistema de expresión bacteriano que no solo sintetiza proteínas de mamíferos, sino que también la secreta. Si se emplean las cepas y los vectores correctos, la proteína deseada puede representar hasta el 40 % de las moléculas de proteína de una célula.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cuál es la principal ventaja que presenta la clonación de genes de mamífero a partir del mRNA o mediante genes sintéticos, frente a la amplificación y clonación por PCR del gen nativo?
- ¿Cómo se produce una proteína de fusión?

11.12 La somatotropina y otras proteínas de los mamíferos

Una de las áreas de la biotecnología que produce más beneficios económicos es la producción de proteínas humanas. Muchas proteínas de mamífero poseen un gran valor farmacológico, pero habitualmente están presentes en cantidades muy pequeñas en los tejidos normales y, por tanto, resulta extremadamente costoso purificarlas. Aun en el caso de que la proteína se pueda producir en cultivos celulares, esto resulta mucho más caro y difícil que realizar cultivos microbianos que puedan producirla con un alto rendimiento. Por este motivo, la industria de la biotecnología ha desarrollado microorganismos modificados genéticamente para producir muchas proteínas de mamífero diferentes.

Somatotropina

Aunque la insulina fue la primera proteína humana en ser producida por bacterias, el procedimiento presentaba una serie de complicaciones inusuales porque la insulina está formada por dos polipéptidos cortos unidos por enlaces de disulfuro. Un ejemplo más típico es la *somatotropina* (hormona del crecimiento), en la cual nos centraremos aquí.

La somatotropina está constituida por un único polipéptido codificado por un solo gen y la ausencia de esta hormona en el cuerpo causa enanismo hereditario. Dado que el gen de la somatotropina humano fue clonado y expresado en bacterias de forma satisfactoria, las niñas y niños que muestran un retraso en el crecimiento pueden tratarse con *somatotropina humana recombinante*. No obstante, el enanismo también puede estar causado por la falta de receptores de la somatotropina; en tal caso, la administración de somatotropina no tiene ningún efecto sobre el paciente.

El gen de la somatotropina se clonó como DNA complementario (cDNA) a partir de mRNA, como se ha descrito en la Sección 11.11 (**Figura 11.26**). El cDNA se expresó luego en un vector de expresión bacteriano. El principal problema de producir hormonas polipeptídicas relativamente cortas, como la

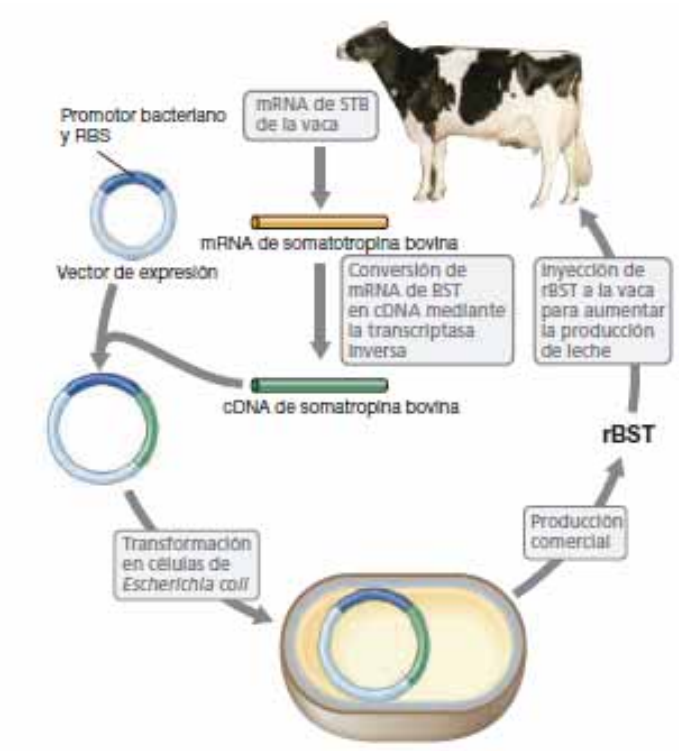


Figura 11.26 Clonación y expresión de la somatotropina bovina. El RNA mensajero para la somatotropina bovina (BST) se obtiene de un animal. El mRNA se convierte en cDNA mediante el uso de la transcriptasa inversa. La versión de cDNA del gen de la somatotropina se clona a continuación en un vector de expresión bacteriano que contiene un promotor bacteriano y un sitio de unión de los ribosomas (RBS). El constructo se transforma en células de *Escherichia coli* y se produce la somatotropina bovina recombinante (rBST). Las vacas tratadas con rBST presentan un aumento en la producción de leche.

somatotropina, es su susceptibilidad a la digestión por las proteasas. Este problema puede contrarrestarse utilizando cepas de hospedadores bacterianos defectivas para diversas proteasas.

La *somatotropina bovina recombinante* (rBST, del inglés *recombinant bovine somatotropin*) se utiliza en la industria láctea (Figura 11.26). Inyectada a las vacas, no las hace crecer más, sino que estimula la producción de leche. Esto es porque la somatotropina tiene dos sitios de unión: uno de ellos la une al receptor de somatotropina y estimula el crecimiento, mientras que el otro la une al receptor de prolactina y estimula la producción de leche. Cuando se utiliza la somatotropina humana para corregir defectos del crecimiento, conviene evitar efectos secundarios derivados de la acción de la prolactina presente en la hormona, tales como la estimulación de la lactación. Para paliar este problema, se recurrió a la mutagénesis dirigida (Sección 11.5) del gen de la somatotropina humana para modificar los aminoácidos de la hormona que se unen al receptor de prolactina. Esto demuestra que, no solamente es posible crear hormonas humanas genuinas, sino también alterar su especificidad y su actividad para hacer de ellas medicamentos mejores.

Otras proteínas de mamíferos

La ingeniería genética también produce muchas otras proteínas de mamífero (Tabla 11.2); entre ellas, un surtido de hormonas y proteínas para la coagulación de la sangre y para otros procesos hematológicos. Por ejemplo, el *activador tisular del plasminógeno* (TPA, del inglés *tissue plasminogen activator*) es una proteína que en el torrente circulatorio disuelve coágulos de sangre que puedan formarse en las fases finales del proceso de cicatrización. El TPA se emplea principalmente en pacientes con cardiopatías o en personas con mala circulación para impedir la formación de coágulos que podrían poner en peligro la vida.

Las cardiopatías constituyen una de las principales causas de muerte en muchos países desarrollados, especialmente en los Estados Unidos, por lo que el TPA producido a partir de microorganismos tiene cada vez más demanda.

Al contrario que el TPA, los factores de coagulación VII, VIII y IX son de gran importancia para la *formación* de coágulos de sangre. Los hemofílicos presentan una deficiencia de uno o

Tabla 11.2 Algunos productos médicos fabricados mediante ingeniería genética

Producto	*Función*
Proteínas de la sangre	
Eritropoyetina	Tratamiento de ciertos tipos de anemia
Factores VII, VIII y IX	Favorecen la coagulación de la sangre
Activador tisular del plasminógeno	Disuelve coágulos de sangre
Uroquinasa	Favorece la coagulación de la sangre
Hormonas humanas	
Factor de crecimiento epidérmico	Cicatrización de heridas
Hormona estimulante del folículo	Tratamiento de trastornos de la reproducción
Insulina	Tratamiento de la diabetes
Factor de crecimiento nervioso	Tratamiento de trastornos neurológicos degenerativos e ictus
Relaxina	Facilita el parto
Somatotropina (hormona del crecimiento)	Tratamiento de algunos trastornos del crecimiento
Moduladores inmunitarios	
α-Interferón	Agente antivírico y antitumoral
β-Interferón	Tratamiento de la esclerosis múltiple
Factor estimulador de colonias	Tratamiento de infecciones y del cáncer
Interleucina-2	Tratamiento de ciertos tipos de cáncer
Lisozima	Antiinflamatorio
Factor de necrosis tumoral	Agente antitumoral, tratamiento potencial de la artritis
Enzimas de sustitución	
β-Glucocerebrosidasa	Tratamiento de la enfermedad de Gaucher, un trastorno neurológico hereditario
Enzimas terapéuticas	
DNasa I humana	Tratamiento de la fibrosis quística
Alginato liasa	Tratamiento de la fibrosis quística

más factores de coagulación, y pueden tratarse fácilmente con factores de coagulación obtenidos microbiológicamente. Antes, estos pacientes recibían un tratamiento con extractos concentrados de factores de coagulación procedentes de mezclas de sangre humana, que en algunos casos estaban contaminadas con virus como el del VIH o el de la hepatitis C, por lo que los pacientes tenían un alto riesgo de contraer dichas enfermedades. Los factores de coagulación recombinantes han eliminado este problema.

Algunas proteínas de mamíferos obtenidas mediante ingeniería genética no son en realidad hormonas, sino enzimas (Tabla 11.2). Por ejemplo, la *DNasa I humana*, que se utiliza para tratar la acumulación de moco que contiene el DNA en los pulmones de pacientes con fibrosis quística. El moco se forma debido a que la fibrosis quística a menudo va acompañada de infección pulmonar por la bacteria *Pseudomonas aeruginosa*, que pone en peligro la vida del paciente. Las células bacterianas forman biofilms (↔ Secciones 7.9 y 19.4) en los pulmones que dificultan el tratamiento farmacológico. El DNA se libera cuando se lisan las células bacterianas, y esto estimula la producción de moco, haciendo muy difícil la respiración. La DNasa digiere el DNA y la viscosidad del moco disminuye mucho.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué ventajas da el uso de la ingeniería genética para producir insulina?
- ¿Cuáles son los principales problemas a la hora de producir proteínas en bacterias?
- Indique qué ventajas presenta el uso de una enzima en el tratamiento de infecciones bacterianas como las que afectan a pacientes de fibrosis quística.

11.13 Organismos transgénicos en agricultura y acuicultura

La mejora genética de plantas y animales por métodos tradicionales de cría y selección tiene una larga historia, pero la tecnología del DNA recombinante ha traído cambios revolucionarios. Aunque la ingeniería genética de organismos superiores no es en realidad microbiología, la mayor parte de la manipulación del DNA se realiza utilizando bacterias y sus plásmidos y genes (véase más adelante plantas resistentes a insectos y herbicidas) mucho antes de que los genes modificados se inserten finalmente en la planta o en el animal. Por tanto, trataremos a continuación de la manipulación genética de plantas y animales centrándonos en la microbiología en la que se basa este proceso.

Debido a que las plantas y los animales modificados genéticamente contienen genes de otros organismos (llamados *transgenes*), se les considera **organismos transgénicos**. También se les llama **organismos modificados genéticamente** (**OMG**), aunque estrictamente hablando, el término *modificado genéticamente* se refiere a los organismos cuya genética se ha modificado, contengan o no DNA foráneo. En esta sección describiremos cómo se insertan genes foráneos en el genoma de plantas y de peces y cómo pueden usarse los organismos transgénicos.

El plásmido Ti y las plantas transgénicas

Mientras que el DNA recombinante puede ser transformado en las células vegetales por electroporación o por transfección (véase la Figura 11.28), el **plásmido Ti** de la bacteria fitopatógena gramnegativa *Agrobacterium tumefaciens* puede usarse para transferir DNA directamente a las células de algunas plantas. Este plásmido es el responsable de la virulencia de *A. tumefaciens* y contiene genes que movilizan el DNA para transferirlo a la planta, que contrae así la enfermedad denominada agalla de corona (en inglés *crown gall*) (↔ Sección 22.4). El segmento de DNA del plásmido Ti que se transfiere a la planta se llama **T-DNA**. Las secuencias de los extremos del T-DNA son esenciales para la transferencia, y el DNA que se va a transferir debe estar entre estos extremos.

Un sistema común de vector Ti que se ha utilizado para transferir genes a plantas es un sistema de dos plásmidos denominado *vector binario*, que consta de un vector de clonación y un plásmido auxiliar. El vector de clonación contiene los dos extremos del T-DNA a cada lado de un sitio de clonación múltiple, dos orígenes de replicación, de modo que pueda replicarse en *Escherichia coli* (el hospedador para la clonación) y en *A. tumefaciens*, y dos marcadores de resistencia a los antibióticos, uno para la selección en plantas y el otro para la selección en bacterias. El DNA foráneo se inserta en el vector, que a continuación se transforma en *E. coli* y acto seguido se transfiere a *A. tumefaciens* por conjugación (**Figura 11.27**).

Este vector de clonación no contiene los genes necesarios para transferir el T-DNA a una planta. No obstante, si se coloca en una célula de *A. tumefaciens* que contenga un plásmido auxiliar adecuado, se puede transferir el T-DNA a la planta. Este plásmido auxiliar «desarmado», llamado *D-Ti*, contiene la región de virulencia (*vir*) del plásmido Ti, pero carece del T-DNA. Tampoco tiene los genes que causan la enfermedad, pero aporta las funciones necesarias para transferir el T-DNA desde el vector de clonación. El DNA clonado y el marcador de resistencia a la kanamicina del vector pueden ser movilizados por el plásmido D-Ti y transferidos a una célula vegetal, donde penetran en el núcleo (Figura 11.27*d*). Tras su integración en un cromosoma vegetal, el DNA foráneo puede expresarse y conferir así nuevas propiedades a la planta.

El uso del plásmido Ti de *A. tumefaciens* ha permitido la obtención de plantas transgénicas. El sistema Ti funciona de forma satisfactoria en plantas latifolias (dicotiledóneas), entre ellas plantas de cultivo como el tomate, la patata, el tabaco, la soja, la alfalfa y el algodón. También se ha empleado para obtener árboles transgénicos, como el nogal y el manzano. Aunque el uso de este plásmido no da buenos resultados en plantas de la familia de las gramíneas (monocotiledóneas, como el maíz), se han utilizado con éxito otros métodos de introducción del DNA, como la transfección por bombardeo de microproyectiles con un disparador de partículas (**Figura 11.28**).

Plantas resistentes a los insectos y a los herbicidas

Las principales áreas de investigación en la mejora genética de las plantas comprenden la resistencia a los herbicidas, a los insectos y a las enfermedades microbianas, así como la mejora de la calidad del producto. Hoy en día, las principales plantas de cultivo modificadas genéticamente (MG) son la soja, el maíz, el algodón y la colza. Casi todas la soja y colza MG sembradas son

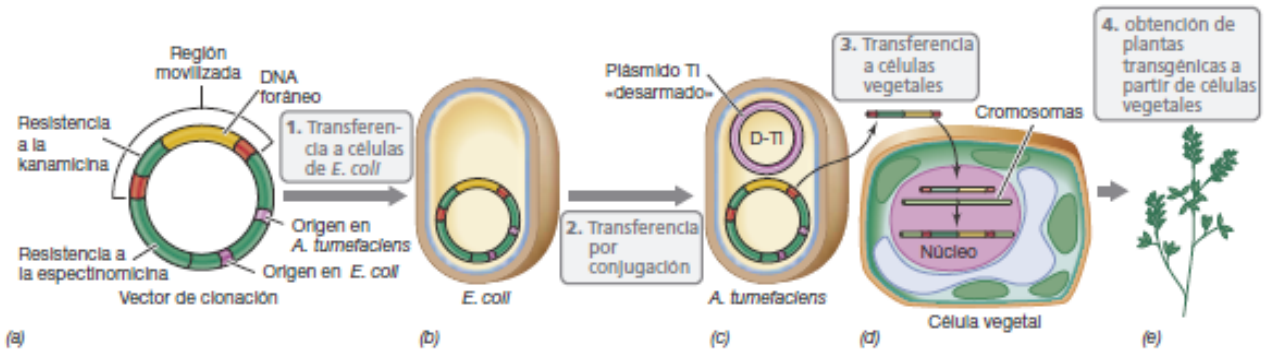


Figura 11.27 **Producción de plantas transgénicas utilizando un sistema de vector binario en *Agrobacterium tumefaciens*.** *(a)* Vector de clonación en plantas, que contiene extremos de T-DNA (rojo), DNA foráneo, elementos de origen de replicación y marcadores de resistencia. *(b)* El vector se coloca en células de *Escherichia coli* para la clonación, y a continuación, *(c)* se transfiere a *A. tumefaciens* por conjugación. El plásmido residente Ti (D-Ti) ha sido modificado genéticamente para eliminar los genes clave implicados en la patogénesis. *(d)* D-Ti puede movilizar aun la región T-DNA del vector para realizar la transferencia a las células vegetales que han crecido en cultivos de tejidos. *(e)* A partir de la célula recombinante vegetal se pueden obtener plantas completas. Los detalles de la transferencia del plásmido Ti de la bacteria a la planta se muestran en la Figura 22.21.

resistentes a los herbicidas, mientras que las de maíz y algodón son resistentes a los herbicidas o a los insectos, o bien a ambos.

La resistencia a los herbicidas se obtiene modificando genéticamente las plantas para protegerlas de los productos químicos que se les aplican para matar las malas hierbas. Muchos herbicidas actúan inhibiendo una de las enzimas principales de la planta o una proteína necesaria para el crecimiento. Por ejemplo, el herbicida *glifosato* (Roundup™) mata las plantas al inhibir una enzima necesaria para sintetizar aminoácidos aromáticos. Algunas bacterias contienen una enzima equivalente y también son aniquiladas por el glifosato. Sin embargo, se han seleccionado bacterias mutantes resistentes al glifosato que contienen una forma resistente de aquella enzima. Se ha clonado un gen que codifica esta enzima resistente de *A. tumefaciens*, se ha modificado para que se pueda expresar en plantas, y se ha transferido a plantas de cultivo importantes como la soja. Cuando se les aplica glifosato, las plantas que contienen el gen bacteriano no mueren (**Figura 11.29**). Por tanto, se puede usar glifosato para matar las malas hierbas que compiten por el agua y los nutrientes con las plantas del cultivo, y ahora se siembran grandes cantidades de soja resistente a los herbicidas en los Estados Unidos.

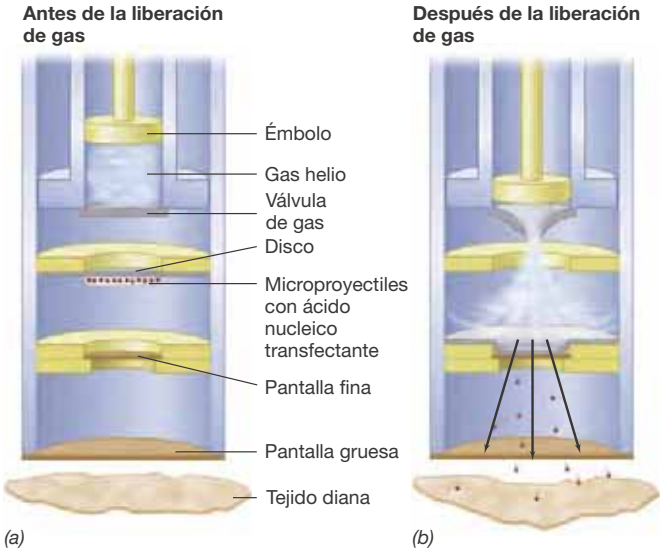


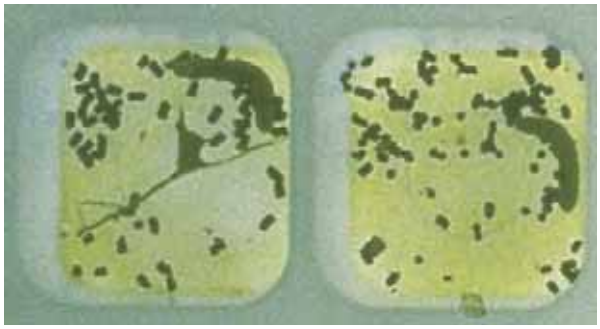
Figura 11.28 **Pistola de DNA para la transfección de células eucariotas.** El diseño de los mecanismos internos de la pistola muestra cómo se proyectan unas partículas metálicas cubiertas con ácido nucleico (microproyectiles) hacia las células diana. *(a)* Antes de disparar y *(b)* después de disparar. Una onda expansiva causada por la liberación de gas empuja el disco que lleva los microproyectiles contra la pantalla fina. Los microproyectiles continúan hasta el tejido diana.

Resistencia a los insectos: las toxinas-Bt

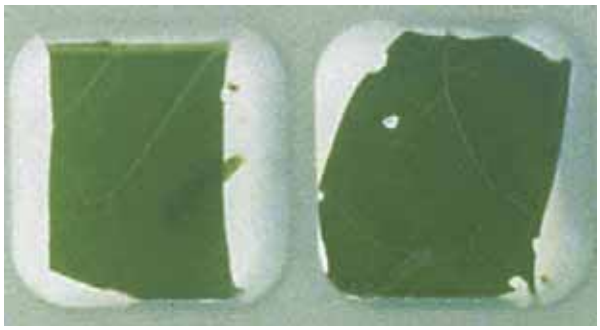
Usando técnicas de ingeniería genética se han obtenido plantas transgénicas resistentes al daño provocado por algunos insectos (**Figura 11.30**). Una de las que más se ha utilizado se basa en la introducción en plantas de genes que codifican las proteínas



Figura 11.29 **Plantas transgénicas: resistencia a herbicidas.** La fotografía muestra un detalle de una plantación de soja tratada con Roundup™, un herbicida derivado del glifosato, fabricado por Monsanto en los Estados Unidos. Las plantas de la derecha son de soja normal, mientras que las de la izquierda se han modificado genéticamente para ser resistentes al glifosato.



(a)



(b)

Kevin McBride, Calgene, Inc.

Figura 11.30 Plantas transgénicas: resistencia a los insectos. *(a)* Resultado de dos ensayos distintos para determinar el efecto de las larvas de una mariposa de la família Noctuidae sobre hojas de tabaco de plantas normales. *(b)* Resultados de ensayos similares, pero utilizando hojas de tabaco recogidas de plantas transgénicas, que expresan la toxina Bt en sus cloroplastos.

tóxicas de la bacteria grampositiva *Bacillus thuringiensis*. *Esta bacteria* produce una proteína cristalina, llamada *toxina Bt* (↻ Sección 15.8), que es tóxica para las larvas de las mariposas. Existen muchas variantes de la toxina Bt que son específicas para insectos distintos. Algunas cepas de *B. thuringiensis* producen además otras proteínas que son tóxicas para las larvas de escarabajos y moscas, así como para los mosquitos.

Habitualmente el transgen Bt se inserta directamente al genoma de la planta. Por ejemplo, se ha clonado el gen de una toxina Bt natural en un plásmido vector bajo el control del promotor del rRNA del cloroplasto, y luego se ha transferido a los cloroplastos de plantas de tabaco mediante el bombardeo de micropartículas (Figura 11.28). Con este método se han obtenido plantas transgénicas que expresan la toxina Bt a niveles que son muy tóxicos para las larvas de un buen número de especies de insectos.

La toxina Bt es inofensiva para mamíferos, incluidos los humanos, por varias razones. Primero, porque la cocción y procesamiento de los alimentos destruye la toxina. Segundo, porque cualquier toxina que se ingiera es digerida y por tanto inactivada en el tubo digestivo de los mamíferos. Tercero, porque la toxina Bt actúa uniéndose a receptores específicos del intestino de los insectos que no se hallan en el intestino de otros grupos de organismos. Esta unión causa un cambio en la conformación de la toxina, que genera poros en la mucosa intestinal de los insectos y altera el aparato digestivo del animal, causando su muerte.

Peces transgénicos

En animales de experimentación y en animales de interés comercial se han incorporado y expresado muchos genes de otras especies. La ingeniería genética emplea la microinyección para introducir genes clonados en huevos fecundados. Este DNA foráneo se incorpora después en los genomas de los huevos por recombinación genética. Recientemente, se han modificado genéticamente peces y animales de granja para mejorar su rendimiento.

Un ejemplo práctico interesante de animal transgénico es el «salmón de crecimiento rápido» (**Figura 11.31**). Estos salmones transgénicos en realidad no llegan a ser mayores que los salmones normales, sino que simplemente alcanzan el tamaño comercial mucho más rápidamente. El gen de la hormona del crecimiento en el salmón natural se activa por la luz; por tanto, los salmones crecen rápidamente solo durante los meses de verano. En el caso de los salmones modificados genéticamente, el promotor de la hormona del crecimiento fue sustituido por el promotor procedente de otro pez que crece a un ritmo más o menos constante durante todo el año. El resultado fue un tipo de salmón que produce la hormona del crecimiento de forma constante, y por tanto, crece más rápidamente. Este salmón puede cultivarse comercialmente en instalaciones de acuicultura y el pez transgénico se puede poner en el mercado más rápidamente que los salmones no modificados genéticamente.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué es una planta transgénica?
- Mencione un ejemplo de planta modificada genéticamente y describa qué beneficios presenta para la agricultura su modificación genética.
- ¿Cómo se modifica genéticamente el salmón para alcanzar más rápidamente el tamaño comercial?

11.14 Vacunas obtenidas por ingeniería genética

Las vacunas son sustancias que inducen inmunidad a una enfermedad particular cuando son inyectadas en un animal (↻ Sección 24.6). Normalmente, las vacunas son suspensiones



Aqua Bounty Technologies

Figura 11.31 Salmón transgénico de crecimiento rápido. El salmón *AquAdvantage*™ (arriba) fue modificado por la empresa canadiense Aqua Bounty Technologies. Tanto el pescado transgénico como el control tienen 18 meses, pero pesan 4,5 kg y 1,2 kg, respectivamente.

de microorganismos o virus patógenos muertos o modificados (o fragmentos aislados de los mismos). Con frecuencia, el componente que activa la respuesta inmunitaria es una proteína de superficie, por ejemplo la proteína de la cubierta de un virus. La ingeniería genética se puede aplicar de muy distintas maneras para producir vacunas.

Vacunas recombinantes

La ingeniería genética puede utilizarse en el desarrollo de vacunas mediante la modificación del propio patógeno. Por ejemplo, se pueden eliminar genes de un virus o bacteria patógenos que codifiquen factores de virulencia, pero dejar aquellos que contengan productos que inducen una respuesta inmunitaria. Esta técnica da lugar a una **vacuna recombinante** e ineficaz (pero atenuada). Por el contrario, se pueden añadir genes de un virus patógeno a otro virus relativamente inofensivo, llamado *virus portador*. Estas vacunas son llamadas **vacunas de vector** y confieren inmunidad al virus patógeno. En realidad, se pueden combinar los dos métodos. Por ejemplo, para proteger a las aves de corral contra la viruela aviar (una enfermedad que reduce el aumento de peso y la producción de huevos) y la enfermedad de Newcastle (una enfermedad vírica que a menudo resulta letal) se usa una misma vacuna recombinante. El virus de la viruela aviar, un típico poxvirus (↔ Sección 9.6), se modificó inicialmente eliminando los genes de virulencia, pero no los que crean inmunidad. Luego se añadieron a ese virus modificado genes que inducen inmunidad contra el virus de Newcastle, y se obtuvo una **vacuna polivalente**: una única vacuna que confiere inmunidad contra dos enfermedades diferentes al mismo tiempo.

El virus vaccinia (↔ Sección 9.6) se emplea mucho para preparar vacunas recombinantes para los humanos. Este virus no suele ser patógeno para los humanos, y se emplea desde hace más de 100 años como vacuna contra el virus de la viruela. No obstante, para clonar genes en el virus vaccinia se necesita un marcador selectivo, que lo proporciona el gen de la timidina quinasa. El virus vaccinia presenta la peculiaridad de que contiene su propia timidina quinasa, una enzima que convierte la timidina en trifosfato de timidina. Sin embargo, esta enzima también puede convertir el análogo de la timidina 5-bromodesoxiuridina en un nucleótido que se incorpora al DNA, causando una reacción letal. Por tanto las células que expresan timidina quinasa (ya sea del genoma de la célula hospedadora o del genoma de un virus) son aniquiladas por la 5-bromodeoxiuridina.

Los genes que se quieren introducir en el virus vaccinia se insertan primero en un plásmido de *Escherichia coli* que contiene un fragmento del gen de la timidina quinasa (*tdk*) del virus vaccinia (**Figura 11.32**). El DNA foráneo se inserta en el gen *tdk*, alterándolo. A continuación, este plásmido recombinante se transforma en el interior de células animales cuya propia timidina quinasa ha sido desactivada. Las mismas células también se infectan con virus vaccinia del tipo salvaje. Entonces se produce una recombinación entre las dos versiones del gen *tdk*, una del plásmido y la otra del virus. De esta manera, algunos virus adquieren un gen *tdk* alterado junto con su correspondiente inserto foráneo (Figura 11.32). Las células infectadas por el virus vaccinia del tipo salvaje, con timidina quinasa activa, son aniquiladas por la 5-bromodesoxiuridina. En cambio, las células infectadas por el virus vaccinia recombinante (con un gen tdk alterado) crecer hasta producir una nueva generación de viriones (Figura 11.32). Esta técnica, por tanto, selecciona los virus cuyo gen *tdk* contenga un fragmento clonado de DNA foráneo.

El virus vaccinia en realidad no necesita timidina quinasa para replicarse. Por consiguiente, los virus vaccinia recombinantes todavía pueden infectar células humanas y expresar cualquier gen foráneo que contengan. Se puede incluso modificar estos virus para que contengan genes de más de un virus. Es decir, desde el punto de vista inmunológico, son *vacunas polivalentes*. Actualmente, ya se han desarrollado diversas vacunas de vectores del virus vaccinia y su uso se ha autorizado en veterinaria, como en el caso de una vacuna antirrábica. Por otra parte, se están realizando ensayos clínicos con muchas otras vacunas de este virus. Aunque son muy inmunógenas en

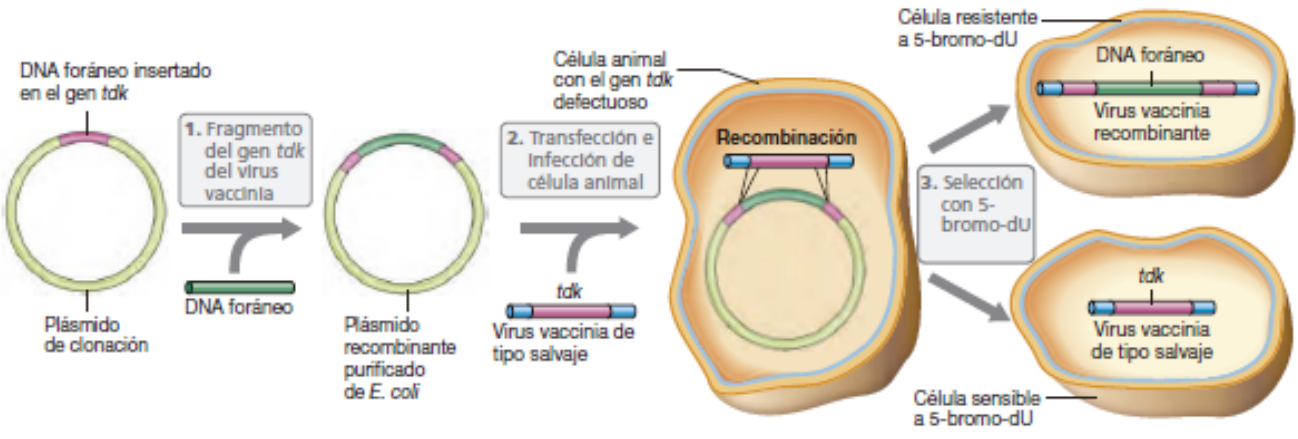


Figura 11.32 **Producción de virus vaccinia recombinante.** El DNA foráneo se inserta dentro de un segmento corto del gen de la timidina quinasa (*tdk*) del virus vaccinia contenido en un plásmido. Después de la replicación de este plásmido en *Escherichia coli*, tanto el plásmido con el fragmento insertado como el virus vaccinia del tipo salvaje se colocan en una misma célula animal hospedadora para estimular la recombinación. Las células animales se tratan con 5-bromodeoxiuridina (5-bromo-dU), que mata solo las células que contienen timidina quinasa activa. Solo sobreviven los virus vaccinia recombinantes cuyo gen *tdk* ha sido desactivado mediante la inserción de DNA foráneo.

los humanos, las vacunas del virus vaccinia son relativamente benignas, por lo que su uso probablemente aumentará en los próximos años.

Vacunas de subunidades

No es necesario que las vacunas recombinantes incluyan todo el conjunto de proteínas del organismo patógeno. Las *vacunas de subunidades* pueden contener solo una o dos proteínas específicas de un organismo patógeno. En el caso de los virus, se suelen emplear proteínas de la cubierta, puesto que normalmente son muy inmunógenas. Las proteínas de la cubierta de los virus se purifican y se utilizan en grandes dosis para producir un nivel elevado y rápido de inmunidad. Las vacunas de subunidades son muy populares hoy en día porque pueden utilizarse para producir grandes cantidades de proteínas inmunógenas sin la posibilidad de que los productos purificados contengan todo el organismo patógeno. Algunas veces solo se expresan determinadas partes de la proteína vírica en lugar de la proteína completa, porque las células inmunitarias y los anticuerpos normalmente reaccionan solo con fragmentos pequeños de la proteína.

Las vacunas de subunidades a veces son muy poco inmunógenas y no consiguen ofrecer protección en los ensayos experimentales de infección. Esto sucede normalmente porque las proteínas recombinantes producidas por bacterias no están glicosiladas, y la glicosilación es necesaria para que las proteínas sean inmunológicamente activas. La glicosilación tiene lugar en el virus intacto durante el proceso de infección en el animal hospedador. Para resolver este problema en una vacuna de subunidades, puede ser necesario un hospedador eucariótico para la clonación. Por ejemplo, la primera vacuna de subunidad vírica autorizada para su uso en humanos (contra el virus de la hepatitis B) se fabricó utilizando levaduras. El gen que codifica la proteína de la cubierta del virus de la hepatitis B fue clonado y expresado en una levadura. La proteína producida fue glicosilada y formó agregados muy parecidos a los hallados en pacientes infectados con el virus. Estos agregados se purificaron y se utilizaron de forma eficaz para vacunar a las personas contra la infección del virus de la hepatitis B.

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué las vacunas recombinantes pueden ser más seguras que algunas vacunas producidas por métodos tradicionales?
- ¿Cuáles son las principales diferencias entre una vacuna recombinante viva atenuada, una vacuna de vector y una vacuna de subunidades?

11.15 Prospección de genomas

Del mismo modo que el contenido genético de un organismo se conoce con el nombre de *genoma*, el conjunto de genomas de un medio natural se conoce con el nombre de *metagenoma* (↔ Secciones 6.10 y 18.7). Los ambientes complejos, como el suelo fértil, contienen un vasto número de bacterias que nunca se han cultivado y otros microorganismos, junto con los virus que los parasitan (↔ Sección 6.10). En conjunto, estos microorganismos contienen a su vez cantidades enormes de genes nuevos no identificados. De hecho, la mayor parte de la información genética de la Tierra se encuentra en los microorganismos que no han sido cultivados y en sus virus. ¿Cómo puede la ingeniería genética aprovechar este recurso?

Minería de genes ambientales

La *minería de genes* es el proceso mediante el cual se aíslan genes nuevos potencialmente útiles procedentes del medio ambiente, sin haber cultivado previamente los organismos que los contienen. En la minería de genes el DNA (o el RNA) se aísla directamente de muestras ambientales y se clona en vectores adecuados para construir una biblioteca metagenómica (**Figura 11.33**). El ácido nucleico contiene genes que proceden de organismos viables así como DNA procedente de organismos muertos que se ha liberado al medio ambiente y todavía no se ha degradado. Si se aísla RNA, se debe transformar en una copia de DNA mediante la transcriptasa inversa (Figura 11.6). No obstante, el aislamiento de RNA es más lento y limita la biblioteca metagenómica solo a los genes que han sido transcritos en el ambiente del que se han extraído las muestras.

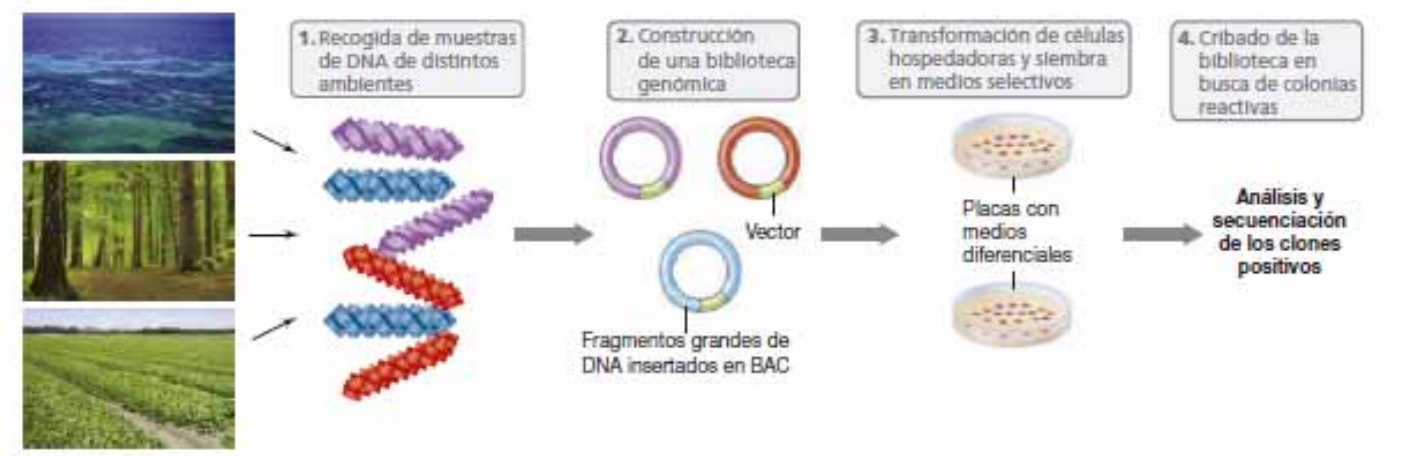


Figura 11.33 **Búsqueda metagenómica ambiental de genes útiles.** Las muestras de DNA se obtienen de distintos lugares, como agua del mar, suelo forestal o suelo agrícola. Se construye luego una biblioteca de clones usando cromosomas artificiales bacterianos (BACs) y se criba en busca de genes de interés. Los genes potencialmente útiles se analizan luego más a fondo.

Para el cribado de una biblioteca metagenómica se usan las mismas técnicas que para cualquier otra biblioteca de clones (Figura 11.8). La metagenómica ha identificado genes nuevos que codifican enzimas que degradan sustancias contaminantes y enzimas que sintetizan nuevos antibióticos. Hasta el momento, se han aislado por este método diversas lipasas (véase más adelante), quitinasas, esterasas y otras enzimas degradadoras con rangos de sustrato nuevos y otras propiedades. Dichas enzimas se utilizan en diversos procesos industriales. Las enzimas que presentan una mejor resistencia a las condiciones de producción industrial, como son la alta temperatura, un pH alto o bajo, y las condiciones oxidantes, son muy valiosas y convenientes.

Al contrario de lo que ocurre con los genes individuales, el descubrimiento de genes que codifican rutas metabólicas completas, como los de la síntesis de antibióticos, requiere de vectores como los cromosomas bacterianos artificiales (BAC, del inglés *bacterial artificial chromosomes*) en los que se puedan insertar fragmentos largos de DNA (Sección 11.10). Los BAC son especialmente útiles para el cribado de muestras de ecosistemas ricos, como el suelo, donde existe una vasta cantidad de genomas desconocidos y, por tanto, un gran número de genes por seleccionar.

Minería de genes dirigida

La metagenómica se puede utilizar para el cribado directo de enzimas con determinadas propiedades. Imaginemos que se desea obtener una enzima o una ruta completa para degradar una determinada sustancia contaminante a altas temperaturas. El primer paso consistiría en encontrar un ambiente cálido contaminado con el compuesto que degradar. Suponiendo que los microorganismos capaces de degradar la sustancia estén presentes en el ambiente, lo cual es una hipótesis razonable, se procedería a aislar y clonar el DNA de aquel ambiente. Depués, se haría un cribado de los hospedadores bacterianos que contuvieran los clones para ver si crecían en aquel compuesto. Por motivos prácticos, este paso se realiza normalmente usando como hospedador *Escherichia coli*, en el supuesto que las enzimas termoestables todavía puedan mostrar actividad a 40 °C (lo cual suele ocurrir). Una vez identificados los candidatos de la manera habitual, los extractos de enzima se pueden someter a ensayos in vitro a altas temperaturas para hallar la enzima de interés.

Para aislar una enzima lipasa termoestable para fines comerciales se usó una estrategia de minería de genes. Las lipasas catalizan la hidrólisis de triglicéridos (grasas), y debido a esto, estas enzimas se incorporan a veces en medicamentos y cosméticos. Pero la producción industrial de enzimas necesita normalmente que estas retengan su actividad a altas temperaturas. Por tanto, se creó una biblioteca metagenómica con DNA aislado de microorganismos de una fuente termal. Dicha biblioteca fue transformada luego en células de *Escherichia coli* y, usando un medio de cultivo especial, se seleccionaron colonias recombinantes con actividad lipasa. El análisis de la enzima extraída de estos clones productores de lipasa indicó que la enzima tenía actividad a temperaturas de hasta 90 °C. Se identificó el gen que codifica esta lipasa termoestable mediante el análisis del DNA del vector recombinante del clon que producía lipasa y se clonó el gen para obtener un vector de expresión para la producción comercial de la enzima.

MINIRREVISIÓN

- Explique por qué la clonación metagenómica proporciona grandes cantidades de genes nuevos.
- ¿Qué ventajas e inconvenientes presenta el aislamiento medioambiental de RNA en comparación con el de DNA?

11.16 Ingeniería genética de las vías metabólicas

Pese a que las proteínas son moléculas grandes, expresar una única proteína en grandes cantidades codificada en un solo gen es relativamente sencillo. Por el contrario, los metabolitos pequeños suelen formarse en rutas bioquímicas que emplean varias enzimas. En tales casos, no solo se necesitan numerosos genes, sino que su expresión debe regularse de una manera coordinada.

La **modificación genética de rutas metabólicas** es el proceso por el cual se obtiene una ruta metabólica nueva o mejorada mediante el uso de genes de uno o más organismos. Hasta el momento se ha trabajado principalmente en modificar y mejorar algunas rutas metabólicas ya existentes en lugar de crear rutas totalmente nuevas. Debido a que la modificación genética de las bacterias resulta más sencilla que la de los organismos superiores, la modificación de rutas metabólicas se ha llevado a cabo principalmente en estos microorganismos. Los microorganismos modificados genéticamente se usan para sintetizar productos, tales como alcohol, disolventes, aditivos alimentarios, colorantes o antibióticos. También pueden utilizarse para degradar residuos agrícolas, sustancias contaminantes, herbicidas y otros productos tóxicos o no deseados.

Un ejemplo de modificación genética de rutas metabólicas es la producción del colorante índigo por *Escherichia coli* (**Figura 11.34**). Se trata de un colorante muy utilizado en el tratamiento de la lana y del algodón. Los pantalones vaqueros, por ejemplo, están hechos de algodón teñido con índigo. Antiguamente, el índigo y otros colorantes relacionados se extraían de

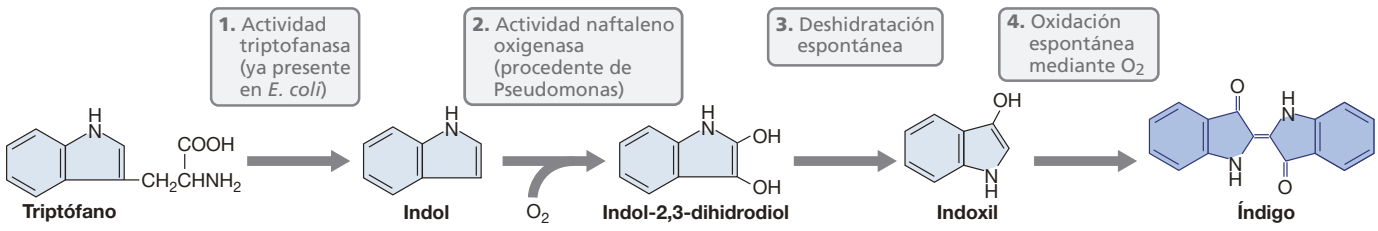


Figura 11.34 Ruta metabólica modificada genéticamente para la producción del colorante índigo. *Escherichia coli* expresa, de forma natural, triptofanasa, que transforma el triptófano en indol. La enzima naftaleno oxigenasa (que originariamente procedía de *Pseudomonas*) transforma el indol en dihidroxiindol, que se deshidrata espontáneamente y forma indoxil. Al ser expuesto al aire, el indoxil se dimeriza y da lugar al índigo, que es azul.

algunos caracoles marinos. Más recientemente, el índigo se extraía de plantas, pero hoy en día se sintetiza químicamente. No obstante, su demanda por parte de la industria textil ha estimulado la creación de nuevos métodos, como el biotecnológico, para sintetizarlo.

Como la estructura del índigo es muy parecida a la del naftaleno, un hidrocarburo policíclico, las enzimas que oxigenan el naftaleno también oxidan el indol y forman un derivado dihidróxido, que se oxida espontáneamente en contacto con el aire y produce el índigo, un pigmento azul brillante. Las enzimas que oxigenan el naftaleno están codificadas en diversos plásmidos de *Pseudomonas* y otras bacterias del suelo. Cuando los genes de dichos plásmidos se clonaron en *E. coli*, las células se volvieron azules debido a la producción de índigo: habían incorporado en su genoma los genes que codifican la enzima naftaleno oxigenasa.

Aunque solo se clonó el gen de la naftaleno oxigenasa durante la modificación genética de la ruta metabólica del índigo, la ruta metabólica de ese colorante consta de cuatro pasos, dos enzimáticos y dos espontáneos (Figura 11.34). La enzima que realiza el primer paso, la transformación de triptófano en indol es la triptofanasa y se encuentra de forma natural en *E. coli*. Para la producción del índigo hay que suministrar triptófano a las células recombinantes de *E. coli*. Para la producción comercial del colorante se fijaron las células a un soporte sólido en un biorreactor, y se hizo gotear sobre las células una solución de triptófano procedente de residuos de proteínas. En este tipo de procesos industriales realizados con células inmovilizadas, se suele hacer circular el material sobre las células varias veces, lo cual provoca un aumento constante de los niveles de índigo, hasta que se puede recoger el colorante.

MINIRREVISIÓN

- Explique por qué la modificación genética de rutas metabólicas es más difícil que la clonación y la expresión de una hormona humana.
- ¿Cómo se modificó *Escherichia coli* para producir índigo?

11.17 Biología sintética

A lo largo de este capítulo hemos presentado el uso de la ingeniería genética para modificar genes y organismos. Pero la biología hoy en día puede ir mucho más lejos. El término *biología sintética* se refiere al uso de la ingeniería genética para crear nuevos sistemas biológicos a partir de partes biológicas que suelen proceder de diferentes organismos. Estas partes biológicas (promotores, potenciadores, operadores, interruptores de RNA, proteínas reguladoras, dominios enzimáticos, receptores de señal, etc.) han sido llamadas biopartes o partes biológicas intercambiables (*biobricks* en inglés). La biología sintética une estas biopartes en varias combinaciones que forman módulos capaces de generar comportamientos complejos.

Un ejemplo de biología sintética es el ensamblado por primera vez de una bacteria sintética con capcidad de autoreplicación realizada en el instituto J. Craig Venter de California (EE. UU.). Este hito se logró sintetizando artificialmente un genoma de 1,08 Mbp basado en la secuencia del genoma de la bacteria *Mycoplasma mycoides* y después reemplazando el cromosoma nativo de una célula de *M. capricolum* por el genoma recién sintetizado. Cuando se hizo esto, las células de *M. capricolum* mostraron todas las propiedades de la célula original de *M. mycoides*.

Un ejemplo fascinante de biología sintética a menor escala es el uso de células de *Escherichia coli* modificadas genéticamente para producir fotografías. Las bacterias modificadas genéticamente se cultivan en césped en placas de agar. Cuando se proyecta una imagen sobre este césped, las bacterias de las zonas oscuras producen un pigmento oscuro, mientras que las bacterias de las zonas más claras no lo producen. El resultado es una fotografía muy básica de la imagen proyectada (**Figura 11.35**).

Para construir la *E. coli* fotográfica fue necesario recurrir a la biología sintética de tres módulos genéticos: 1) un módulo detector de luz y señalizador; 2) una ruta para convertir el grupo hemo (ya presente en *E. coli*) en ficocianobilina, que es el pigmento fotorreceptor, y 3) una enzima codificada por un gen

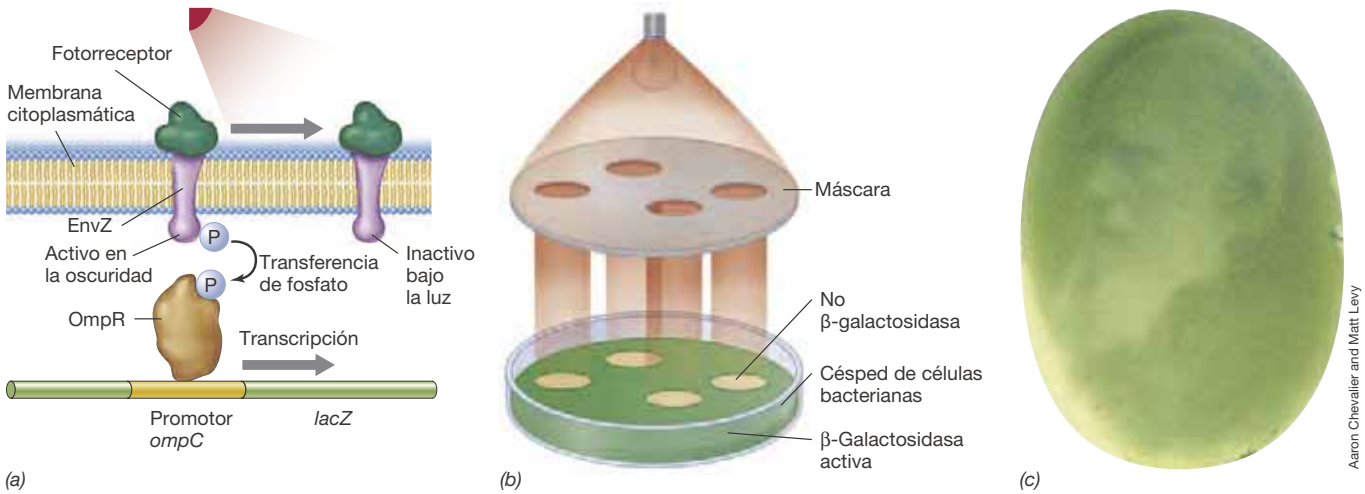


Figura 11.35 **Fotografía bacteriana.** *(a)* Células de *Escherichia coli* detectoras de luz que han sido modificadas genéticamente con componentes de cianobacterias y de la propia *E. coli*. La luz roja inhibe la transferencia de fosfato (P) a la proteína de unión del DNA OmpR; la proteína OmpR fosforilada es necesaria para activar la transcripción de *lacZ* (*lacZ* codifica la β-galactosidasa). *(b)* Preparación de una fotografía bacteriana. Las zonas opacas de la máscara corresponden a las zonas en las que la β-galactosidasa está activa y, por tanto, corresponderán a las zonas oscuras de la imagen final. *(c)* Fotografía bacteriana de un retrato de Charles Darwin.

cuya transcripción pudiera activarse y desactivarse para producir el pigmento oscuro (Figura 11.35*a*). El detector de luz es una proteína de fusión, cuya parte exterior es la parte detectora de luz del fitocromo procedente de la cianobacteria *Synechocystis*. Esta necesita la ficocianobilina (un pigmento accesorio de las cianobacterias que absorbe la luz, ↻ Sección 13.2), que no produce *E. coli*; de ahí la necesidad de instalar la ruta para la producción de este pigmento.

La parte interior del detector de luz es el dominio transmisor de señales de la proteína sensora EnvZ procedente de *E. coli*. Dicha proteína forma parte de un sistema regulador binario en el que el otro componente es la proteína de unión del DNA llamada OmpR (↻ Sección 7.7). Generalmente, EnvZ activa la proteína OmpR que, a su vez, activa los genes diana uniéndose al promotor. En el caso que nos ocupa, la proteína híbrida se diseñó para activar la proteína OmpR en la oscuridad, pero no bajo la luz. Esto se debe a que la fosforilación de OmpR es necesaria para la activación, y la luz roja hace que la proteína sensora entre en un estado en el que se inhibe la fosforilación. Por consiguiente, el gen diana se desactiva bajo la luz y se activa en la oscuridad. Cuando se coloca una máscara sobre la placa Petri que contiene césped de células de *E. coli* modificada genéticamente (Figura 11.35*b*), las células que están en la oscuridad producen un pigmento que no producen las células que están en la parte expuesta a la luz. De esta manera se «revela» una «fotografía» de la imagen de la máscara (Figura 11.35*c*).

El pigmento producido por las células de *E. coli* está ocasionado por la actividad de la β-galactosidasa, enzima degradadora de lactosa que se encuentra de forma natural en este microorganismo. El gen diana, *lacZ*, codifica esta enzima. En la oscuridad, el gen *lacZ* se expresa y se produce β-galactosidasa. La enzima escinde el análogo de la lactosa Xgal (Sección 11.6), que está presente en el medio de cultivo, para que libere galactosa y un colorante oscuro. Bajo la luz, el gen *lacZ* no se expresa, no se produce β-galactosidasa, y por tanto no se libera el colorante. El contraste de la fotografía está controlado por la cantidad de luz que reciben las células, lo cual depende de la naturaleza de la máscara empleada (Figura 11.35*c*).

Aunque las células «sintéticas» de *M. capricolum* no eran células cuyos componentes (citoplasma, membranas, ribosomas y otros similares) se hicieran desde cero, y los cultivos de *E. coli* nunca remplazarán la fotografía digital, el conocimiento adquirido en cada caso al ensamblar las partes necesarias mediante la biología sintética, nos ayuda a ir comprendiendo cómo funcionan in vivo los componentes obtenidos por ingeniería genética. Esto a su vez permitirá aumentar la complejidad de la biología sintética y puede que algún día contribuya la aplicación de esta ciencia para solucionar problemas urgentes de la medicina, de la agricultura y del ambiente.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué es una bioparte (*biobricks* en inglés)?
- ¿Cómo se modificó *Escherichia coli* para producir una fotografía?

IDEAS PRINCIPALES

11.1 • Las enzimas de restricción reconocen secuencias cortas específicas en el DNA y hacen cortes en él. Los productos de la digestión con enzimas de restricción se pueden separar mediante electroforesis en gel.

11.2 • Las secuencias complementarias de ácidos nucleicos se pueden detectar por hibridación. Se hibridan sondas, formadas por DNA o RNA monocatenarios y marcadas con radiactividad o un pigmento fluorescente, con secuencias de DNA o RNA.

11.3 • La reacción en cadena de la polimerasa es un método para amplificar el DNA in vitro que utiliza DNA polimerasas termoestables. El DNA se desnaturaliza en dos cadenas sencillas mediante calor, y cada una de estas cadenas es copiada por la polimerasa. Después de cada ciclo, el DNA recién formado es desnaturalizado y empieza un nuevo ciclo de copia. Al final de cada ciclo la cantidad de DNA diana se ha duplicado.

11.4 • El aislamiento de un gen o una región específicos de un cromosoma mediante clonación molecular se realiza usando un plásmido o un virus como vector de clonación. Las enzimas de restricción y la DNA ligasa se utilizan in vitro para producir una quimera de DNA formada por DNA de dos o más procedencias. Una vez introducido en el hospedador adecuado, el DNA clonado puede producirse en gran cantidad bajo el control del vector de clonación. La identificación de los genes clonados se realiza mediante varias técnicas moleculares.

11.5 • Las moléculas sintéticas de DNA de la secuencia deseada se pueden sintetizar in vitro y utilizarse para construir directamente un gen mutante o para cambiar pares de bases específicos en el interior de un gen por mutagénesis dirigida. Además, los genes se pueden alterar insertando fragmentos de DNA, llamados casetes, en su interior, lo que genera mutantes desactivados.

11.6 • Los genes reporteros son genes cuyos productos, como la β-galactosidasa o la GFP, son fáciles de ensayar o de detectar. Se utilizan para simplificar los análisis genéticos y aumentar su velocidad. En las fusiones génicas se empalman segmentos de dos genes diferentes, uno de los cuales es generalmente un gen reportero.

11.7 • Los plásmidos son vectores de clonación útiles porque son fáciles de aislar y purificar, y a menudo se

pueden multiplicar en gran número de copias en las células bacterianas. Los genes de resistencia a antibióticos en los plásmidos se utilizan para seleccionar las células bacterianas que contienen el plásmido, y se usan sistemas colorimétricos para identificar las colonias que contienen el DNA clonado.

11.8 • La elección de un hospedador de clonación depende de la aplicación que se le vaya a dar. En muchos casos, el hospedador puede ser un procariota, pero en otros es esencial que sea un eucariota. El hospedador debe ser capaz de captar DNA, y hay toda una serie de técnicas para llevarlo a cabo, tanto naturales como artificiales.

11.9 • Muchos genes clonados no se expresan eficazmente en un hospedador foráneo. Se han desarrollado vectores de expresión para hospedadores procariotas y eucariotas que contienen genes o secuencias reguladoras que aumentan la transcripción del gen clonado y controlan el grado de transcripción. También puede haber señales para mejorar la eficiencia de la traducción en el vector de expresión.

11.10 • Para clonar segmentos muy grandes de DNA se han construido vectores de clonación especializados como bacteriófagos, cósmidos y cromosomas artificiales. Los bacteriófagos recombinantes se pueden empaquetar in vitro para ser transferidos eficazmente a una célula huésped. Los cósmidos son vectores plasmídicos que contienen los sitios *cos* de lambda. Los cromosomas artificiales se usan para clonar fragmentos de DNA de cerca de una megabase.

11.11 • Para conseguir niveles muy altos de expresión de genes eucarióticos en organismos procariotas, es fundamental que los genes expresados no contengan intrones. Esto puede lograrse sintetizando cDNA a partir del mRNA maduro que codifica la proteína de interés o fabricando un gen sintético completo. A menudo se utilizan fusiones de proteínas para estabilizar o solubilizar la proteína clonada.

11.12 • La primera proteína humana producida comercialmente mediante el uso de bacterias modificadas genéticamente fue la insulina. La somatotropina bovina recombinante es muy usada en los Estados Unidos para aumentar la producción de leche en las vacas.

11.13 • La ingeniería genética permite obtener plantas resistentes a enfermedades y mejorar la calidad del producto. El plásmido Ti de la bacteria *Agrobacterium tumefaciens* puede transferir DNA a células vegetales. Las plantas cuyo genoma se ha modificado utilizando técnicas genéticas in vitro se denominan organismos modificados genéticamente(OMG).

11.14 • Se han producido numerosas vacunas recombinantes, y actualmente se están desarrollando otras, como las vacunas recombinantes vivas, las de vector y las de subunidades.

11.15 • Los genes para productos útiles pueden clonarse directamente a partir de DNA o el RNA de muestras ambientales, sin aislar previamente los organismos que los contienen.

11.16 • La modificación genética de rutas metabólicas consiste en ensamblar genes que codifican las enzimas para desarrollar una ruta metabólica. Estos genes pueden provenir de uno o más organismos, pero la ingeniería genética debe conseguir la regulación de la secuencia coordenada de expresión necesaria en la ruta metabólica.

11.17 • En lugar de modificar o mejorar una ruta metabólica existente la biología sintética se centra en obtener sistemas biológicos nuevos uniendo componentes biológicos conocidos en diferentes combinaciones.

MasteringMicrobiology®

Revise lo que sabe y descubra lo que ha aprendido con MasteringMicrobiology. Acceda a material de estudio, revisiones de los capítulos, animaciones y tutoriales de microbiología práctica en el Área de Estudio y asegúrese de que ha asimilado todo el contenido de este capítulo.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Biblioteca genómica (Biblioteca de DNA): colección de segmentos de DNA clonados y es lo suficientemente grande para contener al menos una copia de cada gen de un organismo concreto.

Biotecnología: uso de organismos vivos, que suelen estar modificados genéticamente, para aplicaciones en la industria, la medicina o la agricultura.

Casete de DNA: segmento de DNA diseñado artificialmente que normalmente contiene un gen de resistencia a un antibiótico o algún otro marcador de interés y está flanqueado por sitios de restricción convenientes.

Clonación al azar: elaboración de una biblioteca génica por clonación al azar de fragmentos de DNA.

Clonación molecular: aislamiento e incorporación de un fragmento de DNA en un vector en el que se puede replicar.

Cromosoma artificial bacteriano (BAC): cromosoma circular artificial con origen de replicación bacteriano.

Cromosoma artificial de levadura (YAC): cromosoma artificial con el

origen de replicación de las levaduras y una secuencia CEN.

Cromosoma artificial: vector de una sola copia que puede contener insertos muy largos de DNA y se utiliza mucho para clonar segmentos de genomas grandes.

DNA recombinante: molécula de DNA que contiene DNA de dos o más procedencias.

Electroforesis en gel: técnica de separación de moléculas de ácido nucleico mediante el paso de una corriente eléctrica a través de un gel de agarosa o de poliacrilamida.

Enzima de modificación: enzima que modifica químicamente las bases de una secuencia de reconocimiento de una enzima de restricción e impide así que el sitio sea cortado.

Enzima de restricción: enzima que reconoce una secuencia específica de DNA y la corta; sinónimo de endonucleasa de restricción.

Fusión de operón: fusión génica en la cual una secuencia codificante que mantiene sus señales propias de traducción se fusiona con las señales de transcripción de otro gen.

Fusión génica: estructura creada por unión de segmentos de dos genes independientes, en concreto cuando la región reguladora de un gen se une a la región codificadora de un gen reportero.

Fusión proteínica: fusión génica en la cual se unen dos secuencias codificantes de tal modo que comparten el mismo sitio de unión de la transcripción y de la traducción.

Gen reportero: gen utilizado en los análisis genéticos porque el producto que codifica es fácil de detectar.

Hibridación: apareamiento de bases de cadenas sencillas de DNA o RNA de dos procedencias diferentes (pero relacionadas) para formar una doble hélice.

Ingeniería genética: uso de técnicas in vitro para el aislamiento, la modificación y la expresión del DNA o el RNA y para el desarrollo de organismos modificados genéticamente.

Interrupción génica: (sinónimo de desactivación génica) inactivación de un gen por inserción de un fragmento de DNA que interrumpe la secuencia codificante.

Mutagénesis dirigida: producción in vitro de un gen con una mutación específica.

Mutagénesis en casete: producción de mutaciones por inserción de un casete de DNA.

Organismo modificado genéticamente (OMG): organismo cuyo genoma ha sido modificado utilizando métodos de ingeniería genética. La abreviatura MG también se utiliza en términos tales como cultivos MG y alimentos MG.

Organismo transgénico: planta o animal en cuyo genoma se ha insertado DNA foráneo.

Plásmido Ti: plásmido de *Agrobacterium tumefaciens* capaz de transferir genes de bacterias a plantas.

Proteína de fluorescencia verde (GFP): proteína que emite luz verde y es muy utilizada en análisis genéticos.

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR): amplificación artificial de una secuencia de DNA mediante ciclos repetidos de separación de cadenas y replicación.

Ruta metabólica modificada genéticamente: creación de una ruta bioquímica nueva o mejora de una existente, utilizando genes procedentes de uno o más organismos.

Sonda de ácido nucleico: cadena de ácido nucleico que se puede marcar y utilizar para hibridar con una molécula complementaria en una mezcla de otros ácidos nucleicos.

T-DNA: segmento del plásmido Ti de *Agrobacterium tumefaciens* que se transfiere a células vegetales.

Transcripción inversa: conversión de una secuencia de RNA en la secuencia correspondiente de DNA.

Transferencia Northern: método de hibridación en el que el RNA es la diana, y la sonda es DNA o RNA.

Transferencia Southern: método de hibridación en el que el DNA es la diana y la sonda es RNA o DNA.

Vacuna de vector: vacuna fabricada mediante la inserción de genes de un virus patógeno en un virus portador relativamente inofensivo.

Vacuna polivalente: vacuna que inmuniza contra más de una enfermedad.

Vector (como en vector de clonación): molécula de DNA autorreplicante que se utiliza en ingeniería genética para transportar genes clonados u otros segmentos de DNA para.

Vector de expresión: vector de clonación que contiene las secuencias reguladoras necesarias para permitir la transcripción y la traducción de los genes clonados.

Vector lanzadera: vector de clonación que puede replicarse en dos o más hospedadores diferentes.

PREGUNTAS DE REPASO

1. ¿Qué son las enzimas de restricción? ¿Por qué la presencia de una enzima de restricción en una célula no causa la degradación del DNA de dicha célula? (Sección 11.1)
2. ¿Cómo podemos detectar una colonia que contenga un gen clonado si conocemos la secuencia de dicho gen? (Sección 11.2)
3. Describa los principios básicos de la amplificación génica usando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). ¿Por qué los procariotas termófilos e hipertermófilos han simplificado esta técnica? (Sección 11.3)
4. La ingeniería genética está basada en el uso de vectores. Describa las propiedades necesarias de un vector de clonación plasmídico bien diseñado. (Sección 11.4)
5. ¿Cómo podemos detectar una colonia que contenga un gen clonado si no conocemos la secuencia génica pero disponemos de la proteína codificada por el gen purificada? (Sección 11.4)
6. ¿Cuáles son los usos principales del DNA sintetizado artificialmente? (Sección 11.5)
7. ¿Qué nos permite hacer la mutagénesis dirigida que no podemos hacer con la mutagénesis normal? (Sección 11.5)
8. ¿Qué es un gen reportero? Describa dos genes reporteros muy utilizados. (Sección 11.6)
9. ¿Cómo se utilizan las fusiones génicas para investigar la regulación génica? (Sección 11.6)
10. ¿Cómo permite la inactivación por inserción de la β-galactosidasa detectar la presencia de DNA foráneo en un vector plasmídico como pUC19? (Sección 11.7)

11. Describa dos hospedadores de clonación procariotas y las ventajas e inconvenientes de cada uno. (Sección 11.8)
12. Describa las semejanzas y diferencias entre los vectores de expresión y los vectores lanzadera. (Sección 11.9)
13. ¿Cómo se ha utilizado el bacteriófago T7 para expresar genes foráneos en *Escherichia coli* y qué características convenientes posee este sistema regulador? (Sección 11.9)
14. ¿Qué ventajas tiene el uso de un vector de clonación basado en lambda sobre un vector plasmídico? (Sección 11.10)
15. ¿Cuáles son las características esenciales de un cromosoma artificial? ¿Qué diferencia hay entre un BAC y un YAC? (Sección 11.10)
16. ¿Qué importancia tiene la transcriptasa inversa en el proceso de clonación de genes de animales para ser expresados en bacterias? (Sección 11.11)
17. ¿Qué clases de proteínas de mamíferos se producen mediante biotecnología? ¿Cómo se obtienen los genes para dichas proteínas? (Sección 11.12)
18. ¿Qué es el plásmido Ti y cómo se ha utilizado en ingeniería genética? (Sección 11.13)
19. ¿Qué es una vacuna de subunidades? ¿Por qué las vacunas de subunidades se consideran un medio más seguro para conferir inmunidad contra patógenos víricos que las vacunas de virus atenuados? (Sección 11.14)
20. ¿Cómo se ha utilizado la metagenómica para encontrar nuevos productos de utilidad? (Sección 11.15)
21. ¿Qué es la modificación genética de rutas metabólicas? ¿Por qué resulta más difícil producir un antibiótico que producir una sola enzima mediante ingeniería genética? (Sección 11.16)
22. ¿En qué se diferencia la biología sintética de la modificación genética de rutas metabólicas? (Sección 11.17)

EJERCICIOS PRÁCTICOS

1. Suponga que se le encarga construir un vector de expresión plasmídico adecuado para la clonación molecular en un organismo de interés industrial. Cite las características que debería tener dicho plásmido. Enumere los pasos que seguiría para crear el plásmido.
2. Suponga que acaba de determinar la secuencia de bases de DNA de un promotor especialmente fuerte de *Escherichia coli* y que está interesado en incorporar esta secuencia en un vector de expresión. Describa los pasos que seguiría. ¿Qué precauciones son necesarias para asegurarse de que este promotor funciona realmente según lo esperado en su nueva ubicación?
3. Muchos sistemas genéticos utilizan el gen *lacZ* que codifica la β-galactosidasa como reportero. ¿Qué ventajas o problemas encontraríamos si se utilizaran como reporteros la luciferasa o la proteína de fluorescencia verde en lugar de la β-galactosidasa?
4. Imagine que acaba de descubrir una proteína en los ratones que puede servir para fabricar una cura eficaz para el cáncer, pero solo se halla presente en cantidades pequeñísimas. Describa los pasos que seguiría para producir esta proteína en cantidades terapéuticas. ¿Qué hospedador utilizaría y por qué para clonar el gen? ¿Qué hospedador emplearía y por qué para expresar la proteína?

CAPÍTULO

12 · Evolución y sistemática microbianas

microbiología actual

Intercambio de genes y la evolución de los *Vibrio* marinos

Vibrio cholerae es una bacteria presente en los hábitats marinos costeros de todo el mundo, y algunas de sus cepas causan el cólera, una enfermedad diarreica devastadora. El cólera está causado por las cepas de *V. cholerae* que, por transferencia horizontal, han adquirido los genes que codifican la toxina del cólera. La transferencia horizontal de genes tiene grandes efectos en la evolución microbiana; de hecho, muchos rasgos de las bacterias, entre ellos, su patogenia, se pueden alterar mediante la adquisición de genes de otras especies.

Los microbiólogos continúan intentando entender los efectos de la transferencia horizontal de genes en la evolución microbiana. En *V. cholerae*, los patrones de transferencia génica varían en lo que respecta al genoma esencial y al genoma prescindible. Los genes constitutivos, que llevan a cabo procesos celulares importantes y forman parte del genoma esencial, se intercambian entre *cepas* de *V. cholerae*, pero no entre especies. Por el contrario, los genes del integrón, un componente del genoma prescindible, pueden atravesar las barreras entre *especies* y se intercambian con facilidad entre las especies *V. cholerae* y *V. metecus* (ampliación de la foto).

Parece ser que el intercambio de los genes del integrón está controlado más por concurrencia geográfica que por barreras interespecíficas[1]. Por ejemplo, las cepas de *V. cholerae* aisladas de un estanque de agua salada (foto) en Falmouth (Massachusetts, EE. UU.), comparten más genes del integrón con cepas de *Vibrio metecus* aisladas del mismo estanque que con otras cepas de *V. cholerae* aisladas de una ubicación geográficamente remota en Bangladesh.

En lo que respecta al intercambio de genes en el genoma prescindible, puede que todo sea una cuestión de localización. Los genes de un integrón pueden alterar ciertos aspectos del metabolismo y las características de la superficie celular. Es probable que ello facilite la adaptación de todas las especies de *Vibrio* a sus ambientes locales y pueda influir en la evolución de la patogenia.

[1]Boucher, Y., *et al.* 2011. Local mobile gene pools rapidly cross species boundaries to create endemicity within global *Vibrio cholerae* populations. *mBio.2*:e00335-10.



I La Tierra primitiva y el origen y la diversificación de la vida 370
II Fósiles vivientes: el DNA como registro de la historia de la vida 377
III Evolución microbiana 386
IV Sistemática microbiana 392

La **evolución** es el eje integrador de la biología. Charles Darwin fue el primero en observar que los elementos vivos cambian con el tiempo, y propuso que este proceso de evolución era el resultado de la selección natural al actuar sobre variaciones al azar en la descendencia. Hoy en día sabemos que estas variaciones al azar se producen como resultado de mutaciones y recombinaciones en la secuencia del DNA. La historia de la evolución está escrita en nuestro código genético, y las secuencias de DNA proporcionan un registro de la evolución que se extiende a lo largo de miles de millones de años. Ahora sabemos que los microorganismos han dominado gran parte de la historia de la vida en la Tierra; ya pululaban en los mares durante miles de millones de años antes de la aparición de las primeras plantas y los primeros animales, y su actividad ha conformado nuestra biosfera.

Este capítulo se centra en la evolución de la vida microbiana. Exploraremos la historia evolutiva de la vida y el modo en que se pueden usar las secuencias de DNA para clasificar microorganismos y determinar sus relaciones evolutivas. En general, el objetivo de este capítulo es proporcionar un marco evolutivo y sistemático con el que entender la diversidad de la vida microbiana que exploraremos en los cuatro capítulos siguientes.

I • La Tierra primitiva y el origen y la diversificación de la vida

En estas primeras secciones, estudiaremos las posibles condiciones en las que surgió la vida, la primera prueba de vida celular y su divergencia en tres linajes evolutivos, ***Bacteria***, ***Archaea*** y ***Eukarya***. Si bien muchos de estos acontecimientos y procesos siguen siendo mera especulación, los datos geológicos y moleculares se combinan para construir un guion plausible sobre las primeras fases de la evolución de la vida y sobre el impacto fundamental que los microbios han tenido en la historia de nuestro planeta.

12.1 Formación e historia primitiva de la Tierra

La Tierra de hace 4.000 millones de años sería extraña e inhóspita para los ojos humanos, pero este páramo estéril de rocas fragmentadas y mares en ebullición fue la incubadora de la que surgió toda la vida. La historia de la vida empieza poco después del inicio de nuestro sistema solar, con la formación de la propia Tierra.

Orígenes de la Tierra

La Tierra se formó hace unos 4.500 millones de años, según los análisis de los radioisótopos de desintegración lenta (Figura 12.1). Nuestro planeta y el resto de planetas del sistema solar se formaron a partir de materiales que constituían una nebulosa en forma de disco hecha de polvo y gases liberados por la supernova de una vieja estrella masiva. Cuando una nueva estrella —nuestro Sol— se fue formando a partir de esta nebulosa, empezó a compactarse, sufrió fusión nuclear y liberó grandes cantidades de energía en forma de luz y calor. Los materiales que quedaban en la nebulosa empezaron a agruparse y fusionarse a causa de colisiones y de la atracción gravitatoria. Entonces, fueron formando por acreción acúmulos minúsculos que fueron creciendo poco a poco hasta formar unas masas agregadas que, por último, constituyeron los planetas. La energía liberada en este proceso calentó la Tierra a medida que se formaba, al igual que lo hizo la energía liberada por la desintegración radiactiva de los materiales en condensación. Ello dio lugar a un planeta de magma en ebullición. Con el tiempo, cuando la Tierra se enfrió, se formó, por efecto de la densidad, un núcleo interior metálico, un manto rocoso y una fina corteza superficial.

Las inhóspitas condiciones de la Tierra primigenia, caracterizada por una superficie fluida sometida a un intenso bombardeo

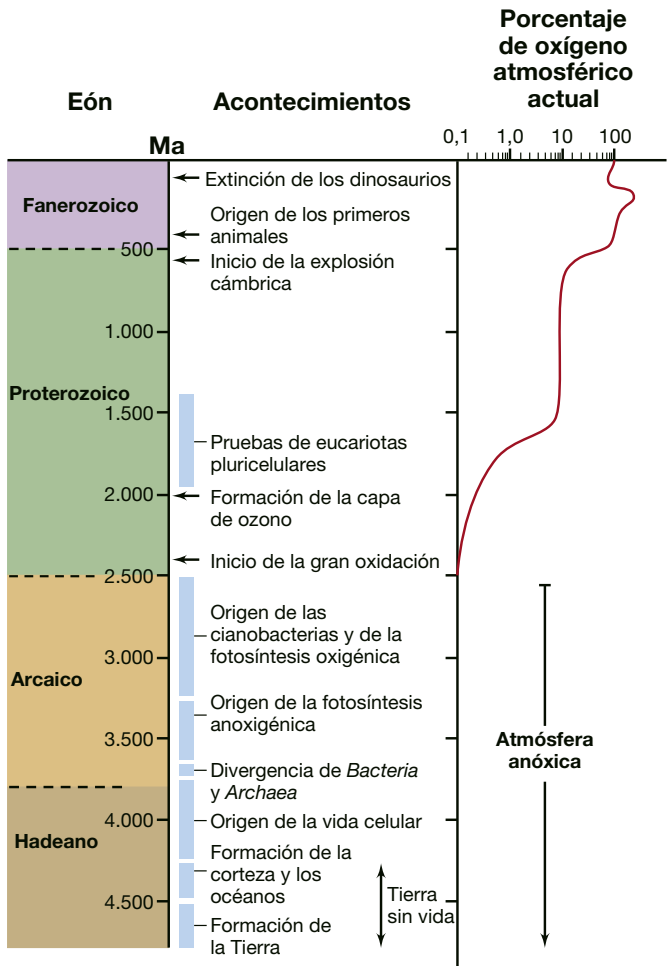


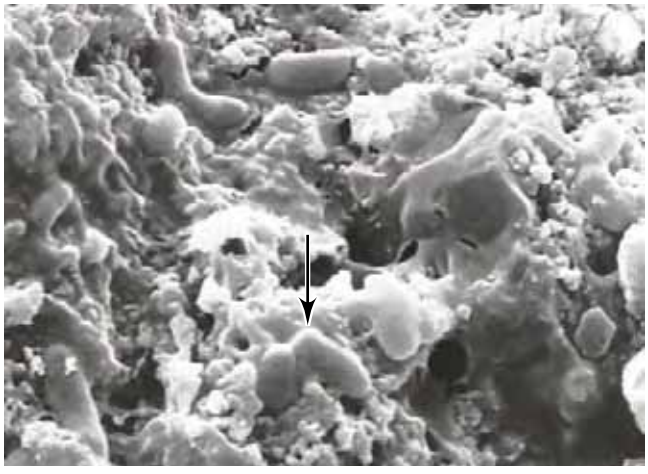
Figura 12.1 Principales hitos en la evolución biológica, la geoquímica cambiante de la Tierra y la diversificación metabólica microbiana. La fecha más lejana para el origen de la vida está fijada por el momento del origen de la Tierra, y el tiempo mínimo para el origen de la fotosíntesis oxigénica lo marca el proceso de gran oxidación, hace unos 2.400 millones de años (Ma). Obsérvese que la oxigenación de la atmósfera a causa del metabolismo de las cianobacterias fue un proceso gradual, que ocurrió a lo largo de un período de unos 2.000 millones de años. Compárese esta figura con la introducción a la antigüedad de la vida en la Tierra (Figura 1.4).

de asteroides y otros objetos del espacio, persistieron seguramente durante unos 500 millones de años. El agua en la Tierra se originó a partir de innumerables colisiones con cometas y asteroides helados y de la liberación de gases volcánicos del interior del planeta. Dada la temperatura de la Tierra en esa época, el agua habría estado presente únicamente en forma de vapor. Hasta el momento no se han descubierto rocas datadas en el origen de la Tierra, probablemente porque han sufrido metamorfosis geológica. No obstante, se han descubierto cristales antiguos del mineral zirconio ($ZrSiO_4$), y estos materiales nos permiten entrever las condiciones de la Tierra en esa época. Las impurezas atrapadas en los cristales y la relación isotópica de oxígeno en los minerales (↔ Sección 18.9) indican que es posible que hace al menos 4.300 millones de años que se empezó a formar la corteza sólida y que el agua se empezó a condensar en los océanos. La presencia de agua líquida significa que las condiciones podrían haber sido compatibles con la vida unos 200 millones de años después de que se formara la Tierra.

Algunas de las rocas sedimentarias más antiguas descubiertas hasta ahora están en el sudoeste de Groenlandia y datan de hace unos 3.860 millones de años. Su composición sedimentaria indica que en aquella época ya existían los océanos. Los restos fosilizados de lo que parecen ser células (**Figura 12.2**) y el carbono isotópicamente «ligero» abundante en estas rocas proporcionan la prueba más temprana de vida microbiana (en la Sección 18.9 trataremos del uso de los análisis isotópicos de carbono y azufre como indicadores de procesos vivos).

Origen de la vida celular

El origen de la vida en nuestro planeta sigue siendo el mayor de los misterios, oscurecido por las profundidades del tiempo. Hay pocas rocas que hayan permanecido inalteradas para dar testimonio de este período de la historia de la Tierra. Las pruebas experimentales indican que los precursores orgánicos de las células se pueden formar espontáneamente en determinadas condiciones, lo que satisfaría los requisitos previos para la formación de los primeros sistemas vivos. No obstante, las condiciones de la superficie de la Tierra hace más de 4.000 millones de años, en concreto las temperaturas extremadamente altas y los niveles de radiación ultravioleta, debieron de resultar hostiles para la formación de la vida tal como la conocemos. Una hipótesis sostiene que la vida se podría haber originado muy por debajo de la superficie terrestre, en las fuentes hidrotermales del lecho oceánico (**Figura 12.3**). Allí, las condiciones habrían sido menos inhóspitas y más estables que en la superficie. En las fuentes hidrotermales se dispondría de un suministro constante y abundante de energía en forma de compuestos inorgánicos reducidos —por ejemplo hidrógeno (H_2) y sulfuro de hidrógeno (H_2S). La geoquímica exclusiva de estos lugares podría haber permitido la formación de moléculas imprescindibles para el surgimiento de la vida y la formación de estructuras compartimentalizadas necesarias para la conservación de la energía. Haya sido en el lecho marino o en cualquier otro sitio, alguna forma de química prebiótica debió de facilitar el desarrollo de los primeros sistemas autorreplicativos, los precursores de la vida celular.



Frances Westall

Figura 12.2 Vida microbiana ancestral. Micrografía electrónica de barrido de bacterias fósiles encontradas en rocas de hace 3.450 millones de años del cinturón de rocas verdes Barberton (Sudáfrica). Obsérvense los bacilos (flecha) unidos a partículas de materia mineral. Las células tienen un diámetro aproximado de 0,7 µm.

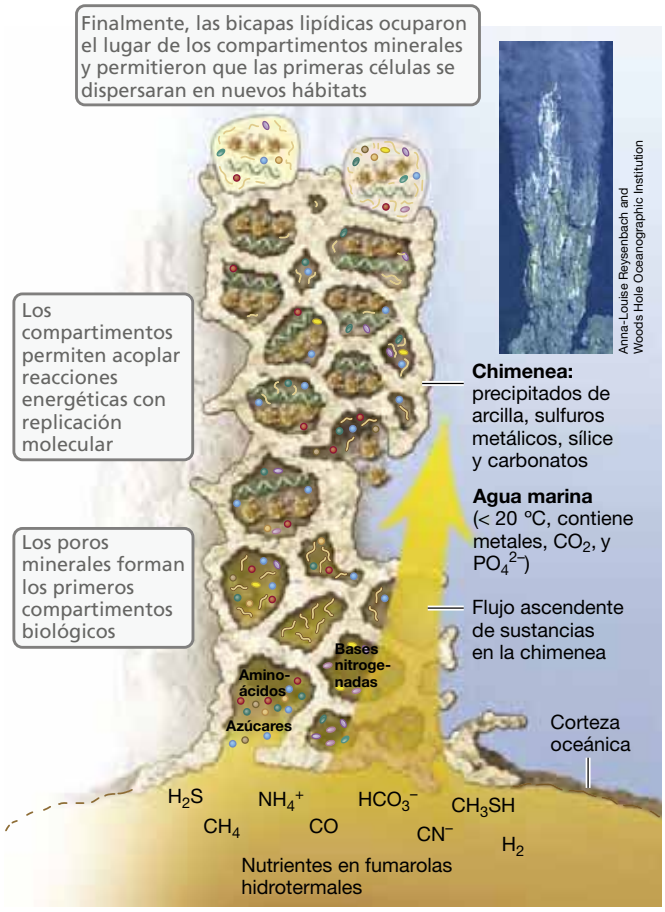


Figura 12.3 Chimeneas submarinas y su posible relación con el origen de la vida. Modelo del interior de una chimenea hidrotermal que muestra una hipotética transición de la química prebiótica a la vida celular. Recuadro: foto de una chimenea hidrotermal. El fluido hidrotermal, caliente y con abundantes minerales, se mezcla con el agua marina, más fría y más oxidada, y forma precipitados de compuestos de Fe y S, arcillas, silicatos y carbonatos. Los precipitados minerales forman poros que podrían haber servido como compartimentos energéticos que habrían facilitado la aparición de formas de vida precelulares.

Las moléculas de RNA fueron probablemente un componente central en los primeros sistemas autorreplicativos, y es posible que la vida empezara en un *mundo de RNA* (Figura 12.4). El RNA es un componente de determinados cofactores y moléculas esenciales que se encuentran en todas las células (como ATP, NADH y la coenzima A), se puede unir a pequeñas moléculas (como ATP, aminoácidos y otros nucleótidos) y puede tener actividad catalítica, ya que se sabe que cataliza la síntesis proteica a través de la actividad del rRNA, el tRNA y el mRNA (↬ Sección 4.13). Es posible que algunas moléculas de RNA hayan tenido alguna vez la capacidad de catalizar su propia síntesis. Más adelante, a medida que aparecieron diferentes tipos de proteínas, algunas de ellas con propiedades catalíticas, las proteínas habrían empezado a asumir la función catalítica de los RNA. Con el tiempo, habría surgido el DNA, una molécula que, por naturaleza, es más estable que el RNA y, por tanto, un mejor depósito de información genética (codificante), y que habría adoptado el papel de molde para la síntesis de RNA (Figura 12.4). Las primeras formas de vida celular probablemente poseían elementos de este sistema triple de DNA, RNA y proteínas, además de un sistema de membrana capaz de conservar la energía (véase la Figura 12.5). El *último antepasado común universal* (*LUCA*, del inglés *last universal common ancestor*) debió de existir hace entre 3.700 y 3.800 millones de años, el punto en el que *Bacteria* y *Archaea* divergieron y la vida empezó a diversificarse en formas que hoy podemos reconocer. Se puede imaginar un tiempo de intensa innovación y experimentación bioquímica en el que se originó gran parte de la maquinaria estructural y funcional de estos sistemas autorreplicativos, que fue refinándose por selección natural.

Diversificación metabólica: consecuencias para la biosfera terrestre

A partir del origen de las células, la vida microbiana experimentó un largo período de diversificación metabólica, en el que explotó los diversos recursos disponibles en el planeta. La tierra y todos los océanos fueron anóxicos durante gran parte de su historia. El oxígeno molecular (O_2) no se encontraba en cantidades significativas hasta que se originó la fotosíntesis oxigénica de las cianobacterias. Por tanto, el metabolismo energético de las células primitivas habría sido exclusivamente anaerobio y, probablemente, termoestable, a causa de las altas temperaturas de la Tierra primitiva.

Durante esta era, el CO_2 podría haber sido la principal fuente de carbono para las células (autotrofia, ↬ Sección 13.5), ya que los recursos abióticos de carbono orgánico se habrían convertido rápidamente en limitantes. Se cree que el H_2 era un combustible importante para el metabolismo energético de las primeras células. Esta hipótesis también está respaldada por el árbol de la vida (véase la Figura 12.13), en el que prácticamente todos los organismos primitivos de los dominios *Bacteria* y *Archaea* usan el H_2 como donador de electrones en el metabolismo energético y son autótrofos. El azufre elemental (S^0) puede haber sido uno de los primeros aceptores de electrones, ya que la reducción de S^0 para dar H_2S es exergónica y probablemente necesitaría relativamente pocas enzimas (Figura 12.5). Además, gracias a la abundancia de H_2 y de compuestos de azufre en la Tierra primitiva, este diseño habría proporcionado a las células un suministro prácticamente ilimitado de energía.

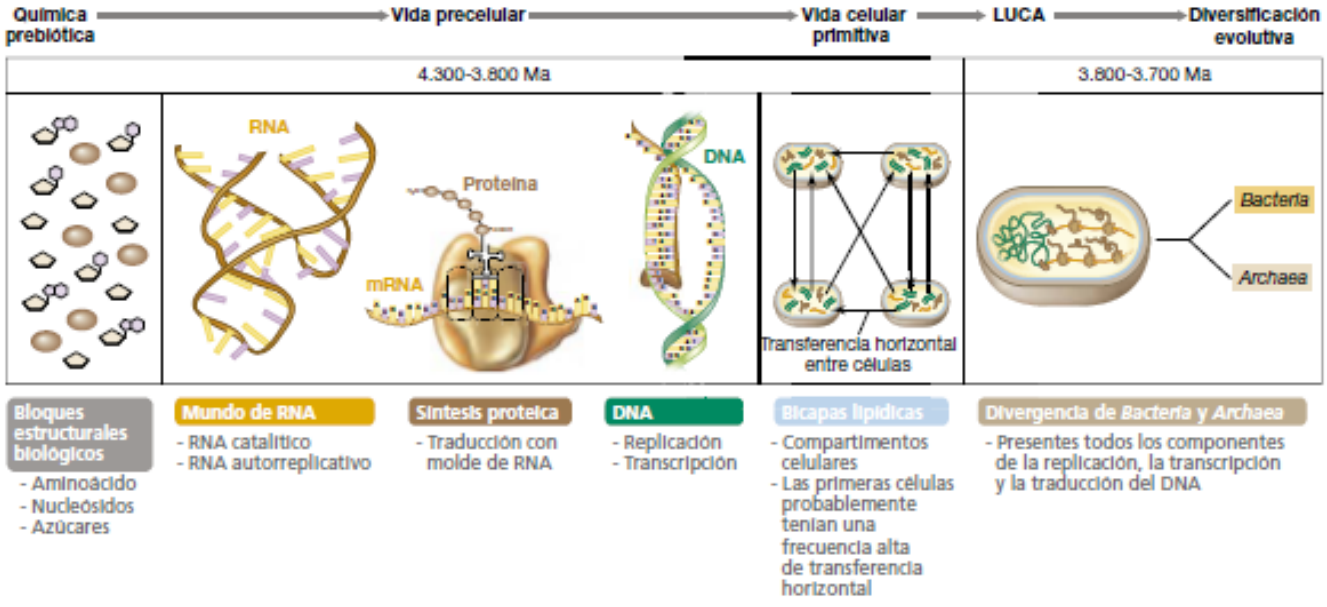


Figura 12.4 Procesos hipotéticos que precedieron al origen de la vida celular. Según esto, los primeros sistemas biológicos autorreplicativos podrían haber estado basados en el RNA catalítico. En algún momento, las enzimas de RNA desarrollaron la capacidad para sintetizar proteínas, y las proteínas se convirtieron en las moléculas catalíticas principales. Para la conversión de genomas de RNA a genomas de DNA fue necesaria la aparición de las DNA- y RNA-polimerasas. La bicapa lipídica es el sitio de transporte de electrones, y probablemente la aparición de esta estructura fue crucial para la conservación de la energía, además de contener y proteger las moléculas biológicas. El último antepasado común universal (LUCA), que precedió a la divergencia de *Bacteria* y *Archaea*, era un organismo celular que tenía una bicapa lipídica y usaba DNA, RNA y proteínas. La transferencia horizontal de genes pudo haber permitido el intercambio rápido de genes beneficiosos entre las primeras formas de vida.

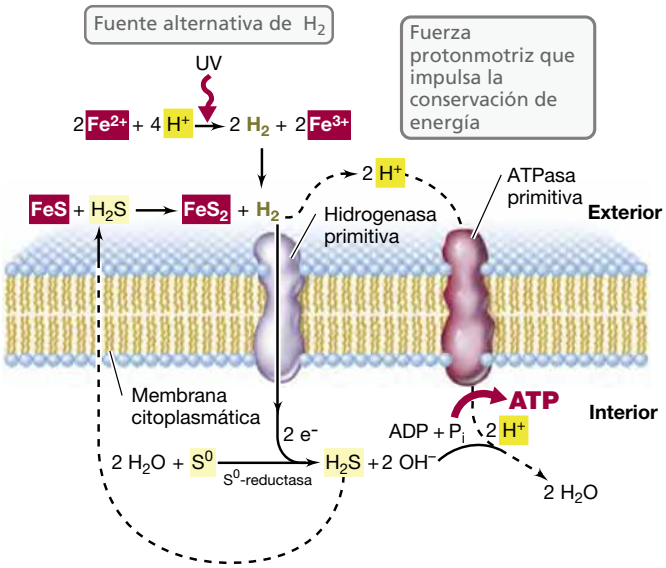


Figura 12.5 Posible esquema de generación de energía para las células primitivas. La formación de pirita lleva a la producción de H_2 y la reducción de S^0, que alimenta una ATPasa primitiva. Obsérvese que el H_2S ejerce una función únicamente catalítica; los sustratos netos serían FeS y S^0. Obsérvese también qué pocas proteínas diferentes serían necesarias. $\Delta G^{0'} = -42$ kJ para la reacción $FeS + H_2S \rightarrow FeS_2 + H_2$.

Los datos indican que los antepasados de las bacterias y de las arqueas modernas ya habían divergido hace unos 3.700 millones de años (↻ Figura 1.4*b*). Las primeras bacterias podrían haber usado H_2 y CO_2 para producir acetato (↻ Sección 13.19). Al mismo tiempo, las primeras arqueas desarrollaron la capacidad de usar H_2 y CO_2, o tal vez acetato, a medida que se acumulaba, como sustratos para la metanogénesis (↻ Sección 13.20). Estas formas primitivas de metabolismo quimiolitótrofo impulsado por H_2 habrían sustentado la producción de grandes cantidades de compuestos orgánicos a partir de la fijación autótrofa de CO_2. Con el tiempo, estos materiales orgánicos se habrían acumulado y podrían haber proporcionado las condiciones necesarias para la aparición de nuevas bacterias quimioorganótrofas, con estrategias metabólicas variadas para conservar la energía procedente de la oxidación de los compuestos orgánicos.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué características habrían hecho la superficie de la Tierra inhóspita para la formación de la vida hace 4.500 millones de años?
- ¿Cómo sabemos cuándo se formaron los primeros océanos en la Tierra? ¿Por qué su presencia es significativa para los orígenes y la diversificación de la vida?
- ¿Qué líneas de argumentación apoyan la hipótesis de que los primeros sistemas autorreplicativos estaban basados en moléculas de RNA?

12.2 Fotosíntesis y la oxidación de la Tierra

La aparición de la fotosíntesis revolucionó la química de la Tierra. Los organismos fotótrofos usan la energía del sol para oxidar moléculas como H_2S, S^0 o H_2O, y sintetizar moléculas orgánicas complejas a partir de dióxido de carbono o de moléculas orgánicas simples (↻ Sección 13.5). Con el tiempo, los productos de la fotosíntesis se acumularon en la biosfera y estimularon la ulterior diversificación de la vida microbiana. Los primeros fotótrofos de la Tierra eran anoxigénicos (↻ Secciones 13.3 y 14.4-14.7), pero a partir de ellos aparecieron las cianobacterias, que fueron los primeros fotótrofos oxigénicos (Figura 12.1, ↻ Sección 14.3).

En rocas con una antigüedad de 3.500 millones de años se pueden encontrar formaciones microbianas fosilizadas llamadas **estromatolitos**, que proporcionan la prueba concluyente más antigua de vida en la Tierra (**Figura 12.6*a***). Los estromatolitos, o «rocas estratificadas», se forman cuando determinados tipos de tapetes microbianos provocan la precipitación de minerales de carbonato o silicato que estimulan la fosilización (hablaremos de los tapetes microbianos en la Sección 19.5). Los estromatolitos eran diversos y habituales en la Tierra en el período que va de hace 2.800 millones de años hasta hace

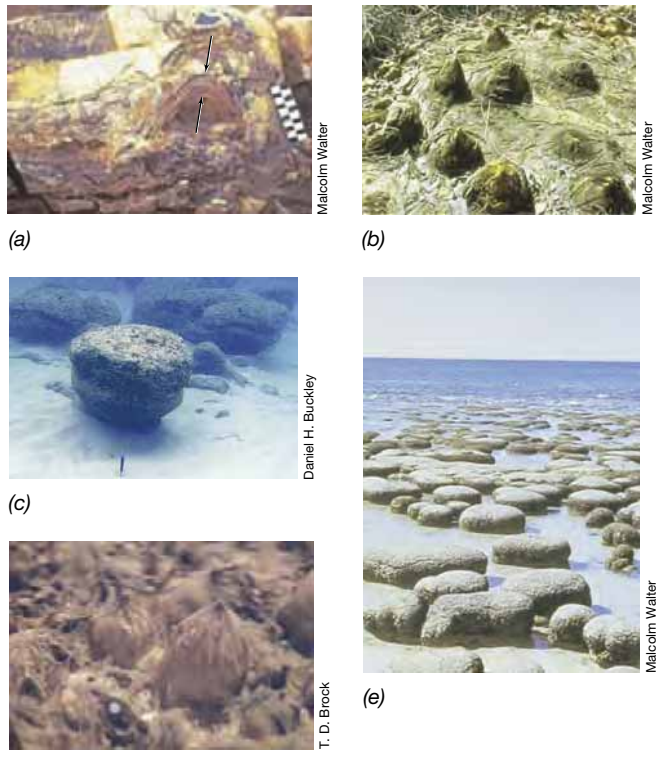
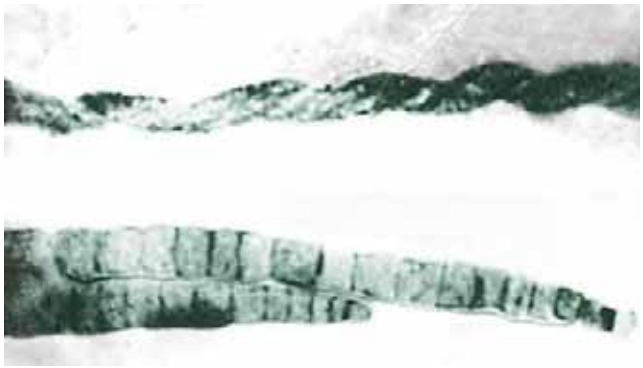


Figura 12.6 Estromatolitos antiguos y modernos. *(a)* El estromatolito más antiguo conocido, encontrado en una roca de 3.500 millones de años de antigüedad procedente del grupo Warrawoona, en Australia occidental. Se muestra una sección vertical de la estructura laminada conservada en la roca. Las flechas indican las capas laminadas. *(b)* Estromatolitos con forma cónica de rocas dolomíticas de hace 1.600 millones de años del norte de Australia. *(c)* Estromatolitos modernos, Darby Island (Bahamas). El gran estromatolito en primer plano tiene un diámetro aproximado de un metro. *(d)* Estromatolitos modernos formados por cianobacterias termófilas creciendo en una laguna de aguas termales en el parque nacional de Yellowstone, en Estados Unidos. Cada estructura tiene unos dos centímetros de altura. *(e)* Estromatolitos modernos de Shark Bay (Australia). Las estructuras individuales tienen entre 0,5 m y 1 m de diámetro.

1.000 millones de años, pero a partir de entonces disminuyeron drásticamente. En la actualidad casi han desaparecido de la Tierra, pero todavía podemos encontrar ejemplos modernos de estos ecosistemas microbianos ancestrales en determinadas cuencas oceánicas poco profundas (Figura 12.6*c*, *e*) o en fuentes hidrotermales (Figura 12.6*d*; ↻ Figura 19.9). Las bacterias fotótrofas, tales como las cianobacterias productoras de oxígeno (↻ Sección 14.3) y la bacteria verde no del azufre *Chloroflexus* (↻ Sección 14.7), desempeñan una función fundamental en la formación de los modernos estromatolitos. Además, los estromatolitos antiguos contienen microfósiles que son notablemente similares a especies modernas de cianobacterias y de algas verdes (**Figura 12.7**). Por tanto, los primeros organismos fotótrofos podrían haber aparecido hace más de 3.500 millones de años, aparentemente solo en las bacterias, y habrían dado lugar a los estromatolitos que observamos en el registro fósil.

Las formas primitivas de fotosíntesis, que eran anoxigénicas, usaban donadores de electrones como el H_2S, y generaban azufre elemental (S^0) como producto de desecho (↻ Sección 13.3). La capacidad para usar la radiación solar como fuente de energía permitió a los fotótrofos una gran diversificación. Hace entre 2.500 y 3.300 millones de años, el linaje de las cianobacterias desarrolló un fotosistema capaz de realizar fotosíntesis oxigénica (↻ Sección 13.4), en la que el H_2O sustituía al H_2S en la reducción fotosintética de CO_2 y generaba así O_2 como producto residual. Como veremos en la sección siguiente, el origen de la fotosíntesis oxigénica y el aumento de la concentración de O_2 en la atmósfera causaron el mayor cambio en la historia de nuestra biosfera y establecieron las bases para la aparición de formas de vida todavía más nuevas, que evolucionaron para explotar la energía disponible a partir de la respiración de O_2.



(a)



(b)

Figura 12.7 Fósiles bacterianos y eucarióticos recientes. *(a)* Microfósiles de hace 1.000 millones de años procedentes de Australia central que recuerdan a las cianobacterias filamentosas actuales. El diámetro de las células es de 5-7 µm. *(b)* Microfósiles de células eucariotas de la misma formación rocosa. La estructura celular es similar a la de algunas algas verdes actuales, como las especies de *Chlorella*. El diámetro celular es de unos 15 µm. Se ha añadido color para que sea más aparente la forma de las células.

El aumento del oxígeno: formaciones de hierro en bandas

En ausencia de oxígeno molecular, todo el hierro de la Tierra estaría presente en formas reducidas y habría abundante hierro disuelto en el mar, que sería rojo en lugar de azul. Pruebas moleculares y químicas indican que la fotosíntesis oxigénica apareció en la Tierra por primera vez al menos 300 millones de años antes de que hubiera niveles significativos de O_2 en la atmósfera. El O_2 que producían las cianobacterias no podía acumularse en la atmósfera, porque reaccionaba espontáneamente con los minerales de hierro reducido en el mar para formar óxidos de hierro. Hace unos 2.400 millones de años, la concentración de O_2 había alcanzado una concentración de una parte por millón, una cantidad muy pequeña para los estándares actuales, pero suficiente para empezar lo que se ha llamado la *Gran Oxidación* (Figura 12.1).

El metabolismo de las cianobacterias producía O_2, que oxidó los minerales reducidos que contenían Fe^{2+} a óxidos de hierro con Fe^{3+}. Estos óxidos de hierro se convirtieron en un estupendo marcador en el registro geológico. Los óxidos de hierro son poco solubles en agua y se precipitaron, depositándose en el suelo marino y formando estructuras sedimentarias llamadas **formaciones de hierro en bandas** (**Figura 12.8**), que son rocas sedimentarias laminadas formadas en depósitos de materiales ricos en hierro y en silicio. Gran parte del hierro de las rocas de origen precámbrico (es decir, de hace más de 500 millones de años, véase la Figura 12.1) se encuentra en estas formaciones en bandas, y en la actualidad estos minerales representan una importante mena de hierro. Solo después de que se consumiera el Fe^{2+} de la Tierra, que era abundante, se acumuló el O_2 en la atmósfera, y solo hace entre 600 y 900 millones de años que el



Figura 12.8 Formaciones de hierro en bandas. Vista de un acantilado formado por rocas sedimentarias de unos diez metros de altura en Australia occidental; contiene capas de óxidos de hierro (flechas) intercaladas entre capas de silicatos de hierro y otros materiales de sílice. Los óxidos de hierro contienen hierro trivalente (Fe^{3+}) producido a partir de hierro bivalente (Fe^{2+}), principalmente por el oxígeno liberado en la fotosíntesis de las cianobacterias.

oxígeno atmosférico alcanzó la concentración actual (~21 %, Figura 12.1).

A medida que el O_2 se acumulaba en la Tierra, la atmósfera fue cambiando gradualmente de anóxica a óxica (Figura 12.1). Las especies de *Bacteria* y *Archaea* incapaces de adaptarse a este cambio se vieron cada vez más restringidas a los hábitats anóxicos a causa de la toxicidad del oxígeno y porque este oxidaba las sustancias reducidas de las cuales dependía su metabolismo. No obstante, la atmósfera óxica también creó condiciones para la aparición de varios diseños metabólicos nuevos, como la oxidación del sulfuro, la nitrificación y el resto de procesos quimiolitótrofos aerobios (Capítulos 13 y 14). Los microorganismos que desarrollaron la capacidad para respirar con oxígeno obtuvieron una tremenda ventaja energética a causa del alto potencial de reducción del par O_2/H_2O (↻ Sección 3.6), y, con más energía a su disposición, los aerobios pudieron reproducirse más rápidamente que los anaerobios.

La capa de ozono

Una consecuencia importante de la presencia de oxígeno molecular para la evolución de la vida fue la formación de *ozono* (O_3). El sol baña la Tierra con grandes cantidades de radiación ultravioleta (UV), que es mortal para las células y puede causar un daño grave al DNA. Cuando el O_2 está sometido a radiación UV procedente del sol, se convierte en ozono, que absorbe considerablemente la radiación UV de longitudes de onda de hasta 300 nm. La conversión de O_2 a O_3 crea una capa de ozono y crea una barrera que protege la superficie de la Tierra de gran parte de la radiación UV solar. Antes de la generación de la capa de ozono, la nociva radiación UV del sol habría dejado grandes superficies terrestres inhóspitas, y habría restringido la vida a ambientes que ofrecieran protección frente a la radiación, como los océanos o el subsuelo. No obstante, cuando la Tierra desarrolló una capa de ozono, los organismos pudieron establecerse en la superficie terrestre, explotar nuevos hábitats y diversificarse cada vez más. En la Figura 12.1 se resumen algunos hitos de la evolución biológica y la geoquímica terrestre a medida que la Tierra pasó de ser un planeta anóxico a uno muy óxico.

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué se considera el origen de las cianobacterias como un paso fundamental en la evolución?
- ¿Qué provocó la aparición de las formaciones de hierro en bandas?
- ¿Qué pruebas indican que la vida microbiana estaba presente en la Tierra hace ya 3.500 millones de años?

12.3 Origen endosimbiótico de los eucariotas

Hasta hace unos 2.000 millones de años, parece que todas las células carecían de un núcleo rodeado por una membrana y de orgánulos, que son las características fundamentales de las células eucariotas (el dominio *Eukarya*). A continuación estudiaremos el origen de *Eukarya* y mostraremos que los eucariotas son quimeras genéticas que contienen genes de al menos dos dominios filogenéticos.

Endosimbiosis

Cuando la Tierra se hizo más óxica surgieron los microorganismos eucariotas, que poseen orgánulos, y el aumento de O_2 estimuló su rápido desarrollo. Si bien el origen exacto de las células eucariotas sigue sin estar claro del todo, los microfósiles más antiguos que tienen un núcleo reconocible tienen una edad de unos 2.000 millones de años. Los microfósiles de algas multicelulares y cada vez más complejas son evidentes a partir de hace 1.900 millones de años y hasta hace 1.400 millones de años (Figura 12.7*b*). Como mínimo hace 600 millones de años, con el oxígeno a la concentración actual, surgieron en los mares grandes organismos multicelulares, la fauna ediácara (Figura 12.1). En un período de tiempo relativamente corto, los eucariotas multicelulares se diversificaron y dieron lugar a los antepasados de las algas, las plantas, los hongos y los animales actuales (Sección 12.4).

Una explicación bien argumentada sobre el origen de los orgánulos en las células eucariotas es la **hipótesis endosimbiótica** (Figura 12.9). Esta hipótesis, propuesta por la bióloga norteamericana Lynn Margulis (1938-2011), afirma que las mitocondrias de los eucariotas modernos surgieron de la incorporación estable de una bacteria respiradora a otras células, y que los cloroplastos surgieron de manera parecida por incorporación de un organismo similar a las cianobacterias, que llevaba a cabo la fotosíntesis oxigénica. Con toda probabilidad, el oxígeno fue una fuerza impulsora de la endosimbiosis a través de su consumo por parte del antepasado de la mitocondria y su producción por parte del antepasado del cloroplasto. El aumento de energía liberada por la respiración aerobia contribuyó sin ninguna duda a la rápida evolución de los eucariotas, al igual que lo hizo la capacidad para aprovechar la energía solar para obtener energía.

El metabolismo y la fisiología global de las mitocondrias y los cloroplastos y la secuencia y la estructura de sus genomas respaldan la hipótesis endosimbiótica. Por ejemplo, tanto las mitocondrias como los cloroplastos tienen ribosomas de tamaño procariótico (70S), incluida una molécula de RNA ribosómico (**rRNA 16S**). Las secuencias del gen del rRNA 16S (Sección 12.4) de las mitocondrias y los cloroplastos también son características del dominio *Bacteria*. El árbol filogenético construido a partir de los genes del rRNA 16S de las mitocondrias sitúa al antepasado de estos orgánulos en el filo *Alphaproteobacteria*, mientras que los genes del rRNA 16S de los cloroplastos sitúan al suyo en el filo *Cyanobacteria*. Además, los mismos antibióticos que inhiben la actividad ribosómica en bacterias de vida libre inhiben la actividad ribosómica de estos orgánulos. Las mitocondrias y los cloroplastos también contienen pequeñas cantidades de DNA dispuesto en forma de círculo cerrado covalentemente, que es típico de las bacterias, y la filogenia de estas secuencias indica un antepasado bacteriano. De hecho, estos y otros signos indicativos de *Bacteria* están presentes en orgánulos de las células eucariotas modernas (↻ Sección 6.5).

Formación de la célula eucariota

El origen exacto de la célula eucariota sigue siendo una de las grandes preguntas sin resolver en evolución; no obstante, parece claro que la célula eucariota moderna es una quimera genética, una célula hecha de genes tanto de *Bacteria* como de *Archaea*. Existe un fuerte respaldo al origen endosimbiótico de

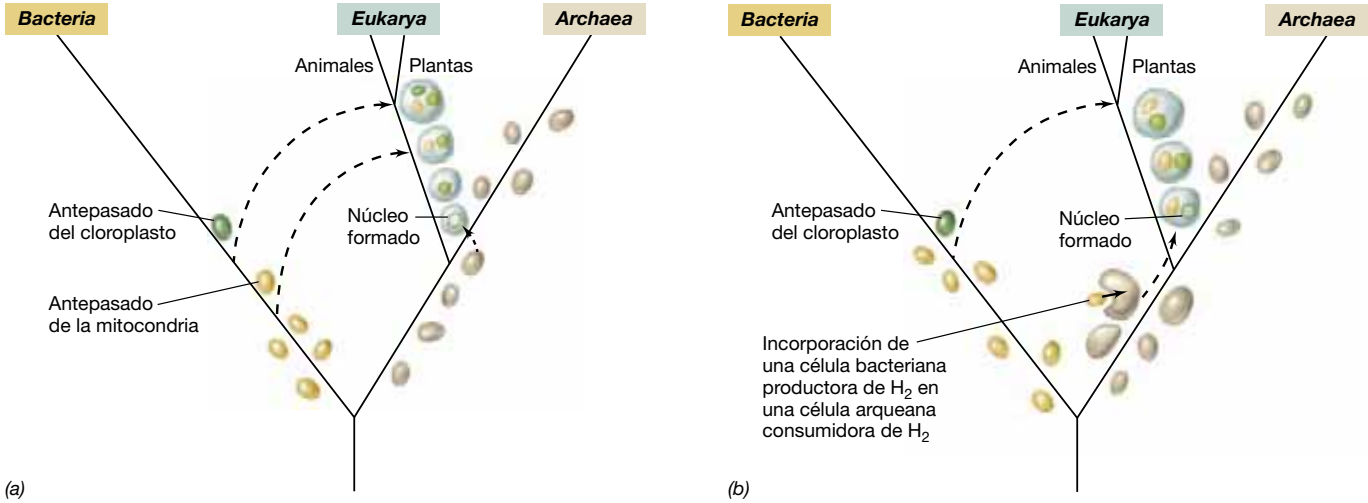


Figura 12.9 Modelos endosimbióticos para el origen de la célula eucariota. *(a)* La línea con núcleo divergió de la línea arqueana, posteriormente adquirió por endosimbiosis al antepasado bacteriano de la mitocondria y más tarde al antepasado cianobacteriano del cloroplasto, punto en el cual la línea con núcleo divergió en los linajes que dieron lugar a las plantas y los animales. *(b)* Hipótesis del hidrógeno. El antepasado bacteriano de la mitocondria fue incorporado por endosimbiosis en una especie de *Archaea*, y el núcleo se desarrolló posteriormente. El antepasado cianobacteriano del cloroplasto fue incorporado endosimbióticamente por el antepasado de plantas y algas (no se muestra). Obsérvese la posición de la mitocondria y los plastos (los cloroplastos son un tipo de plasto) en el árbol filogenético universal de la Figura 12.13.

las mitocondrias y los cloroplastos, como acabamos de detallar, y a la transferencia de ciertos genes desde estos endosimbiontes hacia el núcleo de la célula. Las células eucariotas comparten algunas otras características tanto con las bacterias, como la presencia de lípidos de membrana unidos por enlaces éster, como con las arqueas, como las características moleculares de la transcripción y la traducción. Además, *Bacteria* y *Archaea* comparten propiedades moleculares que no comparten los eucariotas (véase la Tabla 12.1 y la **Figura 12.10**). Estos rasgos de bacterias y arqueas sugieren que la endosimbiosis y la

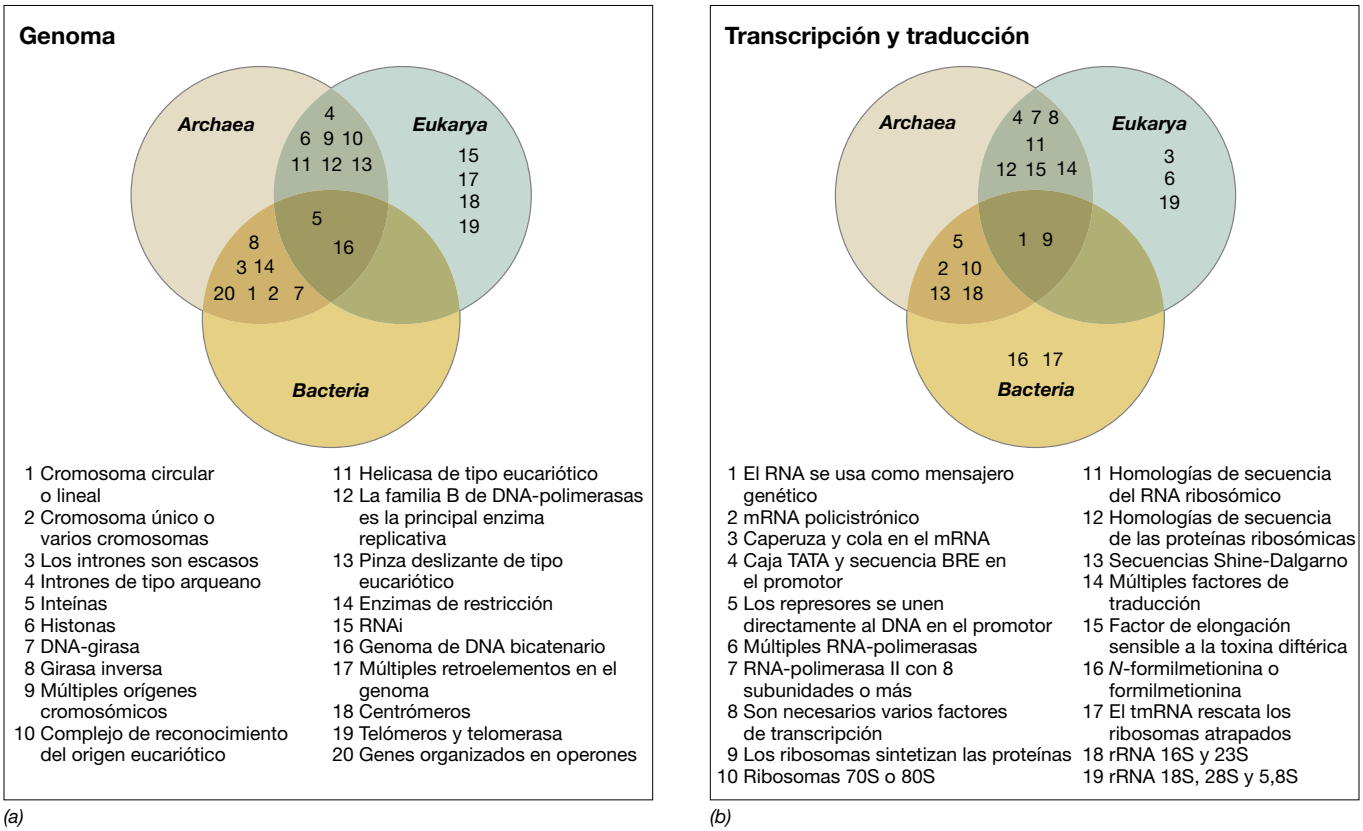


Figura 12.10 Características moleculares de los tres dominios. Los diagramas de Venn muestran qué características son compartidas por los dominios y cuáles son exclusivas. *(a)* Características genómicas. *(b)* Características de transcripción y traducción.

transferencia de genes pudieron tener una función importante en los orígenes de *Eukarya*.

Se han propuesto dos hipótesis para explicar la formación de la célula eucariota (Figura 12.9). En una, los eucariotas surgieron inicialmente como una línea celular con núcleo que posteriormente adquirió mitocondrias y cloroplastos por endosimbiosis (Figura 12.9*a*). En esta hipótesis, la línea celular con núcleo habría surgido en un linaje de células que se escindió de *Archaea*; se piensa que el núcleo apareció en esta línea celular durante un experimento evolutivo con el aumento del tamaño de la célula y del genoma, probablemente en respuesta a los procesos óxicos que estaban transformando la geoquímica de la Tierra (Sección 12.2). No obstante, un problema importante de esta hipótesis es que no explica fácilmente por qué las bacterias y los eucariotas tienen membranas lipídicas similares, a diferencia de las membranas arqueanas (↻ Sección 2.7).

La segunda hipótesis, llamada *hipótesis del hidrógeno*, propone que la célula eucariota surgió de una asociación entre una especie bacteriana productora de H_2, el simbionte que con el tiempo daría lugar a la mitocondria, y una especie arqueana consumidora de H_2, el hospedador (Figura 12.9*b*). En esta hipótesis, el núcleo apareció una vez que los genes para la síntesis lipídica se transferieran del simbionte al hospedador. Esta transferencia hizo que la síntesis de lípidos con ácidos grasos la llevara a cabo el hospedador; lípidos que podrían haber sido más adecuados para la formación de las membranas internas, como el sistema de membrana nuclear (↻ Sección 2.20). El aumento simultáneo de tamaño del genoma del hospedador llevó a encerrar el DNA en el interior de una membrana, de manera que la organización era mejor y la replicación y la expresión génica eran más eficaces.

En la sección siguiente trazaremos la ruta evolutiva de las células eucariotas y de las procariotas en detalle. Los análisis de la evolución molecular proporcionan un testimonio directo de la historia evolutiva de las células, que nos lleva al moderno «árbol de la vida».

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué pruebas respaldan la idea de que la mitocondria y el cloroplasto fueron anteriormente miembros independientes del dominio *Bacteria*?
- ¿Qué acontecimientos importantes en la evolución de la vida microbiana tuvieron que ocurrir antes del origen de la adquisición de los cloroplastos y las mitocondrias por parte de las células eucariotas?
- ¿En qué sentido los eucariotas modernos son una combinación de los atributos de las bacterias y las arqueas?

II • Fósiles vivientes: el DNA como registro de la historia de la vida

Las secuencias de DNA proporcionan un registro de los sucesos evolutivos pasados y se pueden usar para determinar la **filogenia**, que es la historia evolutiva de los organismos. En las secciones siguientes exploraremos cómo se pueden usar las secuencias moleculares para construir **árboles filogenéticos**, que son diagramas que trazan la historia evolutiva. Analizaremos cómo el análisis filogenético molecular ha cambiado nuestra comprensión de la historia de la vida.

12.4 La filogenia molecular y el árbol de la vida

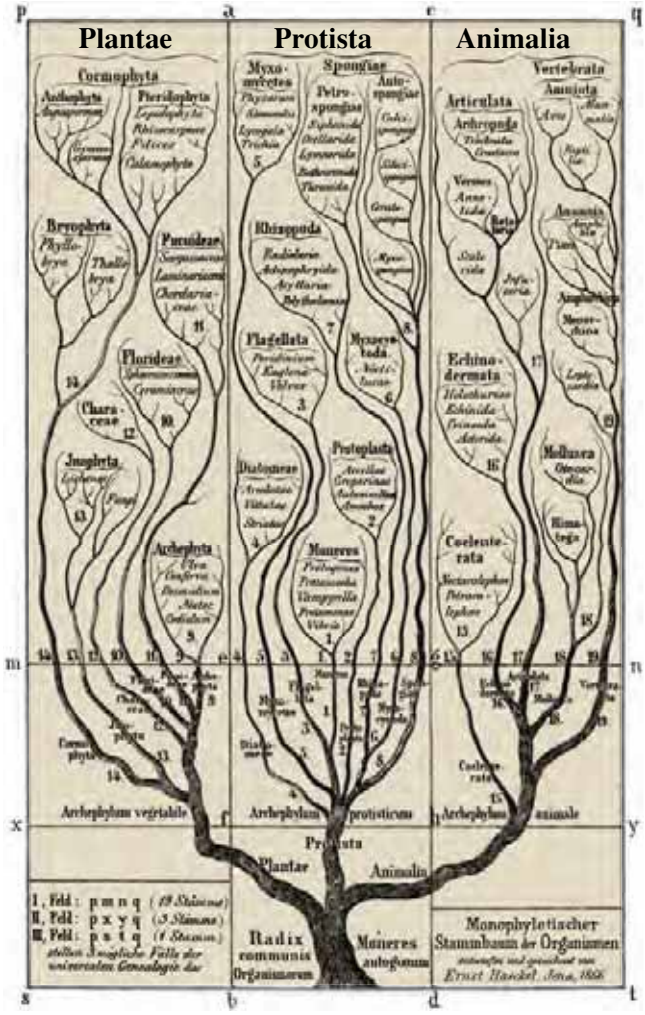
Los orígenes evolutivos de los microorganismos eran un misterio hasta que se descubrió que las secuencias moleculares sirven como registro de la historia evolutiva. En esta sección veremos cómo la secuencia de los genes del **RNA ribosómico (rRNA)**, que se encuentran en todas las células, revolucionó la comprensión de la evolución microbiana e hizo posible la construcción del primer **árbol universal de la vida**.

Los datos de las secuencias moleculares han revolucionado la filogenia microbiana

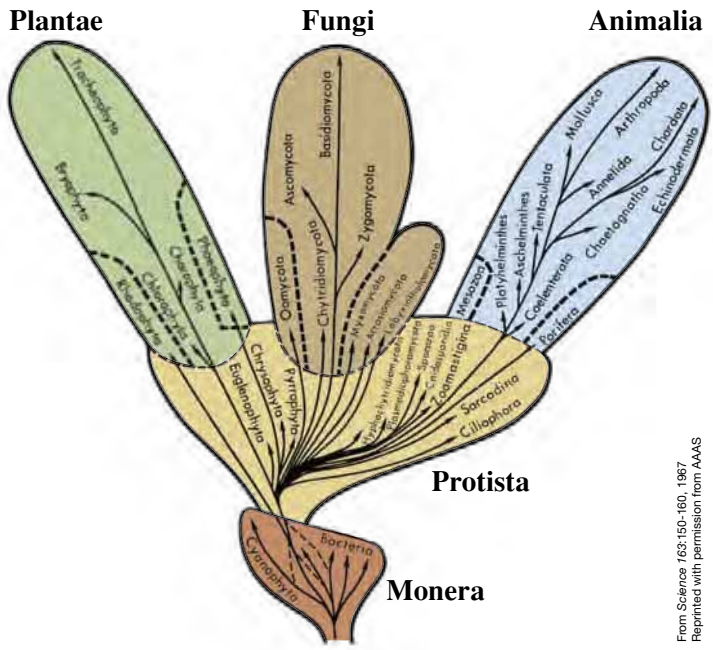
Tras la publicación, en 1859, del libro de Charles Darwin *El origen de las especies*, durante más de cien años la historia evolutiva se estudió principalmente con las herramientas de la paleontología, mediante el examen de fósiles, y las de la biología comparada, mediante la comparación de los rasgos de los organismos vivos. Estos enfoques permitieron progresar mucho en la comprensión de la evolución de las plantas y los animales, pero resultaban inútiles para explicar la evolución de los microorganismos. La inmensa mayoría de microorganismos no dejan fósiles tras de sí, y sus rasgos morfológicos y fisiológicos proporcionan pocas pistas acerca de su historia evolutiva. Además, los microorganismos no comparten rasgos morfológicos con las plantas y los animales, de manera que resultaba imposible crear un marco evolutivo sólido que incluyera a los microorganismos.

El primer intento de representar la historia evolutiva de todas las células fue publicado por Ernst Haeckel en 1866 (**Figura 12.11*a***). Haeckel sugirió, correctamente, que los organismos unicelulares, a los que llamó *Monera*, eran antepasados de otras formas de vida, pero su esquema, que incluía las plantas, los animales y los protistas, no intentó resolver las relaciones evolutivas entre microorganismos. La situación varió poco incluso en 1967, cuando Robert Whittaker propuso un esquema de clasificación en cinco reinos (Figura 12.11*b*). El esquema de Whittaker diferenciaba los hongos como un linaje distinto, pero seguía siendo del todo imposible resolver las relaciones evolutivas entre la mayoría de los microorganismos. Por tanto, la filogenia microbiana había progresado poco desde Haeckel.

Todo cambió cuando se descubrió la estructura del DNA y se llegó a la conclusión de que la historia evolutiva está registrada en la secuencia del DNA. Carl Woese (1928-2012) se dio cuenta en la década de los setenta de que la secuencia de las moléculas del rRNA y sus genes se podían usar para inferir las



(a) **Árbol de Haeckel**



(b) **Árbol de Whittaker**

From *Science* 163:150-160, 1967
Reprinted with permission from AAAS

Figura 12.11 Primeros intentos de representación del árbol universal de la vida. *(a)* Árbol de la vida publicado en 1866 por Ernst Haeckel en *Generelle Morphologie der Organismen*. *(b)* Árbol de la vida publicado por Robert H. Whittaker en 1969. Los términos «Monera» y «Moneres» son denominaciones anticuadas para referirse a las células procariotas. Compárense estos árboles conceptuales con el árbol generado a partir de las secuencias de los genes SSU rRNA en la Figura 12.13.

relaciones evolutivas entre organismos. Woese observó que los genes del rRNA son excelentes candidatos para el análisis filogenético porque (1) están distribuidos de manera universal, (2) son funcionalmente constantes, (3) están muy conservados (es decir, cambian muy lentamente), y (4) tienen la longitud adecuada para ofrecer una visión profunda de las relaciones evolutivas. Woese comparó las secuencias de las moléculas de **rRNA de la subunidad pequeña (SSU rRNA**, del inglés *small subunit rRNA*) (Figura 12.12) de muchos microorganismos, y observó que las secuencias de los procariotas metanógenos eran muy diferentes al de las bacterias. Para su sorpresa, descubrió que esas secuencias eran tan diferentes al de las bacterias como estas lo eran a las de los eucariotas. A este nuevo grupo de procariotas lo llamó *Archaea* (originalmente *Archaebacteria*) y los identificó como el tercer **dominio** de la vida, junto con *Bacteria* y *Eukarya* (↔ Sección 1.3 y Figura 12.13). Y lo que es más importante, Woese demostró que el análisis de las secuencias de genes de SSU rRNA se podía usar para poner de manifiesto relaciones evolutivas entre todas las células, de manera que se obtenía así la primera herramienta eficaz para la clasificación evolutiva de los microorganismos.

Desde 1977 se han generado y utilizado más de 2,3 millones de secuencias SSU rRNA para caracterizar la enorme diversidad del mundo microbiano. El Ribosomal Database Project (RDP; http://rdp.cme.msu.edu) contiene una colección de estas secuencias que aumenta continuamente y proporciona programas informáticos para su análisis y para la construcción de árboles filogenéticos, un tema que trataremos en la Sección 12.5.

El árbol de la vida basado en los genes de las secuencias SSU rRNA

El árbol filogenético universal de la vida basado en las secuencias génicas SSU rRNA (Figura 12.13) es una genealogía de toda la vida en la Tierra. Representa la historia evolutiva de todas las células y pone de manifiesto claramente los tres dominios. La raíz de este árbol universal representa un punto en el tiempo en el que toda la vida existente ahora en la Tierra compartía un antepasado común, el último antepasado común universal, LUCA (Figura 12.13 y Sección 12.1). El análisis genómico ha demostrado que el concepto de tres dominios no solo está respaldado por las secuencias SSU rRNA, sino también por el análisis de la mayoría de los genes que codifican enzimas que intervienen en la transcripción, la traducción o la replicación del DNA. Aunque hay muchos ejemplos de **transferencia horizontal de genes** (↔ Secciones 6.12 y 12.1) entre linajes dentro

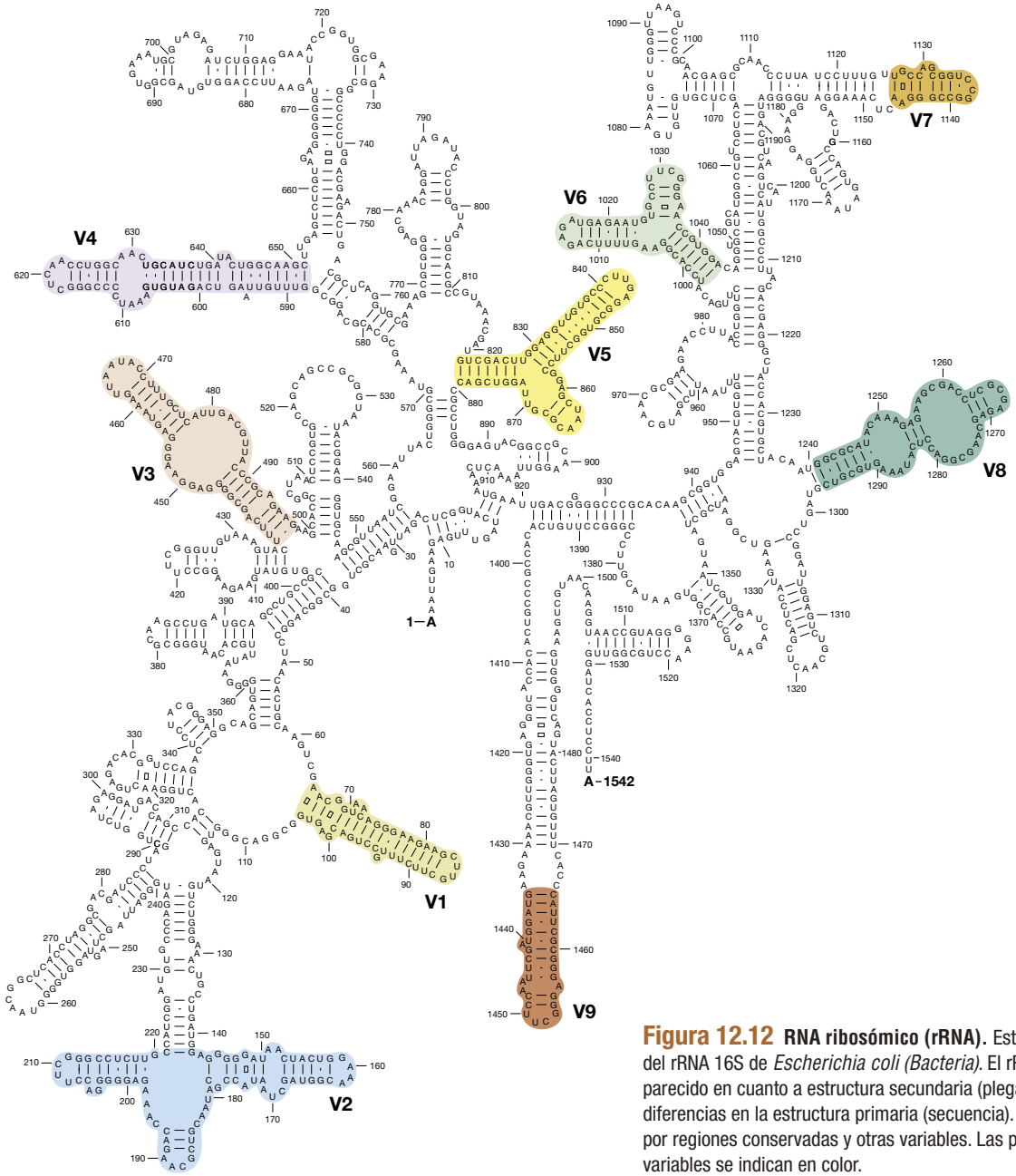


Figura 12.12 RNA ribosómico (rRNA). Estructura primaria y secundaria del rRNA 16S de *Escherichia coli (Bacteria)*. El rRNA 16S de *Archaea* es parecido en cuanto a estructura secundaria (plegamiento), pero tiene muchas diferencias en la estructura primaria (secuencia). La molécula está compuesta por regiones conservadas y otras variables. Las posiciones de las regiones variables se indican en color.

de dominios y entre dominios, sigue siendo patente que los tres dominios representan los principales linajes evolutivos celulares que existen en la Tierra.

La forma en que se establecieron los tres dominios sigue siendo un asunto controvertido. Hay muchos ejemplos de genes compartidos por bacterias, arqueas y eucariotas, o por dos de los tres dominios (Figura 12.10). Una hipótesis es que muy pronto en la historia de la vida, antes de que los dominios principales hubieran divergido, la transferencia horizontal de genes era muy frecuente, y muchos de los genes que codificaban las funciones de manejo de la información no habían aparecido todavía. La aparición de los genes que mejoraban la gestión de la información, como los que codifican las proteínas que participan en la transcripción y la traducción, habría supuesto un gran beneficio y se habrían transferido rápidamente entre las primeras formas de vida (Figura 12.4).

Esta hipótesis también supone que con el tiempo se desarrollaron barreras a la transferencia horizontal de genes sin restricciones. Como resultado, la población previamente promiscua empezó poco a poco a organizarse en las líneas principales de origen evolutivo, *Bacteria* y *Archaea* (Figura 12.4 y Figura 12.13). Hace unos 2.800 millones de años se habría producido otra bifurcación, cuando *Archaea* y *Eukarya* se separaron como dominios distintos. Como cada grupo siguió evolucionando, ciertos rasgos se fueron fijando en cada uno de ellos y se originaron las diferencias genéticas (Figura 12.10) y las diferencias fisiológicas y estructurales (Tabla 12.1) que observamos hoy en día entre los tres dominios. Tras casi 4.000 millones de años de evolución microbiana, vemos el impresionante

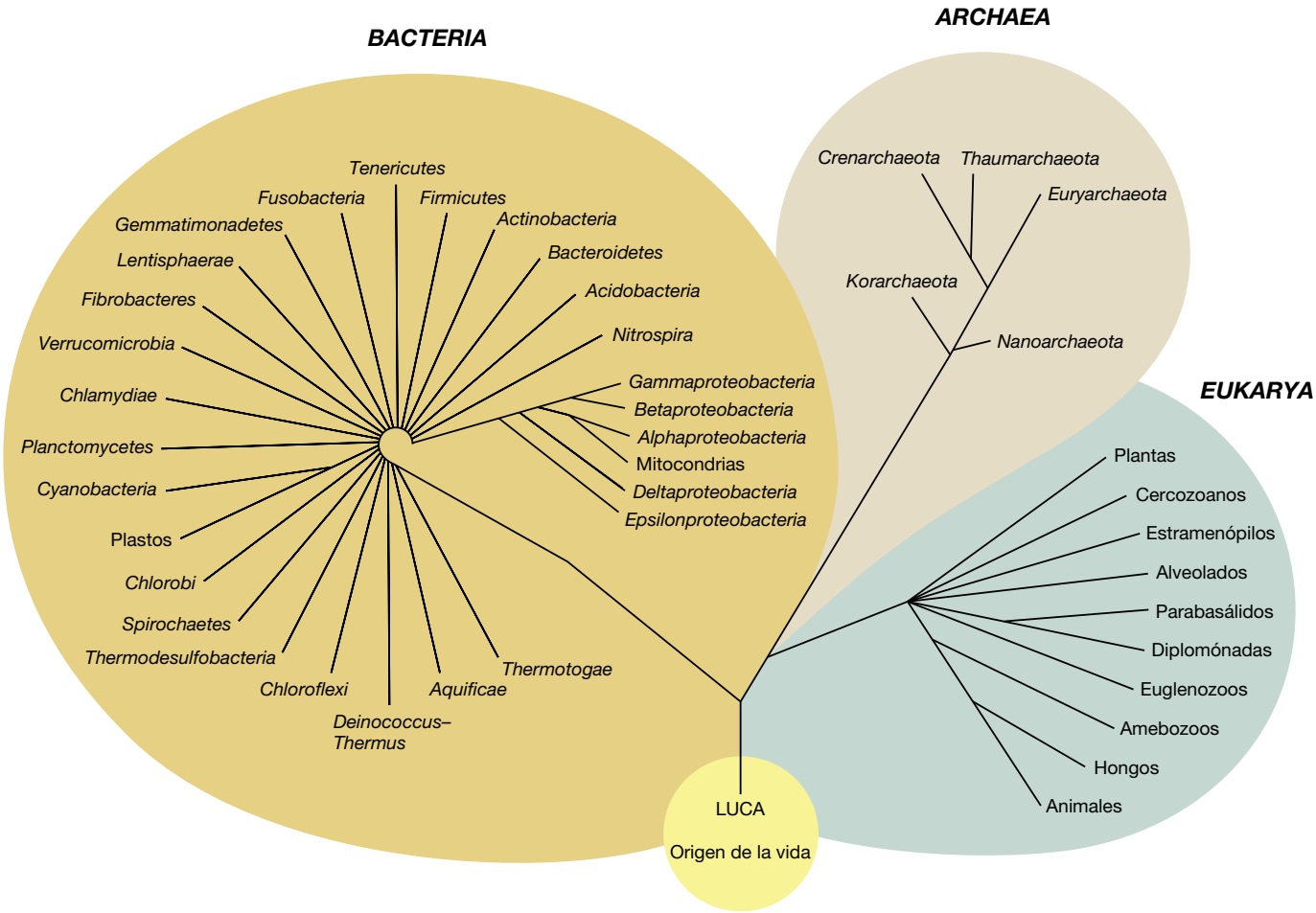


Figura 12.13 Árbol filogenético universal determinado por análisis comparativo de secuencias SSU rRNA. Se muestran únicamente algunos organismos o linajes fundamentales de cada dominio. Hasta el momento se han identificado al menos 84 filos de *Bacteria*, si bien muchos de ellos aún no han sido cultivados. LUCA, último antepasado común universal.

resultado: tres dominios de vida celular que son evolutivamente distintos y, aun así, comparten ciertos rasgos indicativos de su origen común a partir de un antepasado celular universal.

Bacteria

Hasta el momento se han descubierto al menos 84 linajes (llamados **filos**) pertenecientes al dominio *Bacteria*; en el árbol universal de la Figura 12.13 solo se muestran algunos que son fundamentales. Las bacterias se tratan con detalle en los Capítulos 14 y 15. Muchos linajes de *Bacteria* se conocen únicamente a partir de las secuencias génicas SSU rRNA recuperadas de muestras ambientales (*filotipos*, ↻ Sección 18.5). Solo 32 de los filos comprenden especies descritas a partir de cepas cultivadas, y más del 90 % de las cepas cultivadas pertenecen a uno solo de cuatro filos, *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Proteobacteria* y *Bacteroidetes*. Si bien es difícil de determinar la edad exacta de estos filos, es probable que muchos de ellos se establecieran aproximadamente en la época en que se separaron *Bacteria* y *Archaea*.

Aunque las especies de algunos de estos filos se caracterizan por rasgos fenotípicos exclusivos, como la morfología de las espiroquetas o la fisiología de las cianobacterias, la mayoría de los filos bacterianos comprenden una gran diversidad de especies y presentan una diversidad fisiológica enorme. Las *Proteobacteria* ilustran bien este concepto, porque incluyen organismos con una variada gama de rasgos fisiológicos que comprenden: respiración aerobia, fermentación, nitrificación, fijación de nitrógeno, desnitrificación, reducción de sulfato, oxidación de azufre y de sulfuro, fototrofia, desasimilación reductora y oxidadora de metales, oxidación de metano y otros muchos (Capítulos 13 y 14).

Las especies de *Proteobacteria* también cuentan con una amplia gama de estrategias ecológicas y se pueden encontrar en todos los ambientes de la Tierra excepto en los más calientes y los más salados. Cabe recordar que mientras la mayoría de los filos de plantas y animales se originaron durante los últimos 400 millones de años, los filos bacterianos tienen una antigüedad de miles de millones de años, y este tiempo les ha permitido una dilatada experimentación y diversificación.

Archaea

El dominio *Archaea* está formado por siete filos principales, de los cuales solo cinco contienen especies descritas a partir de cepas cultivadas. La mayoría de las especies descritas pertenecen a los filos *Crenarchaeota* y *Euryarchaeota*, mientras que solo se ha descrito un pequeño grupo de especies

Tabla 12.1 Principales características estructurales y fisiológicas de Bacteria, Archaea y Eukarya[a]

Característica	Bacteria	Archaea	Eukarya
Morfología			
Estructura celular procariótica	Sí	Sí	No
Pared celular	Con peptidoglicano	Sin peptidoglicano	Sin peptidoglicano
Lípidos de membrana	Enlaces éster	Enlaces éter	Enlaces éster
Núcleo rodeado por membrana	Ausente	Ausente	Presente
Mecanismo flagelar	Rotación	Rotación	A tirones
Sensibilidad a cloranfenicol, estreptomicina, kanamicina y penicilina	Sí	No	No
Estructuras fisiológicas/especiales			
Desasimilación reductora de S^0 o SO_4^{2-} a H_2S, o Fe^{3+} a Fe^{2+}	Sí	Sí	No
Nitrificación (oxidación de amoniaco)	Sí	Sí	No
Fotosíntesis clorofílica	Sí	No	Sí (en cloroplastos)
Desnitrificación	Sí	Sí	No
Fijación de nitrógeno	Sí	Sí	No
Metabolismo energético basado en rodopsina	Sí	Sí	No
Quimiolitotrofia (Fe^{2+}, NH_3, S^0, H_2)	Sí	Sí	No
Endósporas	Sí	No	No
Vesículas de gas	Sí	Sí	No
Gránulos de almacenamiento de poli-β-hidroxialcanoatos	Sí	Sí	No
Crecimiento por encima de 70 °C	Sí	Sí	No
Crecimiento por encima de 100 °C	No	Sí	No

[a]Obsérvese que para muchas características solo presentan la propiedad algunos representantes concretos de un dominio.

de los filos *Nanoarchaeota*, *Korarchaeota* y *Thaumarchaeota* (Figura 12.13). Analizaremos con detalle las arqueas en el Capítulo 16. En una de las ramificaciones cercanas a la raíz del árbol universal están las especies hipertermófilas de *Crenarchaeota*, tales como *Pyrolobus* (Figura 12.13), así como las especies termófilas de *Nanoarchaeota* y *Korarchaeota*. Les sigue el filo *Euryarchaeota*, que comprende las arqueas metanógenas y los halófilos y acidófilos extremos tales como *Thermoplasma* (Figura 12.13). El filo *Thaumarchaeota* se observó por primera vez en el fondo oceánico en la década de 1990, pero más adelante se ha encontrado en suelos y en sistemas marinos de todo el mundo. En las primeras especies de *Thaumarchaeota* se demostró que podían oxidar el amoniaco. Se han aislado varias especies diferentes, y todas comparten este rasgo fisiológico (↻ Sección 16.6). Al igual que sucede con *Bacteria*, muchos linajes de *Archaea* se conocen solo por sus genes SSU rRNA recuperados del ambiente, y todavía queda mucho espacio para el descubrimiento de nuevos linajes en el futuro.

Eukarya

Los árboles filogenéticos de *Eukarya* se construyeron a partir de análisis comparativos de secuencias del gen del rRNA 18S, que es el equivalente eucariota del gen del rRNA 16S en *Bacteria* y *Archaea*. Como ya hemos visto (Sección 12.3), los principales orgánulos eucarióticos se originaron claramente por endosimbiosis en el dominio *Bacteria*, con los antepasados de las mitocondrias procedentes de las proteobacterias y los de los cloroplastos procedentes de las cianobacterias (Figura 12.13). No obstante, algunos eucariotas microbianos carecen de mitocondrias (↻ Sección 2.21). En el Capítulo 17, cuando analicemos en detalle los eucariotas microbianos, veremos que la filogenia de los eucariotas más antiguos es difícil de determinar. Los árboles filogenéticos multigénicos (Sección 12.9) indican que los primeros linajes eucarióticos aparecieron durante una explosión de radiación evolutiva hace unos 600 millones de años, que originó la mayoría de los linajes de los eucariotas microbianos (↻ Figura 17.3). Es probable que esta explosión en la evolución eucariótica se desencadenara por el inicio de las condiciones óxicas en la Tierra y el consiguiente desarrollo de la capa de ozono (Sección 12.2). Dicha capa habría expandido, en gran medida, el número de hábitats superficiales disponibles para su colonización.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué tipo de pruebas respaldan el concepto de los tres dominios de la vida?
- ¿De qué manera el árbol universal de la Figura 12.13 defiende la hipótesis de la endosimbiosis (Figura 12.9)?
- Aporte tres razones por las que los genes SSU rRNA son adecuados para realizar análisis filogenéticos.

12.5 Filogenia molecular: el sentido de las secuencias moleculares

Todas las células contienen DNA como material genético, y el DNA pasa de padres a hijos. Con el tiempo, las mutaciones hereditarias se acumulan en las secuencias de DNA. Estas mutaciones se producen de manera natural y son una causa importante de las variaciones al azar sobre las que actúa la selección, como Darwin describió en su teoría de la evolución. Por tanto, la diferencia en secuencias nucleotídicas entre dos organismos será función del número de mutaciones acumuladas desde que compartieron un antepasado común. Por consiguiente, las diferencias en las secuencias de DNA se pueden utilizar para inferir relaciones evolutivas. En esta sección aprenderemos cómo se usan las secuencias de DNA en los análisis filogenéticos de la vida microbiana.

Obtención de las secuencias de DNA

Si bien los análisis de filogenia microbiana se basan en gran medida en los análisis de secuencias génicas de SSU rRNA, los avances en la tecnología de secuenciación del DNA (↻ Sección 6.2) han convertido la secuenciación genómica en una herramienta estándar en los análisis de filogenia microbiana. La obtención de una secuencia génica a partir de un microorganismo es relativamente sencilla si se cultiva dicho microorganismo aislado en el laboratorio. En este caso, el DNA genómico se aísla y se secuencia directamente o se usa para amplificar uno o más genes específicos mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, ↻ Sección 11.3).

Los cebadores de la PCR se pueden diseñar para unirse específicamente a cualquier región de DNA de cualquier organismo. Existen cebadores específicos para muchos genes altamente conservados, como el gen SSU rRNA (Figura 12.12). Los cebadores para este gen pueden tener distintos niveles de especificidad filogenética para unirse a especies, géneros y filos distintos, y existen incluso cebadores «universales», que amplifican el gen SSU rRNA de cualquier organismo. Los productos de la PCR se visualizan mediante electroforesis en gel de agarosa, se escinden del gel, se extraen, se purifican de la agarosa y se secuencian, a menudo usando los mismos oligonucleótidos como cebadores para las reacciones de secuenciación. Estos pasos están resumidos en la **Figura 12.14**. Otra posibilidad es amplificar genes SSU rRNA del DNA que se ha extraído directamente de una muestra ambiental o secuenciar directamente este DNA ambiental usando un enfoque metagenómico (↻ Secciones 6.10 y 18.7). Estos últimos métodos se usan mucho para caracterizar microorganismos que son difíciles de cultivar en el laboratorio. Una vez que se han obtenido las secuencias, se deben alinear y analizar, aspectos que trataremos a continuación.

Alineación de secuencias

La filogenia solo se puede inferir de genes con **homología**, es decir, genes que han sido heredados de un antepasado común. Así pues, la homología es un rasgo binario; las secuencias son homólogas o no lo son. El concepto de homología se suele confundir con el de semejanza de secuencia, pero este último es un rasgo continuo definido como el porcentaje de posiciones de los nucleótidos compartidos entre dos secuencias. La semejanza de secuencias se usa para inferir la homología, pero se puede calcular un valor de semejanza entre dos secuencias cualesquiera,

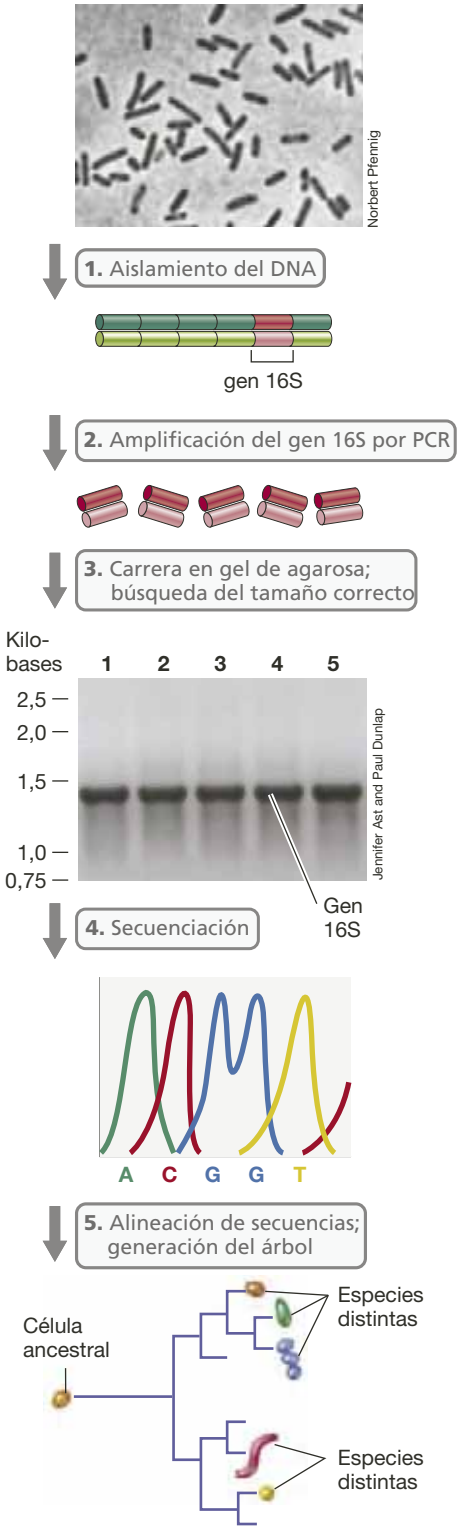


Figura 12.14 Amplificación por PCR del gen del rRNA 16S. Tras aislar el DNA, se usan los cebadores complementarios de los extremos del rRNA 16S (véase la Figura 12.12) para amplificar, mediante PCR, el gen del rRNA 16S a partir del DNA genómico de cinco cepas bacterianas desconocidas diferentes; los productos se corren en un gel de agarosa (foto). Las bandas de DNA amplificado tienen una longitud aproximada de 1.465 nucleótidos. A la izquierda se indican las posiciones de los marcadores del tamaño del DNA en kilobases. Tras la escisión de los productos de la PCR del gel y su purificación, se secuencian y se analizan para identificar las bacterias.

independientemente de su función o de su parentesco evolutivo. Por tanto, los términos semejanza y homología no son intercambiables. Los genes que tienen homología pueden ser **ortólogos**, si se han originado a partir de un solo gen ancestral en un antepasado común, o **parálogos**, si están relacionados como resultado de una duplicación génica (↔ Sección 6.11). Los análisis filogenéticos se centran normalmente en el análisis de genes ortólogos que tienen funciones similares.

Los análisis filogenéticos calculan cambios evolutivos a partir del número de diferencias de secuencia a través de un conjunto de posiciones homólogas de nucleótidos. Algunas mutaciones introducen inserciones o deleciones de nucleótidos, que hacen que las secuencias génicas difieran en cuanto a su longitud, de manera que se hace necesario *alinear* las posiciones de los nucleótidos antes de realizar el análisis filogenético de las secuencias génicas. El objetivo de la **alineación de secuencias** es añadir huecos a las secuencias moleculares con el fin de establecer homologías posicionales, es decir, asegurarse de que cada posición de la secuencia se heredó de un antepasado común de todos los organismos en estudio (Figura 12.15). Para poder llevar a cabo un análisis filogenético es fundamental realizar una alineación correcta, porque la asignación de los errores y de los huecos causados por deleciones es, en efecto, una hipótesis explícita de cómo han divergido las secuencias a partir de la secuencia ancestral común.

Secuencias antes de la alineación

```
1  GGA CCT AAA TTT ATA CCC
2  GGA AAA GGG CCC AAA CGC
3  GGA GGG CCT TTT ATA CCC
```

Diferencias de secuencias

	1	2	3
1	–	–	–
2	11	–	–
3	6	11	–

Secuencias después de la alineación

```
1  GGA --- --- CCT AAA TTT ATA CCC
2  GGA AAA GGG CCC --- --- AAA CGC
3  GGA --- GGG CCT --- TTT ATA CCC
```

(a)

	1	2	3
1	–	–	–
2	3	–	–
3	0	3	–

(b)

Figura 12.15 Alineación de secuencias de DNA. *(a)* Secuencias de una región hipotética de un gen en tres especies antes y después de su alineación. Una alineación de secuencias debería mostrar las posiciones homólogas en columnas verticales, lo que se consigue añadiendo huecos, indicados por guiones, para maximizar la semejanza local de secuencias entre las especies que se alinean. *(b)* Las matrices de distancia muestran el número de diferencias entre secuencias que se infieren para cada par de especies antes y después de la alineación.

Árboles filogenéticos

Un árbol filogenético es un diagrama en el que se representa la historia evolutiva de un organismo, y guarda cierta semejanza con un árbol genealógico. La mayoría de los microorganismos no dejan restos fósiles, de modo que sus antepasados nos son desconocidos, pero las relaciones ancestrales se pueden deducir a partir de las secuencias de DNA de los organismos que existen hoy en día. Los organismos que comparten un antepasado común probablemente compartirán algunas características, y los árboles filogenéticos nos permiten establecer hipótesis sobre las características de un organismo. También son muy útiles en taxonomía y en la identificación de especies, como veremos más adelante en este capítulo (Sección 12.9).

Un árbol filogenético se compone de *nudos* y *ramas* (Figura 12.16). Los extremos de las ramas representan las especies

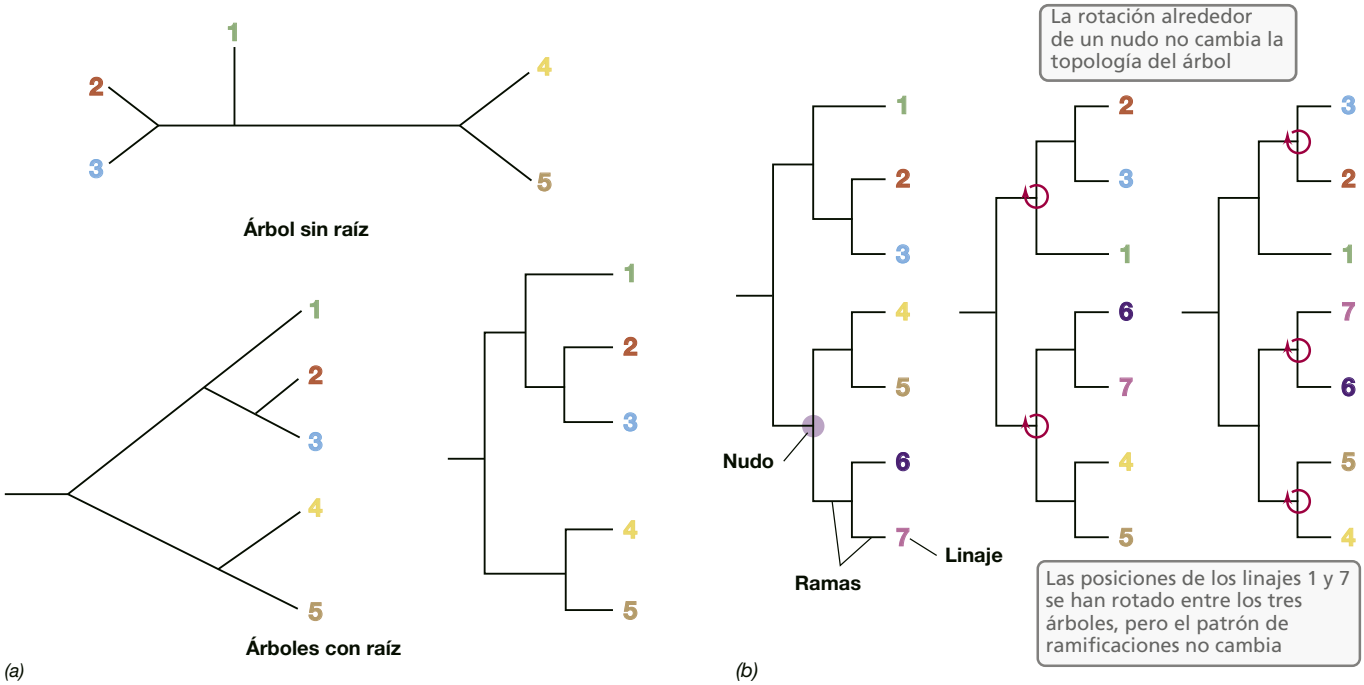


Figura 12.16 Árboles filogenéticos y su interpretación. *(a)* Ejemplos de árboles filogenéticos con raíz y sin raíz. Los extremos de las ramas son especies (o cepas) y los nudos son antepasados. Las relaciones ancestrales se ponen de manifiesto por el orden de ramificación en los árboles con raíz. *(b)* Tres versiones equivalentes del mismo árbol filogenético. La única diferencia entre los árboles es que sus nudos se han hecho girar en los puntos indicados por las flechas rojas. La posición vertical de las especies es diferente entre los árboles, pero el patrón genealógico (los nudos que comparte cada especie) no cambia.

que existen en la actualidad. Los árboles filogenéticos se pueden construir *con raíz* o *sin raíz*. Los que tienen raíz muestran la posición del antepasado de todos los organismos que se están examinando. Los árboles sin raíz representan las relaciones relativas entre los organismos en estudio, pero no proporcionan ningún dato sobre el nudo más antiguo del árbol. Los nudos representan una etapa anterior de la evolución, en la que un antepasado se ramificó en dos linajes nuevos. La longitud de la rama representa el número de cambios que se han producido a lo largo de dicha rama. En un árbol filogenético, únicamente la posición de los nudos y la longitud de las ramas son informativas; la rotación alrededor de los nudos no tiene ningún efecto en la topología del árbol (Figura 12.16*b*).

Construcción del árbol

Solamente existe un árbol filogenético correcto que represente con precisión la historia evolutiva de un grupo de secuencias génicas, pero deducir el árbol verdadero a partir de los datos de las secuencias puede ser una tarea ardua. La complejidad del problema se pone de manifiesto al considerar el número total de árboles que se pueden representar con un conjunto de secuencias al azar. Por ejemplo, para cuatro secuencias arbitrarias existen solo tres árboles posibles; pero si se duplica a ocho el número de secuencias, obtenemos 10.395 árboles posibles. Esta complejidad sigue creciendo exponencialmente, de manera que para representar cien secuencias arbitrarias podemos dibujar 2×10^{182} árboles diferentes.

El análisis filogenético usa los datos de las secuencias moleculares para tratar de identificar el árbol correcto que represente exactamente la historia evolutiva de un conjunto de secuencias.

Para deducir los árboles filogenéticos a partir de datos de secuencias moleculares hay diversos métodos disponibles. La estructura de un árbol filogenético se suele deducir aplicando un *algoritmo* o algún conjunto de *criterios de optimalidad*. Un algoritmo es una serie programada de pasos diseñados para construir un solo árbol (**Figura 12.17**). Los algoritmos utilizados para construir árboles filogenéticos son el *método de agrupamiento de pares con la media aritmética no ponderada* (UPGMA, del inglés *unweighted pair group method with arithmetic mean*) y el *método de unión de vecinos* (o *neighbor joining*). Por otro lado, los métodos filogenéticos que utilizan criterios de optimalidad son la *parsimonia*, la *máxima verosimilitud* y los análisis *bayesianos*. Estos últimos métodos evalúan muchos árboles posibles y seleccionan el que tiene la mejor puntuación de optimalidad, es decir, seleccionan el árbol que mejor se ajusta a los datos de la secuencia considerando un modelo discreto de evolución molecular. La puntuación de optimalidad se calcula a partir de los modelos evolutivos que describen cómo cambian las secuencias moleculares con el tiempo. Por ejemplo, los modelos evolutivos pueden explicar la variación en las tasas de sustitución y las frecuencias de bases entre posiciones de secuencia.

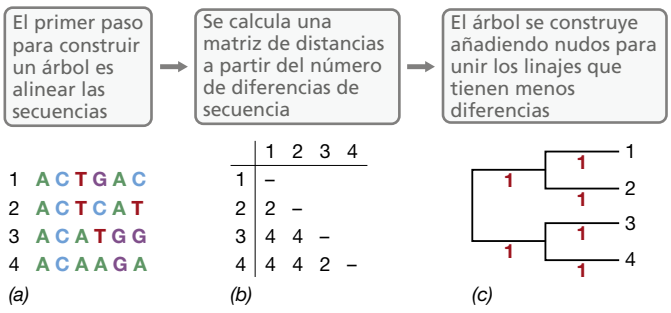


Figura 12.17 Construcción de árboles filogenéticos. El número de diferencias nucleotídicas entre secuencias génicas se puede usar para construir un árbol filogenético. En la alineación de secuencias *(a)* podemos contar el número de diferencias entre cada par de secuencias para construir una matriz de distancias. *(b)* La matriz de distancias se puede usar para construir un árbol *(c)* en el que las longitudes acumulativas de las ramas horizontales (marcadas con un «1» en rojo) entre dos especies cualesquiera del árbol sean proporcionales al número de diferencias nucleotídicas entre dichas especies.

Limitaciones de los árboles filogenéticos

La filogenia molecular proporciona una visión muy clara de la historia evolutiva, pero es importante tener en cuenta las limitaciones para construir e interpretar árboles filogenéticos. Por ejemplo, puede resultar difícil elegir el árbol verdadero basándose en los datos disponibles de secuencias si varios árboles diferentes se ajustan igual de bien a los datos. El *bootstrapping*, un método estadístico en el que la información es remuestreada al azar, es un enfoque que se utiliza para tratar la incertidumbre en los árboles filogenéticos. Los valores de muestreos repetidos al azar indican el porcentaje del tiempo que un nudo determinado de un árbol filogenético es confirmado por los datos de secuencia. Valores altos indican que un nudo del árbol probablemente sea correcto, mientras que valores bajos indican que, con los datos de que se dispone, la colocación de un nudo puede no ser exacta.

La **homoplasia**, también conocida como *evolución convergente*, se produce cuando varios organismos comparten una característica que no ha sido heredada de un antepasado común. Un ejemplo de ello es el desarrollo de alas en los insectos y en las aves, que se originaron por separado y no indican que los insectos y las aves compartan un antepasado alado. La homoplasia también se da en secuencias moleculares, cuando se producen posiciones de secuencia similares a partir de mutaciones retrógradas y no por herencia de un antepasado común. Por tanto, el problema de la homoplasia en la filogenia molecular aumenta proporcionalmente al tiempo evolutivo (**Figura 12.18**).

La prevalencia de la transferencia horizontal de genes (↻ Sección 6.12) también crea complicaciones cuando consideramos la historia evolutiva de los microorganismos. Cuando se usa la secuencia de un gen para deducir la filogenia de un organismo, se debe suponer que el gen se hereda *verticalmente* de una generación a la siguiente a lo largo de toda la historia evolutiva del organismo. El intercambio *horizontal* de genes entre organismos no emparentados viola esta suposición (**Figura 12.19**). Por tanto, es importante tener en cuenta la diferencia entre una *filogenia génica*, que representa la historia evolutiva de un gen individual, y una *filogenia del organismo*, que representa la historia evolutiva de la célula. En general, las secuencias SSU rRNA parecen transferirse horizontalmente a frecuencias muy bajas, y las filogenias de los genes del rRNA coinciden en gran medida con las de la mayoría de los genes que codifican funciones genéticas informacionales en la célula. Así pues, se considera en general que las secuencias de los genes SSU rRNA proporcionan un registro de la filogenia del

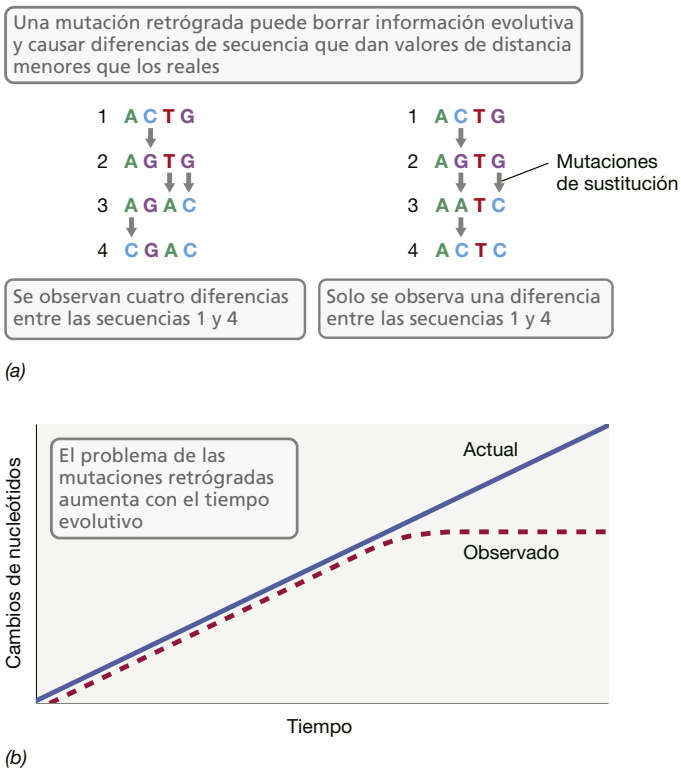


Figura 12.18 El problema de la homoplasia debida a mutaciones retrógradas. Las mutaciones retrógradas pueden dificultar el recuento del número real de mutaciones que se han producido desde que un par de secuencias compartieron un antepasado común. *(a)* Observamos dos series de mutaciones durante la evolución de una secuencia génica. A la izquierda, el número de mutaciones es igual al número observado entre las especies 1 y 4. Sin embargo, si hay una mutación retrógrada (derecha), el número de mutaciones observadas entre las especies 1 y 4 puede ser menor que el que realmente se ha producido. *(b)* La probabilidad de mutaciones retrógradas aumenta a medida que se van acumulando mutaciones con el tiempo.

organismo. No obstante, muchos genes de los genomas microbianos se han adquirido por transferencia horizontal en algún momento de su historia evolutiva, y este proceso tiene importantes implicaciones en la evolución microbiana, como veremos en la sección siguiente.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cómo se obtienen las secuencias de DNA para un análisis filogenético?
- ¿Qué representa un árbol filogenético?
- ¿Por qué la alineación de secuencias es un paso fundamental en el análisis filogenético?

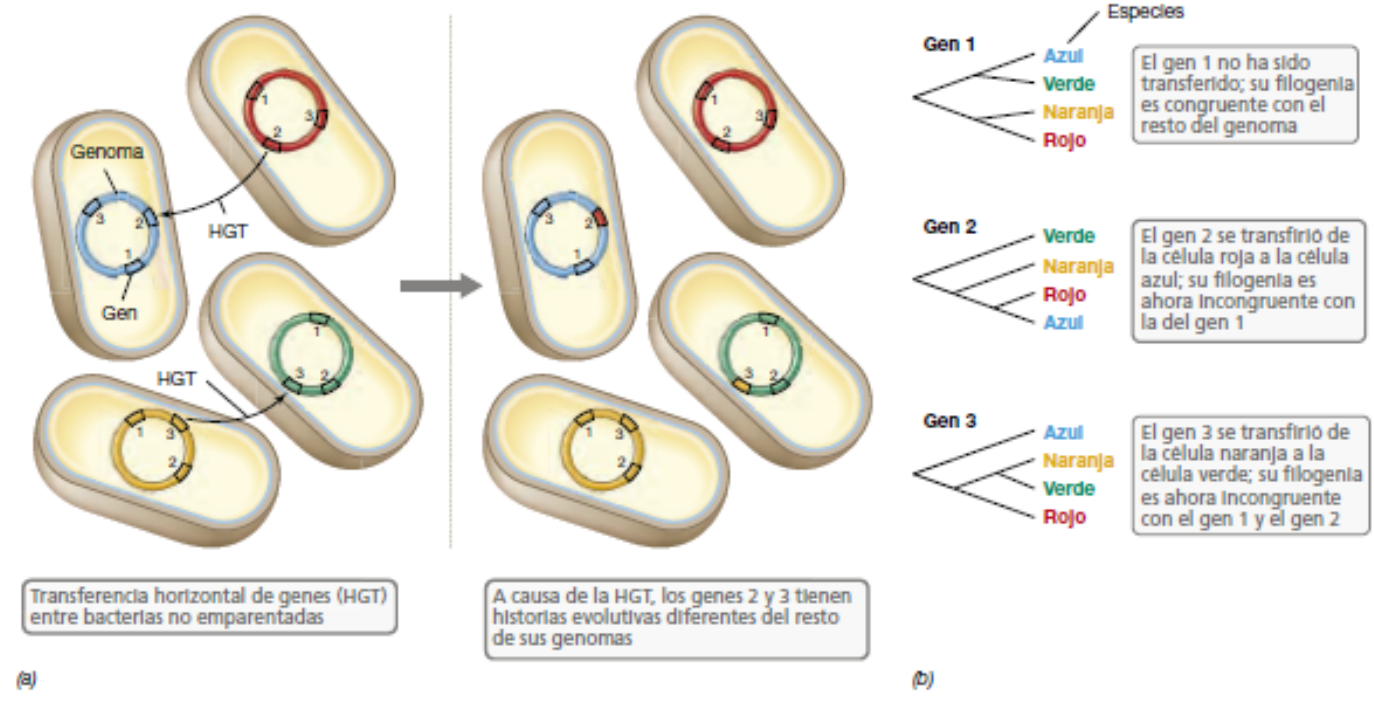


Figura 12.19 Transferencia horizontal de genes. La transferencia horizontal de un gen hará que tenga una historia evolutiva diferente de la del resto del genoma. *(a)* Los genes se transfieren de manera horizontal entre microorganismos sin parentesco cercano. Se han usado colores para unir los microorganismos con su material genético. *(b)* Como consecuencia de los casos de transferencia horizontal de la parte *a*, observamos ahora árboles filogenéticos diferentes para el gen 1, el gen 2 y el gen 3. Solo el árbol del gen 1, que no ha sido transferido, sigue siendo congruente con la filogenia del organismo.

III • Evolución microbiana

Si bien muchos de los principios básicos de la evolución se conservan en todos los dominios de la vida, algunos aspectos de la evolución microbiana son raros en plantas y animales. Por ejemplo, las bacterias y las arqueas son, en general, haploides y asexuales, poseen diversos mecanismos de transferencia horizontal de genes que ocasionan el intercambio asimétrico de material genético que no coincide con la reproducción, y sus genomas pueden ser notablemente heterogéneos y muy dinámicos. En esta sección analizaremos los procesos que causan la diversificación de los linajes microbianos y cómo estas fuerzas afectan a la evolución de los genomas microbianos.

12.6 El proceso evolutivo

En su forma más simple, la evolución es un cambio en las frecuencias de los alelos en un conjunto de organismos a lo largo del tiempo. Los **alelos** son versiones alternativas de un gen determinado. Los alelos nuevos surgen a causa de mutaciones y recombinaciones, y los cambios en las frecuencias alélicas se producen a través de una serie de cambios que incluyen la selección y la deriva genética. ¿Cómo dan lugar estos mecanismos sencillos al origen y la divergencia de las especies microbianas?

Orígenes de la diversidad genética

Las **mutaciones** son cambios al azar en la secuencia del DNA que se acumulan a lo largo del tiempo en todas las secuencias de DNA; son una fuente fundamental de la variación natural que impulsa el proceso evolutivo. La mayoría de las mutaciones son neutras o deletéreas, pero algunas pueden resultar beneficiosas. Las mutaciones pueden ser de diversos tipos: *sustituciones*, *deleciones*, *inserciones* y *duplicaciones* (Capítulo 10). Las duplicaciones producen una copia redundante de un gen que se puede modificar por otra mutación posterior sin perder la función codificada por el gen original. Por tanto, las duplicaciones permiten la diversificación de las funciones génicas.

La **recombinación** es un proceso por el cual se rompen segmentos de DNA y se vuelven a unir para crear combinaciones nuevas del material genético (↻ Sección 10.5). La recombinación puede causar la reordenación de material genético ya presente en un genoma, y además es necesaria para la integración en el genoma de DNA adquirido por transferencia horizontal. La recombinación se puede clasificar a grandes rasgos en *homóloga* y *no homóloga*. La recombinación homóloga requiere segmentos cortos de secuencias de DNA muy parecidas flanqueando la región de DNA que se transferirá (↻ Sección 10.5). En cambio, la recombinación no homóloga está mediada por varios mecanismos (↻ Sección 10.5) que tienen en común no necesitar un alto nivel de semejanza de secuencia para iniciar la integración satisfactoria de DNA.

Selección y deriva genética

Cuando la mutación y la recombinación causan variaciones en las secuencias génicas se producen nuevos alelos. La evolución ocurre cuando cambia la frecuencia de diferentes alelos en una población a lo largo de muchas generaciones. En biología evolutiva se han descrito muchos mecanismos diferentes que pueden dirigir este proceso evolutivo, pero los mecanismos principales son las fuerzas de la selección y la deriva genética.

La **selección** se define sobre la base de la **aptitud**, la capacidad de un organismo para producir progenie y contribuir a la conformación genética de futuras generaciones. La mayoría de las mutaciones son *neutras* respecto a la aptitud, y no tienen ningún efecto en la célula a causa de la degeneración del código genético (↻ Sección 4.11). Generalmente, estas mutaciones se acumulan en el DNA a lo largo del tiempo. Algunas mutaciones son *deletéreas*; disminuyen la aptitud de un organismo alterando la función de sus genes. Las mutaciones deletéreas suelen eliminarse de las poblaciones con el tiempo por selección natural. Algunas mutaciones pueden ser *beneficiosas* al aumentar la aptitud de un organismo, y están favorecidas por la selección natural, de modo que, con el tiempo, aumentan su frecuencia en una población. Un ejemplo de mutación beneficiosa sería una que induzca resistencia a los antibióticos en una bacteria patógena que esté infectando a una persona sometida a terapia antibiótica. Es importante recordar que todas las mutaciones se producen al azar; la naturaleza selectiva del entorno no *causa* mutaciones adaptativas; simplemente *selecciona* para el crecimiento y la reproducción a aquellos organismos que han sufrido mutaciones que suponen una ventaja en términos de aptitud.

Aunque Darwin propuso la selección natural como el mecanismo por el cual cambian las frecuencias génicas a lo largo del tiempo, los cambios evolutivos se pueden producir mediante mecanismos distintos a la selección. Un ejemplo significativo es la **deriva genética** (Figura 12.20), un proceso al azar que puede hacer que las frecuencias génicas cambien con el tiempo, de manera que haya evolución en ausencia de selección natural. La deriva genética se produce porque algunos miembros de una población tendrán más descendencia que otros, simplemente por azar; con el tiempo estos acontecimientos fortuitos pueden provocar cambios evolutivos en ausencia de selección. La deriva genética tiene más fuerza en poblaciones pequeñas y en las que experimentan frecuentes «cuellos de botella». Estos últimos se producen cuando la población sufre una reducción drástica seguida de un nuevo crecimiento a partir de las células remanentes. Por ejemplo, la deriva genética puede ser muy importante en la evolución de los patógenos, ya que cada nueva infección está causada por un pequeño número de células que colonizan un nuevo hospedador. Por tanto, las poblaciones patógenas pueden cambiar rápidamente como resultado de la deriva genética al azar como se ilustra en la Figura 12.20.

Los microorganismos pueden desarrollar nuevas características rápidamente

Un cambio en el ambiente o la introducción de células en un ambiente nuevo puede provocar cambios evolutivos rápidos en las poblaciones microbianas. Los microorganismos forman normalmente grandes poblaciones y se reproducen con rapidez, de modo que, en algunas especies, se puede obtener una nueva generación en solo veinte minutos; así pues, los procesos evolutivos en las poblaciones microbianas se pueden observar a menudo en el laboratorio a escalas de tiempo relativamente cortas. La variación hereditaria ya presente en una población proporciona la materia prima sobre la que actúa la selección

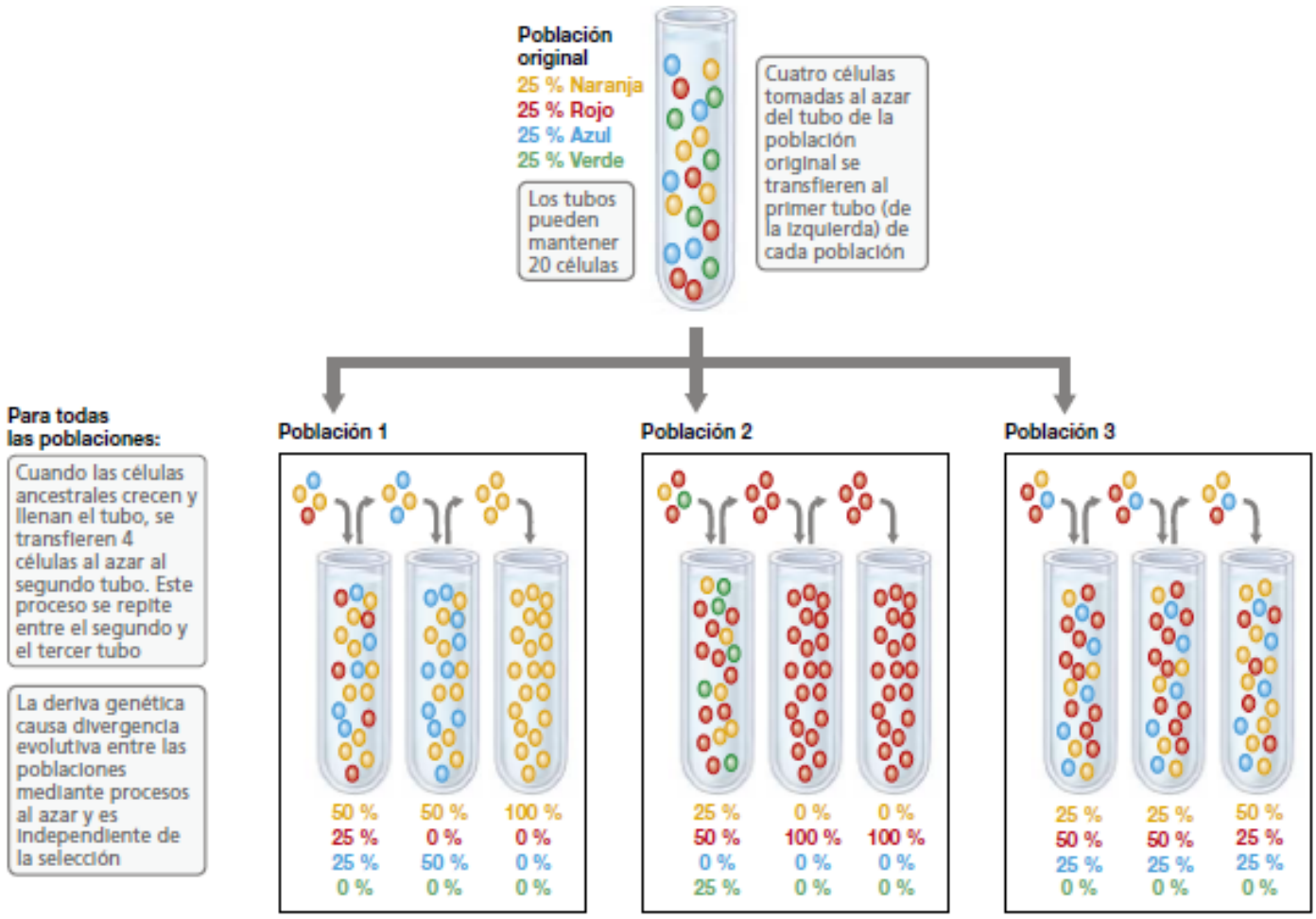


Figura 12.20 **Deriva genética.** La deriva genética es un proceso al azar que puede causar cambios en las frecuencias génicas de una población a lo largo del tiempo y producir evolución sin selección natural. En este ejemplo, tenemos una población original con cuatro genotipos bacterianos diferentes (indicados por colores distintos) cada uno con una misma frecuencia,. Se transfieren cuatro células al azar a cada uno de tres tubos nuevos y se dejan crecer las células hasta que llenen los tubos. No hay diferencias de aptitud (*fitness*) entre las células, de manera que crecen todas por igual. A continuación se toman células al azar y se transfieren en dos rondas sucesivas. Después de solo tres rondas de transferencia se observan notables diferencias en la frecuencia genotípica entre las poblaciones.

natural a partir de dicho cambio en el ambiente selectivo. Aquí estudiaremos dos ejemplos de cambio evolutivo rápido en las bacterias; uno sobre la pérdida rápida de una característica en *Rhodobacter*, y otro sobre la adquisición de una característica nueva en *Escherichia coli*.

Rhodobacter es una bacteria roja fotótrofa que realiza fotosíntesis anoxigénica (↬ Sección 13.3) en ambientes anóxicos iluminados. Cuando se cultiva anaerobiamente a la luz o en la oscuridad, sus células sintetizan bacterioclorofila y carotenoides. Es la ausencia de oxígeno, y no la presencia de luz, lo que activa la síntesis de pigmentos en las bacterias rojas. En presencia de luz, estos pigmentos participan en las reacciones fotosintéticas que llevan a la síntesis de ATP, pero en la oscuridad no proporcionan ningún beneficio a la célula.

De vez en cuando, las mutaciones al azar generan células de *Rhodobacter* que producen cantidades reducidas de fotopigmentos o que no los producen en absoluto. En la naturaleza, la capacidad para llevar a cabo la fotosíntesis es una característica adaptativa de gran valor, de manera que los mutantes no fotosintéticos [en el original pone «*photosynthetic mutants*»; pero significa «mutantes de los fotosintéticos que han perdido la capacidad de fotosíntesis»; por tanto, se corrige como antecede, «no fotosintéticos»] se pierden y predominan las células de tipo silvestre. No obstante, al contrario que en condiciones naturales, no hay selección contra las células de *Rhodobacter* que tienen una capacidad reducida de fotosíntesis si se cultivan en el laboratorio en oscuridad permanente. Los mutantes que producen cantidades menores de fotopigmentos surgen en los cultivos oscuros al igual que lo hacen en los cultivos fotótrofos, pero en la oscuridad estos mutantes son seleccionados y rápidamente copan la población (**Figura 12.21**).

En la oscuridad los fotopigmentos son inútiles, y los mutantes conservan su energía evitando el coste metabólico de sintetizarlos. Por tanto, los mutantes no fotosintéticos pueden ser más competitivos que las células de tipo silvestre que producen la dotación completa de fotopigmentos. Aunque estos mutantes tengan una capacidad fotótrofa reducida, o en algunos casos la hayan perdido completamente, la capacidad de crecer fototrofamente (véase el inserto en la Figura 12.21), en oscuridad permanente se convierten rápidamente en los organismos más aptos de la población y, por tanto, disfrutan de mayor éxito reproductivo. Las mutaciones que afectan a la fotosíntesis se producen

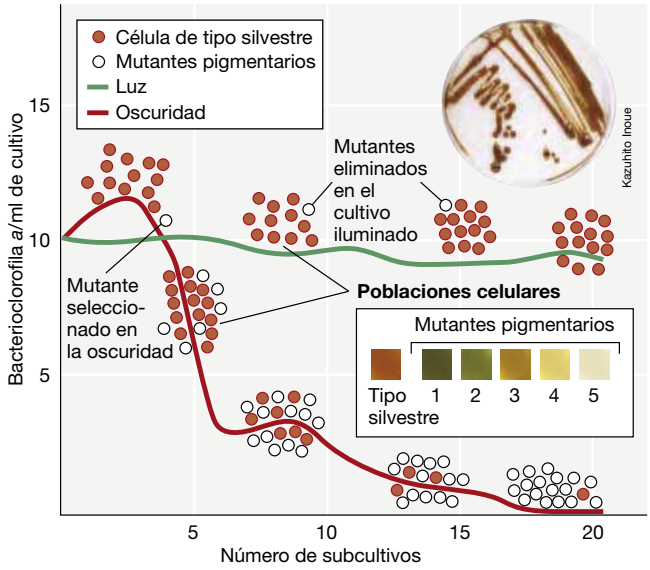


Figura 12.21 Supervivencia del más apto y selección natural en una población de bacterias rojas fotótrofas. El subcultivo en serie de la bacteria roja *Rhodobacter capsulatus* en la oscuridad selecciona rápidamente los mutantes no fotótrofos que resultan superiores y crecen más rápidamente que las células que siguen sintetizando bacterioclorofila y carotenoides. Foto: placa de cultivo con colonias de células fotótrofas de *R. capsulatus*. En la parte inferior, el pigmento de las colonias de tipo silvestre y los de cinco mutantes (1-5) obtenidas durante el subcultivo seriado en la oscuridad. Las células de tipo silvestre son de color marrón rojizo debido a su dotación de pigmentos carotenoides. El color de las colonias mutantes refleja la ausencia (o síntesis reducida) de uno o más carotenoides. La cepa mutante 5 carece de bacterioclorofila y no puede crecer fotótrofamente. Las cepas mutantes de la 1 a la 4 pueden seguir creciendo fotótrofamente pero a menor velocidad que las de tipo silvestre. Datos adaptados de Madigan, M. T., *et al.* 1982. *J. Bacteriol. 150*: 1422-1429.

con la misma frecuencia en presencia de luz que en oscuridad, pero con luz la selección de la fototrofia es tan fuerte que estos mutantes se eliminan rápidamente de la población.

La evolución experimental es un campo de estudio en expansión alentado por el rápido crecimiento de las poblaciones bacterianas y la capacidad de conservar indefinidamente las bacterias por congelación. Esto último permite mantener un «registro fósil» vivo de organismos ancestrales que se pueden descongelar más tarde y compararlos con cepas evolucionadas. Por ejemplo, el experimento de evolución a largo plazo con *Escherichia coli* (LTEE, del inglés *Escherichia coli long-term evolution experiment*), que está en marcha desde 1988, ha seguido la evolución de 12 líneas paralelas de *E. coli* a lo largo de más de 50.000 generaciones. Los cultivos del LTEE con *E. coli* se han hecho crecer en condiciones aerobias en un medio mínimo con glucosa como única fuente de carbono y energía. *Escherichia coli* [después de punto y seguido, no se abrevia el género] se propaga normalmente en un medio rico que contiene un exceso de todos los nutrientes que las células necesitan para crecer, de modo que el medio mínimo de glucosa usado en el LTEE representa un nuevo ambiente adaptativo en el que *E. coli* debe evolucionar con el tiempo.

En el LTEE, tanto el ancestro como las líneas evolucionadas se sometieron a ingeniería genética para introducirles un marcador neutro que hiciera las colonias rojas o blancas. El marcador permitió medir la aptitud de las cepas evolucionadas respecto del ancestro al competir entre sí (**Figura 12.22*a***). La secuenciación genómica durante el experimento mostró que, con el tiempo, las mutaciones se acumulaban al azar en las líneas evolucionadas. No obstante, la aptitud relativa de dichas líneas en medio mínimo de glucosa aumentó drásticamente a lo largo de las primeras quinientas generaciones como resultado de la selección de las mutaciones beneficiosas en este nuevo ambiente (Figura 12.22*b*). La

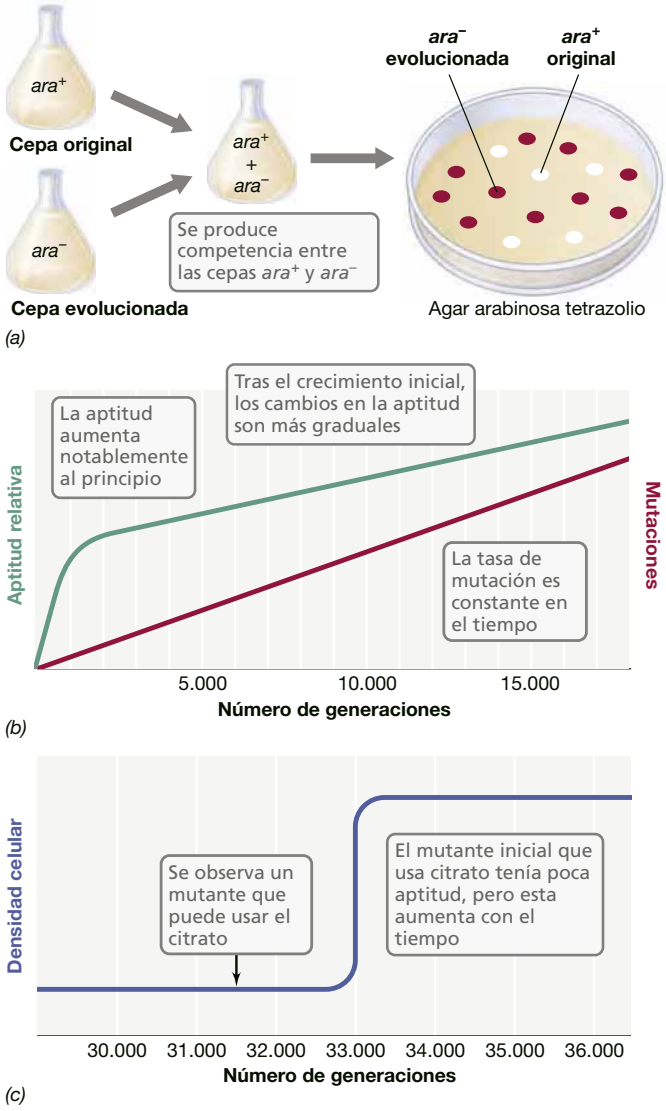


Figura 12.22 Evolución de *E. coli* a largo plazo. *(a)* En el experimento de evolución a largo plazo (LTEE, del inglés *long-term evolution experiment*) con *E. coli*, las líneas ancestral y derivadas se diferencian en una mutación que afecta a su capacidad para usar arabinosa, lo que nos permite distinguirlas por el color de la colonia cuando se cultivan en agar arabinosa tetrazolio. *(b)* Los experimentos de competencia entre la cepa ancestral y las evolucionadas muestran que la aptitud relativa en un medio mínimo de glucosa aumenta notablemente para las líneas evolucionadas. *(c)* Una de las doce líneas LTEE desarrolló la capacidad para usar citrato aerobiamente. Las células que crecen en un medio mínimo de glucosa normalmente lo hacen con poca densidad celular, pero la capacidad para usar tanto glucosa como citrato permitió a la línea de células mutantes alcanzar una densidad celular significativamente más alta. La aptitud relativa es una medida de la velocidad de crecimiento de la cepa evolucionada respecto de la cepa ancestral.

aptitud de las líneas evolucionadas siguió creciendo, si bien a una velocidad reducida, como resultado de la selección ulterior en el transcurso del experimento. Cabe destacar que, tras 31.500 generaciones, una de las líneas evolucionadas adquirió la capacidad de usar citrato como fuente de energía (Figura 12.22*c*). El citrato estaba presente como tampón de pH en los medios usados en este experimento, y no se consideraba una fuente de carbono potencial para *E. coli*, ya que la imposibilidad para crecer de forma aeróbica con citrato es un rasgo diagnóstico de *E. coli*. Sin embargo, la acumulación al azar de mutaciones en esta línea evolucionada modificó los genes preexistentes de tal manera que hizo posible el desarrollo de una nueva característica adaptativa. Las cepas divergentes pueden ahora explotar un nuevo recurso del que la población ancestral no podía disponer. Como estas células pueden usar ahora tanto citrato como glucosa, crecen a una densidad celular mucho mayor que su ancestro (Figura 12.22*c*). El hecho de que solamente una de las doce líneas paralelas haya desarrollado la capacidad para crecer con citrato demuestra la naturaleza fortuita de la evolución.

Las transiciones observadas en estos experimentos nos recuerdan la rapidez con que las presiones evolutivas pueden desplazar incluso propiedades importantes (como las estrategias metabólicas) de una población de células microbianas. En el caso de *Rhodobacter*, una mutación que es deletérea en la cepa de tipo silvestre proporciona una ventaja selectiva cuando el organismo se cultiva en el laboratorio en un ambiente de oscuridad continua. En estas nuevas condiciones, la evolución causa la pérdida de la maquinaria metabólica innecesaria de *Rhodobacter*. En el caso de *E. coli*, la acumulación de mutaciones al azar permite la acumulación de diversidad genética en una población. A lo largo de miles de generaciones, la población probó miles de millones de mutaciones diferentes y alguna combinación rara de ellas, por azar, aportó a las células la capacidad de usar el citrato como recurso. La variación natural causada por la mutación fortuita generó una nueva característica, la capacidad para usar citrato, y como resultó que el ambiente en el que las células crecían contenía ese compuesto, esta mutación proporcionó una ventaja selectiva a aquellas células. Sin citrato, estas mutaciones se seguirían produciendo a la misma velocidad. No obstante, sin un beneficio selectivo, las células que pudieran usar citrato probablemente desaparecerían de la población con el tiempo.

La especiación de los microorganismos puede ser un proceso largo

Las especies pueden poseer una gran variedad de individuos con características diferentes. Como se ha tratado en este mismo capítulo, los microorganismos pueden desarrollar características nuevas a una velocidad notable y, como consecuencia, las especies microbianas pueden ser genética y fenotípicamente diversas.

Los cambios en la secuencia se pueden usar a modo de **reloj molecular** para calcular el tiempo que hace que dos linajes se separaron. Las premisas principales del método del reloj molecular son que los cambios en los nucleótidos se acumulan en una secuencia de manera proporcional al tiempo, que dichos cambios suelen ser neutros y no interfieren con la función de los genes, y que son al azar. Los cálculos del reloj molecular son más fiables cuando se pueden calibrar con datos del registro geológico. El método del reloj molecular se ha usado para calcular cuándo divergieron organismos con un parentesco muy lejano, como los dominios *Archaea* y *Eukarya* (unos 2.800 millones de años, Figura 1.4*b*). Estos datos se han combinado con datos del registro geológico obtenidos con isótopos estables (Sección 18.9) y marcadores biológicos específicos para determinar aproximadamente cuándo pueden haber surgido los diferentes modelos metabólicos en las bacterias (Secciones 12.1, 12.2; Figura 12.1). Los cálculos del reloj molecular se han calibrado en escalas de tiempo más recientes usando simbiontes bacterianos obligados de insectos (Sección 22.9) ya que el insecto hospedador proporciona un registro fósil adecuado para datar los episodios evolutivos. A partir de estos cálculos es posible determinar que dos cepas bien caracterizadas de *E. coli*, la cepa inocua K-12 y la cepa patógena alimentaria O157:H7, se separaron hace 4,5 millones de años. De la misma manera, se calcula que dos bacterias muy próximas, *E. coli* y *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, que difieren en un 2,8 % en sus genes rRNA 16S, compartieron el último ancestro hace entre 120 y 140 millones de años. Por tanto, si bien en los microorganismos pueden aparecer nuevos rasgos rápidamente, la mayoría de las especies microbianas son antiguas, y la especiación microbiana parece ser un proceso muy largo.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cuáles son los diferentes procesos que dan lugar a la variación genética?
- ¿Qué diferencia hay entre selección y deriva genética, y cómo favorecen el cambio evolutivo?
- En el experimento de la Figura 12.21, ¿por qué pierde sus pigmentos la población celular en la oscuridad?

12.7 Evolución de los genomas microbianos

La naturaleza dinámica de los genomas microbianos se puso de manifiesto de manera espectacular cuando se secuenciaron los primeros genomas de múltiples cepas de una sola especie. La secuenciación del genoma de la cepa K-12 de *Escherichia coli* y de dos cepas patógenas mostró que solo el 39 % de sus genes era compartido por los tres genomas (**Figura 12.23**). El tamaño de los tres genomas variaba en más de un millón de pares de bases de longitud, y cada uno de ellos contenía una dotación exclusiva y variada de genes adquiridos por transferencia horizontal. Actualmente se han examinado ya de este modo los genomas de muchas especies microbianas, y se ha visto que los genes de los genomas microbianos se pueden clasificar en dos tipos: el **genoma esencial**, que son los genes compartidos por todos los miembros de una especie, y el **pangenoma**, que es el genoma esencial más otros genes que no son compartidos por todos los miembros de una especie y que a menudo se adquieren por transferencia horizontal (Figura 12.19). En el Capítulo 6 introdujimos este concepto, y a continuación analizaremos las fuerzas que rigen estos patrones de la evolución genómica.

Naturaleza dinámica del genoma de *Escherichia coli*

Se han secuenciado más de veinte genomas de diferentes cepas de *E. coli*, lo que ha proporcionado nuevos datos de la naturaleza del genoma esencial y del pangenoma. Los genomas de *E. coli* tienen, de media, 4.721 genes; hay cepas con tan solo 4.068 y otras con 5.379 genes en total. El genoma esencial está formado solamente

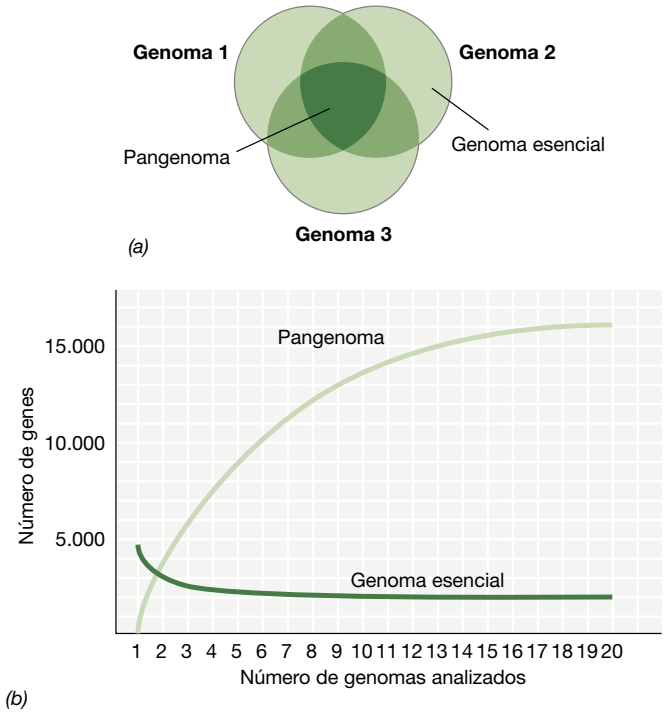


Figura 12.23 Concepto de genoma esencial y pangenoma. Los genomas microbianos son dinámicos y heterogéneos. Los tres primeros genomas secuenciados de diferentes cepas de *E. coli* solamente tenían el 39 % de sus genes en común. Se considera genoma esencial al conjunto de genes compartidos por todos los miembros de una especie (la zona verde oscuro en el apartado *(a)*, mientras que el pangenoma es el genoma esencial más el conjunto de genes exclusivos de una cepa o que se encuentran solamente en un subgrupo de cepas (en verde claro en el apartado *(a)*. El tamaño del genoma esencial y el pangenoma puede variar entre especies. En *E. coli*, el genoma esencial contiene aproximadamente 1.976 genes. *(b)* El tamaño del pangenoma en *E. coli* no es fijo, ya que cada cepa tiene un complemento exclusivo de genes adquiridos por transferencia horizontal. Datos adaptados de Touchon, M., *et al.* 2009. *PLoS Genetics 5*: (1) e1000344.

por 1.976 genes, presentes en todas las cepas, lo que significa menos de la mitad de los genes presentes en el genoma medio de *E. coli*. El tamaño del genoma esencial es de esperar que disminuya a medida que aumenta la distancia evolutiva de las cepas. Llevando esta predicción al extremo, solo de 50 a 250 genes estarían presentes en todas las especies de *Bacteria* y *Archaea*.

El número de genes observados que son exclusivos de un genoma siguió creciendo con cada genoma nuevo de *E. coli* secuenciado, de manera que hay un total de 17.838 genes exclusivos en los veinte genomas (Figura 12.23*b*). Si restamos la contribución del genoma esencial, nos quedan 15.862 genes no compartidos por todas las cepas. Un gran número de estos genes han sido claramente incorporados por transferencia horizontal, y no por el método vertical de herencia. El análisis genómico indica que la presencia de genoma esencial y pangenoma es una característica general de los genomas microbianos, si bien la cantidad relativa de genes presentes en cada grupo puede variar entre especies. El gran cambio de tamaño y contenido del genoma entre cepas de una misma especie indica que los genomas microbianos son muy dinámicos; es decir, los genomas pueden contraerse o ampliarse de manera relativamente rápida a lo largo del tiempo. La existencia de un pangenoma sugiere que las bacterias y las arqueas están constantemente recogiendo información genética de su ambiente mediante transferencia horizontal.

La naturaleza dinámica de los genomas microbianos es una manifestación de los mecanismos evolutivos que ya hemos descrito (Sección 12.6). Las variaciones entre genomas surgen a causa de las fuerzas de mutación y recombinación, y la dinámica evolutiva de los genomas está dirigida por la selección y la deriva genética. Además, las pruebas que demuestran la transferencia horizontal son numerosas en los genomas microbianos. Los modelos del intercambio genético parecen estar dirigidos por la distancia filogenética, con frecuencias de intercambio genético entre genomas que disminuyen a medida que aumenta la distancia filogenética. En el genoma esencial de *E. coli*, la transferencia horizontal tiene lugar en su mayor parte entre cepas próximas, y se produce por sustitución de segmentos de DNA homólogos de entre cincuenta y quinientos pares de bases. Aunque muchos procesos de transferencia horizontal se deben a sustituciones homólogas, las inserciones resultantes de las recombinaciones no homólogas también son habituales en los genomas microbianos. El análisis comparativo de los genomas de *E. coli* indica que las inserciones tienen una longitud media de cuatro genes, pero en algunos casos pueden tener diez o más genes.

Deleciones de genes en los genomas microbianos

Las deleciones tienen una función importante en la dinámica de los genomas microbianos (véase Explorando el mundo microbiano, «La hipótesis de la reina negra»). En los genomas microbianos, las deleciones ocurren con una frecuencia mucho mayor que las inserciones, y esta tendencia hacia las deleciones es la fuerza que mantiene el tamaño reducido de los genomas microbianos. La selección es la fuerza principal que contrarresta el efecto de las deleciones al conservar aquellos genes que proporcionan a la célula un beneficio de aptitud. El material no esencial y no funcional se elimina a lo largo del tiempo evolutivo, razón por la cual los genomas microbianos están fuertemente compactados y contienen relativamente pocas secuencias no codificantes. Cabe esperar que la mayor parte de los genes adquiridos por transferencia horizontal, como en general la mayoría de las mutaciones, sean neutros o deletéreos para la célula. Por tanto, es probable que se vayan adquiriendo nuevos genes del ambiente y aquellos que no aportan un beneficio de aptitud sean eliminados del genoma con el tiempo a causa de la implacable acumulación de deleciones. Además, la deriva genética (Figura 12.20) puede impulsar los procesos de acumulación rápida de deleciones cuando la población es pequeña o cuando las poblaciones atraviesan un cuello de botella. Se cree que las deleciones son la causa de los genomas extremadamente pequeños encontrados en muchos simbiontes y patógenos intracelulares estrictos (Secciones 6.4 y 22.9).

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué diferencia hay entre el genoma esencial y el pangenoma de una especie determinada?
- ¿Qué tipo de recombinación podría tener más impacto en el genoma esencial?
- ¿Qué efecto tienen las deleciones en la evolución de los genomas microbianos?

EXPLORANDO EL MUNDO MICROBIANO

La hipótesis de la reina negra

Se suele pensar, equivocadamente, que la evolución hace que, con el tiempo, los organismos aumentan de manera inevitable su complejidad. En realidad, la evolución es una cuestión de tira y afloja. Los cambios en la aptitud dependen completamente del ambiente, y en algunos ambientes la aptitud puede mejorar perdiendo genes específicos, más que adquiriéndolos.

La *hipótesis de la reina negra*[1] plantea un mecanismo y una explicación para esta pérdida de funciones cuyo resultado final es el desarrollo de la dependencia mutua en las comunidades microbianas. El término *reina negra* se refiere al juego de cartas llamado Corazones de la baraja francesa, en el que hay dos estrategias ganadoras. Una de ellas es evitar quedarse con la reina de picas. En esta estrategia, cada jugador trata de perder tantas bazas como sea posible para no verse forzado a llevarse la reina negra. La segunda estrategia ganadora es ganar todas las bazas quedándose todos los triunfos, incluida la reina negra. La hipótesis de la reina negra recoge estas estrategias del juego de naipes al proponer que algunos organismos optimizan la aptitud (es decir, «ganan») mediante la pérdida selectiva de genes específicos, mientras otros lo hacen quedándoselos todos.

La hipótesis de la reina negra propone que algunos genes microbianos codifican productos extracelulares, como metabolitos o enzimas, que pueden ser utilizados por todos los miembros de la comunidad o por la mayoría. Si un organismo permanece en la comunidad, la selección se relajará con aquellos genes que codifiquen la síntesis de productos que ya son aportados por otros miembros de dicha comunidad. La presencia de estos productos compartidos convierte a los genes con funciones similares en no esenciales para algunos miembros de la comunidad (**Figura 1**) . La tendencia de las mutaciones hacia las deleciones puede hacer que estos genes se pierdan del genoma (Sección 12.7).

La aptitud de los organismos que pierden funciones y desarrollan dependencias aumentará en la comunidad, ya que estos organismos dejan de asumir los costos de producción y serán competitivos siempre y cuando permanezcan en la comunidad, pero puede que sean incapaces de crecer si se separan de la comunidad en la que han coevolucionado. De esta forma, en las comunidades microbianas se van acumulando las dependencias mutuas a lo largo del tiempo. La hipótesis de la reina negra también explica la observación nada trivial de que algunos microorganismos solo pueden crecer en el laboratorio si están en cocultivo con una o más especies de su ambiente.

A diferencia de la estrategia de pérdida de genes, los organismos que conservan todas las funciones esenciales (los que ganan todas las bazas en la analogía del juego de corazones) soportan los costos de mantener todas las funciones génicas, lo que los deja en situación de desventaja respecto a competidores mutuamente dependientes cuando compiten en la comunidad nativa. Sin embargo, las células que mantienen su capacidad para crecer independientemente siguen teniendo una estrategia ganadora porque, a diferencia de sus competidores mutuamente dependientes, ellas conservan la opción de dispersarse a nuevos hábitats y crecer fuera de la comunidad nativa.

Por último, además de describir cómo pueden producirse las interdependencias en las comunidades microbianas, la hipótesis de la reina negra también nos recuerda que, en realidad, dichas comunidades están muy interconectadas. En capítulos posteriores veremos que existen varias herramientas moleculares para desentrañar esta complejidad y descubrir la diversidad de la comunidad y su potencial genético y metabólico.

[1]Morris J. J., R. E. Lenski y E. R. Zinser 2012. The Black Queen Hypothesis: Evolution of dependencies through adaptive gene loss. *mBio 3*: e00036-12.

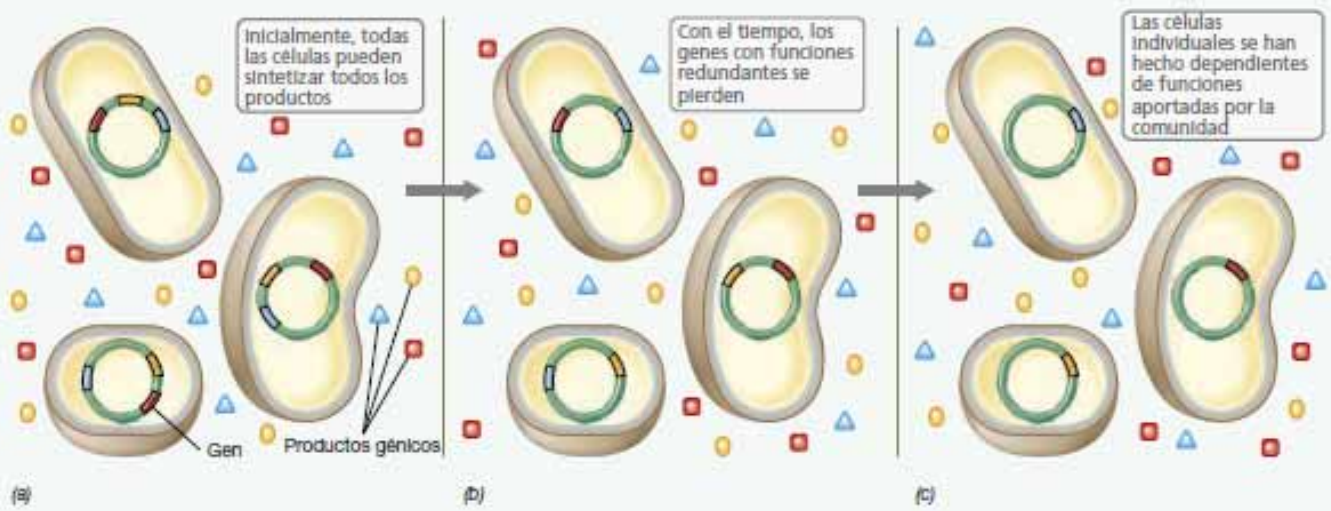


Figura 1 **La hipótesis de la reina negra y la evolución de la dependencia en las comunidades microbianas.** *(a)* Tres especies de una comunidad tienen cada una tres genes diferentes que sintetizan productos extracelulares que benefician a la comunidad en su conjunto (cada gen y su producto se muestran del mismo color). *(b)* Con el tiempo, las mutaciones al azar hacen que se pierdan funciones de los genomas. *(c)* Siempre que algunos miembros de la comunidad sigan sintetizando cada producto, no habrá costo de aptitud cuando una de las especies pierda un gen individual. Con el tiempo, las tres especies se convierten en mutuamente dependientes.

IV • Sistemática microbiana

La **sistemática** es el estudio de la diversidad de los organismos y sus relaciones; enlaza la filogenia con la **taxonomía**, la ciencia que caracteriza, nombra y clasifica a los organismos siguiendo criterios definidos. La taxonomía bacteriana se ha centrado tradicionalmente en aspectos prácticos de identificación y descripción, actividades que están basadas en gran medida en la comparación de propiedades visibles (fenotípicas). En la actualidad, el uso cada vez mayor de la información genética, especialmente de los datos de las secuencias de DNA, permite que cada vez más la taxonomía refleje también las relaciones filogenéticas.

La taxonomía bacteriana ha cambiado mucho en las últimas décadas, al adoptar una combinación de métodos para la identificación de las bacterias y para la descripción de nuevas especies. Este *enfoque polifásico* de la taxonomía utiliza tres clases de métodos — *fenotípico, genotípico* y *filogenético*— para la identificación y la descripción de las bacterias. El análisis fenotípico examina las características morfológicas, metabólicas, fisiológicas y químicas de la célula; el análisis genotípico, por otra parte, tiene en cuenta las características del genoma. Estos dos tipos de análisis categorizan a los organismos en función de sus semejanzas, y se ven complementados por el análisis filogenético, que trata de situar a los organismos dentro de un marco evolutivo utilizando datos de las secuencias moleculares (Secciones 12.4 y 12.5).

12.8 El concepto de especie en microbiología

En la actualidad no existe un concepto aceptado universalmente de **especie** para los microorganismos; en microbiología se alude a ello como el «problema del concepto de especie». La especie es la unidad fundamental de diversidad biológica, y la forma de distinguir y clasificar las especies en microbiología influye, en gran medida, en nuestra capacidad para explicar la diversidad del mundo microbiano. La sistemática microbiana combina datos fenotípicos y genotípicos, además de filogenéticos basados en las secuencias, en un marco de normas y directrices, para describir e identificar microorganismos en un ámbito taxonómico, pero la cuestión de qué constituye realmente una especie sigue siendo problemática.

Definición actual de especie microbiana

Desde un punto de vista taxonómico, todos los miembros de una especie deberían ser genética y fenotípicamente coherentes, y sus características deberían ser distintas de las descritas para otras especies. Además, una especie debería ser **monofilética**, es decir, las cepas que la componen deberían compartir un antepasado reciente que excluya otras especies. Durante la mayor parte de la historia de la microbiología fue imposible resolver las relaciones filogenéticas, de modo que las descripciones de las especies no tenían en cuenta la historia evolutiva de un microorganismo. El reconocimiento de que las secuencias moleculares son un registro de la historia evolutiva supuso una crisis en la sistemática microbiana, ya que fue necesario reconciliar las descripciones más clásicas de las especies con los datos obtenidos a partir de los análisis filogenéticos. Además, el descubrimiento de que los genomas microbianos son muy heterogéneos y contienen muchos genes adquiridos por transferencia horizontal supone un desafío a cualquier definición de especie microbiana.

El concepto que prevalece para describir las especies microbianas es un *concepto filogenético de especie*. El concepto de especie filogenética define una especie microbiana de manera pragmática como un grupo de cepas que comparten ciertos rasgos diagnósticos y que son coherentes genéticamente y tienen un antepasado común reciente exclusivo del grupo. Este concepto de especie requiere que una mayoría de los genes de la especie tengan filogenias congruentes y tengan un antepasado común reciente. No está basado en un modelo evolutivo de especiación, de manera que las especies así descritas no reflejan necesariamente unidades significativas en términos de procesos ecológicos o evolutivos. El concepto filogenético de especie se desarrolló para facilitar la taxonomía, y la justificación de especie que se deriva de él está basada en gran medida en el juicio experto de los taxónomos.

Bajo el concepto de especie filogenética para *Bacteria* y *Archaea*, se define la especie desde el punto de vista operativo como un grupo de cepas que tienen un alto grado de semejanza en muchas características y un antepasado común para sus genes de rRNA 16S. La caracterización de las especies hace uso de un enfoque polifásico que tiene en cuenta toda una serie de características diferentes para realizar evaluaciones taxonómicas. Entre las características que se consideran más importantes para identificar una especie se encuentran la semejanza genómica basada en la hibridación del DNA y la comparación de las secuencias de SSU rRNA.

El grado de **hibridación DNA-DNA** entre los genomas de dos organismos (**Figura 12.24**) proporciona una medida de su semejanza genómica. En la Sección 11.2 tratábamos de la hibridación de ácidos nucleicos. En un experimento de hibridación, la *sonda de DNA* obtenida de un organismo se marca con un marcador fluorescente o radiactivo, se corta en fragmentos pequeños y se calienta para separar las dos cadenas de DNA. A continuación la sonda se añade al *DNA problema* de un segundo organismo, también monocatenario y fragmentado, y la mezcla se enfría para permitir que ambas cadenas se unan. La semejanza genómica entre los dos organismos se calcula como porcentaje de sonda que se hibrida al problema respecto a un control (que es la sonda de DNA hibridada al DNA del mismo organismo).

Un valor de hibridación genómica del 70 % o menos y una diferencia del 3 % o más entre secuencias del gen de rRNA 16S (Secciones 12.3 y 12.4) de dos organismos se considera una prueba de que son especies distintas. Los datos experimentales sugieren que estos criterios son válidos, fiables y consistentes para identificar nuevas especies microbianas con fines taxonómicos (**Figura 12.25**). Teniendo en cuenta el concepto de especie filogenética, se han reconocido formalmente unas 10.000 especies de bacterias y arqueas. Los criterios que se deberían seguir para definir un género, el siguiente taxón superior (véase la Tabla 12.3), son más cuestión de interpretación, pero normalmente los géneros diferentes tienen más del 5 % de disparidad

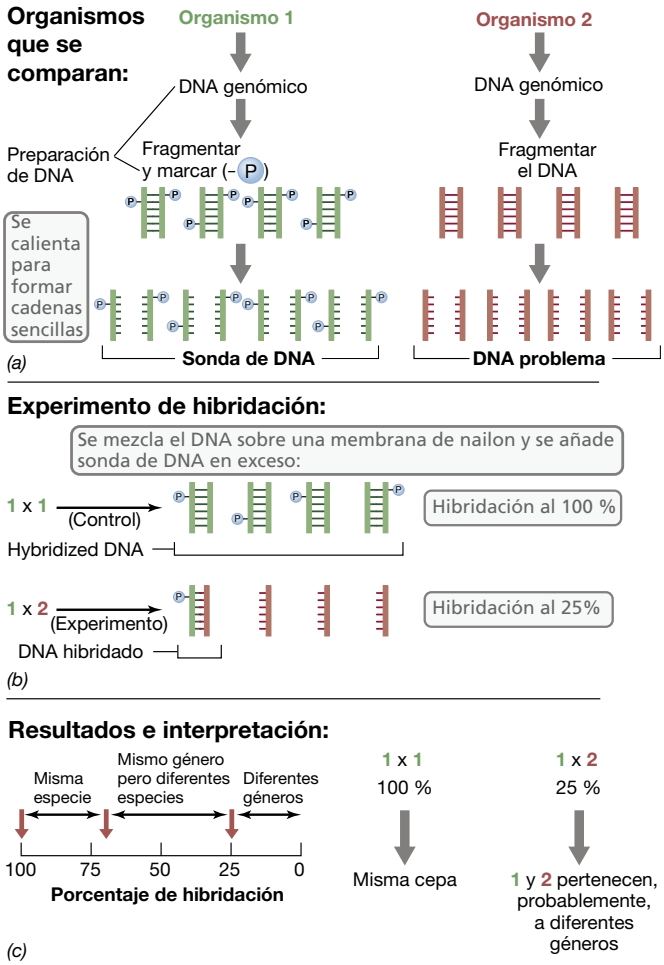


Figura 12.24 La hibridación genómica como herramienta taxonómica. *(a)* Se aísla el DNA genómico de los organismos que se va a comparar y después se fragmenta y se desnaturaliza. Se prepara una sonda de DNA del organismo 1 fragmentando, desnaturalizando y marcando el DNA (aquí se muestra como fosfato radiactivo). *(b)* El DNA problema de cada genoma, fragmentado y monocatenario, se inmoviliza sobre una membrana y se hibrida con la sonda de DNA marcada del organismo 1. Se mide la radiactividad del DNA hibridado. *(c)* La radiactividad del control (DNA del organismo 1 hibridado consigo mismo) se toma como valor de hibridación 100 %.

en sus secuencias génicas de rRNA 16S. No existen criterios consensuados para definir rangos taxonómicos por encima del género.

¿Cuántas especies microbianas hay?

El mundo microbiano que observamos hoy es el resultado de casi 4.000 millones de años de evolución (Figura 12.13). Los taxónomos microbianos coinciden en que actualmente no se puede hacer un cálculo firme del número de especies, en parte por la incertidumbre en la definición de especie. No obstante, también están de acuerdo en que en el análisis final este número será muy alto. Debido a la dificultad para visualizar y caracterizar microorganismos, solo se han nombrado unas 10.000 especies de bacterias y arqueas mediante el concepto taxonómico de especie. Por ahora es imposible calcular con exactitud el número total de especies bacterianas y arqueanas de la Tierra, pero es incuestionable que su diversidad es más alta que la de

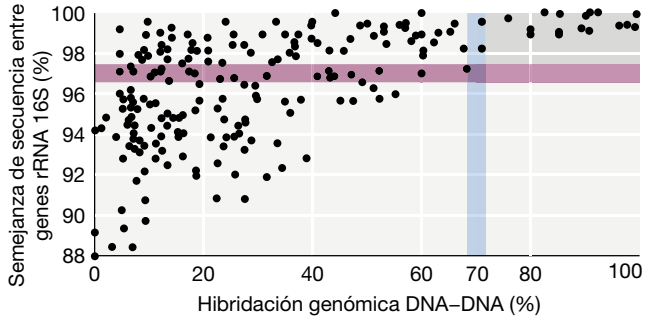


Figura 12.25 Relación entre la semejanza de secuencia de genes rRNA 16S y la hibridación genómica DNA–DNA entre pares de organismos. Se comparan pares de organismos considerando la semejanza entre sus rRNA 16S y los valores de hibridación genómica. Los puntos de la región superior derecha representan pares de cepas que comparten más del 97 % de la secuencia del rRNA 16S y tienen valores de hibridación genómica por encima del 70 % ; por tanto, es probable que sean miembros de la misma especie. Datos adaptados de Rosselló-Mora, R. y R. Amann. 2001. *FEMS Microbiol. Revs. 25:* 39-67, y Stackebrandt, E. y J. Ebers. 2006. *Microbiology Today. 11:* 153-155.

UNIDAD 3

todas las especies vegetales y animales juntas, y la cantidad de especies totales es probable que sea de varios órdenes de magnitud mayor que las 10.000 ya caracterizadas.

Cada ambiente de la Tierra contiene una comunidad variada de microorganismos. Los análisis de las secuencias de los genes de rRNA 16S indican que pueden coexistir tantas como 10.000 especies diferentes en un solo gramo de suelo. Casi todas las plantas y animales tienen cierto número de microorganismos asociados exclusivos, ya sea como patógenos o como comensales en su superficie o en sus estructuras internas. Por tanto, los microorganismos no solo son las formas de vida más antiguas en nuestro planeta, sino también las más diversas.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué diferencia hay entre taxonomía y filogenia?
- Describa algunos criterios fundamentales del concepto filogenético de especie utilizados para determinar si dos cepas pertenecen a la misma especie.
- ¿A cuántas especies de bacterias y arqueas se les ha dado un nombre? ¿Cuántas es probable que existan?

12.9 Métodos taxonómicos en sistemática

Para identificar y nombrar especies de bacterias y arqueas de acuerdo con el concepto de especie taxonómica aceptado actualmente, se usa un *estudio polifásico*, es decir, un estudio que hace uso de muchos métodos diferentes combinados. En esta sección describiremos los métodos habituales para caracterizar especies microbianas, y principalmente procariotas.

Análisis de secuencias génicas

Como ya hemos visto, las secuencias génicas se determinan normalmente a partir de fragmentos de DNA amplificados por PCR, y las secuencias se analizan mediante análisis

filogenéticos (Sección 12.5). No obstante, las secuencias de los genes de rRNA de las subunidades pequeñas del ribosoma están muy conservadas y, si bien ofrecen una valiosa información filogenética, no siempre resultan útiles para distinguir especies estrechamente emparentadas. Por otra parte, otros genes muy conservados como *recA*, que codifica una proteína recombinasa, y *gyrB*, que codifica una girasa del DNA, pueden ser útiles para distinguir bacterias a nivel de especie. Las secuencias de DNA de los genes que codifican proteínas acumulan mutaciones con más rapidez que los genes del rRNA; por esta razón, las secuencias de estos genes pueden distinguir especies bacterianas que no se pueden resolver simplemente por análisis de secuencias de genes de rRNA (Figura 12.26).

Análisis de secuencias multilocus

El **análisis multilocus de secuencias (MLST, del inglés *multilocus sequence typing*)** es un método en el que se secuencian varios genes constitutivos diferentes de varios organismos emparentados, y las secuencias se usan colectivamente para distinguir a los organismos. Los genes constitutivos codifican funciones esenciales de las células y siempre están localizados en el cromosoma, no en plásmidos. Para cada gen se amplifica y se secuencia un fragmento de aproximadamente 450 pares de bases. A los alelos de cada gen (variantes que difieren en un nucleótido como mínimo) se les asigna un número. A continuación, a la cepa que se está estudiando se le asigna un perfil alélico, o tipificación de secuencia multilocus, que consiste en una serie de números que representan su combinación particular de alelos (Figura 12.27). En el MLST, las cepas con secuencia idéntica para un gen determinado tienen el mismo número alélico para dicho gen, y dos cepas con secuencias iguales para todos los genes tienen el mismo perfil alélico (y, según este método, se considerarían idénticas). El grado de parentesco entre los perfiles alélicos se expresa en un dendrograma de distancias genéticas que varían de 0 (cuando las cepas son idénticas) a 1 (si las cepas están emparentadas lejanamente, o no lo están).

El MLST tiene el suficiente poder de resolución para distinguir incluso entre cepas muy estrechamente emparentadas de una especie determinada. En la práctica, las cepas se pueden discriminar por el cambio en un solo nucleótido en uno solo de los genes analizados. No obstante, esta técnica no resulta útil para comparar organismos por encima del nivel de especie; su resolución es demasiado sensible para aportar información que tenga sentido para agrupar taxones de orden superior como géneros o familias.

El MLST ha encontrado su mayor uso en microbiología clínica, donde se ha usado para diferenciar cepas de diversos patógenos. Esto es importante, porque algunas cepas de una misma especie —por ejemplo la K-12 de *Escherichia coli*— pueden ser inocuas, mientras otras como la cepa O157:H7, pueden causar infecciones graves e incluso mortales (↻ Sección 31.12). El MLST también se usa mucho en estudios epidemiológicos para trazar una cepa virulenta de una bacteria patógena cuando se desplaza por una población, y en estudios ambientales para definir la distribución geográfica de las cepas.

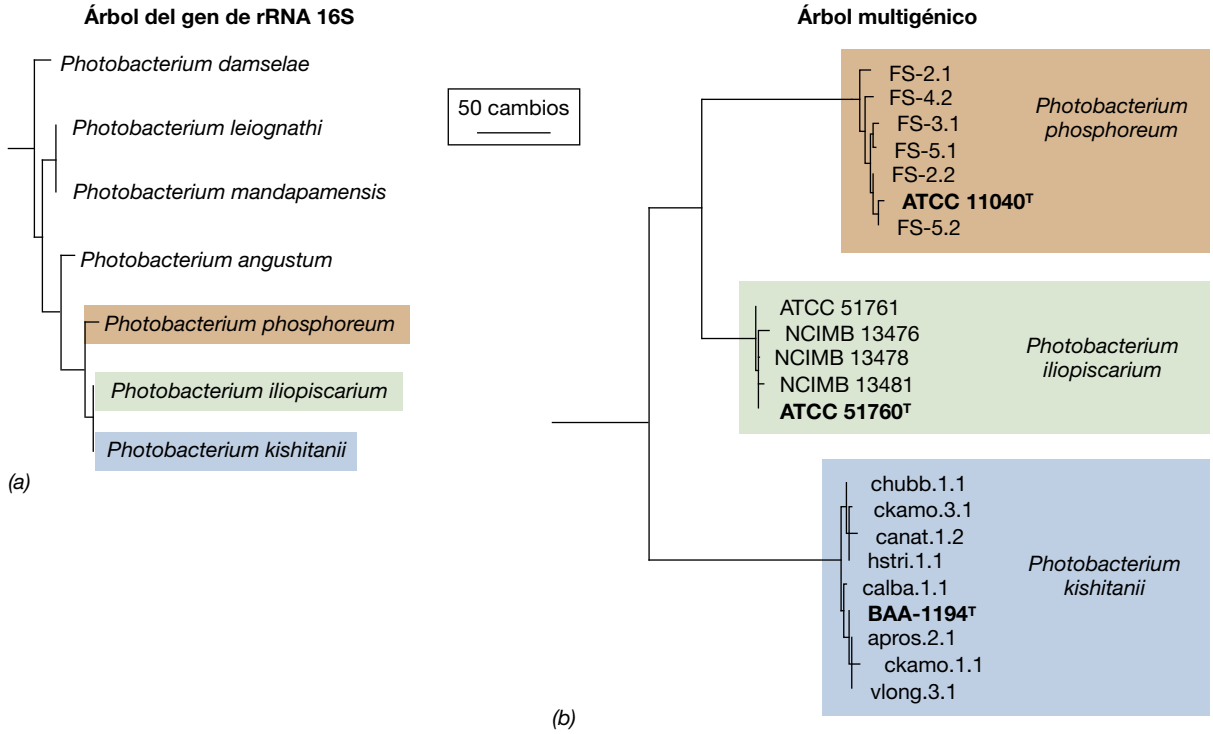


Figura 12.26 Análisis filogenético multigénico. Se muestra una filogenia para especies del género *Photobacterium*. *(a)* Árbol génico de rRNA 16S en el que se observan las especies poco resueltas. *(b)* Análisis multigénico basado en el análisis combinado del gen rRNA 16S y los genes *gyrB* y *luxABFE* en 21 aislados de tres especies de *Photobacterium*. El análisis multigénico separa claramente las cepas en tres especies filogenéticas distintas, *P. phosphoreum*, *P. iliopiscarium* y *P. kishitanii*. La escala muestra la longitud de rama igual a un total de 50 nucleótidos. La cepa tipo de cada especie está destacada en negrita. (Todas las abreviaciones son parte de designaciones de cepas.) Análisis filogenéticos cortesía de Tory Hendy y Paul V. Dunlap, Universidad de Michigan.

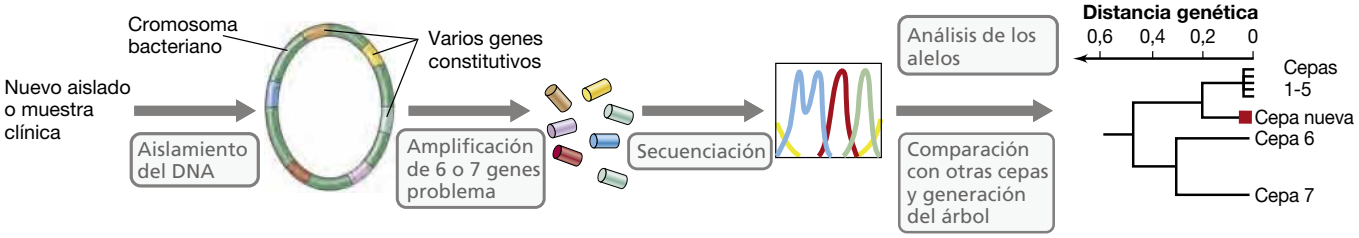


Figura 12.27 Análisis multilocus de secuencia. Se muestran los pasos del MLST para generar un fenograma de semejanza. Las cepas de la 1 a la 5 son prácticamente idénticas, mientras que las cepas 6 y 7 son diferentes entre sí y diferentes de las cepas 1 a 5.

Huella genómica

La obtención de la huella genómica es un método rápido para evaluar polimorfismos entre cepas. Las huellas genómicas suelen ser fragmentos de DNA generados a partir de genes individuales o genomas completos. A menudo la secuenciación de los genes es posible gracias a la amplificación de fragmentos génicos por PCR. Es habitual caracterizar secuencias de genes SSU rRNA, pero se pueden usar diversos genes para la clasificación de especies.

El **ribotipado** es un método de obtención de huella genómica basado en la localización de los genes SSU rRNA en fragmentos del genoma. En este método, se digiere el DNA genómico de un organismo mediante enzimas de restricción (↬ Sección 11.1) y los fragmentos se separan por electroforesis en gel, se transfieren a una membrana de nailon y se marcan con una sonda de SSU rRNA (**Figura 12.28**). Las especies microbianas diferentes pueden tener distinto número de operones rRNA, desde uno hasta quince, y el número de operones de rRNA presente en un genoma microbiano es una característica conservada en todas las cepas de una especie. Además, los cambios en la secuencia genómica entre cepas pueden hacer que las endonucleasas corten en puntos diferentes, con la consiguiente variación en la longitud de los segmentos de restricción que se observan. Por tanto, el tamaño y el número de bandas detectadas generan un patrón específico, una especie de huella genómica llamada *ribotipo*, y este patrón se puede comparar con patrones de organismos de referencia en una base de datos. El ribotipo de un organismo concreto puede ser exclusivo y diagnóstico, lo que permite una rápida identificación de especies diferentes e incluso de cepas diferentes de una misma especie. Por ello, el ribotipo tiene muchas aplicaciones en el diagnóstico clínico y en análisis microbianos de alimentos, agua y bebidas.



Figura 12.28 Ribotipado. Ribotipo de cuatro bacterias del ácido láctico diferentes. Se tomó DNA de una cepa de cada bacteria, se digirió en fragmentos mediante enzimas de restricción, se separaron los fragmentos mediante electroforesis en gel y se les aplicó una sonda del gen rRNA 16S. Las variaciones en la posición y la intensidad de las bandas son importantes para la identificación.

Otros métodos de obtención de la huella genómica que se usan de manera habitual son la *PCR de secuencias palindrómicas extragénicas repetitivas* (*rep-PCR*, del inglés *repetitive extragenic palindromic* PCR) y el *polimorfismo de la longitud de fragmentos amplificados* (*AFLP*, de inglés *amplified fragment length polymorphism*). El método rep-PCR se basa en la presencia de elementos repetitivos de DNA muy conservados intercalados al azar en el cromosoma bacteriano. El número y la posición de estos elementos difieren entre las cepas de una especie. Los cebadores oligonucleotídicos diseñados para ser complementarios de estos elementos permiten la amplificación por PCR de fragmentos genómicos que se encuentran entre los elementos repetidos. Estos productos de PCR se pueden visualizar mediante electroforesis en gel que muestra un patrón de bandas que se puede usar como huella genómica (**Figura 12.29**). El AFLP se basa en la digestión del DNA genómico con una o dos enzimas de restricción y la amplificación selectiva por PCR de los fragmentos resultantes, que después se separan mediante electroforesis en gel de agarosa. Se generan patrones de bandas específicos de cada cepa, parecidos a los generados por

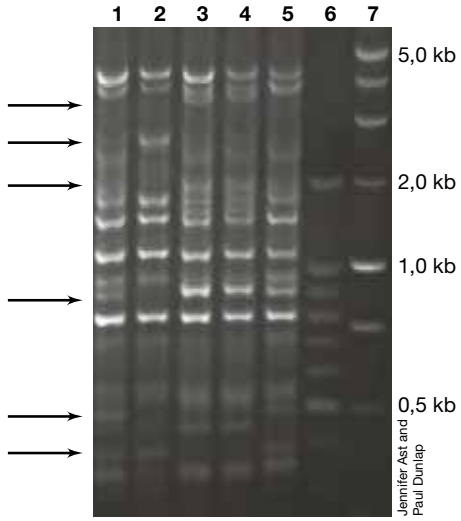


Figura 12.29 Huella de DNA con rep-PCR. Se amplificaron por PCR los DNA genómicos de cinco cepas (1 a 5) de una sola especie de bacterias usando cebadores específicos llamados *rep* (secuencias palindrómicas extragénicas repetitivas); los productos de la PCR se separaron en un gel de agarosa en función de su tamaño para generar huellas de DNA. Las flechas indican algunas de las bandas diferentes. Las carreras 6 y 7 son marcadores de 100 bp y 1 kbp, respectivamente, usados para calcular el tamaño de los fragmentos de DNA.

rep-PCR u otros métodos de obtención de huella, en los que el gran número de bandas produce un alto grado de discriminación entre cepas de una misma especie.

Análisis multigénicos y de genomas completos

El uso de múltiples genes y de genomas completos para identificar y describir bacterias es cada vez más habitual, a medida que la capacidad para secuenciar DNA aumenta y los costos bajan (↻ Sección 6.2). Actualmente se puede realizar una vasta gama de análisis de secuencia en genomas microbianos enteros, que generan nuevos datos sobre fisiología y evolución microbiana. Estos análisis han proporcionado importantes datos sobre el gran papel que la transferencia horizontal de genes ha desempeñado en la evolución microbiana y en la naturaleza notablemente dinámica de los genomas microbianos (Sección 12.7). Los ortólogos compartidos, es decir, los genes que son homólogos y comparten la misma función (Sección 12.5) se pueden alinear y examinar usando métodos filogenéticos y se puede determinar la identidad nucleotídica media de estos genes. El análisis comparativo del contenido génico (presencia o ausencia de genes) y la *sintenia* (el orden de los genes en el genoma), así como el contenido en GC del genoma aportan datos adicionales sobre las relaciones entre cepas. Las secuencias de genomas completos también pueden utilizarse para la reconstrucción metabólica y la caracterización de rutas genéticas. Se han desarrollado diversos métodos de genómica comparativa y de genómica de poblaciones (Capítulo 6) para su uso en el análisis taxonómico.

Análisis fenotípico

Las características observables —el **fenotipo**— de una bacteria nos dan muchos datos que se pueden usar para diferenciar especies. Normalmente, bien para describir una nueva especie o para identificar una bacteria, se determinan varios de esos datos para el organismo de interés. Después, se comparan los resultados con fenotipos de organismos conocidos, ya sea examinándolos paralelamente a los organismos desconocidos, o a partir de información publicada. Las características específicas utilizadas dependen de la clase de organismo, y la elección de características que se analizan puede ser consecuencia del propósito del investigador, o de que se tenga ya un conocimiento considerable del grupo bacteriano al que es probable que pertenezca el nuevo organismo. Por ejemplo, en casos aplicados, como la microbiología de diagnóstico clínico, donde la identificación puede ser un fin en sí misma y el tiempo es vital, se suele usar un subconjunto bien definido de características que discrimina rápidamente entre varias posibilidades. En la **Tabla 12.2** se enumeran las categorías generales y se dan ejemplos de algunas características fenotípicas utilizadas en las identificaciones y las descripciones de las especies; a continuación analizaremos estos rasgos.

Los tipos y las proporciones de ácidos grasos presentes en los lípidos de la membrana citoplasmática y los lípidos de la membrana externa de las bacterias gramnegativas son características fenotípicas utilizadas con frecuencia en análisis taxonómicos. La técnica para identificar estos ácidos grasos se llama de manera informal **FAME**, a partir del nombre en inglés para éster metílico de ácidos grasos (*fatty acid methy ester*), y su uso está muy extendido en los laboratorios clínicos, de salud pública y de inspección alimentaria y de aguas, en los que rutinariamente hay que identificar patógenos. La composición de ácidos grasos de las bacterias varía de una especie a otra en cuanto a longitud de cadena y en la presencia o ausencia de dobles enlaces, anillos, cadenas ramificadas o grupos hidroxilo (**Figura 12.30**). Para los análisis, los ácidos grasos extraídos del hidrolizado de células de un cultivo en condiciones estándar se volatilizan y se analizan por cromatografía de gases. A continuación se compara el cromatograma que muestra los tipos y las cantidades de ácidos grasos de la bacteria en cuestión, con una base de datos de perfiles de ácidos grasos de miles de bacterias de referencia cultivadas en las mismas condiciones.

El perfil de ácidos grasos de un organismo, así como otros muchos rasgos fenotípicos, puede variar en función de la temperatura, la fase de crecimiento (exponencial o estacionaria) y el medio de cultivo. Por tanto, para que los resultados sean válidos, es necesario cultivar el organismo problema en un medio específico y a una temperatura específica. Obviamente, para muchos organismos esto es imposible, lo cual limita la aplicabilidad del análisis FAME. Además, el grado de variación de los perfiles FAME entre cepas de una especie, una consideración necesaria en estudios para discriminar entre especies, aún no está bien documentado.

Tabla 12.2 Algunas características fenotípicas de valor taxonómico

Categoría	*Características*
Morfología	Morfología de las colonias; reacción de Gram; tamaño y forma de las células; tipo de flagelación; presencia de esporas, cuerpos de inclusión (PHB[a], gránulos de o polifosfato o glicógeno, vesículas de gas, magnetosomas); cápsulas, capas S o capas de mucosa; tallos o pedúnculos; formación de cuerpos fructíferos
Motilidad	Sin motilidad; motilidad por deslizamiento; motilidad natatoria (flagelar); motilidad en enjambre; motilidad por vesículas de gas
Metabolismo	Mecanismo de conservación de energía (fototrofia, quimioorganotrofia, quimiolitotrofia), utilización de compuestos individuales de carbono, nitrógeno o azufre; fermentación de azúcares; fijación de nitrógeno; necesidad de factores de crecimiento
Fisiología	Márgenes de temperatura, pH y sales para el crecimiento; respuesta al oxígeno (aerobios, facultativos, anaerobios); presencia de catalasa o de oxidasa, producción de enzimas extracelulares
Química de los lípidos celulares	Ácidos grasos[b]; lípidos polares; quinonas respiratorias
Química de la pared celular	Presencia o ausencia de peptidoglicano; composición de aminoácidos de los entrecruzamientos; presencia o ausencia de puentes de entrecruzamiento
Otras características	Pigmentos; luminiscencia; sensibilidad a antibióticos; serotipo; producción de compuestos exclusivos, como antibióticos

[a]PHB, ácido poli-β-hidroxibutírico (↻ Sección 2.14)
[b]Figura 12.30

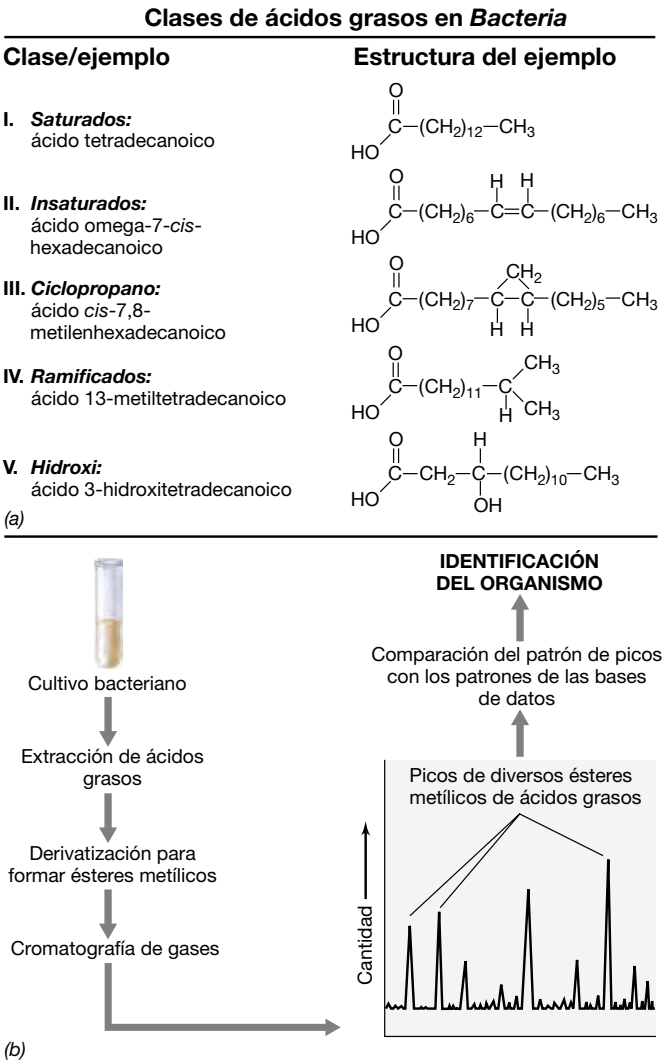


Figura 12.30 Análisis de ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME) en la identificación bacteriana. *(a)* Clases de ácidos grasos en *Bacteria*. De cada clase se da un solo ejemplo, pero en realidad se conocen más de doscientos ácidos grasos de origen bacteriano distintos estructuralmente. Un éster metílico contiene un grupo metilo (CH_3) en lugar del protón del grupo carboxílico (COOH) del ácido graso. *(b)* Procedimiento. Cada pico del cromatograma es debido a un éster metílico de ácido graso concreto, y la altura del pico es proporcional a su cantidad.

Generalmente, las características fenotípicas de las cepas dependen en gran medida de las condiciones de cultivo, y los fenotipos observados en el ambiente del laboratorio pueden no representar exactamente los fenotipos presentes en el medio natural; así pues, hay que tener cuidado al usar las características fenotípicas en los análisis sistemáticos. El valor sistemático de las diferentes características fenotípicas puede variar según los grupos que se estén analizando.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué clase de genes se usan en los análisis MLST?
- ¿En qué se diferencia el ribotipado de la rep-PCR?
- ¿Qué es un análisis FAME?

12.10 Clasificación y nomenclatura

Terminamos nuestro tratamiento de la evolución y la sistemática microbianas con una breve descripción de la ciencia de la *taxonomía*, mediante la cual se clasifican y nombran las especies de *Bacteria* y de *Archaea*. También hablaremos de las colecciones de cultivos, que son almacenes de depósito científico de cultivos microbianos vivos; describiremos algunos recursos taxonómicos fundamentales disponibles para la microbiología, y citaremos el procedimiento para nombrar especies microbianas nuevas. La descripción formal de una nueva especie microbiana y el depósito de los cultivos en una colección de cultivos constituyen una base importante para la sistemática procariótica.

Taxonomía y descripción de especies nuevas

La *clasificación* es la organización de los organismos en grupos cada vez más inclusivos según la semejanza fenotípica o las relaciones evolutivas. Una especie está constituida por una o varias cepas, y las especies similares se agrupan en géneros. Los géneros similares se agrupan en familias, las familias en órdenes, los órdenes en clases hasta llegar al dominio, el taxón de nivel más alto basado en un conjunto de información fenotípica y genotípica. Este esquema jerárquico se ilustra en la Tabla 12.3.

La *nomenclatura* es la forma de nombrar a los organismos, y sigue el **sistema binomial** de nomenclatura diseñado por el médico y botánico sueco Carl Linneo (1707-1778) y utilizado en todos los ámbitos de la biología; los organismos se nombran mediante el nombre del género y el adjetivo de la especie. Los nombres son en latín o en derivaciones de griego latinizado; a menudo son descriptivos de alguna propiedad fundamental del organismo y se escriben en cursiva. Al clasificar los organismos en grupos y nombrarlos, ordenamos el mundo microbiano natural y hacemos posible la comunicación eficaz de todos los aspectos de organismos particulares como el comportamiento, la ecología, la fisiología, la patogenia o las relaciones evolutivas. La creación de nombres nuevos debe seguir las reglas descritas en el *Código Internacional de Nomenclatura de las Bacterias*. Dicho código representa el marco formal mediante el cual las bacterias y las arqueas se deben nombrar oficialmente y los procedimientos por los cuales se pueden cambiar los nombres existentes, por ejemplo cuando nuevos datos justifican la reordenación taxonómica.

Cuando se aísla de la naturaleza un microorganismo nuevo y se piensa que es único, se debe tomar una decisión acerca de si es lo bastante diferente de otros procariotas como para ser descrito como un nuevo taxón. Para conseguir la validación formal de la categoría taxonómica como nuevo género o especie, se debe publicar una descripción detallada de las características y los rasgos distintivos del organismo, junto con el nombre propuesto y, como se ha indicado, hay que depositar cultivos viables del organismo en al menos dos colecciones de cultivos internacionales (Tabla 12.4). El manuscrito con la descripción y el nombre de un nuevo taxón es sometido a la revisión de expertos (*peer review*) antes de su publicación. Uno de los principales vehículos para la descripción de nuevos taxones es la revista *Internation Journal of Systematic and Evolutionary Biology* (*IJSEM*), la publicación oficial de registro para la taxonomía y la clasificación de bacterias, arqueas y eucariotas microbianos. En cada número, *IJSEM* publica también una lista

Tabla 12.3 Jerarquía taxonómica para la bacteria roja *Allochromatium warmingii*

Taxón	*Nombre*	*Propiedades*	*Confirmado por*
Dominio	*Bacteria*	Células bacterianas; secuencias de genes de rRNA típicas de *Bacteria*	Microscopía; análisis de secuencia del gen de rRNA 16S; presencia de biomarcadores exclusivos, como el peptidoglicano
Filo	*Proteobacteria*	Secuencia génica de rRNA típica de *Proteobacteria*	Análisis de secuencia génica del rRNA 16S
Clase	*Gammaproteobacteria*	Bacterias gramnegativas; secuencia de rRNA típica de *Gammaproteobacteria*	Tinción de Gram; microscopía
Orden	*Chromatiales*	Bacterias rojas fotótrofas	Pigmentos característicos (↬ Figuras 13.2, 13.3 y 13.9)
Familia	*Chromatiaceae*	Bacterias rojas del azufre	Capacidad para oxidar H_2S y almacenar S^0 en las células; observación microscópica de S^0 (véase la foto); secuencia génica del rRNA 16S
Género	*Allochromatium*	Bacterias rojas del azufre en forma de bacilo; menos del 95 % de identidad de secuencia génica 16S con todos los otros géneros	Microscopía (véase la foto)
Especie	*Warmingii*	Células de 3,5-4,0 µm × 5-11 µm; almacenamiento de azufre principalmente en los polos de la célula (véase la foto); menos de 97 % de identidad de secuencia génica del 16S con todas las otras especies	Tamaño de las células medido microscópicamente con un micrómetro; observación de la posición polar de los glóbulos de S^0 en las células (véase la foto); secuencia del gen de rRNA 16S



Células de *A. warmingii*

aprobada de los últimos nombres validados. Al conceder la validación de nuevos nombres propuestos, la publicación en *IJSEM* allana el camino para su inclusión en las fuentes de referencia taxonómicas (véase más adelante). Dos sitios web proporcionan el listado de los nombres bacterianos válidos y aprobados: List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature (http://www.bacterio.net), y Bacterial Nomenclature Up-to-Date (http://www.dsmz.de).

El Comité Internacional de Sistemática de los Procariotas (ICSP, del inglés *International Committee on the Systematics*

Tabla 12.4 Algunas colecciones nacionales de cultivos microbianos

Colección	*Nombre*	*Ubicación*	*Dirección web*
ATCC	American Type Culture Collection	Manassas (Virginia, EE. UU.)	http://www.atcc.org
BCCM/LMG	Belgium Coordinated Collection of Microorganisms	Gante (Bélgica)	http://bccm.belspo.be
CIP	Collection de l'Institut Pasteur	París (Francia)	http://www.pasteur.fr
CECT	Colección Española de Cultivos Tipo (Sociedad Española de Microbiología)	Valencia (España)	http://www.cect.org
DSMZ	Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen	Braunschweig (Alemania)	http://www.dsmz.de
JCM	Japan Collection of Microorganisms	Saitama (Japón)	http://jcm.brc.riken.jp
NCCB	Netherlands Culture Collection of Bacteria	Utrecht (Países Bajos)	http://www.cbs.knaw.nl/index.php/the-netherlands-culture-collection-of-bacteria-nccb-formerly-lmd-and-phabagen
NCIMB	National Collection of Industrial, Marine and Food Bacteria	Aberdeen (Escocia)	http://www.ncimb.com

of Prokaryotes) supervisa la nomenclatura y la taxonomía de las bacterias y las arqueas, así como también la publicación del *IJSEM* y del *International Code of Nomenclature of Bacteria* y ofrece directrices a los diversos subcomités que se reúnen para establecer y revisar las normas para la descripción de nuevas especies en los diferentes grupos de procariotas.

El *Manual de Bergey* y *The Prokaryotes*

Puesto que la taxonomía es, en gran medida, una materia de valoración científica, no existe una clasificación «oficial» de las bacterias y las arqueas. No obstante, el sistema de clasificación que goza de más aceptación por los microbiólogos es el *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (*Manual de bacteriología sistemática de Bergey*), un gran tratamiento taxonómico de las bacterias y las arqueas (véase, en el Apéndice 2, una lista de los taxones de orden superior de la edición más reciente del *Manual de Bergey*). El *Manual de Bergey*, muy utilizado, ha estado al servicio de la comunidad de microbiólogos desde 1923, y es un compendio de información sobre todos los procariotas reconocidos. Cada capítulo, escrito por expertos, contiene tablas, figuras y otra información sistemática útil para la identificación.

Una segunda gran fuente de referencia que describe la fisiología, la ecología, la filogenia, el enriquecimiento, el aislamiento y el cultivo de bacterias y arqueas es *The Prokaryotes* (*Los procariotas*). Esta obra está disponible en línea por suscripción a través de bibliotecas universitarias. En conjunto, el *Manual de Bergey* y *The Prokaryotes* ofrecen a los microbiólogos los conceptos y los detalles de la biología de las bacterias y las arqueas que conocemos hoy en día; son recursos fundamentales para los microbiólogos que caracterizan nuevos organismos aislados.

Colecciones de cultivos

Las colecciones nacionales de cultivos microbianos (Tabla 12.4) son una base importante para la sistemática microbiana. Estas colecciones permanentes catalogan y almacenan microorganismos y proporcionan cultivos mediante pedido (por una tarifa) a los investigadores académicos, clínicos o industriales. Las colecciones desempeñan una función importante en la protección de la diversidad microbiana, al igual que los museos con la conservación de especímenes de plantas y animales para su estudio futuro. No obstante, a diferencia de los museos, que mantienen colecciones de especímenes muertos conservados químicamente, disecados o deshidratados, las colecciones de cultivos microbianos almacenan microorganismos como *cultivos viables*, normalmente congelados o liofilizados. Estos métodos de almacenamiento mantienen las células en estado vivo indefinidamente e impiden los cambios genéticos que podrían producirse si los organismos se subcultivaran continuamente.

Una función fundamental y relacionada de las colecciones de cultivos es la de ser depósitos de *cepas tipo*. Cuando se describe una nueva especie de bacteria en una revista científica, se designa una cepa como el tipo del taxón utilizado para la nomenclatura, para la comparación taxonómica en un futuro con otras cepas de esa especie (véase la Figura 12.26). El depósito de esta cepa tipo en las colecciones nacionales de cultivos de al menos dos países —de manera que la cepa esté a disposición pública— es un requisito para la validación del nombre de la nueva especie. Algunas de las grandes colecciones nacionales de cultivos se enumeran en la Tabla 12.4. Sus sitios web contienen bases de datos accesibles de las cepas de que disponen, con información sobre el origen ambiental de las cepas y su descripción.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué funciones desempeñan las colecciones de cultivos en la sistemática microbiana?
- ¿Qué es el *IJSEM* y qué función taxonómica realiza?
- ¿Por qué en taxonomía microbiana se utilizan más los cultivos de células viables que los especímenes conservados?

IDEAS PRINCIPALES

12.1 • La Tierra tiene una edad de unos 4.500 millones de años, y el primer rastro de vida microbiana se puede encontrar en microfósiles de células procariotas presentes en rocas de hace 3.860 millones de años.

12.2 • En rocas de 3.500 millones de años o más jóvenes son abundantes unas formaciones microbianas llamadas estromatolitos, que presentan una gran diversificación microbiana. La evolución de la fotosíntesis oxigénica causó la acumulación de O_2 hace unos 2.400 millones de años, lo que originó las formaciones de hierro en bandas, la capa de ozono y una atmósfera oxigenada, que establecieron las condiciones para la diversificación rápida de los tipos metabólicos y la aparición de la pluricelularidad.

12.3 • La célula eucariota se desarrolló a partir de procesos endosimbióticos. La célula eucariota moderna es una quimera con genes y características de las bacterias y de las arqueas. Los análisis de secuencia de los SSU rRNA indican que los antepasados de las mitocondrias se encuentran en el filo *Proteobacteria*, y los de los cloroplastos en el filo *Cyanobacteria*.

12.4 • Los genes de RNA ribosómico se han utilizado para construir un árbol de la vida universal, y este árbol nos ha revelado que la vida en la Tierra evolucionó en tres direcciones principales que formaron los dominios *Bacteria*, *Archaea* y *Eukarya*. Los principales filos de *Bacteria* y *Archaea* divergieron hace miles de millones de años, y los filos de *Eukarya* mejor caracterizados lo

hicieron en los últimos 600 millones de años. El árbol universal de la vida muestra que los dominios *Bacteria* y *Archaea* se escindieron el uno del otro hace eones, y que *Eukarya* se escindió de *Archaea* más tarde en la historia de la vida.

12.5 • Las secuencias moleculares acumulan mutaciones al azar a lo largo del tiempo, y se utiliza el análisis filogenético molecular para determinar la historia evolutiva de la vida. Un árbol filogenético es un diagrama en el que se representa la historia evolutiva de un grupo de genes o de organismos.

12.6 • La evolución se define como un cambio en las frecuencias alélicas a lo largo del tiempo. Los alelos nuevos se forman mediante los procesos de mutación y recombinación. Las mutaciones se producen al azar, y la mayoría de ellas son neutras o deletéreas, pero algunas resultan beneficiosas. La selección natural y la deriva genética son dos mecanismos que hacen que las frecuencias alélicas cambien con el tiempo.

12.7 • Los genomas microbianos son dinámicos, y su tamaño y contenido de genes pueden variar considerablemente entre cepas de una misma especie. Se define el genoma esencial como el conjunto de todos los genes compartidos por una especie, mientras que el pangenoma es el genoma esencial más los genes cuya presencia varía entre las cepas de una especie.

12.8 • Actualmente las especies de *Bacteria* y *Archaea* se definen operativamente a partir de los rasgos genéticos y fenotípicos compartidos. La naturaleza dinámica de los genomas microbianos y la abundancia de genes adquiridos por transferencia horizontal han planteado dudas acerca de la naturaleza de las especies microbianas. Se han propuesto muchos mecanismos para describir la formación de las especies, pero no existe consenso acerca de cuáles son las fuerzas ecológicas y evolutivas que mejor pueden explicar el origen de las especies microbianas.

12.9 • La sistemática es el estudio de la diversidad y las relaciones de los organismos vivos. La taxonomía polifásica se basa en la información fenotípica, genotípica y filogenética. Las especies bacterianas se pueden distinguir genotípicamente mediante técnicas de hibridación DNA-DNA, huella de DNA, MLST o por análisis multigénico o del genoma completo. Algunos rasgos fenotípicos útiles en taxonomía son la morfología, la motilidad, el metabolismo y la química celular, especialmente los análisis de lípidos.

12.10 • En microbiología, la nomenclatura sigue el sistema binomial que se utiliza en toda la biología. Para el reconocimiento formal de una nueva especie procariota se debe depositar una muestra del organismo en colecciones de cultivo y publicar el nombre y la descripción de la nueva especie. El *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* y *The Prokaryotes* son las principales recopilaciones taxonómicas de bacterias y arqueas.

MasteringMicrobiology®

Revise lo que sabe y descubra lo que ha aprendido con MasteringMicrobiology. Acceda a material de estudio, revisiones de los capítulos, animaciones y tutoriales de microbiología práctica en el Área de Estudio y asegúrese de que ha asimilado todo el contenido de este capítulo.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Alelo: variante de secuencia de un gen determinado.

Alineación de secuencias: inserción de huecos en un conjunto de secuencias moleculares organizadas en filas de modo que las posiciones homólogas estén dispuestas en columnas verticales. La alineación es necesaria antes del análisis filogenético porque las deleciones y las mutaciones de inserción causan variaciones en la longitud de las secuencias moleculares.

Análisis multilocus de secuencia (MLST): herramienta taxonómica para clasificar organismos a partir de las variaciones de secuencia génica en varios genes constitutivos.

Aptitud (*fitness*): capacidad de un organismo para sobrevivir y reproducirse en comparación con los organismos competidores.

Árbol filogenético: esquema que representa la historia evolutiva de un organismo; está formado por nudos y ramas.

Árbol universal de la vida: árbol filogenético que muestra las posiciones de representantes de todos los dominios de la vida celular.

***Archaea*:** procariotas relacionados filogenéticamente diferentes de *Bacteria*.

***Bacteria*:** procariotas relacionados filogenéticamente diferentes de *Archaea*.

Deriva genética: proceso que ocasiona un cambio en las frecuencias alélicas de una población como resultado de cambios al azar en el número de descendientes de cada individuo a lo largo del tiempo.

Dominio: en sentido taxonómico, el nivel más alto de la clasificación biológica.

Especie: en microbiología, colección de cepas que comparten las mismas propiedades principales y se diferencian de otras colecciones de cepas en una o más propiedades significativas; filogenéticamente se definen como un grupo monofilético exclusivo según su secuencia de DNA.

Estromatolito: tapete microbiano laminado formado normalmente por

capas de bacterias filamentosas y otros microorganismos, que pueden llegar a fosilizarse.

***Eukarya*:** todos los eucariotas: algas, protistas, hongos, hongos mucilaginosos, plantas y animales.

Evolución: cambio en las frecuencias alélicas a lo largo del tiempo, con nuevos alelos que surgen por mutación y recombinación.

FAME: éster metílico de ácido graso; técnica para identificar microorganismos por sus ácidos grasos.

Fenotipo: características físicas y químicas de un organismo que se pueden observar o medir.

Filo: el principal linaje de las células en cada uno de los tres dominios de la vida.

Filogenia: historia evolutiva.

Formación de hierro en bandas: rocas sedimentarias antiguas ricas en óxido de hierro que contienen zonas de hierro oxidado (Fe^{3+}) formado mediante la oxidación de Fe^{2+} por el O_2 producido por las cianobacterias.

Genoma esencial: genes que se encuentran en el genoma de todas las cepas de una especie.

Hibridación DNA-DNA: determinación experimental de la semejanza genómica mediante la medición del grado de hibridación del DNA de un organismo con el de otro.

Hipótesis endosimbiótica: idea según la cual una bacteria quimioorganótrofa y una cianobacteria se incorporaron de manera estable a otro tipo de célula y dieron lugar, respectivamente, a las mitocondrias y los cloroplastos de los eucariotas actuales.

Homología: propiedad de dos elementos que comparten un mismo antepasado.

Homoplasia: propiedad por la cual dos organismos tienen una misma característica como resultado de una mutación retrógrada o de evolución convergente.

Monofilético: en filogenia, grupo que desciende de un antepasado común.

Mutación: cambio hereditario en la secuencia del DNA.

Ortólogo: gen de un organismo que es similar al gen de otro organismo porque proceden de un antepasado común (véase también *parálogo*).

Pangenoma: totalidad de genes presentes en las diferentes cepas de una especie.

Parálogo: gen cuya semejanza con uno o más genes del mismo organismo es el resultado de la duplicación génica (véase también *ortólogo*).

Recombinación: reordenación de fragmentos de DNA que ocasiona una nueva combinación de la secuencia.

Reloj molecular: secuencia de DNA, por ejemplo un gen que codifique un rRNA, que se puede usar como medida comparativa de la divergencia evolutiva a lo largo del tiempo.

Ribotipado: método para identificar los microorganismos a partir del análisis de fragmentos de DNA generados por digestión con enzimas de restricción de los genes que codifican su RNA ribosómico.

RNA ribosómico (rRNA): moléculas de RNA que se encuentran en las subunidades grandes y pequeñas del ribosoma.

rRNA 16S: polinucleótido grande (~1.500 bases) que forma parte de la subunidad pequeña del ribosoma de las bacterias y de las arqueas y de cuya secuencia génica se puede obtener información evolutiva; su equivalente eucariótico es el rRNA 18S.

rRNA de la subunidad pequeña (SSU rRNA): RNA ribosómico 16S que se encuentra en la subunidad ribosómica 30S de bacterias y arqueas, y su equivalente ortólogo en eucariotas, el rRNA 18S de la subunidad 40S.

Selección: en un contexto evolutivo, proceso que ocasiona un cambio en la frecuencia de alelos en una población cuando los individuos que se encuentran favorecidos en un ambiente determinado son capaces de producir más descendencia y hacer una contribución mayor al contenido génico de generaciones futuras.

Sistema binomial: sistema diseñado por el naturalista sueco Carl Linneo para nombrar los organismos vivos, según el cual un organismo tiene un nombre correspondiente al género y un adjetivo correspondiente a la especie.

Sistemática: estudio de la diversidad de organismos y sus relaciones; incluye la taxonomía y la filogenia.

Taxonomía: ciencia de la identificación, la clasificación y la nomenclatura.

Transferencia horizontal de genes: transferencia asimétrica y unidireccional de DNA de una célula a otra.

PREGUNTAS DE REPASO

1. ¿Qué edad tiene el planeta Tierra? ¿Cuándo se formaron los océanos? ¿Qué edad tiene el microfósil más antiguo conocido? (Sección 12.1)
2. ¿Qué es un estromatolito y cuándo pudieron surgir en la historia de la Tierra? (Sección 12.2)
3. ¿Por qué fue tan importante la aparición de las cianobacterias en la evolución posterior de la vida en la Tierra? ¿Qué componente del registro geológico se usa para datar la aparición de las cianobacterias? (Sección 12.2)
4. ¿En qué consiste la hipótesis endosimbiótica sobre el origen de las mitocondrias y los cloroplastos? ¿Qué datos respaldan esta hipótesis? (Sección 12.3)
5. ¿Qué prueba respalda la clasificación de la vida en tres dominios? (Sección 12.4)
6. ¿Qué propiedades fisiológicas y bioquímicas importantes comparten las arqueas con los eucariotas? ¿Y con las bacterias? (Sección 12.4)
7. ¿Por qué los genes SSU rRNA son una buena elección para los estudios filogenéticos? ¿Cuáles son sus limitaciones? (Sección 12.4)
8. ¿Por qué es necesario alinear las secuencias antes de construir el árbol filogenético? (Sección 12.5)
9. ¿Qué es la homoplasia y por qué causa problemas en los análisis filogenéticos moleculares? (Sección 12.5)
10. ¿Qué diferencia hay entre un árbol de genes y un árbol de organismos? (Sección 12.5)
11. Describa los pasos para determinar una filogenia de SSU de tres bacterias aisladas de la naturaleza. (Secciones 12.4 y 12.5)

12. ¿Qué es la evolución? ¿Qué procesos dan lugar a la variación genética? ¿Qué procesos pueden hacer que las frecuencias alélicas varíen con el tiempo? (Sección 12.6)
13. ¿Qué es la aptitud (*fitness*)? ¿En qué medida la aptitud depende del ambiente en el que viven los organismos? (Sección 12.6)
14. Cite algunos procesos que influyen en el contenido del pangenoma. (Sección 12.7)
15. Compare el efecto de la recombinación homóloga y la no homóloga en la evolución del genoma esencial y del pangenoma. (Sección 12.7)
16. ¿En qué consiste el «problema del concepto de especie» y por qué es difícil de resolver? (Sección 12.8)
17. ¿Cuántas especies bacterianas existen? ¿Por qué no conocemos este número de una manera más precisa? (Sección 12.8)
18. ¿Qué propiedades fenotípicas y genotípicas importantes se utilizan en taxonomía bacteriana para clasificar organismos? (Secciones 12.8 y 12.9)
19. ¿Qué se mide en un análisis FAME? (Sección 12.9)
20. ¿En qué se diferencia un análisis de la secuencia de genes de rRNA 16S del análisis multilocus de secuencias como herramienta de identificación? (Sección 12.9)
21. ¿Qué funciones desempeñan las colecciones de cultivos microbianos en la sistemática microbiana? (Sección 12.10)

EJERCICIOS PRÁCTICOS

1. Compare las condiciones físicas y químicas de la Tierra en el momento en que surgió la vida con las condiciones actuales. Desde un punto de vista fisiológico, dé al menos dos razones de por qué los *animales* no podrían haber existido en la Tierra primigenia. ¿De qué maneras el metabolismo microbiano alteró la biosfera terrestre? ¿En qué sería diferente la vida en la Tierra si no se hubiera desarrollado la fotosíntesis oxigénica?
2. Construya el árbol filogenético que mejor representa las relaciones evolutivas para estas secuencias:

   Taxón 1: GTTCCCTTA

   Taxón 2: GTTCGGTAT

   Taxón 3: GAAAAACCCTAT

   Taxón 4: CTTCCCTTT

   Taxón 5: GTAAAACCCGAT
3. Imagine que dispone de varias cepas bacterianas de diversos países del mundo y que se piensa que todas las cepas causan la misma enfermedad gastrointestinal y son genéticamente idénticas. Al llevar a cabo un análisis de la huella del DNA descubre que existen cuatro tipos de cepas diferentes. ¿Qué métodos podría usar para comprobar si las cepas diferentes son en realidad miembros de la misma especie?
4. Imagine que ha descubierto una nueva forma de vida microbiana, que parece representar un cuarto dominio. ¿Cómo podría caracterizar el nuevo organismo y determinar si en realidad es evolutivamente distinto de *Bacteria*, *Archaea* y *Eukarya*?

CAPÍTULO

13 · Diversidad metabólica de los microorganismos

microbiología **actual**

Descifrando el metabolismo microbiano

Una vez que se consigue tener una bacteria en un cultivo de laboratorio, lo más inmediato suele ser determinar su modo de vida; es decir, sus capacidades metabólicas. Pero, ¿qué pasa con los organismos que todavía no se han podido cultivar?, ¿podemos llegar a entender también cómo funcionan? Sí, podemos; pero más que su *metabolismo*, hay que estudiar sus *genes*.

Para estudiar los procesos metabólicos microbianos en un acuífero anóxico cerca del río Colorado (foto de la derecha), unos ecólogos microbianos aislaron el DNA total de la comunidad microbiana del acuífero directamente en el sitio (foto de la izquierda) y, a partir del DNA, reconstruyeron y secuenciaron unos cincuenta genomas.[1] Mediante los análisis de las secuencias los investigadores desentrañaron los diferentes tipos de metabolismo de la comunidad microbiana del acuífero y examinaron otros aspectos importantes de la biología de dicha comunidad. Para su sorpresa, encontraron que la principal estrategia catabólica utilizada no era la respiración anaerobia, sino la fermentación y el metabolismo del hidrógeno. Además, algunos tipos de metabolismo que se creían exclusivos de las arqueas también se detectaron en las bacterias del acuífero.

Muchas de las bacterias sin cultivar del acuífero ya habían sido detectadas en estudios de diversidad en otros ambientes anóxicos. No obstante, como el enfoque del estudio en el acuífero relacionaba la filogenia con el metabolismo, se pusieron de manifiesto las capacidades metabólicas de estos organismos sin cultivar. En realidad, examinado los esquemas genéticos de la comunidad microbiana fue posible reconstruir rutas metabólicas enteras. Estos resultados facilitarán seguramente el diseño de los experimentos con cultivos de enriquecimiento para hacer crecer las bacterias del acuífero.

Uno de los objetivos de la ecología microbiana es trasladar microorganismos de interés al cultivo de laboratorio. Mientras tanto, se pueden seguir estudiando las propiedades de los organismos sin cultivar mediante la metagenómica. Una vez que se conocen la diversidad y los perfiles metabólicos de una comunidad microbiana, empieza a ser posible predecir cómo funciona el ecosistema y cómo se puede ver alterado por la contaminación u otro tipo de perturbaciones.

[1]Wrighton, K. C., *et al.* 2012. Fermentation, hydrogen, and sulfur metabolism in multiple uncultivated bacterial phyla. *Science 337:* 1661-1665.



I Fototrofia 404
II Quimiolitotrofia 417
III Fermentaciones 426
IV Respiración anaerobia 436
V Metabolismo de los hidrocarburos 450

Uno de los grandes temas de la microbiología es la enorme diversidad *filogenética* de la vida microbiana en la Tierra. En el capítulo anterior ya hicimos una primera incursión en ella, y en los cuatro siguientes exploraremos la diversidad microbiana en detalle. En este capítulo nos centraremos en la diversidad *metabólica* de los microorganismos, con especial hincapié en los procesos y los mecanismos subyacentes a esta diversidad. Después, volveremos a ocuparnos de los propios microorganismos y desvelaremos la envergadura filogenética del mundo microbiano en el contexto de la diversidad metabólica.

I • Fototrofia

La fototrofia —el uso de la energía lumínica— está muy extendida en el mundo microbiano. En esta unidad examinaremos las propiedades y las estrategias de fijación de la energía de los microorganismos fotótrofos y veremos cómo sobreviven con un estilo de vida basado en el uso del CO_2 como única fuente de carbono.

13.1 Fotosíntesis y clorofilas

El proceso biológico más importante en la Tierra es la **fotosíntesis**, la conversión de energía lumínica en energía química. Los organismos que llevan a cabo la fotosíntesis se llaman **fotótrofos**. Dichos organismos son también **autótrofos**, capaces de crecer con CO_2 como única fuente de carbono. La energía de la luz se utiliza en la reducción de CO_2 a compuestos orgánicos (*fotoautotrofia*). Algunos fotótrofos también pueden usar compuestos orgánicos como fuente de carbono: su forma de vida se llama *fotoheterotrofia*.

Para la fotosíntesis son necesarios pigmentos fotosensibles, los principales son las *clorofilas*, que se encuentran en las plantas, algas y cianobacterias, y las *bacterioclorofilas*, presentes en las bacterias rojas y verdes. Las cianobacterias y las bacterias rojas y verdes son todas procariotas fotótrofos. El proceso de conversión fotosintética de la energía empieza con la absorción de la energía lumínica por parte de las clorofilas y las bacterioclorofilas, y el resultado neto es la obtención de energía química, el ATP.

En la fotoautotrofia, dos grupos distintos de reacciones operan en paralelo: (1) la producción de ATP y (2) la reducción de CO_2 a material celular. La energía para el crecimiento autótrofo procede del ATP, y los electrones para la reducción del CO_2 vienen del NADH (o NADPH). Este último se origina a partir de la reducción de $NAD(P^+)$ por donadores de electrones presentes en el ambiente. En las bacterias rojas y verdes, el donador puede ser un compuesto de azufre reducido como el sulfuro de hidrógeno (H_2S) o el hidrógeno molecular (H_2). En cambio, las plantas verdes, las algas y las cianobacterias toman sus electrones del agua (H_2O).

La oxidación del agua libera oxígeno molecular (O_2) como producto secundario; en consecuencia, el proceso fotosintético de las cianobacterias recibe el nombre de **fotosíntesis oxigénica**. Sin embargo, las bacterias rojas y verdes *no* producen oxígeno, y por tanto el proceso se llama **fotosíntesis anoxigénica** (Figura 13.1). El oxígeno producido por las cianobacterias hace miles de millones de años convirtió el mundo anóxico que era la Tierra en un mundo óxico, y preparó el terreno para una explosión de diversidad microbiana eucariota que, con el tiempo, dio lugar a las plantas y los animales.

Clorofila y bacterioclorofila

La **clorofila** y la **bacterioclorofila** están relacionadas con los tetrapirroles, que son la estructura madre de los citocromos. Pero, a diferencia de los citocromos, que contienen *hierro*, las clorofilas contienen *magnesio* en el centro del anillo. Las

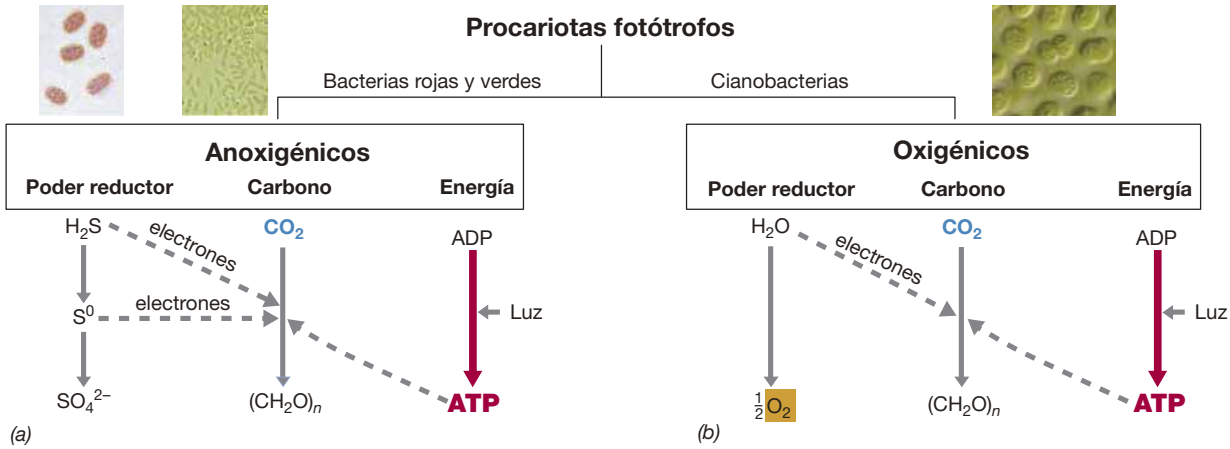


Figura 13.1 Patrones fotosintéticos. Síntesis de energía y poder reductor en fotótrofos *(a)* anoxigénicos y *(b)* oxigénicos. Obsérvese que los fotótrofos oxigénicos producen O_2, mientras que los fotótrofos anoxigénicos, no. Insertos: Izquierda, micrografías ópticas de células de una bacteria roja del azufre (*Chromatium*, células de 5 µm de diámetro) y una bacteria verde del azufre (*Chlorobium*, células de 0,9 µm de diámetro). Obsérvense los glóbulos de azufre dentro o fuera de las células producidos por la oxidación de H_2S. Derecha, micrografía de contraste por interferencia de células de una cianobacteria cocoidal.

clorofilas también contienen sustituyentes específicos en el anillo tetrapirrólico y un alcohol hidrófobo que ayuda a anclar la clorofila a las membranas fotosintéticas. En la **Figura 13.2*a*** se ve la estructura de la clorofila *a*, que es la clorofila principal de los fotótrofos oxigénicos. La clorofila *a* es verde porque *absorbe* luz roja y azul y *transmite* luz verde; su espectro de absorción presenta una fuerte absorbancia cerca de los 680 nm y los 430 nm (Figura 13.2*b*). Se conocen varias clorofilas, que se distinguen por sus espectros de absorción particulares. Las cianobacterias contienen clorofila *a* (unas pocas especies tienen clorofila *d*), mientras que sus parientes los proclorófitos producen clorofilas *a* y *b*.

Las bacterias fotótrofas rojas y verdes producen una o más bacterioclorofilas (**Figura 13.3**). La bacterioclorofila *a* (Figura 13.2), presente en la mayoría de las bacterias rojas (↔ Secciones 14.4 y 14.5), tiene su rango de absorción máximo entre 800 nm y 925 nm (diferentes bacterias rojas sintetizan fotocomplejos ligeramente diferentes, y los máximos de absorción de la bacterioclorofila *a* en un organismo determinado dependen, en cierta medida, de la disposición de las proteínas de los fotocomplejos en la membrana fotosintética; véase la Figura 13.4). Otras bacterioclorofilas, distribuidas en distintas líneas filogenéticas, absorben en otras regiones del espectro visible e infrarrojo (Figura 13.3).

La existencia de diferentes formas de clorofila o bacterioclorofila que absorben luz de diferentes longitudes de onda permite a los fotótrofos aprovechar mejor la energía disponible en el espectro electromagnético. La utilización de diversos pigmentos con propiedades de absorción distintas permite que fotótrofos diferentes puedan coexistir en el mismo hábitat, absorbiendo cada uno las longitudes de onda que otros no pueden absorber. Por tanto, la diversidad de pigmentos tiene una importancia *ecológica* para la coexistencia satisfactoria de diferentes fotótrofos en un mismo hábitat.

Centros de reacción y pigmentos antena

En los fotótrofos oxigénicos y los fotótrofos rojos anoxigénicos, las moléculas de clorofila/bacterioclorofila no existen de forma libre en la célula, sino que están unidas a proteínas que, a su vez, están alojadas en membranas formando *fotocomplejos* constituidos por entre cincuenta y trescientas moléculas de clorofila/bacterioclorofila. Solo un pequeño número de estas moléculas de pigmento, llamadas **centros de reacción** (**Figura 13.4**), participan directamente en reacciones que conducen a la síntesis de ATP. Las clorofilas/bacterioclorofilas de los centros de reacción están rodeadas por un número mayor de clorofilas/bacterioclorofilas que captan la luz. Estos llamados **pigmentos antena** (o *pigmentos captadores de luz*) absorben la luz y canalizan parte de la energía hacia el centro de reacción (Figura 13.4). A las bajas intensidades de luz que se suelen encontrar en la naturaleza, esta disposición para concentrar la energía permite a los centros de reacción recibir energía lumínica que de otro modo se perdería.

Membranas fotosintéticas, cloroplastos y clorosomas

Los pigmentos clorofílicos y todos los demás componentes del aparato de captación de luz se encuentran en sistemas membranosos celulares. La ubicación de estas membranas fotosintéticas es diferente en procariotas y eucariotas. En los eucariotas fotótrofos la fotosíntesis tiene lugar en orgánulos intracelulares, los *cloroplastos*, donde las clorofilas están unidas a membranas de aspecto laminado (**Figura 13.5**). Estos sistemas fotosintéticos membranosos se llaman **tilacoides**, y se apilan formando *grana* (plural de grano, en latín). Los tilacoides se disponen de manera que el cloroplasto queda dividido en dos regiones, el espacio matricial que rodea los tilacoides, llamado *estroma*, y el espacio interior dentro de la formación de los tilacoides. Esta disposición permite la generación de una fuerza protonmotriz impulsada por la luz que se utiliza para sintetizar ATP (Sección 13.4).

Los procariotas fotótrofos carecen de cloroplastos. En las bacterias rojas los pigmentos fotosintéticos están integrados en sistemas de membranas internas que se forman por invaginación de la membrana citoplasmática. En las bacterias rojas las disposiciones normales son vesículas de membrana

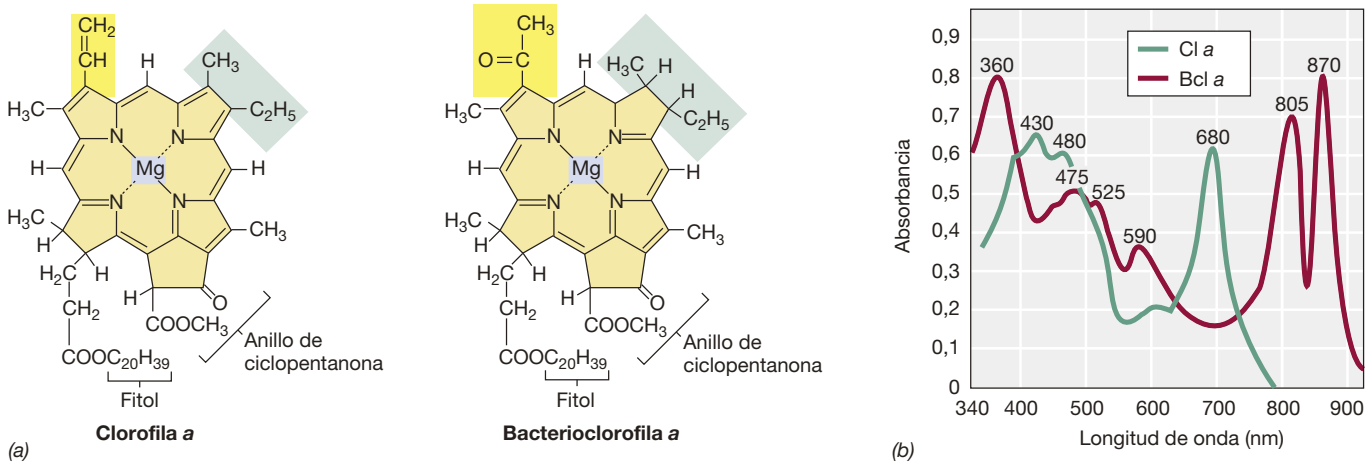
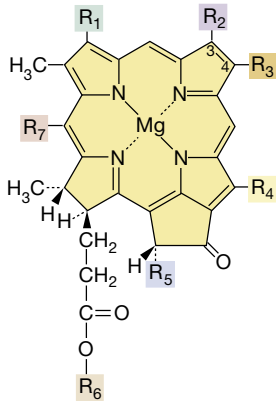


Figura 13.2 **Estructuras y espectros de la clorofila *a* y la bacterioclorofila *a*.** *(a)* Las dos moléculas son idénticas excepto en los fragmentos marcados en amarillo y verde. *(b)* Espectro de absorción (línea verde) de células del alga verde *Chlamydomonas*. Los picos a 680 nm y a 430 nm son debidos a la clorofila *a*, y el pico a 480 nm a los carotenoides. Espectro de absorción (línea roja) de las células de la bacteria roja fotótrofa *Rhodopseudomonas palustris*. Los picos a 870 nm, 805 nm, 590 nm y 360 nm son debidos a la bacterioclorofila *a*, y los picos a 525 nm y 475 nm a los carotenoides.

Pigmento/Absorción máxima (in vivo)	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	R_6	R_7
Bcl *a* (bacterias rojas)/ 805, 830-890 nm	—C(=O)—CH_3	$—CH_3$[a]	$—CH_2—CH_3$	$—CH_3$	—C(=O)—O—CH_3	P/Gg[b]	—H
Bcl *b* (bacterias rojas)/ 835-850, 1.020-1.040 nm	—C(=O)—CH_3	$—CH_3$[c]	=C(H)—CH_3	$—CH_3$	—C(=O)—O—CH_3	P	—H
Bcl *c* (bacterias verdes no del azufre)/ 745–755 nm	—C(H)(OH)—CH_3	$—CH_3$	$—C_2H_5$ $—C_3H_7$[d] $—C_4H_9$	$—C_2H_5$ $—CH_3$	—H	F	$—CH_3$
Bcl c_s (bacterias verdes no del azufre)/ 740 nm	—C(H)(OH)—CH_3	$—CH_3$	$—C_2H_5$	$—CH_3$	—H	S	$—CH_3$
Bcl *d* (bacterias verdes del azufre)/ 705–740 nm	—C(H)(OH)—CH_3	$—CH_3$	$—C_2H_5$ $—C_3H_7$ $—C_4H_9$	$—C_2H_5$ $—CH_3$	—H	F	—H
Bcl *e* (bacterias verdes del azufre)/ 719-726 nm	—C(H)(OH)—CH_3	—C(=O)—H	$—C_2H_5$ $—C_3H_7$ $—C_4H_9$	$—C_2H_5$	—H	F	$—CH_3$
Bcl *g* (heliobacterias/ 670, 788 nm	—C(H)=CH_2	$—CH_3$[a]	$—C_2H_5$	$—CH_3$	—C(=O)—O—CH_3	F	—H



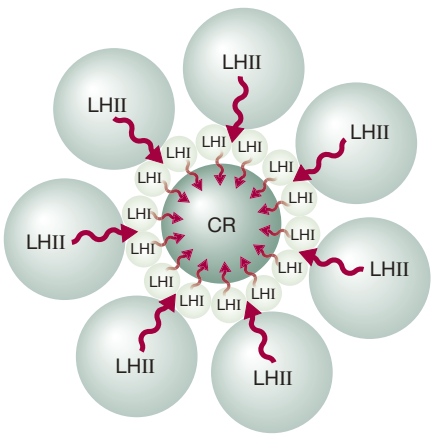
[a] No hay doble enlace entre C_3 y C_4; los átomos de H adicionales están en las posiciones C_3 y C_4.

[b] P, éster de fitilo ($C_{20}H_{39}O—$); F, éster de farnesilo ($C_{15}H_{25}O—$); Gg, éster de geranilgeranilo ($C_{10}H_{17}O—$); S, alcohol estearílico ($C_{18}H_{37}O—$).

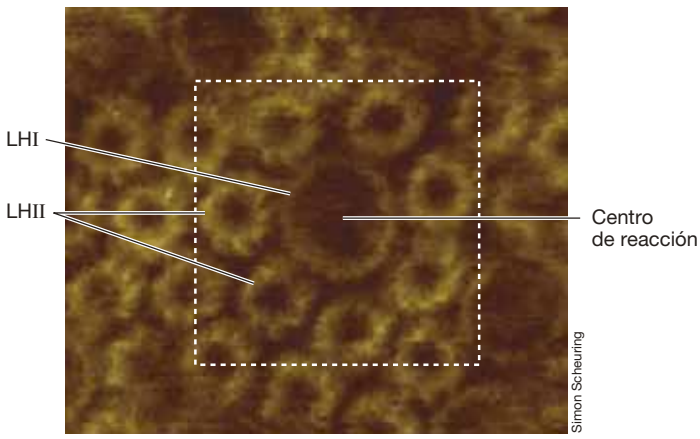
[c] No hay doble enlace entre C_3 y C_4; en la posición C_3 hay un átomo de H adicional.

[d] Las bacteriorclorofilas *c*, *d* y *e* son mezclas isoméricas con los diferentes sustituyentes en R_3, como se muestra.

Figura 13.3 **Estructura de todas las bacteriorclorofilas (Bcl) conocidas.** Se enumeran los diferentes sustituyentes presentes en las posiciones R_1 a R_7 en la estructura de la derecha. Las propiedades de absorción se pueden determinar suspendiendo células intactas de un fotótrofo en un líquido viscoso como sacarosa al 60 % (esto reduce la dispersión de la luz y suaviza los espectros) y obteniendo los espectros de absorción como el que se muestra en la Figura 13.2*b*. Los máximos de absorción in vivo son los picos de absorción de importancia fisiológica. El espectro de las bacteriorclorofilas extraídas de las células y disueltas en disolventes orgánicos suele ser bastante diferente.

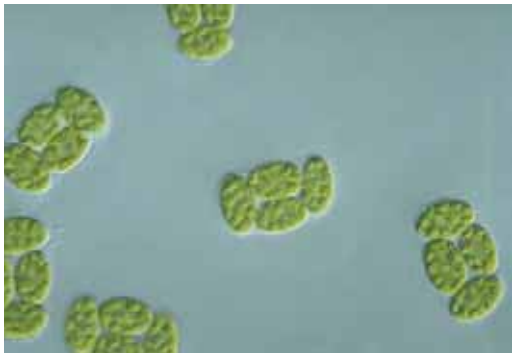


(a)

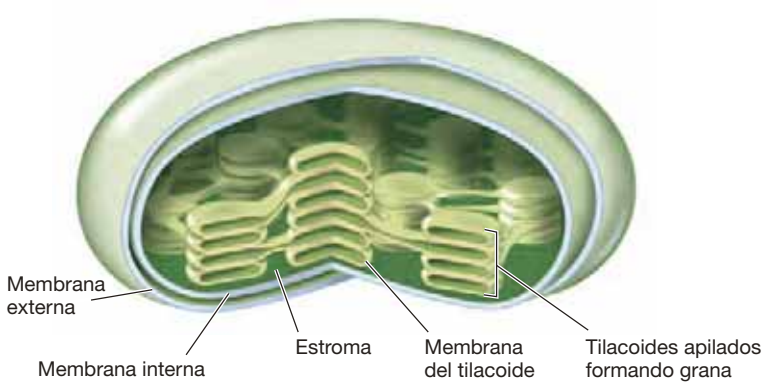


(b)

Figura 13.4 **Disposición de las clorofilas/bacteriorclorofilas que captan la luz y los centros de reacción en una membrana fotosintética.** *(a)* La energía lumínica absorbida por moléculas que captan la luz (verde claro, LH) se transfiere a los centros de reacción (verde oscuro, RC), donde empiezan las reacciones fotosintéticas de transporte de electrones. Las moléculas de pigmento están ancladas a la membrana mediante proteínas específicas de unión a pigmentos. Compárese esta figura con las Figuras 13.11 y 13.12*b*. *(b)* Micrografía de fuerza atómica de fotocomplejos de la bacteria roja *Phaeospirillum molischianum*. Este organismo tiene dos tipos de complejos de captación de luz, LHI y LHII. Los complejos LHII transfieren la energía a los complejos LHI, y estos al centro de reacción (véase la Figura 13.12*b*).



(a)



(b)

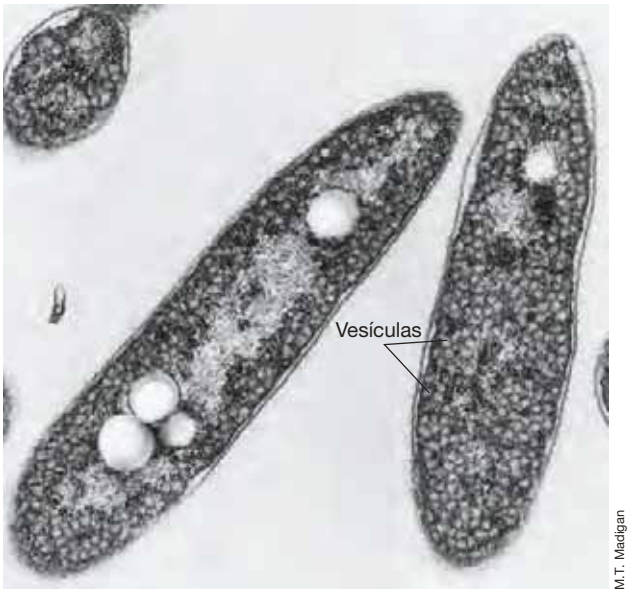
Figura 13.5 **El cloroplasto.** *(a)* Micrografía de células del alga verde *Makinoella*. Cada una de las cuatro células de un grupo contiene varios cloroplastos. *(b)* Detalles de la estructura de un cloroplasto donde se ve que los pliegues de las membranas de los tilacoides definen un espacio interior llamado estroma y forman las pilas de membrana llamadas grana.

llamadas *cromatóforos*, o membranas apiladas formando *lamelas* (Figura 13.6). En las cianobacterias los pigmentos fotosintéticos están en membranas lamelares (véase la Figura 13.10) que también se llaman *tilacoides*, por su parecido con los tilacoides de los cloroplastos de las algas (Figura 13.5).

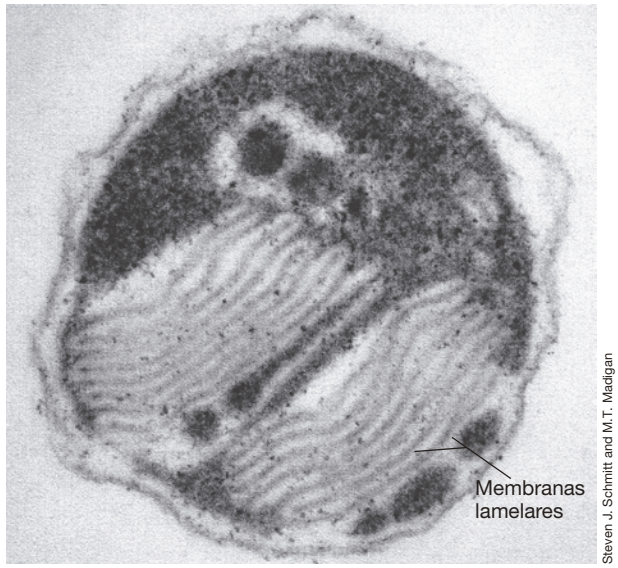
La estructura más eficaz para capturar la luz de baja intensidad es el **clorosoma** (Figura 13.7). Los clorosomas están presentes en las bacterias verdes anoxigénicas del azufre (*Chlorobium*, Figura 13.1 y ↻ Sección 14.6) y en las bacterias verdes no del azufre (*Chloroflexus*, ↻ Sección 14.7). Los clorosomas funcionan como sistemas antena gigantes, pero, a diferencia de las antenas de las bacterias rojas o de las cianobacterias, las moléculas de bacterioclorofila del clorosoma no están unidas a proteínas.

Los clorosomas contienen bacterioclorofila *c*, *d* o *e* (Figura 13.3) dispuesta en densas formaciones a lo largo del eje longitudinal de la estructura. La energía lumínica absorbida por estos pigmentos antena se transfiere a la bacterioclorofila *a*, que está en el centro de reacción, en la membrana citoplasmática, a través de una pequeña proteína llamada *proteína FMO* (Figura 13.7).

Las bacterias verdes pueden crecer a las intensidades lumínicas más bajas de todos los fotótrofos conocidos, y a menudo se encuentran en las aguas más profundas de lagos, mares interiores y otros hábitats acuáticos anóxicos en los que los niveles de luz son demasiado bajos para permitir el crecimiento de otros fotótrofos. Las bacterias verdes no del azufre son componentes importantes de los tapetes microbianos, que son biofilms densos que se forman en las fuentes hidrotermales y en ambientes



(a)



(b)

Figura 13.6 **Membranas de los fotótrofos anoxigénicos.** *(a)* Sección de cromatóforos en una célula de la bacteria roja *Rhodobacter* en la que se ven las membranas fotosintéticas vesiculares. Las vesículas se forman por invaginación de la membrana citoplasmática y están conectadas con ella. Una célula tiene una anchura aproximada de 1 μm. *(b)* Membranas lamelares en la bacteria roja *Ectothiorhodospira*. La célula tiene una anchura aproximada de 1,5 μm. Estas membranas también se forman por invaginación de la membrana citoplasmática y están conectadas con ella, pero en lugar de formar vesículas forman estructuras apiladas.

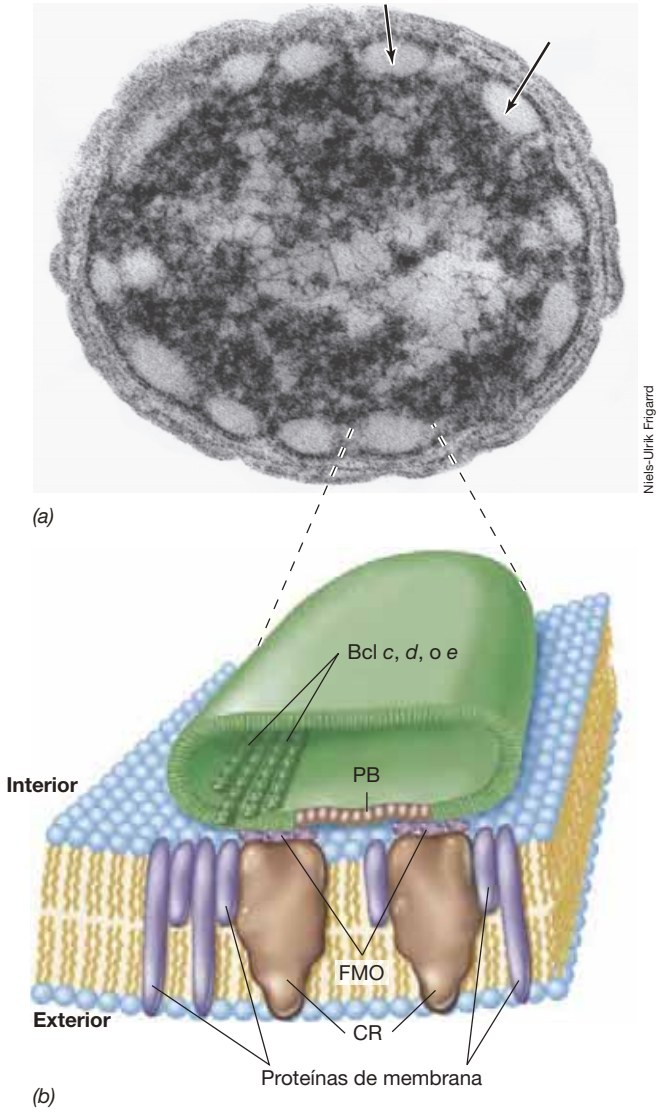


Figura 13.7 **El clorosoma de las bacterias verdes del azufre y de las verdes no del azufre.** *(a)* Micrografía electrónica de transmisión de una sección transversal de una célula de la bacteria verde del azufre *Chlorobaculum tepidum*. Las flechas indican los clorosomas. *(b)* Modelo de la estructura de un clorosoma. El clorosoma (verde) se asienta sobre la superficie interior de la membrana citoplasmática. Las moléculas de bacterioclorofila antena (Bcl) están dispuestas en formaciones tubulares en el interior del clorosoma, y la energía se transfiere de estas a la Bcl *a* del centro de reacción (CR) en la membrana citoplasmática, a través de una proteína llamada FMO. Las proteínas de la placa base (PB) actúan como conectores entre el clorosoma y la membrana citoplasmática.

muy salinos (↻ Sección 19.5). En los tapetes microbianos se da un acusado gradiente de luz, de manera que incluso a pocos milímetros de la superficie del tapete el nivel de luz se aproxima a la oscuridad. Por tanto, los clorosomas permiten a las bacterias verdes no del azufre crecer fototrofamente con las mínimas intensidades lumínicas disponibles.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cuál es la diferencia fundamental entre un fotótrofo oxigénico y uno anoxigénico?
- ¿Qué diferencia hay entre las cantidades relativas de moléculas de clorofila/bacterioclorofila en las antenas y en los centros de reacción en un complejo fotosintético, y por qué?
- ¿Por qué las bacterias verdes fotótrofas pueden crecer a intensidades de luz a las que no crecen las bacterias rojas?

13.2 Carotenoides y ficobilinas

La clorofila/bacterioclorofila es necesaria para la fotosíntesis, pero los organismos fotótrofos también tienen otros pigmentos, en concreto los *carotenoides* y las *ficobilinas*.

Carotenoides

Los pigmentos accesorios más abundantes en los fotótrofos son los **carotenoides**. Se trata de pigmentos hidrófobos integrados firmemente en la membrana fotosintética. En la **Figura 13.8** se muestra la estructura de un carotenoide común, el *β-caroteno*. Los carotenoides son normalmente amarillos, rojos, marrones o verdes y absorben luz en la región azul del espectro (Figura 13.2). En la **Figura 13.9** se muestran los carotenoides principales de los fotótrofos anoxigénicos. Como suelen enmascarar el color de las bacterioclorofilas, los carotenoides son los responsables de los colores brillantes, rojo, morado, rosa, verde, amarillo o marrón, que se observan en diferentes especies de fotótrofos anoxigénicos (↻ Figura 14.12).

Los carotenoides están estrechamente asociados con la clorofila o la bacterioclorofila en los complejos fotosintéticos, y parte de la energía que absorben se puede transferir al centro de reacción. No obstante, los carotenoides actúan principalmente como agentes fotoprotectores. La luz brillante puede ser perjudicial para las células porque puede catalizar reacciones de fotooxidación que pueden generar formas tóxicas de oxígeno como el singulete de oxígeno ($^1O_2$). Al igual que el superóxido y otras formas de oxígeno tóxico (↻ Sección 5.16), el singulete de oxígeno puede oxidar espontáneamente los fotocomplejos, que dejan de ser funcionales. Los carotenoides extinguen las especies tóxicas de oxígeno absorbiendo gran parte de esta luz perjudicial y evitan así estas peligrosas fotooxidaciones. Esta fotoprotección que proporcionan los carotenoides es una gran ventaja, porque los organismos fotótrofos tienen que vivir expuestos a la luz debido a su propia naturaleza.

Ficobiliproteínas y ficobilisomas

Las cianobacterias y los cloroplastos de las algas rojas (que son descendientes de las cianobacterias, ↻ Sección 17.1) contienen pigmentos llamados **ficobiliproteínas**, que son los principales sistemas de captación de la luz de estos fotótrofos. Las ficobiliproteínas están formadas por tetrapirroles lineales de color rojo o azul verdoso, llamados *bilinas*, unidos a proteínas,

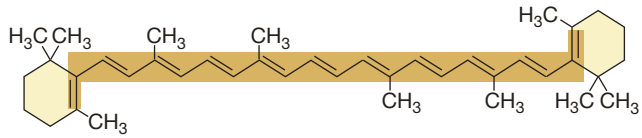


Figura 13.8 **Estructura del β-caroteno, un carotenoide típico.** El sistema de dobles enlaces conjugados está resaltado en naranja.

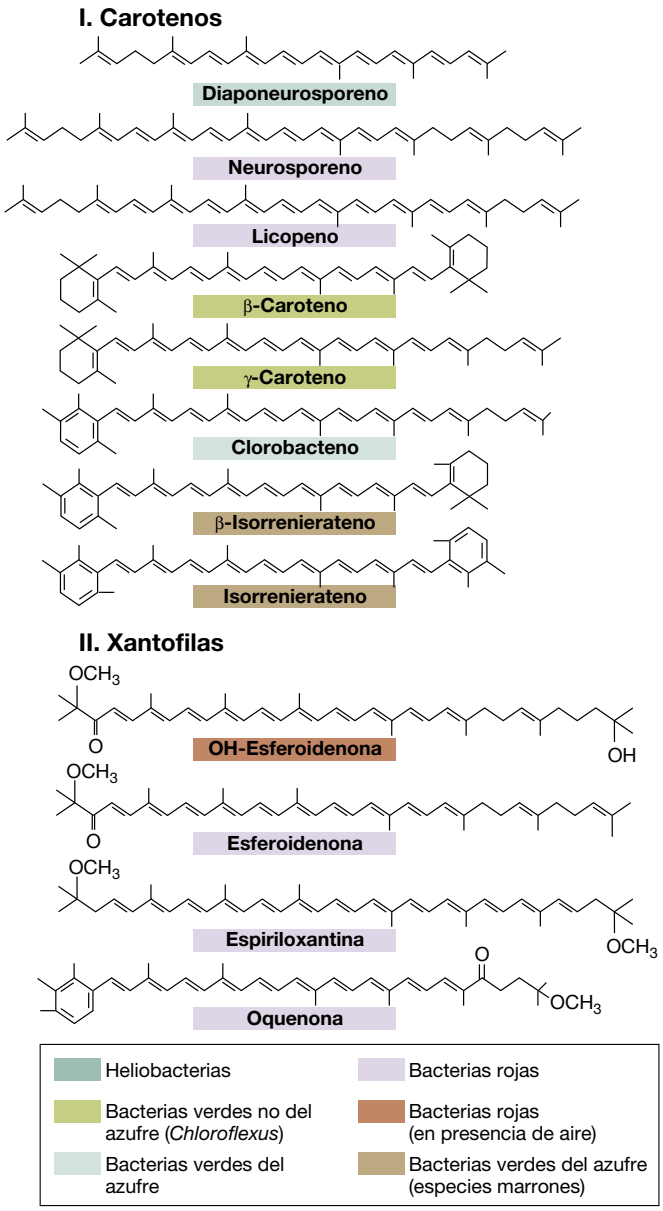


Figura 13.9 Estructura de algunos carotenoides habituales encontrados en los fotótrofos anoxigénicos. Los carotenos son carotenoides hidrocarbonados y las xantofilas son carotenoides oxigenados. Compárese la estructura del β-caroteno de la Figura 13.8 con la que se muestra aquí. Para simplificar, los grupos metilo están representados solo por el enlace.

y dan a las cianobacterias y a las algas rojas su color característico (Figura 13.10). La ficobiliproteína roja, llamada *ficoeritrina*, absorbe principalmente longitudes de onda alrededor de los 550 nm, mientras que la ficobiliproteína azul, o *ficocianina* (Figura 13.10*b*) absorbe principalmente longitudes de onda de 620 nm. Una tercera ficobiliproteína, la *aloficocianina*, absorbe las de aproximadamente 650 nm.

Las ficobiliproteínas se ensamblan formando agregados llamados **ficobilisomas** que se unen a los tilacoides de las cianobacterias (Figura 13.10*c*). Los ficobilisomas se disponen de manera que las moléculas de aloficocianina están en contacto directo con la membrana fotosintética. La aloficocianina está rodeada de ficocianina o ficoeritrina (o de ambas, según el organismo). La ficocianina y la ficoeritrina absorben luz de longitud de onda más corta (y, por tanto, de mayor energía) y transfieren parte de la energía a la aloficocianina, que está situada más cerca de la clorofila del centro de reacción y le transfiere dicha energía (Figura 13.10*b*). Así, de manera similar a como funcionan las bacterioclorofilas antena en los fotótrofos anoxigénicos (Figura 13.4), la transferencia de energía se produce «cuesta abajo», de los ficobilisomas al centro de reacción. Los ficobilisomas facilitan la transferencia de energía a los centros de reacción de las cianobacterias, lo que permite a estas crecer a intensidades lumínicas menores de las que, de otra manera, necesitarían.

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué fotótrofos se encuentran los carotenoides? ¿Y las ficobiliproteínas?
- Compare la estructura de una ficobilina con la de una clorofila.
- La ficocianina es azul verdosa. ¿De qué color es la luz que absorbe?

UNIDAD 3

13.3 Fotosíntesis anoxigénica

En las reacciones fotosintéticas luminosas, los electrones atraviesan una cadena de transporte de electrones situada en una membrana fotosintética en orden creciente, del potencial de reducción (E_0') más electronegativo al más electropositivo. Esto genera una fuerza protonmotriz que impulsa la síntesis de ATP. Las partes fundamentales en este proceso son los centros de reacción fotosintéticos y las membranas fotosintéticas (Sección 13.1).

Los centros de reacción de las bacterias rojas contienen tres polipéptidos designados como L, M y H. Estas proteínas, junto con una molécula de citocromo *c*, están firmemente embebidas en la membrana fotosintética (Figura 13.6) y la atraviesan varias veces (Figura 13.11). Los polipéptidos L, M y H unen dos moléculas de bacterioclorofila *a* llamadas el *par especial*, dos moléculas más de bacterioclorofila *a* que actúan en el flujo fotosintético de electrones, dos moléculas de bacteriofeofitina (bacterioclorofila *a* sin el átomo de magnesio), dos moléculas de quinona (↻ Sección 3.10) y un carotenoide (Figura 13.11). Todos los componentes del centro de reacción están integrados de manera que pueden interaccionar en reacciones de transferencia de electrones muy rápidas en las primeras etapas de la conversión de energía fotosintética.

Flujo de electrones en las bacterias rojas

Las reacciones luminosas de la fotosíntesis empiezan cuando la energía lumínica absorbida por los sistemas antena se transfiere al par especial de moléculas de bacterioclorofila *a* (Figura 13.11*a*). La luz excita el par especial y lo convierte de donador de electrones relativamente débil a uno muy fuerte (con E_0' muy electronegativo, ↻ Sección 3.6). Una vez que se ha generado este donador fuerte, los pasos restantes del flujo fotosintético de electrones son muy parecidos a los que hemos visto anteriormente en la respiración (↻ Sección 3.10 y Figura 3.20), es decir, los electrones fluyen a través de la membrana, de los portadores con potencial de reducción bajo a los

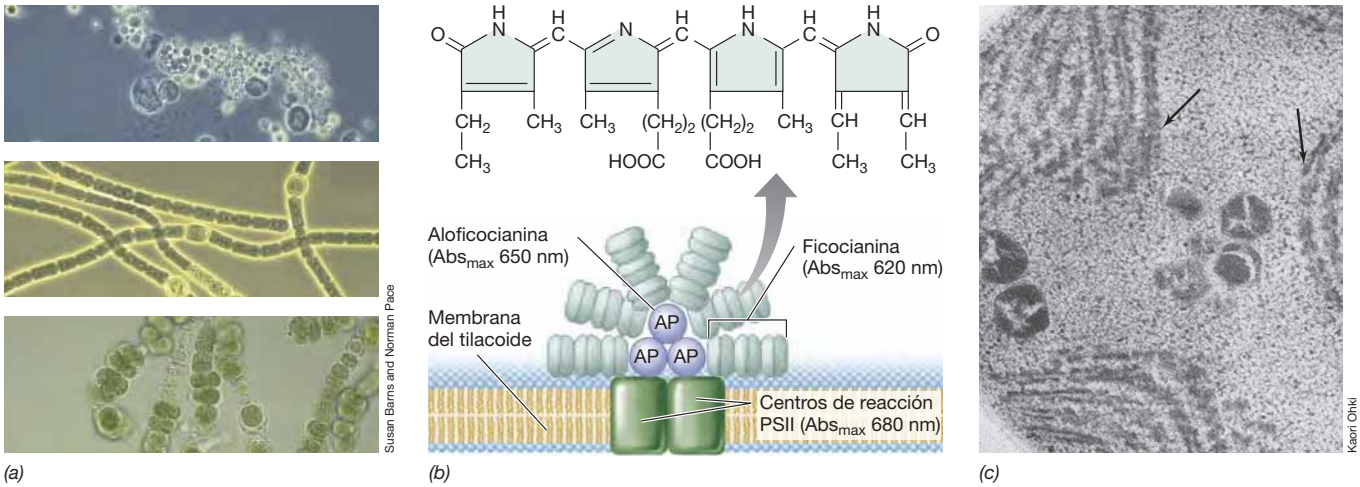


Figura 13.10 **Ficobiliproteínas y ficobilisomas.** *(a)* Micrografías ópticas de células de las cianobacterias (de arriba abajo) *Dermocarpa*, *Anabaena* y *Fischerella* en las que se ve el típico color azul verdoso de las células debido a las ficobiliproteínas. *(b)* Estructura de la ficocianina (arriba) y de un ficobilisoma. La ficocianina absorbe a energías más altas (longitudes de onda más corta) que la aloficocianina. La clorofila *a* absorbe a longitudes de onda más cortas (energías más bajas) que la aloficocianina. Por tanto, el flujo de energía es ficocianina ⟶ aloficocianina ⟶ clorofila *a* del PSII. *(c)* Micrografía electrónica de una sección fina de la cianobacteria *Synechocystis*. Obsérvense los ficobilisomas (flechas) como bolitas teñidas de color oscuro y unidas a las membranas lamelares.

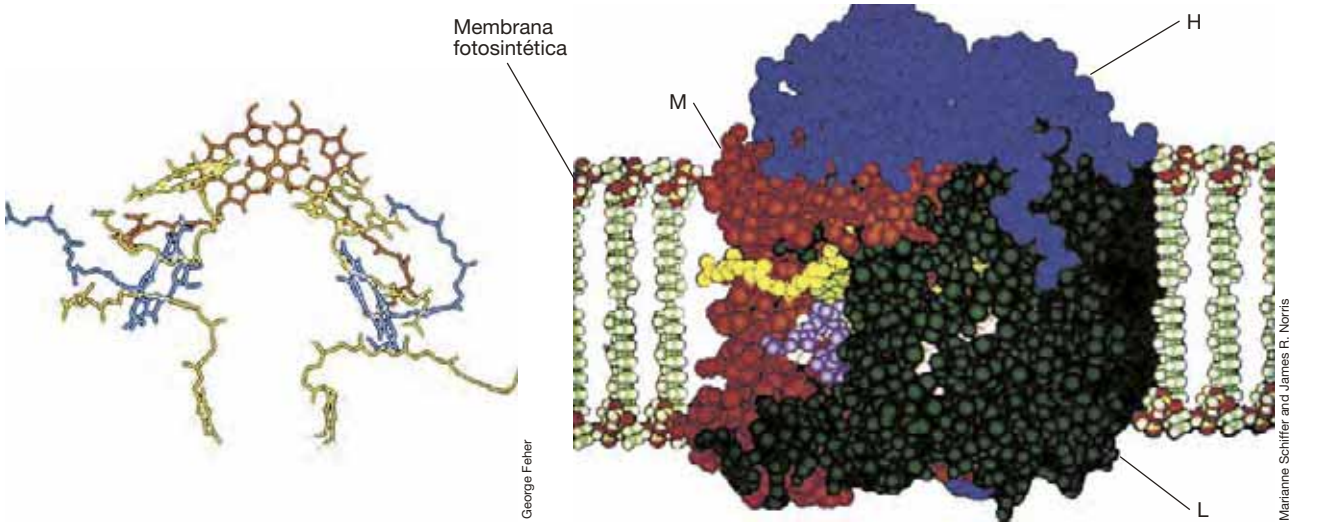
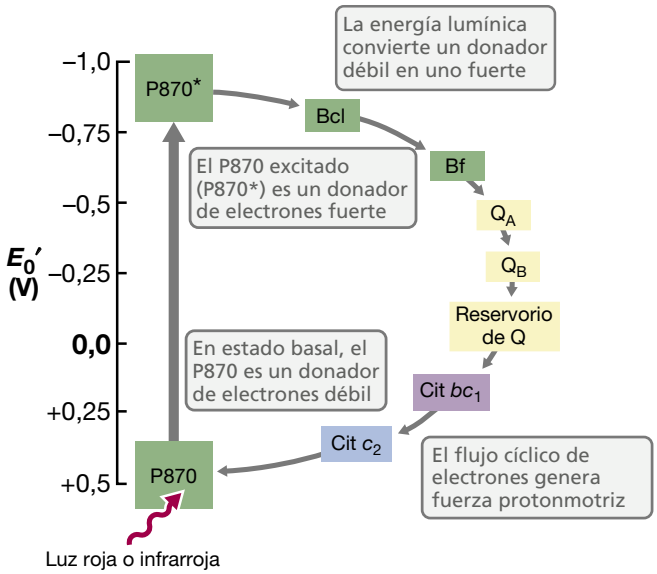


Figura 13.11 **Estructura del centro de reacción de una bacteria roja fotótrofa.** *(a)* Disposición de las moléculas de pigmento en el centro de reacción. El «par especial» de moléculas de bacterioclorofila se superponen y se muestran en naranja en la parte superior; las quinonas son de color amarillo oscuro y están en la zona inferior de la figura. Las bacterioclorofilas accesorias están coloreadas de amarillo claro cerca del par especial, y las moléculas de bacteriofeofitina se muestran en azul. *(b)* Modelo molecular de la estructura proteica del centro de reacción. Los pigmentos descritos en la parte *a* están unidos a la membrana mediante la proteína H (azul), la proteína M (roja) y la proteína L (verde). El complejo pigmento–proteína del centro de reacción está integrado en la bicapa lipídica.

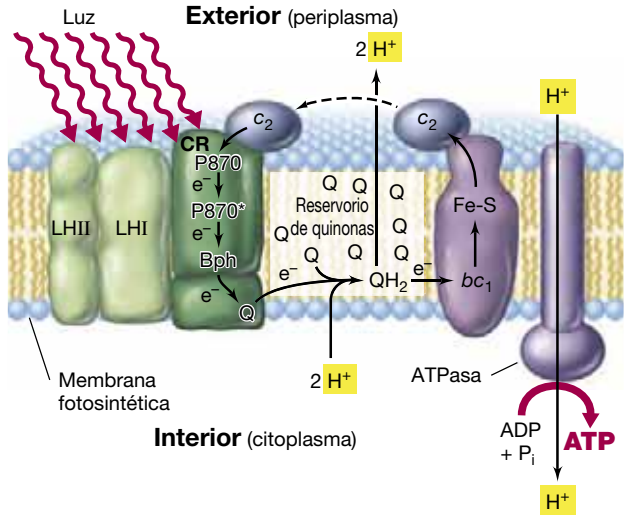
de potencial de reducción alto, y en el proceso se genera fuerza protonmotriz (Figura 13.12).

Antes de la excitación, el centro de reacción de las bacterias rojas, llamado *P870*, tiene un E_0' aproximado de +0,5 V; tras la excitación el potencial es de −1,0 V, aproximadamente (Figura 13.12*a*). Un electrón excitado de P870 reduce una molécula de bacterioclorofila *a* del centro de reacción (Figuras 13.11*a* y 13.12*a*). Esta transición tiene lugar con una rapidez portentosa, en solamente tres billonésimas de segundo (3×10^{-12}). Una vez reducida, la bacterioclorofila *a* reduce la bacteriofeofitina *a*, y esta reduce las moléculas de quinona de la membrana. Estas transiciones también son muy rápidas, ocurren en menos de una milmillonésima de segundo (Figura 13.12). Desde la quinona, los electrones se transportan más lentamente (en cuestión de milisegundos) a través de una serie de ferrosulfoproteínas y citocromos (Figura 13.12) y finalmente vuelven al centro de reacción.

En la Figura 13.12*b* se muestra el flujo de electrones en el contexto real de la membrana fotosintética. Entre las proteínas fundamentales para el transporte de electrones hay muchas que también participan en el flujo respiratorio de electrones (↻ Figura 3.20), en concreto el citocromo bc_1 y el citocromo c_2 (Figura 13.12). El citocromo c_2 es un citocromo periplasmático



(a) **Flujo de electrones en la fotosíntesis anoxigénica**



(b) **Disposición de los complejos proteínicos en el centro de reacción de la bacteria roja.**

Figura 13.12 **Flujo de electrones en la fotosíntesis anoxigénica de una bacteria roja.** *(a)* Esquema de las reacciones luminosas. Se produce una sola reacción luminosa. Bf, bacteriofeofitina; Q_A, Q_B, quinonas intermedias; reservorio de Q, reservorio de quinonas en la membrana; Cit, citocromo. *(b)* Disposición de los complejos proteínicos en el centro de reacción de la bacteria roja, que produce la fuerza protonmotriz (fotofosforilación) gracias a la acción de la ATPasa. LH, complejos de bacterioclorofila captadores de luz; CR, centro de reacción; Bf, bacteriofeofitina; Q, quinona; Fe-S, ferrosulfoproteína; bc_1, complejo del citocromo bc_1; c_2, citocromo c_2. Véase una descripción de la función ATPasa en la Sección 3.11.

(recordemos que el periplasma es la región entre la membrana citoplasmática y la membrana externa en las bacterias gramnegativas, ↻ Sección 2.11) que actúa como lanzadera de electrones entre el complejo bc_1 unido a la membrana y el centro de reacción (Figura 13.12*b*). El flujo de electrones se completa cuando el citocromo c_2 dona un electrón al par especial de bacterioclorofilas y las devuelve a su potencial de reducción basal original. Entonces el centro de reacción puede absorber nueva energía lumínica y repetir el proceso.

El ATP se sintetiza durante el flujo fotosintético de electrones mediante la actividad de la ATPasa, que acopla la fuerza protonmotriz a la síntesis de ATP (↻ Sección 3.11). Este mecanismo de síntesis de ATP recibe el nombre de **fotofosforilación**, específicamente *fotofosforilación cíclica*, porque los electrones se mueven en un ciclo cerrado. A diferencia de la respiración, donde existe un consumo neto de electrones, en la fotofosforilación cíclica no hay entrada o consumo neto de electrones; los electrones simplemente viajan por un circuito cerrado, y regresan al lugar de donde partieron (Figura 13.12).

Generación de poder reductor

Para que una bacteria roja crezca como un organismo fotoautótrofo (Sección 13.1), no es suficiente con la formación de ATP. También es necesario poder reductor (NADH) para reducir el CO_2 a material celular. El poder reductor de las bacterias rojas puede proceder de muchas fuentes, en particular de compuestos de azufre reducidos como el sulfuro de hidrógeno. Cuando el sulfuro de hidrógeno es el donador de electrones en las bacterias rojas del azufre, los glóbulos de azufre elemental (S^0) se almacenan en el interior de la célula (Figura 13.1). Cuando se forma S^0, los electrones terminan en el «reservorio de quinonas» (Figura 13.12). No obstante, el potencial de reducción de las quinonas (aproximadamente 0 V) no es lo bastante electronegativo para reducir el NAD^+ (−0,32 V), de manera que los electrones del reservorio de quinonas deben volver atrás (en contra del gradiente electroquímico) para reducir NAD^+ a NADH (véase la Figura 13.13). Este proceso, llamado **transporte inverso de electrones**, necesita energía y está impulsado por la energía de la fuerza protonmotriz. Veremos más adelante que el flujo inverso de electrones también es el mecanismo por el que los quimiolitótrofos obtienen poder reductor para la fijación de CO_2; en muchos de estos casos, los electrones proceden de donadores de electrones con potenciales de reducción bastante positivos (Secciones 13.6 a 13.10).

Flujo fotosintético de electrones en otros fotótrofos anoxigénicos

Hasta aquí nos hemos centrado en el flujo de electrones en las bacterias rojas. Aunque en otros fotótrofos anoxigénicos la fotofosforilación está impulsada por reacciones análogas asociadas a membrana, existen diferencias significativas en los detalles. El centro de reacción de las bacterias verdes no del azufre y el de las bacterias rojas son estructuralmente bastante parecidos, pero se diferencian de los centros de reacción de las bacterias verdes del azufre y las heliobacterias, y esto se refleja en diferencias en el flujo cíclico de electrones.

En la **Figura 13.13** se comparan los flujos fotosintéticos de electrones en las bacterias rojas y verdes y en las heliobacterias. obsérvese que en las bacterias verdes del azufre y en las heliobacterias el estado excitado de las bacterioclorofilas del centro de reacción es significativamente más electronegativo que en las bacterias rojas, y que la clorofila *a* (bacterias verdes) o una

UNIDAD 3

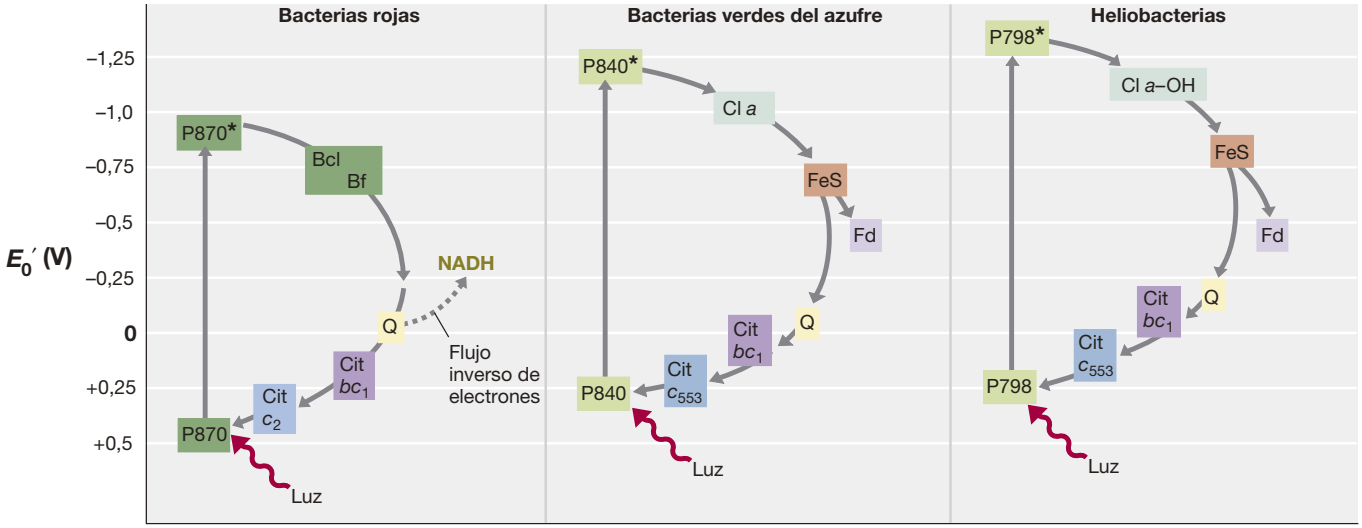


Figura 13.13 Comparación del flujo de electrones en las bacterias rojas, las bacterias verdes del azufre y las heliobacterias. En las bacterias rojas el flujo inverso de electrones es necesario para producir NADH porque el aceptor primario (una quinona, Q) tiene un potencial más positivo que el par NAD^+/NADH. En las bacterias verdes y las heliobacterias, la ferredoxina (Fd), cuyo E_0' es más negativo que el del NADH, es producida por reacciones reguladas por la luz para cubrir necesidades de poder reductor. Bcl, bacterioclorofila; Bf, bacteriofeofitina. P870 y P840 son centros de reacción de las bacterias rojas y verdes, respectivamente, y están formados por Bcl *a*. El centro de reacción de las heliobacterias (P798) contiene Bcl *g*, y el centro de reacción de *Chloroflexus* es del tipo del de las bacterias rojas. Obsérvese que las formas de clorofila *a* están presentes en los centros de reacción de las bacterias verdes y las heliobacterias.

forma estructuralmente modificada de clorofila *a* (hidroxiclorofila *a*) (heliobacterias) está presente en el centro de reacción. Así, a diferencia de las bacterias rojas, donde el primer aceptor estable (una quinona) tiene un potencial de reducción aproximado de 0 V (Figura 13.12*a*), los aceptores en las bacterias verdes y las heliobacterias son ferrosulfoproteínas que tienen un potencial de reducción mucho más electronegativo que el NADH, de modo que no es necesario el flujo inverso de electrones en las bacterias verdes del azufre ni en las heliobacterias. En las bacterias verdes del azufre el donador de electrones directo para la fijación de CO_2 (Sección 13.5) es una proteína llamada *ferredoxina* ($E_0' = -0{,}4$ V). Cuando el sulfuro de hidrógeno es la fuente de poder reductor en las bacterias verdes o rojas del azufre, se producen glóbulos de S^0 a partir de la oxidación del sulfuro de hidrógeno. En las bacterias verdes, los glóbulos se quedan fuera de la célula, pero en las bacterias rojas del azufre permanecen en el interior (Figura 13.1). En ambos casos, con el tiempo el S^0 desaparece, a medida que se va oxidando a sulfato (SO_4^{2-}) para generar más poder reductor para la fijación de CO_2.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué paralelismos existen entre los procesos de fotofosforilación y fosforilación oxidativa?
- ¿Qué es el flujo inverso de electrones y por qué es necesario? ¿Qué fotótrofos lo necesitan?
- Explique qué significa que la clorofila *a* no se encuentra solo en los fotótrofos oxigénicos.

13.4 Fotosíntesis oxigénica

A diferencia del flujo fotosintético de electrones de los fotótrofos *anoxigénicos*, en los fotótrofos *oxigénicos* los electrones fluyen a través de dos fotosistemas distintos llamados *fotosistema I* (*PSI* o *P700*) y *fotosistema II* (*PSII* o *P680*). Al igual que en la fotosíntesis anoxigénica, las reacciones luminosas en la fotosíntesis oxigénica se producen en fotocomplejos embebidos en membranas. En las células eucariotas, las membranas están en el cloroplasto (Figura 13.5), mientras que en las cianobacterias están apiladas en el citoplasma (Figura 13.10*c*).

Flujo de electrones y síntesis de ATP en la fotosíntesis oxigénica

El PSI y el PSII interaccionan, como se ve en la **Figura 13.14**, siguiendo el «esquema Z» de la fotosíntesis, llamado así porque la ruta recuerda a la letra Z tumbada. El potencial de reducción de la molécula de clorofila *a* del P680 en el PSII es muy electropositivo, incluso más que el del par O_2/H_2O. Esto es necesario para que se pueda dar el primer paso del flujo de electrones, que es la escisión del agua en oxígeno y electrones (Figura 13.14). La energía lumínica convierte el P680 en un reductor fuerte que reduce la feofitina *a* (clorofila *a* sin el átomo de magnesio), que es una molécula con un potencial de reducción aproximado de −0,5 V. A continuación el H_2O dona un electrón a la molécula oxidada de P680 y lo devuelve a su poder de reducción basal. El electrón viaja desde la feofitina a través de varios transportadores de membrana de potencial de reducción positivo creciente que son quinonas, citocromos y una proteína que contiene cobre llamada *plastocianina*; esta última dona el electrón al centro de reacción PSI. El electrón es aceptado por el P700 del PSI, que previamente ha absorbido energía lumínica y ha donado un electrón que, con el tiempo, provocará la reducción de $NADP^+$. Los electrones viajan a través de varios intermediarios en PSI y terminan con la reducción de $NADP^+$ a NADPH (Figura 13.14).

Además de la síntesis neta de NADPH, tienen lugar otros procesos importantes mientras los electrones fluyen del PSII al PSI. Las reacciones de transporte electrónico generan una

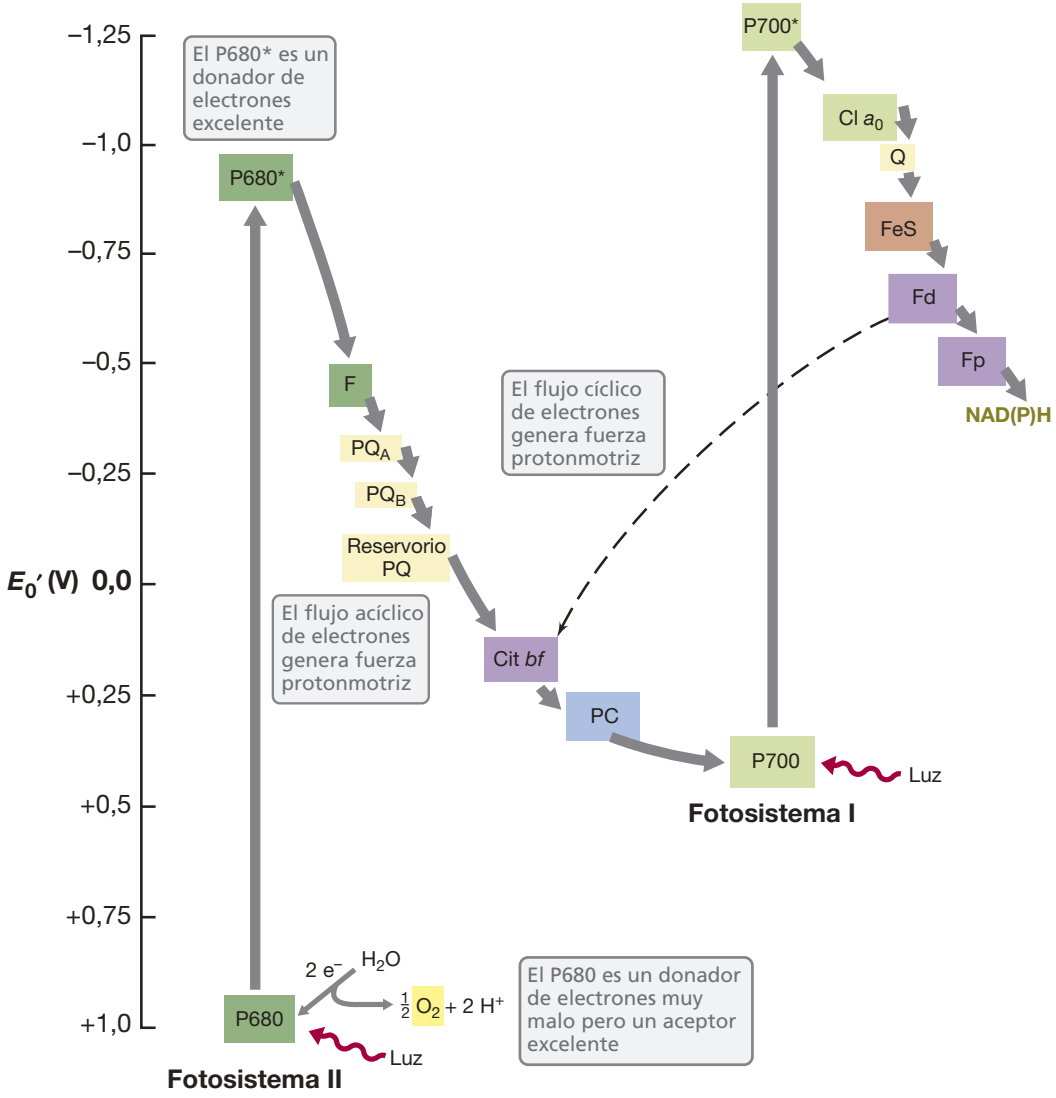


Figura 13.14 **Flujo de electrones en la fotosíntesis oxigénica, el esquema «Z».** Los electrones fluyen a través de dos fotosistemas, PSI y PSII. F, feofitina; Q, quinona, Cl, clorofila; Cit, citocromo, PC, plastocianina; FeS, ferrosulfoproteína no hémica; Fd, ferredoxina; Fp, flavoproteína; P680 y P700 son las clorofilas de los centros de reacción de PSII y PSI, respectivamente. Compárese con la Figura 13.12.

fuerza protonmotriz que utiliza la ATPasa para producir ATP. Este mecanismo de síntesis de ATP recibe el nombre de *fotofosforilación no cíclica*, porque los electrones no completan el ciclo para reducir el P680 oxidado, sino que se usan en la reducción de $NADP^+$. No obstante, cuando hay mucho poder de reducción, los fotótrofos oxigénicos también pueden producir ATP mediante *fotofosforilación cíclica*. Esto ocurre cuando, en lugar de reducir $NADP^+$, los electrones del PSI que normalmente reducirían la ferredoxina vuelven a la cadena de transporte de electrones que conecta el PSII con el PSI. De esta manera, estos electrones también generan una fuerza protonmotriz que favorece la síntesis de más ATP (línea de puntos en la Figura 13.14).

Fotosíntesis anoxigénica en los fotótrofos oxigénicos

Los fotosistemas I y II funcionan normalmente en tándem en la fotosíntesis oxigénica. No obstante, si se bloquea la actividad del PSII, algunos fotótrofos oxigénicos pueden llevar a cabo la fotosíntesis usando solamente el PSI. En estas condiciones, se produce la fotofosforilación cíclica, pero no la no cíclica (Figura 13.14), y el poder reductor para la reducción de CO_2 se obtiene de fuentes diferentes al agua. En resumen, se trata de fotosíntesis anoxigénica que se produce en fotótrofos oxigénicos.

En estas condiciones, muchas cianobacterias pueden utilizar sulfuro de hidrógeno (H_2S) como donador de electrones y muchas algas verdes pueden utilizar hidrógeno elemental. Cuando se usa sulfuro de hidrógeno, este se oxida a azufre elemental (S^0), y en el exterior de las células de las cianobacterias se depositan gránulos de azufre semejantes a los producidos por las bacterias verdes del azufre (Figura 13.1). En la **Figura 13.15** se muestra un ejemplo de esto con la cianobacteria filamentosa *Oscillatoria limnetica*. Este organismo vive en lagos salinos anóxicos donde oxida el sulfuro y lleva a cabo la fotosíntesis anoxigénica junto con las bacterias verdes y rojas.

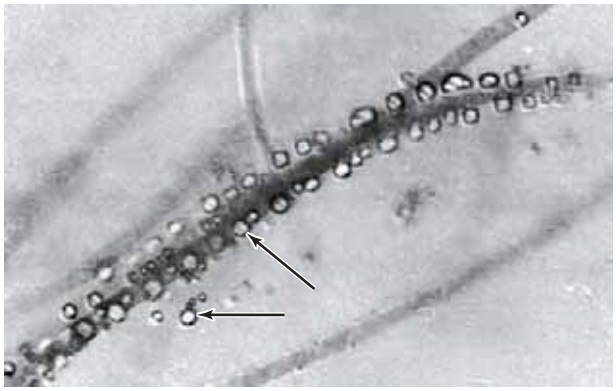


Figura 13.15 **Oxidación de H_2S por *Oscillatoria limnetica*.** Obsérvense los glóbulos de azufre elemental (flechas), que son el producto de oxidación del sulfuro de hidrógeno, formados en el exterior de las células. *Oscillatoria limnetica* realiza fotosíntesis oxigénica, pero en presencia de sulfuro de hidrógeno las células revierten al proceso anoxigénico.

Desde un punto de vista evolutivo, la presencia de fotofosforilación cíclica tanto en los fotótrofos oxigénicos como en los anoxigénicos es una de las muchas señales de su estrecha relación. Se pueden encontrar más pruebas de relaciones evolutivas entre fotótrofos en el hecho de que la estructura de los centros de reacción fotosintéticos de las bacterias rojas y las bacterias verdes no del azufre recuerda la del PSII, mientras que la estructura de los centros de reacción de las bacterias verdes del azufre y las heliobacterias se parece a la del PSI. Puesto que hay pruebas claras de que las bacterias rojas y verdes precedieron a las cianobacterias al menos en quinientos millones de años (↻ Sección 12.2), está claro que la fotosíntesis anoxigénica fue la primera forma de fotosíntesis en la Tierra. Los inventos evolutivos fundamentales de las cianobacterias fueron conectar las dos formas de centros de reacción (como PSI y PSII) y desarrollar la capacidad para usar agua como donador de electrones para la fotosíntesis.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cuál es la diferencia entre el flujo de electrones cíclico y el acíclico en la fotosíntesis oxigénica?
- ¿Cuál es la función fundamental de la energía lumínica en la etapa inicial de las reacciones fotosintéticas luminosas?
- ¿Qué pruebas hay de que la fotosíntesis anoxigénica y la oxigénica son procesos relacionados?

13.5 Rutas autótrofas

La *autotrofia* es el proceso por el cual una forma de carbono de poca energía y muy oxidada —el CO_2— es reducida y asimilada como material celular. Muchos microorganismos son autótrofos, incluidos prácticamente todos los fotótrofos y quimiolitótrofos. Aquí nos centraremos en la autotrofia de los fotótrofos, donde se encuentra la mayor diversidad metabólica.

El ciclo de Calvin

Se conocen varias rutas autótrofas, pero el **ciclo de Calvin** es la más frecuente en la naturaleza. El ciclo de Calvin está presente en las bacterias rojas, las cianobacterias, las algas, las plantas verdes, la mayoría de las bacterias quimiolitótrofas y algunas arqueas. Este ciclo necesita CO_2 y una molécula aceptora de CO_2, NAD(P)H, ATP y dos enzimas clave, la *ribulosa-carboxilasa difosfato* y la *fosforribulocinasa*.

El primer paso del ciclo de Calvin está catalizado por la enzima ribulosa-carboxilasa difosfato, o **rubisco**. La rubisco cataliza la formación de dos moléculas de ácido 3-fosfoglicérico (PGA, del inglés *3-phosphoglyceric acid*) a partir de ribulosa difosfato y CO_2, como se muestra en la **Figura 13.16**. A continuación el PGA es fosforilado y reducido a un intermediario fundamental en la glicólisis, el gliceraldehído 3-fosfato. A partir de este se puede formar glucosa mediante inversión de las primeras etapas de la glicólisis (↻ Figura 3.14).

En lugar de centrarnos en la incorporación de una sola molécula de CO_2, lo más fácil es considerar las reacciones del ciclo de Calvin en función de la incorporación de 6 moléculas de CO_2, que son las necesarias para formar una hexosa ($C_6H_{12}O_6$). Para que la rubisco incorpore 6 moléculas de CO_2 son necesarias 6 moléculas de ribulosa difosfato (en total, 30 carbonos); la carboxilación de estas produce 12 moléculas de PGA (en total, 36 átomos de carbono), (**Figura 13.17**) las cuales, después, forman los esqueletos de carbono para la síntesis de 6 moléculas de ribulosa difosfato (en total, 30 carbonos) más una hexosa (6 carbonos) para la biosíntesis celular. A esto le siguen una serie de redistribuciones bioquímicas entre varios azúcares que tienen como resultado 6 moléculas de ribulosa 5-fosfato (30 carbonos). La etapa final del ciclo de Calvin es la fosforilación de cada una de estas moléculas por la enzima fosforribulocinasa (Figuras 13.16*b* y 13.17) para regenerar 6 moléculas de aceptor, la ribulosa difosfato. En total, para sintetizar una glucosa a partir de 6 CO_2 en el ciclo de Calvin son necesarios *12 NADPH y 18 ATP*.

Carboxisomas

Diversos autótrofos que utilizan el ciclo de Calvin producen inclusiones celulares poliédricas llamadas **carboxisomas**. Estas inclusiones, con un diámetro de unos 100 nm, están rodeadas por una membrana proteica fina y consisten en una formación cristalina constituida por unas 250 moléculas de rubisco (**Figura 13.18**) por cada carboxisoma.

Los carboxisomas son una forma de concentrar CO_2 en la célula y que esté rápidamente disponible para la rubisco. El carbono inorgánico incorporado a la célula en forma de bicarbonato (HCO_3^-) entra en el carboxisoma como CO_2 gracias a la actividad de una segunda enzima del carboxisoma, la *anhidrasa carbónica*. El CO_2 (y no el HCO_3^-) es el sustrato real de la rubisco, y una vez dentro del carboxisoma, es atrapado y queda listo para su incorporación en la primera etapa del ciclo de Calvin. El carboxisoma también actúa restringiendo el acceso de la rubisco al O_2, un sustrato alternativo para esta enzima, lo que asegura que la rubisco carboxile la ribulosa difosfato (Figura 13.16*a*), en lugar de oxigenarlo. Si la ribulosa 1,5-difosfato se oxigena, se necesita más energía y poder de reducción para incorporarla a la ruta metabólica central que si es carboxilada.

Autotrofia en las bacterias verdes

A pesar de ser autótrofos, el ciclo de Calvin no funciona en las bacterias verdes del azufre, ni en las verdes no del azufre. Estos

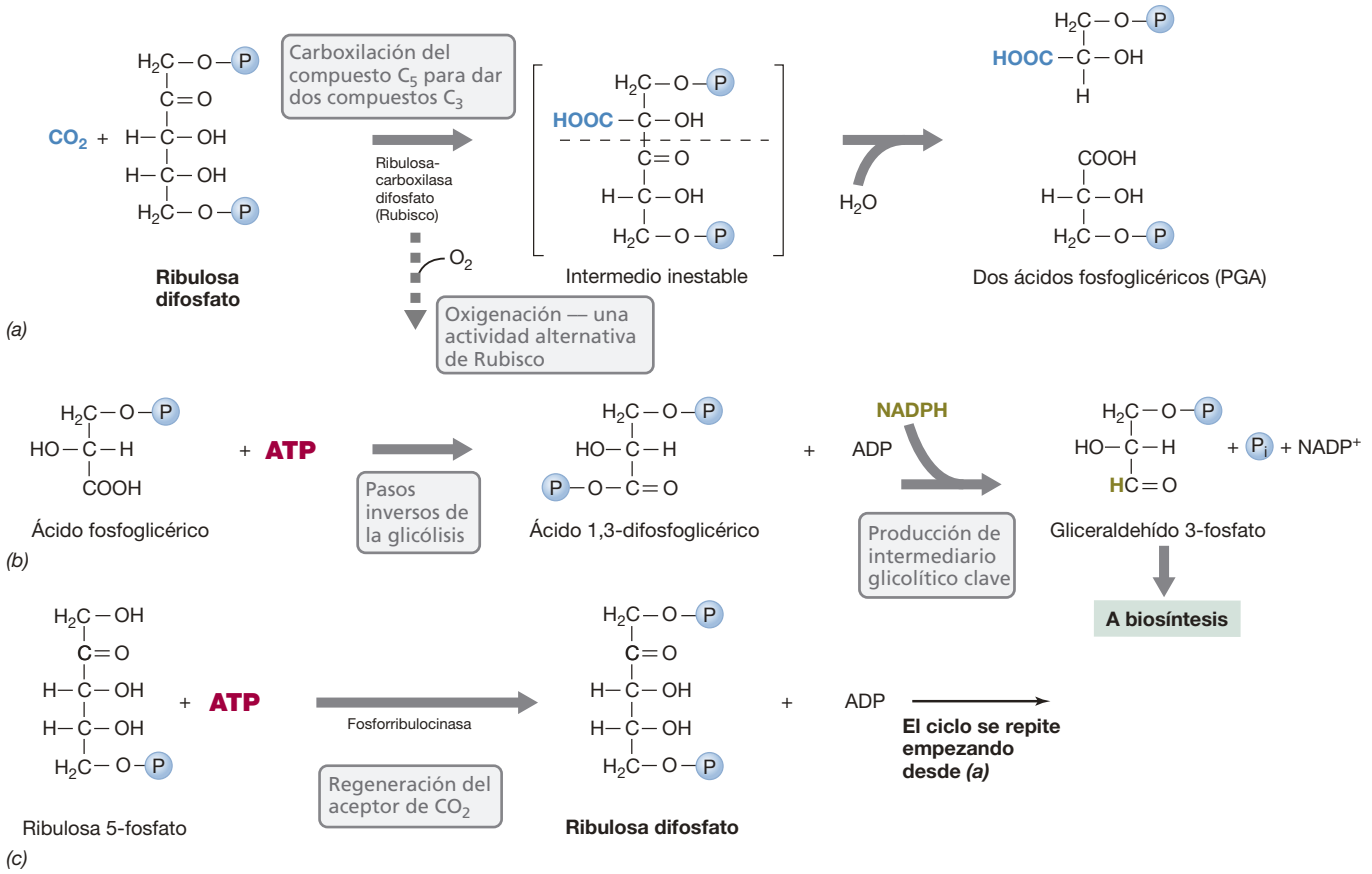


Figura 13.16 **Reacciones fundamentales del ciclo de Calvin.** *(a)* Reacción de la enzima ribulosa-carboxilasa difosfato. *(b)* Etapas de la conversión de ácido 3-fosfoglicérico (PGA) a gliceraldehído 3-fosfato. Obsérvese que son necesarios ATP y NADPH. *(c)* Conversión de la ribulosa 5-fosfato a la molécula aceptora de CO_2, ribulosa 1,5-difosfato, por la enzima fosforribulocinasa.

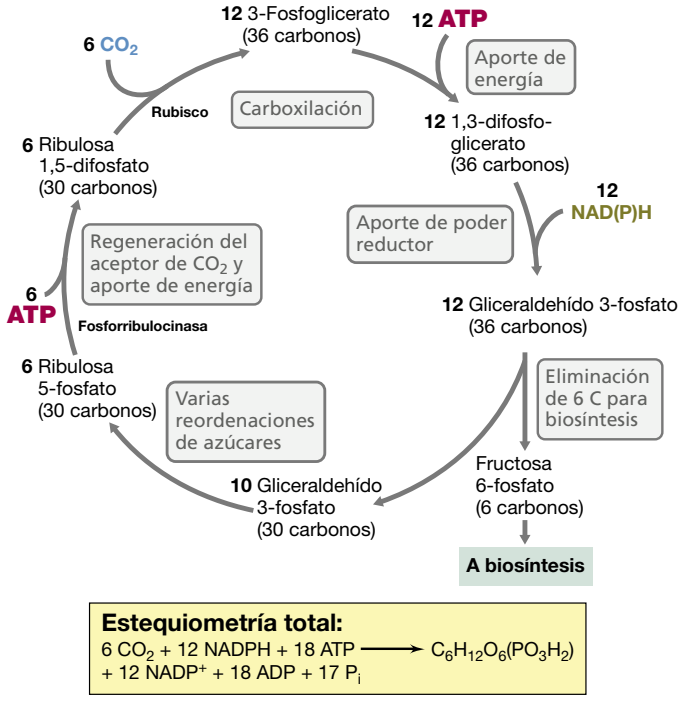


Figura 13.17 **El ciclo de Calvin.** Se muestra la producción de una molécula de hexosa a partir de CO_2. Por cada seis moléculas de CO_2 incorporadas se produce una de fructosa 6-fosfato. En los fotótrofos, el ATP procede de la fotofosforilación y el NAD(P)H de la luz o del flujo inverso de electrones.

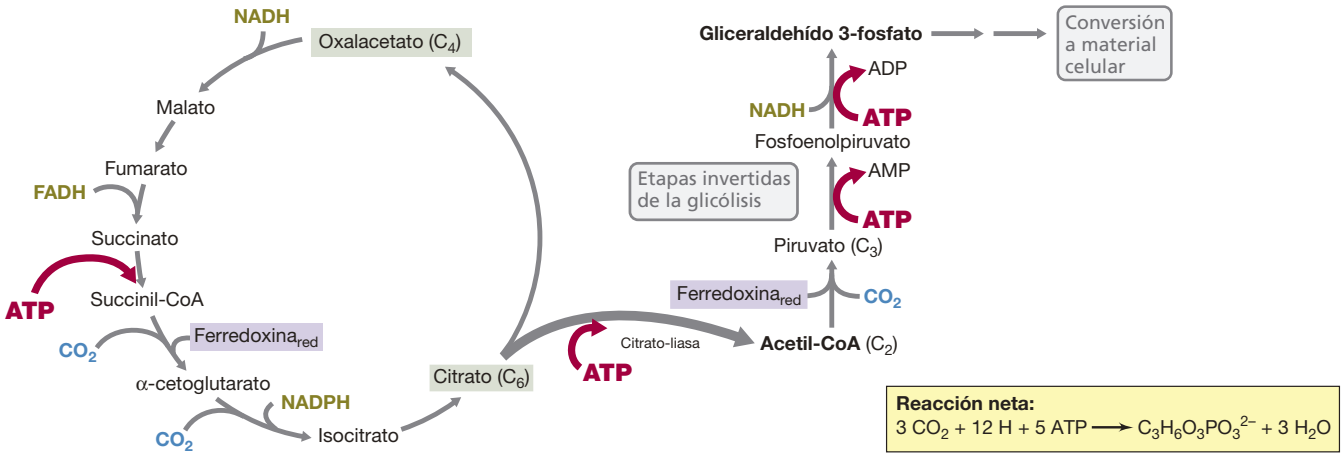


Figura 13.18 **Enzimas cristalinas del ciclo de Calvin: carboxisomas.** Micrografía electrónica de carboxisomas purificados del quimiolitótrofo oxidador de azufre *Halothiobacillus neapolitanus*. Las estructuras tienen un diámetro de unos 100 nm. Los carboxisomas están presentes en una gran variedad de procariotas autótrofos aerobios estrictos.

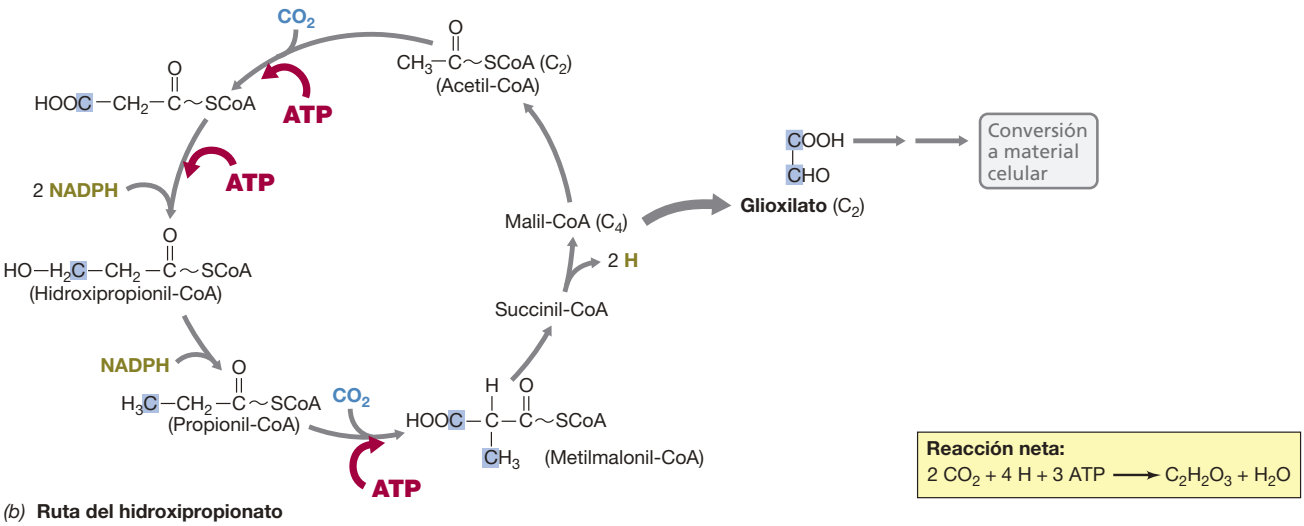
organismos, en cambio, cuentan con dos nuevas rutas autótrofas, una en cada grupo. Las bacterias verdes del azufre como *Chlorobium* (Figura 13.1) fijan CO_2 mediante los pasos inversos del ciclo del ácido cítrico, una ruta llamada **ciclo del ácido cítrico inverso** (Figura 13.19*a*). Esta ruta requiere la actividad de dos enzimas unidas a ferredoxina que catalizan la fijación reductora de CO_2; la ferredoxina se produce en las reacciones luminosas de las bacterias verdes del azufre (Figura 13.13).

La ferredoxina es un donador de electrones con un potencial de reducción muy electronegativo, de unos −0,4 V. Las dos reacciones con ferredoxina catalizan (1) la carboxilación de succinil-CoA a α-cetoglutarato, y (2) la carboxilación de acetil-CoA a piruvato (Figura 13.19*a*). La mayoría de las reacciones restantes del ciclo del ácido cítrico inverso son catalizadas por enzimas que trabajan en sentido inverso al ciclo oxidativo normal. Una excepción es la *citrato-liasa*, una enzima dependiente de ATP que corta el citrato en acetil-CoA y oxalacetato (Figura 13.19*a*). En el sentido oxidativo del ciclo, el citrato es producido por la enzima *citrato-sintasa* (↔ Figura 3.22).

El ciclo del ácido cítrico inverso opera también en algunos autótrofos no fotótrofos. Por ejemplo, los hipertermófilos *Thermoproteus* y *Sulfolobus* (*Archaea*; Sección ↔ 16.10) y *Aquifex*



(a) **Ciclo del ácido cítrico inverso**



(b) **Ruta del hidroxipropionato**

Figura 13.19 **Rutas autótrofas exclusivas de las bacterias verdes fotótrofas.** *(a)* El ciclo del ácido cítrico inverso es el mecanismo de fijación de CO_2 de las bacterias verdes del azufre. Ferredoxina$_{red}$ indica las reacciones de carboxilación que necesitan ferredoxina reducida (2 H cada una). Empezando desde el oxalacetato, en cada vuelta del ciclo se incorporan tres moléculas de CO_2 y se produce piruvato. *(b)* La ruta del hidroxipropionato es la ruta autotrófica de la bacteria verde no del azufre *Chloroflexus*. El acetil-CoA se carboxila dos veces para producir metilmalonil-CoA. Este producto intermedio es reorganizado para dar una nueva molécula de acetil-CoA aceptora y una molécula de glioxilato, que se convierte en material celular.

(*Bacteria*; ↻ Sección 15.19) usan el ciclo del ácido cítrico inverso, al igual que algunas bacterias quimiolitótrofas como *Thiomicrospira*. Por tanto, esta ruta inicialmente descubierta en las bacterias verdes del azufre y que se creía exclusiva de estos fotótrofos, probablemente esté distribuida entre varios grupos de procariotas autótrofos.

Autotrofia en *Chloroflexus*

El fotótrofo verde no del azufre *Chloroflexus* (↻ Sección 14.7) crece autotrofiamente con hidrógeno o sulfuro de hidrógeno como donadores de electrones. Sin embargo, ni el ciclo de Calvin ni el ciclo del ácido cítrico inverso funcionan en este organismo. En cambio, dos moléculas de CO_2 se reducen a glioxilato en la **ruta del hidroxipropionato**. Esta ruta tiene este nombre porque el hidroxipropionato, un compuesto de tres átomos de carbono, es un intermediario fundamental (Figura 13.19*b*).

Entre las bacterias fotótrofas, la ruta del hidroxipropionato se ha encontrado en *Chloroflexus*, del que se piensa que fue uno de los primeros fotótrofos de la Tierra. Esto sugiere que la ruta del hidroxipropionato podría haber sido uno de los primeros mecanismos, si no *el primero*, de autotrofia en los fotótrofos anoxigénicos. Además de *Chloroflexus*, la ruta del hidroxipropionato funciona en varias arqueas hipertermófilas como *Metallosphaera*, *Acidianus* y *Sulfolobus*, que son todos quimiolitótrofos que se encuentran cerca de la base del árbol filogenético de *Archaea* (Capítulo 16). Así pues, las raíces evolutivas de la ruta del hidroxipropionato pueden ser muy profundas, y es posible que esta ruta fuera el primer intento de autotrofia de la naturaleza.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué reacciones cataliza la enzima rubisco?
- ¿Cuánto NADPH y ATP es necesario para sintetizar una hexosa mediante el ciclo de Calvin?
- ¿Qué es un carboxisoma y cuál es su función?
- Compare la autotrofia de los siguientes fotótrofos: cianobacterias, bacterias rojas y verdes del azufre, y *Chloroflexus*.

UNIDAD 3

II • Quimiolitotrofia

Volvemos ahora nuestra atención desde los fotótrofos a los quimiolitótrofos para analizar las estrategias, los problemas y las ventajas de un estilo de vida dependiente de compuestos inorgánicos como fuentes de energía. Desde un punto de vista evolutivo, la quimiolitotrofia puede haber sido la primera forma de fijación de la energía que se desarrolló en la Tierra, ya que está extendida entre linajes que se encuentran cerca de la base de los árboles filogenéticos tanto de *Bacteria* como de *Archaea* (Figuras 1.6*b*, 12.13 y 16.1).

13.6 Compuestos inorgánicos como donadores de electrones

Los organismos que obtienen la energía de la oxidación de los compuestos inorgánicos se llaman **quimiolitótrofos**. La mayoría de las bacterias quimiolitótrofas son también autótrofas. Como ya hemos apuntado con los fotótrofos, para crecer con CO_2 como única fuente de carbono, un organismo necesita (1) ATP y (2) poder reductor. Algunos quimiolitótrofos crecen como **mixótrofos**, lo que significa que si bien pueden obtener energía de la oxidación de un compuesto inorgánico, necesitan compuestos orgánicos como fuente de carbono (es decir, que *no* son autótrofos).

Donadores inorgánicos y generación de ATP

Los quimiolitótrofos pueden utilizar muchas fuentes naturales de donadores inorgánicos de electrones, tanto geológicas como biológicas y antropogénicas (es decir, resultantes de la actividad humana). La actividad volcánica es una fuente importante de compuestos de azufre reducido, principalmente sulfuro de hidrógeno (H_2S) y azufre fundamental (S^0). La agricultura y la minería añaden donadores inorgánicos de electrones al ambiente, sobre todo compuestos de nitrógeno y hierro reducidos, al igual que lo hacen la combustión de combustibles fósiles y los residuos industriales. Las fuentes biológicas también son muchas, especialmente en lo que respecta a sulfuro de hidrógeno, hidrógeno, hierro ferroso y amoniaco. El éxito ecológico y la diversidad metabólica de los quimiolitótrofos son una buena señal de la diversidad y la abundancia de las fuentes inorgánicas de donadores de electrones en la naturaleza. No obstante, la energía obtenida de la oxidación de estos donadores varía considerablemente (**Tabla 13.1**).

En términos generales, la generación de ATP en los quimiolitótrofos es similar a la de los quimioorganótrofos respiradores excepto en que el donador de electrones es *inorgánico* en lugar de *orgánico*. Al igual que ocurre con la oxidación de los compuestos orgánicos, los electrones procedentes de donadores inorgánicos entran en las cadenas de transporte electrónico y generan una fuerza protonmotriz. A continuación, las ATPasas activan la síntesis de ATP (↻ Sección 3.11). El poder reductor de los quimiolitótrofos se obtiene de dos maneras: directamente del compuesto inorgánico (si tiene un potencial de reducción suficientemente negativo, como el H_2) o a partir de las reacciones de transporte inverso de electrones (como se vio en la Sección 13.3 para las bacterias rojas fotótrofas), si el donador inorgánico de electrones es más electropositivo que el NADH. Como veremos, la mayoría de los quimiolitótrofos necesitan el transporte inverso de electrones, ya que sus donadores de electrones son electroquímicamente negativos.

Energética de la quimiolitotrofia

Una revisión de los potenciales de reducción de la Tabla 13.1 pone de manifiesto que la oxidación de una serie de donadores inorgánicos de electrones puede proporcionar energía suficiente para la síntesis de ATP.

Recordemos del Capítulo 3 que cuanto más lejos están dos semirreacciones en términos del potencial de reducción de sus pares redox, mayor es la cantidad de energía liberada (↻ Figura 3.9). Por ejemplo, la diferencia en el potencial de

Tabla 13.1 Producción de energía en la oxidación de varios donadores inorgánicos de electrones[a]

Donador de electrones	*Reacción quimiolitótrofa*	*Grupo de quimiolitótrofos*	*E_0' del par (V)*	*$\Delta G^{0\prime}$ (kJ/reacción)*	*Número de electrones/ reacción*	*$\Delta G^{0\prime}$ (kJ/2 e^-)*
Fosfito[b]	$4\ HPO_3^{2-} + SO_4^{2-} + H^+ \rightarrow 4\ HPO_4^{2-} + HS^-$	Bacterias del fosfito	–0,69	–364	8	–91
Hidrógeno[b]	$H_2 + \frac{1}{2}\ O_2 \rightarrow H_20$	Bacterias del hidrógeno	–0,42	–237,2	2	–237,2
Sulfuro[b]	$HS^- + H^+ + \frac{1}{2}\ O_2 \rightarrow S^0 + H_2O$	Bacterias del azufre	–0,27	–209,4	2	–209,4
Azufre[b]	$NH_4 + 1\frac{1}{2}\ O_2 \rightarrow NO_2^- + 2\ H^+ + H_2O$	Bacterias del azufre	–0,20	–587,1	6	–195,7
Amonio[c]	$NO_2^- + \frac{1}{2}\ O_2 \rightarrow NO_3^-$	Bacterias nitrificantes	+0,34	–274,7	6	–91,6
Nitrito[b]	$Fe^{2+} + H^+ + \frac{1}{4}\ O_2 \rightarrow Fe^{3+} + \frac{1}{2}\ H_2O$	Bacterias nitrificantes	+0,43	–74,1	2	–74,1
Hierro ferroso[b]		Bacterias del hierro	+0,77	–32,9	1	–65,8

[a]Datos calculados a partir de los valores E_0' del Apéndice 1; los valores para Fe^{2+} son a pH 2, y el resto a pH 7. A pH 7 el valor del par Fe^{3+}/Fe^{2+} es de unos +0,2 V.
[b]Excepto para el fosfito, todas las reacciones se muestran acopladas al O_2 como aceptor de electrones. El único oxidador de fosfito conocido se acopla al sulfato SO_4^{2-} como aceptor de electrones. El hidrógeno y la mayoría de los compuestos de azufre se pueden oxidar anaerobiamente usando uno o más aceptores de electrones, y el hierro ferroso se puede oxidar a pH neutro con nitrato como aceptor de electrones. Para otras reacciones de los quimiolitótrofos con compuestos de azufre, véase la Tabla 13.2.
[c]El amonio también se puede oxidar con nitrito como aceptor de electrones (anamox, Sección 13.10).

reducción entre el par $2\ H^+/H_2$ y el par $\frac{1}{2}O_2/H_2O$ es de 1,23 V, que es equivalente a una energía libre de −237 kJ/mol (en el Apéndice 1 se indica cómo se calculan los valores de energía libre). Por otra parte, la diferencia de potencial entre el par $2\ H^+/H_2$ y el par NO_3^-/NO_2^- es menor, 0,84 V, equivalente a una energía libre de −163 kJ/mol, que sigue siendo suficiente para la producción de ATP (el enlace fosfato de alta energía del ATP tiene una energía libre de −31,8 kJ/mol). Por tanto, en las reacciones quimiolitótrofas se pueden acoplar varios donadores y aceptores terminales inorgánicos de electrones (véase la Figura 13.39).

Los cálculos de energía hacen posible predecir los tipos de quimiolitótrofos que existen en la naturaleza. Como los organismos deben obedecer las leyes de la termodinámica, solo las reacciones exergónicas son potenciales reacciones de fijación de la energía, y en la Tabla 13.1 se enumeran todas las clases conocidas de quimiolitótrofos. En el Capítulo 20 examinaremos los aspectos ecológicos de la quimiolitotrofia, y veremos que las reacciones quimiolitótrofas forman el núcleo de la mayoría de los ciclos de nutrientes.

A partir de la Tabla 13.1 parece claro que, de los organismos enumerados, las bacterias del hidrógeno son las que obtienen más energía por cada dos electrones oxidados, y las bacterias del hierro son las que obtienen menos. Dicho de otro modo: las bacterias del hidrógeno oxidan un donador de electrones muy fuerte, mientras que las bacterias del hierro oxidan un donador muy débil. Estas diferencias entran en juego no solo en términos de cuánto ATP se puede producir por cada par de electrones oxidados, sino también en cuanto al costo energético de obtener NADH para el crecimiento autótrofo. Para las bacterias del hidrógeno, este costo puede ser cero, mientras que para las bacterias del hierro el gasto es importante, como veremos en la Sección 13.9.

MINIRREVISIÓN

- ¿Con qué dos finalidades los quimiolitótrofos oxidan compuestos inorgánicos?
- ¿Por qué la oxidación de hidrógeno produce más energía con oxígeno como aceptor de electrones que con sulfato?

13.7 Oxidación del hidrógeno (H_2)

El hidrógeno (H_2) es un producto habitual del metabolismo microbiano, especialmente de algunas fermentaciones (Secciones 13.12 a 13.15), y algunos quimiolitótrofos *aerobios* son capaces de usarlo como donador de electrones en el metabolismo energético; se trata de las clásicas «bacterias del hidrógeno». Además, se conocen muchas bacterias y arqueas *anaerobias* oxidadoras de hidrógeno que se diferencian en el aceptor de electrones que utilizan (por ejemplo nitrato, sulfato, hierro férrico, CO_2); estos organismos se estudian en la Unidad IV de este capítulo. Aquí nos centraremos en las bacterias aerobias que oxidan hidrógeno, organismos que acoplan la oxidación de hidrógeno a la reducción de oxígeno para formar agua.

Energética de la oxidación del hidrógeno

La síntesis de ATP durante la oxidación de hidrógeno por parte del oxígeno es el resultado de las reacciones de transporte electrónico que generan una fuerza protonmotriz. La reacción total

$$H_2 + \tfrac{1}{2}O_2 \rightarrow H_2O \qquad \Delta G^{0\prime} \rightarrow = -237\ \text{kJ}$$

es muy exergónica y se puede acoplar a la síntesis de ATP. En esta reacción, catalizada por la enzima **hidrogenasa**, los electrones del hidrógeno son transferidos inicialmente a una quinona aceptora. Desde allí, los electrones viajan a través de una serie de citocromos para generar una fuerza protonmotriz y, finalmente, reducen el oxígeno a agua (Figura 13.20).

Algunas bacterias del hidrógeno sintetizan dos hidrogenasas distintas, una citoplasmática y la otra integrada en la membrana. Esta última participa en la obtención de energía, mientras que la hidrogenasa soluble tiene una función diferente. En lugar de unirse al hidrógeno para usarlo como donador de electrones en el metabolismo energético, la hidrogenasa citoplasmática se une al hidrógeno para catalizar la reducción de NAD^+ a NADH (el potencial de reducción del hidrógeno es lo bastante electronegativo, de manera que las reacciones del flujo inverso de electrones sean innecesarias). El organismo *Ralstonia eutropha* se ha utilizado como modelo para estudiar la oxidación aerobia del hidrógeno por parte de especies que sintetizan dos hidrogenasas, y en la Sección 14.16 estudiaremos algunas de las propiedades de este organismo. Las especies con una sola hidrogenasa sintetizan solamente la enzima integrada en la membrana, que actúa tanto en la obtención de energía como en la autotrofia de la célula.

Autotrofia en las bacterias del hidrógeno

Aunque la mayoría de las bacterias del hidrógeno pueden crecer también como quimioorganótrofas, cuando crecen de manera quimiolitótrofa fijan CO_2 mediante el ciclo de Calvin (Sección 13.5). Sin embargo, cuando disponen de compuestos orgánicos fáciles de usar como la glucosa, las bacterias del hidrógeno reprimen la síntesis de las enzimas del ciclo de Calvin y de las hidrogenasas. Por tanto, estas bacterias son quimiolitótrofos

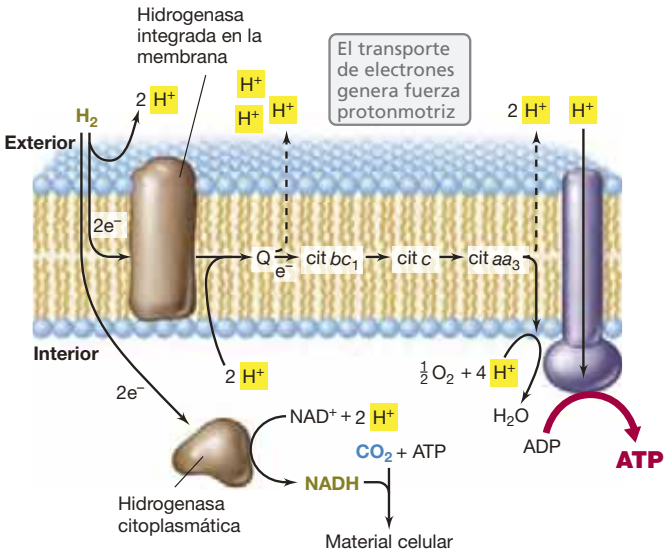


Figura 13.20 Bioenergética y actividad de las dos hidrogenasas de las bacterias aerobias del hidrógeno. En *Ralstonia eutropha* hay dos hidrogenasas: la hidrogenasa unida a la membrana participa en la energética, mientras que la hidrogenasa citoplasmática produce NADH para el ciclo de Calvin. Algunas bacterias del hidrógeno tienen solo la hidrogenasa de membrana, y en estos organismos el poder reductor se sintetiza mediante el flujo inverso de electrones de Q hacia NAD^+, formando NADH. Cit, citocromo; Q, quinona.

facultativos. Esto, obviamente, tiene un valor ecológico. En la naturaleza, los niveles de hidrógeno en ambientes óxicos son transitorios y bajos en el mejor de los casos, por dos motivos como mínimo: (1) la mayor parte del hidrógeno de producción biológica procede de fermentaciones, que son procesos anóxicos, y (2) el hidrógeno puede ser utilizado por varios procariotas anaerobios diferentes, de manera que se consume totalmente antes de alcanzar las regiones óxicas de un hábitat. Así pues, las bacterias aerobias del hidrógeno deben tener un metabolismo alternativo a la oxidación de H_2, y en la naturaleza probablemente alternan los estilos de vida quimioorganótrofo y quimiolitótrofo según se lo permitan los nutrientes presentes en su hábitat. Además, muchas bacterias aerobias del hidrógeno crecen mejor microaerobiamente y probablemente sean más competitivas como bacterias del hidrógeno en interfases óxicas-anóxicas en las que pueden tener un mayor y más continuo aporte de hidrógeno que en los hábitats completamente óxicos.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué enzima necesitan las bacterias del hidrógeno para crecer como quimiolitótrofas del hidrógeno?
- ¿Por qué no es necesario el flujo inverso de electrones en las bacterias del hidrógeno que tienen dos hidrogenasas?

13.8 Oxidación de compuestos reducidos del azufre

Muchos compuestos reducidos de azufre pueden ser donadores de electrones para las bacterias incoloras del azufre, llamadas *incoloras* para distinguirlas de las bacterias del azufre pigmentadas verdes y rojas, de las que ya hemos hablado en este capítulo (Figura 13.1 y Sección 13.3). Históricamente, el propio concepto de quimiolitotrofia surgió a finales del siglo XIX a partir de los estudios del microbiólogo ruso Sergei Winogradsky con las bacterias del azufre (↔ Sección 1.9). Este fue un concepto nuevo muy importante en microbiología en aquel momento y, a medida que nuestra comprensión de la diversidad procariótica ha mejorado, se ha hecho cada vez más patente que la quimiolitotrofia es un estilo de vida metabólico muy importante para muchas bacterias y arqueas.

Energética de la oxidación del azufre

Los compuestos de azufre más utilizados como donadores de electrones son el sulfuro de hidrógeno (H_2S), el azufre elemental (S^0) y el tiosulfato ($S_2O_3^{2-}$); el sulfito (SO_3^{2-}) también se puede oxidar (Tabla 13.1 y Tabla 13.2). En la mayoría de los casos, el producto final de la oxidación es el sulfato (SO_4^{2-}). La oxidación del sulfuro se produce por etapas; el primer producto de oxidación es el azufre elemental (S^0). Algunas bacterias que oxidan el sulfuro, como *Beggiatoa*, depositan este azufre elemental en el interior de la célula (Figura 13.21*a*), donde permanece como posible reserva de energía (electrones). Cuando se agota el suministro de sulfuro, se puede obtener más energía a partir de la oxidación del azufre a sulfato. Cuando el S^0 está presente externamente, el organismo debe unirse a la partícula de azufre por que el azufre elemental es bastante insoluble (Figura 13.21*b*). Al adherirse a la partícula, el organismo puede tomar átomos de

UNIDAD 3

Tabla 13.2 Comparación de la energética de la oxidación de algunos compuestos de azufre reducidos habituales

Reacción quimiolitótrofa	*Electrones*	*Estequiometría*[a]	*Energética (kJ/electrón)*[a]
Sulfuro a sulfato	8	$H_2S + 2\ O_2 \rightarrow SO_4^{2-} + 2\ H^+$	$\Delta G^{0\prime}$ = –798,2 kJ/reacción (–99,75 kJ/e^-)
Sulfito a sulfato	2	$SO_3^{2-} + \frac{1}{2}\ O_2 \rightarrow SO_4^{2-}$	$\Delta G^{0\prime}$ = –258 kJ/reacción (–129 kJ/e^-)
Tiosulfato a sulfato	8	$S_2O_3^{2-} + H_2O + 2\ O_2 \rightarrow 2\ SO_4^{2-} + 2\ H^+$	$\Delta G^{0\prime}$ = –818,3 kJ/reacción (–102 kJ/e^-)

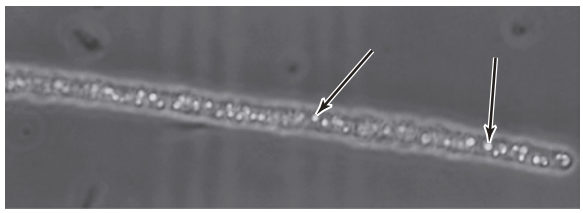
[a]Todas las reacciones están igualadas, tanto en masa como en carga. Véase el Apéndice 1 para saber cómo se hacen los cálculos. Para la reacción y la energética de la oxidación de sulfuro a azufre y de azufre a sulfato, véase la Tabla 13.1.

azufre para oxidarlos a sulfato. Esto ocurre gracias a proteínas de membrana o periplasmáticas que solubilizan el S^0 al reducirlo a HS^-; a continuación este es transportado a la célula y entra en el metabolismo quimiolitótrofo (véase la Figura 13.22).

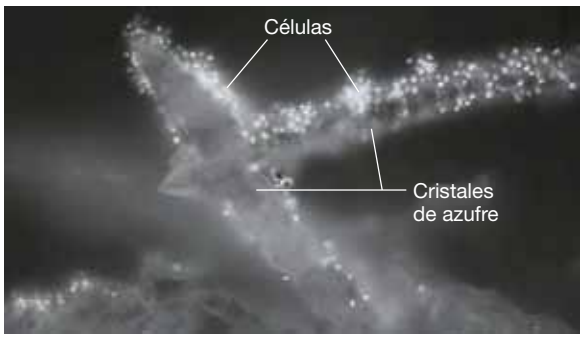
Un producto de la oxidación de los compuestos reducidos de azufre son los protones (Tablas 13.1 y 13.2). Por consiguiente, un resultado de la quimiolitotrofia del azufre es la acidificación del entorno. A causa de ello, muchas bacterias del azufre han desarrollado la tolerancia al ácido o incluso son acidófilas. *Acidithiobacillus thiooxidans*, por ejemplo, crece mejor a pH de entre 2 y 3.

Bioquímica de la oxidación del azufre

Las etapas bioquímicas de la oxidación de los compuestos de azufre se resumen en la **Figura 13.22**. Se conocen al menos tres rutas de oxidación de azufre. En dos de los sistemas, el sustrato inicial, sulfuro (HS^-), tiosulfato ($S_2O_3^{2-}$) o azufre elemental (S^0), es oxidado primero a sulfito (SO_3^{2-}); empezando desde el sulfuro, esto libera seis electrones. A continuación, el sulfito es

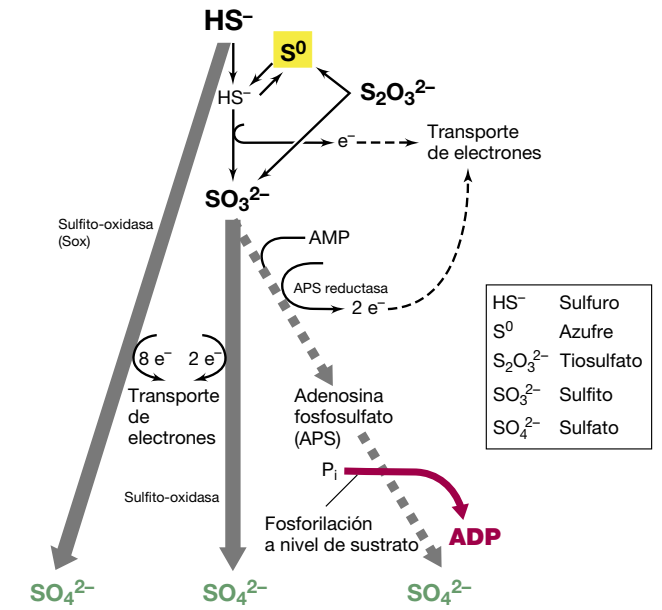


(a)

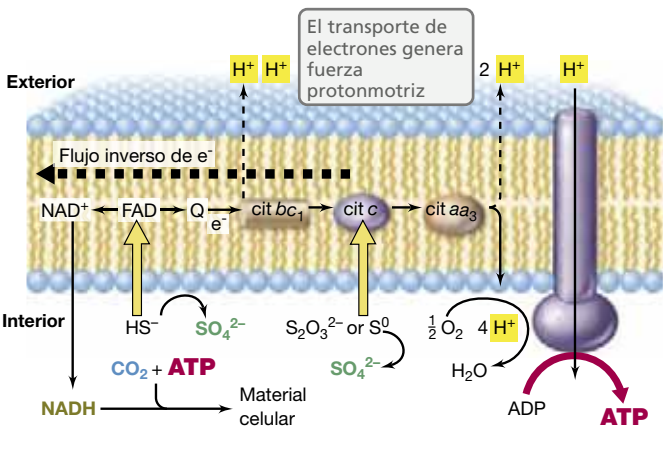


(b)

Figura 13.21 **Bacterias del azufre.** *(a)* Gránulos internos de azufre en *Beggiatoa* (flechas). *(b)* Unión de células de la arquea oxidadora del azufre *Sulfolobus acidocaldarius* a un cristal de azufre elemental. Las células se visualizan mediante microscopía de fluorescencia tras ser teñidas con naranja de acridina. El cristal de azufre no emite fluorescencia.



(a)



(b)

Figura 13.22 **Oxidación de compuestos reducidos de azufre por quimiolitótrofos del azufre.** *(a)* Etapas en la oxidación de diferentes compuestos reducidos del azufre. Se conocen tres rutas diferentes. *(b)* Los electrones de los compuestos de azufre entran en la cadena de transporte de electrones para generar fuerza protonmotriz; los electrones del tiosulfato y el azufre elemental entran a nivel del citocromo *c*. El NADH se genera por flujo inverso de electrones. cit, citocromo; FAD, flavoproteína; Q, quinona. Véase la estructura del APS en la Figura 13.42*a*.

oxidado a sulfato más dos electrones, y esto puede ocurrir de dos maneras. El sistema más extendido utiliza la enzima *sulfito-oxidasa*, que oxida el sulfito y transfiere los electrones directamente al citocromo *c*; durante las reacciones siguientes de transporte electrónico acopladas a la formación de fuerza protonmotriz se forma ATP (Figura 13.22*b*). Por otra parte, algunos quimiolitótrofos del azufre oxidan sulfito a sulfato a través de la actividad inversa de la *fosfosulfato de adenosina-reductasa*, una enzima esencial en el metabolismo de las bacterias reductoras de sulfato (Sección 13.18 y véase la Figura 13.42). Esta reacción, en el sentido de producción de sulfato por los quimiolitótrofos del azufre, genera un enlace fosfato de alta energía cuando el AMP se convierte a ADP (Figura 13.22*a*). Cuando el tiosulfato es el donador de electrones para los quimiolitótrofos del azufre (Tabla 13.22), primero se escinde en azufre elemental y sulfito, los cuales son finalmente oxidados a sulfato.

En *Paracoccus pantotrophus* y otras muchas bacterias del azufre existe un sistema de oxidación de sulfuro y tiosulfato funcionalmente diferente llamado *sistema Sox* que oxida compuestos reducidos de azufre directamente a sulfato, sin formación intermedia de sulfito (Figura 13.22*a*). El sistema Sox está formado por más de quince genes que codifican varios citocromos y otras proteínas necesarias para la oxidación directamente a sulfato de compuestos reducidos de azufre. Está presente en varios quimiolitótrofos del azufre, así como en algunas bacterias fotótrofas del azufre que oxidan sulfuro para obtener poder reductor para la fijación de CO_2, en lugar de energía. La presencia de este sistema bioquímico entre los procariotas que por diferentes motivos oxidan sulfuro es una clara señal de que los genes que codifican el sistema Sox fueron transferidos entre especies por transferencia horizontal (↻ Sección 6.12 y Capítulo 10).

Otros aspectos de la oxidación quimiolitótrofa del azufre

Los electrones de la oxidación de compuestos reducidos de azufre entran finalmente en la cadena de transporte de electrones, como se observa en la Figura 13.22*b*. Según sea el potencial de reducción del par donador de electrones, los electrones entran a nivel de la flavoproteína ($E_0' = -0{,}2$ V), la quinona ($E_0' = 0$ V) o el citocromo *c* ($E_0' = +0{,}3$ V) y son transportados por la cadena hasta el O_2 para generar una fuerza protonmotriz que produce ATP mediante la ATPasa. Los electrones para la fijación autótrofa de CO_2 proceden del flujo inverso de electrones (Sección 13.3), y producen NADH. La autotrofia está impulsada por reacciones del ciclo de Calvin o por alguna otra ruta autótrofa (Sección 13.5). Si bien los quimiolitótrofos del azufre son principalmente un grupo aerobio, algunas especies pueden crecer anaerobiamente usando nitrato como aceptor de electrones. Un ejemplo clásico es la bacteria del azufre *Thiobacillus denitrificans*, que reduce nitrato a nitrógeno molecular, gaseoso (proceso de desnitrificación; Sección 13.17).

MINIRREVISIÓN

- ¿Cuántos electrones se obtienen de la oxidación de H_2S si el producto final es S^0? ¿Y si es SO_4^{2-}?
- ¿En qué se diferencia el sistema Sox de otros sistemas de oxidación de sulfuro en cuanto a los intermediarios?

13.9 Oxidación del hierro (Fe^{2+})

La oxidación aerobia de hierro ferroso (Fe^{2+}) a hierro férrico (Fe^{3+}) sustenta el crecimiento de las «bacterias del hierro» quimiolitótrofas (↻ Sección 14.15). A pH ácido, de esta reacción solo se obtiene una pequeña cantidad de energía (Tabla 13.1), por lo que las bacterias del hierro tienen que acoplar la oxidación de grandes cantidades para producir solo cantidades muy pequeñas de material celular. En ambientes acuáticos, el hierro férrico producido forma espontáneamente hidróxido férrico insoluble ($Fe^{3+} + 3\ H_2O \rightarrow Fe(OH)_3 + 3\ H^+$) y otros precipitados de hierro; y esto hace bajar el pH (**Figura 13.23**). Esta reacción química inevitable explica probablemente por qué muchas bacterias que oxidan el hierro han evolucionado para ser muy acidófilas.

Bacterias oxidadoras de hierro

Las bacterias del hierro mejor conocidas, *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Leptospirillum ferrooxidans*, pueden crecer autotroficamente usando el hierro ferroso (Figura 13.23) como donador de electrones incluso a pH 1; el crecimiento es óptimo a pH entre 2 y 3. Estas bacterias son habituales en ambientes contaminados por ácido como las aguas de escorrentía de las minas de carbón (Figura 13.23*a*). *Ferroplasma*, una especie de

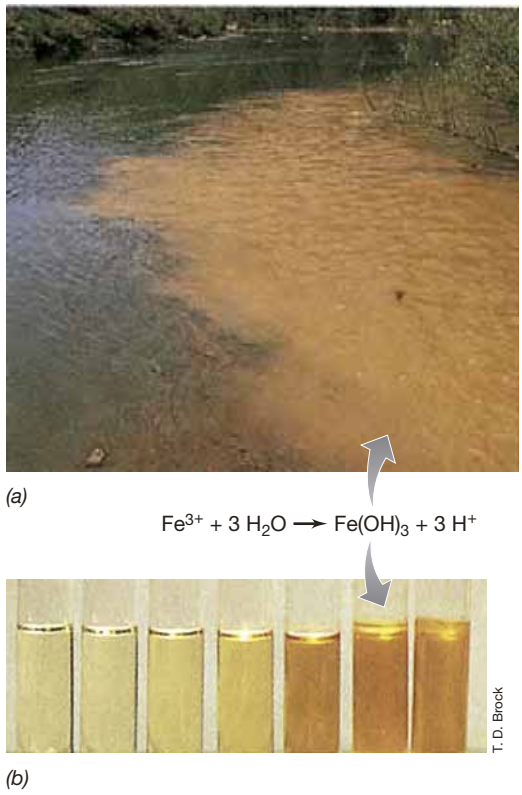


Figura 13.23 Bacterias que oxidan el hierro. *(a)* Drenaje ácido de una mina, que muestra la confluencia de un río normal y un arroyo de drenaje de una zona minera de carbón. A pH bajo, el Fe^{2+} no se oxida espontáneamente en el aire, pero *Acidithiobacillus ferrooxidans* lleva a cabo la oxidación; el $Fe(OH)_3$ y las sales férricas complejas precipitan. *(b)* Cultivos de *A. ferrooxidans*. Se muestra una serie de diluciones, desde el tubo de la izquierda, sin crecimiento, hasta el máximo crecimiento en el tubo de la derecha. El crecimiento se observa por la producción de $Fe(OH)_3$.

UNIDAD 3

arquea, es un oxidador de hierro extremadamente acidófilo y puede crecer a valores de pH por debajo de 0 (↔ Sección 16.3). Hablaremos del papel de todos estos organismos en la contaminación de las minas ácidas y en la oxidación de los minerales en las Secciones 20.5, 21.1 y 21.2.

A pH neutro, el Fe^{2+} se oxida espontáneamente a Fe^{3+}, de modo que las oportunidades para las bacterias del hierro se restringen a ubicaciones en las que el Fe^{2+} esté en transición de condiciones anóxicas a óxicas. Por ejemplo, las aguas subterráneas anóxicas contienen a menudo Fe^{2+}, y cuando se libera, como en los manantiales de aguas ferruginosas, el Fe^{2+} queda expuesto al O_2. En estas interfases, las bacterias del hierro oxidan el Fe^{2+} a Fe^{3+} antes de que se oxide espontáneamente. *Gallionella ferruginea*, *Sphaerotilus natans* y *Leptothrix discophora* son ejemplos de bacterias que viven en estas inferfases; se suelen ver entremezcladas en los característicos depósitos de hierro férrico que forman (↔ Figuras 14.36 y 21.22).

Energía procedente de la oxidación del hierro

La bioenergética de la oxidación de hierro ferroso por *Acidothiobacillus ferrooxidans* y otros oxidadores del hierro acidófilos tiene un interés considerable a causa del potencial de reducción tan electropositivo del par Fe^{3+}/Fe^{2+} a pH ácido ($E_0' = +0{,}77$ V a pH 2). La cadena respiratoria de *A. ferrooxidans* contiene citocromos de los tipos *c* y aa_3 y una proteína periplasmática con cobre llamada *rusticianina* (**Figura 13.24**). También hay una proteína que oxida hierro situada en la membrana externa de la célula.

Al ser tan alto el potencial de reducción del par Fe^{3+}/Fe^{2+}, los pasos del transporte de electrones hasta el oxígeno ($\frac{1}{2}$ O_2/H_2O, $E_0' = +0{,}82$ V) es evidente que no pueden ser muchos. La oxidación del hierro empieza en la membrana externa, donde los organismos están en contacto con Fe^{2+} soluble o con minerales de hierro ferroso insoluble. El Fe^{2+} es oxidado a Fe^{3+}, una transición de un solo electrón (Tabla 13.1) por un citocromo *c* de la membrana externa que transfiere electrones al periplasma, donde el aceptor de electrones es la rusticianina ($E_0' = +0{,}68$ V). Se piensa que esta reacción ligeramente desfavorable desde el punto de vista termodinámico está impulsada por el consumo inmediato de Fe^{3+} en la formación de $Fe(OH)_3$ (Figura 13.24). Después, la rusticianina reduce un citocromo *c* periplasmático que transfiere los electrones al citocromo aa_3, y esta última proteína reduce el O_2 a H_2O; el ATP es sintetizado por la ATPasa de la forma habitual (Figura 13.24).

Resulta interesante conocer la naturaleza de la fuerza protonmotriz en *A. ferrooxidans*. En un ambiente fuertemente ácido existe ya un gran gradiente de protones a través de su membrana (el periplasma de la célula tiene un pH de entre 1 y 2, mientras que el del citoplasma está entre 5,5 y 6, Figura 13.24). Esta situación podría hacernos pensar que *A. ferrooxidans* puede producir ATP sin costo energético, pero no es el caso: el organismo no puede producir ATP de esta fuerza protonmotriz natural si no hay un donador de electrones, ya que los iones H^+ que entran en el citoplasma a través de la ATPasa se deben consumir para mantener el pH interno dentro de límites aceptables. El consumo de protones se produce durante la reducción de O_2 en la cadena de transporte electrónico, y esta reacción requiere electrones, que vienen de la oxidación de Fe^{2+} a Fe^{3+} (Figura 13.24).

La autotrofia en *A. ferrooxidans* está sustentada por el ciclo de Calvin (Sección 13.5), y a causa del gran potencial del donador de electrones es necesario consumir mucha energía en las reacciones del transporte inverso de electrones para obtener el poder reductor (NADH) requerido para la fijación de CO_2. El NADH se forma por reducción de NAD^+ con electrones obtenidos del Fe^{2+} que son forzados a volver atrás hacia el citocromo bc_1, y el reservorio de quinonas se forma a expensas de la fuerza protonmotriz (Figura 13.24).

El rendimiento energético relativamente escaso de la oxidación del hierro ferroso, unido a la gran demanda energética del ciclo de Calvin (Figura 13.17), implica que *A. ferrooxidans* debe oxidar grandes cantidades de Fe^{2+} para producir incluso una pequeña cantidad de material celular. Por tanto, en ambientes en los que las bacterias acidófilas que oxidan hierro crecen bien, su presencia no está marcada por la formación de grandes cantidades de células, sino por la presencia de las grandes cantidades de precipitados de hierro férrico que generan (Figura 13.23). En las Secciones 20.5, 21.1 y 21.2 estudiaremos la ecología de las bacterias del hierro.

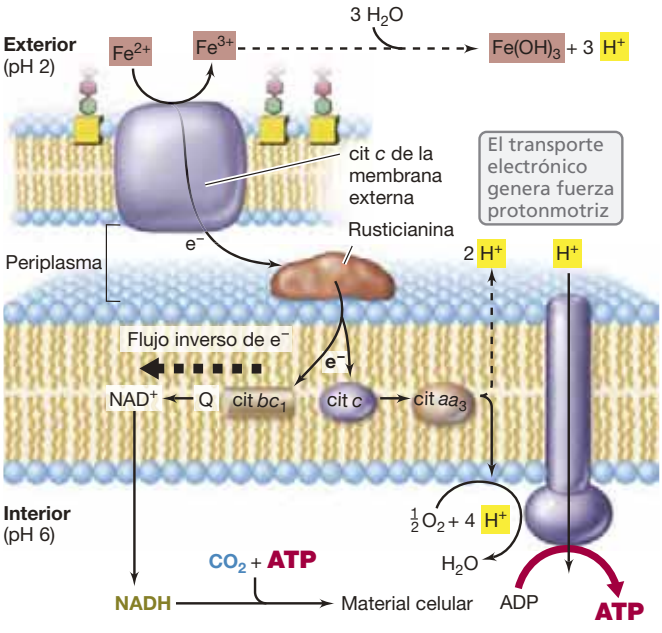
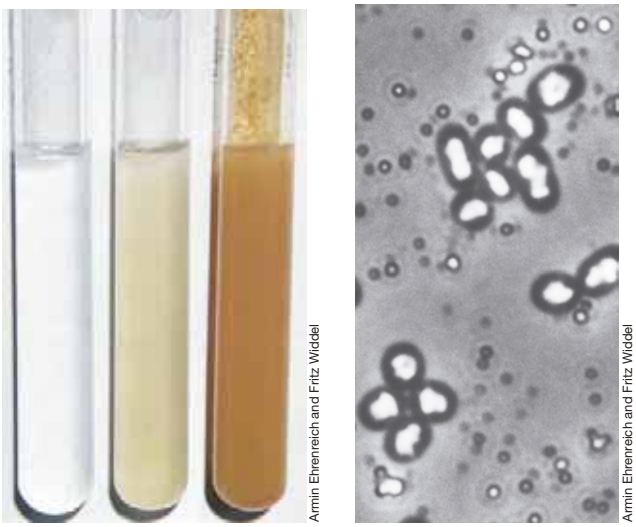


Figura 13.24 **Flujo de electrones durante la oxidación de Fe^{2+} por el acidófilo *Acidithiobacillus ferrooxidans*.** La rusticianina, una proteína periplasmática con cobre, recibe electrones del Fe^{2+} oxidado por un citocromo *c* situado en la membrana externa. Desde aquí, los electrones viajan por una corta cadena de transporte de electones y finalmente reducen el oxígeno a agua. El poder reductor procede del flujo inverso de electrones. Obsérvese el acusado gradiente de pH a través de la membrana.

Oxidación del hierro ferroso en condiciones anóxicas

El hierro ferroso puede ser oxidado en condiciones *anóxicas* por algunas bacterias quimiolitótrofas y fotótrofas anoxigénicas (**Figura 13.25**). En estos casos, el Fe^{2+} se puede usar como donador de electrones en el metabolismo energético (quimiolitótrofos), como reductor para la fijación del CO_2 (fotótrofos) o para ambas cosas. Un detalle importante que hay que tener en cuenta es que a pH neutro, donde estos organismos crecen mejor, el potencial de reducción del par Fe^{3+}/Fe^{2+} es



(a) (b)

Figura 13.25 Oxidación de Fe^{2+} por bacterias fotótrofas anoxigénicas. *(a)* Oxidación en tubos de cultivo anóxicos. De izquierda a derecha: medio estéril, medio inoculado, medio en crecimiento en el que se observa $Fe(OH)_3$. *(b)* Micrografía de contraste de fases de una bacteria roja que oxida Fe^{2+}. Las áreas refringentes y brillantes del interior de las células son vesículas de gas. Los gránulos que se ven fuera de las células son precipitados de hierro. Este organismo está relacionado filogenéticamente con la bacteria roja del azufre *Chromatium*.

significativamente más electronegativo que a pH ácido (+0,2 V frente a +0,77 V, respectivamente). Por tanto, los electrones del Fe^{2+} pueden reducir el citocromo *c* para iniciar las reacciones de transporte de electrones. Para los quimiolitótrofos, el aceptor de electrones es el nitrato (NO_3^-), y el producto final de esta respiración anaerobia puede ser el nitrito (NO_2^-) o el nitrógeno molecular (N_2). Para las bacterias rojas y verdes que oxidan el Fe^{2+}, el donador de electrones puede ser el Fe^{2+} soluble o bien el sulfuro de hierro (FeS). En el caso del FeS se oxidan tanto el Fe^{2+} como el S^{2-}, el Fe^{2+} a Fe^{3+} (un electrón), y el HS^- a SO_4^{2-} (ocho electrones).

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué la oxidación de Fe^{2+} a Fe^{3+} a pH ácido produce solamente una pequeña cantidad de energía?
- ¿Cuál es la función de la rusticianina y dónde se encuentra en la célula?
- ¿Cómo se puede oxidar el Fe^{2+} en condiciones anóxicas?

13.10 Nitrificación y anamox

Los compuestos inorgánicos de nitrógeno reducido, amoniaco (NH_3) y nitrito (NO_2^-), son oxidados en condiciones aerobias por las *bacterias nitrificantes* quimiolitótrofas en el proceso de **nitrificación** (↔ Sección 14.13). En condiciones anóxicas el amoniaco también es oxidado por un grupo muy especial de bacterias en el proceso llamado **anamox**.

Las bacterias nitrificantes y las bacterias anamox están ampliamente distribuidas en suelos, agua, aguas residuales y en el mar. En condiciones óxicas, las bacterias y arqueas nitrificantes oxidan el amoniaco, pero únicamente a nitrito, mientras un grupo distinto de bacterias oxida el nitrito a nitrato. La oxidación completa de amoniaco a nitrato, que es una transferencia de ocho electrones, se lleva, pues, a cabo gracias a la actividad cooperativa de dos grupos fisiológicos de organismos, los *oxidadores de amoniaco* y los *oxidadores de nitrito*.

Bioenergética y enzimología de la oxidación de amoniaco y nitrito

La bioenergética de la nitrificación se basa en los mismos principios que dirigen otras reacciones quimiolitótrofas: los electrones de sustratos inorgánicos reducidos (en este caso compuestos de nitrógeno reducidos) entran en una cadena de transporte de electrones, y las reacciones del transporte de electrones producen una fuerza protonmotriz que impulsa la síntesis de ATP. Los donadores de electrones para las bacterias nitrificantes no son especialmente fuertes. El potencial de reducción del par NO_2^-/NH_3 (el primer paso en la oxidación del NH_3) es +0,34 V, y el potencial de reducción del par NO_3^-/NO_2^- es todavía más positivo, unos +0,43 V. Por fuerza, estos potenciales de reducción obligan a las bacterias nitrificantes a donar electrones a aceptores de potencial bastante alto, y esto, obviamente, limita la cantidad de energía que se puede conservar.

Hay varias enzimas fundamentales que participan en la oxidación de compuestos de nitrógeno reducidos. En las bacterias que oxidan amoniaco, como *Nitrosomonas*, la oxidación es catalizada por la *amoniaco-monooxigenasa* (hablaremos de las monooxigenasas en la Sección 13.22), que produce hidroxilamina (NH_2OH) y agua (**Figura 13.26**). Una segunda enzima importante, la *hidroxilamina-oxidorreductasa*, oxida la hidroxilamina a nitrito y libera cuatro electrones en el proceso. La amoniaco-monooxigenasa es una proteína integral de membrana, mientras que la hidroxilamina-oxidorreductasa es

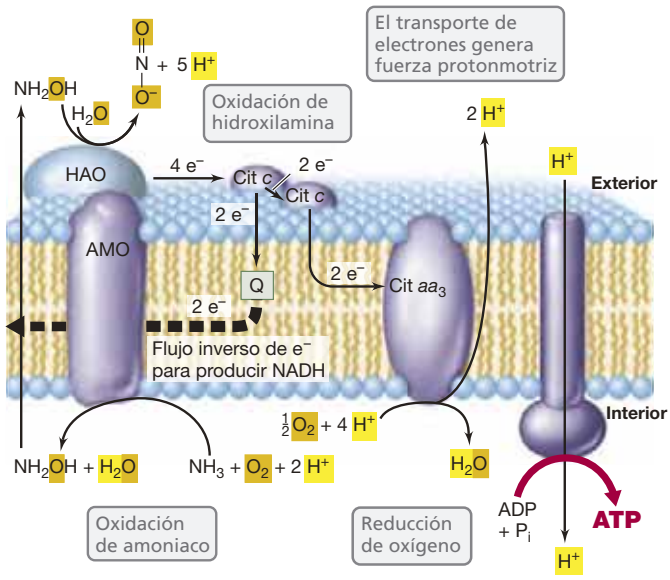


Figura 13.26 Oxidación de NH_3 y flujo de electrones en las bacterias que oxidan amoniaco. Los reactivos y los productos de esta serie de reacciones están resaltados. El citocromo *c* (cit *c*) del periplasma es una forma diferente del cit *c* de la membrana. AMO, amoniaco-monooxigenasa; HAO, hidroxilamina-oxidorreductasa; Q, ubiquinona.

UNIDAD 3

periplasmática (Figura 13.26). En la reacción catalizada por la amoniaco-monooxigenasa

$$NH_3 + O_2 + 2\,H^+ + 2\,e^- \rightarrow NH_2OH + H_2O$$

son necesarios dos protones y dos electrones para reducir un átomo de (O_2) a H_2O. Estos electrones proceden de la oxidación de la hidroxilamina y son suministrados a la amoniaco-monooxigenasa desde la hidroxilamina-oxidorreductasa a través del citocromo *c* y la ubiquinona (Figura 13.26). Por tanto, por cada *cuatro* electrones generados en la oxidación de nitrato a nitrito, solo *dos* llegan realmente al citocromo aa_3, que es la oxidasa terminal que interacciona con el oxígeno para formar agua (Figura 13.26).

Las bacterias que oxidan nitrito a nitrato, como *Nitrobacter*, catalizan la reacción mediante la enzima *nitrito-oxidorreductasa*, y los electrones recorren una cadena de transporte electrónico muy corta (a causa del alto potencial del par NO_3^-/NO_2^-) hasta la oxidasa terminal (**Figura 13.27**). Los citocromos de tipo *a* y *c* están presentes en la cadena de transporte electrónico de los oxidadores de nitrito, y la actividad del citocromo aa_3 genera fuerza protonmotriz (Figura 13.27). Al igual que en el caso de las bacterias del hierro (Sección 13.9), la oxidación del nitrito libera solo pequeñas cantidades de energía, de modo que se obtiene muy poco material celular incluso aunque se oxiden grandes cantidades de nitrito.

Arqueas oxidadoras de amoniaco

Desde un punto de vista filogenético, *Nitrosomonas* y *Nitrobacter* pertenecen al dominio *Bacteria*. Sin embargo, algunas *Archaea* también son oxidadoras de amoniaco. Por ejemplo, *Nitrosopumilus* es un quimiolitótrofo marino oxidador de amoniaco del filo arqueano *Thaumarchaeota* (↻ Sección 16.6 y página inicial del Capítulo 6). Los genes de *Nitrosopumilus* que codifican la amoniaco-monooxigenasa son parecidos a los de *Nitrosomonas*, y por tanto es probable que la bioquímica de la oxidación de amoniaco tenga un mecanismo común en ambos dominios. No obstante, hay una diferencia importante con las bacterias oxidadoras de amoniaco: las arqueas oxidadoras de amoniaco pueden oxidar amoniaco a la insignificante concentración que se encuentra en mar abierto. Así, los nitrificantes arqueanos pueden dominar la nitrificación marina y también desempeñar un papel significativo en otros hábitats que tienen concentraciones bajas de amoniaco. A este respecto, la arquea nitrificante *Nitrososphaera*, que habita en el suelo en lugar de en el mar, puede ser el principal oxidador de amoniaco en los hábitats terrestres. Por el momento, se desconoce la existencia de ninguna arquea oxidadora de nitrito.

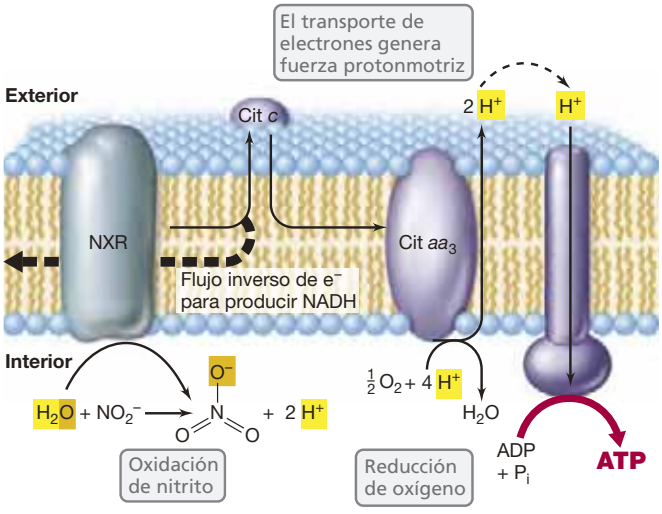


Figura 13.27 Oxidación de nitrito a nitrato por las bacterias nitrificantes. Los reactivos y los productos de esta serie de reacciones están resaltados para mostrar claramente la reacción. NXR, nitrito-oxidorreductasa.

Metabolismo del carbono y ecología de las bacterias nitrificantes

Al igual que los quimiolitótrofos oxidadores de azufre y de hierro, las bacterias nitrificantes aerobias utilizan el ciclo de Calvin para fijar CO_2. Las necesidades de ATP y poder reductor del ciclo de Calvin suponen obstáculos adicionales para un sistema de generación de energía cuyo rendimiento ya es relativamente escaso (el NADH para el ciclo de Calvin en los nitrificantes se forma por flujo inverso de electrones, Figuras 13.26 y 13.27). Las restricciones energéticas son particularmente fuertes para los oxidadores de nitrito y, quizás por este motivo, la mayoría de los oxidadores de nitrito tienen mecanismos alternativos de obtención de energía, ya que pueden crecer de manera quimioorganótrofa con glucosa y otros pocos sustratos orgánicos. Por otra parte, las especies de bacterias oxidantes de amoniaco son quimiolitótrofas estrictas o mixótrofas. La autotrofia de las arqueas oxidadoras de amoniaco está sustentada por una variante del ciclo del hidroxipropionato (Sección 13.5).

Los procariotas nitrificantes desempeñan funciones ecológicas fundamentales en el ciclo del nitrógeno al convertir el amoniaco en nitrato, un nutriente esencial para las plantas. Los nitrificantes también son importantes en el tratamiento de las aguas fecales y las aguas residuales al eliminar aminas tóxicas y amoniaco y liberar compuestos de nitrógeno menos tóxicos (↻ Sección 21.6). Los nitrificantes tienen una función similar en la columna de agua de los lagos, en las que el amoniaco que se produce en los sedimentos por descomposición de compuestos orgánicos nitrogenados es oxidado a nitrato, que es una fuente de nitrógeno más conveniente para las algas y las cianobacterias.

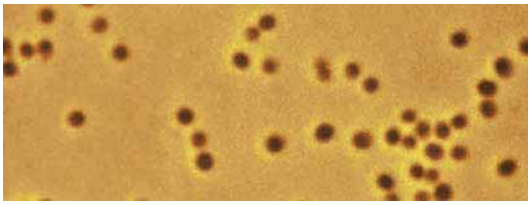
Anamox

Aunque los procariotas oxidadores de amoniaco que acabamos de estudiar son *aerobios* estrictos, el amoniaco también se puede oxidar en condiciones anóxicas. Este proceso se llama *anamox* (del inglés, *an*oxic *am*monia *ox*idation) y está catalizado por un grupo inusual de bacterias anaerobias estrictas.

El amoniaco se oxida en la reacción anamox usando el nitrito como aceptor de electrones para dar nitrógeno molecular:

$$NH_4^+ + NO_2^- \rightarrow N_2 + 2\,H_2O \qquad \Delta G^{0\prime} = -357\ kJ$$

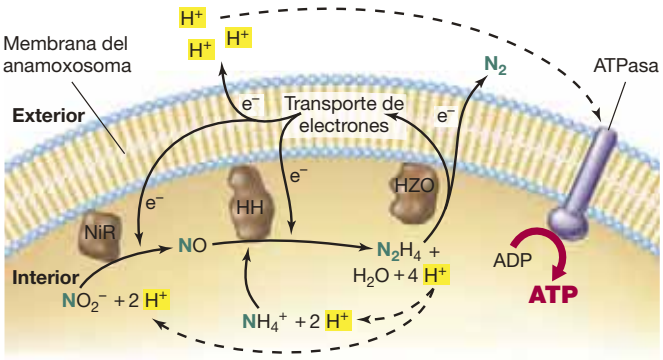
Un organismo anamox importante, *Brocadia anammoxidans*, es una especie del filo *Planctomycetes* de *Bacteria* (↻ Sección 15.16). Los *Planctomycetes* son bacterias inusuales porque carecen de peptidoglicano y su citoplasma contiene compartimentos de varios tipos rodeados por membrana (**Figura 13.28**). En las células de *B. anammoxidans* este compartimento es el *anamoxosoma*, y la reacción anamox se produce en su interior



(a)



(b)



(c)

Figura 13.28 **Anamox.** *(a)* Micrografía de contraste de fases de células de *Brocadia anammoxidans*. Una célula individual tiene un diámetro aproximado de 1 µm. *(b)* Micrografía electrónica de transmisión de una célula; obsérvense los compartimentos rodeados de membrana con el gran anamoxosoma fibrilar. *(c)* Reacciones en el anamoxosoma. NiR, nitrito-reductasa; HH, hidrazina-hidrolasa; HZO, hidrazina-deshidrogenasa.

(Figura 13.28*c*). Además de *Brocadia*, se conocen otros géneros de bacterias anamox, como *Kuenenia*, *Anammoxoglobus*, *Jettenia* y *Scalindua*, todas ellas relacionadas con *Brocadia* y que también poseen anamoxosomas. Como los oxidadores de amoniaco aerobios, las bacterias anamox también son autótrofas, pero no fijan CO_2 usando las rutas que utilizan los oxidadores de amoniaco aerobios, sino que lo fijan a través de la ruta de la acetil-CoA, una ruta autótrofa frecuente en algunas bacterias y arqueas autótrofas anaerobias estrictas.

El anamoxosoma es una estructura envuelta por una membrana unitaria (Figura 13.28*b*); por tanto, técnicamente es un orgánulo en el sentido eucariota del término. Los lípidos que forman la membrana del anamoxosoma no son los lípidos típicos de las bacterias, sino que consisten en ácidos grasos formados por múltiples anillos de ciclobutano (C_4) unidos a glicerol por enlaces éster y éter. Estos *lípidos escalera*, como son llamados, se agregan en la membrana y forman una estructura de membrana inusualmente densa que impide la difusión de sustancias del anamoxosoma hacia el citoplasma.

La fuerte membrana del anamoxosoma es necesaria para proteger la célula de compuestos intermedios tóxicos producidos durante las reacciones anamox, especialmente de la *hidrazina* (N_2H_4), un reductor muy potente. En la reacción anamox primero el nitrito es reducido a óxido nítrico (NO) por la nitrito-reductasa y después el óxido nítrico reacciona con amonio (NH_4^+) para dar hidrazina en presencia de la enzima hidrazina-hidrolasa (Figura 13.28*c*). La hidrazina es oxidada a nitrógeno molecular más electrones por acción de la hidrazina-deshidrogenasa. Algunos de los electrones generados en esta etapa entran en la cadena de transporte de electrones del anamoxosoma y las reacciones de dicho transporte generan fuerza protonmotriz; otros electrones vuelven al sistema para impulsar las primeras reacciones anamox (Figura 13.28*c*). Gracias a la fuerza protonmotriz, en la membrana del anamoxosoma se forma ATP por acción de ATPasas (Figura 13.28*c*).

Ecología de la anamox

En la naturaleza, el nitrito para la reacción anamox procede, presumiblemente, de bacterias y arqueas aerobias oxidadoras de amoniaco. Estos organismos coexisten con las bacterias anamox en hábitats donde abunda el amoniaco, como aguas fecales y otras aguas residuales. Las partículas suspendidas que se forman en estos hábitats contienen zonas óxicas y otras anóxicas en las que los oxidadores del amoniaco con diferentes tipos de fisiología pueden coexistir en estrecha asociación. En cultivos mixtos de laboratorio, concentraciones altas de oxígeno inhiben la anamox y favorecen la nitrificación clásica, de manera que probablemente en la naturaleza la oxidación de amoniaco catalizada por las bacterias anamox esté regulada por la concentración de oxígeno en el hábitat.

Desde un punto de vista ambiental, la anamox es un proceso muy beneficioso en el tratamiento de las aguas residuales. La eliminación anóxica de amoniaco y aminas y la formación de nitrógeno molecular (Figura 13.28*c*) ayudan a reducir el aporte a los ríos y corrientes de nitrógeno fijado procedente de las instalaciones de tratamiento de aguas residuales, y mantienen así una calidad del agua mejor de lo que sería posible de otro modo. La actividad de los organismos anamox marinos es probablemente la causa de la fracción significativa (más del 50 %) de amoniaco que se sabe que desaparece de los sedimentos marinos, un proceso que previamente no tenía explicación. Como mínimo, algunos sedimentos ricos en amoniaco de lagos de agua dulce también experimentan anamox, de modo que parece que la anamox se puede producir en cualquier ambiente anóxico en el que coexistan amoniaco y nitrito.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cuáles son los sustratos de la enzima amoniaco-monooxigenasa?
- ¿Por qué las reacciones anamox deben realizarse en una estructura especial en el interior de la célula?
- ¿Cuál es la fuente de carbono para los organismos nitrificantes y anamox?

UNIDAD 3

III • Fermentaciones

Hasta aquí hemos analizado la fototrofia y la quimiolitotrofia, que son estrategias para fijar energía que no requieren compuestos orgánicos como donadores de electrones. En las tres unidades siguientes nos centraremos en los compuestos orgánicos como donadores de electrones y las múltiples formas que tienen los quimioorganótrofos para fijar energía. Empezaremos con las fermentaciones, las formas principales de fijación anaerobia de la energía.

13.11 Consideraciones energéticas y redox

Muchos hábitats microbianos son *anóxicos* (sin oxígeno), y en estos ambientes la descomposición de la materia orgánica se produce de manera anaerobia. Si no hay sulfato (SO_4^{2-}), nitrato (NO_3^-), hierro férrico (Fe^{3+}), ni otros aceptores de electrones, los compuestos orgánicos se catabolizan por **fermentación**. Recordemos del Capítulo 3 que en las fermentaciones el equilibrio redox se consigue haciendo que el sustrato funcione *a la vez* como donador y como aceptor de electrones, y que el ATP se sintetiza por *fosforilación a nivel de sustrato*. Aquí retomamos de nuevo estas dos características esenciales de la fermentación (Figura 13.29).

Compuestos ricos en energía y fosforilación a nivel de sustrato

La energía se puede obtener mediante fosforilación a nivel de sustrato a partir de muchos compuestos diferentes. No obstante, para entender la fosforilación a nivel de sustrato es fundamental establecer el concepto de *compuestos ricos en energía*. Se trata de compuestos orgánicos que contienen un enlace fosfato rico en energía o una molécula de coenzima A. El enlace es «rico en energía» porque su hidrólisis es muy exergónica. En la Tabla 13.3 se enumeran algunos compuestos ricos en energía que se forman durante el metabolismo; la hidrólisis de la mayoría de ellos libera suficiente energía libre para acoplarse a la síntesis de ATP ($\Delta G^{0\prime} = -31{,}8$ kJ/mol). Si un organismo puede producir uno de estos compuestos durante el metabolismo fermentativo, probablemente podrá sintetizar ATP por fosforilación a nivel de sustrato.

Tabla 13.3 Compuestos ricos en energía que se pueden acoplar a la fosforilación a nivel de sustrato[a]

Compuesto	*Energía libre de hidrólisis, $\Delta G^{0\prime}$ (kJ/mol)*[b]
Acetil-CoA	−35,7
Propionil-CoA	−35,6
Butiril-CoA	−35,6
Caproíl-CoA	−35,6
Succinil-CoA	−35,1
Acetilfosfato	−44,8
Butirilfosfato	−44,8
1,3-Difosfoglicerato	−51,9
Carbamilfosfato	−39,3
Fosfoenolpiruvato	−51,6
Adenosina fosfosulfato (APS)	−88
N^{10}-Formiltetrahidrofolato	−23,4
Energía de hidrólisis del ATP (ATP → ADP + P_i)	−31,8

[a]Datos de Thauer, R. K., K. Jungermann y K. Decker. 1977. Energy conservation in chemotrophic anaerobic bacteria. *Bacteriol. Rev. 41*: 100-180.
[b]Los valores que se muestran de $\Delta G^{0\prime}$ son en condiciones estándar, que no son necesariamente las de las células. El costo energético de la síntesis de ATP, incluida la pérdida por calor, está más cerca de 60 kJ que de 32 kJ, y la energía de hidrólisis de los compuestos ricos en energía que se muestran aquí es, por tanto, posiblemente mayor. Pero para simplificar y a efectos comparativos, tomaremos los valores de esta tabla como la energía real liberada por reacción.

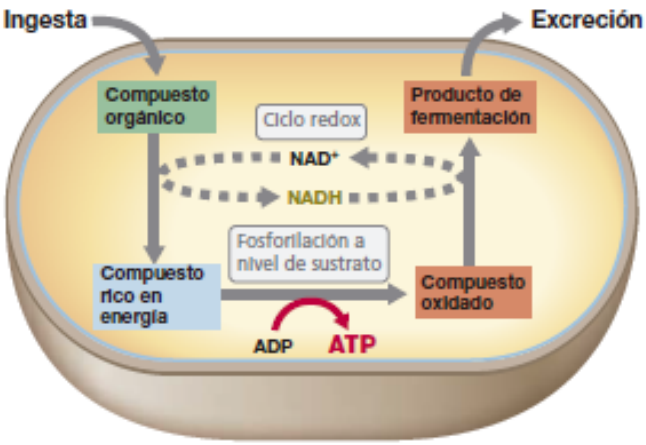


Figura 13.29 **Elementos esenciales de la fermentación.** El producto de la fermentación es excretado de la célula, y solo una cantidad relativamente pequeña del compuesto orgánico original es utilizada para la biosíntesis.

Equilibrio redox y producción de hidrógeno y de acetato

En cualquier fermentación debe existir un equilibrio de masa y de carga. Es decir, el número total de átomos de cada tipo y de electrones en los productos de la reacción debe ser el mismo que en los reactivos (los sustratos). El equilibrio redox se consigue en las fermentaciones mediante la excreción de la célula de los *productos de fermentación*, sustancias reducidas como ácidos o alcoholes que son productos finales del catabolismo de las sustancias fermentables originales (Figura 13.29). En varias fermentaciones, el equilibrio redox es facilitado por la producción de hidrógeno molecular (H_2). La producción de H_2 está asociada a la actividad de la ferrosulfoproteína *ferredoxina*, un transportador de electrones de muy bajo potencial, y es catalizada por una *hidrogenasa*. El hidrógeno molecular también se puede producir a partir del ácido graso C_1 formiato

(Figura 13.30). Aunque el fermentador excreta el hidrógeno porque no puede usarlo, se trata de un donador de electrones muy potente y varios procariotas respiradores pueden oxidarlo. De hecho, con su potencial de reducción tan electronegativo (que lo hace adecuado como donador de electrones para cualquier forma de respiración), el hidrógeno nunca se desaprovecha en los ecosistemas microbianos.

Muchas bacterias anaerobias producen acetato u otros ácidos grasos como productos de fermentaciones más o menos importantes. La producción de estas sustancias fija energía porque ofrece al organismo la oportunidad de sintetizar ATP mediante fosforilación a nivel de sustrato. El intermediario clave que se genera es el derivado con coenzima A de cada ácido graso, ya que se trata de compuestos ricos en energía (Tabla 13.3). Por ejemplo, la acetil-CoA se puede convertir en fosfato de acetilo

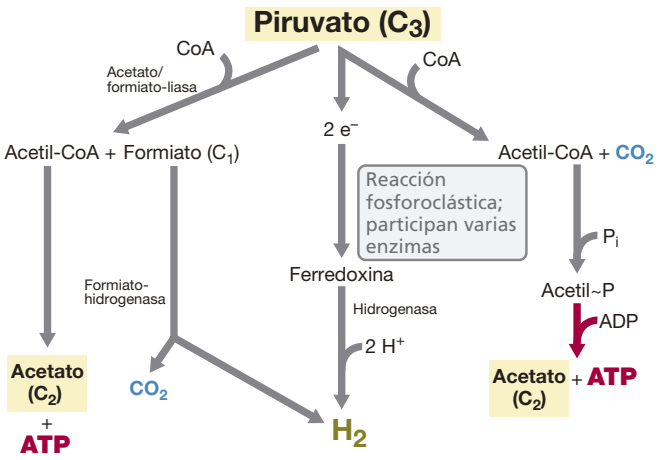


Figura 13.30 Producción de H_2 y acetato a partir de piruvato. Se conocen al menos dos mecanismos, uno que produce H_2 directamente y el otro que produce formiato como intermediario. Cuando se produce acetato es posible sintetizar ATP (véase la Tabla 13.3).

(Figura 13.30) y el grupo fosfato se puede transferir posteriormente a un ADP para producir ATP. La producción de ácidos grasos es habitual en las fermentaciones, y si el ácido graso es metabolizado a través de un intermediario con CoA, la síntesis de ATP por fosforilación a nivel de sustrato es una posibilidad.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué es la fosforilación a nivel de sustrato?
- ¿Por qué la formación de acetato en la fermentación es energéticamente beneficiosa para la célula?

13.12 Fermentaciones del ácido láctico y ácido-mixta

Las fermentaciones se clasifican bien por el sustrato fermentado, bien por los productos que se forman. En la Tabla 13.4 se recogen algunas de las fermentaciones más importantes clasificadas según los productos formados. Obsérvese que algunas de las categorías son amplias, como la alcohólica, la del ácido láctico, la del ácido propiónico, la de ácidos mixtos, la del ácido butírico y la acetogénica. Otras fermentaciones se clasifican por el sustrato que se fermenta y no por el producto; por ejemplo, fermentaciones de aminoácidos, purinas/pirimidinas, o succinato/oxalato. Algunos anaerobios incluso fermentan compuestos aromáticos y otros sustratos poco frecuentes (Tabla 13.5). Es obvio que se puede fermentar una gran variedad de compuestos orgánicos, y en algunos casos solamente un grupo restringido de anaerobios puede llevar a cabo la fermentación. Muchos de ellos son especialistas metabólicos, y han desarrollado la capacidad de fermentar un sustrato que no es catabolizado por otras bacterias.

Empezamos con dos fermentaciones muy frecuentes de azúcares en las que el ácido láctico es el único producto o el mayoritario.

UNIDAD 3

Tabla 13.4 Fermentaciones frecuentes, su energética y algunos de los organismos que las realizan

Tipo	*Reacción*	*Rendimiento energético ($\Delta G^{0\prime}$, kJ/mol)*	*Organismos*
Alcohólica	Hexosa → 2 etanol + 2 CO_2	−239	Levaduras, *Zymomonas*
Homoláctica	Hexosa → 2 lactato$^-$ + 2 H^+	−196	*Streptococcus*, algunos *Lactobacillus*
Heteroláctica	Hexosa → lactato$^-$ + etanol + CO_2 + H^+	−216	*Leuconostoc*, algunos *Lactobacillus*
Del ácido propiónico	3 Lactato$^-$ → 2 propionato$^-$ + acetato$^-$ + CO_2 + H_2O	−170	*Propionibacterium*, *Clostridium propionicum*
Ácido-mixta[a, b]	Hexosa, → etanol + 2,3-butanodiol + succinato^{2-} + lactato$^-$ + acetato$^-$ + formiato$^-$ + H_2 + CO_2	—	Enterobacterias como *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*
Del ácido butírico[b]	Hexosa → butirato$^-$ + 2 H_2 + 2 CO_2 + H^+	−264	*Clostridium butyricum*
Del butanol[b]	2 Hexosa → butanol + acetona + 5 CO_2 + 4 H_2	−468	*Clostridium acetobutylicum*
Del caproato/ butirato	6 Etanol + 3 acetato$^-$ → 3 butirato$^-$ + caproato$^-$ + 2 H_2 + 4 H_2O + H^+	−183	*Clostridium kluyveri*
Acetogénica	Fructosa → 3 acetato$^-$ + 3 H^+	−276	*Clostridium aceticum*

[a]No todos los organismos producen todos los productos. En concreto, la producción de butanodiol está limitada a algunos tipos de enterobacterias. La reacción no está igualada.
[b]La estequiometría muestra los productos principales. Otros productos comprenden algo de acetato y una pequeña cantidad de etanol (solo en la fermentación del butanol).

Tabla 13.5 Algunas fermentaciones bacterianas poco frecuentes

Tipo	*Reacción*	*Organismos*
Acetileno	$2\ C_2H_2 + 3\ H_2O \longrightarrow$ etanol + acetato$^-$ + H^+	*Pelobacter acetylenicus*
Glicerol	4 Glicerol + 2 $HCO_3^- \longrightarrow$ 7 acetato$^-$ + 5 H^+ + 4 H_2O	*Acetobacterium* spp.
Resorcinol (aromático)	$2\ C_6H_4(OH)_2 + 6\ H_2O \longrightarrow$ 4 acetato$^-$ + butirato$^-$ + 5 H^+	*Clostridium* spp.
Floroglucinol (aromático)	$C_6H_6O_3 + 3\ H_2O \longrightarrow$ 3 acetato$^-$ + 3 H^+	*Pelobacter massiliensis, Pelobacter acidigallici*
Putrescina	$10\ C_4H_{12}N_2 + 26\ H_2O \longrightarrow$ 6 acetato$^-$ + 7 butirato$^-$ + 20 NH_4^+ + 16 H_2 + 13 H^+	Anaerobios no formadores de endosporas grampositivos sin clasificar
Citrato	Citrato^{3-} + 2 $H_2O \longrightarrow$ formiato$^-$ + 2 acetato$^-$ + HCO_3^- + H^+	*Bacteroides* spp.
Aconitato	Aconitato^{3-} + H^+ + 2 $H_2O \longrightarrow$ 2 CO_2 + 2 acetato$^-$ + H_2	*Acidaminococcus fermentans*
Glioxilato	4 Glioxilato$^-$ + 3 H^+ + 3 $H_2O \longrightarrow$ 6 CO_2 + 5 H_2 + glicolato$^-$	Bacteria gramnegativa sin clasificar
Benzoato	2 Benzoato$^- \longrightarrow$ ciclohexanocarboxilato$^-$ + 3 acetato$^-$ + HCO_3^- + 3 H^+	*Syntrophus aciditrophicus*

Fermentación del ácido láctico

Las bacterias acidolácticas son bacterias grampositivas no formadoras de endosporas que producen ácido láctico como producto de fermentación único o mayoritario a partir de la fermentación de azúcares (↻ Sección 15.6). Se observan dos estructuras fermentativas. Una, llamada **homofermentativa**, produce un solo producto de fermentación, el ácido láctico. La otra, llamada **heterofermentativa**, genera otros productos además del lactato, principalmente etanol y CO_2.

En la **Figura 13.31** se resumen las rutas para la fermentación de glucosa por parte de las bacterias acidolácticas homofermentadoras y heterofermentadoras. Las diferencias observadas se pueden reducir a la presencia o ausencia de *aldolasa*, una enzima clave de la glicólisis (Figura 3.14). Las bacterias acidolácticas homofermentadoras poseen aldolasa y producen *dos* moléculas de lactato a partir de glucosa mediante la ruta glicolítica (Figura 13.31*a*). Los heterofermentadores carecen de aldolasa, de manera que no pueden romper el difosfato de fructosa en fosfatos de triosa. En cambio, oxidan la glucosa 6-fosfato a 6-fosfogluconato y después lo descarboxilan a fosfato de pentosa. Este último compuesto es convertido a fosfato de triosa y fosfato de acetilo por la enzima *fosfocetolasa* (Figura 13.31*b*). Los primeros pasos del catabolismo de las bacterias acidolácticas heterofermentadoras son los de la ruta de los fosfatos de pentosa (↻ Figura 3.26).

En los heterofermentadores, el fosfato de triosa es convertido en ácido láctico con producción de ATP (Figura 13.31*b*). Sin embargo, para conseguir el equilibrio redox, el fosfato de acetilo producido se usa como aceptor de electrones y es reducido por el NADH (generado durante la producción de fosfato de pentosa) a etanol. Esto se lleva a cabo sin síntesis de ATP, ya que el enlace rico en energía del CoA se pierde durante la formación de etanol. Por consiguiente, los heterofermentadores producen solamente *una* ATP/glucosa en lugar de las *dos* ATP/glucosa producidas por los homofermentadores. Además, como los heterofermentadores descarboxilan el 6-fosfogluconato, producen CO_2 como producto de fermentación, cosa que no hacen los homofermentadores. Así pues, una manera fácil de diferenciar un homofermentador de un heterofermentador es observar si hay producción de CO_2 en los cultivos de laboratorio.

Ruta de Entner-Doudoroff

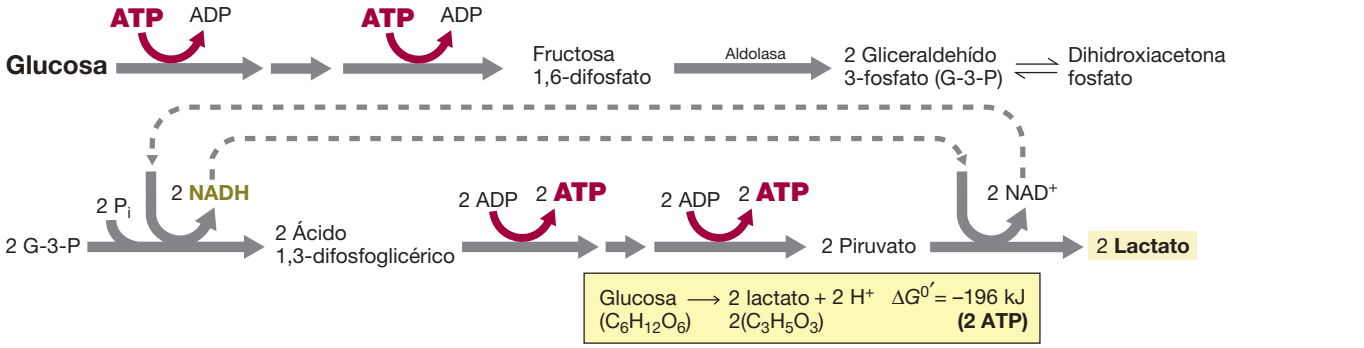
La *ruta de Entner-Doudoroff* es una variante de la ruta glicolítica y está muy difundida entre las bacterias, especialmente entre las especies del grupo de las pseudomónadas. En esta ruta, la glucosa 6-fosfato se oxida a ácido 6-fosfoglucónico y NADPH; después, el ácido 6-fosfoglucónico es deshidratado y escindido en piruvato y gliceraldehído 3-fosfato (G-3-P), un intermediario clave en la ruta glicolítica. A continuación, el G-3-P es catabolizado como en la glicólisis para generar NADH y dos ATP, y se usa como aceptor de electrones para ajustar las reacciones redox (Figura 13.31*a*).

Como el piruvato se forma directamente en la ruta de Entner–Doudoroff y no puede producir ATP como lo hace el G-3-P (Figura 13.31), esta ruta solo produce la mitad del ATP que la ruta glicolítica. Por tanto, los organismos que usan la ruta de Entner–Doudoroff comparten esta característica fisiológica con las bacterias acidolácticas heterofermentadoras (Figura 13.31*b*). *Zymomonas*, una pseudomónada fermentadora estricta, y *Pseudomonas*, una bacteria respiratoria estricta (↻ Sección 15.4) son dos de los principales géneros que utilizan la ruta de Entner–Doudoroff para catabolizar la glucosa.

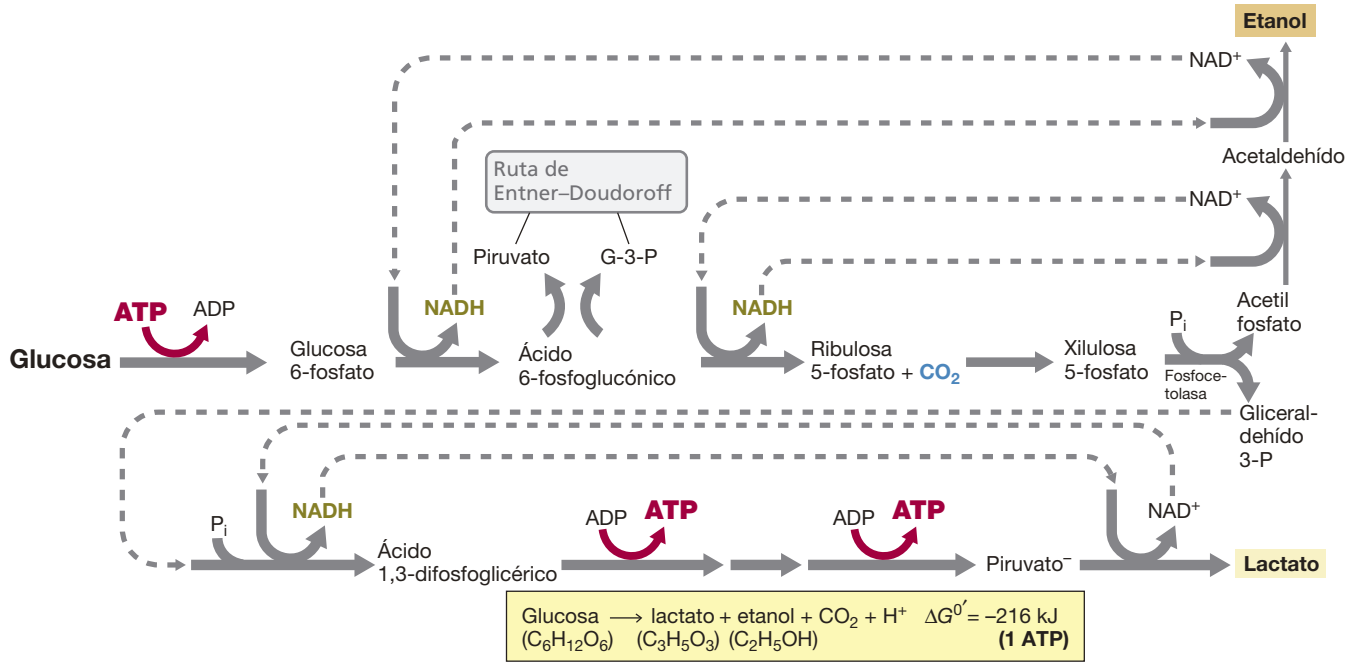
Fermentaciones ácido-mixtas

En las *fermentaciones ácido-mixtas* (Tabla 13.4), características de las enterobacterias (↻ Sección 15.3), se forman tres ácidos —*acético*, *láctico* y *succínico*— a partir de la fermentación de la glucosa u otros azúcares que se puedan convertir en glucosa. También se suelen formar etanol, CO_2 e hidrógeno como productos de la fermentación. La glicólisis es la ruta utilizada por los fermentadores ácido-mixtos, como *Escherichia coli*, y está esquematizada en la Figura 3.14.

Algunas enterobacterias generan productos ácidos en menor cantidad que *E. coli* y ajustan las cargas en su fermentación produciendo cantidades más grandes de productos neutros. Un producto neutro fundamental es el alcohol de cuatro carbonos *butanodiol*. En esta variante de la fermentación ácido-mixta, los productos principales son el butanodiol, el etanol, el CO_2 y el hidrógeno (**Figura 13.32**). En la fermentación ácido-mixta de *E. coli* se producen cantidades iguales de CO_2 y de hidrógeno, mientras que en la fermentación que produce butanodiol se



(a) **Homofermentadoras**



(b) **Heterofermentadoras**

Figura 13.31 **Fermentación de la glucosa en bacterias acidolácticas *(a)* homofermentadoras y *(b)* heterofermentadoras.** Obsérvese que en las reacciones de formación de etanol en los organismos heterofermentadores no se forma ATP.

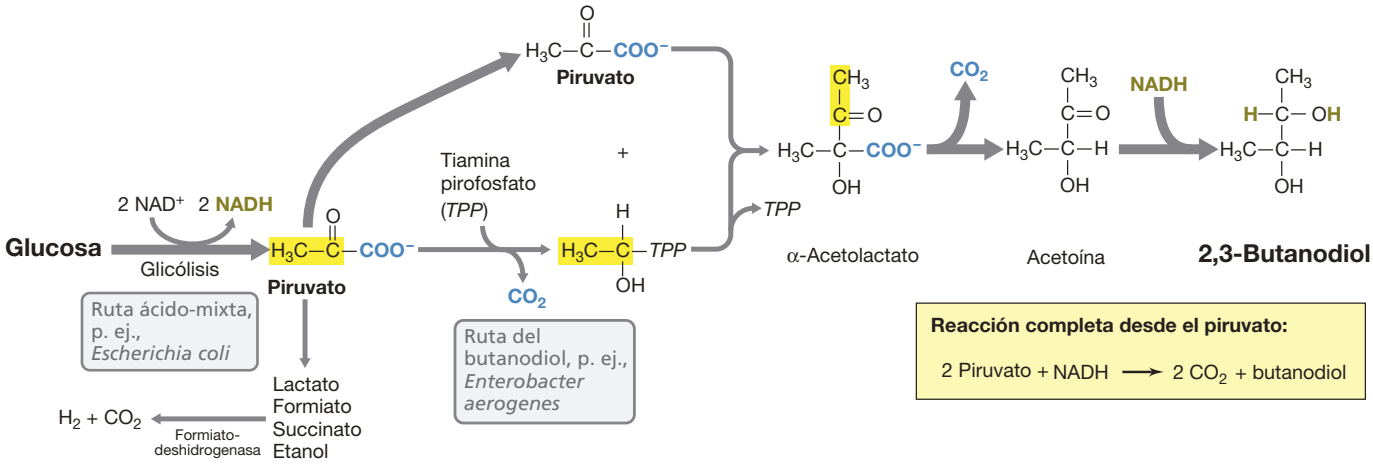


Figura 13.32 **Producción de butanodiol en las fermentaciones ácido-mixtas.** Obsérvese que solo se usa una molécula de NADH, pero dos de piruvato, para producir una molécula de butanodiol. Esto provoca un desequilibrio redox y la producción de más etanol por parte de los productores de butanodiol que de los fermentadores ácido-mixtos.

genera mucho más CO_2 que hidrógeno, ya que los fermentadores ácido-mixtos producen CO_2 solo a partir del ácido fórmico mediante la enzima *formiato-deshidrogenasa* (Figura 13.32):

$$HCOOH \rightarrow H_2 + CO_2$$

Sin embargo, los productores de butanodiol, como *Enterobacter aerogenes*, producen CO_2 e hidrógeno a partir del ácido fórmico, pero también generan dos moléculas adicionales de CO_2 durante la formación de cada molécula de butanodiol (Figura 13.32). No obstante, como la producción de butanodiol consume solo la mitad del NADH generado en la glicólisis (Figura 13.32), estos organismos producen más etanol que los fermentadores que no generan butanodiol con el fin de conseguir el equilibrio redox.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cómo podemos diferenciar el metabolismo homofermentativo del heterofermentativo en cultivos puros de bacterias acidolácticas?
- La producción de butanodiol conduce a una producción de etanol mucho mayor que la fermentación ácido-mixta de *Escherichia coli*. ¿Por qué?

13.13 Fermentaciones de los clostridios *Clostridium* y del ácido propiónico

Las especies del género *Clostridium* son fermentadoras anaerobias estrictas (↔ Sección 15.7). Diferentes clostridios fermentan azúcares, aminoácidos, purinas y pirimidinas, y unos pocos compuestos más. En todos los casos la síntesis de ATP está vinculada a la fosforilación a nivel de sustrato, ya sea en la ruta glicolítica o a partir de la hidrólisis de un producto intermedio con CoA (Tabla 13.3). Empezaremos con los clostridios fermentadores de azúcares o *sacarolíticos*.

Fermentación de azúcares por especies de *Clostridium*

Algunos clostridios fermentan azúcares y generan *ácido butírico* como producto principal de la fermentación. Algunas especies también producen las sustancias neutras acetona y butanol; *Clostridium acetobutylicum* es un ejemplo clásico de este tipo de bacterias. Los pasos bioquímicos en la formación de ácido butírico y productos neutros a partir de azúcares se detallan en la Figura 13.33.

En los clostridios sacarolíticos la glucosa se convierte en piruvato y NADH a través de la ruta glicolítica, y el piruvato se escinde para dar acetil-CoA, CO_2 e hidrógeno (a través de la ferredoxina) en la reacción fosforoclástica (Figura 13.30). La mayor parte de la acetil-CoA es reducida a butirato y otros productos de fermentación usando NADH procedente de las reacciones glicolíticas como donador de electrones. Los productos que se obtienen en realidad dependen de la duración y las condiciones de fermentación. Durante las primeras etapas de la fermentación butírica se producen butirato y una pequeña cantidad de acetato y etanol. Pero a medida que el pH baja, la producción de ácido disminuye y empiezan a aparecer el butanol y la acetona. Si el pH del medio se mantiene neutro mediante adición de un tampón, encontraremos muy poca formación de acetona y butanol; en cambio, la producción de ácido butírico continuará y hay una razón para ello.

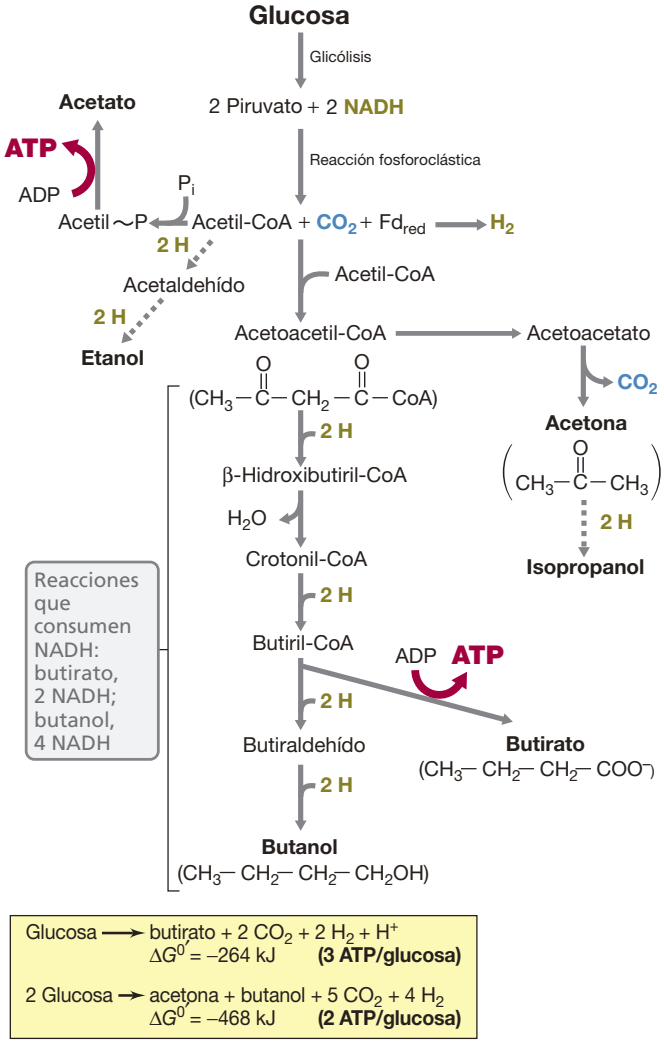


Figura 13.33 La fermentación del ácido butírico y de butanol/acetona. Todos los productos de fermentación de la glucosa se muestran en negrita (las líneas de puntos indican productos menores). Obsérvese que la producción de acetato y butirato ocasiona la síntesis de ATP adicional por fosforilación a nivel de sustrato. En cambio, la formación de butanol y acetona reduce la producción de ATP porque se salta la etapa de butiril-CoA a butirato.

Cuando *C. acetobutylicum* sintetiza butirato se produce ATP extra (Figura 13.33 y Tabla 13.3) y el organismo seguirá generando butirato a menos que las condiciones se vuelvan excesivamente ácidas. No obstante, el organismo es sensible al ácido, y si el pH baja por debajo de 5, se desreprimen los genes que codifican enzimas que sintetizan productos neutros y la fermentación se desplaza hacia la producción de solventes. Es interesante señalar que la producción de butanol es en parte una consecuencia de la producción de acetona. Por cada molécula de acetona sintetizada dejan de reoxidarse dos NADH producidos durante la glicólisis a diferencia de lo que ocurriría si se produjera butirato. Para conseguir el equilibrio redox la célula utiliza entonces el butirato como aceptor de electrones y el butanol

es el producto final de la fermentación (Figura 13.33). El butirato previamente excretado también se puede reincorporar a la célula, que lo reduce a butanol y lo excreta de nuevo. La formación de productos neutros ayuda a *C. acetobutylicum* a mantener el ambiente a un pH no demasiado ácido, pero esto tiene un costo energético. Al producir butanol la célula pierde la oportunidad de convertir el butiril-CoA a butirato y obtener ATP (Figura 13.3 y Tabla 13.3).

Fermentación de aminoácidos por las especies de *Clostridium* y la reacción de Stickland

Algunas especies de *Clostridium* fermentan aminoácidos. Se trata de los clostridios *proteolíticos*, organismos que degradan proteínas liberadas de organismos muertos. Algunos de ellos, como el patógeno animal *Clostridium tetani* (causante del tétanos) son estrictamente proteolíticos, mientras que otras especies son tanto proteolíticas como sacarolíticas.

Según las especies, algunos clostridios proteolíticos fermentan aminoácidos individuales, normalmente glutamato, glicina, alanina, cisteína, histidina, serina o treonina. La bioquímica que subyace a estas fermentaciones es bastante compleja, pero la estrategia metabólica es sencilla. En prácticamente todos los casos los aminoácidos son catabolizados de manera que al final se obtiene un acil-CoA derivado de ácido graso, generalmente acetilo (C_2), butirilo (C_4) o caproílo (C_6). A partir de ellos se produce ATP mediante fosforilación a nivel de sustrato (Tabla 13.3). Otros productos típicos de la fermentación aminoacídica son el amoniaco (NH_3) y el CO_2.

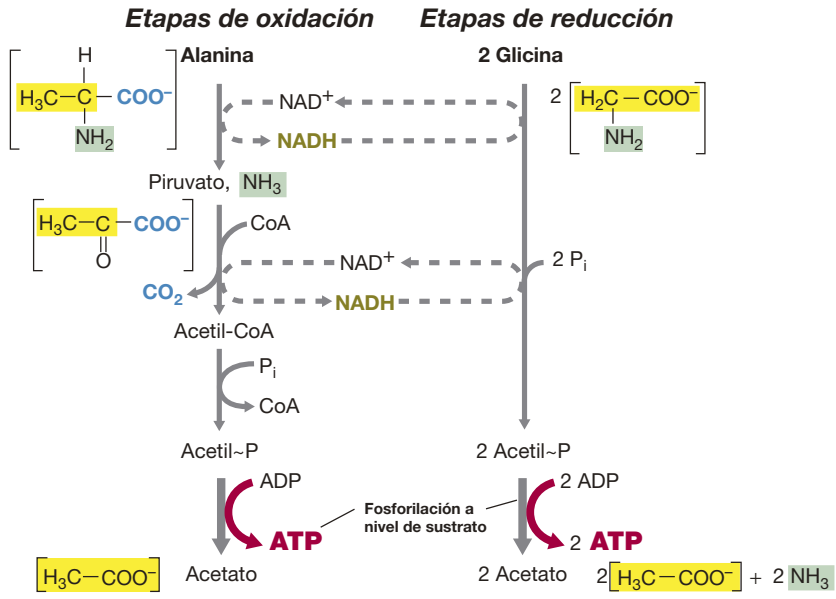
Algunos clostridios fermentan solamente un *par* de aminoácidos. En esta situación un aminoácido funciona como donador de electrones y se oxida, y el otro como aceptor y se reduce. Esta fermentación aminoacídica *acoplada* se llama **reacción de Stickland**, por el científico que la descubrió. Por ejemplo, *Clostridium sporogenes* fermenta glicina y alanina, y en esta reacción la alanina es el donador de electrones y la glicina el aceptor (**Figura 13.34**). Los productos de la reacción de Stickland son invariablemente amoniaco, CO_2 y un ácido carboxílico con un carbono menos que el aminoácido oxidado (Figura 13.34).

Muchos de los productos de la fermentación aminoacídica por clostridios son sustancias con un olor fétido, y el olor que procede de la putrefacción es principalmente el resultado de la actividad clostridial. Además de ácidos grasos, otros compuestos olorosos que se producen son el sulfuro de hidrógeno (H_2S), el metilmercaptano (CH_3SH, derivado de aminoácidos sulfurados), la cadaverina (a partir de la lisina), la putrescina (a partir de la ornitina) y el amoniaco (NH_3). Las purinas y las pirimidinas, liberadas por la degradación de los ácidos nucleicos, dan lugar esencialmente a los mismos productos de fermentación, y producen ATP por fosforilación a nivel de sustrato a partir de la hidrólisis de los acil-CoA derivados de ácidos grasos (Tabla 13.3) producidos en sus respectivas rutas fermentativas.

Fermentación de *Clostridium kluyveri*

Hay otra especie de *Clostridium* que también fermenta una mezcla de sustratos en la que uno es el donador y el otro el aceptor, como en la reacción de Stickland. Si embargo, este organismo, *C. kluyveri*, no fermenta aminoácidos, sino *etanol y acetato*. En esta fermentación, el etanol es el donador de electrones y el acetato el aceptor. La reacción total se muestra en la Figura 13.34.

La producción de ATP en la fermentación que produce caproato/butirato es baja: 1 ATP por cada 6 moléculas de



Aminoácidos que participan en fermentaciones acopladas (reacción de Stickland)	
Aminoácidos oxidados:	**Aminoácidos reducidos:**
Alanina	Glicina
Leucina	Prolina
Isoleucina	Hydroxiprolina
Valina	Triptófano
Histidina	Arginina

Figura 13.34 **La reacción de Stickland.** En este ejemplo se muestra el cocatabolismo de los aminoácidos alanina y glicina. Las estructuras de los sustratos clave, los productos intermedios y los productos se muestran entre corchetes para que se pueda seguir la química de la reacción. Obsérvese que en esta reacción la alanina es el donador de electrones y la glicina el aceptor.

etanol fermentadas. No obstante, *C. kluyveri* presenta una ventaja selectiva respecto a todos los otros fermentadores gracias a su capacidad, aparentemente única, de oxidar un producto muy reducido de la fermentación de otros anaerobios (etanol) y de acoplarlo a la reducción de otro producto de fermentación habitual (acetato) para dar ácidos grasos de cadena más larga; en esta reacción se consume NADH (véase la Figura 13.33). La molécula de ATP producida por cada 6 moléculas de etanol oxidadas procede de la fosforilación a nivel de sustrato durante la conversión del acil-CoA derivado de ácido graso que se forma durante la fermentación. La fermentación de *C. kluyveri* es un ejemplo de **fermentación secundaria**, que es fundamentalmente la fermentación de un producto de fermentación. Veremos otro ejemplo a continuación.

Fermentación del ácido propiónico

La bacteria grampositiva *Propionibacterium* y algunas bacterias relacionadas generan *ácido propiónico* como producto principal de fermentación a partir de la glucosa o del lactato. El lactato, un producto de fermentación de las bacterias acidolácticas, es probablemente el principal sustrato de las bacterias del ácido propiónico en la naturaleza, donde estos dos grupos viven estrechamente asociados. *Propionibacterium* es un agente importante en la maduración del queso suizo (emmental), que obtiene su exclusivo sabor amargo y como de nueces de los ácidos propiónico y acético producidos en la fermentación, y sus agujeros característicos (los «ojos» del queso) de las burbujas de CO_2 generadas en el proceso.

En la Figura 13.35 se muestran las reacciones que conducen del lactato al propionato. Cuando la glucosa es el sustrato inicial, primero se cataboliza a piruvato en la ruta glicolítica. Después, el piruvato, producido a partir de la glucosa o de la oxidación del lactato, se convierte en acetato más CO_2, o se carboxila para formar metilmalonil-CoA; este último se convierte en oxalacetato y, finalmente, en propionil-CoA (Figura 13.35). El propionil-CoA reacciona con el succinato en un paso catalizado por la enzima CoA-transferasa para producir succinil-CoA y propionato. Esto supone una oportunidad perdida para la producción de ATP a partir del propionil-CoA (Tabla 13.3), pero evita el costo energético de activar el succinato con ATP para formar succinil-CoA. A continuación, el succinil-CoA es isomerizado a metilmalonil-CoA y se completa el ciclo; se forma propionato y se regenera CO_2 (Figura 13.35).

El NADH es oxidado en los pasos entre el oxalacetato y el succinato. La reducción de fumarato a succinato (Figura 13.35) está vinculada a las reacciones de transporte de electrones y a la formación de fuerza protonmotriz; esto produce una molécula de ATP por fosforilación oxidativa (Sección 13.21). La ruta del propionato también convierte parte del lactato a acetato más CO_2, lo que permite la síntesis de ATP adicional por fosforilación a nivel de sustrato (Figura 13.35). Así, en la fermentación del propionato se produce fosforilación a nivel de sustrato *más* fosforilación oxidativa.

El propionato también se forma en la fermentación de succinato por parte de la bacteria *Propionigenium*, pero mediante un mecanismo completamente diferente del descrito aquí para *Propionibacterium*. *Propionigenium*, que estudiaremos a continuación, no está relacionada ni filogenética ni ecológicamente con *Propionibacterium*, pero algunos aspectos de su metabolismo energético tienen un interés considerable desde el punto de vista de la diversidad metabólica y de los límites energéticos de la vida.

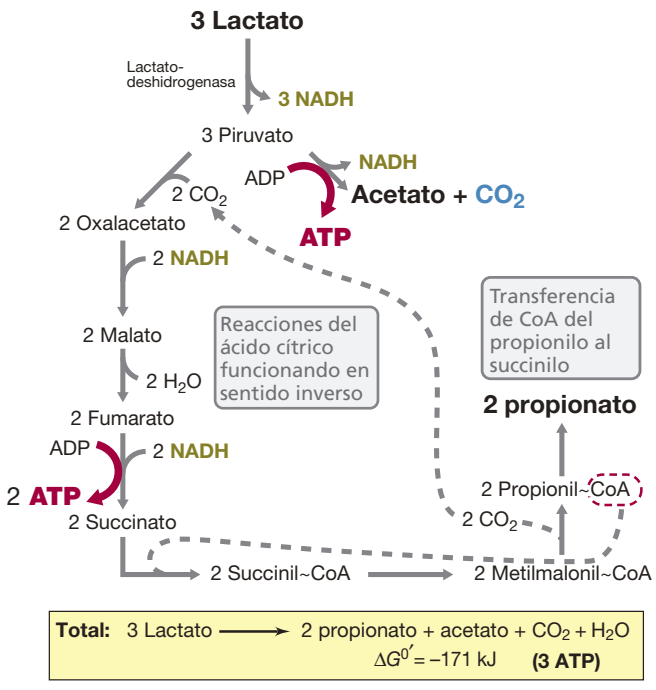


Figura 13.35 Fermentación del ácido propiónico por *Propionibacterium*. Los productos aparecen en negrita. Los cuatro NADH producidos en la oxidación de tres lactatos son reoxidados en la reducción del oxalacetato y el fumarato, y el grupo CoA del propionil-CoA se intercambia con el succinato durante la formación del propionato.

MINIRREVISIÓN

- Compare los mecanismos de conservación de energía de *Clostridium acetobutylicum* y *Propionibacterium*.
- ¿Qué clase de sustancias fermentan los clostridios sacarolíticos? ¿Y los clostridios proteolíticos?
- ¿Cuáles son los sustratos de la fermentación de *Clostridium kluyveri*? En la naturaleza, ¿de dónde proceden esos sustratos?

13.14 Fermentaciones sin fosforilación a nivel de sustrato

Algunas fermentaciones no producen la energía suficiente para sintetizar ATP por fosforilación a nivel de sustrato (es decir, producen menos de −32 kJ, Tabla 13.3), y sin embargo sustentan el crecimiento anaerobio sin aceptores de electrones adicionales. En estos casos, el catabolismo del compuesto está vinculado a las bombas de iones que establecen una fuerza protonmotriz o una fuerza sodiomotriz a través de la membrana citoplasmática. Dos ejemplos de esto son la fermentación de succinato por *Propionigenium modestum* y la fermentación de oxalato por *Oxalobacter formigenes*.

Propionigenium modestum

Propionigenium modestum se aisló por primera vez en cultivos de enriquecimiento anóxicos que carecían de aceptores de

electrones y a los que se suministraba succinato como donador de electrones. *Propionigenium* habita en sedimentos marinos y de agua dulce y también se puede aislar de la cavidad bucal humana. El organismo es un pequeño bacilo gramnegativo y, filogenéticamente, es una especie de *Fusobacteria* (↔ Sección 15.21). Durante los estudios sobre la fisiología de *P. modestum* se observó que necesita cloruro de sodio (NaCl) para crecer y catabolizar el succinato en condiciones estrictamente anóxicas:

$$\text{Succinato}^{2-} + H_2O \rightarrow \text{propionato}^- + HCO_3^- \quad \Delta G^{0\prime} = -20{,}5\ \text{kJ}$$

Esta descarboxilación libera una cantidad de energía libre que resulta insuficiente para la síntesis de ATP mediante fosforilación a nivel de sustrato (Tabla 13.3), pero que basta para bombear un ion sodio (Na^+) del citoplasma al periplasma a través de la membrana citoplasmática. La obtención de energía en *Propionigenium* está, pues, unida a la *fuerza sodiomotriz* resultante; en la membrana de este organismo que usa la fuerza sodiomotriz para sintetizar ATP existe una ATPasa transportadora de sodio (en lugar de transportadora de protones) (**Figura 13.36*a***).

En una reacción de descarboxilación relacionada, la bacteria *Malonomonas* descarboxila el malonato, que es un ácido dicarboxílico C_3, para dar acetato y CO_2. Al igual que en el caso de *Propionigenium*, el metabolismo energético de *Malonomonas* está unido al Na^+ y a una ATPasa impulsada por sodio. Pero la energía libre disponible de la fermentación del malonato por parte de *Malonomonas* (−17,4 kJ) es todavía menor que la de la fermentación del succinato por parte de *P. modestum*. *Sporomusa*, una bacteria formadora de endosporas que es también un acetógeno (Sección 13.19) también es capaz de fermentar el malonato, como unas pocas bacterias más.

Oxalobacter formigenes

Oxalobacter formigenes es una bacteria presente en el intestino de los animales, incluidos los humanos. Cataboliza el ácido dicarboxílico C_2 oxalato para dar formiato y CO_2. La degradación del oxalato por parte de *O. formigenes* se considera importante en el colon de los humanos para prevenir la acumulación de oxalato, una sustancia que puede formar piedras de oxalato de calcio en los riñones. *O. formigenes* es una bacteria gramnegativa anaerobia estricta que lleva a cabo la reacción siguiente:

$$\text{Oxalato}^{2-} + H_2O \rightarrow \text{formiato}^- + HCO_3^- \quad \Delta G^{0\prime} = -26{,}7\ \text{kJ}$$

Al igual que sucede con el catabolismo del succinato por parte de *P. modestum*, esta reacción no proporciona suficiente energía para impulsar la síntesis de ATP por fosforilación a nivel de sustrato (Tabla 13.3). Sin embargo, la reacción sustenta el crecimiento del organismo porque la descarboxilación del oxalato es exergónica y produce formiato, que es excretado por la célula, ya que el consumo interno de protones durante la oxidación del oxalato y la producción de formiato es, en efecto, una bomba de protones; una molécula divalente (oxalato) entra en la célula al mismo tiempo que se excreta una molécula monovalente (formiato). El intercambio continuado de oxalato por formiato establece una fuerza protonmotriz que está acoplada a la síntesis de ATP a través de la ATPasa transportadora de protones de la membrana (Figura 13.36*b*).

Qué podemos aprender de las fermentaciones descarboxilativas

El aspecto exclusivo de todas estas fermentaciones «descarboxilativas» es que el ATP se sintetiza sin forforilación a nivel de sustrato *ni* fosforilación oxidativa impulsada por reacciones de transporte electrónico. En cambio, la síntesis de ATP está impulsada por bombas de iones acopladas a la pequeña cantidad de energía liberada en la reacción de descarboxilación. Los organismos como *Propionigenium*, *Malonomonas* y *Oxalobacter* ofrecen por tanto una importante lección de bioenergética microbiana: la síntesis de ATP a partir de reacciones que liberan

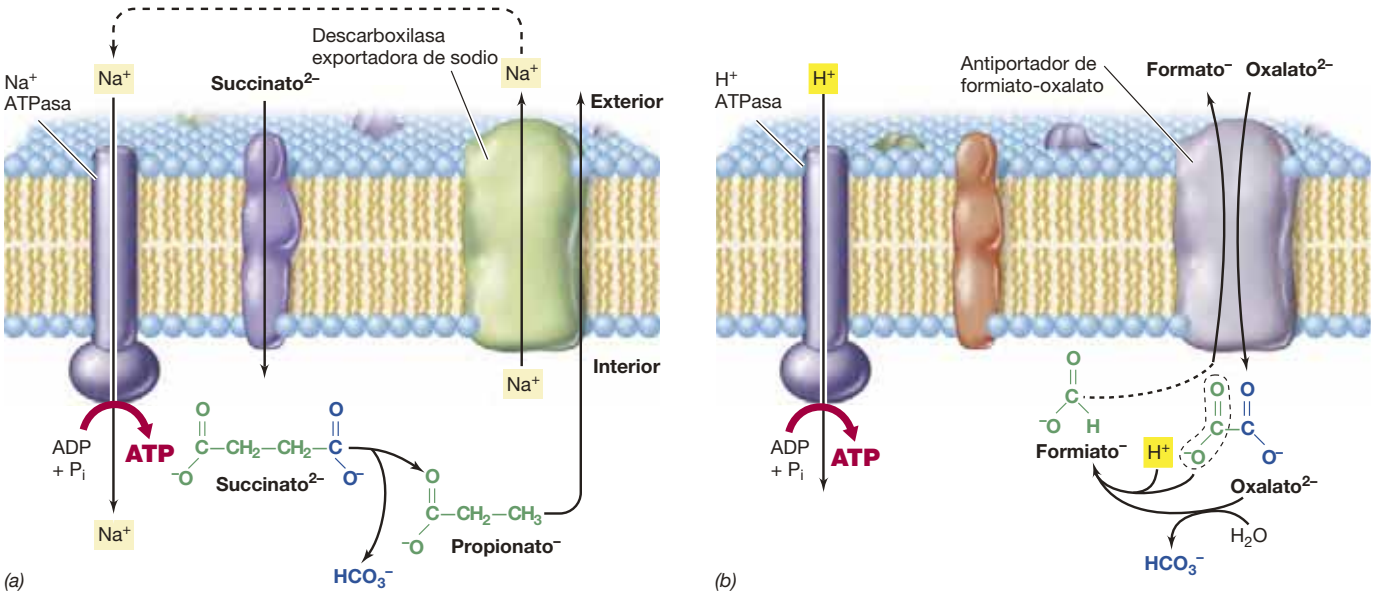


Figura 13.36 Fermentaciones exclusivas de succinato y oxalato. *(a)* Fermentación de succinato por *Propionigenium modestum*. La exportación de sodio está vinculada a la energía liberada por la descarboxilación del succinato, y una ATPasa transportadora de sodio produce ATP. *(b)* Fermentación de oxalato por *Oxalobacter formigenes*. La importación de oxalato y la exportación de formiato por un antiportador formiato-oxalato (↔ Figura 2.21) consume protones citoplasmáticos. La síntesis de ATP está vinculada a una ATPasa impulsada por protones. Todos los sustratos y productos aparecen en negrita.

UNIDAD 3

menos de −32 kJ sigue siendo posible si la reacción está acoplada a una bomba de iones.

Un requisito mínimo para una reacción de fijación de energía es que genere la energía libre necesaria para bombear al menos un ion. Este requisito energético se calcula en aproximadamente −12 kJ. Las reacciones que liberan energía libre por debajo de este valor en teoría no podrían impulsar las bombas de iones y, por tanto, no serían posibles reacciones de conservación de la energía. Sin embargo, como veremos en la sección siguiente, se conocen bacterias que reducen aún más este límite y cuya energética, por consiguiente, todavía no se conoce completamente. Son las bacterias sintróficas, bacterias que viven en el margen energético de la existencia.

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué *Propionigenium modestum* necesita sodio para crecer?
- ¿En qué beneficia el organismo *Oxalobacter* a nuestra salud?
- ¿Cómo puede sustentar el crecimiento una fermentación que libera energía libre insuficiente para sintetizar ATP?

13.15 Sintrofismo

En microbiología existen muchos ejemplos de **sintrofismo**, una situación en la cual dos organismos diferentes cooperan para degradar una sustancia que ninguno de los dos puede degradar por sí solo. La mayoría de las reacciones sintróficas son fermentaciones secundarias en las que los organismos fermentan los productos de fermentación de otros anaerobios. En el Capítulo 20 veremos que la sintrofia suele ser una etapa clave en el catabolismo anóxico que lleva a la formación de metano (CH_4) en la naturaleza. En este apartado estudiaremos la microbiología y los aspectos energéticos de la sintrofia. La Tabla 13.6 recoge algunos de los grupos más importantes de organismos sintróficos y los compuestos que degradan. Muchos compuestos orgánicos se pueden degradar sintróficamente, incluso hidrocarburos aromáticos y alifáticos. Pero los principales compuestos de interés en ambientes sintróficos son los ácidos grasos y los alcoholes.

Consumo de H_2 en el sintrofismo: el enlace metabólico

El núcleo de las reacciones sintróficas es la *transferencia interespecífica de H_2*, es decir, la *producción* de H_2 por uno de los miembros de la relación sintrófica, unida al *consumo* de H_2 por el otro miembro. El consumidor de H_2 puede ser cualquiera de entre una serie de organismos fisiológicamente distintos: bacterias desnitrificantes, bacterias reductoras de hierro férrico, bacterias reductoras de sulfato, acetógenos o metanógenos, grupos que trataremos en la siguiente unidad de este capítulo. Tomemos la fermentación de etanol a acetato y H_2 por el organismo sintrófico *Pelotomaculum*, acoplada a la producción de metano (Figura 13.37). Como se puede ver, el organismo sintrófico lleva a cabo una reacción cuyo cambio de energía libre estándar ($\Delta G^{0\prime}$) es positivo, de manera que, en un cultivo puro, no crecerá. No obstante, el H_2 producido por *Pelotomaculum* puede ser utilizado como donador de electrones por un metanógeno para producir metano, una reacción exergónica. Si sumamos las dos reacciones, la reacción total es exergónica (Figura 13.37), y si *Pelotomaculum* y un metanógeno se cultivan juntos (en cocultivo), ambos organismos crecen estupendamente.

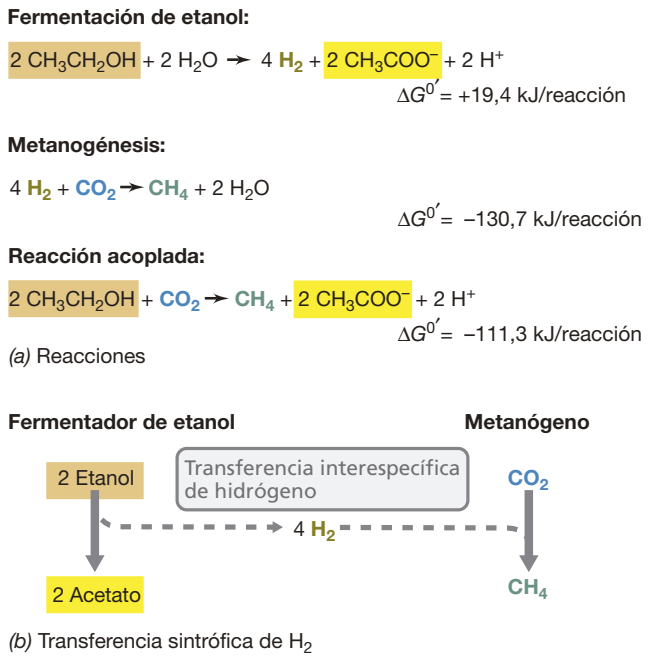


Figura 13.37 Sintrofia: transferencia interespecífica de H_2. Se muestra la fermentación de etanol a metano y acetato por asociación sintrófica de un organismo sintrófico oxidador de etanol y un organismo asociado consumidor de H_2 (en este caso, un metanógeno). *(a)* Reacciones que intervienen. Los dos organismos comparten la energía liberada en la reacción acoplada. *(b)* Naturaleza de la transferencia sintrófica de H_2.

Tabla 13.6 Propiedades de las principales bacterias sintróficas[a]

Género	*Número de especies conocidas*	*Filogenia*[b]	*Sustratos fermentados en cocultivo*[c]
Syntrophobacter	4	*Deltaproteobacteria*	Propionato (C_3), lactato; algunos alcoholes
Syntrophomonas	9	*Firmicutes*	Ácidos grasos C_4-C_{18} saturados/insaturados; algunos alcoholes
Pelotomaculum	2	*Firmicutes*	Propionato, lactato; algunos alcoholes; algunos compuestos aromáticos
Syntrophus	3	*Deltaproteobacteria*	Benzoato y varios compuestos aromáticos relacionados; algunos ácidos grasos y alcoholes

[a]Todos los organismos sintróficos son anaerobios estrictos.
[b]Véanse los Capítulos 14 y 15.
[c]No todas las especies pueden usar las sustancias mencionadas.

Un segundo ejemplo de sintrofia es la oxidación de un ácido graso como el butirato a acetato y H_2 por la bacteria oxidadora de ácidos grasos *Syntrophomonas* (**Figura 13.38**):

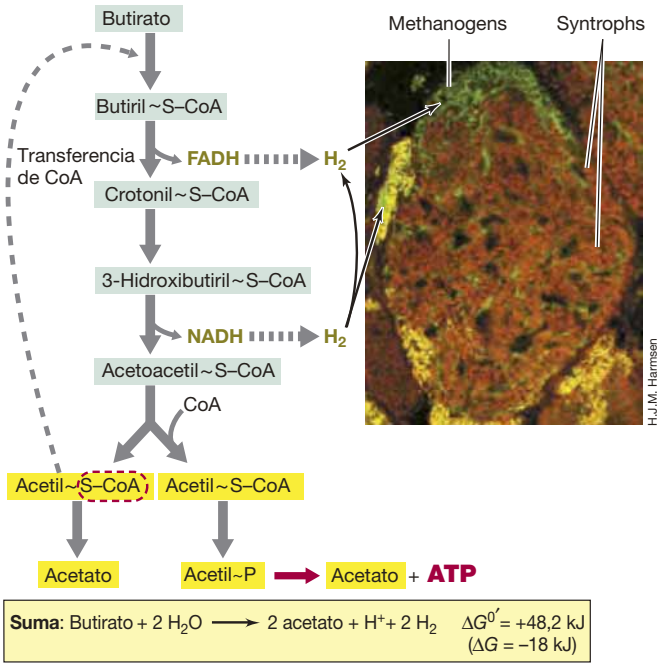
$$\text{Butirato}^- + 2\,H_2O \rightarrow 2\,\text{acetato}^- + H^+ + 2\,H_2 \quad \Delta G^{0\prime} = +48{,}2\ \text{kJ}$$

El cambio de energía libre de esta reacción es todavía más desfavorable que el de la oxidación de etanol (Figura 13.37) y, obviamente, en cultivo puro *Syntrophomonas* no crecerá con butirato. Sin embargo, igual que con la fermentación del etanol por *Pelotomaculum*, si el H_2 producido por *Syntrophomonas* es consumido por otro organismo, *Syntrophomonas* crecerá con butirato en cocultivo con este otro organismo. Veamos cómo se produce esto.

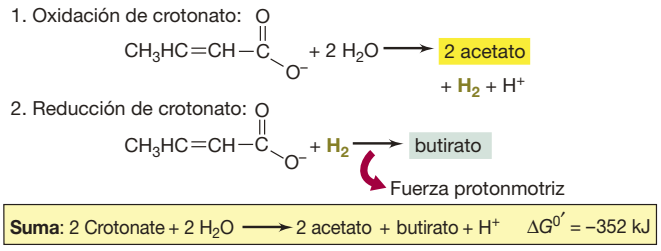
Energética de la transferencia de H_2

En una relación sintrófica, la captación de H_2 por otro organismo desplaza el equilibrio de toda la reacción y la hace ir en sentido de la formación de producto; esto puede afectar en gran medida a la energética de la reacción. La revisión de los principios de la energía libre que se recogen en el Apéndice 1 nos recuerda que la concentración de reactivos y productos en una reacción puede tener un gran efecto en la energética. Normalmente no es el caso en la mayoría de los productos de fermentación, porque no son consumidos a concentraciones extremadamente bajas. Por el contrario, el H_2 se puede consumir a niveles prácticamente indetectables, y a estas concentraciones mínimas la energética de las reacciones se puede ver notablemente afectada .

Por comodidad, se calcula el $\Delta G^{0\prime}$ de una reacción en *condiciones estándar* —concentración 1 molar de productos y reactivos (↬ Sección 3.4)—. En cambio, el término relacionado ΔG se calcula a partir de las *concentraciones reales* de los productos y los reactivos (en el Apéndice 1 se explica cómo calcular ΔG). A concentraciones muy bajas de H_2, la energética de la oxidación de etanol o ácidos grasos a acetato y H_2, que son reacciones endergónicas en condiciones estándar, se convierte en exergónica. Por ejemplo, si la concentración de H_2 se mantiene extremadamente baja por consumo de un organismo asociado, el ΔG de la oxidación del butirato por *Syntrophomonas* es de −18 kJ (Figura 13.38*a*). Como hemos visto en la Sección 13.14, este rendimiento relativamente bajo de energía sigue pudiendo sustentar el crecimiento de una bacteria.



(a) **Cultivo sintrófico**



(b) **) Cultivo puro**

Figura 13.38 Energética del crecimiento de *Syntrophomonas* en cultivo sintrófico y en cultivo puro. *(a)* En un cultivo sintrófico, el crecimiento requiere la presencia de un organismo consumidor de H_2, como un metanógeno. La producción de H_2 está impulsada por el flujo inverso de electrones, porque los valores de E_0' de los pares FADH y NADH son más electropositivos que los del par $2\,H^+/H_2$. *(b)* En el cultivo puro, la captación de energía está vinculada a la respiración anaerobia con la reducción de crotonato a butirato. Foto: micrografía de células de una bacteria sintrófica degradadora de ácidos grasos (rojo) asociada con un metanógeno (amarillo-verde).

Energética del sintrofismo

La obtención de energía en los organismos sintróficos se basa en la fosforilación a nivel de sustrato y en la fosforilación oxidativa. A partir de estudios bioquímicos del catabolismo sintrófico del butirato se ha visto que la fosforilación a nivel de sustrato se produce durante la conversión de acetil-CoA a acetato (Figura 13.38*a*), aunque en teoría los −18 kJ de energía liberada (ΔG) son insuficientes. No obstante, la energía liberada es suficiente para producir *una fracción* de ATP, de modo que es posible que *Syntrophomonas* acople de alguna manera dos o más ciclos de oxidación de butirato a la síntesis de un ATP por fosforilación a nivel de sustrato.

Muchos organismos, además de llevar un tipo de vida sintrófico también pueden respirar anaerobiamente (Sección 13.16) en cultivos puros por la dismutación de ácidos grasos insaturados (la dismutación es un proceso por el que una molécula de un sustrato se oxida mientras que otra se reduce). Por ejemplo, el crotonato, un producto intermedio en el metabolismo sintrófico del butirato (Figura 13.38*a*), sustenta el crecimiento de cultivos puros de *Syntrophomonas*. En estas condiciones, una parte del crotonato se oxida a acetato y otra parte se reduce a butirato (Figura 13.38*b*). Como la reducción del crotonato por *Syntrophomonas* está acoplada a la formación de fuerza protonmotriz, al igual que ocurre en otros tipos de respiración anaerobia que utilizan aceptores orgánicos de electrones (como en la reducción de fumarato a succinato, Sección 13.21), es posible que alguno o algunos pasos del metabolismo sintrófico generen también fuerza protonmotriz. Los organismos sintróficos que fermentan benzoato y propionato, cuyo rendimiento energético (ΔG) es muy reducido, solo unos −5 kJ por reacción, deberán, casi con toda seguridad, bombear protones o algún otro ion.

Independientemente de cómo se sintetiza el ATP durante el crecimiento sintrófico, estos organismos tienen un problema

energético adicional. En este tipo de metabolismo, los organismos sintróficos producen H_2 ($E_0' = -0{,}42$ V) a partir de donadores de electrones más electropositivos como FADH ($E_0' = -0{,}22$ V) y NADH ($E_0' = -0{,}32$ V), generados durante las reacciones de oxidación de ácidos grasos (Figura 13.38*a*); es improbable que esto ocurra sin un aporte de energía. Por tanto, una fracción del escaso ATP generado por *Syntrophomonas* durante el crecimiento sintrófico probablemente sea consumido para impulsar las reacciones de flujo inverso de electrones (Sección 13.3) para producir H_2. Combinando este consumo de energía con el rendimiento energético de por sí bajo de las reacciones sintróficas, resulta evidente que las bacterias sintróficas se desarrollan en una economía energética muy marginal.

Ecología de los organismos sintróficos

Ecológicamente, las bacterias sintróficas son enlaces fundamentales en las etapas anóxicas del ciclo del carbono (↻ Sección 20.2). Los organismos sintróficos consumen productos de fermentación muy reducidos y liberan un producto clave para la respiración anaerobia, el hidrógeno. Sin organismos sintróficos se crearía un cuello de botella en los ambientes anóxicos en los que los aceptores de electrones (diferentes del CO_2) fueran limitantes. En cambio, cuando las condiciones son óxicas o hay abundancia de aceptores de electrones alternativos, las relaciones sintróficas no son necesarias. Por ejemplo, si existe oxígeno o nitrato disponible como aceptor de electrones, la energética de la respiración de un ácido graso o un alcohol es tan favorable que no hacen falta las relaciones sintróficas. Por tanto, la sintrofia es característica del catabolismo anóxico en el que principalmente la metanogénesis o la acetogénesis son los procesos terminales en el ecosistema. La metanogénesis es un proceso importante en la biodegradación anóxica de las aguas residuales, y los estudios microbiológicos de los gránulos de lodo que se forman en estos sistemas han demostrado la estrecha relación física que se desarrolla entre el productor y el consumidor de H_2 en estos hábitats (foto de la Figura 13.38*a*).

MINIRREVISIÓN

- Dé un ejemplo de transferencia interespecífica de H_2. ¿Por qué se dice que ambos organismos se benefician de este proceso?
- ¿Por qué un cultivo puro de *Syntrophomonas* puede crecer con crotonato pero no con butirato?

IV • Respiración anaerobia

En el Capítulo 3 analizamos el proceso de la respiración aerobia. Como apuntamos allí, el oxígeno actúa como *aceptor terminal de electrones* aceptando electrones que han viajado a través de una cadena de transporte de electrones. No obstante, también vimos que se podían usar otros aceptores de electrones distintos del oxígeno, en cuyo caso el proceso recibe el nombre de **respiración anaerobia**. En esta sección estudiaremos estas reacciones con más detalle.

13.16 Principios de la respiración anaerobia

Las bacterias que realizan respiración anaerobia tienen cadenas de transporte de electrones que contienen las proteínas de transporte de electrones típicas que hemos visto en la respiración aerobia, la fotosíntesis y la quimiolitotrofia —citocromos, quinonas, ferrosulfoproteínas y otras—. En algunos organismos, como las bacterias desnitrificantes, la respiración anaerobia compite con la respiración aerobia. En estos casos, ante la presencia de oxígeno el organismo respirará preferentemente de manera aerobia. Otros muchos organismos que obtienen la energía mediante la respiración anaerobia son anaerobios estrictos, y por tanto son incapaces de respirar oxígeno, que incluso les puede resultar letal.

Aceptores alternativos de electrones y la escala redox

La energía liberada en la oxidación de un donador de electrones usando oxígeno como aceptor es mayor que la que se obtiene si el mismo compuesto es oxidado con un aceptor de electrones diferente (↻ Figura 3.9). Estas diferencias de energía se hacen evidentes al observar los potenciales de reducción de cada aceptor (**Figura 13.39**). Como el par O_2/H_2O es el más electropositivo, cuando se usa el O_2 como aceptor terminal de electrones se libera más energía que con cualquier otro aceptor. Por este motivo la respiración aerobia es el proceso dominante y, en un organismo en el que ambos procesos sean posibles, se excluye la respiración anaerobia. Otros aceptores de electrones cercanos al par O_2/H_2O son el ion mangánico (Mn^{4+}), el hierro férrico (Fe^{3+}), el nitrato (NO_3^-) y el nitrito (NO_2^-). Otros ejemplos de aceptores más electronegativos son el sulfato (SO_4^{2-}), el azufre elemental (S^0) y el dióxido de carbono (CO_2); los organismos que utilizan estos aceptores normalmente no son aerobios facultativos y, por tanto, están obligados a un tipo de vida anaerobia. En la Figura 13.39 se muestra un resumen de los tipos más comunes de respiración anaerobia.

Reducciones asimiladoras y desasimiladoras

Algunos compuestos inorgánicos como nitratos, sulfatos y dióxido de carbono son reducidos por muchos organismos como fuente de nitrógeno, azufre y carbono celular, respectivamente. Los productos finales de estas reducciones son, respectivamente, los grupos amino (—NH_2) de aminoácidos y otras sustancias nitrogenadas, los grupos sulfhidrilo (—SH) de diversos compuestos celulares con azufre, y el carbono orgánico que se encuentra en todos los constituyentes celulares. Cuando el nitrato, el sulfato o el dióxido de carbono se reducen con esta finalidad, se dice que *se asimilan*, y el proceso de reducción se llama reducción *asimiladora*. El metabolismo asimilador es conceptual y fisiológicamente bastante diferente de la reducción de nitrato, sulfato o dióxido de carbono durante la obtención de energía en el metabolismo. Para distinguir estos dos tipos de reducción, el uso de estos compuestos como aceptores de electrones con fines energéticos se llama reducción *desasimiladora*.

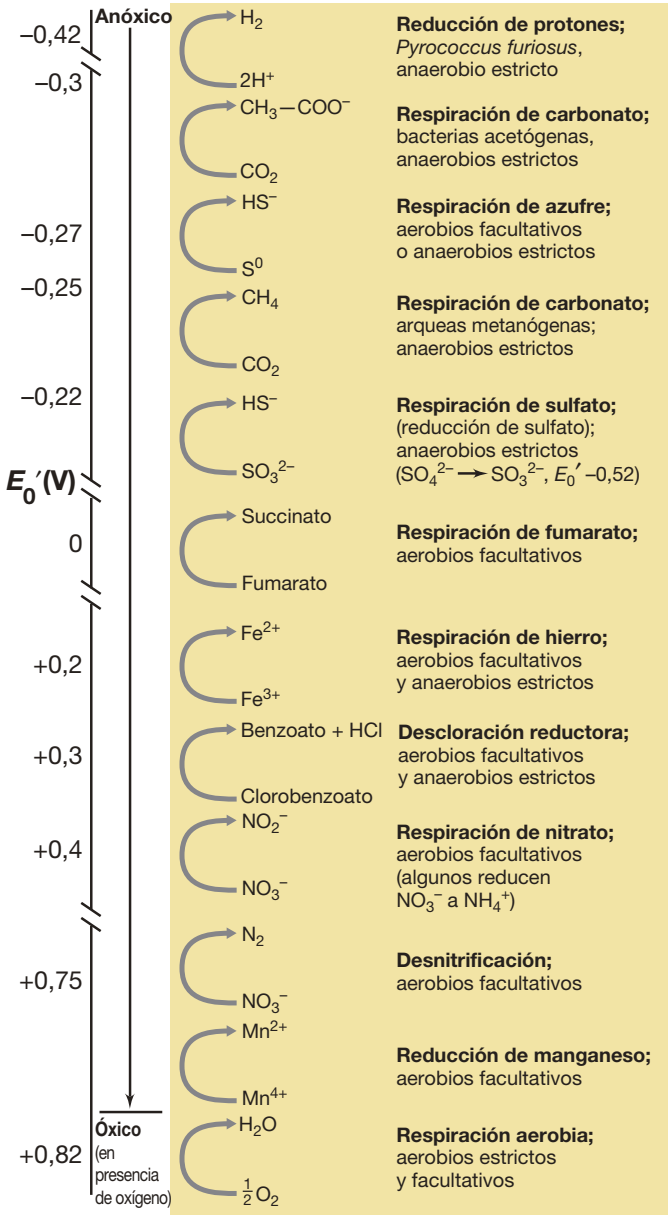


Figura 13.39 **Formas principales de respiración anaerobia.** Los pares redox están ordenados desde el E_0' más electronegativo (arriba) hasta el E_0' más electropositivo (abajo). Véase la Figura 3.9 para comparar cómo varían los rendimientos energéticos de estos tipos de respiración anaerobia.

Los metabolismos asimilador y desasimilador son muy diferentes. En el metabolismo asimilador solo se reduce la cantidad del compuesto (nitrato, sulfato o dióxido de carbono) suficiente para satisfacer las necesidades de biosíntesis, y los productos finalmente son convertidos en material celular en forma de macromoléculas u otras biomoléculas. En cambio, en el metabolismo desasimilador se reduce una gran cantidad del aceptor de electrones, y los productos reducidos son moléculas pequeñas (nitrógeno, sulfuro de hidrógeno o metano, por ejemplo) que se excretan de la célula.

La mayoría de los organismos lleva a cabo diversos tipos de metabolismo asimilador, mientras que solo unos pocos realizan un metabolismo desasimilador. Respecto a los donadores de electrones, prácticamente todos los compuestos orgánicos degradables de manera aerobia lo son también en condiciones anóxicas por una o más formas de respiración anaerobia. Además, varias sustancias inorgánicas pueden ser también donadores de electrones siempre que el potencial de reducción de sus pares redox sea más electronegativo que el del par aceptor en la respiración anaerobia (Figura 13.39).

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué se diferencia la respiración aerobia de la anaerobia y por qué la respiración aerobia reprime la anaerobia?
- Con el hidrógeno como donador de electrones, ¿por qué la reducción de nitrato es una reacción más favorable que la de azufre elemental?

UNIDAD 3

13.17 Reducción de nitrato y desnitrificación

Los compuestos de nitrógeno inorgánicos forman parte de los aceptores de electrones más habituales en la respiración anaerobia. En la Tabla 13.7 se resumen las formas más importantes de nitrógeno inorgánico con sus estados de oxidación.

Uno de los aceptores de electrones alternativos más habituales con fines desasimiladores es el nitrato (NO_3^-), que se puede reducir con dos electrones a nitrito (NO_2^-), o más todavía a óxido nítrico (NO), óxido nitroso (N_2O) y nitrógeno molecular (N_2). El NO, el N_2O y el N_2, al ser gases, se pueden dispersar en el ambiente, y su producción biológica se llama **desnitrificación** (Figura 13.40). Para la agricultura, la desnitrificación es un proceso perjudicial, porque elimina del suelo nitrato, que a menudo se añade en los fertilizantes. Sin embargo, para un proceso como el tratamiento de aguas residuales, la desnitrificación es beneficiosa porque elimina de los vertidos de aguas residuales el nitrógeno fijado, que es uno de los grandes estimuladores del crecimiento de las algas en ríos y lagos (↬ Secciones 19.8, 21,6 y 21.7).

Microorganismos desnitrificadores

La mayoría de las bacterias desnitrificadoras son filogenéticamente proteobacterias, y fisiológicamente son aerobios facultativos. La respiración aerobia se produce cuando hay oxígeno en

Tabla 13.7 Estados de oxidación de los principales compuestos nitrogenados

Compuesto	*Estado de oxidación del átomo de N*
N orgánico (—NH_2)	−3
Amoniaco (NH_3)	−3
Gas nitrógeno (N_2)	0
Óxido nitroso (N_2O)	+1 (promedio por N)
Óxido nítrico (NO)	+2
Nitrito (NO_2^-)	+3
Dióxido de nitrógeno (NO_2)	+4
Nitrato (NO_3^-)	+5

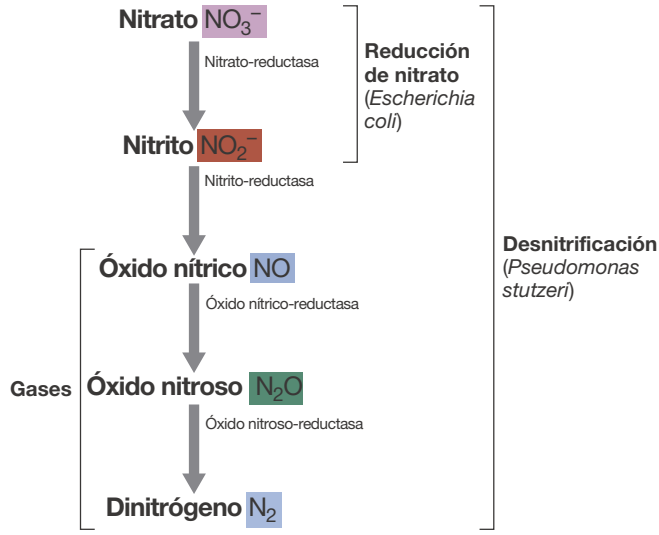
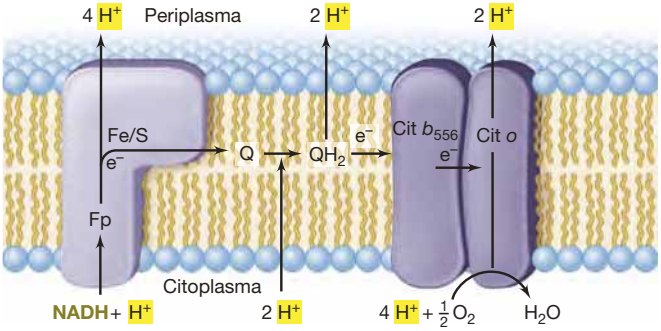


Figura 13.40 **Etapas de la reducción desasimiladora de nitrato.** Algunos organismos solo pueden llevar a cabo la primera etapa. En condiciones anóxicas todas las enzimas que intervienen se desinhiben. Además, se sabe que algunos procariotas pueden reducir nitrato a amonio en el metabolismo desasimilador. Obsérvese que los colores usados aquí coinciden con los de la Figura 13.41.

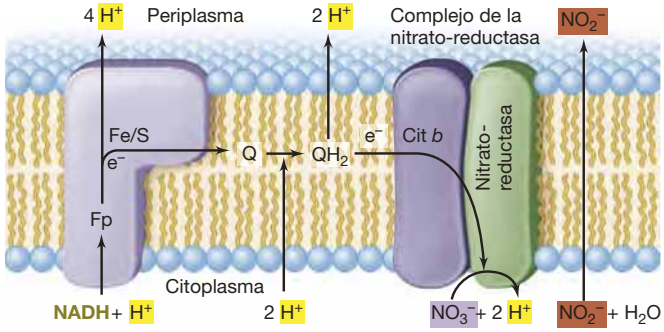
el medio, incluso cuando también hay nitrato. Muchas bacterias desnitrificadoras también reducen anaerobiamente otros aceptores de electrones como el Fe^{3+} y algunos aceptores orgánicos (Sección 13.21), y algunos desnitrificadores pueden incluso realizar algún tipo de fermentación. Así pues, las bacterias desnitrificadoras son metabólicamente diversas en cuanto a mecanismos alternativos de generación de energía. Algunas especies de arqueas pueden crecer anaerobiamente mediante reducción del nitrato a nitrito, y unas cuantas pueden llevar a cabo procesos de desnitrificación. Curiosamente, se ha visto que hay al menos un eucariota desnitrificador: el protista *Globobulimina pseudospinescens*, una ameba con teca (un foraminífero, Sección 17.7), puede desnitrificar y probablemente utiliza esta forma de metabolismo en su hábitat, los sedimentos marinos anóxicos.

Bioquímica de la reducción desasimiladora de nitrato

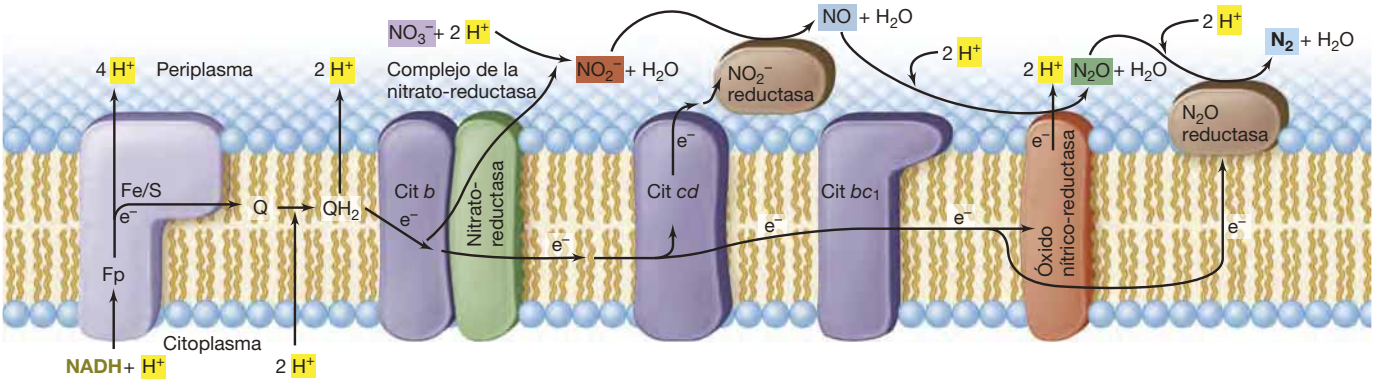
En la **Figura 13.41** se ofrece una visión comparada de las rutas de transporte de electrones de la respiración aerobia, la respiración de nitrato y la desnitrificación. La enzima que cataliza la primera etapa de la reducción desasimiladora de nitrato es la *nitrato-reductasa*, una enzima asociada a la membrana que



(a) **Respiración aerobia**



(b) **Reducción de nitrato**



(c) **Desnitrificación**

Figura 13.41 **Respiración y respiración anaerobia basada en el nitrato.** Procesos del transporte de electrones en la membrana de *Escherichia coli* cuando se utiliza *(a)* O_2 o *(b)* NO_3^- como aceptor de electrones y el donador de electrones es NADH. Fp, flavoproteína; Q, ubiquinona. Cuando abunda el oxígeno, la secuencia de transportadores es cit $b_{556} \rightarrow$ cit $o \rightarrow O_2$. Sin embargo, cuando hay poco oxígeno (no se muestra), la secuencia es cit $b_{568} \rightarrow$ cit $d \rightarrow O_2$. Obsérvese que se trasladan más protones por cada dos electrones aerobiamente que anaerobiamente durante el transporte de electrones cuando el nitrato es el aceptor de electrones, porque la oxidasa terminal aerobia (cit *o*) bombea dos protones. *(c)* Esquema del transporte de electrones en membranas de *Pseudomonas stutzeri* durante la desnitrificación. La nitrato-reductasa y la óxido nítrico-reductasa son proteínas integrales de membrana, mientras que la nitrito-reductasa y la óxido nitroso-reductasa son enzimas periplasmáticas.

contiene molibdeno y cuya síntesis está inhibida por el oxígeno. Todas las enzimas posteriores de la ruta están reguladas de manera coordinada, de modo que también son inhibidas por el oxígeno. Pero para que estas enzimas se expresen totalmente, además de condiciones anóxicas, tiene que haber también nitrato en el medio.

El primer producto de la reducción del nitrato es el nitrito (NO_2^-), y después actúa la nitrito-reductasa reduciéndolo a óxido nítrico (NO) (Figura 13.41*c*). Algunos organismos pueden reducir el nitrito a amoniaco (NH_3) en un proceso desasimilador, pero lo más importante de ese proceso es la producción de productos gaseosos —*desnitrificación*—, porque algunos productos de la desnitrificación, especialmente el óxido nitroso (NO_2) y el óxido nítrico (NO), causan un impacto ambiental. El óxido nitroso se puede convertir en óxido nítrico por efecto de la luz del sol, y este reacciona con el ozono (O_3) en la parte superior de la atmósfera para formar nitrito. Cuando llueve, el nitrito vuelve a la Tierra en forma de ácido nitroso (HNO_2) en la *lluvia ácida*.

La bioquímica de la reducción desasimiladora del nitrato se ha estudiado con detalle en *Escherichia coli*, en la que el nitrato se reduce únicamente a nitrito, y en *Paracoccus denitrificans* y *Pseudomonas stutzeri*, en los que se produce desnitrificación. La nitrato-reductasa de *E. coli* acepta electrones de un citocromo de tipo *b*; en la Figura 13.41*a*, *b* se puede ver una comparación de la cadena de transporte de electrones de células de *E. coli* aerobias y la de células de *E. coli* que respiran nitrato. A causa del potencial de reducción del par NO_3^-/NO_2^- (+0,43 V), durante la reducción de nitrato se bombean menos protones que en la respiración aerobia (O_2/H_2O, +0,82 V). En *P. denitrificans* y *P. stutzeri* se forman óxidos de nitrógeno a partir del nitrito por acción de las enzimas nitrito-reductasa, óxido nítrico-reductasa y óxido nitroso-reductasa. Durante estas reacciones de transporte de electrones se establece una fuerza protonmotriz y la ATPasa la acopla con la síntesis de ATP (Figura 13.41*c*).

MINIRREVISIÓN

- En *Escherichia coli*, ¿por qué se libera más energía en la respiración aerobia que durante la reducción de nitrato?
- ¿En qué se diferencian los productos de la reducción del nitrato en *E. coli* y en *Pseudomonas*?
- ¿En qué parte de la célula se encuentra la nitrato-reductasa desasimiladora? ¿Qué metal poco frecuente contiene?

13.18 Reducción de sulfato y de azufre

Algunos compuestos inorgánicos del azufre son aceptores importantes de electrones en la respiración anaerobia. En la Tabla 13.8 se muestra un resumen de los estados de oxidación de los principales compuestos de azufre. El sulfato (SO_4^{2-}), la forma más oxidada de azufre, es reducido por las *bacterias reductoras de sulfato* (o *sulfatorreductoras*), un grupo muy diverso de bacterias anaerobias estrictas de amplia distribución en la naturaleza. El producto final de la reducción del sulfato es el sulfuro de hidrógeno (H_2S), un producto natural importante que participa en muchos procesos biogeoquímicos (↪ Secciones 20.4 y 21.10). Las especies del género *Desulfovibrio*, en concreto *D. desulfuricans*, se han estudiado extensamente, y las propiedades generales de las bacterias reductoras de sulfato se detallan en la Sección 14.9.

Tabla 13.8 Compuestos de azufre y donadores de electrones para la reducción del sulfato

Compuesto	*Estado de oxidación del átomo de S*
Estados de oxidación de compuestos de azufre fundamentales	
S orgánico (R—SH)	−2
Sulfuro de hidrógeno (H_2S)	−2
Azufre elemental (S^0)	0
Tiosulfato (—S—SO_3^{2-})	−2/+6
Dióxido de azufre (SO_2)	+4
Sulfito (SO_3^{2-})	+4
Sulfato (SO_4^{2-})	+6
Algunos donadores de electrones utilizados para la reducción del sulfato	
Hidrógeno molecular	Acetato
Lactato	Propionato
Piruvato	Butirato
Etanol y otros alcoholes	Ácidos grasos de cadena larga
Fumarato	Benzoato
Malato	Indol
Colina	Varios hidrocarburos

Al igual que ocurre con el nitrato (Sección 13.17), es necesario distinguir entre metabolismo del sulfato asimilador y desasimilador. Muchos organismos, plantas, algas, hongos y la mayoría de los procariotas, incorporan sulfato para cubrir necesidades de azufre para la biosíntesis; se trata de un metabolismos asimilador. En cambio, la capacidad de utilizar sulfato como aceptor de electrones para fijar energía requiere una reducción a gran escala y está restringida a las bacterias reductoras de sulfato. Estos organismos producen sulfuro de hidrógeno en grandes cantidades y lo excretan de las células, de manera que queda libre para poder ser oxidado por el aire, usado por otros organismos o combinado con metales para formar sulfuros metálicos.

Bioquímica y energética de la reducción de sulfato

Como muestran los potenciales de reducción de la Tabla A1.2 y la Figura 13.39, el sulfato es un aceptor de electrones mucho menos favorable que el oxígeno o el nitrato. No obstante, de la reducción del sulfato se obtiene la energía libre suficiente para sintetizar ATP cuando un donador de electrones es oxidado y produce NADH o FADH. En la Tabla 13.8 se indican algunos de los donadores de electrones utilizados por las bacterias reductoras de sulfato. Prácticamente todas las especies utilizan hidrógeno (H_2), mientras que el uso de otros donadores está más restringido. Por ejemplo, el lactato y el piruvato son ampliamente usados por especies que viven en ambientes anóxicos de agua dulce, mientras que el uso del acetato y de ácidos grasos de cadena larga está más extendido entre las bacterias reductoras de sulfato marinas. Se conocen muchos tipos morfológicos y fisiológicos de bacterias reductoras de sulfato, y a excepción de *Archaeoglobus* (↪ Sección 16.5), un género de

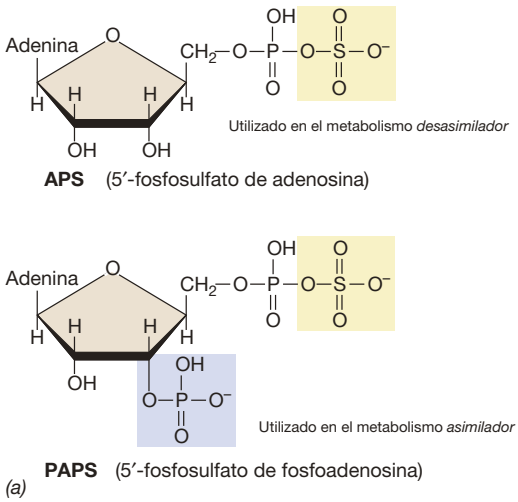
Archaea, todos los organismos reductores de sulfato conocidos son bacterias (↔ Sección 14.9).

La reducción de sulfato a sulfuro de hidrógeno requiere ocho electrones y se desarrolla a través de una serie de etapas intermedias. La reducción de sulfato requiere la *activación* previa de este compuesto en una reacción que consume ATP. La enzima ATP-sulfurilasa cataliza la unión de sulfato a un fosfato del ATP para formar *fosfosulfato de adenosina* (*APS*) como se muestra en la **Figura 13.42*a***. La activación eleva el potencial reductor extremadamente electronegativo del par SO_4^{2-}/SO_3^{2-} (−0,52 V) a prácticamente 0 V, lo que posibilita la reducción del sulfato con donadores de electrones como NADH (−0,32 V).

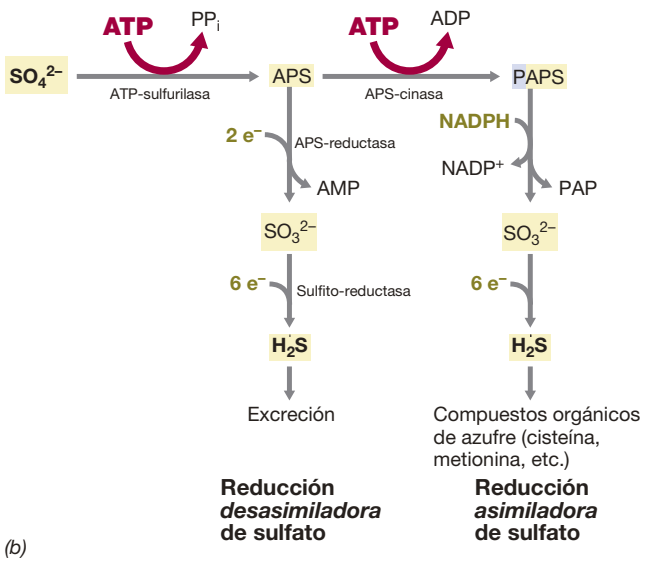
En la reducción desasimiladora del sulfato, el sulfato del APS es reducido directamente a sulfito (SO_3^{2-}) por la enzima APS-reductasa con liberación de AMP. En la reducción asimiladora se añade otro fosfato al APS para formar *fosfosulfato de fosfoadenosina* (*PAPS*, del inglés *phosphoadenosine phosphosulfate*) (Figura 13.42*a*), y solo entonces se reduce el sulfato. No obstante, en ambos casos el producto de la reducción del sulfato es el sulfito (SO_3^{2-}). Una vez que se ha formado el sulfito, es reducido a sulfuro de hidrógeno mediante la actividad de la sulfito-reductasa (Figuras 13.42 y 13.43).

Durante la reducción desasimiladora de sulfato, las reacciones de transporte de electrones generan fuerza protonmotriz y esta impulsa la síntesis de ATP por acción de la ATPasa. Un transportador de electrones importante en este proceso es el *citocromo* c_3, un citocromo periplasmático de potencial bajo (**Figura 13.43**). El citocromo c_3 acepta electrones de una hidrogenasa periplasmática y los transfiere a un complejo proteínico asociado a la membrana. Este complejo, llamado *Hmc*, transporta los electrones a través de la membrana citoplasmática y los transfiere a la APS-reductasa y la sulfito-reductasa, enzimas citoplasmáticas que generan sulfito y sulfuro, respectivamente (Figura 13.43).

La hidrogenasa desempeña una función fundamental en la reducción de sulfato si *Desulfovibrio* está creciendo en hidrógeno per se o en un compuesto orgánico como el lactato, porque este se convierte en acetato a través del piruvato (la mayor parte del acetato se excreta o se asimila en forma de material celular porque *Desulfovibrio* no puede oxidar el acetato a CO_2) con producción de hidrógeno. Este hidrógeno atraviesa la membrana citoplasmática y es oxidado por la hidrogenasa periplasmática; los electrones resultantes vuelven al sistema y los protones generan fuerza protonmotriz (Figura 13.43). Por cada molécula de sulfato reducida a HS^- por parte del hidrógeno



(a)



(b)

Figura 13.42 Bioquímica de la reducción de sulfato: sulfato activado. *(a)* Se pueden sintetizar dos formas de sulfato activo: 5′-fosfosulfato de adenosina (APS) y 5′-fosfosulfato de fosfoadenosina (PAPS). Ambos son derivados del difosfato de adenosina (ADP) donde el segundo fosfato del ADP ha sido reemplazado por el sulfato. *(b)* Esquemas de la reducción asimiladora y desasimiladora de sulfato.

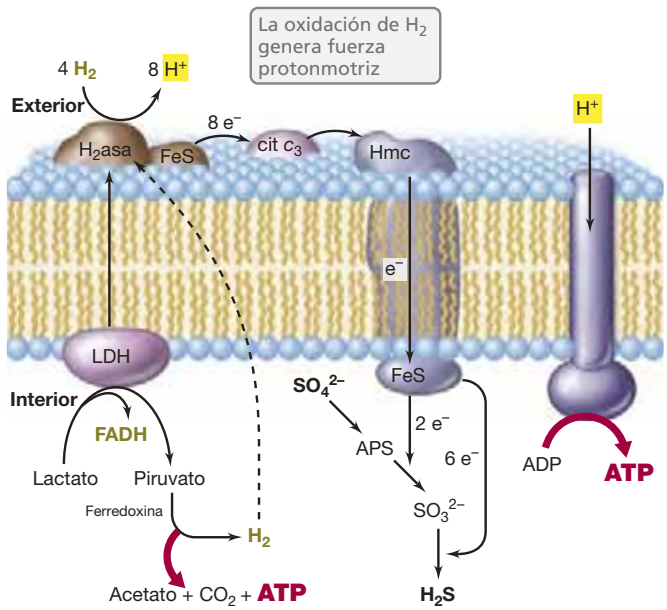


Figura 13.43 Transporte de electrones y fijación de la energía en las bacterias reductoras de sulfato. Además del externo, el hidrógeno producido por el catabolismo de compuestos orgánicos como el lactato y el piruvato pueden alimentar la hidrogenasa. Las enzimas hidrogenasa (H_2asa), el citocromo (cit) c_3 y un complejo citocrómico (Hmc) son proteínas periplasmáticas. Una proteína diferente envía electrones a través de la membrana citoplasmática del Hmc a una ferrosulfoproteína (FeS) del citoplasma que suministra electrones a la APS-reductasa (para formar SO_3^{2-}) y a la sulfito-reductasa (para formar H_2S, Figura 14.14*b*). LDH, lactato-deshidrogenasa.

se produce una molécula neta de ATP mediante la reacción siguiente:

$$4\,H_2 + SO_4^{2-} + H^+ \rightarrow HS^- + 4\,H_2O \qquad \Delta G^{0\prime} = -152\ kJ$$

Cuando el donador de electrones es el lactato o el piruvato, se produce ATP no solo a partir de la fuerza protonmotriz, sino también por fosforilación a nivel de sustrato durante la oxidación del piruvato (a través de la acetil-CoA y del fosfato de acetilo, Tabla 13.3) a acetato y CO_2 (Figura 13.43).

Las especies de bacterias sulfatorreductoras marinas, pero no las de agua dulce, pueden acoplar la oxidación del acetato y los ácidos grasos de cadena larga a CO_2 y la reducción de sulfato:

$$CH_3COO^- + SO_4^{2-} + 3\,H^+ \rightarrow 2\,CO_2 + H_2S + 2\,H_2O \qquad \Delta G^{0\prime} = -57{,}5\ kJ$$

El mecanismo de oxidación del acetato en la mayoría de estas especies es la *ruta de la acetil-CoA*, una serie de reacciones reversibles utilizadas por muchos anaerobios para la síntesis o la oxidación de acetato (Sección 13.19). Unas pocas bacterias reductoras de sulfato también pueden crecer autotróficamente con hidrógeno. En estas condiciones, los organismos usan la ruta de la acetil-CoA para producir acetato como fuente de carbono. Estas especies se pueden cultivar en un medio carente de compuestos orgánicos y que contenga solamente sales minerales, sulfato, CO_2 e hidrógeno.

Metabolismos especiales de las bacterias reductoras de sulfato

Algunas especies de bacterias reductoras de sulfato pueden catalizar reacciones poco frecuentes no características de todas las especies, como son la *dismutación*, la *oxidación de fosfito* y la *reducción de azufre*.

La dismutación es un proceso por el cual una molécula de una sustancia es oxidada y una segunda molécula es reducida, de manera que se forman dos productos diferentes. Por ejemplo, *Desulfovibrio sulfodismutans* puede dismutar el tiosulfato ($S{-}SO_3^{2-}$) como sigue:

$$S{-}SO_3^{2-} + H_2O \rightarrow SO_4^{2-} + H_2S \qquad \Delta G^{0\prime} = -21{,}9\ kJ/reacción$$

Obsérvese que en esta reacción el átomo de azufre de la derecha del compuesto $S{-}SO_3^{2-}$ es oxidado (para formar SO_4^{2-}) mientras que el átomo de la izquierda es reducido (y forma H_2S). La energía libre disponible que procede de la oxidación del tiosulfato por *D. sulfodismutans* es insuficiente para acoplar la fosforilación a nivel de sustrato, así que en cambio se acopla a una bomba de protones que establece una fuerza protonmotriz. Otros compuestos reducidos de azufre como el sulfito (SO_3^{2-}) y el azufre elemental (S^0) también se pueden dismutar. Estas formas de metabolismo del azufre permiten a las bacterias reductoras de sulfato recuperar energía de los productos intermedios de azufre producidos en la oxidación del sulfuro de hidrógeno por los quimiolitótrofos del azufre que coexisten con ellas en la naturaleza y también de los productos intermedios generados en su propio metabolismo durante la reducción del sulfato (Figura 13.42*b*).

Al menos una bacteria reductora de sulfato puede acoplar la oxidación de fosfito (HPO_3^-) con la reducción de sulfato. Esta reacción quimiolitotrófica produce fosfato y sulfuro:

$$4\,HPO_3^- + SO_4^{2-} + H^+ \rightarrow 4\,HPO_4^{2-} + HS^- \qquad \Delta G^{0\prime} = -364\ kJ$$

Esta bacteria, *Desulfotignum phosphitoxidans*, es autótrofa y anaerobia estricta, como debe serlo necesariamente, pues el fosfito se oxida espontáneamente en presencia de aire. Las fuentes naturales de fosfito probablemente sean los compuestos organofosforados llamados *fosfonatos*, que son generados por la degradación anóxica de varios compuestos orgánicos de fósforo. Junto con la dismutación del azufre (que también es un proceso quimiolitotrófico) y la utilización del hidrógeno molecular, la oxidación del fosfito resalta la diversidad de reacciones quimiolitotróficas que llevan a cabo las bacterias reductoras de sulfato.

Reducción del azufre

Además del sulfato, la mayoría de las bacterias reductoras de sulfato también pueden obtener energía de la reducción del azufre elemental a sulfuro ($S^0 + H_2 \rightarrow H_2S$). Y una serie de bacterias y arqueas que no son reductoras de sulfato también pueden reducir azufre en la respiración anaerobia. Son los procariotas *reductores de azufre*, un grupo numeroso que normalmente coexiste con las bacterias reductoras de sulfato en hábitats anóxicos ricos en azufre.

Los electrones para la reducción del azufre proceden del hidrógeno o de algún o algunos compuestos orgánicos. Por ejemplo, *Desulfuromonas acetoxidans* puede oxidar acetato o etanol a CO_2 acoplado a la reduccion de azufre a sulfuro de hidrógeno. Los reductores de azufre carecen de la capacidad para activar el sulfato a APS (Figura 13.42) y esto presumiblemente les impide usar el sulfato como aceptor de electrones. *Desulfuromonas* contiene varios citocromos, entre ellos un análogo del citocromo c_3, que es un transportador de electrones fundamental en las bacterias reductoras de sulfato. En cultivo, algunos reductores de azufre como *Desulfuromonas* también pueden usar también Fe^{3+} como aceptor de electrones en lugar del azufre, pero el azufre es probable que sea el principal aceptor de electrones utilizado en la naturaleza. Es esta reducción de los compuestos oxidados de azufre y la producción de sulfuro de hidrógeno lo que conecta las bacterias reductoras de azufre con las reductoras de sulfato desde un punto de vista ecológico.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cómo se convierte el sulfato en sulfito durante la reducción desasimiladora de sulfato? ¿En qué se diferencia *Desulfuromonas* de *Desulfovibrio* desde un punto de vista fisiológico?
- Compare el crecimiento de *Desulfovibrio* con hidrógeno y con lactato como donadores de electrones.
- Dé un ejemplo de dismutación de azufre.

13.19 Acetogénesis

El dióxido de carbono (CO_2) suele ser abundante en los hábitats anóxicos porque es un producto mayoritario del metabolismo energético de los quimioorganótrofos anaerobios. Dos grandes grupos de procariotas anaerobios estrictos usan el CO_2 como aceptor de electrones para la conservación de la energía. Uno de ellos es el de los *acetógenos*, y hablaremos de él a continuación. El otro grupo, los *metanógenos*, se abordarán en la siguiente sección. El hidrógeno (H_2) es un importante donador de electrones

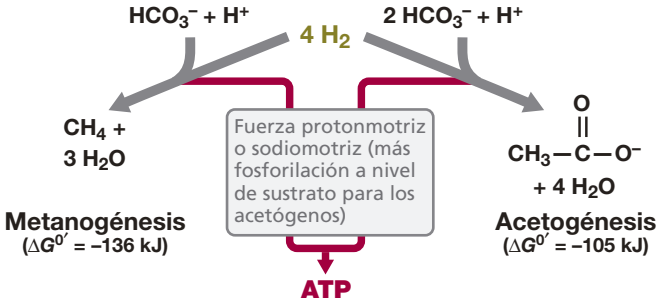


Figura 13.44 Comparación de los procesos de metanogénesis y acetogénesis. Obsérvese la diferencia de energía libre liberada en las reacciones.

para ambos tipos de organismos, y en la Figura 13.44 se muestra una visión general de su metabolismo energético: **acetogénesis** y **metanogénesis**, respectivamente. Ambos procesos están vinculados a bombas de iones, ya sean protones (H^+) o iones sodio (Na^+), como mecanismo de fijación de la energía, y estas bombas alimentan las ATPasas de la membrana. La ruta de la acetogénesis también obtiene energía mediante una reacción de fosforilación a nivel de sustrato.

Organismos y rutas metabólicas

Los acetógenos llevan a cabo la reacción

$$4\,H_2 + H^+ + 2\,HCO_3^- \rightarrow CH_3COO^- + 4\,H_2O \qquad \Delta G^{0\prime} = -105\ kJ$$

Además de hidrógeno, entre los donadores de electrones para la acetogénesis hay varios compuestos C_1 como el metanol, algunos compuestos aromáticos metoxilados, azúcares, alcoholes, ácidos orgánicos, aminoácidos y ciertas bases nitrogenadas, según el organismo. Muchos acetógenos también pueden reducir nitrato (NO_3^-) y tiosulfato ($S_2O_3^{2-}$) en metabolismos desasimiladores. No obstante, la reducción de CO_2 es la principal reacción de relevancia ecológica.

Un elemento común entre los acetógenos es la ruta de la reducción de CO_2. Los acetógenos reducen CO_2 a acetato mediante la **ruta de la acetil-CoA**, que es la principal ruta de los anaerobios estrictos para la producción o la oxidación del acetato (véase la Figura 13.45). En la Tabla 13.9 se recogen los grupos que producen u oxidan acetato a través de la ruta de la acetil-CoA. Los acetógenos como *Acetobacterium woodii* y *Clostridium aceticum* pueden crecer quimioorganotróficamente por oxidación de azúcares (reacción 1) o quimiolitotróficamente y autotróficamente a través de la reducción de CO_2 a acetato con el hidrógeno como donador de electrones (reacción 2). En cualquier caso, el único producto es el acetato:

(1) $C_6H_{12}O_6 \rightarrow 3\,CH_3COO^- + 3\,H^+$

(2) $2\,HCO_3^- + 4\,H_2 + H^+ \rightarrow CH_3COO^- + 4\,H_2O$

Los acetógenos catabolizan la glucosa a través de la glicólisis y convierten una molécula de glucosa en dos de piruvato y dos de NADH. A partir de aquí se producen dos moléculas de acetato:

(3) $2\ piruvato^- \rightarrow 2\ acetato^- + 2\,CO_2 + 2\,NADH$

El tercer acetato de la reacción 1 viene de la reacción 2 usando las dos moléculas de CO_2 generadas en la reacción 3 más los 2 NADH generados en la glicólisis y los 2 NADH generados en la oxidación de dos piruvatos y dos acetatos [reacción 3]. Empezando en el piruvato, entonces, la producción total de acetato se puede plasmar como

$$2\ piruvato^- + 4\,H \rightarrow 3\ acetato^- + H^+$$

La mayoría de las bacterias acetógenas que producen acetato en el metabolismo energético son bacterias grampositivas, y muchas de ellas son especies de los géneros *Clostridium* o *Acetobacterium* (Tabla 13.9). Otras pocas grampositivas y muchas gramnegativas y arqueas diferentes usan la ruta de la acetil-CoA para la autotrofia, reduciendo CO_2 a acetato como fuente de carbono celular. La ruta de la acetil-CoA sustenta el crecimiento autotrófico de las bacterias autótrofas reductoras de sulfato y de los metanógenos. Además, algunos procariotas la emplean no para sintetizar acetato como carbono celular, sino en sentido inverso con el objetivo de oxidar el acetato a CO_2. Entre estos organismos hay metanógenos que utilizan acetato y bacterias reductoras de sulfato.

Tabla 13.9 Organismos que utilizan la ruta de la acetil CoA

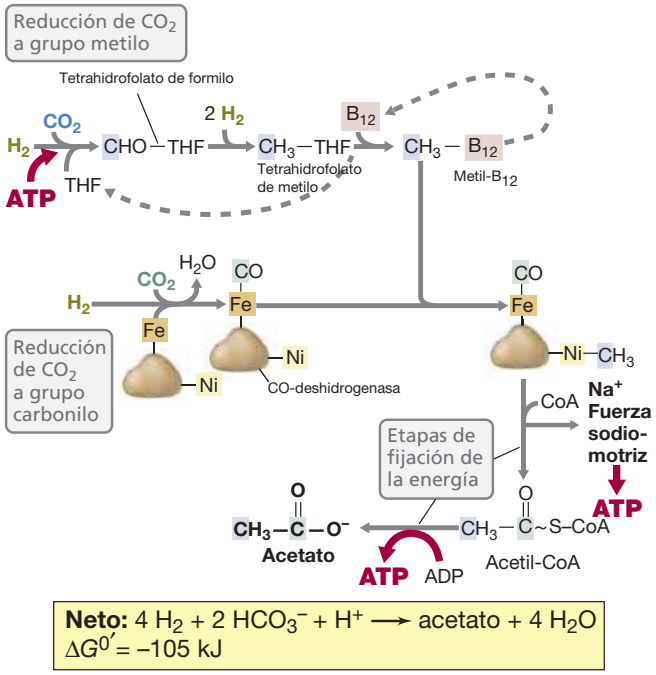
I.	*Síntesis del acetato con fines energéticos*
	Acetoanaerobium noterae
	Acetobacterium woodii
	Acetobacterium wieringae
	Acetogenium kivui
	Acetitomaculum ruminis
	Clostridium aceticum
	Clostridium formaceticum
	Clostridium ljungdahlii
	Moorella thermoacetica
	Desulfotomaculum orientis
	Sporomusa paucivorans
	Eubacterium limosum (también produce butirato)
	Treponema primitia (del intestino de los termes)
II.	*Síntesis de acetato para biosíntesis celular*
	Acetógenos
	Metanógenos
	Bacterias reductoras de sulfato
III.	*Oxidación del acetato con fines energéticos*
	Reación: Acetato + 2 H_2O → 2 CO_2 + 8 H
	Reductores de sulfato del grupo II (diferentes de *Desulfobacter*)
	Reacción: Acetato → CO_2 + CH_4
	Metanógenos acetótrofos (*Methanosarcina, Methanosaeta*)

Ruta de la acetil-CoA y fijación de la energía en la acetogénesis

A diferencia de otras rutas autotróficas (Sección 13.5), la ruta de la acetil-CoA de fijación de CO_2 no es un ciclo. Lo que hace es catalizar la reducción de CO_2 a lo largo de dos rutas lineales, una en la que una molécula de CO_2 se reduce a grupo metilo del acetato y otra en la que la segunda molécula de CO_2 se reduce a grupo carbonilo del acetato. Estas dos unidades C_1 se combinan después para formar acetil-CoA (Figura 13.45).

Una enzima clave en la ruta de la acetil-CoA es la *monóxido de carbono-deshidrogenasa* (*CO-deshidrogenasa*). La CO-deshidrogenasa contiene Ni, Zn y Fe como cofactores y cataliza la reacción

$$CO_2 + H_2 \rightarrow CO + H_2O$$



Neto: $4\ H_2 + 2\ HCO_3^- + H^+ \longrightarrow$ acetato $+ 4\ H_2O$
$\Delta G^{0\prime} = -105$ kJ

Figura 13.45 **Reacciones de la ruta de la acetil-CoA.** El monóxido de carbono se une al hierro y el grupo metilo al níquel en el monóxido de carbono-deshidrogenasa. Obsérvese que la formación de acetil-CoA está acoplada a la generación de fuerza sodiomotriz que impulsa la síntesis de ATP, y que el ATP también se sintetiza en la conversión de acetil-CoA a acetato. THF, tetrahidrofolato; B_{12}, vitamina B_{12} en un intermediario unido a la enzima.

El monóxido de carbono producido por la CO-deshidrogenasa se convierte en el carbono *carbonílico* del acetato (Figura 13.45). El grupo metilo del acetato se origina en la reducción de CO_2 a través de una serie de reacciones en las que la coenzima *tetrahidrofolato* tiene una función primordial (Figura 13.45). El grupo metilo se transfiere a continuación del tetrahidrofolato a una enzima que contiene vitamina B_{12} como cofactor, y en la etapa final de la ruta el grupo metilo se combina con CO por acción de la CO-deshidrogenasa para formar acetil-CoA. La conversión de acetil-CoA a acetato y ATP completa la serie de reacciones (Figura 13.45).

La obtención de la energía en la acetogénesis se produce por fosforilación a nivel de sustrato y por acción de una bomba de iones. Durante la conversión de cada acetil-CoA a acetato se produce una molécula de ATP (Figura 13.45 y Tabla 13.3). No obstante, además, la síntesis de acetil-CoA a partir de sus componentes, CO y CH_3, libera energía libre, parte de la cual es captada por una bomba de sodio que se acopla a la formación de fuerza sodiomotriz. Este estado energético de la membrana impulsa la síntesis de ATP por parte de una ATPasa transportadora de sodio. Recordemos que vimos una estrategia energética similar con el fermentador *Propionigenium*, donde la descarboxilación del succinato iba unida a la exportación de sodio y a una ATPasa regulada por sodio (Sección 13.14). Los acetógenos necesitan el ATP resultante de esta reacción para tener una ganancia neta de energía, porque el único ATP sintetizado por fosforilación a nivel de sustrato es consumido en la primera etapa de la ruta de la acetil-CoA (Figura 13.45).

MINIRREVISIÓN

- Dibuje la estructura del acetato e identifique el grupo carbonilo y el grupo metilo. ¿Qué enzima clave de la ruta de la acetil-CoA produce el grupo carbonilo del acetato?
- ¿Cómo elaboran ATP los acetógenos a partir de la síntesis de acetato?
- Si el catabolismo de la fructosa por glicólisis solo produce dos acetatos, ¿cómo produce *Clostridium aceticum* tres acetatos a partir de fructosa?

13.20 Metanogénesis

La producción biológica de metano —*metanogénesis*— es catalizada por un grupo de arqueas anaerobias estrictas llamadas **metanógenos**. Estos organismos están presentes en los sedimentos de agua dulce (Figura 13.46), los digestores de lodos de aguas residuales (↻ Sección 21.6) y otros biorreactores, y en el intestino de los animales de sangre caliente, incluidos los humanos. La reducción de CO_2 por hidrógeno para producir metano (CH_4) es una ruta importante de metanogénesis, y constituye una forma de respiración anaerobia. En la Sección 16.2 analizaremos las propiedades básicas, la filogenia y la taxonomía de los metanógenos, y aquí nos centraremos en la bioenergética y la bioquímica tan especial de la metanogénesis.

Transportadores de C_1 en la metanogénesis

En la metanogénesis a partir de CO_2 son necesarios ocho electrones, que se incorporan de dos en dos. Esto lleva a estados de oxidación intermedios del átomo de carbono de +4 (CO_2) a −4 (CH_4). En la metanogénesis participan algunas coenzimas nuevas que se pueden dividir en dos clases: (1) las que transportan


John A. Breznak

Figura 13.46 **Metanogénesis.** El metano se recoge en un embudo a partir de sedimentos del pantano en el que se han generado por acción de los metanógenos, y después se quema en un experimento de demostración.

UNIDAD 3

la unidad C_1 a lo largo de la ruta de reducción enzimática (*transportadores de C_1*) y (2) las que donan electrones (*coenzimas redox*) (**Figura 13.47**). Estudiaremos en primer lugar los transportadores de C_1.

La coenzima *metanofurano* es necesaria en la primera etapa de la metanogénesis. El metanofurano comprende un anillo furano de cinco miembros y un átomo de nitrógeno que se une al CO_2 (Figura 13.47*a*). La *metanopterina* (Figura 13.47*b*) es una

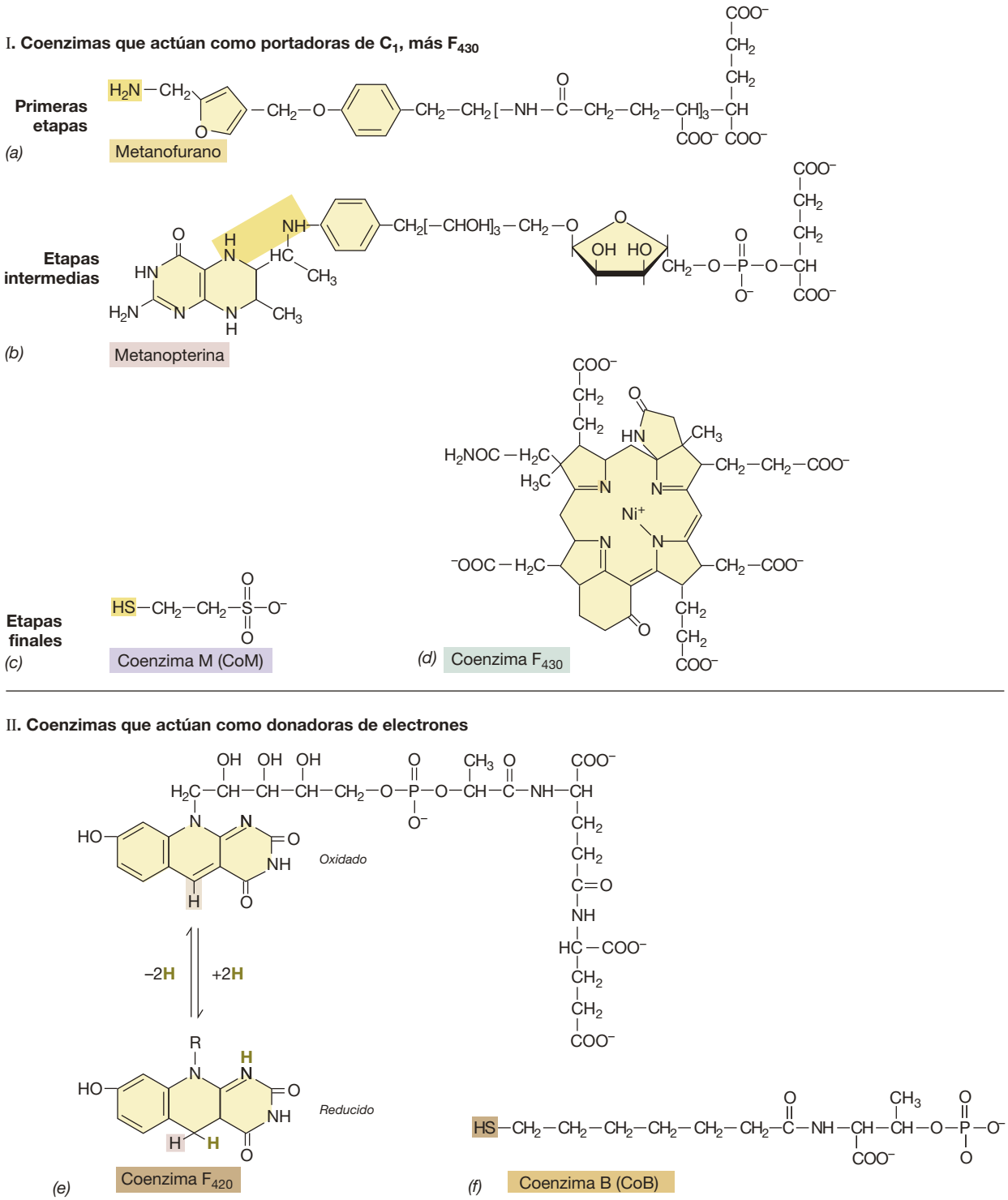


Figura 13.47 **Coenzimas de la metanogénesis.** Los átomos sombreados marrones o amarillos son los sitios de las reacciones de oxidación-reducción (marrón en F_{420} y CoB) o la posición a la que se une el grupo C_1 durante la reducción de CO_2 a CH_4 (amarillo en el metanofurano, la metanopterina y la coenzima M). Los colores usados para destacar una coenzima particular (la CoB es naranja, por ejemplo) son los mismos que en las Figuras 13.49 y 13.50 para seguir las reacciones en cada figura. La coenzima F_{430} también interviene en la etapa terminal de la metanogénesis catalizada por la enzima metil-reductasa, donde el grupo metilo se une a Ni^+ en F_{430} antes de su reducción a CH_4.

coenzima que participa en la metanogénesis, parecida al ácido fólico y que desempeña una función análoga a la del tetrahidrofolato (una coenzima que participa en las transformaciones de C_1; véase la Figura 13.45) portando la unidad C_1 en las etapas intermedias de la reducción de CO_2 a metano. La *coenzima M* (CoM) (Figura 13.47*c*) es necesaria en la etapa final de la metanogénesis, la reducción del grupo metilo (CH_3) a metano (CH_4). A pesar de no ser un portador de C_1, la *coenzima* F_{430} (Figura 13.47*d*), que es un tetrapirrol con níquel (Ni^{2+}), también participa en la etapa final de la metanogénesis como parte del complejo enzimático metil-reductasa (del que hablaremos más adelante).

Coenzimas redox

Las coenzimas F_{420} y *fosfato de 7-mercaptoheptanoiltreonina* (también llamada coenzima B, CoB) son donadores de electrones en la metanogénesis. La coenzima F_{420} (Figura 13.47*e*) es un derivado de la flavina, estructuralmente similar a la coenzima FMN (↻ Figura 3.16). F_{420} tiene una función importante en la metanogénesis como donador de electrones en varios pasos de la reducción de CO_2 (véase la Figura 13.49). La coenzima F_{420} se llama así porque su forma oxidada absorbe la luz a 420 nm y emite fluorescencia azul verdosa. Esta fluorescencia resulta útil para la identificación de un metanógeno mediante microscopía (**Figura 13.48**). La CoB es necesaria en la etapa final de la metanogénesis, catalizada por el *complejo enzimático metil-reductasa*. Como se muestra en la Figura 13.47*f*, la estructura de la CoB es similar a la de la vitamina ácido pantoténico, que forma parte de la acetil-CoA (↻ Figura 3.12).

Metanogénesis a partir de CO_2 y H_2

Los electrones para la reducción de CO_2 a metano normalmente proceden del hidrógeno, pero algunos otros sustratos también pueden suministrarlos en algunos metanógenos. En la **Figura 13.49** se muestran las etapas de la reducción de CO_2 por hidrógeno.

1. El CO_2 es activado por una enzima que contiene metanofurano y es reducido a formilo. El donador de electrones inmediato es la ferredoxina, un fuerte reductor con un potencial de reducción (E_0') cercano a −0,4 V.

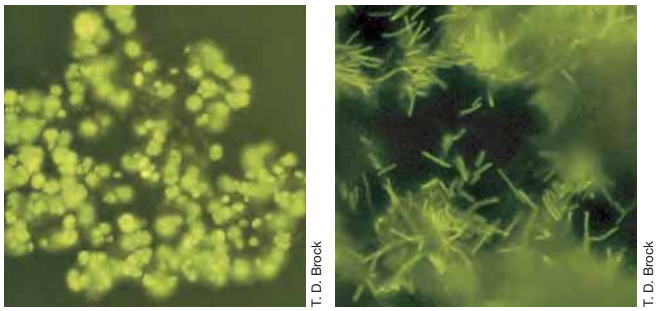


Figura 13.48 Fluorescencia debida a la coenzima F_{420} de los metanógenos. *(a)* Autofluorescencia en células del metanógeno *Methanosarcina barkeri* debida a la presencia del transportador de electrones exclusivo F_{420}. Una célula individual tiene un diámetro aproximado de 1,7 µm. Los organismos se ven con luz azul en un microscopio de fluorescencia. *(b)* Fluorescencia de F_{420} en células del metanógeno *Methanobacterium formicicum*. Una célula individual tiene un diámetro aproximado de 0,6 µm.

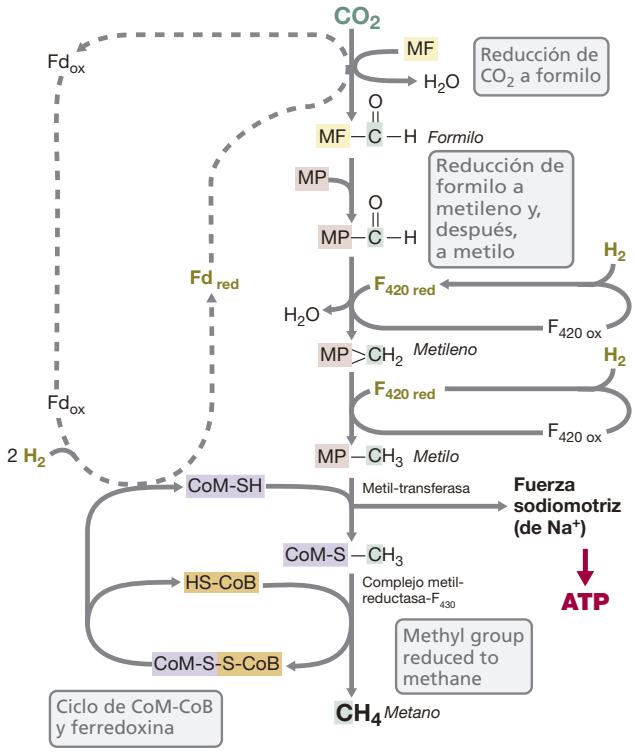


Figura 13.49 Metanogénesis a partir de CO_2 y H_2. El átomo de carbono reducido está resaltado en verde, y la fuente de electrones en marrón. Véase en la Figura 13.47 la estructura de las coenzimas. MF, metanofurano; MP, metanopterina; CoM, coenzima M; $F_{420\ red}$, coenzima F_{420} reducida; F_{430}, coenzima F_{430}; Fd, ferredoxina; CoB, coenzima B.

2. El grupo formilo se transfiere del metanofurano a una enzima que contiene metanopterina (MP en la Figura 13.49). A continuación es deshidratado y reducido en dos etapas separadas (un total de 4 H) a metileno y metilo. En esta etapa, el donador de electrones inmediato es la F_{420} reducida.
3. El grupo metilo es transferido por la metil-transferasa de la metanopterina a una enzima que contiene CoM. Esta reacción es muy exergónica y está ligada al bombeo de Na^+ a través de la membrana desde el interior de la célula hacia fuera.
4. La metil-CoM es reducida a metano por parte de la metil-reductasa. En esta reacción son necesarias la F_{430} y la CoB. La coenzima F_{430} elimina el grupo metilo de la metil-CoM para formar un complejo Ni^{2+}—CH_3. Este complejo es reducido por CoB a metano y un complejo disulfuro de CoM y CoB (CoM-S—S-CoB).
5. La CoM y la CoB libres se regeneran por reducción de CoM-S—S-CoB con hidrógeno. Simultáneamente se reduce también la ferredoxina por acción del hidrógeno y vuelve a estar lista para la primera etapa de un nuevo ciclo de reducción de CO_2 (Figura 13.49).

Metanogénesis a partir de compuestos metílicos y acetato

En la Sección 16.2 veremos que los metanógenos pueden producir metano a partir de ciertos compuestos metilados como metanol y acetato, así como a partir de hidrógeno y CO_2. El metanol se cataboliza donando el grupo metilo a una enzima que

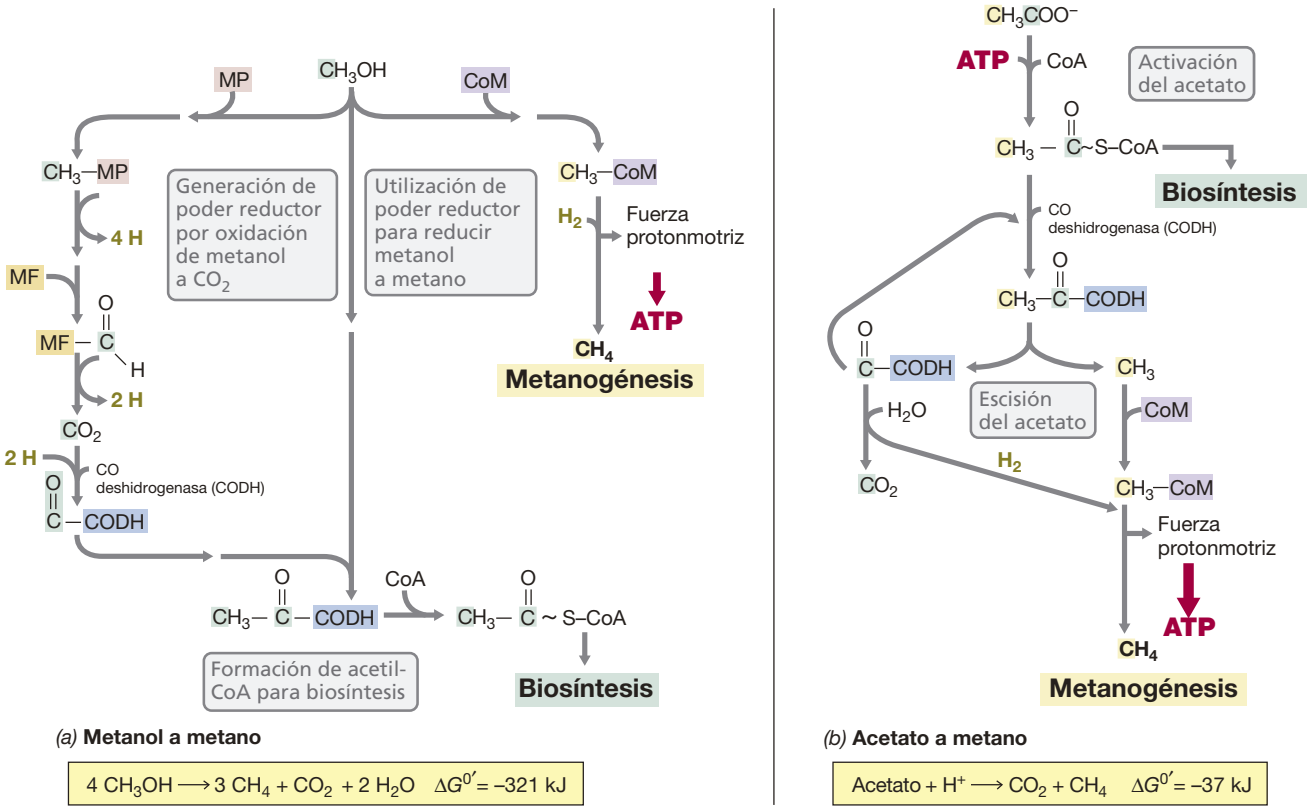


Figura 13.50 **Metanogénesis a partir de metanol y acetato.** Ambas series de reacciones contienen partes de la ruta de la acetil-CoA. *(a)* Para crecer con metanol (CH_3OH), la mayor parte del carbono del metanol es convertido en metano, y una cantidad menor se transforma en CO_2 o, a través de la formación de acetil-CoA, es asimilado en el material celular. *(b)* El acetato se escinde en metano y CO_2. Las abreviaciones y el código de colores coinciden con los de las Figuras 13.47 y 13.49. Corr, proteína que contiene corrinoide; CODH, monóxido de carbono-deshidrogenasa.

contiene un corrinoide como coenzima para formar CH_3—corrinoide (**Figura 13.50*a***). Los corrinoides son las estructuras de las que derivan compuestos como la vitamina B_{12}, y contienen un anillo porfirinoide con un átomo de cobalto central. El complejo CH_3—corrinoide transfiere el grupo metilo a CoM para dar metil—CoM, a partir de la cual se forma el metano de la misma manera que en la etapa final de la reducción de CO_2. Si no hay hidrógeno disponible para llevar a cabo la última etapa, hay que oxidar parte del metanol a CO_2 para obtener los electrones necesarios. Esto se lleva a cabo mediante la inversión de las etapas de la metanogénesis (Figuras 13.49 y 13.50*a*).

Cuando el acetato es el sustrato de la metanogénesis, primero es activado a acetil CoA, que interacciona con la CO-deshidrogenasa de la ruta de la acetil-CoA (Sección 13.19). A continuación se transfiere el grupo metilo del acetato a la enzima con el corrinoide para formar el CH_3—corrinoide, y a partir de aquí se lleva a cabo la etapa final de la metanogénesis. Simultáneamente, el grupo CO se oxida para dar CO_2 y electrones (Figura 13.50*b*).

Autotrofia

La autotrofia en los metanógenos se produce a través de la ruta de la acetil-CoA (Sección 13.19). Como acabamos de ver, algunas partes de esta ruta ya están integradas en el catabolismo del metanol y el acetato (Figura 13.50). Sin embargo, los metanógenos carecen de la serie de reacciones de la ruta de la acetil-CoA impulsadas por el tetrahidrofolato que conducen a la producción de un grupo metilo (Figura 13.45), pero esto no es un problema, porque estos organismos obtienen los grupos metilo directamente de sus donadores de electrones (Figura 13.50) o los sintetizan durante la metanogénesis a partir de hidrógeno y CO_2 (Figura 13.49). Así pues, los metanógenos tienen acceso a abundantes grupos metilo, y el uso de algunos de ellos para biosíntesis es poco relevante. El grupo carbonilo del acetato producido durante el crecimiento autótrofo de los metanógenos procede de la actividad de la monóxido de carbono-deshidrogenasa, y la etapa final en la síntesis de acetato es la misma que la de los acetógenos (Sección 13.19 y Figura 13.45).

Conservación de la energía en la metanogénesis

En condiciones estándar, la energía libre de la metanogénesis a partir de CO_2 e hidrógeno es de −131 kJ/mol. La conservación de la energía en la metanogénesis se produce a expensas de la fuerza protonmotriz o sodiomotriz, según sea el sustrato utilizado; la fosforilación a nivel de sustrato (Sección 13.11) no tiene lugar. Cuando se forma metano a partir de CO_2 e hidrógeno, se produce ATP a partir de la fuerza sodiomotriz generada durante la transferencia de un metilo desde la metanopterina hasta la CoM catalizada por la enzima metil-transferasa (Figura 13.49). Este estado energético de la membrana impulsa después la síntesis de ATP, probablemente a través de una ATPasa regulada por H^+ tras la conversión de la fuerza sodiomotriz a fuerza protonmotriz mediante el intercambio de Na^+ por H^+ a través de la membrana. El rendimiento de ATP por grupo metano producido es, aproximadamente, de 0,5.

En algunos metanógenos, como *Methanosarcina*, un organismo versátil nutricionalmente que puede sintetizar metano a partir de acetato o metanol, así como de CO_2 e hidrógeno, se produce un mecanismo diferente de obtención de energía a partir del acetato o el metanol, ya que la reacción de la metiltransferasa no se puede acoplar a la generación de fuerza sodiomotriz en esas condiciones. En cambio, en células que crecen con acetato o metanol la obtención de energía está vinculada a la etapa final de la metanogénesis, en la que actúa la metil-reductasa (Figuras 13.49, 13.50 y **Figura 13.51**). En esta reacción, la interacción de CoB con metil-CoM y la metil-reductasa produce metano y un compuesto con un grupo heterodisulfuro, CoM-S—S-CoB. Este último es reducido por el hidrógeno para regenerar las coenzimas CoM-SH y CoB-SH (Figura 13.49). Esta reducción, que es catalizada por la *heterodisulfuro-reductasa*, es exergónica y está acoplada al bombeo de protones a través de la membrana (Figura 13.51). Los electrones del hidrógeno pasan a la heterodisulfuro-reductasa a través de un transportador de electrones asociado a la membrana llamado *metanofenazina*. Este compuesto es reducido por la F_{420} y posteriormente oxidado por un citocromo de tipo *b*, que es el donador de electrones para la heterodisulfuro-reductasa (Figura 13.51). Los metanógenos que solo pueden usar CO_2 e hidrógeno para la metanogénesis carecen de citocromos y metanofenazina.

Así pues, en los metanógenos observamos al menos dos mecanismos de fijación de la energía: (1) una fuerza protonmotriz vinculada a la reacción de la metil-reductasa y utilizada para la síntesis de ATP en células que crecen con acetato o metanol, y (2) una fuerza sodiomotriz (probablemente convertida en fuerza protonmotriz) durante la metanogénesis a partir de CO_2 e hidrógeno.

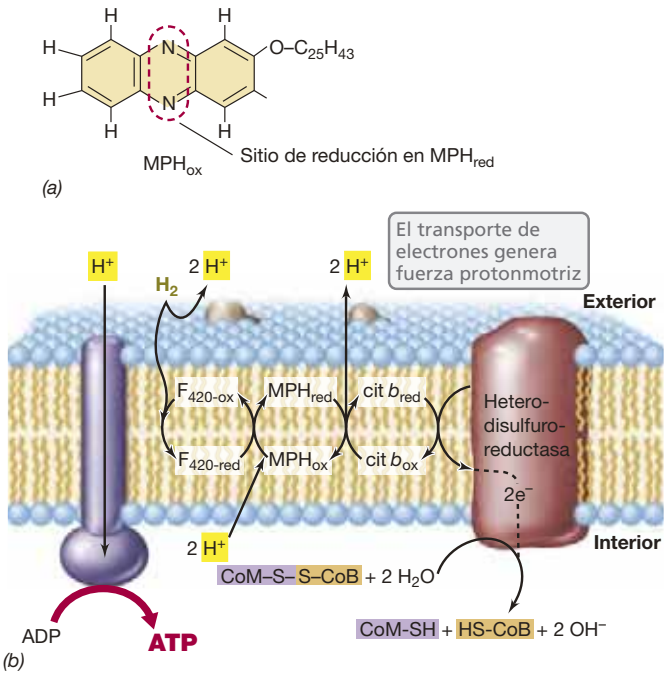


Figura 13.51 **Conservación de energía en la metanogénesis a partir de metanol o acetato.** *(a)* Estructura de la metanofenazina (MPH en la parte b), un transportador de electrones en la cadena de transporte de electrones que impulsa la síntesis de ATP; el anillo central de la molécula se puede oxidar y reducir alternativamente. *(b)* Etapas del transporte de electrones. Los electrones procedentes de H_2 reducen la F_{420} y después la metanofenazina. Esta última reduce a la heterodisulfuro-reductasa a través de un citocromo de tipo *b* con la extrusión de protones al exterior de la membrana. En la etapa final, la heterodisulfuro-reductasa reduce el complejo CoM-S—S-CoB a HS-CoM y HS-CoB. Véanse las estructuras de CoM y CoB en la Figura 13.47.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué coenzimas actúan como transportadores de C_1 en la metanogénesis? ¿Y como donadores de electrones?
- ¿Cómo obtienen carbono para la biosíntesis celular los metanógenos que crecen con CO_2 e hidrógeno?
- ¿Cómo se sintetiza ATP en la metanogénesis cuando los sustratos son CO_2 e hidrógeno? ¿Y cuando es acetato?

UNIDAD 3

13.21 Otros aceptores de electrones

Además de los aceptores de electrones de la respiración anaerobia tratados hasta ahora, en la naturaleza hay otros aceptores de electrones importantes para las bacterias como metales, metaloides y compuestos orgánicos halogenados y no halogenados (**Figura 13.52**); unos pocos anaerobios estrictos pueden utilizar incluso protones. A continuación analizaremos estas formas de respiración anaerobia.

Reducción de metales

Varios metales y metaloides se pueden reducir en la respiración anaerobia. El hierro férrico (Fe^{3+}) y el ion mangánico (Mn^{4+}) son los principales. El potencial de reducción del par Fe^{3+}/Fe^{2+}

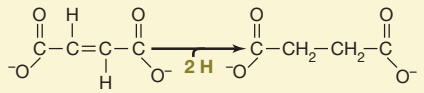
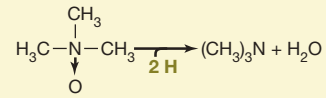
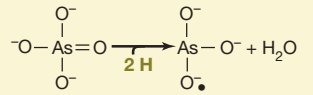
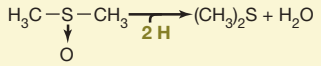
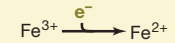
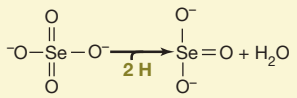
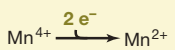
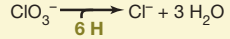
Par	Reacción	E_0'
Fumarato/ Succinato		+0,03
N-Óxido de trimetilamina (TMAO)/Trimetilamina (TMA)		+0,13
Arseniato/ Arsenito		+0,14
Dimetil sulfóxido (DMSO)/ Dimetil sulfuro (DMS)		+0,16
Ion férrico/ Ion ferroso		+0,20
Seleniato/ Selenito		+0,48
Ion mangánico/ Ion manganoso		+0,80
Clorato/ Cloruro		+1,00

Figura 13.52 **Algunos aceptores de electrones alternativos en la respiración anaerobia.** La reacción y el E_0' de cada par redox se dan a pH 7.

es +0,2 V (a pH 7), y el del par Mn^{4+}/Mn^{2+} es +0,8 V; por tanto, varios donadores de electrones se pueden acoplar a la reducción de Fe^{3+} y Mn^{4+}. En estas reacciones, los electrones viajan normalmente desde el donador a través de una cadena de transporte de electrones que genera una fuerza protonmotriz y termina en el sistema de la reductasa del metal, donde se reduce Fe^{3+} a Fe^{2+} o Mn^{4+} a Mn^{2+}. Gran parte de la investigación sobre la energética de la reducción de Fe^{3+} se ha realizado con las bacterias gramnegativas *Shewanella* y *Geobacter*; *Shewanella* también reduce Mn^{4+}. Ambos organismos pueden oxidar varios donadores orgánicos de electrones así como hidrógeno molecular, y *Geobacter* también oxida acetato y el hidrocarburo aromático tolueno utilizando como aceptor de electrones el Fe^{3+}.

Otras sustancias inorgánicas pueden actuar como aceptores de electrones en la respiración anaerobia; por ejemplo, los metaloides selenio, telurio y arsénico, el metal de transición vanadio y varios compuestos oxidados de cloro (Figura 13.52). La mayoría de los organismos que pueden crecer con estos aceptores son aerobios facultativos, de modo que también pueden crecer con respiración aerobia. Los compuestos de arsénico, selenio y teluro son contaminantes ocasionales en la naturaleza y pueden permitir la respiración anaerobia en diversas bacterias. La reducción de seleniato (SeO_4^{2-}) produce selenito (SeO_3^{2-}) y, finalmente, selenio metálico (Se^0); la reducción de arseniato (AsO_4^{3-}) produce arsenito (AsO_3^{3-}), y la reducción de telurato (TeO_4^{2-}) produce telurito (TeO_3^{2-}). También se han aislado algunas bacterias reductoras de clorato y perclorato que son, probablemente, responsables de la eliminación de estos compuestos tóxicos de la naturaleza; el producto final típico de estas reacciones es el cloruro (Cl^-).

La bacteria reductora de sulfato *Desulfotomaculum* puede reducir arseniato a arsenito y sulfato a sulfuro, y en este proceso precipita espontáneamente el mineral amarillo oropimente (As_2S_3; **Figura 13.53**). Este proceso es un ejemplo de *biomineralización*, la formación de un mineral por la acción bacteriana. La formación de oropimente también actúa desintoxicando lo que de otro modo sería un compuesto tóxico (el arsénico); así pues, esta actividad microbiana puede tener aplicaciones prácticas en la limpieza de residuos tóxicos y aguas residuales que contengan arsénico.


Dianne K. Newman and Stephen Tay

Figura 13.53 Biomineralización durante la reducción de arseniato por la bacteria reductora de sulfato *Desulfotomaculum auripigmentum*. Izquierda, aspecto de la botella de cultivo tras la inoculación. Derecha, tras dos semanas de crecimiento y biomineralización de trisulfuro de diarsénico, As_2S_3. Centro, muestra sintética de As_2S_3.

Aceptores orgánicos de electrones

Algunos compuestos orgánicos pueden ser aceptores de electrones en la respiración anaerobia. De los que aparecen en la Figura 13.52, el más estudiado es el *fumarato*, un intermediario en el ciclo del ácido cítrico (↻ Figura 3.22), que se reduce a succinato. La función del fumarato como aceptor de electrones en la respiración anaerobia se debe a que el par fumarato/succinato tiene un potencial de reducción cercano a 0 V, lo que permite acoplar la reducción del fumarato a la oxidación de NADH, FADH o H_2. Muchas bacterias aerobias facultativas, como *Escherichia coli*, pueden crecer anaerobiamente con fumarato como aceptor de electrones.

El óxido de trimetilamina (TMAO) y el dimetil sulfóxido (DMSO) (Figura 13.52) son importantes aceptores orgánicos de electrones. El TMAO es un producto de los peces marinos, y diversas bacterias pueden reducirlo a trimetilamina (TMA), que desprende un fuerte olor y sabor (el olor del pescado podrido se debe principalmente a la TMA producida por acción de las bacterias). El DMSO, que se reduce a dimetil sulfuro (DMS), es un producto natural habitual y se encuentra en ambientes marinos y de agua dulce. Los potenciales de reducción de los pares TMAO/TMA y DMSO/DMS son iguales, de unos +0,15 V, lo que significa que las cadenas de transporte electrónico que terminan con TMAO- o DMSO-reductasas deben ser bastante cortas. Al igual que en la reducción de fumarato, en la reducción de TMAO y DMSO los citocromos de tipo *b* (E_0' cercano a 0 V) actúan como donadores de las reductasas.

Varios compuestos orgánicos halogenados pueden actuar como aceptores de electrones en la **descloración reductora** (también llamada *deshalorrespiración*). Por ejemplo, la bacteria reductora de sulfato *Desulfomonile* crece anaerobiamente con hidrógeno o compuestos orgánicos como donadores y clorobenzoato como aceptor de electrones, que es reducido a benzoato y ácido clorhídrico (HCl):

$$C_7H_4O_2Cl^- + 2\,H \rightarrow C_7H_5O_2^- + HCl$$

Otras bacterias pueden realizar descloración reductora, y algunas de ellas solo pueden utilizar compuestos clorados como aceptores de electrones en la respiración anaerobia. Por ejemplo, la bacteria *Dehalococcoides* reduce el tri- y el tetracloroetileno a eteno, y *Dehalobacterium* convierte el diclorometano (CH_2Cl_2) en acetato y formiato (**Tabla 13.10**). *Dehalococcoides* también puede reducir bifenilos policlorados (PCB). Los PCB son contaminantes orgánicos muy extendidos que contaminan los ambientes de agua dulce, donde se acumulan en los peces y otros organismos acuáticos. Sin embargo, la eliminación de grupos de cloro de estas moléculas disminuye notablemente su toxicidad, de manera que la descloración reductora no solo es una forma de metabolismo energético, también es un proceso de biorremediación de importancia ambiental.

Reducción de protones

Tal vez el tipo más sencillo de respiración anaerobia sea el que realiza el hipertermófilo *Pyrococcus furiosus*. *Pyrococcus furiosus* es una especie de arquea que crece de manera óptima a 100 °C (Capítulo 16) con azúcares y pequeños péptidos como

Tabla 13.10 Características de algunos géneros importantes de bacterias que realizan descloración reductora

	Género				
Propiedad	*Dehalobacter*	*Dehalobacterium*	*Desulfitobacterium*	*Desulfomonile*	*Dehalococcoides*
Donador de electrones	H_2	Solo diclorometano (CH_2Cl_2)	H_2, formiato, piruvato, lactato	H_2, formiato, piruvato, lactato, benzoato	H_2, lactato
Aceptor de electrones	Tricloroetileno, tetracloroetileno	Solo diclorometano (CH_2Cl_2)	Orto-, meta- o paraclorofenoles, NO_3^-, fumarato, SO_3^{2-}, $S_2O_3^{2-}$, S^0	Metaclorobenzoatos, tetracloroetileno, SO_4^{2-}, SO_3^{2-}, $S_2O_3^{2-}$	Tricloroetileno, tetracloroetileno
Producto de la reducción del tetracloroetileno	Dicloroetileno	No aplicable	Tricloroetileno	Dicloroetileno	Eteno
Otras propiedades[a]	Contiene citocromo *b*	Crece solo con CH_2Cl_2 y por dismutación: $CH_2Cl_2 \rightarrow$ formiato + acetato + HCl El ATP se forma por fosforilación a nivel de sustrato	También puede crecer por fermentación	Bacteria reductora de sulfato; contiene citocromo c_3; requiere una fuente de carbono orgánico; puede crecer por fermentación del piruvato	Carece de peptidoglicano
Filogenia[b]	*Firmicutes*	*Firmicutes*	*Firmicutes*	*Deltaproteobacteria*	Bacterias verdes no del azufre (*Chloroflexi*)

[a]Todos los organismos son anaerobios estrictos.
[b]Véanse los Capítulos 14 y 15.

donadores de electrones, y con protones como aceptores. Esto es posible gracias a una característica bioquímica exclusiva de la ruta glicolítica de *P. furiosus*.

Durante la glicólisis, la oxidación del gliceraldehído 3-fosfato produce ácido 1,3-difosfoglicérico, un intermediario con dos enlaces fosfato ricos en energía; este compuesto es convertido después a ácido 3-fosfoglicérico y ATP (↻ Figura 3.14). Sin embargo, en *P. furiosus* este paso normal de la glicólisis se salta, y el ácido 3-fosfoglicérico se forma directamente a partir del gliceraldehído 3-fosfato (**Figura 13.54**). Esto impide que *P. furiosus* sintetice ATP por fosforilación a nivel de sustrato, pero el problema se compensa con el acoplamiento de la oxidación del gliceraldehído 3-fosfato a la producción de *ferredoxina*, en lugar de NADH; la ferredoxina tiene un potencial de reducción más negativo (−0,42 V) que el par NAD^+/NADH (−0,32 V), lo que permite el acoplamiento de la oxidación de la ferredoxina a la reducción de 2 H^+ a H_2, y esta reacción bombea un protón a través de la membrana (Figura 13.54). El bombeo de protones por la hidrogenasa es análogo al bombeo de protones por la acción de los portadores terminales de electrones de otros tipos de respiración (↻ Figura 3.20 y Figura 13.41). *Pyrococcus furiosus* produce ATP adicional por fosforilación a nivel de sustrato en la conversión de fosfoenolpiruvato a piruvato y de acetil-CoA a acetato (Figura 13.54).

MINIRREVISIÓN

- Con hidrógeno como donador de electrones, ¿por qué la reducción de Fe^{3+} es una reacción más ventajosa que la reducción de fumarato?
- ¿Qué es la descloración reductora y por qué es relevante desde el punto de vista ambiental?
- ¿En qué se diferencia el catabolismo anaerobio de la glucosa de *Lactobacillus* del de *Pyrococcus furiosus*?

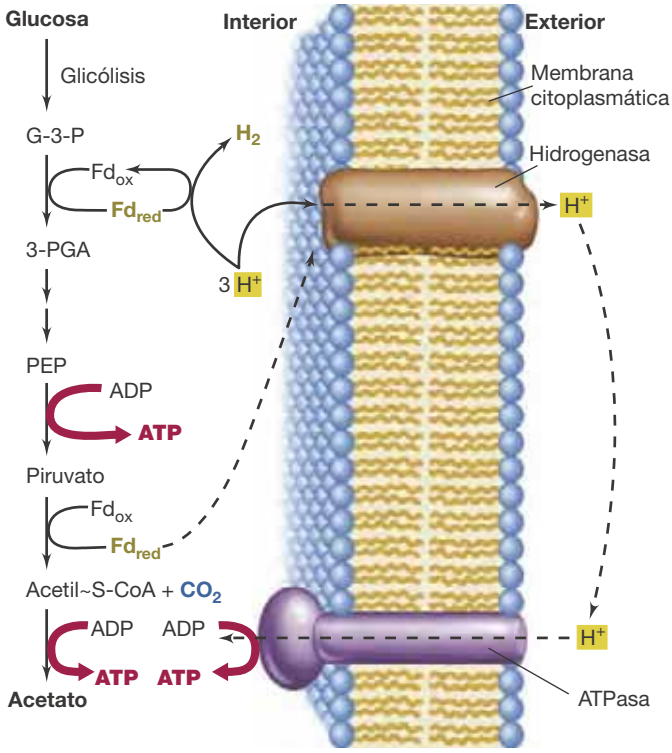


Figura 13.54 Glicólisis modificada y reducción de protones en la respiración anaerobia del hipertermófilo *Pyrococcus furiosus*. La producción de hidrógeno (H_2) está vinculada al bombeo de H^+ por una hidrogenasa que recibe electrones de la ferredoxina reducida (Fd_{red}). Todos los productos intermedios desde G-3-P en adelante en la ruta están presentes por duplicado. Compárese esta figura con la glicólisis clásica de la Figura 3.14. G-3-P, gliceraldehído 3-fosfato; 3-PGA, 3-fosfoglicerato; PEP, fosfoenolpiruvato.

V • Metabolismo de los hidrocarburos

Los hidrocarburos son compuestos muy utilizados por los microorganismos como donadores de electrones, pero para poder catabolizarlos, antes hay que oxigenarlos. A continuación analizaremos el catabolismo aerobio de los hidrocarburos alifáticos y aromáticos, en los que la oxigenación se produce a partir del O_2. Después trataremos el caso especial del catabolismo de los hidrocarburos C_1 y terminaremos con un apunte sobre el metabolismo anóxico de los hidrocarburos, una situación en la que la oxigenación del hidrocarburo sigue siendo necesaria pero donde, obviamente, el O_2 no tiene ninguna función.

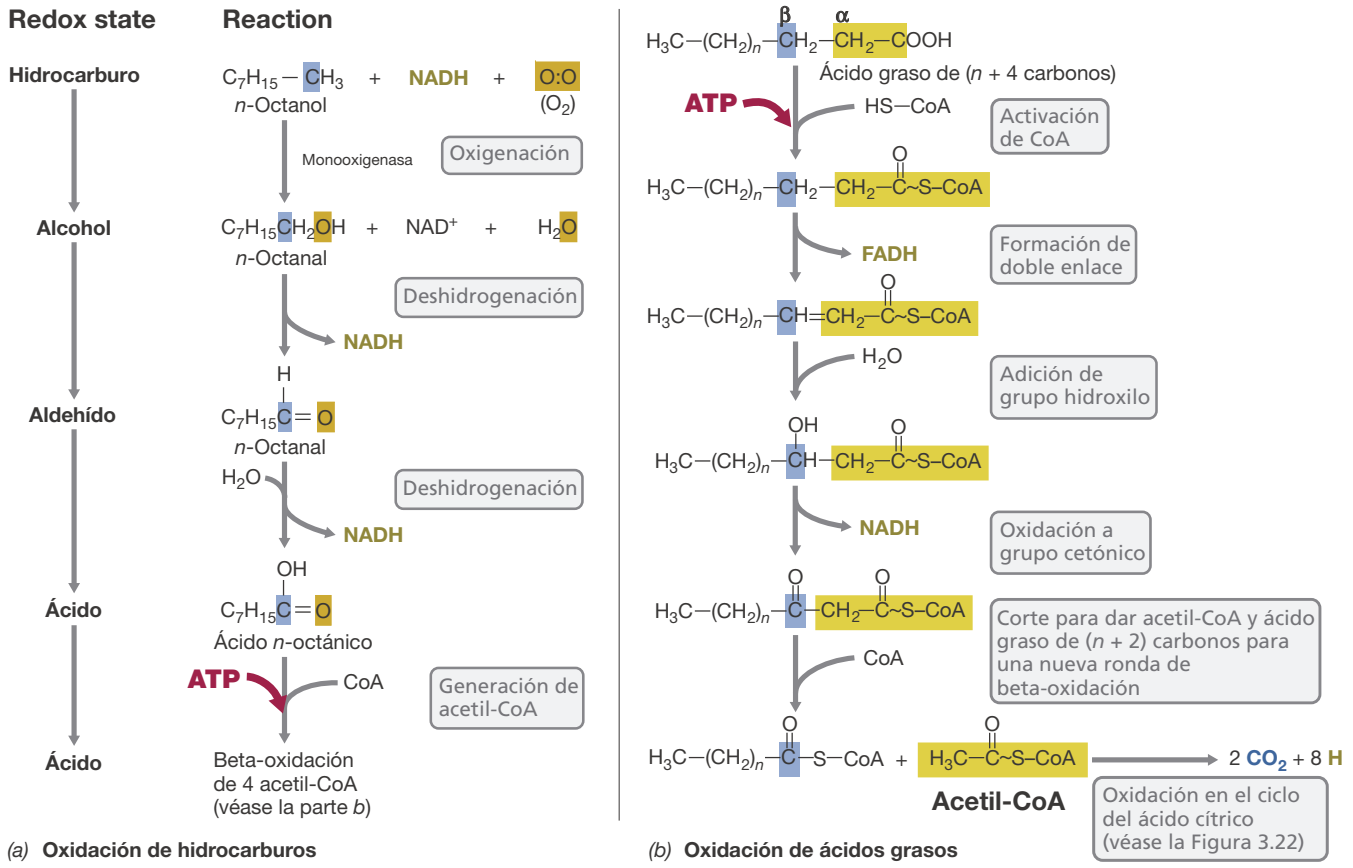
13.22 Metabolismo aerobio de los hidrocarburos

Ya hemos estudiado la función del oxígeno molecular (O_2) como *aceptor de electrones* en las reacciones de generación de energía. Sin embargo, el O_2 también tiene una función importante como *reactivo* en el catabolismo de los hidrocarburos, y las oxigenasas son elementos clave en el proceso.

Las oxigenasas y la oxidación de los hidrocarburos alifáticos

Las **oxigenasas** son enzimas que catalizan la incorporación de oxígeno en los compuestos orgánicos y, en algunos casos, en los compuestos inorgánicos (Sección 13.10). Existen dos clases de oxigenasas: las *dioxigenasas*, que catalizan la incorporación en un compuesto orgánico de *los dos átomos* de oxígeno en la molécula, y las *monooxigenasas*, que catalizan la incorporación de *uno solo* de los dos átomos de oxígeno de la molécula de O_2 y la reducción del otro átomo a H_2O. Para la mayoría de las monooxigenasas, el donador de electrones necesario es NADH o NADPH.

En la etapa inicial de oxidación de un hidrocarburo alifático saturado se incorpora uno de los átomos del O_2, normalmente en un átomo de carbono terminal. La reacción es catalizada por una monooxigenasa; en la **Figura 13.55*a*** se muestra una secuencia habitual de reacciones. El producto final de la secuencia de reacciones es un ácido graso de la misma longitud que el hidrocarburo original. A continuación el ácido graso es oxidado mediante *beta-oxidación*, una serie de reacciones en las que se separan dos carbonos del ácido graso en cada paso (Figura 13.55*b*). Durante la beta-oxidación se forma NADH que se oxida después en la cadena de transporte de electrones para generar energía. Un solo ciclo de beta-oxidación libera acetil-CoA más un nuevo ácido graso que tiene dos átomos de carbono menos que el ácido graso original. El proceso se repite y se libera otra molécula de acetil-CoA. El acetil-CoA formado por beta-oxidación es oxidado a través del ciclo del ácido cítrico



(a) **Oxidación de hidrocarburos** *(b)* **Oxidación de ácidos grasos**

Figura 13.55 **Actividad monooxigenasa y beta-oxidación.** *(a)* Etapas de la oxidación de un hidrocarburo alifático; la primera está catalizada por una monooxigenasa. *(b)* La oxidación de un ácido graso por beta-oxidación lleva a la formación de sucesivas acetil-CoA.

(↻ Figura 3.22) o se utiliza para elaborar nuevo material celular. Con excepción de cómo se oxigena el hidrocarburo, gran parte de la bioquímica del catabolismo anóxico de los hidrocarburos es la misma que la que se lleva a cabo durante el catabolismo aerobio (Figura 13.55), y las reacciones de beta-oxidación son fundamentales en ambos casos.

Oxidación de hidrocarburos aromáticos

Muchos hidrocarburos alifáticos pueden ser utilizados en reacciones aerobias como donadores de electrones. El metabolismo de estos compuestos, algunos de ellos con varios anillos como el naftaleno o los bifenilos, normalmente tiene una etapa inicial de formación de catecol o de algún otro compuesto relacionado estructuralmente, catalizada por oxigenasas, como se muestra en la **Figura 13.56**. Una vez que se forma el catecol se puede cortar y degradar en compuestos que pueden entrar en la ruta del ácido cítrico, como el succinato, el acetil-CoA y el piruvato.

Varias etapas del catabolismo aerobio de los hidrocarburos aromáticos requieren oxigenasas. En la Figura 13.56*a*–*c* se muestran cuatro reacciones diferentes catalizadas por oxigenasas: en una de ellas la enzima es una monooxigenasa, en otras dos es una dioxigenasa que corta un anillo, y en la cuarta la enzima es una dioxigenasa que hidroxila un anillo. Al igual que en el catabolismo de los hidrocarburos alifáticos (Figura 13.55), los compuestos aromáticos, ya tengan uno solo o varios anillos, normalmente se oxidan completamente a CO_2 y los electrones entran en la cadena de transporte de electrones o se usan para elaborar nuevo material celular.

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué se diferencia la función de las monooxigenasas a la de las dioxigenasas?
- ¿Cuál es el producto final del catabolismo de un hidrocarburo?
- ¿Qué significa el término «beta-oxidación»?

13.23 Metanotrofia aerobia

El metano (CH_4) y otros muchos compuestos C_1 pueden ser catabolizados aerobiamente por los **metilótrofos**. Estos organismos usan como donadores de electrones y fuentes de carbono compuestos orgánicos que carecen de enlaces C—C. El catabolismo de los compuestos que contienen un solo átomo de carbono, como el hidrocarburo metano (CH_4) y el alcohol metanol (CH_3OH), son los mejor estudiados de estos sustratos. Aquí nos centraremos en la oxidación del metano como ejemplo del estilo de vida metilotrófico.

Oxidación del metano

Las etapas de la oxidación de metano a CO_2 pueden resumirse como

$$CH_4 \rightarrow CH_3OH \rightarrow CH_2O \rightarrow HCOO^- \rightarrow CO_2$$

No todos los metilótrofos pueden usar metano. Los que pueden usarlo se llaman **metanótrofos**, y la metanotrofia ha sido especialmente bien estudiada en la bacteria gramnegativa *Methylococcus capsulatus*. Los metanótrofos asimilan todo el

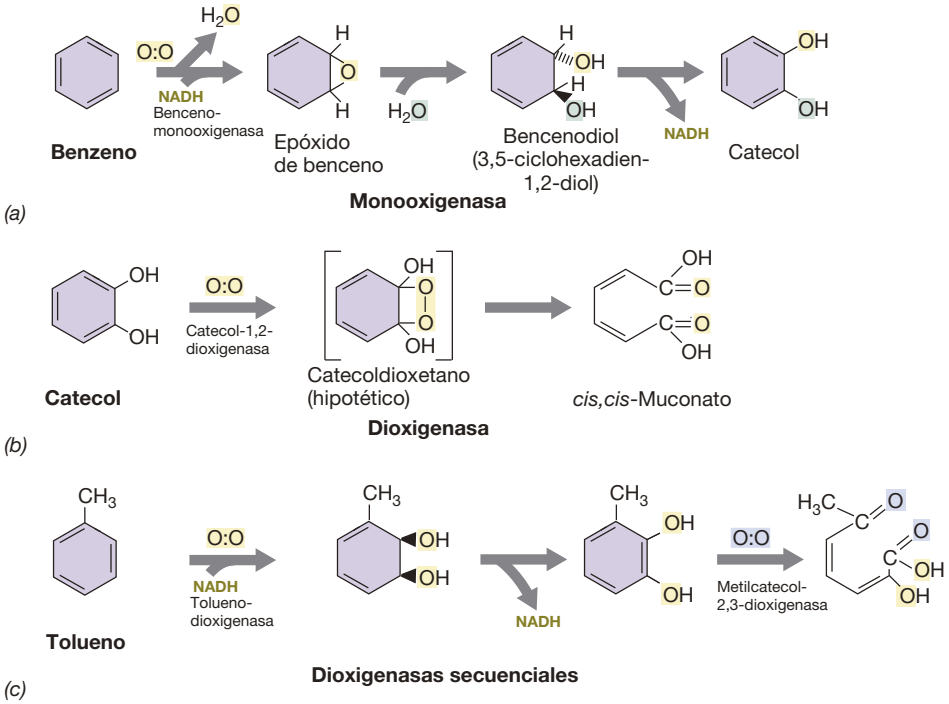


Figura 13.56 Función de las oxigenasas en el catabolismo de los compuestos aromáticos. Las monooxigenasas introducen un átomo de oxígeno procedente del O_2 en un sustrato, mientras que las dioxigenasas introducen ambos átomos. *(a)* Hidroxilación de benceno a catecol por una monooxigenasa que utiliza NADH como donador de electrones. *(b)* Corte del catecol a *cis*,*cis*-muconato por una dioxigenasa que corta el anillo intradiol. *(c)* Actividad de una dioxigenasa que hidroxila el anillo y de una dioxigenasa que corta el anillo extradiol en la degradación del tolueno. Los átomos de oxígeno que introduce cada enzima se distinguen por los colores. Compárese el catabolismo aerobio del tolueno con el catabolismo anóxico del tolueno que se muestra en la Figura 13.59*b*.

carbono que necesita la célula o la mitad de él (según qué ruta utilicen) a partir del compuesto C_1 formaldehído (CH_2O).

La etapa inicial de la oxidación aerobia del metano está catalizada por la enzima *metano-monooxigenasa* (MMO). Recordemos que las *mono*oxigenasas incorporan un átomo de oxígeno del O_2 en un compuesto de carbono (Sección 13.22 y Figura 13.55*a*). *M. capsulatus* contiene dos MMO, una citoplasmática y la otra integrada en la membrana; esta última ha sido mejor estudiada. En la reacción catalizada por la MMO se introduce un átomo de oxígeno en el metano para formar metanol, y el segundo átomo de oxígeno se reduce para formar agua (**Figura 13.57**). El metanol es oxidado por un alcohol-deshidrogenasa y se obtiene formaldehído (CH_2O) y NADH, y el formaldehído es oxidado a CO_2 o utilizado para elaborar nuevo material celular.

Asimilación de C_1 al material celular

Existen al menos dos rutas diferentes para incorporar unidades C_1 al material celular en los metanótrofos. La **ruta de la serina** se muestra en la **Figura 13.58*a***. En esta ruta se sintetiza acetil-CoA a partir de una molécula de formaldehído (producido por oxidación de metanol, Figura 13.57) y una molécula de CO_2 y se necesita poder reductor y energía en forma de dos moléculas de NADH y dos de ATP, respectivamente, por cada acetil-CoA sintetizado. La ruta de la serina utiliza diversas enzimas del ciclo del ácido cítrico y una enzima exclusiva, la *serina-transhidroximetilasa* (Figura 13.58*a*).

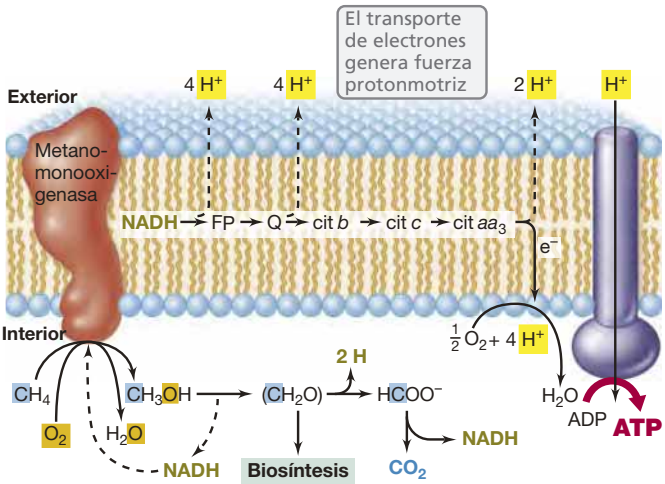
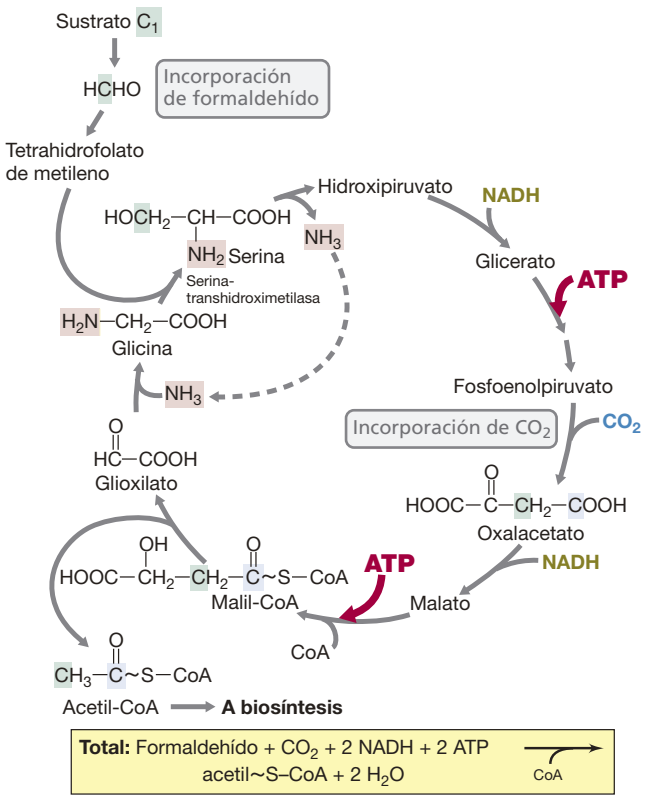
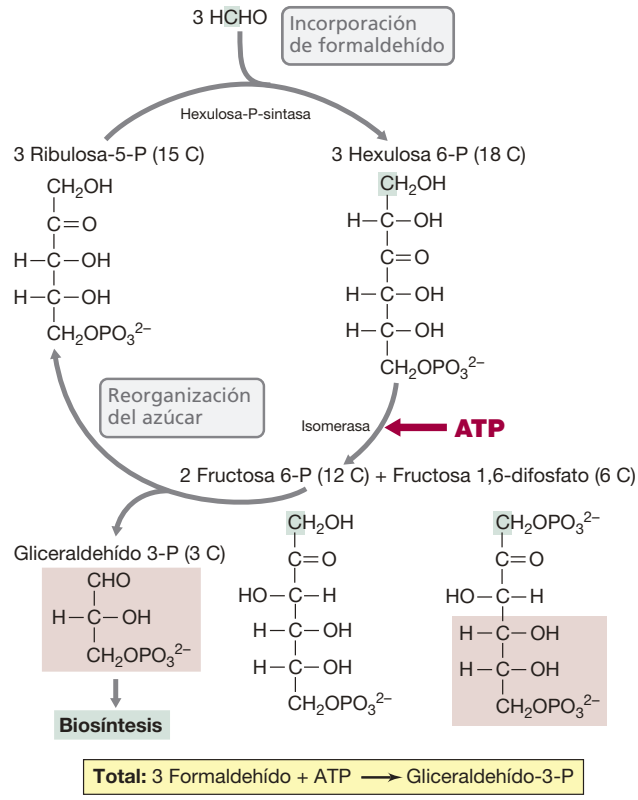


Figura 13.57 Oxidación de metano por las bacterias metanótrofas. El metano se oxida a metanol por acción de la metano-monooxigenasa (MMO), una enzima integrada en la membrana . El flujo de electrones en la membrana genera fuerza protonmotriz que alimenta la ATPasa. Obsérvese que el carbono para la biosíntesis procede del formaldehído (CH_2O). FP, flavoproteína; cit, citocromo; Q, quinona.

Una ruta alternativa para la incorporación de C_1 es la **ruta de la ribulosa monofosfato** (Figura 13.58*b*). La eficacia energética de esta ruta es mayor que la ruta de la serina porque *todos*



(*a*) **Ruta de la serina**



(*b*) **Ruta de la ribulosa monofosfato**

Figura 13.58 Rutas de la serina y de la ribulosa monofosfato para la asimilación de unidades C_1 en el material de la célula por las bacterias metilótrofas. *(a)* Ruta de la serina. El producto, acetil-CoA, se usa como punto de inicio para la síntesis de nuevo material celular. La enzima clave de la ruta es la serina-transhidroximetilasa. *(b)* Ruta de la ribulosa monofosfato. Se necesitan tres moléculas de formaldehído, y el producto es el gliceraldehído 3-fosfato. La enzima fundamental de esta ruta es la hexulosa-sintasa fosfato. Para la reorganización del azúcar son necesarias enzimas de la ruta de los pentosa fosfatos (↻ Figura 3.26).

los carbonos destinados a sintetizar material celular derivan del formaldehído, y como este está al mismo nivel de oxidación que el material celular, no se necesita poder reductor para su incorporación. Por tanto, todo el NADH obtenido en la oxidación de metano se puede oxidar en la ruta de transporte de electrones.

La ruta de la ribulosa monofosfato consume una molécula de ATP por cada molécula de gliceraldehído 3-fosfato (G-3-P) que se sintetiza (Figua 13.58*b*); así, se pueden convertir dos moléculas de G-3-P a glucosa mediante la inversión de la ruta glucolítica (↻ Figura 3.14). Las enzimas *hexulosa-sintasa fosfato*, que condensa una molécula de formaldehído con una de ribulosa 5-fosfato, y *hexulosa-isomerasa 6-fosfato* (Figura 13.58*b*) son exclusivas de la ruta de la ribulosa monofosfato. El resto de enzimas de esta ruta actúan también en el metabolismo intermediario y son muy frecuentes en las bacterias.

Vemos así que los metanótrofos aerobios comparten la necesidad de oxigenasas con otros degradadores aerobios de hidrocarburos. No obstante, como llevan a cabo las biosíntesis a partir de compuestos C_1, los metanótrofos difieren de otros degradadores de hidrocarburos en su necesidad de rutas especiales para incorporar unidades C_1 al material celular.

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué *Methylococcus capsulatus* es un aerobio estricto cuando utiliza metano como donador de electrones?
- ¿Por qué la oxidación de metano a metanol requiere poder reductor?
- ¿De qué dos maneras la ruta de la ribulosa monofosfato ahorra energía respecto a la ruta de la serina?

13.24 Metabolismo anóxico de los hidrocarburos

En las dos secciones precedentes hemos visto que los hidrocarburos se pueden catabolizar *aerobiamente*. Ahora estudiaremos su catabolismo *anóxico*. La oxidación anóxica de los hidrocarburos se puede vincular a la reducción de nitrato, sulfato o hierro férrico en las respiraciones anaerobias.

Hidrocarburos alifáticos

Los hidrocarburos alifáticos son compuestos orgánicos de cadena lineal saturada o insaturada, y muchos de ellos son sustratos de las bacterias desnitrificantes o de las reductoras de sulfato. Los hidrocarburos alifáticos saturados de hasta C_{20} sustentan el crecimiento, si bien los de cadena más corta son más solubles y se metabolizan más rápidamente. El mecanismo de degradación anóxica de los hidrocarburos está bien estudiado en el metabolismo del hexano (C_6H_{14}) en las bacterias desnitrificantes (que usan nitrato como aceptor de electrones). No obstante, el mecanismo parece ser el mismo en el catabolismo anóxico de hidrocarburos de cadena más larga y para la oxidación anóxica de hidrocarburos vinculada a otros aceptores de electrones, de manera que nos centraremos aquí en el sistema hexano/nitrato.

En el metabolismo anóxico del hexano, el hexano se modifica en el átomo de carbono 2 por unión de una molécula de *fumarato*, un intermediario C_4 del ciclo del ácido cítrico (↻ Figura 3.22), y se forma el compuesto *1-metilpentilsuccinato* (**Figura 13.59*a***). La adición enzimática de fumarato oxigena eficazmente el hexano y permite catabolizar anaerobiamente la molécula. Tras la adición de coenzima A se produce una serie de reacciones que incluyen la beta-oxidación (Figura 13.55*b*) y la regeneración del fumarato. Los electrones liberados durante la beta-oxidación generan fuerza protonmotriz y después son consumidos en la reducción del nitrato o el sulfato.

Hidrocarburos aromáticos

Los hidrocarburos aromáticos se pueden degradar anaerobiamente por la acción de algunas bacterias reductoras de nitrato, hierro férrico o sulfato. Para el catabolismo anóxico del tolueno, que es un hidrocarburo aromático, es necesario añadir oxígeno al compuesto para empezar su catabolismo, y esto se lleva a cabo, igual que en el catabolismo de los hidrocarburos alifáticos, mediante la adición de fumarato (Figura 13.59*a*). La serie de reacciones produce al final benzoíl-CoA que se degrada a continuación por reducción del anillo (Figura 13.59*b*). El benceno (C_6H_6) también se puede catabolizar anaerobiamente, probablemente mediante un mecanismo semejante. Los hidrocarburos aromáticos con varios anillos como el naftaleno ($C_{10}H_8$) pueden ser degradados por algunas bacterias reductoras de sulfato o desnitrificantes. A diferencia de lo que ocurre con otros hidrocarburos, la oxigenación de hidrocarburos con varios anillos no se produce por adición de fumarato, sino por adición de CO_2 al anillo para formar un ácido carboxílico; pero esta reacción de carboxilación tiene el mismo objetivo que las reacciones catalizadas por oxigenasas (Figuras 13.55*a* y 13.56) o la adición de fumarato (Figura 13.59); un átomo de oxígeno pasa a formar parte del hidrocarburo y facilita su catabolismo.

Muchas bacterias, entre ellas bacterias fermentadoras y fotótrofas, pueden catabolizar anaerobiamente ciertos hidrocarburos aromáticos. No obstante, a excepción del tolueno, solo se degradan los compuestos aromáticos que ya contienen un átomo de oxígeno, y normalmente por un mecanismo común. A diferencia del catabolismo aerobio, que se produce por *oxidación* de un anillo (Figura 13.56), el catabolismo anaerobio tiene lugar por *reducción* del anillo. El catabolismo del benzoato por la «ruta del benzoíl-CoA», que es habitual en esta bioquímica (**Figura 13.60**), empieza con la formación del derivado de la coenzima A seguida de la escisión del anillo para dar ácidos grasos o dicarboxílicos que pueden ser posteriormente catabolizados a productos intermedios del ciclo del ácido cítrico (Figura 13.60).

Oxidación anóxica del metano

El metano (CH_4) se puede degradar en condiciones anóxicas por acción de un consorcio de dos organismos, una bacteria reductora de sulfato y una arquea filogenéticamente relacionada con los metanógenos (**Figura 13.61**). El componente arqueano, llamado ANME (del inglés *anoxic* methanotroph), del cual existen diversos tipos, oxida el metano como donador de electrones. Los electrones procedentes de la oxidación del metano son transferidos al reductor de sulfato que, a su vez, los usa para reducir sulfato a sulfuro de hidrógeno (Figura 13.61*b*).

El mecanismo de oxidación anóxica del metano (AMO, del inglés *anoxic methane oxidation*) no se conoce exactamente, pero se cree que el metanótrofo oxida el metano a CO_2 invirtiendo las etapas de la metanogénesis, y los electrones

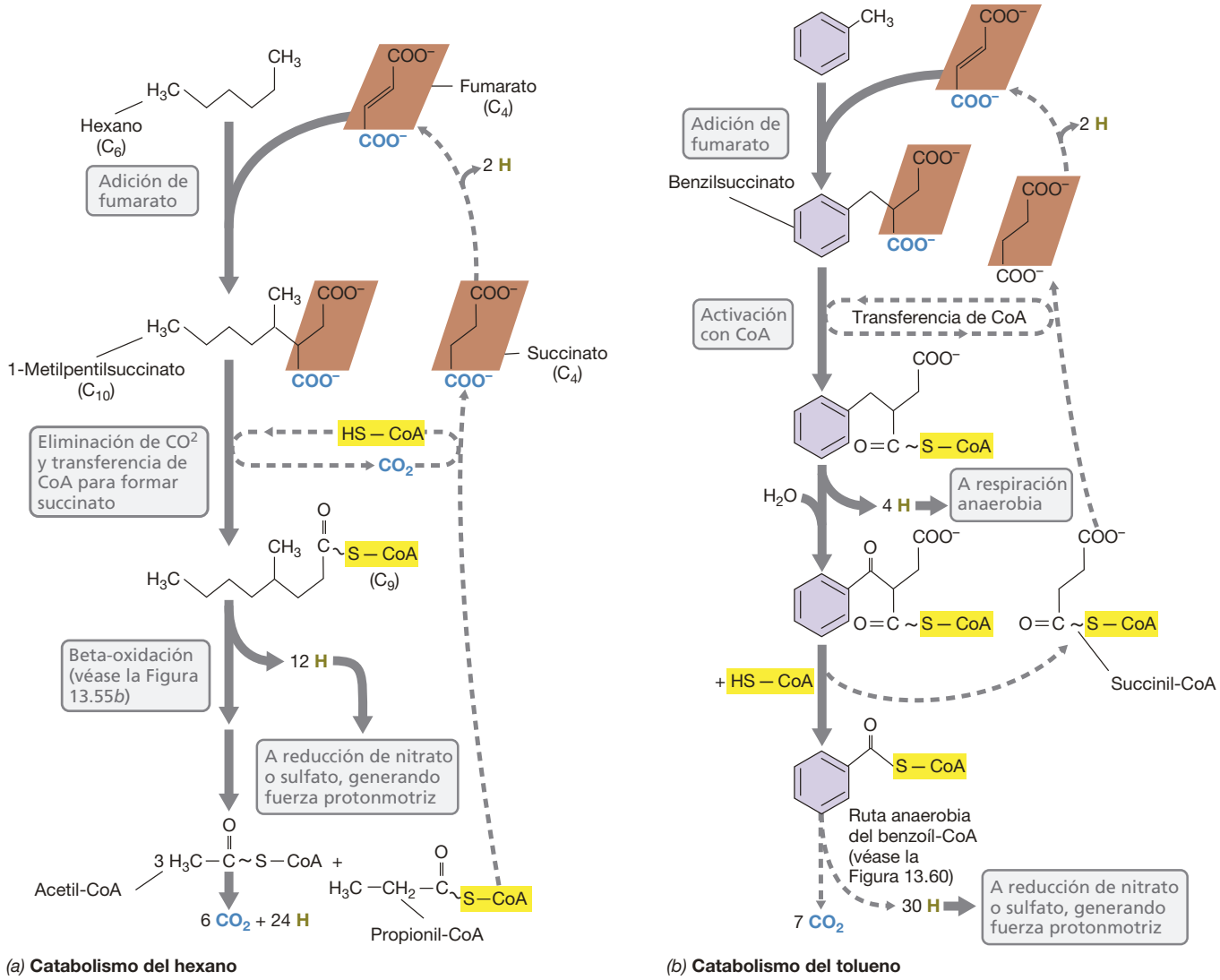


Figura 13.59 **Catabolismo anóxico de dos hidrocarburos.** *(a)* En el catabolismo anóxico del hidrocarburo alifático hexano, la adición de fumarato proporciona los átomos de oxígeno necesarios para formar un derivado de ácido graso que se puede catabolizar por beta-oxidación (véase la Figura 13.55) para dar acetil-CoA. Los electrones (H) generados en el catabolismo del hexano son utilizados para reducir sulfato o nitrato en la correspondiente respiración anaerobia. *(b)* La adición de fumarato durante el catabolismo anóxico del hidrocarburo aromático tolueno produce bencilsuccinato.

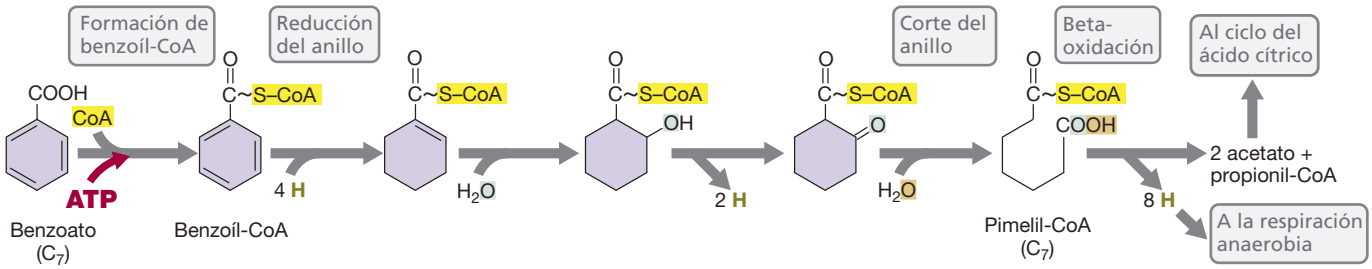


Figura 13.60 **Degradación anóxica del benzoato en la ruta del benzoíl-CoA.** Esta ruta funciona en la bacteria roja fotótrofa *Rhodopseudomonas palustris*, y en otras muchas bacterias facultativas, fotótrofas o quimiótrofas. Obsérvese que todos los intermediarios de la ruta están unidos a la coenzima A. El acetato producido es catabolizado posteriormente en el ciclo del ácido cítrico.

se transfieren al reductor de sulfato a través de alguna molécula orgánica (Figura 13.61*b*). Independientemente del mecanismo, la reacción acoplada produce solamente una pequeña cantidad de energía libre (−18 kJ), y sigue siendo una cuestión sin resolver de qué modo esta energía se convierte en ATP y se reparte entre el metanótrofo y el reductor de sulfato. Una posibilidad sería una bomba de iones. Como hemos visto en las Secciones 13.14 y 13.15, las bombas de iones pueden actuar

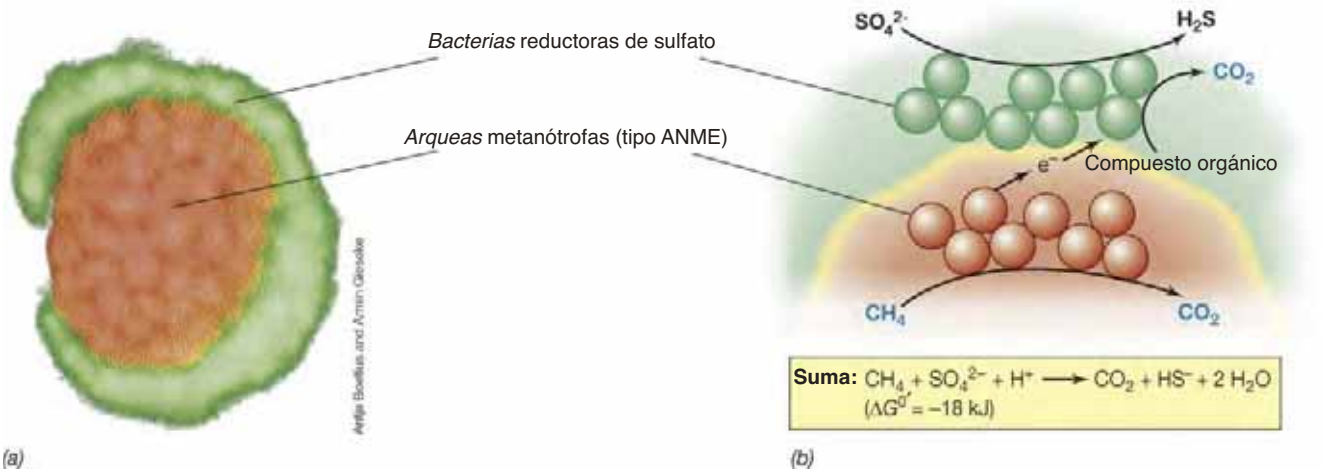


Figura 13.61 **Oxidación anóxica del metano.** *(a)* Agregados de células oxidadoras de metano de los sedimentos marinos. Los agregados contienen arqueas metanótrofas (rojo) rodeadas de bacterias reductoras de sulfato (verde). Cada tipo de célula se ha teñido con una sonda FISH diferente (↻ Sección 18.4). El agregado tiene unos 30 μm de diámetro. *(b)* Mecanismo de degradación cooperativa de metano. Un compuesto orgánico o algún otro transportador de poder reductor transfiere electrones de los metanótrofos a los reductores de sulfato.

con rendimientos energéticos muy bajos, de modo que también podría actuar en la energética de la AMO.

La AMO no se limita a los consorcios de bacterias reductoras de sulfato. Los consorcios desnitrificantes y oxidadores de metano son activos en ambientes anóxicos en los que el metano y el nitrato coexisten en cantidades significativas, como algunos sedimentos de agua dulce. En los cultivos de enriquecimiento de estos consorcios en laboratorio, algunos contienen metanótrofos de tipo ANME y otros carecen completamente de arqueas. También se ha observado AMO unida a la reducción de hierro férrico (Fe^{3+}) e ion mangánico (Mn^{4+}).

Existe una bacteria desnitrificante que utiliza un mecanismo sorprendente para la AMO y no precisa de un segundo organismo para llevar a cabo el proceso. Se trata de *Methylomirabilis oxyfera*, que oxida el metano con nitrato como aceptor de electrones, y durante la oxidación del metano los electrones reducen el nitrato utilizando la mayoría de las etapas que hemos visto previamente en las bacterias desnitrificantes como *Pseudomonas* (Sección 13.17), incluida la reducción de nitrato a nitrito y la sucesiva reducción a nitrógeno molecular (Figura 13.41*c*). Pero a diferencia de *Pseudomonas*, en *M. oxyfera* el nitrito se reduce a nitrógeno molecular por medio del óxido nítrico (NO) sin producir previamente óxido nitroso (N_2O) como producto intermedio (Figura 13.41*c*). En cambio, *M. oxyfera* escinde el óxido nítrico en nitrógeno y oxígeno ($2\,NO \rightarrow N_2 + O_2$) y a continuación utiliza el oxígeno producido como aceptor de electrones para la oxidación del metano. En otras palabras, el organismo *produce su propio oxígeno* como oxidante para los electrones generados durante la oxidación del metano a CO_2 (véase más información en la página 461).

Se han desarrollado algunas estrategias metabólicas para catabolizar metano, probablemente el hidrocarburo más abundante de la Tierra. Esto, junto con la multitud de mecanismos de fijación de energía que hemos visto en este capítulo, demuestra la impresionante diversidad metabólica de los microorganismos. En los cuatro capítulos siguientes tomaremos toda esta información y la pondremos en el contexto de los propios organismos.

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué el tolueno es un hidrocarburo y el benzoato no lo es?
- ¿Cómo se oxigena el hexano durante el catabolismo anóxico?
- ¿Qué significa AMO y qué organismos participan en este proceso?

IDEAS PRINCIPALES

13.1 • En la fotosíntesis, el ATP se genera a partir de la luz y se consume en la reducción de CO_2. Se conocen dos formas de fotosíntesis: la oxigénica, en la que se produce O_2 (por ejemplo en cianobacterias), y la anoxigénica, en la que no se produce O_2 (por ejemplo en las bacterias rojas y en las verdes). Las clorofilas y las bacterioclorofilas se encuentran en las membranas en las que se llevan a cabo las reacciones luminosas de la fotosíntesis. Las clorofilas antena captan la energía lumínica y la transfieren a un centro de reacción.

13.2 • Los pigmentos accesorios, como los carotenoides y las ficobilinas, absorben la luz y transfieren la energía a la clorofila del centro de reacción; esto amplía las longitudes de onda utilizables en la fotosíntesis. Los carotenoides también tienen una importante función fotoprotectora al impedir el daño fotooxidativo en las células.

13.3 • Las reacciones de transporte de electrones se realizan en el centro de reacción fotosintético de

los fotótrofos anoxigénicos, y generan ATP y fuerza protonmotriz. El poder reductor para la fijación de CO_2 procede de sustancias como el sulfuro de hidrógeno, y la producción de NADH en las bacterias rojas requiere transporte inverso de electrones.

13.4 • En la fotosíntesis oxigénica el agua dona electrones para impulsar la fijación de CO_2, y el O_2 es un producto secundario. En los fotótrofos oxigénicos existen dos fotosistemas independientes pero interconectados, PSI y PSII, mientras que los fotótrofos anoxigénicos tienen un solo fotosistema.

13.5 • En la mayoría de las bacterias fotótrofas y quimiolitótrofas, la autotrofia se sustenta mediante el ciclo de Calvin, en el que la enzima rubisco tiene un papel fundamental. Los carboxisomas contienen rubisco cristalina y actúan concentrando el CO_2, el sustrato clave de esta enzima. El ciclo del ácido cítrico y el del hidroxipropionato inversos son rutas autotróficas de las bacterias verdes del azufre y de las verdes no del azufre, respectivamente.

13.6 • Los quimiolitótrofos oxidan donadores inorgánicos de electrones para fijar la energía y obtener poder reductor. La fijación de energía se produce a partir de los procesos respiratorios que generan fuerza protonmotriz. La mayoría de los quimiolitótrofos pueden crecer autotróficamente.

13.7 • Las bacterias quimiolitótrofas del hidrógeno usan hidrógeno como donador de electrones para reducir el oxígeno a agua. La enzima hidrogenasa es necesaria para oxidar el hidrógeno, y este suministra poder reductor para la fijación del CO_2 en estos autótrofos.

13.8 • Los compuestos reducidos de azufre como el sulfuro de hidrógeno, los sulfitos y el azufre elemental son donadores de electrones para la fijación de la energía en los quimiolitótrofos del azufre. Los electrones de estas sustancias entran en las cadenas de transporte de electrones y generan fuerza protonmotriz. Los quimiolitótrofos del azufre también son autótrofos y fijan CO_2 mediante el ciclo de Calvin.

13.9 • Las bacterias quimiolitótrofas del hierro oxidan Fe^{2+} como donador de electrones. La mayoría de las bacterias del hierro crecen a pH ácido y suelen estar asociadas a la contaminación ácida causada en la extracción de minerales y de carbón. Unas pocas bacterias quimiolitótrofas y fotótrofas pueden oxidar el Fe^{2+} a Fe^{3+} mediante un proceso anaerobio.

13.10 • Las bacterias y arqueas oxidadoras de amoniaco producen nitrito a partir de amoniaco y a su vez el nitrito es oxidado a nitrato por las bacterias oxidadoras de nitrito. La oxidación anóxica de amoniaco (anamox) consume amoniaco y nitrito para formar nitrógeno molecular. La reacción anamox se lleva a cabo en un compartimento encerrado por una membrana llamado anamoxosoma.

13.11 • En ausencia de aceptores externos de electrones, los compuestos orgánicos solo se pueden catabolizar anaerobiamente por fermentación. La mayoría de las fermentaciones requieren que se forme un compuesto orgánico rico en energía que permita sintetizar ATP por fosforilación a nivel de sustrato. El equilibrio redox se alcanza por la formación de los productos de fermentación.

13.12 • La fermentación del ácido láctico la llevan a cabo las especies homofermentadoras en las que el lactato es el único producto, y las especies heterofermentadoras, que producen lactato, etanol y CO_2. La fermentación ácidomixta típica de las enterobacterias genera varios ácidos más productos neutros (etanol, butanodiol), según el organismo.

13.13 • Los clostridios fermentan azúcares, aminoácidos y otros compuestos orgánicos; uno de los productos principales es el ácido butírico. La producción de butirato permite la síntesis de un ATP adicional. *Propionibacterium* produce propionato, acetato y CO_2 en una fermentación secundaria del lactato en la que se fija energía por fosforilación a nivel de sustrato y por respiración anaerobia.

13.14 • La fijación de energía en *Propionigenium*, *Oxalobacter* y *Malonomonas* está vinculada a reacciones de descarboxilación que bombean Na^+ o H^+ a través de la membrana; las ATPasas utilizan la energía del gradiente de iones para sintetizar ATP. Las reacciones catalizadas por estos organismos generan energía libre insuficiente para sintetizar ATP por fosforilación a nivel de sustrato.

13.15 • En la sintrofia dos organismos cooperan para degradar un compuesto que ninguno de los dos puede degradar por sí solo. En este proceso, el hidrógeno producido por un organismo es consumido por el otro. El consumo de hidrógeno afecta a la energética de la reacción que lleva a cabo el productor de hidrógeno y le permite sintetizar el ATP que de otro modo no podría hacer.

13.16 • Si bien el oxígeno es el aceptor de electrones más comúnmente usado en el metabolismo energético, se pueden usar también algunos otros compuestos orgánicos e inorgánicos. La respiración anaerobia genera menos energía que la respiración aerobia, pero puede llevarse a cabo en ambientes en los que no hay oxígeno.

13.17 • El nitrato es un aceptor de electrones habitual en la respiración anaerobia. La reducción de nitrato es catalizada por la enzima nitrato-reductasa, que reduce el nitrato a nitrito. Muchas bacterias que usan nitrato en la respiración anaerobia producen compuestos gaseosos de nitrógeno (óxido nítrico, óxido nitroso o nitrógeno molecular) como productos finales de la reducción (desnitrificación).

13.18 • Las bacterias reductoras de sulfato son anaerobias estrictas que reducen sulfato a sulfuro de hidrógeno en un proceso en el que el sulfato debe activarse primero a

fosfosulfato de adenosina (APS). La dismutación es una estrategia adicional de producción de energía para ciertas especies. Algunos organismos como *Desulfuromonas* no pueden reducir el sulfato, pero sí el azufre elemental a sulfuro de hidrógeno.

13.19 • Los acetógenos son anaerobios estrictos que reducen CO_2 a acetato, normalmente con el hidrógeno como donador de electrones. El mecanismo de formación de acetato es la ruta de la acetil-CoA, muy extendida entre los anaerobios estrictos con fines autótrofos o para la oxidación del acetato.

13.20 • La metanogénesis es la producción de metano a partir de hidrógeno y CO_2 o de acetato o metanol por parte de arqueas metanógenas anaerobias estrictas. En la metanogénesis son necesarias varias coenzimas exclusivas, y la fijación de la energía está vinculada a una fuerza protonmotriz o a una fuerza sodiomotriz.

13.21 • Además de los compuestos inorgánicos de nitrógeno y azufre y del CO_2, otras sustancias pueden actuar como aceptores electrónicos en la respiración anaerobia. Entre estas sustancias se encuentran el Fe^{3+}, el Mn^{4+}, el fumarato, algunos compuestos orgánicos y algunos compuestos orgánicos clorados, e incluso protones.

13.22 • Además de su función como aceptor terminal de electrones, el oxígeno también puede ser un sustrato. En el metabolismo aerobio las oxigenasas introducen en los hidrocarburos átomos de oxígeno procedentes del O_2. Una vez oxigenados, los hidrocarburos alifáticos pueden degradarse más por beta-oxidación, y los hidrocarburos aromáticos por escisión del anillo y oxidación.

13.23 • La metanotrofia es el uso de metano como fuente de carbono y como donador de electrones, y la metano-monooxigenasa es una enzima clave en el catabolismo aerobio del metano. En los metanótrofos, las unidades C_1 se asimilan al material celular como formaldehído, a través de la ruta de la ribulosa monofosfato, o como formaldehído más CO_2, a través de la ruta de la serina.

13.24 • Los hidrocarburos se pueden oxidar en condiciones anóxicas tras la adición del ácido dicarboxílico fumarato. Los compuestos aromáticos son catabolizados anaerobiamente por reducción y corte del anillo para formar productos intermedios que se pueden catabolizar en el ciclo del ácido cítrico. El metano se puede oxidar en condiciones anóxicas por la acción de consorcios que contienen bacterias reductoras de sulfato o bacterias desnitrificantes y arqueas metanótrofas.

MasteringMicrobiology®

Revise lo que sabe y descubra lo que ha aprendido con MasteringMicrobiology. Acceda a material de estudio, revisiones de los capítulos, animaciones y tutoriales de microbiología práctica en el Área de Estudio y asegúrese de que ha asimilado todo el contenido de este capítulo.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Acetogénesis: metabolismo energético en el que se produce acetato a partir de hidrógeno y CO_2 o a partir de compuestos orgánicos.
Anamox (*"anammox"*): oxidación anóxica de amoniaco.
Autótrofo: organismo que utiliza CO_2 como única fuente de carbono.
Bacterioclorofila: pigmento clorofílico de los fotótrofos anoxigénicos.
Carboxisomas: inclusiones cristalinas de rubisco.
Carotenoide: pigmento accesorio hidrófobo presente junto con la clorofila en las membranas fotosintéticas.
Centro de reacción: complejo fotosintético que contiene clorofila o bacterioclorofila y otros componentes y en el que se producen las reacciones iniciales de transferencia de electrones o el flujo fotosintético de electrones.
Ciclo de Calvin: ruta bioquímica de fijación de CO_2 en muchos organismos autótrofos.
Ciclo del ácido cítrico inverso: mecanismo de autotrofia en las bacterias verdes del azufre y otras pocas bacterias autótrofas, así como en algunas arqueas.
Clorofila: porfirina fotosensible con magnesio propia de los organismos fotótrofos, que inicia el proceso de fotofosforilación.
Clorosoma: estructura en forma de puro presente en la periferia de las células de las bacterias verdes del azufre y verdes no del azufre y que contiene las bacterioclorofilas antena (*c*, *d* o *e*).
Descloración reductora: respiración anaerobia en la que un compuesto orgánico clorado se usa como aceptor de electrones, normalmente con liberación de Cl^-.
Desnitrificación: respiración anaerobia en la que el nitrato o el nitrito son reducidos a gases nitrogenados, principalmente nitrógeno molecular.
Fermentación: catabolismo anaerobio de un compuesto orgánico en el que el compuesto actúa como donador y como aceptor de electrones y en el que el ATP se suele producir por fosforilación a nivel de sustrato.
Fermentación secundaria: fermentación en la que los sustratos son los productos de fermentación de otros organismos.
Ficobiliproteína: complejo de pigmentos antena en las cianobacterias que contiene ficocianina y aloficocianina o ficoeritrina acoplados a proteínas.
Ficobilisoma: agragado de ficobiliproteínas.
Fotofosforilación: producción de ATP en la fotosíntesis.
Fotosíntesis: serie de reacciones en las que se sintetiza ATP mediante reacciones activadas por la luz y se fija CO_2 al material celular.
Fotosíntesis anoxigénica: fotosíntesis en la que no se produce oxígeno.
Fotosíntesis oxigénica: fotosíntesis llevada a cabo por las cianobacterias y

las plantas verdes, en la que se produce oxígeno.

Fotótrofo: organismo que utiliza la luz como fuente de energía.

Heterofermentador: que produce una mezcla de productos, normalmente lactato, etanol y CO_2 a partir de la fermentación de glucosa.

Hidrogenasa: enzima ampliamente distribuida entre los microorganismos anaerobios, capaz de oxidar o producir H_2.

Homofermentador: que produce únicamente ácido láctico a partir de la fermentación de glucosa.

Metanogénesis: producción biológica de metano.

Metanógeno: miembro de *Archaea* que produce metano.

Metanótrofo: organismo que oxida metano.

Metilótrofo: organismo capaz de crecer con compuestos que no contienen enlaces C—C; algunos metilótrofos son metanótrofos.

Mixótrofo: organismo en el que un compuesto inorgánico actúa como donador de electrones en el metabolismo energético y los compuestos orgánicos actúan como fuente de carbono.

Nitrificación: oxidación microbiana de amoniaco a nitrato.

Oxigenasa: enzima que cataliza la incorporación de oxígeno del O_2 a compuestos orgánicos o inorgánicos.

Pigmentos antena: clorofilas o bacterioclorofilas que recolectan luz, en fotocomplejos que canalizan la energía hacia el centro de reacción.

Quimiolitótrofo: microorganismo que oxida compuestos inorgánicos como donadores de electrones en el metabolismo energético.

Reacción de Stickland: fermentación de un par de aminoácidos.

Respiración anaerobia: uso de un aceptor de electrones distinto del oxígeno en una oxidación basada en el transporte de electrones que genera fuerza protonmotriz.

Rubisco: acrónimo (del inglés *ribulose bisphosphate carboxylase*) que designa la ribulosa-carboxilasa difosfato, una enzima fundamental del ciclo de Calvin.

Ruta de la acetil-CoA: ruta de fijación autotrófica de CO_2 y oxidación de acetato muy extendida entre los anaerobios estrictos, como las bacterias metanógenas, las acetógenas y las reductoras de sulfato.

Ruta de la ribulosa: serie de reacciones en ciertos metilótrofos en las que se asimila el formaldehído al material celular usando la ribulosa monofosfato como molécula aceptora de C_1.

Ruta de la serina: serie de reacciones en algunos metilótrofos en los que se asimila el formaldehído y el CO_2 al material celular a través del aminoácido serina.

Ruta del hidroxipropionato: ruta autotrófica que se encuentra en *Chloroflexus* y unas pocas arqueas.

Sintrofia: proceso por el que dos o más microorganismos cooperan para degradar una sustancia que ninguno de los dos puede degradar por sí solo.

Tilacoides: apilamiento de membranas en las cianobacterias o en los cloroplastos de los eucariotas fotótrofos.

Transporte inverso de electrones: movimiento de electrones dependiente de energía contra el gradiente termodinámico para formar un reductor fuerte a partir de un donador de electrones débil.

EJERCICIOS PRÁCTICOS

1. ¿Cuáles son las diferencias principales entre los fotótrofos oxigénicos y los anoxigénicos? (Sección 13.1)
2. ¿Cuál es la función de las clorofilas captadoras de luz y de las clorofilas del centro de reacción? ¿Por qué los mutantes incapaces de sintetizar clorofilas captadoras de luz, que se pueden aislar fácilmente en el laboratorio, probablemente no serían buenos competidores en la naturaleza? (Sección 13.1)
3. ¿Qué pigmentos accesorios están presentes en los fotótrofos y qué funciones tienen? (Sección 13.2)
4. ¿De qué manera la luz ocasiona la síntesis de ATP en un fotótrofo anoxigénico? ¿En qué se asemejan el flujo de electrones fotosintético y el respiratorio? ¿En qué se diferencian? (Sección 13.3)
5. ¿Cómo obtiene una bacteria roja el poder reductor para el crecimiento autótrofo? ¿Y una cianobacteria? (Secciones 13.3 y 13.4)
6. ¿En qué se diferencian el potencial de reducción (E_0') de la clorofila *a* del PSI y el de la del PSII? ¿Por qué el potencial de reducción de la clorofila *a* del PSII tiene que ser tan electropositivo? (Sección 13.4)
7. ¿Qué dos enzimas son exclusivas del ciclo de Calvin? ¿Qué reacciones catalizan estas enzimas? ¿Qué consecuencias tendría la aparición de un mutante que careciera de alguna de ellas? (Sección 13.5)
8. ¿Qué organismos utilizan el ciclo del hidroxipropionato o el ciclo del ácido cítrico inverso como rutas autotróficas? (Sección 13.5)
9. Compare el uso de sulfuro de hidrógeno por parte de una bacteria roja fotótrofa y de una bacteria incolora del azufre como *Beggiatoa*. ¿Qué función cumple el sulfuro de hidrógeno en el metabolismo de cada organismo? (Secciones 13.3, 13.6 y 13.8)
10. ¿Qué donadores inorgánicos de electrones utilizan los organismos *Ralstonia*, *Thiobacillus* y *Acidithiobacillus*? (Secciones 13.7 a 13.9)
11. Compare la nitrificación clásica con la anamox en términos de requisitos de oxígeno, organismos que intervienen en cada proceso y necesidad de monooxigenasas. (Sección 13.10)
12. Defina el término «fosforilación a nivel de sustrato». ¿En qué se diferencia de la fosforilación oxidativa? ¿Qué compuesto(s) necesita(n) sintetizar las bacterias fermentadoras para producir ATP por fosforilación a nivel de sustrato? (Sección 13.11)
13. Cite los principales productos de la fermentación en las bacterias siguientes: *Lactobacillus*, *Clostridium*, *Propionibacterium* y *Escherichia*. (Secciones 13.12 y 13.13)
14. Dé un ejemplo de fermentación que no utilice fosforilación a nivel de sustrato. ¿Cómo se obtiene energía en esta fermentación? (Sección 13.14)

15. ¿Por qué se dice que la sintrofia es una transferencia interespecífica de hidrógeno? (Sección 13.15)
16. ¿Por qué el nitrato es mejor aceptor de eletrones para la respiración anaerobia que el sulfato? (Sección 13.16)
17. ¿En qué se diferencian la respiración de nitrato de *Escherichia coli* y la de *Pseudomonas*? (Sección 13.17)
18. ¿Por qué la hidrogenasa es útil para *Desulfovibrio* incluso cuando no se cultiva la bacteria con el hidrógeno como donador de electrones? (Sección 13.18)
19. Compare los acetógenos y los metanógenos en términos de 1) sustratos y productos de su metabolismo energético, 2) capacidad para utilizar compuestos orgánicos como donadores de electrones en el metabolismo energético y 3) filogenia. (Secciones 13.19 y 13.20)
20. Compare la reducción de hierro férrico con la descloración reductora en términos de 1) producto de la reducción y 2) importancia ambiental. (Sección 13.21)
21. ¿En qué se diferencian las monooxigenasas de las dioxigenasas en cuanto a las reacciones que catalizan? ¿Por qué son necesarias las oxigenasas para el catabolismo aerobio de los hidrocarburos? (Sección 13.22)
22. ¿En qué se diferencia un metan*ótrofo* de un metan*ógeno*? ¿Qué ruta para la asimilación de C_1 en los metanótrofos es más eficiente energéticamente y por qué? (Sección 13.23)
23. ¿Cómo degradan anaerobiamente y sin oxigenasas los hidrocarburos las bacterias desnitrificantes y las reductoras de sulfato? (Sección 13.24)

PREGUNTAS DE REPASO

1. ¿Dónde se encuentran los pigmentos fotosintéticos en una bacteria roja fotótrofa? ¿Y en una cianobacteria? ¿Y en un alga verde? Teniendo en cuenta la función de los pigmentos clorofílicos, ¿por qué no están localizados en otro lugar de la célula, por ejemplo en el citoplasma o en la pared celular? (Seccioón 13.1)
2. La velocidad de crecimiento de la bacteria fotótrofa roja *Rhodobacter* es prácticamente el doble cuando el organismo crece *fototróficamente* en un medio que contiene malato como fuente de carbono que cuando crece con CO_2 (con H_2 como donador de electrones). Explique por qué es así y cite la clase nutricional en la que situaríamos a *Rhodobacter* cuando crece en cada una de ambas condiciones.
3. Aunque son fisiológicamente diferentes, los quimiolitótrofos y los quimioorganótrofos comparten una serie de características relacionadas con la producción de ATP. Describa esas características comunes y justifique por qué el rendimiento del crecimiento (gramos de células por mol de sustrato consumido) de un quimioorganótrofo que respira glucosa es mucho más alto que el de un quimiolitótrofo que respira azufre.
4. Un ácido graso como el butirato no puede ser fermentado en un cultivo puro, aunque en otras condiciones su catabolismo anaerobio se produce rápidamente. ¿En qué se diferencian esas condiciones y por qué las últimas permiten el catabolismo del butirato? ¿Cómo se puede fermentar el butirato en un cultivo mixto?
5. Cuando el metano se sintetiza a partir de CO_2 (más hidrógeno) o de metanol (en ausencia de hidrógeno), las rutas metabólicas comparten varias etapas. Compare la metanogénesis a partir de estos dos sustratos destacando las semejanzas y las diferencias en estos procesos.

CAPÍTULO

14 · Diversidad funcional en *Bacteria*

microbiología **actual**

Un cultivo más allá

Los microbiólogos siguen descubriendo procesos microbianos que causan un impacto en la biosfera, y la bacteria *Methylomirabilis*, descubierta recientemente, es un ejemplo de ello. Antes se pensaba que la oxidación biológica de metano requería oxígeno. Sin embargo, recientemente se ha observado oxidación de metano en diversos ambientes anóxicos diferentes. El metano es un poderoso gas de efecto invernadero, y el consumo microbiano de este gas ejerce una función muy importante en el equilibrio global del ciclo del metano. El modelo para la oxidación anaerobica del metano estaba basada en una asociación metabólica bien estudiada entre las bacterias reductoras de sulfato y los metanógenos capaces de invertir la ruta de la producción de metano. Sin embargo, el descubrimiento de *M. oxyfera* confirma la máxima que dice que allá donde hay energía, los microorganismos encuentran la manera de usarla.

M. oxyfera surgió en un cultivo de enriquecimiento anaerobio realizado a partir de sedimentos anóxicos de un canal de los Países Bajos (foto). El canal recibía vertidos de campos cultivados que contenían nitrato y metano. En el cultivo de enriquecimiento se acopló la oxidación del metano con la desnitrificación, un proceso que no se había visto nunca antes. Sorprendentemente, sin embargo, a pesar de crecer anaerobiamente, *M. oxyfera* estaba usando la ruta tradicional aerobia de oxidación de metano. ¿Cómo es posible esto?

Se vio que *M. oxyfera* utiliza una nueva ruta de desnitrificación en la que se usan dos moléculas de óxido nítrico (NO) para generar nitrógeno y oxígeno; a continuación el oxígeno se usa inmediatamente como aceptor de electrones para la oxidación del metano.[1] Por tanto, la producción de oxígeno es fundamental para el metabolismo del metano en *M. oxyfera*, a pesar de que la bacteria habita en ambientes anóxicos. Esta bacteria también presenta una morfología poliédrica singular (ampliación de foto) y pertenece a un nuevo filo de *Bacteria*, NC-10, del que todavía no se había aislado ninguna especie. El descubrimiento de *M. oxyfera* muestra que en microbiología los grandes descubrimientos pueden ser solo «cuestión de un cultivo».

[1]Ettwig, K. F., *et al.* 2010. Nitrite-driven anaerobic methane oxidation by oxygenic bacteria. *Nature 464*: 543-550.



I La diversidad funcional como concepto 462

II Diversidad de las bacterias fotótrofas 463

III Diversidad bacteriana en el ciclo del azufre 475

IV Diversidad bacteriana en el ciclo del nitrógeno 481

V Diversidad de otras bacterias quimiótrofas características 485

VI Diversidad morfológica de las bacterias 496

El mundo microbiano posee una diversidad inmensa, tanto en formas como en funciones. Los microorganismos llevan evolucionando más de 3.800 millones de años y se han diversificado para ocupar cualquier hábitat disponible en la Tierra. En el Capítulo 12 tratamos de la evolución de la vida microbiana y las herramientas filogenéticas que nos han ayudado a estudiarla. En el Capítulo 13 analizamos la enorme diversidad metabólica de los microorganismos. En este capítulo y en los tres siguientes nos centraremos en la diversidad microbiana en sí misma, teniendo en cuenta tanto a las bacterias como a las arqueas y los eucariotas.

En el presente capítulo estudiaremos la *diversidad funcional* de grupos concretos de bacterias. En particular centraremos nuestra atención en los organismos que comparten características fisiológicas o ecológicas definidas, aunque esto no implique que estén afiliados necesariamente a un mismo grupo filogenético coherente.

I • La diversidad funcional como concepto

La diversidad microbiana se puede entender en términos de diversidad filogenética o de diversidad funcional. En la Sección 14.1 definiremos y compararemos ambos conceptos.

14.1 El sentido de la diversidad microbiana

La *diversidad filogenética* es el componente de la diversidad microbiana vinculado a las relaciones evolutivas entre microorganismos. Fundamentalmente, la diversidad filogenética es la diversidad de los linajes evolutivos como filos, géneros y especies. En el sentido más amplio, la diversidad filogenética incluye la diversidad genética y la genómica de los linajes evolutivos y, por tanto, se puede definir a partir de genes o de organismos (↻ Sección 12.5). No obstante, lo más habitual es definir la diversidad filogenética basándose en la filogenia de los genes del RNA ribosómico, de los que se piensa que reflejan la historia filogenética de todo el organismo (↻ Sección 12.4). La diversidad filogenética es el tema que engloba nuestro enfoque de la diversidad microbiana a lo largo de los Capítulos 15 a 17.

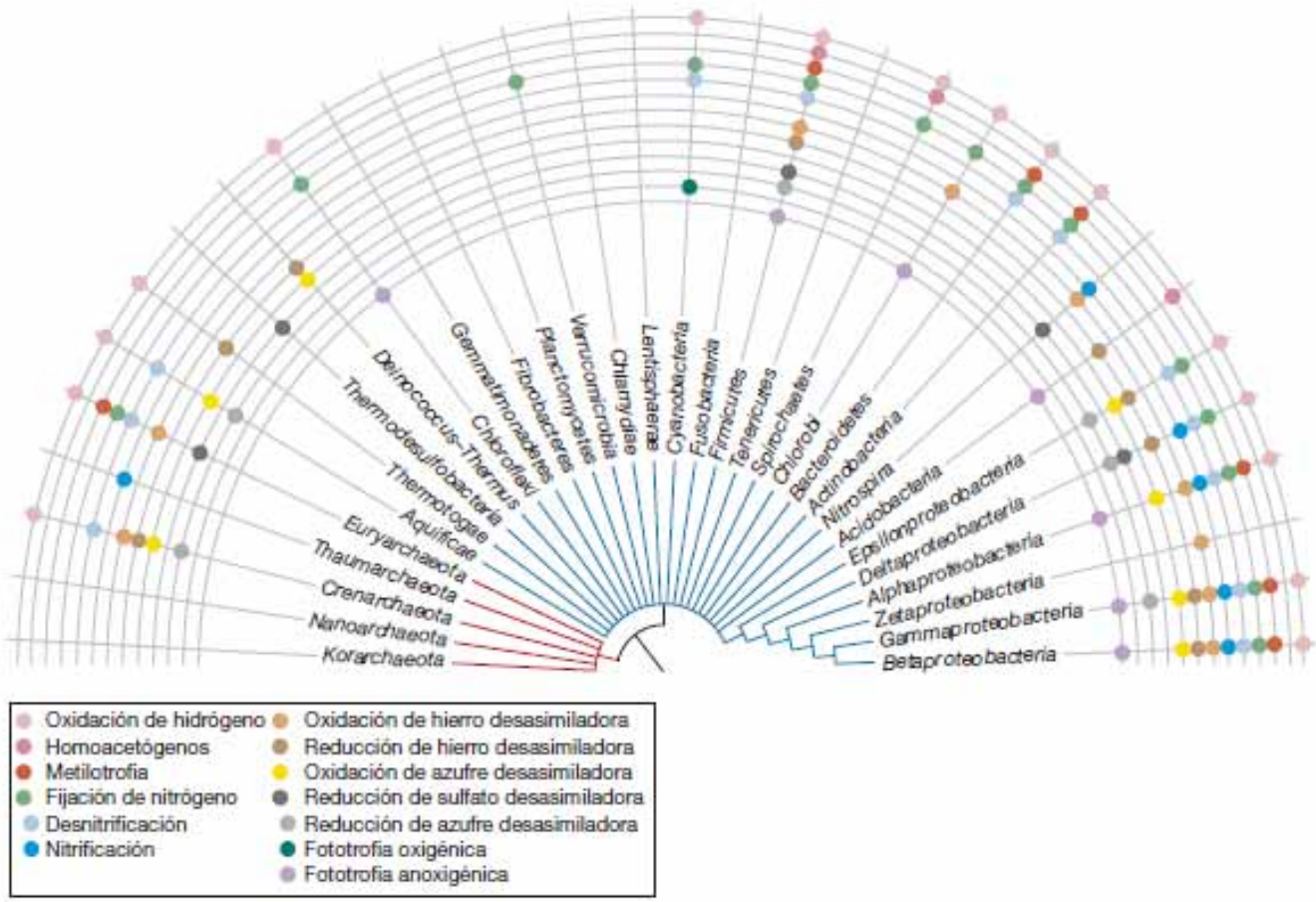


Figura 14.1 **Principales características funcionales cartografiadas en los filos más importantes de *Bacteria* y *Archaea*.** El dendrograma muestra las relaciones entre los filos bacterianos según se deducen del análisis de las secuencias de los genes del RNA ribosómico 16S. Las ramas azules denotan los filos de *Bacteria*, mientras que las ramas rojas indican los filos de *Archaea*. Los círculos de colores indican los filos que contienen al menos una especie con la característica funcional indicada en la tabla de colores.

La **diversidad funcional** es el componente de la diversidad microbiana asociado a la forma y la función, y está relacionada con la fisiología y la ecología microbianas. Resulta útil considerar la diversidad microbiana en términos de categorías funcionales, porque los organismos con rasgos comunes comparten a menudo características fisiológicas y tienen funciones ecológicas semejantes. En muchos casos, los rasgos funcionales se corresponden con los grupos filogenéticos (por ejemplo, en las Secciones 14.3, 14.4, 14.6, 14.7 y 14.20). No obstante, a menudo la diversidad funcional microbiana no coincide con la diversidad filogenética definida por los genes del RNA ribosómico 16S. En este capítulo veremos muchos ejemplos en los que los rasgos funcionales están distribuidos extensamente entre bacterias y arqueas (**Figura 14.1**).

Para responder a la pregunta de por qué un rasgo funcional es compartido por organismos divergentes entre sí con secuencias génicas del RNA ribosómico 16S diferentes se pueden dar, al menos, tres argumentos. El primero es la *pérdida de genes*, una situación en la que un rasgo presente en el antepasado común de varios linajes se pierde posteriormente en algunos de ellos y en otros no, y a lo largo de la evolución se van distanciando mucho. El segundo es la **evolución convergente**, en la que un rasgo evoluciona independientemente en dos o más linajes y no está codificado por genes homólogos compartidos por dichos linajes. El tercer argumento es la **transferencia horizontal de genes** (↔ Secciones 6.12 y 12.5), una situación en la que los genes que confieren alguna característica particular son homólogos y se han intercambiado entre linajes de parentesco lejano.

La diversidad funcional puede definirse además en términos de diversidad fisiológica, ecológica y morfológica. La *diversidad fisiológica* está relacionada con las funciones y actividades de los microorganismos y se suele describir en términos de metabolismo microbiano y bioquímica celular (Capítulo 13). La *diversidad ecológica* tiene que ver con las relaciones entre los organismos y su ambiente. Organismos con características fisiológicas semejantes pueden tener estrategias ecológicas diferentes (Sección 14.11). En el Capítulo 19, cuando hablemos de la ciencia de la ecología microbiana tendremos en cuenta también las causas y las consecuencias de la diversidad ecológica. La *diversidad morfológica* se refiere al aspecto exterior de un organismo (Secciones 14.20 a 14.24). En algunos casos, la morfología de un grupo es tan característica que prácticamente lo define; es lo que ocurre, por ejemplo, con las espiroquetas (Sección 14.22).

Los conceptos de diversidad fisiológica, ecológica y morfológica suelen estar estrechamente relacionados. Los ejemplos proporcionados en este capítulo pretenden ser ilustrativos y no exhaustivos, y en los Capítulos 15 a 17 y 19 a 22 consideraremos otros organismos con funciones ecológicas importantes.

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué es necesario explicar la diversidad microbiana en términos de la diversidad filogenética y la funcional?
- ¿Qué tres razones existen para que las características funcionales no se correspondan con grupos filogenéticos independientes, definidos por las secuencias de los genes del RNA ribosómico 16S?

II • Diversidad de las bacterias fotótrofas

En esta sección trataremos de la diversidad de los microorganismos fotótrofos, que son los que obtienen la energía a partir de la luz. Veremos que la fototrofia está muy extendida en el dominio *Bacteria* y que se pueden definir claramente diversos tipos de fotótrofos a partir de sus características fisiológicas.

14.2 Visión general de las bacterias fotótrofas

La capacidad para obtener energía a partir de la luz se desarrolló muy al principio de la historia de la vida, cuando la Tierra era anóxica (↔ Sección 12.2). La fotosíntesis se originó en el dominio *Bacteria*, y los primeros organismos fotótrofos eran *fotótrofos anoxigénicos*, es decir, organismos que no generan oxígeno como producto de la fotosíntesis (↔ Sección 13.3). En lugar de agua, estos primeros fotótrofos utilizaban, probablemente, hidrógeno, hierro ferroso o sulfuro de hidrógeno como donadores de electrones para la fotosíntesis. La fotosíntesis anoxigénica está presente en cinco filos bacterianos: *Proteobacteria*, *Chlorobi*, *Chloroflexi*, *Firmicutes* y *Acidobacteria*. Por otra parte, la fotosíntesis oxigénica se conoce solamente en *Cyanobacteria* (Figura 14.1). Existe una gran diversidad metabólica entre los fotótrofos anoxigénicos, que se encuentran en una amplia gama de hábitats. Está claro que el intercambio horizontal de genes tuvo una influencia notable en la evolución de la fotosíntesis y en la distribución de los genes fotosintéticos por todo el árbol filogenético de las bacterias.

Las bacterias fotótrofas tienen diversas características en común. Todas ellas usan pigmentos del tipo de las clorofilas, así como pigmentos accesorios para captar la energía lumínica y transferirla a un centro de reacción unido a la membrana, donde esta energía se utiliza para impulsar las reacciones de transferencia de electrones que, finalmente, ocasionan la producción de ATP (↔ Secciones 13.1 a 13.4). Las bacterias fotótrofas anoxigénicas pueden tener un fotosistema de tipo I o de tipo II. Los términos «tipo I» y «tipo II» se refieren a la estructura del centro de reacción de la fotosíntesis. Los fotosistemas de tipo I son los más parecidos al fotosistema I de los fotótrofos oxigénicos, mientras que los de tipo II se parecen más al fotosistema II de estos organismos. Ambos tipos de fotosistema están presentes en las cianobacterias (↔ Sección 13.4), pero en los fotótrofos anóxigénicos solo está presente un tipo o el otro. En algunos casos, los pigmentos fotosintéticos se encuentran en la membrana citoplasmática, pero a menudo están en sistemas de membranas fotosintéticas intracelulares que se forman a partir de invaginaciones de la membrana citoplasmática. Estas membranas internas permiten a las bacterias fotótrofas aumentar la cantidad de pigmentos que contienen y, así, aprovechar mejor la luz de baja intensidad.

Muchas bacterias fotótrofas acoplan la energía lumínica a la fijación de carbono mediante una serie de mecanismos

diferentes (↪ Sección 13.5), pero no todos los fotótrofos fijan CO_2; algunos prefieren o necesitan fuentes orgánicas de carbono para su crecimiento. Veremos que muchas de las características de las bacterias fotótrofas, incluidos sus sistemas de membranas y sus pigmentos fotosintéticos, se originaron como resultado de la adaptación al nicho en ambientes luminosos.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué forma de fotosíntesis fue probablemente la primera en aparecer sobre la Tierra?

14.3 Cianobacterias

Géneros principales: *Prochlorococcus, Crocosphaera, Synechococcus, Trichodesmium, Oscillatoria, Anabaena*

Las **cianobacterias** son un grupo grande y heterogéneo, desde el punto de vista morfológico y ecológico, de bacterias fotótrofas oxigénicas. Como vimos en la Sección 12.2, fueron los primeros organismos fotótrofos de la Tierra en generar oxígeno, y durante miles de millones de años convirtieron la atmósfera anóxica original en la atmósfera oxigenada que conocemos en la actualidad.

Filogenia y clasificación de las cianobacterias

La diversidad morfológica de las cianobacterias es impresionante (**Figura 14.2**). Se conocen tanto formas unicelulares como filamentosas, y dentro de esos tipos morfológicos existe una variación considerable. El tamaño de las células de las cianobacterias puede ir de los 0,5 µm hasta los 100 µm de diámetro. Las cianobacterias se pueden dividir en cinco grupos morfológicos: (1) *Chroococcales*, organismos unicelulares que se reproducen por fisión binaria (Figura 14.2*a*); (2) *Pleurocapsales*, unicelulares, se reproducen por fisión múltiple (en colonias) (Figura 14.2*b*); (3) *Oscillatoriales*, formas filamentosas que carecen de heterocistos (Figura 14.2*c*); (4) *Nostocales*, formas filamentosas que se dividen a lo largo de un solo eje y son capaces de llevar a cabo diferenciación celular (Figura 14.2*d*); y 5) *Stigonematales*, morfológicamente similares a *Nostocales* excepto en que las células se dividen en varios planos y forman filamentos ramificados (Figura 14.2*e*). Por último, los **prolorófitos** son un linaje muy especial de cianobacterias unicelulares, que primero se consideraron independientes pero ahora se clasifican dentro de los *Chroococcales*. En la **Tabla 14.1** se enumeran algunos géneros importantes actualmente reconocidos dentro de cada grupo.

Algunas de las grandes clasificaciones morfológicas de las cianobacterias corresponden a grupos filogenéticos coherentes, pero otras no (**Figura 14.3**). Las especies de *Pleurocapsales* forman un grupo coherente dentro de las cianobacterias, lo que indica que la reproducción por fisión múltiple surgió una sola vez en la historia evolutiva de las cianobacterias (Figura 14.3). Del mismo modo, las especies de *Nostocales* y *Stigonematales* tienen un antepasado común y forman un grupo filogenético coherente que señala un solo origen de diferenciación celular dentro de las cianobacterias (Figura 14.3). Todos los *Stigonematales* comparten un antepasado con el clado compuesto por *Nostocales* y *Stigonematales*, lo que indica que la capacidad para formar filamentos ramificados surgió solamente una vez en el linaje de las cianobacterias capaces de realizar diferenciación celular (Figura 14.3). En cambio, las cianobacterias unicelulares

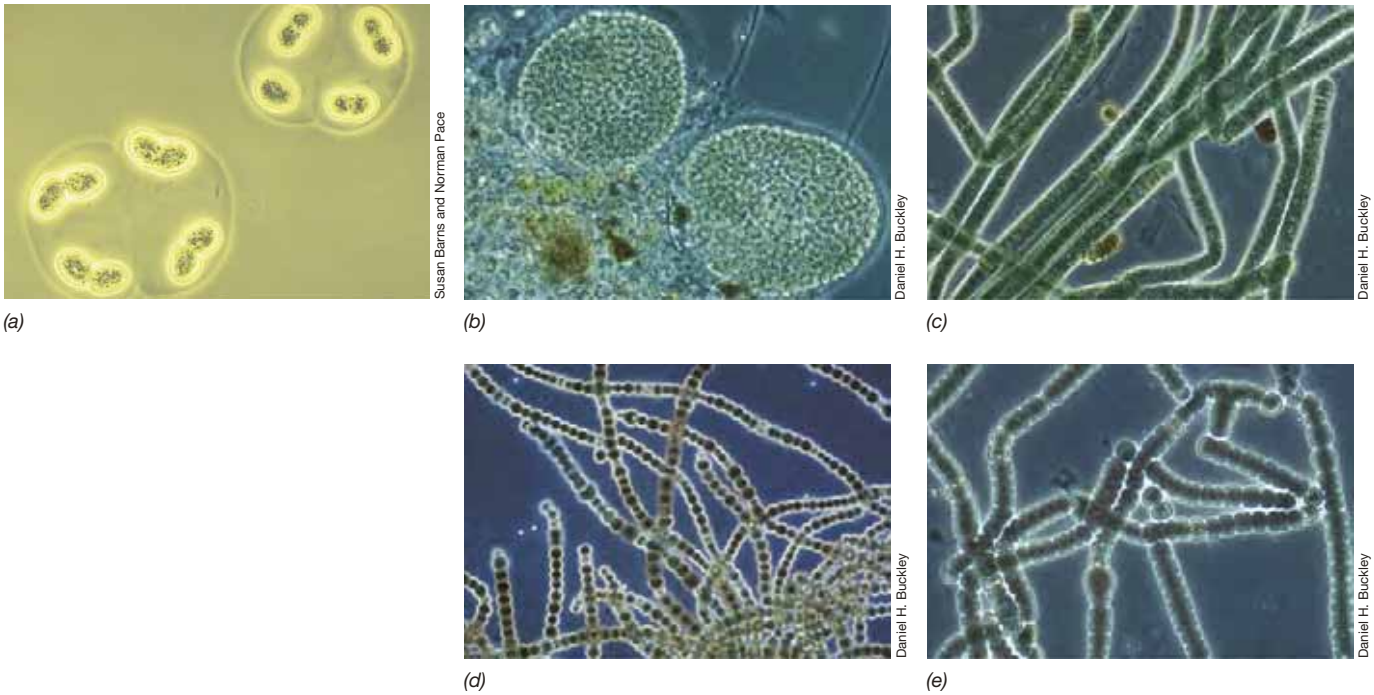


Figura 14.2 Cianobacterias: los cinco tipos morfológicos principales de cianobacterias. *(a)* Unicelular, *Gloeothece*; cada célula tiene un diámetro de entre 5 y 6 µm; *(b)* colonial, *Pleurocapsa*; estas estructuras contienen cientos de células y su diámetro mide más de 50 µm; *(c)* filamentosa, *Lyngbya*; cada célula mide unos 10 µm de ancho; *(d)* filamentosa con heterocistos, *Nodularia*; cada célula mide unos 10 µm de ancho; *(e)* filamentosa ramificada, *Fischerella*; cada célula tiene unos 10 µm de ancho. Obsérvese la relación entre la diversidad morfológica y la filogenética en la Figura 14.3.

Tabla 14.1 Géneros y grupos de cianobacterias

Grupo	*Géneros*
Grupo I, *Chroococcales.* Unicelular o agregados celulares	*Gloeothece* (Figura 14.2*a*), *Gloeobacter*, *Synechococcus*, *Cyanothece*, *Gloeocapsa*, *Synechocystis*, *Chamaesiphon*, *Merismopedia*, *Crocosphaera* (Figura 14.7*a*), *Prochlorococcus*, *Prochloron*
Grupo II, *Pleurocapsales.* Se reproducen mediante la formación de pequeñas células esféricas llamadas beocitos, producidas mediante fisión múltiple	*Pleurocapsa* (Figura 14.2*b*), *Dermocarpa*, *Xenococcus*, *Dermocarpella*, *Myxosarcina*, *Chroococcidiopsis*
Grupo III, *Oscillatoriales.* Células filamentosas indiferenciadas que se dividen por fisión binaria en un solo plano	*Lyngbya*, (Figura 14.2*c*), *Spirulina* (Figura 14.5), *Arthrospira*, *Oscillatoria* (Figura 14.6*a-b*), *Microcoleus*, *Pseudanabaena*, *Trichodesmium* (Figura 14.7*b*)
Grupo IV, *Nostocales.* Células filamentosas que producen heterocistos	*Nodularia* (Figura 14.2*d*), *Nostoc*, *Calothrix* (Figura 14.8*a-b*), *Anabaena* (Figura 14.6*c*), *Cylindrospermum*, *Scytonema*, *Richelia* (Figura 14.7*c*)
Grupo V, *Stigonematales.* Células que se dividen para formar ramas	*Fischerella* (Figuras 14.2*e*, 14.8*c-d*), *Stigonema*, *Chlorogloeopsis*, *Hapalosiphon*

y filamentosas simples (*Chroococcales* y *Oscillatoriales*, respectivamente) están dispersas en la filogenia cianobacteriana, y estos grupos morfológicos no representan linajes evolutivos coherentes (Figura 14.3).

Fisiología y membranas fotosintéticas

Las cianobacterias son fotótrofos oxigénicos, de modo que tienen ambos fotosistemas, el de tipo I y el de tipo II. Todas las especies pueden fijar CO_2 por el ciclo de Calvin, muchas pueden fijar nitrógeno y la mayoría sintetiza sus propias vitaminas. Las células captan la energía de la luz y fijan el CO_2 durante el día. Durante la noche, generan energía por fermentación o respiración aerobia de productos de almacenamiento de carbono como el glucógeno. Aunque el CO_2 es la fuente de carbono predominante para la mayoría de las especies, algunas cianobacterias pueden asimilar compuestos orgánicos sencillos como glucosa y acetato en presencia de luz, mediante un proceso llamado *fotoheterotrofia*. Unas pocas cianobacterias, principalmente especies filamentosas, también pueden crecer en oscuridad con glucosa o sacarosa, utilizando el azúcar como fuente tanto de carbono como de energía. Por último, cuando la concentración de sulfuro es alta, algunas cianobacterias pueden cambiar de fotosíntesis oxigénica a anoxigénica y usar el sulfuro de hidrógeno en lugar del agua como donador de electrones para la fotosíntesis (↻ Figura 13.15).

Las cianobacterias tienen sistemas membranosos especializados, llamados *tilacoides*, que aumentan la capacidad de las células para captar la energía lumínica (↻ Figura 13.10). La pared celular de las cianobacterias contiene peptidoglicano y su estructura es semejante a la de las bacterias gramnegativas. La fotosíntesis tiene lugar en las membranas de los tilacoides, un sistema complejo de membranas fotosintéticas, con varias capas, que contiene fotopigmentos y proteínas que intervienen en la fotosíntesis (↻ Secciones 13.1 y 13.2). En la mayoría de las cianobacterias unicelulares, las membranas de los tilacoides están dispuestas en círculos concéntricos regulares perimetrales (**Figura 14.4**). Las cianobacterias producen clorofila *a*, y la mayoría tienen también unos pigmentos característicos llamados **ficobilinas** (↻ Figura 13.10), que actúan como pigmentos

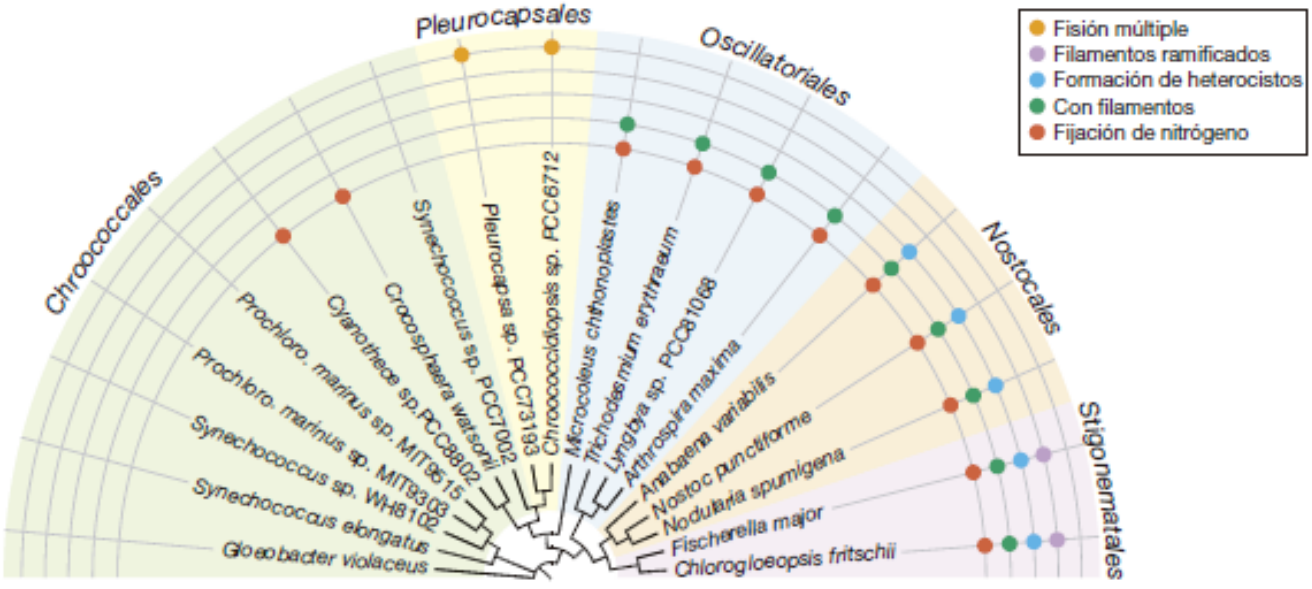


Figura 14.3 **Características que proporcionan información taxonómica cartografiadas en la filogenia de las cianobacterias.** El dendrograma presenta las relaciones filogenéticas que se deducen del análisis de familias conservadas de proteínas conservadas en los genomas cianobacterianos. Los círculos de colores se utilizan para indicar las características específicas que se indican en la clave de colores. El sombreado de colores indica agrupaciones taxonómicas. «*Prochloro*» se utiliza para indicar *Prochlorococcus*, que es un grupo diferenciado de las *Chroococcales*. Obsérvese que las *Chroococcales* y las *Oscillatoriales* no son grupos monofiléticos en origen, lo que significa que estas características han surgido de manera independiente en varias ocasiones en la filogenia.

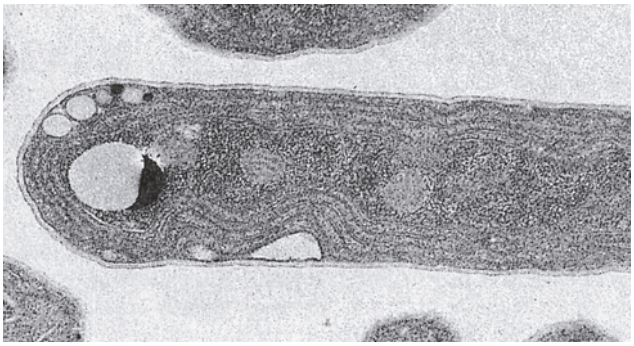

M. R. Edwards

Figura 14.4 Tilacoides en las cianobacterias. Micrografía electrónica de una sección fina de la cianobacteria *Synechococcus lividus*. Cada célula tiene un diámetro aproximado de 5 µm. Obsérvese las membranas de los tilacoides, en disposición paralela a la pared celular.

accesorios en la fotosíntesis. Una clase de ficobilinas, las *ficocianinas*, son azules y junto con la clorofila *a*, verde, son las responsables del color azul verdoso de la mayoría de las cianobacterias. Algunas cianobacterias producen *ficoeritrina*, una ficobilina roja, y estas especies son rojas o marrones. Los fotopigmentos son fluorescentes y emiten luz cuando se visualizan al microscopio de fluorescencia (**Figura 14.5**). En las cianobacterias, los proclorófitos, como *Prochlorococcus* y *Prochloron*, presentan la singularidad de que todos los miembros de este grupo tienen clorofila *a* y *b* pero no ficobilinas.

Motilidad y estructuras celulares

Las cianobacterias poseen diversos mecanismos de motilidad. Muchas de ellas se desplazan por deslizamiento (↻ Sección 2.18), que se produce solamente cuando la célula o el filamento está en contacto con una superficie sólida o con otra célula o filamento. En algunas cianobacterias, el deslizamiento no es un simple movimiento traslacional, sino que va acompañado de rotaciones, inversiones y flexiones de los filamentos. La mayoría de las especies deslizantes presentan un movimiento direccional hacia la luz (fototaxia), y también puede producirse quimiotaxia (↻ Sección 2.19). *Synechococcus* presenta una curiosa forma de motilidad natatoria sin flagelos ni ningún otro orgánulo extracelular. La superficie de *Synechococcus* tiene unas proteínas especializadas que aportan propulsión directa a través de un mecanismo todavía por identificar. También se encuentran vesículas de gas (↻ Sección 2.15) en diversas cianobacterias acuáticas, y son importantes para situar las células en la columna de agua. Su función es regular la flotabilidad, de manera que las células puedan permanecer en una posición en la columna de agua en la que la intensidad de luz sea óptima para la fotosíntesis.

Las cianobacterias son capaces de formar una variedad de estructuras asociadas con el almacenamiento de energía, la reproducción y la supervivencia. Muchas cianobacterias producen grandes cubiertas mucilaginosas, o vainas, que aúnan grupos de células o filamentos (Figura 14.2*a*). Algunas cianobacterias filamentosas pueden formar *hormogonios* (**Figura 14.6**),

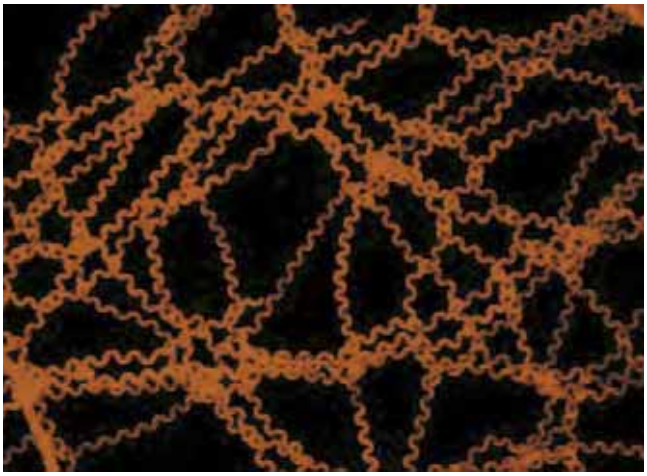

Daniel H. Buckley

Figura 14.5 Fluorescencia de la ficocianina en las cianobacterias. Micrografía de fluorescencia de *Spirulina*. Los filamentos están formados por cadenas de células helicoidales; cada célula mide aproximadamente 5 µm de ancho.

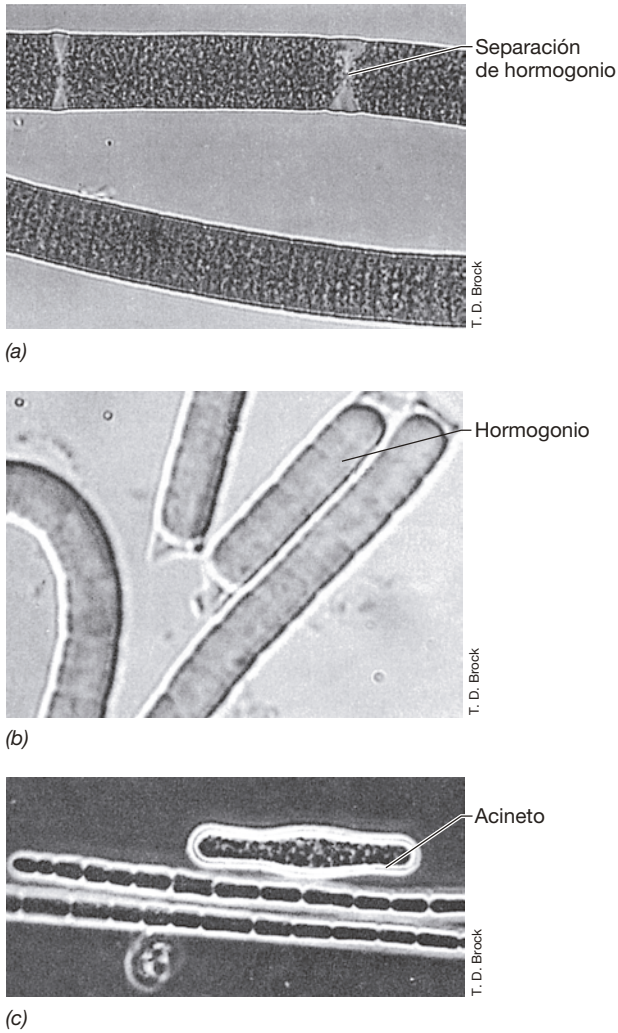


Figura 14.6 Diferenciación estructural en las cianobacterias filamentosas. *(a)* Etapa inicial de la formación de un hormogonio en *Oscillatoria*. Obsérvese los espacios vacíos donde el hormogonio se separa del filamento. *(b)* Hormogonio de una especie más pequeña de *Oscillatoria*. Obsérvese que las células de ambos extremos son redondeadas. Las células tienen unos 10 µm de ancho. Microscopía de contraste por interferencia diferencial. *(c)* Acineto (espora latente) de *Anabaena* en una micrografía de contraste de fases; las células tienen unos 5 µm de ancho.

filamentos cortos y móviles que son fragmentos de filamentos más largos y facilitan la dispersión en momentos de estrés. Algunas especies también forman estructuras de reposo llamadas *acinetos* (Figura 14.6*c*) que protegen al organismo durante períodos de oscuridad, desecación o frío. Los acinetos son células con las paredes celulares engrosadas. Cuando las condiciones mejoran, los acinetos germinan rompiendo sus paredes externas y empiezan a desarrollar un nuevo filamento vegetativo. Muchas cianobacterias también forman una estructura llamada *cianoficina*, que es un copolímero de ácido aspártico y arginina que se utiliza como producto de almacenamiento de nitrógeno; cuando falta nitrógeno en el ambiente, la cianoficina se degrada y se utiliza como fuente celular de nitrógeno. Muchas especies de *Nostocales* y *Stigonematales* también pueden formar heterocistos, como veremos a continuación.

Heterocistos y fijación de nitrógeno

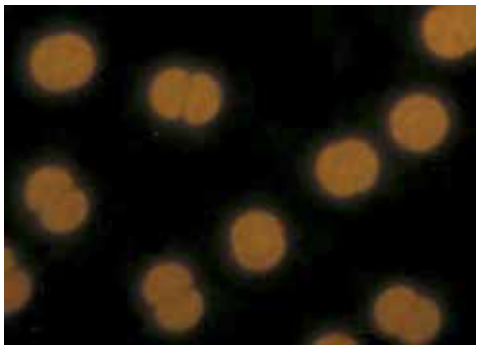
Muchas cianobacterias son capaces de fijar nitrógeno (Figura 14.3). No obstante, la enzima nitrogenasa es inhibida por el oxígeno, de modo que la fijación de nitrógeno no es compatible con la fotosíntesis oxigénica (↻ Sección 3.17). Las cianobacterias han desarrollado diversos mecanismos reguladores para separar la actividad de la nitrogenasa de la fotosíntesis (↻ Sección 7.13). Por ejemplo, muchas cianobacterias unicelulares, como *Cyanothece* y *Crocosphaera* (**Figura 14.7*a***), fijan nitrógeno solamente por la noche, cuando la fotosíntesis no tiene lugar. En cambio, la cianobacteria filamentosa *Trichodesmium* (Figura 14.7*b*) fija el nitrógeno solo durante el día a través de un mecanismo que todavía no se conoce bien pero parece necesitar la supresión transitoria de la actividad fotosintética de los filamentos. Por último, muchas cianobacterias filamentosas de las *Nostocales* y las *Stigonematales* facilitan la fijación del nitrógeno formando células especializadas llamadas *heterocistos*, bien en los extremos de los filamentos (**Figura 14.8*a, b***) bien a lo largo de ellos (Figura 14.8*c, d*).

Los heterocistos surgen de la diferenciación de las células vegetativas, y en ellos se produce la fijación de nitrógeno en las cianobacterias heterocísticas. Están rodeados de una gruesa pared celular que impide la difusión del oxígeno hacia el interior de la célula y permite la actividad de la nitrogenasa en un ambiente anóxico. Los heterocistos carecen de fotosistema II (Figura 14.8), el fotosistema generador de oxígeno que produce poder reductor a partir del agua (↻ Sección 13.4). Sin fotosistema II, los heterocistos no pueden fijar CO_2, de modo que carecen del donador de electrones necesario (el piruvato) para fijar el nitrógeno. No obstante, tienen conexiones intercelulares con células vegetativas adyacentes que permiten el intercambio mutuo de materiales. El heterocisto importa el carbono fijado por las células vegetativas adyacentes y lo oxida para obtener los electrones necesarios para la fijación del nitrógeno. Los productos de la fotosíntesis se desplazan de las células vegetativas a los heterocistos, y el nitrógeno fijado va de los heterocistos a las células vegetativas (↻ Sección 7.13 y Figura 7.28).

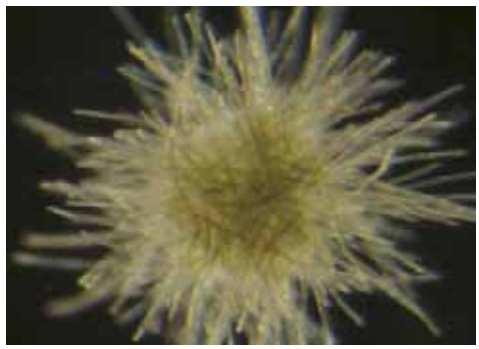
Ecología de las cianobacterias

Las cianobacterias tienen una importancia fundamental en la productividad de los mares. Las cianobacterias pequeñas unicelulares, como *Synechococcus* y *Prochlorococcus* (↻ Sección 19.10), son los fotótrofos más abundantes en el mar. En conjunto, estos organismos realizan el 80 % de la fotosíntesis marina y el 35 % de toda la actividad fotosintética en la Tierra.

La fijación de nitrógeno por parte de las cianobacterias representa la entrada dominante de nitrógeno nuevo en amplios segmentos de los océanos de la Tierra, especialmente en las aguas oligotróficas tropicales y subtropicales. La fijación de nitrógeno en el mar está dominada por dos grupos de cianobacterias, las especies unicelulares y la filamentosa *Trichodesmium*. *Crocosphaera* (Figura 14.7*a*) y otras especies próximas dominan la fijación de nitrógeno en el océano Pacífico y son muy abundantes en hábitats tropicales y subtropicales. *Trichodesmium* es el fijador de nitrógeno dominante en la zona norte del océano Atlántico y en partes del Pacífico en las que la concentración de hierro disuelto es elevada. Este organismo forma penachos de filamentos visibles a simple vista (Figura 14.7*b*) y usa las vesículas de gas para permanecer suspendido en la zona fótica, donde a menudo se pueden ver densas masas de células llamadas *floraciones*. Además, otros fijadores de nitrógeno marinos, entre ellos las especies de *Calothrix* y *Richelia*, forman asociaciones simbióticas con diatomeas (Figura 14.7*c*); estas asociaciones simbióticas se suelen ver en los mares tropicales y subtropicales. Por último, cianobacterias heterocísticas como *Nodularia* (Figura 14.2*d*) y


Rachel Foster

(a)


Angel White

(b)


Angel White

(c)

Figura 14.7 Cianobacterias marinas que fijan nitrógeno. *(a)* Células unicelulares similares a *Crocosphaera* en el proceso de división; las células tienen un diámetro aproximado de 5 µm. *(b)* «Penacho» colonial de *Trichodesmium*. El penacho está compuesto por muchos filamentos no ramificados e indiferenciados unidos, y tiene un diámetro aproximado de 100 µm. *(c)* Diatomea que contiene el simbionte cianobacteriano *Richelia* (escala micrométrica). El simbionte *Richelia* es una bacteria filamentada no ramificada, con un heterocisto terminal; las células miden unos 5 µm de ancho.

UNIDAD 3

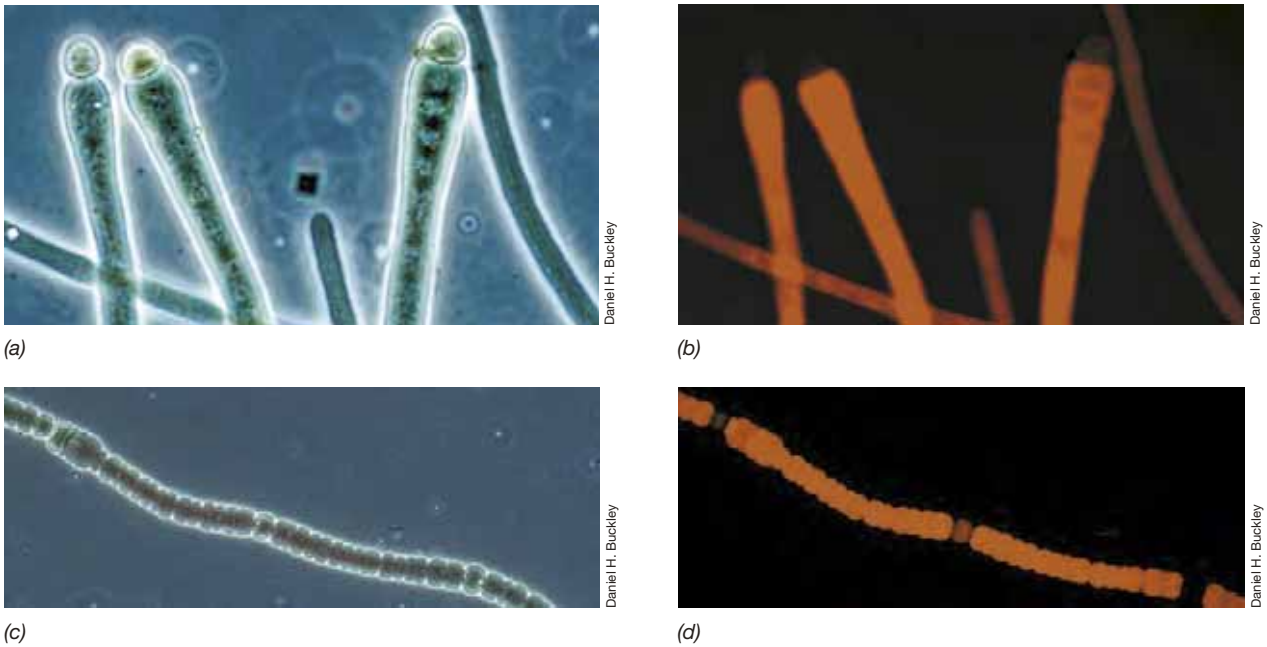


Figura 14.8 **Heterocistos.** La diferenciación de los heterocistos causa la pérdida de fotopigmentos y la incapacidad para llevar a cabo la fotosíntesis. *(a)* Micrografía de contraste de fases de *Calothrix* con heterocistos terminales. *(b)* Micrografía de fluorescencia de los mismos filamentos de *Calothrix*; las células tienen unos 10 µm de ancho. *(c)* Micrografía de contraste de fases de *Fischerella*. *(d)* Micrografía de fluorescencia de los mismos filamentos de *Fischerella*; las células tienen unos 10 µm de ancho. Obsérvese que la formación de heterocistos está regulada a nivel genético en la conocida cianobacteria *Anabaena*, en la Figura 7.28.

Anabaena pueden dominar en ocasiones la fijación de nitrógeno en las frías aguas del hemisferio norte, y a menudo pueden verse en el mar Báltico.

Las cianobacterias también están muy extendidas en ambientes terrestres y de agua dulce. En general, son más tolerantes que las algas (eucariotas) a los ambientes extremos, concretamente en cuanto a desecación. Las cianobacterias suelen ser los organismos fotótrofos dominantes, o los únicos, presentes en fuentes hidrotermales, lagos salinos, suelos de los desiértos y otros ambientes extremos. En algunos de ellos, se pueden formar tapetes de cianobacterias de grosor variable (↻ Figura 19.9). Los lagos de agua dulce, especialmente los ricos en nutrientes inorgánicos, desarrollan a menudo floraciones de cianobacterias, especialmente hacia final del verano, cuando las temperaturas son más altas (↻ Figuras 19.1 y 19.17). Unas pocas cianobacterias son simbiontes de hepáticas, helechos y cicas, y las hay que constituyen el componente fotosintético de los líquenes, una simbiosis entre un fotótrofo y un hongo (↻ Sección 22.1).

Varios productos metabólicos de las cianobacterias tienen una importancia práctica considerable. Algunas producen potentes neurotoxinas, de manera que cuando se desarrollan acumulaciones masivas de estos organismos se pueden formar floraciones tóxicas. Los animales que beban el agua que contiene estos productos tóxicos pueden incluso morir. Muchas cianobacterias también son responsables del olor y el sabor a tierra de algunas aguas dulces, y si se destinan dichas aguas al consumo humano pueden tener un aspecto desagradable o causar problemas de toxicidad. El principal compuesto que se produce es la geosmina, una sustancia que también producen muchos actinomicetos (↻ Sección 15.12).

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué propiedades caracterizan los cinco grandes grupos morfológicos de cianobacterias?
- ¿Qué es un heterocisto y qué función tiene?

14.4 Bacterias rojas del azufre

Géneros principales: *Chromatium, Ectothiorhodospira*

Las **bacterias rojas del azufre** son fotótrofos anoxigénicos que utilizan el sulfuro de hidrógeno (H_2S) como donador de electrones para la fotosíntesis. Constituyen un grupo filogenéticamente coherente dentro del orden *Chromatiales*, de las *Gammaproteobacteria*.

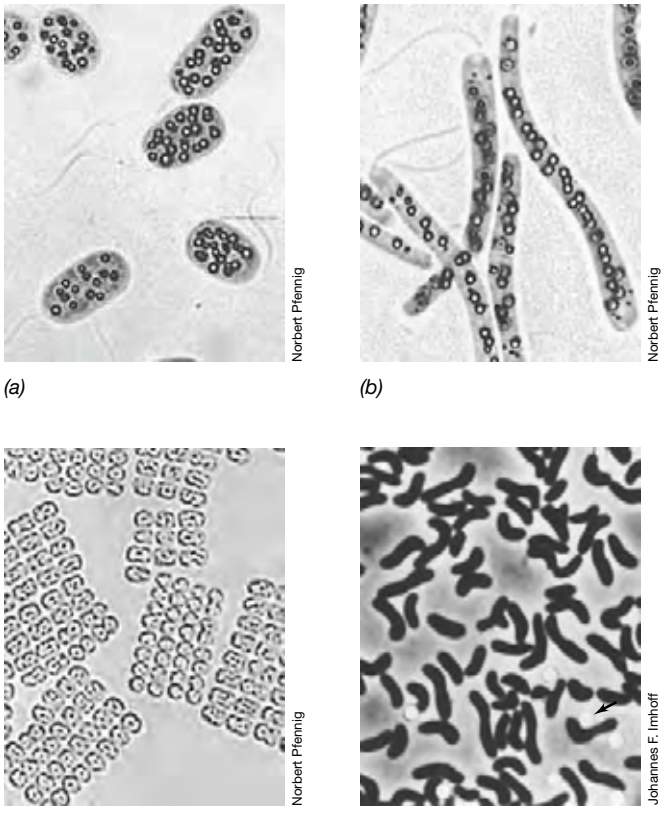
Las bacterias rojas del azufre se encuentran generalmente en zonas anóxicas iluminadas en las que hay sulfuro de hidrógeno. Estos hábitats se dan normalmente en lagos, sedimentos marinos y «manantiales de azufre», donde el sulfuro de hidrógeno producido geoquímica o biológicamente puede sustentar el crecimiento de estas bacterias (**Figura 14.9**). También se encuentran de manera habitual en los tapetes microbianos (↻ Sección 19.5) y en los sedimentos de las marismas. El característico color rojo de estas bacterias se debe a sus carotenoides, pigmentos accesorios que intervienen en la captación de la luz (↻ Sección 13.2). Las bacterias rojas del azufre utilizan un fotosistema de tipo II (↻ Figura 13.3), contienen bacterioclorofila *a* o *b* y fijan CO_2 mediante el ciclo de Calvin (↻ Sección 13.5).

Durante el crecimiento autótrofo de las bacterias rojas del azufre, el sulfuro de hidrógeno se oxida a azufre elemental (S^0), que se deposita como gránulos de azufre (**Figura 14.10**). Cuando el sulfuro es limitante, se utiliza el azufre como donador de



(a) (b) (c)

Figura 14.9 **Floraciones de bacterias rojas del azufre.** *(a) Lamprocystis roseopersicina*, en un manantial de aguas sulfuradas. Las bacterias crecen cerca del fondo del estanque formado por el manantial y flotan hacia la superficie (por acción de las vesículas de gas) cuando se agita el agua. El color verde procede de las células del alga eucariota *Spirogyra*. *(b)* Muestra de agua tomada a 7 m de profundidad en el lago Mahoney (Columbia Británica); el principal fotótrofo es *Amoebobacter purpureus*. *(c)* Micrografía de contraste de fases de capas de bacterias rojas del azufre procedentes de un pequeño lago estratificado en Michigan. entre las bacterias rojas del azufre hay especies de *Chromatium* (bacilos grandes) y *Thiocystis* (cocos pequeños).



(a) (b) (c) (d)

Figura 14.10 **Micrografías de campo claro y de contraste de fases de bacterias rojas del azufre.** *(a)* Las células de *Chromatium okenii* miden unos 5 µm de ancho. Obsérvese los glóbulos de azufre elemental en el interior de las células. *(b) Thiospirillum jenense*, bacteria espiral muy grande y con flagelación polar; las células tienen una longitud aproximada de 30 µm. Obsérvese los glóbulos de azufre. *(c) Thiopedia rosea*; las células tienen cerca de 1,5 µm de ancho. *(d)* Micrografía de contraste de fases de células de *Ectothiorhodospira mobilis*; las células tienen unos 0,8 µm de ancho. Obsérvese los glóbulos exteriores de azufre (flecha).

electrones para la fotosíntesis, y se oxida a sulfato (SO_4^{2-}). Muchas bacterias rojas del azufre también pueden usar otros compuestos reducidos de azufre como donadores de electrones fotosintéticos; por ejemplo, el tiosulfato ($S_2O_3^{2-}$) se utiliza habitualmente para los cultivos en laboratorio.

Las bacterias rojas del azufre forman dos familias: las *Chromatiaceae* y las *Echtothiorhodospiraceae*. Las especies de ambas familias se distinguen fácilmente por la ubicación de los gránulos de azufre y por sus membranas fotosintéticas. *Chromatiaceae*, que incluye los géneros *Chromatium* y *Thiocapsa*, almacenan gránulos de S^0 *en el interior* de las células (en el espacio periplasmático) y tienen sistemas de membranas fotosintéticas vesiculares intracelulares (**Figura 14.11**). Estos organismos son habituales en los lagos estratificados que contienen sulfuro y en los sedimentos anóxicos de las marismas. *Ectothiorhodospiraceae* tiene dos géneros principales, *Ectothiorhodospira* y *Halorhodospira*; las especies de esta familia oxidan el sulfuro de hidrógeno a azufre elemental y lo depositan *en el exterior* de la célula (Figura 14.10*d*), y tienen sistemas membranosos fotosintéticos intracelulares constituidos por lamelas (Figura 14.11). Estos géneros también son interesantes porque muchas especies son extremadamente halófilas (tienen querencia por la sal) o alcalófilas (les gustan los ambientes alcalinos) y están entre las bacterias más extremas de todas las conocidas en lo que respecta a estas características. Normalmente encontramos estos organismos en lagos salinos, en lagos alcalinos y en salinas, donde los abundantes niveles de sulfato favorecen el crecimiento de las bacterias reductoras de sulfato (↬ Sección 20.4 y Sección 14.9), los organismos que generan sulfuro de hidrógeno.

Las bacterias rojas del azufre suelen estar presentes en gran densidad en lagos meromícticos (permanentemente estratificados). Los lagos meromícticos forman capas porque el agua es más densa (normalmente salina) en el fondo y menos densa (normalmente agua dulce) cerca de la superficie. Si hay suficiente sulfato para permitir su reducción, se produce sulfuro en los sedimentos y se va difundiendo hacia arriba en las aguas anóxicas del fondo. La presencia de sulfuro y luz en las capas

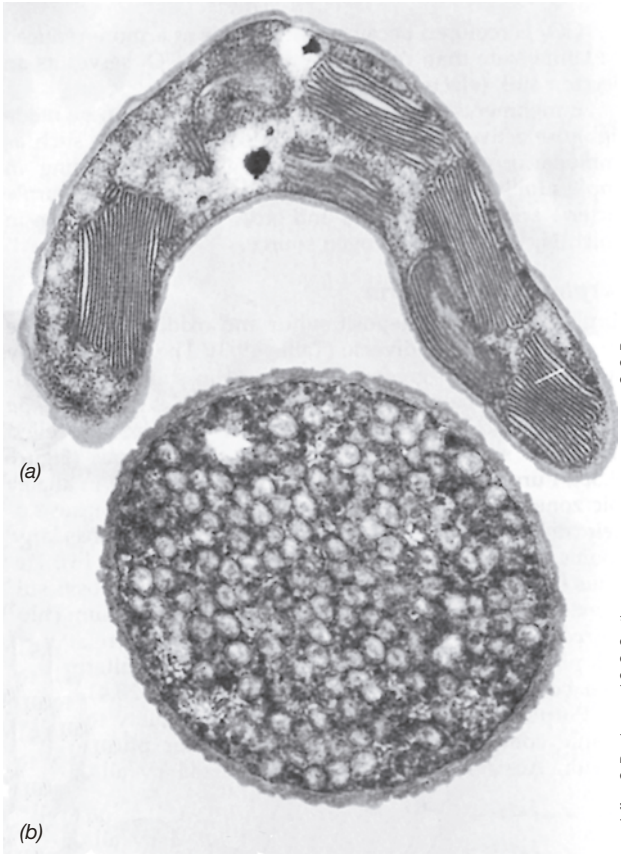


Figura 14.11 Sistemas de membranas de las bacterias rojas fotótrofas vistos al microscopio electrónico de transmisión. *(a) Ectothiorhodospira mobilis*; se aprecian las membranas fotosintéticas en láminas planas (lamelas). *(b) Allochromatium vinosum;* se ven las membranas como vesículas esféricas individuales.

anóxicas del lago permiten a las bacterias rojas del azufre formar densas masas celulares, normalmente en asociación con bacterias verdes fotótrofas (Figura 14.9*b*).

MINIRREVISIÓN

- ¿Cuál es el origen del color rojo que da nombre a las bacterias rojas del azufre?
- ¿Dónde esperaría encontrar bacterias rojas del azufre?

14.5 Bacterias rojas no del azufre y fotótrofas anoxigénicas aerobias

Bacterias rojas no del azufre

Géneros principales: *Rhodospirillum, Rhodoferax, Rhodobacter*

Las **bacterias rojas no del azufre** son los microorganismos metabólicamente más versátiles de cuantos se conocen. A pesar de su nombre, no siempre son rojas; pueden sintetizar una serie de carotenoides (↻ Sección 13.2) que les aportan una variedad espectacular de colores (**Figura 14.12**). Estos pigmentos son



Figura 14.12 Fotografía de cultivos líquidos de bacterias rojas fotótrofas en la que se aprecia el color de las especies con diversos pigmentos carotenoides. El cultivo azul es una cepa mutante sin carotenoides de *Rhodospirillum rubrum* que demuestra que la bacterioclorofila *a* es en realidad azul. La primera botella de la derecha (*Rhodobacter sphaeroides* cepa G) carece de uno de los carotenoides del tipo salvaje, y por tanto es más verde.

los que dan a las bacterias rojas su color, normalmente púrpura, rojo o naranja. Las bacterias rojas no del azufre son normalmente fotoheterótrofas (la luz es su fuente de energía y los compuestos orgánicos su fuente de carbono), y las especies son capaces de usar una gran variedad de fuentes de carbono y de donadores de electrones para la fotosíntesis, incluidos ácidos orgánicos, aminoácidos, alcoholes, azúcares e incluso compuestos aromáticos como el benzoato o el tolueno. Al igual que las bacterias rojas del azufre, las bacterias rojas no del azufre utilizan un fotosistema de tipo II, y contienen bacterioclorofila *a* o *b*. Las bacterias rojas no del azufre son morfológica y filogenéticamente diversas (**Figura 14.13**) y están distribuidas entre las *Alphaproteobacteria* (p. ej., *Rhodospirillum*, *Rhodobacter*, *Rhodopseudomonas*) y las *Betaproteobacteria* (p. ej., *Rubrivivax*, *Rhodoferax*).

Las bacterias rojas no del azufre cuentan con métodos metabólicos diversos de fijación de energía. Por ejemplo, algunas especies pueden crecer fotoautotróficamente usando hidrógeno, niveles bajos de sulfuro de hidrógeno o incluso hierro ferroso (Fe^{2+}) como donadores de electrones para la fotosíntesis, y realizando la fijación de CO_2 por el ciclo de Calvin. La mayoría de las especies también pueden crecer en la oscuridad mediante respiración aerobia de compuestos orgánicos o incluso algunos inorgánicos; la síntesis de la maquinaria fotosintética suele estar inhibida por la presencia de oxígeno. Por último, algunas especies también pueden crecer por fermentación o por respiración anaerobia usando diversos donadores y aceptores de electrones.

El cultivo de enriquecimiento y el aislamiento de las bacterias rojas no del azufre es fácil con un medio de sales minerales suplementado con un ácido orgánico como fuente de carbono. Estos medios, inoculados con una muestra de lodo, agua lacustre o una muestra de aguas residuales e incubados anaerobiamente en presencia de luz, seleccionan indefectiblemente bacterias rojas no del azufre. Los cultivos de enriquecimiento pueden ser incluso más selectivos si se omiten del medio fuentes de nitrógeno fijado (por ejemplo amoniaco) o fuentes de

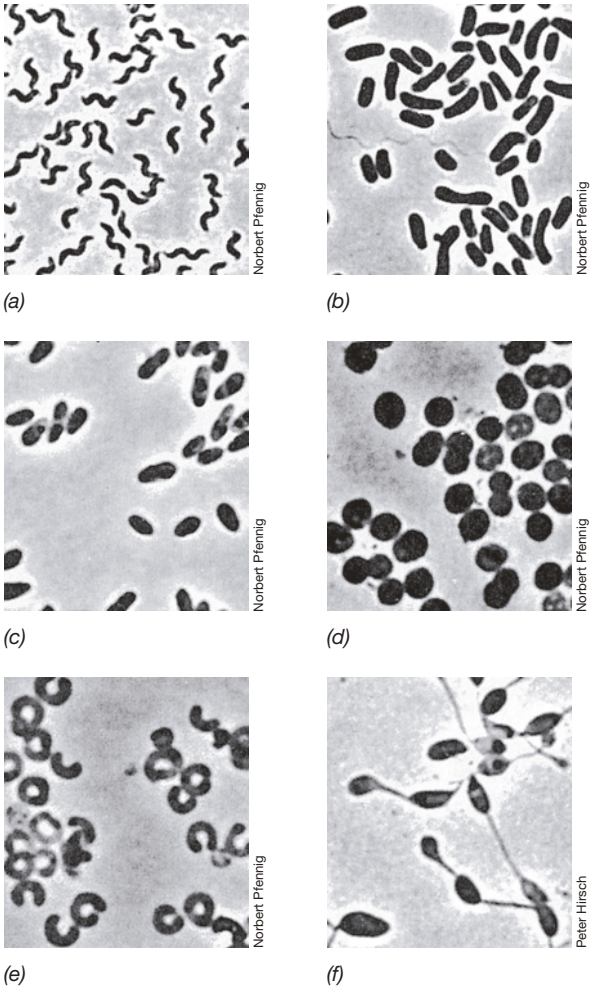


Figura 14.13 **Especies representativas de algunos géneros de bacterias rojas no del azufre.** *(a) Phaeospirillum fulvum*; las células tienen una longitud aproximada de 3 µm. *(b) Rhodoblastus acidophilus*; las células tienen una longitud de unos 4 µm. *(c) Rhodobacter sphaeroides*; las células miden cerca de 1,5 µm de ancho. *(d) Rhodopila globiformis*; las células miden aproximadamente 1,6 µm de ancho. *(e) Rhodocyclus purpureus*; las células tienen un diámetro de unos 0,7 µm. *(f) Rhodomicrobium vannielii*; las células miden aproximadamente 1,2 µm de ancho.

nitrógeno orgánico (como extracto de levadura o peptona) y se suministra una atmósfera gaseosa de N_2. Prácticamente todas las bacterias rojas no del azufre pueden fijar el N_2 y crecer muy bien en estas condiciones dejando atrás rápidamente al resto de bacterias.

Fotótrofos aerobios anoxigénicos

Géneros principales: *Roseobacter, Erytrhobacter*

Los **fotótrofos aerobios anoxigénicos** son heterótrofos aerobios estrictos que usan la luz como fuente de energía complementaria para el crecimiento. Al igual que las bacterias rojas no del azufre, los fotótrofos aerobios anoxigénicos son variados filogenéticamente y forman parte de las clases *Alphaproteobacteria* y *Betaproteobacteria*. La principal diferencia fisiológica con las bacterias rojas no del azufre es que los fotótrofos aerobios anoxigénicos son heterótrofos estrictos y utilizan la fotosíntesis anoxigénica solo en condiciones óxicas como fuente complementaria de energía. Los fotótrofos aerobios anoxigénicos poseen bacterioclorofila *a* y un fotosistema de tipo II, pero no pueden fijar CO_2 y dependen, por tanto, del carbono orgánico para crecer. Diversos tipos de carotenoides dan su colorido amarillo, anaranjado o rosado a los cultivos.

Los fotótrofos aerobios anoxigénicos solo pueden llevar a cabo la fotosíntesis cuando crecen en un ciclo día/noche. En estas condiciones, la bacterioclorofila *a* se sintetiza únicamente en la oscuridad, y después se utiliza para fijar la energía mediante fotofosforilación cuando vuelve a haber luz. Los fotótrofos aerobios anoxigénicos pueden representar hasta una cuarta parte de la comunidad microbiana que habita las aguas marinas costeras, y el 5 % de toda la fotosíntesis de estos sistemas (↻ Sección 19.10). Entre los géneros habituales encontrados en los hábitats marinos costeros tenemos *Roseobacter* y *Erythrobacter*.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué semejanzas encontramos entre las bacterias rojas no del azufre y los fotótrofos aerobios anoxigénicos? ¿En qué se diferencian estos dos grupos?
- ¿Dónde esperaría encontrar fotótrofos aerobios anoxigénicos?

14.6 Bacterias verdes del azufre

Géneros principales: *Chlorobium, Chlorobaculum, «Chlorochromatium»*

Las **bacterias verdes del azufre** son un grupo filogenéticamente coherente de fotótrofos anoxigénicos, que constituyen el filo *Chlorobi*. Tienen poca versatilidad metabólica y son típicamente bacterias sin motilidad y fotótrofas anaerobias anoxigénicas estrictas. Además, el grupo está morfológicamente limitado a bacilos largos y cortos (**Figura 14.14**).

Al igual que las bacterias rojas del azufre, las bacterias verdes del azufre oxidan el sulfuro de hidrógeno (H_2S) como donador de electrones para el crecimiento autótrofo para dar primero azufre (S^0) y luego sulfato (SO_4^{2-}). Pero a diferencia de la mayoría de las bacterias rojas del azufre, el azufre producido por las bacterias verdes del azufre solamente se deposita en el exterior de las células (Figura 14.14*a*). La autotrofia no se basa en las reacciones del ciclo de Calvin como en el caso de las bacterias

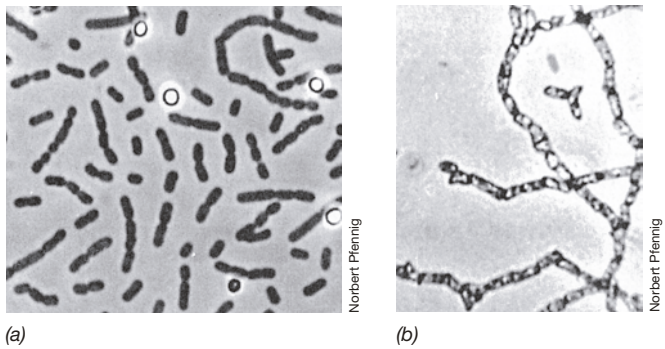


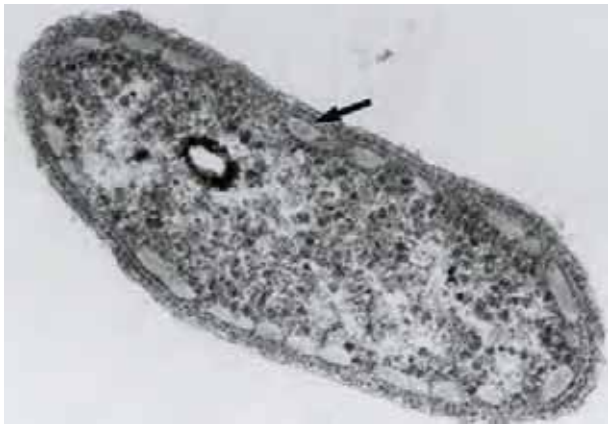
Figura 14.14 **Bacterias verdes del azufre fotótrofas.** *(a) Chlorobium limicola*; las células miden unos 0,8 µm de ancho. Obsérvese los gránulos esféricos de azufre extracelulares. *(b) Chlorobium clathratiforme*, bacteria que forma una red tridimensional; las células miden unos 0,8 µm de ancho.

rojas, sino en la inversión de las etapas del ciclo del ácido cítrico (↔ Sección 13.5 y Figura 13.19*a*), una forma única de autotrofia en las bacterias fotótrofas.

Pigmentos y ecología

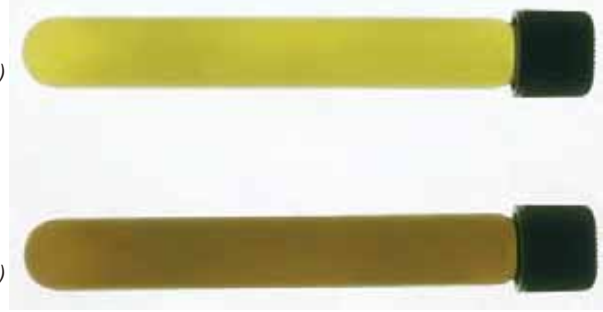
Las bacterias verdes del azufre poseen bacterioclorofila *c*, *d* o *e*, albergada en unas estructuras singulares llamadas **clorosomas** (Figura 14.15). En el centro de reacción y en la proteína FMO, que conecta el clorosoma con la membrana citoplasmática, existe una pequeña cantidad de bacterioclorofila *a* (↔ Figura 13.7*b*). Los clorosomas son cuerpos alargados llenos de bacterioclorofilas, unidos por una fina membrana no unitaria y pegados a la membrana citoplasmática en la periferia de la célula (Figura 14.15 y ↔ Figura 13.7). Los clorosomas canalizan la energía hacia el fotosistema, lo cual conduce a la síntesis de ATP. A diferencia de los fotótrofos rojos anoxigénicos, las bacterias verdes del azufre tienen un fotosistema de tipo I. Se conocen especies de bacterias verdes del azufre que son verdes y otras marrones; estas últimas contienen bacterioclorofila *e* y carotenoides que vuelven de color marrón las densas suspensiones celulares (Figura 14.16).

Al igual que las bacterias rojas del azufre (Sección 14.4), las bacterias verdes del azufre viven en ambientes acuáticos anóxicos y sulfurosos. No obstante, el clorosoma es una estructura de captación de luz muy eficiente que les permite crecer a intensidades de luz mucho más bajas que las que necesitan otros fotótrofos. Además, las bacterias verdes del azufre suelen tolerar mejor el sulfuro de hidrógeno que otros fotótrofos anoxigénicos. Por consiguiente, se encuentran normalmente a mayor profundidad que cualquier otro microorganismo fotótrofo en lagos o tapetes microbianos, donde la intensidad lumínica es baja y la concentración de sulfuro de hidrógeno es alta. A modo de ejemplo, una especie de bacteria verde del azufre aislada de unas fumarolas hidrotermales oceánicas (↔ Sección 19.13) se encontró que crecía fototróficamente con la tenue luz de la radiación infrarroja emitida por las rocas calentadas por la actividad geotérmica. Una especie, *Chlorobaculum tepidum* (Figura 14.15) es termófila y forma densos tapetes microbianos en fuentes hidrotermales ricas en azufre. Además, crece rápidamente y se puede manipular genéticamente por conjugación y por transformación. A causa de estas características, *C. tepidum* se ha convertido en el organismo modelo para estudiar la biología molecular de las bacterias verdes del azufre.



F. Rudy Turner and Michael T. Madigan

Figura 14.15 ***Chlorobaculum tepidum*, bacteria verde del azufre termófila.** Micrografía electrónica de transmisión. Obsérvese los clorosomas (flecha) en la periferia de la célula. La célula mide unos 0,7 µm de ancho.



Deborah O. Jung

Figura 14.16 ***Chlorobia* verde y marrón.** Tubos de cultivo de *(a) Chlorobaculum tepidum* y *(b) C. phaeobacteroides*. Las células de *C. tepidum* contienen bacterioclorofila *c* y carotenoides verdes, y las células de *C. phaeobacteroides* poseen bacterioclorofila *e* e isorrenierateno, un carotenoide marrón.

Consorcios de bacterias verdes del azufre

Ciertas especies de bacterias verdes del azufre forman una asociación íntima de dos miembros llamada **consorcio**, con una bacteria quimioorganótrofa. En el consorcio se benefician ambos socios, de manera que es probable que en la naturaleza exista una variedad de consorcios con diferentes componentes fotótrofos y quimiótrofos. El componente fotótrofo, llamado *epibionte*, está físicamente unido a la célula central no fotótrofa (Figura 14.17) y se comunica con ella de diversas formas (↔ Sección 22.2).

El nombre «*Chlorochromatium aggregatum*» (no es un nombre formal, porque se trata de un cultivo mixto) se ha utilizado para describir un consorcio de color verde observado frecuentemente, y que tiene este color porque los epibiontes son bacterias verdes del azufre que poseen carotenoides de color verde (Figura 14.17*b*). Las pruebas de que los epibiontes son, efectivamente, bacterias verdes del azufre proceden de los análisis de pigmentos, de la presencia de clorosomas (Figura 14.17*d*) y de la tinción filogenética (Figura 14.17*c*). Un consorcio de estructura similar llamado «*Pelochromatium roseum*» es marrón porque sus epibiontes producen carotenoides de este color (↔ Figuras 22.3 y 22.4). Analizaremos la naturaleza simbiótica del consorcio *Chlorochromatium* con más detalle en la Sección 22.2.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué pigmentos están presentes en el clorosoma?
- ¿Qué pruebas existen de que los epibiontes de los consorcios bacterianos verdes son verdaderamente bacterias verdes del azufre?

14.7 Bacterias verdes no del azufre

Géneros principales: *Chloroflexus, Heliothrix, Roseiflexus*

Las **bacterias verdes no del azufre** son fotótrofos anoxigénicos del filo *Chloroflexi*. Este filo contiene distintos linajes, uno de los cuales, la clase *Chloroflexi*, comprende bacterias verdes no del

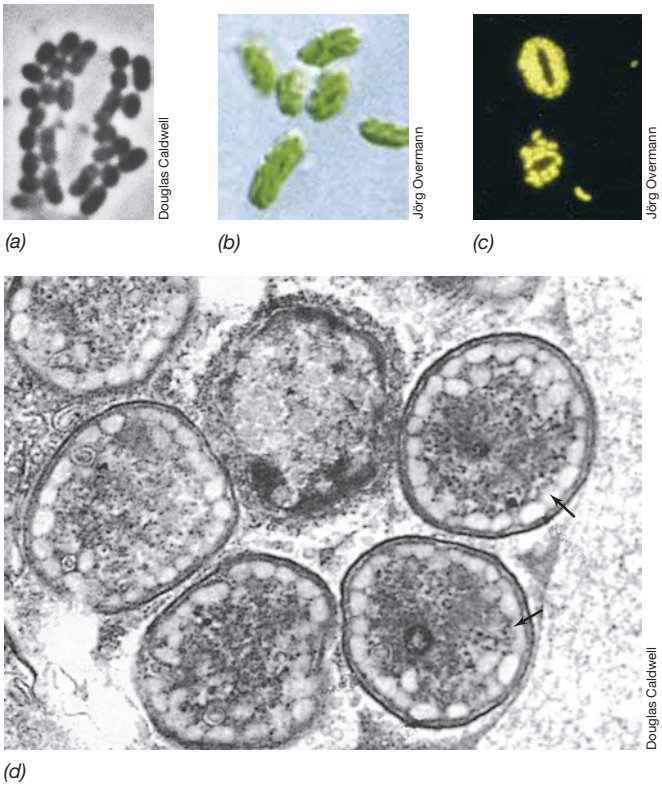


Figura 14.17 ***«Chlorochromatium aggregatum».*** Consorcios de bacterias verdes del azufre y un quimioorganótrofo. *(a)* En la micrografía de contraste de fases, el organismo central no fotótrofo presenta un color más claro que las bacterias fotótrofas pigmentadas. *(b)* Los carotenoides verdes aportan su color a los fotótrofos en una micrografía de contraste por interferencia diferencial. *(c)* Una micrografía de fluorescencia muestra las células teñidas con una sonda FISH filogenética específica para bacterias verdes del azufre. *(d)* Micrografía electrónica de transmisión de una sección transversal de un consorcio; obsérvese los clorosomas (flechas) en los epibiontes. El consocio entero tiene unos 3 µm de diámetro.

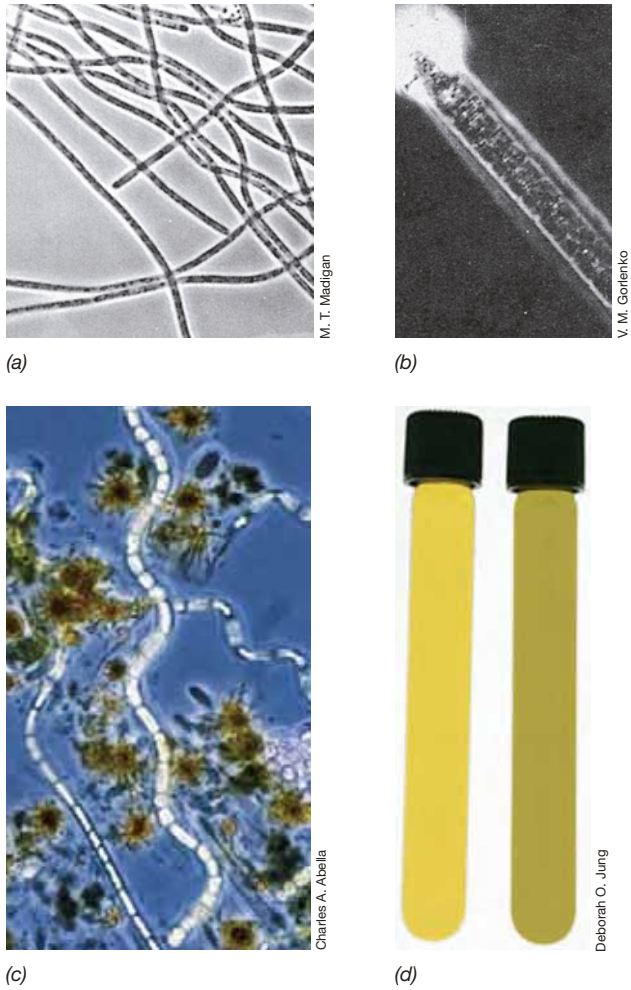


Figura 14.18 **Bacterias verdes no del azufre.** *(a)* Micrografía de contraste de fases de *Chloroflexus aurantiacus*, fotótrofo anoxigénico; cada célula tiene un diámetro aproximado de 1 µm. *(b)* Micrografía de contraste de fases de *Oscillochloris*, fotótrofo de gran tamaño; cada célula mide unos 5 µm de ancho. El material de alto contraste del extremo superior es un anclaje, que se utiliza para adherirse. *(c)* Micrografía de contraste de fases de los filamentos de una especie de *Chloronema*; las células son filamentos ondulantes de unos 2,5 µm de diámetro. *(d)* Tubos de cultivo de *C. aurantiacus* (derecha) y *Roseiflexus* (izquierda). *Roseiflexus* es amarillo porque carece de bacterioclorofila *c* y de clorosomas.

azufre; el resto del filo está formado por organismos metabólicamente diversos, quimioorganótrofos aerobios y anaerobios, así como los *Dehalococcoidetes*, un grupo de bacterias deshalogenadoras que usan compuestos orgánicos halogenados como aceptores de electrones en la respiración anaerobia (↻ Sección 13.21). El análisis de secuencias de RNA ribosómico 16S procedente de muestras ambientales (↻ Sección 18.5) indica que las especies del filo *Chloroflexi* están extendidas y que la mayoría de las especies del filo todavía están sin cultivar aisladamente; por tanto, la diversidad metabólica de este filo sigue estando poco caracterizada.

Todos los representantes cultivados de las bacterias verdes no del azufre son bacterias filamentosas que pueden desplazarse por deslizamiento. *Chloroflexus*, una de las bacterias verdes no del azufre mejor estudiadas, forma densos tapetes microbianos en fuentes hidrotermales neutras o alcalinas junto con cianobacterias termófilas (**Figura 14.18**; ↻ Figura 19.9*b*). Las bacterias verdes no del azufre crecen mejor como fotoheterótrofos usando fuentes de carbono sencillas como donadores de electrones para la fotosíntesis. No obstante, también crecen fotoautotróficamente usando hidrógeno molecular o sulfuro de hidrógeno como donadores en la fotosíntesis. El ciclo del hidroxipropionato, una ruta de incorporación de CO_2 exclusiva de unas pocas bacterias y arqueas, sustenta el crecimiento autotrófico (↻ Sección 13.5). La mayoría de las bacterias verdes no del azufre crecen también en la oscuridad mediante la respiración aerobia de una gran variedad de fuentes de carbono. Las caracerísticas fotosintéticas de las bacterias verdes no del azufre son un «híbrido» entre las de las bacterias verdes del azufre (Sección 14.6) y las de las bacterias rojas fotótrofas (Secciones 14.4 y 14.5). Las bacterias verdes no del azufre tienen centros de reacción con bacterioclorofila *a*, y clorosomas que poseen bacterioclorofila *c* (Figura 14.15), y de este modo son semejantes a las bacterias verdes del azufre. Sin embargo, a diferencia de las bacterias verdes del azufre, las verdes no del azufre usan un fotosistema de tipo II al igual que las bacterias rojas del azufre.

Otros *Chloroflexi*

Además de *Chloroflexus*, otras bacterias verdes no del azufre son el termófilo *Heliothrix* y los mesófilos de grandes células *Oscillochloris* (Figura 14.18*b*) y *Chloronema* (Figura 14.18*c*). Estos dos últimos forman células bastante grandes, de 2 µm a 5 µm de ancho y hasta varios cientos de micrómetros de largo (Figura 14.18*c*). Las especies de ambos géneros habitan en lagos de agua dulce con sulfuro de hidrógeno. *Roseiflexus* y *Heliothrix* se parecen a *Chloroflexus* en cuanto a su morfología filamentosa y su estilo de vida termófilo, pero se diferencian en una propiedad fotosintética fundamental: *Roseiflexus* y *Heliothrix* no tienen bacterioclorofila *c* ni clorosomas, de manera que se parecen más a las bacterias rojas fotótrofas (Secciones 14.4 y 14.5) que a *Chloroflexus*. Esto se puede apreciar en los cultivos de *Roseiflexus*, que son de color amarillo anaranjado en lugar de verde a causa de su profusión de pigmentos carotenoides y la ausencia de bacterioclorofila *c* (Figura 14.18*d*).

Thermomicrobium es un género quimiótrofo de *Chloroflexi* y un bacilo gramnegativo aerobio estricto que crece de manera óptima en medios complejos a 75 °C. Además de sus propiedades filogenéticas, *Thermomicrobium* también es interesante por sus lípidos de membrana (**Figura 14.19**). Recordemos que los lípidos de *Bacteria* y *Eukarya* contienen ácidos grasos esterificados a *glicerol* (↔ Sección 2.7). En cambio, los lípidos de *Thermomicrobium* están formados por *1,2-dialcohol* en lugar de glicerol, y no tienen enlaces éster *ni* éter (Figura 14.19). Además, las células de *Thermomicrobium* solo tienen pequeñas cantidades de peptidoglicano, y la pared celular está compuesta fundamentalmente de proteínas.

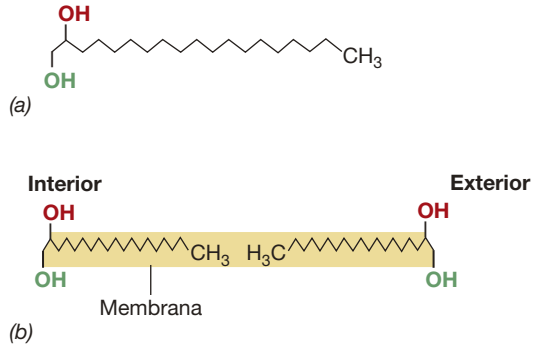


Figura 14.19 Los lípidos inusuales de *Thermomicrobium*. *(a)* Los lípidos de membrana de *Thermomicrobium roseum* contienen dioles de cadena larga como el que se muestra aquí (13-metil-1,2-nonadecanodiol). Obsérvese que a diferencia de los lípidos de otras bacterias o de arqueas, no hay cadenas laterales unidas por enlaces éster ni éter. *(b)* Para formar una bicapa lipídica, las moléculas de dialcohol se disponen encaradas por los grupos metilo, y los grupos —OH constituyen la superficie hidrófila interior y exterior. Unas pocas cadenas de dioles tienen ácidos grasos esterificados al grupo —OH secundario (que se muestra en rojo), mientras el grupo —OH primario (en verde) puede unirse a una molécula hidrófila como el fosfato.

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué se parecen *Chloroflexus* y *Roseiflexus* a *Chlorobium*? ¿Y a *Rhodobacter*?
- ¿Qué es exclusivo de *Thermomicrobium*?

14.8 Otras bacterias fotótrofas

Géneros principales: *Heliobacterium, Chloracidobacterium*

Heliobacterias

Las **heliobacterias** son un grupo filogenéticamente coherente de bacterias fotótrofas grampositivas que pertenecen al filo *Firmicutes*. Las heliobacterias son fotótrofos anoxigénicos, sintetizan un pigmento exclusivo, la bacterioclorofila *g* (↔ Figura 13.3) y usan un fotosistema de tipo I. Estos organismos crecen fotoheterotróficamente usando un espectro reducido de compuestos orgánicos, entre los que se encuentran el piruvato, el lactato, el acetato y el butirato, y el grupo comprende cinco géneros: *Heliobacterium*, *Heliophilum*, *Heliorestis*, *Heliomonas* y *Heliobacillus*. Todas las heliobacterias que se conocen forman bacilos o células filamentosas (**Figura 14.20**), si bien *Heliophilum* se diferencia de las otras porque sus células forman grupos (Figura 14.20*b*) que se mueven como una unidad.

Las heliobacterias son anaerobios estrictos, pero además de crecer fototróficamente, pueden hacerlo quimiotróficamente en la oscuridad por fermentación del piruvato (como muchos clostridios, parientes cercanos de las heliobacterias). Las heliobacterias producen endosporas, unas estructuras muy resistentes propias de determinadas bacterias grampositivas (↔ Sección 2.16). Al igual que las endosporas de las especies de *Bacillus* o de *Clostridium*, las endosporas de las heliobacterias (Figura 14.20*c*) contienen una gran concentración de calcio (Ca^{2+}) y la molécula

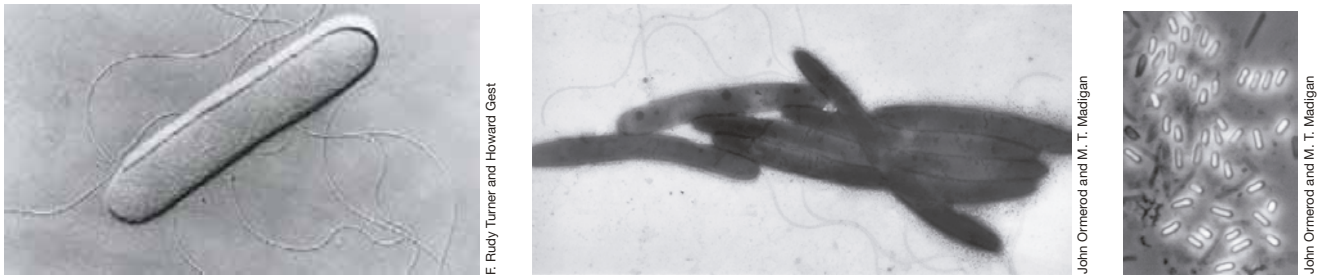


Figura 14.20 Células y endosporas de las heliobacterias. *(a)* Micrografía electrónica de *Heliobacillus mobilis*, especie flagelada perítrica. *(b)* Grupos de células de *Heliophilum fasciatum* al microscopio electrónico. *(c)* Micrografía de contraste de fases de endosporas de *Heliobacterium gestii*. La mayoría de las células de heliobacterias tienen un diámetro de entre 1 µm y 2 µm.

característica de las endosporas, el *ácido dipicolínico*. Las heliobacterias viven en el suelo, especialmente en arrozales, donde sus actividades de fijación de nitrógeno pueden beneficiar a la productividad del arroz. También se ha encontrado una gran diversidad de heliobacterias en ambientes muy alcalinos como los lagos salinos y los suelos alcalinos que los circundan.

Acidobacterias fotótrofas

Se ha descubierto un nuevo grupo de fotótrofos anoxigénicos que crece en tapetes microbianos fotosintéticos de una fuente hidrotermal en el parque nacional de Yellowstone, en los Estados Unidos. *Chloroacidobacterium thermophilum* es un fotótrofo anoxigénico tolerante al oxígeno y termófilo del filo *Acidobacteria* (↻ Sección 15.21). De modo similar a las bacterias verdes del azufre, *C. thermophilum* también produce bacterioclorofila *a* y *c*, esta última en clorosomas (**Figura 14.21**), y utiliza un fotosistema de tipo I. No obstante, a diferencia de las bacterias verdes del azufre, *C. thermophilum* también puede crecer de manera aerobia, como hacen los fotótrofos anoxigénicos aerobios (Sección 14.5). En cuanto al metabolismo del carbono, *C. thermophilum* es un fotoheterófrofo que utiliza ácidos grasos de cadena corta como donadores de electrones para la fotosíntesis, pero a diferencia de las bacterias verdes del azufre y de las verdes no del azufre, no puede crecer de manera autótrófica.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué tipos de fotótrofos anoxigénicos usan clorosomas?
- ¿Qué clase de bacterias fotótrofas producen esporas?

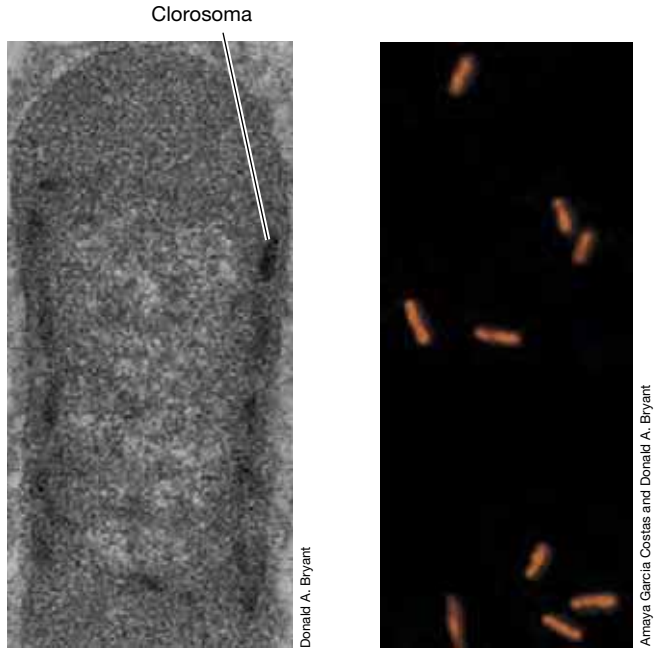


Figura 14.21 **Clorosomas de *Chloracidobacterium thermophilum*, un miembro fotótrofo del filum *Acidobacteria*.** *(a)* Micrografía electrónica de *C. thermophilum* donde se observan los clorosomas. *(b)* Micrografía de fluorescencia de *C. thermophilum*. El color rojo es la fluorescencia de la bacterioclorofila *c* presente en los clorosomas. Cada célula de *C. thermophilum* mide unos 0,8 µm de ancho.

UNIDAD 3

III • Diversidad bacteriana en el ciclo del azufre

El metabolismo del azufre podría haber impulsado las primeras formas de vida en nuestro planeta (↻ Sección 12.1), y el ciclo del azufre (↻ Sección 20.4) sigue posibilitando el crecimiento de una enorme variedad de microorganismos. En esta sección estudiaremos la diversidad de organismos capaces de realizar *metabolismo desasimilador de azufre*; es decir, organismos que obtienen la energía de la oxidación o la reducción de compuestos de azufre (↻ Secciones 13.8 y 13.18).

La notable diversidad de procariotas que llevan a cabo un metabolismo desasimilador de azufre se debe, en parte, a la diversidad química que presenta el azufre en la biosfera. El azufre tiene ocho estados de oxidación que van de su forma más oxidada, el sulfato (SO_4^{2-}, estado de oxidación +6) al tiosulfato ($S_2O_3^{2-}$, estado de oxidación +2), al azufre elemental (S^0, estado de oxidación 0) y, por último, al sulfuro de hidrógeno (H_2S, estado de oxidación −2), su forma más reducida. Además, los compuestos de azufre pueden adoptar diversas formas químicas como compuestos inorgánicos de azufre, compuestos organosulfurados o sulfuros metálicos.

En esta sección nos centraremos en la diversidad de los **reductores de sulfato desasimiladores**, los **reductores de azufre desasimiladores** y los **oxidadores de azufre desasimiladores**. Los fotótrofos anoxigénicos, como las bacterias rojas y verdes del azufre que hemos analizado en las Secciones 14.4 a 14.6, también son importantes enlaces al ciclo del azufre. No obstante, aquí nos limitaremos a los metabolismos quimiótrofos desasimiladores.

14.9 Bacterias desasimiladoras sulfatorreductoras

Géneros principales: *Desulfovibrio, Desulfobacter*

Las bacterias reductoras de sulfato (o sulfatorreductoras) obtienen su energía acoplando la oxidación de hidrógeno o compuestos orgánicos a la reducción de sulfato (SO_4^{2-}) (respiración anaerobia). Existen más de treinta géneros conocidos de reductores de sulfato repartidos en cinco filos de *Bacteria* y *Archaea* (**Figura 14.22**). La mayoría de los reductores de sulfato pertenecen a *Deltaproteobacteria*, pero también se encuentran algunos en *Firmicutes* (p. ej., *Desulfotomaculum* y *Desulfosporosinus*), en *Thermodesulfobacteria* (p. ej., *Thermodesulfobacterium*), y en *Nitrospira* (p. ej., *Thermodesulfovibrio*). La reducción de sulfato también se lleva a cabo en *Archaeoglobus*, un género del filo arqueano *Euryarchaeota*.

Fisiología de las bacterias reductoras de sulfato

Las bacterias reductoras de sulfato presentan diversidad morfológica y bioquímica. La bioquímica de la reducción de sulfato se trató en la Sección 13.18, de manera que aquí nos centraremos

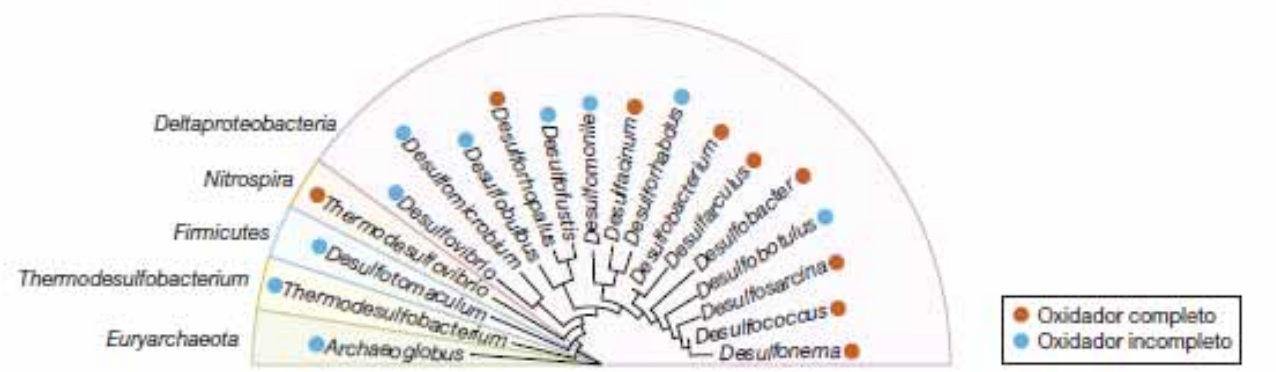


Figura 14.22 **Reductores de sulfato desasimiladores.** El dendrograma muestra las relaciones filogenéticas entre algunos géneros de reductores de sulfato según se deduce del análisis de las secuencias de los genes de RNA ribosómico 16S. El sombreado de color distingue los cinco filos principales que contienen géneros de reductores de sulfato. Los círculos coloreados indican si las especies son oxidadores completos, cuáles oxidan el acetato a CO_2 o si son oxidadores incompletos, que no pueden oxidar acetato. La fisiología de las bacterias reductoras de sulfato se trata en la Sección 13.18, y su papel en el ciclo del azufre en la Sección 20.4.

en las propiedades fisiológicas más generales de este grupo. Los reductores de sulfato son, generalmente, anaerobios estrictos, y por tanto para su cultivo se deben usar técnicas de anoxia estricta (**Figura 14.23*g***).

Los reductores de sulfato usan hidrógeno o compuestos orgánicos como donadores de electrones para el crecimiento, y utilizan una gran variedad de compuestos orgánicos. El lactato y el piruvato son de uso prácticamente universal en este grupo, y muchas especies también oxidan alcoholes de cadena corta (etanol, propanol y butanol) como donadores de electrones. Algunas especies, como *Desulfosarcina* y *Desulfonema*, crecen mediante un metabolismo quimiolitotrófico y autotrófico con hidrógeno como donador de electrones, sulfato como aceptor y CO_2 como única fuente de carbono. Unos pocos reductores de sulfato pueden oxidar hidrocarburos como donadores de electrones (↻ Sección 13.24).

Hay dos tipos fisiológicos de reductores de sulfato desasimiladores, los *oxidadores completos*, que pueden oxidar completamente acetato y otros ácidos grasos a CO_2, y los *oxidadores incompletos*, incapaces de oxidar acetato a CO_2. Este último grupo incluye las bacterias reductoras de sulfato mejor estudiadas, *Desulfovibrio* (Figura 14.23*a*) junto con *Desulfomonas*, *Desulfotomaculum* y *Desulfobulbus* (Figura 14.23*c*). Los oxidadores de acetato incluyen *Desulfobacter* (Figura 14.23*d*), *Desulfococcus*, *Desulfosarcina* (Figura 14.23*e*) y *Desulfonema* (Figura 14.23*b*), entre otros muchos. Estas bacterias están especializadas en la oxidación completa de ácidos grasos, en concreto el acetato, y la consiguiente reducción de sulfato a sulfuro de hidrógeno. Estos dos grupos fisiológicos no son coherentes desde el punto de vista filogenétio, sino que están ampliamente distribuidos a lo largo de la filogenia de las bacterias reductoras de sulfato (Figura 14.22).

Algunas bacterias reductoras de sulfato pueden explotar rutas metabólicas alternativas. Además de reducir sulfato o azufre elemental, algunas pueden reducir también nitrato y sulfonatos (como el isetionato, $HO—CH_2—CH_2—SO_3^-$) y las hay que pueden fermentar algunos compuestos orgánicos. El más común de ellos es el piruvato, que se fermenta mediante una reducción fosforoclástica que produce acetato, CO_2 e hidrógeno (↻ Figura 13.30). Además, aunque en general son anaerobios estrictos, unas pocas bacterias reductoras de sulfato toleran bastante bien el oxígeno (principalmente cepas que coexisten con cianobacterias generadoras de oxígeno en los tapetes microbianos). Al menos una especie, *Desulfovibrio oxyclinae*, puede incluso crecer con oxígeno como aceptor de electrones en condiciones microaerofílicas.

Ecología de las bacterias reductoras de sulfato

Los reductores de sulfato están muy extendidos en los ambientes acuáticos y terrestres que contienen sulfato y se vuelven anóxicos como resultado de la descomposición microbiana. Los reductores de sulfato son abundantes en los sedimentos marinos, y el sulfuro de hidrógeno que generan es el responsable del olor penetrante (a huevos podridos) frecuente en los ecosistemas costeros. *Desulfotomaculum*, que filogenéticamente pertenece a *Firmicutes* (bacterias grampositivas), es un bacilo formador de esporas que se encuentra principalmente en el suelo. El crecimiento y la reducción de sulfato por parte de *Desulfotomaculum* causa el deterioro de ciertos alimentos enlatados en los que provoca también hedor a huevos podridos. Las especies de *Thermodesulfobacterium*, *Thermodesulfovibrio* y *Archaeoglobus* (una arquea) son todas termófilas y se encuentran en ambientes con calor geotérmico como las fuentes termales, las fumarolas hidrotermales y las reservas de crudo de petróleo. Los géneros restantes de reductores de sulfato son autóctonos de ambientes anóxicos marinos o de agua dulce, y ocasionalmente se pueden aislar del intestino de los mamíferos.

El enriquecimiento de las especies de *Desulfovibrio* es fácil en un medio lactato-sulfato anóxico con hierro ferroso (Fe^{2+}). Es necesario un agente reductor como el tioglicolato o el ascorbato para contar con un potencial de reducción (E_0') bajo en el medio. Cuando las bacterias reductoras de sulfato crecen, el sulfuro de hidrógeno formado a partir de la reducción del sulfato se combina con el hierro ferroso y forma sulfuro ferroso, negro e insoluble (Figura 14.23*g*). La purificación se puede llevar a cabo diluyendo el cultivo en tubos de agar fundido (↻ Sección 18.2 y Figura 18.3). Al solidificarse el medio, las células individuales de bacterias reductoras de sulfato se distribuyen por todo el agar y crecen formando colonias negras (Figura 14.23*g*) que se pueden eliminar asépticamente para obtener cultivos puros.

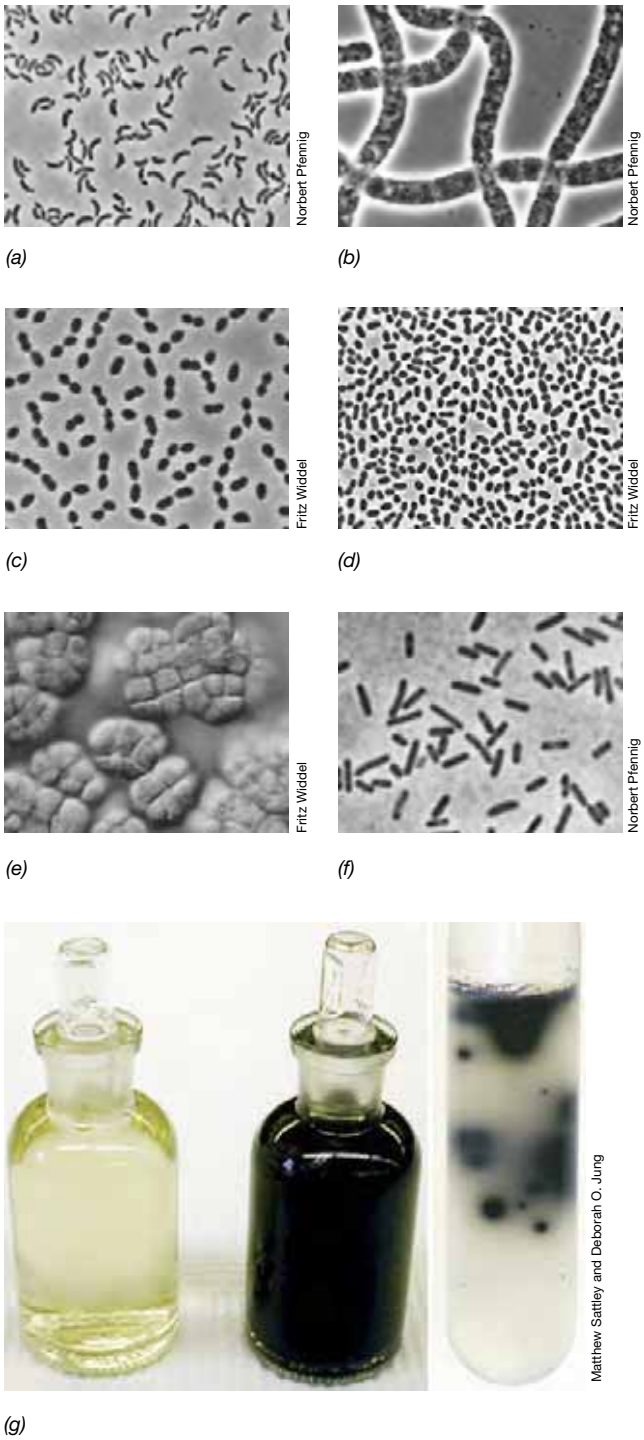


Figura 14.23 Ejemplos de bacterias reductoras de sulfato y de reductoras de azufre. *(a) Desulfovibrio desulfuricans*; el diámetro de las células es de unos 0,7 µm. *(b) Desulfonema limicola*; diámetro de las células: 3 µm. *(c) Desulfobulbus propionicus*; diámetro de las células: aproximadamente 1,2 µm. *(d) Desulfobacter postgatei*; diámetro de las células, aproximadamente 1,5 µm. *(e) Desulfosarcina variabilis*; diámetro aproximado de las células: 0,6 µm. *(f)* Desulfuromonas acetoxidans; diámetro aproximado de las células: 6 µm. *(g)* Cultivo de enriquecimiento de bacterias reductoras de sulfato. Izquierda, medio estéril; centro, enriquecimiento positivo, negro a causa del FeS; derecha, colonias de bacterias reductoras de sulfato en un tubo de dilución. Las fotos *a* a *d* y *f* son micrografías de contraste de fases; la foto *e* es una micrografía de contraste por interferencia.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cuáles son los donadores de electrones típicos utilizados por los reductores de sulfato desasimiladores?
- ¿Qué filos bacterianos se sabe que contienen reductores de sulfato desasimiladores?

14.10 Bacterias desasimiladoras sulforreductoras

Géneros principales: *Desulfuromonas, Wolinella, Sulfolobus*

Los microorganismos reductores de azufre desasimiladores pueden obtener energía mediante la reducción del azufre en la respiración. Las bacterias reductoras de azufre desasimiladoras pueden reducir el azufre elemental (S^0) y otras formas oxidadas de azufre a sulfuro de hidrógeno (H_2S), pero no pueden reducir el sulfato (SO_4^{2-}). Existen más de veinticinco géneros de organismos reductores de azufre desasimiladores repartidos en cinco filos bacterianos y arqueanos (Figura 14.1).

La mayoría de las bacterias reductoras de azufre son proteobacterias, principalmente deltaproteobacterias (p. ej., *Desulfuromonas*, *Pelobacter*, *Desulfurella*, *Geobacter*), y algunos géneros pertenecen a las epsilonproteobacterias (p. ej., *Wolinella* y *Sulfurospirillum*) y otros a las gammaproteobacterias (p. ej., *Shewanella* y *Pseudomonas mendocina*). Otras bacterias reductoras de azufre son especies de *Firmicutes* (p. ej., *Desulfitobacterium* y *Ammonifex*), *Aquificae* (p. ej., *Desulfurobacterium* y *Aquifex*), *Synergistetes* (p. ej., *Dethiosulfovibrio*), o *Deferribacteres* (p. ej., *Geovibrio*). Se conocen muchas arqueas reductoras de azufre y son todas géneros pertenecientes a las *Crenarchaeota* (p. ej., *Acidianus*, *Sulfolobus*, *Pyrodictium* y *Thermodiscus*).

Fisiología y ecología de las bacterias reductoras de azufre

La fisiología de los reductores de azufre es más variada que la de los reductores de sulfato. La mayoría de los reductores de azufre son anaerobios estrictos, pero son habituales las especies aerobias facultativas. A menudo los reductores de azufre reducen aceptores de electrones como el nitrato, el hierro ferroso o el tiosulfato como alternativas al azufre elemental. Igual que los reductores de sulfato (Sección 14.9), la fisiología de los reductores de azufre se caracteriza por oxidar completamente el acetato y otros ácidos grasos a CO_2. Las especies de *Desulfuromonas* (Figura 14.23*f*) son oxidadoras completas que crecen anaerobiamente acoplando la oxidación de acetato, succinato, etanol o propanol a la reducción de azufre elemental. En cambio, *Sulfospirillum* y *Wolinella* son oxidadores incompletos y no pueden usar el acetato como donador de electrones. *Sulfospirillum* puede reducir el azufre elemental usando hidrógeno o formiato como donador de electrones.

Las bacterias desasimiladoras reductoras de azufre viven en muchos de los mismos hábitats que las bacterias desasimiladoras reductoras de sulfato, y a menudo forman asociaciones con bacterias que oxidan sulfuro de hidrógeno a azufre elemental, como las bacterias verdes del azufre (Sección 14.6). El azufre elemental producido en la oxidación del sulfuro de hidrógeno se vuelve a reducir a sulfuro de hidrógeno durante el metabolismo de los reductores de azufre y se completa así el ciclo anóxico del azufre (↬ Sección 20.4).

MINIRREVISIÓN

- ¿Cuáles son los donadores de electrones típicos utilizados por los reductores de azufre desasimiladores?
- ¿Qué filos bacterianos contienen reductores de azufre desasimiladores?

14.11 Bacterias desasimiladoras oxidadoras de azufre

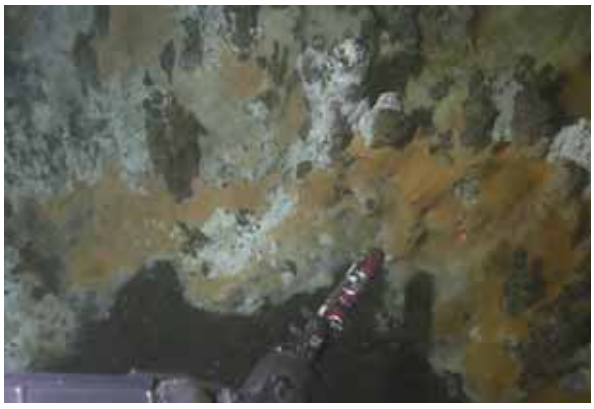
Géneros principales: *Thiobacillus, Achromatium, Beggiatoa*

Las bacterias oxidadoras de azufre desasimiladoras son **quimiolitótrofos** que oxidan compuestos reducidos de azufre como el sulfuro de hidrógeno, el azufre elemental, el tiosulfato o el tiocianato (SCN^-) como donadores de electrones en la fijación de la energía. Estos organismos son comunes en ambientes como sedimentos marinos, manantiales sulfurosos y sistemas hidrotermales en los que se libera a aguas oxigenadas el sulfuro de hidrógeno producido por las bacterias reductoras de sulfato o de azufre (Secciones 14.9 y 14.10) o producido abióticamente mediante reacciones geotérmicas (**Figura 14.24**). Los oxidadores de azufre se encuentran en tres filos de *Bacteria* (*Proteobacteria*, *Aquificae* y *Deinococcus-Thermus*) y uno de *Archaea* (*Crenarchaeota*) (Figura 14.1). La mayoría de las bacterias oxidadoras de azufre son betaproteobacterias (*Thiobacillus*), gammaproteobacterias (*Achromatium*, *Beggiatoa*) y epsilonproteobacterias (*Thiovulum, Thiomicrospira*).



Michael F. McGiannan, Florida International University

(a)



Andreas Teske

(b)

Figura 14.24 **Hábitats de los oxidadores de azufre.** *(a)* Manantial artesiano con sulfuro en Florida (EE. UU.). El exterior del manantial está cubierto por un tapete de *Thiothrix* (véase la Figura 14.26*b*). El tapete tiene cerca de 1,5 m de diámetro. *(b)* Chimeneas hidrotermales en Cathedral Hill, en la profundidad de Guaymas (en el golfo de California), a 2.000 metros de profundidad. El agua rica en sulfuro sale por las chimeneas, que se cubren de tapetes compuestos por células naranjas, blancas y amarillas de *Beggiatoa*.

Diversidad fisiológica de las bacterias oxidadoras de azufre

Los oxidadores de azufre presentan una diversidad morfológica y fisiológica considerable. Las células pueden tener diámetros de menos de 1 µm (como *Thiomicrospira denitrificans*) o hasta de 750 µm (como *Thiomargarita namibiensis*). La mayoría de los oxidadores de azufre son aerobios estrictos; no obstante, algunas especies de *Thiomargarita* y de *Thiomicrospira* también pueden reducir nitrato mediante desnitrificación (↻ Sección 13.17 y Sección 14.13). Muchas especies oxidan sulfuro de hidrógeno a azufre elemental y lo depositan en gránulos intracelulares o extracelulares para usarlo más tarde como donador de electrones cuando el sulfuro de hidrógeno se vuelve limitante.

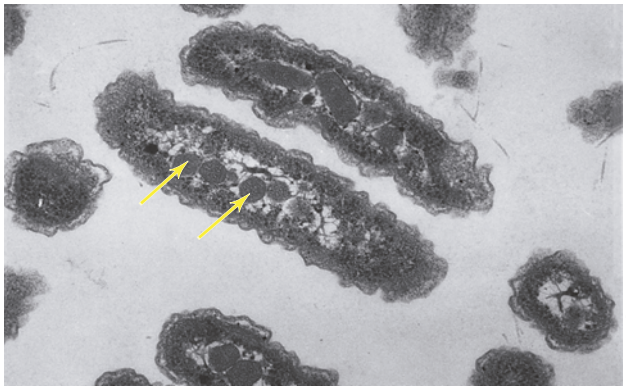
Algunos quimiolitótrofos del azufre son *quimiolitótrofos estrictos* limitados a un estilo de vida en el que solo pueden usar compuestos inorgánicos como donadores de electrones. Al crecer de este modo son también autótrofos, y convierten el CO_2 en material celular mediante el ciclo de Calvin. A menudo se observan **carboxisomas** en las células de los quimiolitótrofos estrictos (**Figura 14.25*a***). Estas estructuras contienen una gran concentración de enzimas del ciclo de Calvin y probablemente aumentan la tasa de fijación de CO_2 en estos organismos (↻ Sección 13.5).

Otros quimiolitótrofos del azufre son *quimiolitótrofos facultativos*, en el sentido de que pueden crecer mediante un metabolismo *tanto* quimilitótrofo (y, por tanto, también como autótrofos) *como* quimioorganótrofo. La mayoría de las especies de *Beggiatoa* pueden obtener energía de la oxidación de compuestos inorgánicos de azufre, pero carecen de las enzimas del ciclo de Calvin, de modo que necesitan compuestos orgánicos como fuentes de carbono. Los organismos con este tipo de vida nutricional se llaman **mixótrofos**.

Thiobacillus y *Achromatium*

El género *Thiobacillus* y otros géneros relacionados comprenden diversas betaproteobacterias gramnegativas en forma de bacilo, que morfológicamente no se distinguen de la mayoría del resto de bacilos gramnegativos (Figura 14.25*a*); son los quimiolitótrofos del azufre mejor estudiados de todos. La oxidación de sulfuro de hidrógeno, azufre elemental o tiosulfato por *Thiobacillus* genera ácido sulfúrico (H_2SO_4), de manera que los tiobacilos suelen ser acidófilos. Una especie fuertemente acidófila, *Acidithiobacillus ferrooxidans*, también puede crecer mediante metabolismo quimiolitotrófico por oxidación de Fe^{2+}, y es un agente biológico importante en lo que respecta a la oxidación de este metal. La pirita (FeS_2) es una gran fuente natural de hierro ferroso y de sulfuro. Su oxidación, especialmente en operaciones de minería, puede ser a la vez beneficiosa (porque el lixiviado del mineral libera el hierro del sulfuro) y ecológicamente desastrosa (porque el ambiente se acidifica y se contamina con metales tóxicos como aluminio, cadmio y plomo) (↻ Sección 21.2).

Achromatium es un quimiolitótrofo esférico oxidador de azufre, habitual en los sedimentos de agua dulce de pH neutro que contienen sulfuro de hidrógeno. Las células de *Achromatium*


Jessup M. Shively

(a)


Hans-Dietrich Babenzien

(b)

Figura 14.25 Quimiolitótrofos del azufre no filamentosos. *(a)* Micrografía electrónica de transmisión de células del quimiolitótrofo oxidante de azufre *Halothiobacillus neapolitanus*. Cada célula tiene un diámetro aproximado de 0,5 µm. Obsérvese los cuerpos poliédricos (carboxisomas) distribuidos por toda la célula (flechas) (↻ Figura 13.18). *(b) Achromatium*. Células fotografiadas por microscopía de contraste por interferencia diferencial. Las pequeñas estructuras globulares cerca de la periferia de las células (flecha) son de azufre elemental, y los gránulos grandes son carbonato de calcio. Cada célula de *Achromatium* tiene un diámetro de unos 25 µm.

son cocos grandes que pueden tener un diámetro de entre 10 µm y 100 µm (Figura 14.25*b*). *Achromatium* es una especie de gammaproteobacteria y está relacionada específicamente con las bacterias rojas del azufre, como su homóloga fotótrofa *Chromatium* (Sección 14.4 y Figura 14.10*a*). Al igual que *Chromatium*, las células de *Achromatium* almacenan en su interior gránulos de S^0 (Figura 14.25*b*), que posteriormente desaparecen a medida que el S^0 se oxida a sulfato. Las células de *Achromatium* también almacenan grandes gránulos de calcita ($CaCO_3$) (Figura 14.25*b*), posiblemente como fuente de carbono (en forma de CO_2) para el crecimiento autotrófico. La fisiología de los quimiolitótrofos oxidadores de azufre se trata con detalle en la Sección 13.8.

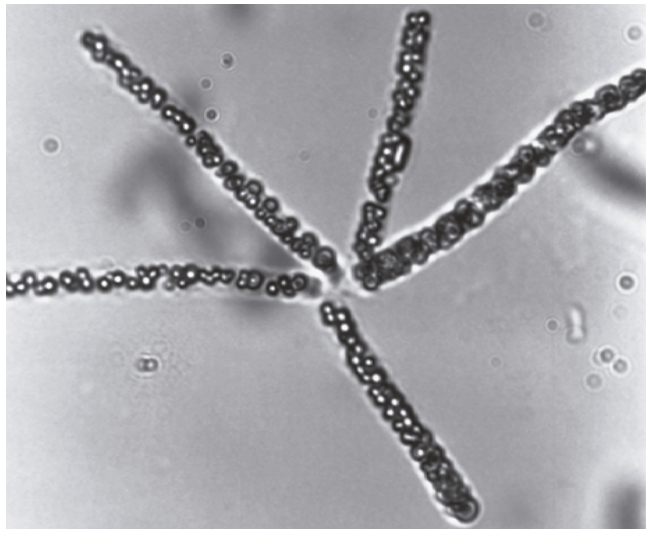
Diversidad ecológica y estrategias de las bacterias oxidadoras de sulfuro

Los oxidadores de sulfuro aerobios proporcionan un caso práctico que demuestra el grado de diversificación ecológica que se puede dar entre microorganismos que comparten las mismas características metabólicas básicas. La oxidación química del sulfuro de hidrógeno a ácido sulfúrico es espontánea y rápida en presencia de oxígeno; por tanto, los oxidadores aerobios de sulfuro de hidrógeno han desarrollado diversas estrategias ecológicas que les permiten metabolizar dos moléculas que, de otra forma, reaccionarían entre sí espontáneamente. Veremos aquí seis estrategias diferentes utilizadas por los oxidadores de sulfuro aerobios para hacer frente a la inestabilidad química del sulfuro de hidrógeno en presencia de oxígeno.

1. *Thiothrix* es un quimiolitótrofo del azufre filamentoso que pertenece a las gammaproteobacterias (**Figura 14.26**). Forma filamentos que se agrupan por los extremos mediante un anclaje para formar unas agrupaciones celulares llamadas *rosetas* (Figura 14.26*b*). La estrategia ecológica de esta


Verena Salman

(a)


Michael F. McGlannan, Florida International University

(b)

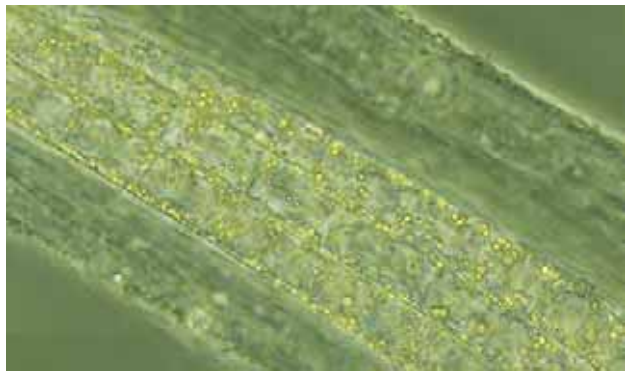
Figura 14.26 *Thiothrix*. *(a)* Filamentos de *Thiothrix* adheridos a material vegetal encontrados en una corriente de agua procedente de una cueva de aguas sulfurosas en Frasassi (Italia). Desde el punto de ramificación de la planta, la rama más larga tiene unos 4 mm de largo. *(b)* Micrografía de contraste de fases de una roseta de células de *Thiothrix* aislada del manantial artesiano sulfuroso de la Figura 14.24*a*. Obsérvese los glóbulos de azufre internos producidos por oxidación del sulfuro. Cada filamento tiene un diámetro de unos 4 µm.

bacteria es utilizar este anclaje para situarse en ambientes con mucha corriente más abajo de una fuente de sulfuro de hidrógeno. Estos ambientes son habituales cerca de los manantiales de aguas sulfuradas y en arroyos de drenaje de marismas sulfurosas, en las que se produce gran cantidad de sulfuro de hidrógeno que es arrastrado hacia aguas ricas en oxígeno (Figura 14.26*a*). Fisiológicamente, *Thiothrix* es un mixótrofo aerobio estricto, y en esto y otros muchos aspectos se parece a *Beggiatoa*.

2. *Beggiatoa* es un género de gammaproteobacterias filamentosas, deslizantes y oxidadoras de azufre, normalmente grandes tanto en diámetro como en longitud. Sus filamentos están formados por muchas células cortas unidas unas a otras por los extremos (**Figura 14.27*a***). Los filamentos pueden flexionarse y doblarse de manera que se entrelazan y forman un entramado complejo. Se encuentran principalmente en tapetes microbianos, sedimentos, manantiales de aguas sulfuradas y fuentes hidrotermales. La estrategia ecológica de *Beggiatoa* es utilizar la motilidad por deslizamiento para situarse en el punto en el que el sulfuro de hidrógeno y el oxígeno coexisten. Por ejemplo, en los tapetes microbianos *Beggiatoa* se puede desplazar verticalmente hasta varios centímetros al día en respuesta a la producción de oxígeno por parte de las cianobacterias, subiendo para obtener el oxígeno cuando se detiene la fotosíntesis por la noche y bajando durante el día cuando la producción fotosintética de oxígeno en la superficie del tapete hace que el sulfuro de hidrógeno esté más profundo.
3. El género *Thiomargarita* comprende algunas de las bacterias más grandes que se conocen, con diámetros de hasta 0,75 mm (**Figura 14.28**). *Thiomargarita* no puede moverse, y su estrategia ecológica consiste en separar en el tiempo la oxidación del sulfuro de hidrógeno y la reducción de oxígeno. Para ello, contiene una vacuola gigante (Figura 14.28*b*) que se llena con una gran concentración de nitrato (NO_3^-) y puede ocupar prácticamente casi todo el volumen de la célula. Las células de *Thiomargarita* viven en sedimentos marinos ricos en sulfuro que de vez en cuando se mezclan con aguas ricas en oxígeno, como ocurre en las marismas y en zonas de afloramientos en el mar. Cuando están sepultadas en los sedimentos, las células oxidan el sulfuro de hidrógeno a azufre elemental de manera

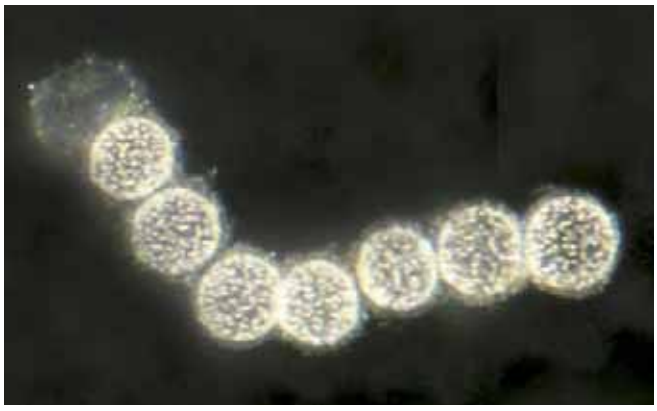

Michael Richard

(a)

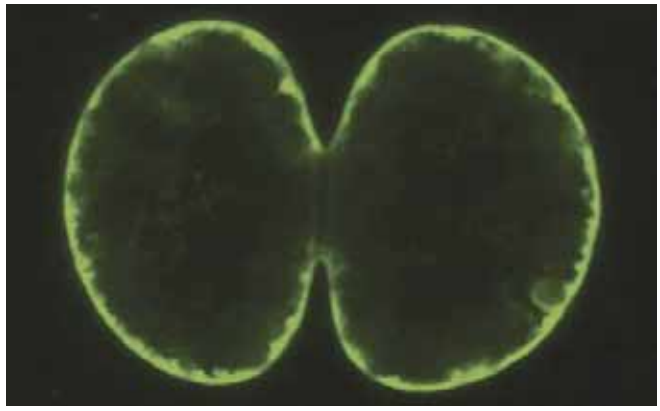

M. Hüttel

(b)

Figura 14.27 **Bacterias filamentosas oxidadoras de azufre.** *(a)* Micrografía de contraste de fases de una especie de *Beggiatoa* aislada de una planta de depuración de aguas residuales. Obsérvese la abundancia de gránulos de azufre elemental en algunas células. *(b)* Células de una especie marina grande de *Thioploca*. Las células contienen gránulos de azufre (amarillos) y miden entre 40 y 50 µm de ancho.


Verena Salman

(a)

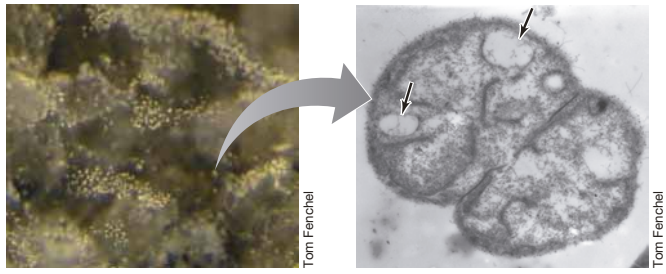

Verena Salman

(b)

Figura 14.28 ***Thiomargarita*, bacteria gigante oxidadora de sulfuro.** *(a) Thiomargarita namibiensis* obtenida en un afloramiento frente a la costa occidental de Namibia (África suroccidental). Las células tienen un diámetro de unos 100 µm. *(b)* Células en división de oxidadoras de sulfuro que contienen vacuolas obtenidas del mismo lugar. Micrografía electrónica que muestra los ribosomas de *Thiomargarita* teñidos con una sonda fluorescente para ácidos nucleicos. Los ribosomas se localizan en el citoplasma, que se ve como una delgada capa bordeando las células. El citoplasma está restringido al espacio que queda entre la pared celular y la gran vacuola central, que aparece oscura en la imagen. Las células miden unos 50 µm de ancho.

anaerobia reduciendo a amonio (NH_4^+) el nitrato almacenado en la vacuola. Posteriormente almacenan el azufre elemental en gránulos intracelulares (Figura 14.28*a*). Cuando las aguas turbulentas mezclan las células en la columna de agua, que carece de sulfuro de hidrógeno, estas pasan a oxidar aerobiamente el azufre almacenado. La energía que obtienen de la oxidación de S^0 es utilizada para llenar de nuevo la vacuola con nitrato procedente de la columna de agua, de manera que puedan sobrevivir al siguiente período de anoxia.

4. *Thioploca* es un género de grandes bacterias filamentosas que utilizan una estrategia similar a la de *Thiomargarita*. *Thioploca* también tiene gránulos intracelulares de azufre y grandes vacuolas llenas de nitrato (Figura 14.27*b*). No obstante, sus filamentos se desplazan por deslizamiento y forman grandes vainas llenas con muchos filamentos paralelos (Figura 14.27*b*). Las vainas se disponen verticalmente en los sedimentos y los filamentos se deslizan arriba y abajo en su interior; bajan a respirar anaerobiamente sulfuro de hidrógeno usando el nitrato almacenado como aceptor de electrones, y suben a respirar aerobiamente el azufre elemental y volver a llenar las vacuolas con nitrato (↻ Figura 19.10).
5. *Thiovulum* se encuentra en hábitats de agua dulce y marinos donde los lodos ricos en sulfuro entran en contacto con zonas óxicas (**Figura 14.29**). Las células de *Thiovulum* son bastante grandes (10-20 µm), y las que tienen motilidad nadan a una velocidad extraordinaria: son tal vez las bacterias más rápidas conocidas (~0,6 mm/s). La estrategia ecológica de *Thiovulum* consiste en controlar el flujo de los nutrientes que llegan a las células. Las células de esta bacteria secretan una capa mucosa que une las células en una estructura parecida a un velo que puede tener varios centímetros de diámetro (Figura 14.29*a*). Los velos, compuestos por muchas células de *Thiovulum*, se forman sobre una fuente de sulfuro de hidrógeno. Las células tienen unos flagelos largos que se unen al velo y a las superficies sólidas. Como el extremo terminal del flagelo está unido e inmóvil, la rotación flagelar hace que las células giren a lo largo del eje del flagelo. La rotación unidireccional simultánea de todas las células de *Thiovulum* en el velo crea un flujo de agua a través del velo y permite que las células generen y regulen los gradientes de sulfuro de hidrógeno y de oxígeno que necesitan para generar energía.
6. La última estrategia ecológica de los quimiolitótrofos del azufre que vamos a ver es la formación de una asociación simbiótica entre la bacteria del azufre y un eucariota. Existen diversas asociaciones simbióticas en las que el hospedador aporta un mecanismo para regular la concentración de sulfuro de hidrógeno y de oxígeno, y el simbionte oxidador de sulfuro fija el CO_2 y aporta una fuente de carbono y energía al hospedador. El mejor ejemplo es el gusano tubícola *Riftia*, que tiene en su interior endosimbiontes oxidadores de sulfuro y vive en las fumarolas hidrotermales oceánicas (↻ Sección 22.12). En los ecosistemas de las fumarolas hidrotermales, hay otras muchas asociaciones simbióticas como los simbiontes que viven en el tejido de las branquias de la almeja gigante *Calyptogena magnifica* y en la superficie del cangrejo yeti, que cultiva bacterias oxidadoras de sulfuro agitando sus pinzas en el fluido rico en sulfuro de las fumarolas. Las simbiosis con invertebrados también son habituales en los sedimentos marinos ricos en sulfuro de los sistemas costeros poco profundos. Por ejemplo, los bivalvos de la familia *Solemyidae* se entierran en los sedimentos ricos en sulfuro y bombean agua rica en sulfuro y en oxígeno a través de las branquias que contienen bacterias oxidadoras de sulfuro.



(a) (b)

Figura 14.29 ***Thiovulum*, oxidador de azufre.** *(a)* Macrofotografía de células de *Thiovulum* (puntos amarillos) que forman un fino velo en la arena marina que contiene sulfuro de hidrógeno (las estructuras grandes e irregulares son granos de arena). *(b)* Micrografía electrónica de transmisión de una célula de *Thiovulum* en división. Los gránulos de azufre (S^0) se señalan con flechas. Las células de *Thiovulum* suelen tener un diámetro de entre 10 y 20 µm.

A partir de estos ejemplos debería quedar claro que la diversidad ecológica empuja a las bacterias que realizan el mismo metabolismo energético —en este caso la oxidación de sulfuro— para explotar al máximo los diferentes ambientes en los que viven. En cada caso, el objetivo del organismo es el mismo, obtener el donador y el aceptor de electrones que necesita. Pero también en cada caso, la estrategia para conseguirlo es única y la que mejor se adecua a las propiedades del organismo y de su hábitat.

MINIRREVISIÓN

- Describa el metabolismo energético y el metabolismo del carbono de *Thiobacillus* en términos de síntesis de ATP y de nuevo material celular.
- Indique algunas estrategias ecológicas que utilizan los oxidadores de azufre para competir con la oxidación química del sulfuro de hidrógeno.

IV • Diversidad bacteriana en el ciclo del nitrógeno

Todas las formas de vida deben asimilar nitrógeno para crecer, de manera que todos los organismos tienen que catalizar ciertas transformaciones del nitrógeno. No obstante, *Bacteria* y *Archaea* son los únicos dominios en los que existen representantes que pueden obtener energía de la transformación de especies inorgánicas de nitrógeno. En esta sección analizaremos la diversidad de tres grupos fisiológicos de bacterias que participan en el ciclo del nitrógeno: las *diazótrofas*, las

nitrificantes y las *desnitrificantes*. La fisiología de estos grupos se estudió en las Secciones 3.17, 13.10 y 13.17. Empezaremos nuestro viaje por la diversidad microbiana del ciclo del nitrógeno con las bacterias que fijan el nitrógeno atmosférico.

14.12 Diversidad de las bacterias fijadoras de nitrógeno

Géneros principales: *Mesorhizobium, Desulfovibrio, Azotobacter*

Los **diazótrofos** son organismos que fijan el gas dinitrógeno (N_2) en amoniaco (NH_3), que puede incorporarse como fuente de nitrógeno para las células. La fijación de nitrógeno es un proceso asimilador y requiere ATP y la enzima nitrogenasa (↻ Sección 3.17). Los diazótrofos normalmente fijan nitrógeno molecular únicamente cuando no hay otras formas de nitrógeno, y la expresión de la nitrogenasa se inhibe cuando las células disponen de amoniaco (↻ Sección 3.17). El oxígeno inhibe la nitrogenasa de manera irreversible, y esta es una de las causas de diversificación ecológica entre diazótrofos; veremos que diferentes organismos han desarrollado soluciones diferentes para proteger la nitrogenasa del oxígeno.

La fijación de nitrógeno está muy extendida entre los microorganismos, y se piensa que el último antepasado común universal ya utilizaba nitrogenasas. El gen *nifH* codifica el componente dinitrogenasa-reductasa de la nitrogenasa, y es utilizado como medida de la diversidad diazotrófica (↻ Sección 18.5). Se han descrito más de 30.000 secuencias génicas *nifH* diferentes distribuidas en nueve filos bacterianos y un filo arqueano (Figura 14.1). El intercambio horizontal de genes ha tenido una gran influencia en la distribución filogenética de la nitrogenasa en el árbol de la vida. Por consiguiente, la filogenia de *nifH* es muy incoherente con la filogenia del gen del RNA ribosómico 16S (**Figura 14.30**). A continuación vamos a analizar la diversidad de los diazótrofos simbióticos y de los de vida independiente.

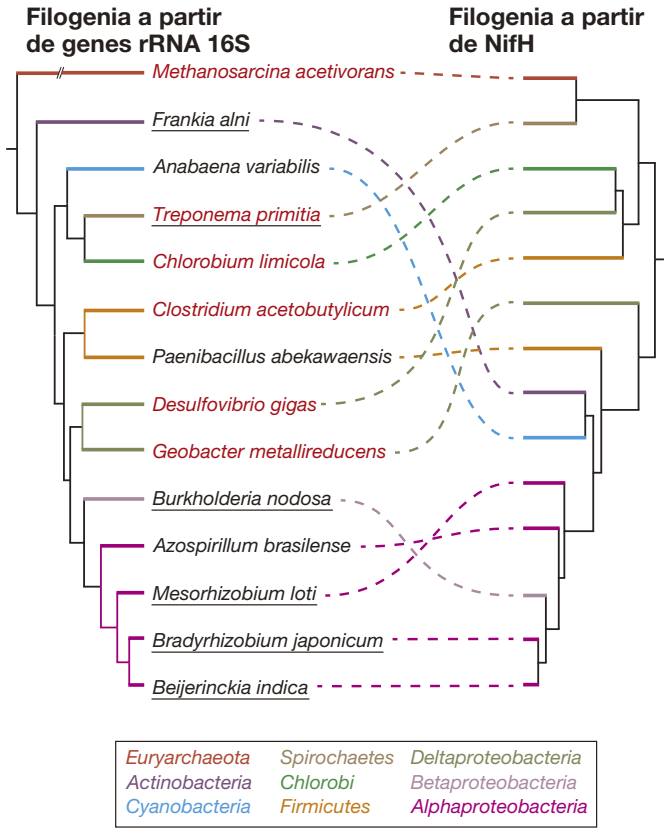


Figura 14.30 Relaciones entre bacterias diazótrofas (fijadoras de nitrógeno) deducidas de las secuencias de genes de RNA ribosómico 16S y de las secuencias de aminoácidos de NifH. Las ramas de cada árbol tienen un color que indica el filo. Las líneas de puntos indican ramas compartidas entre los dos árboles. La incongruencia entre los dos árboles es consecuencia de los muchos procesos de transferencia horizontal del gen *NifH*. El texto en rojo denota los anaerobios estrictos, y el subrayado indica las especies que forman simbiosis con eucariotas.

Diazótrofos simbióticos

Los diazótrofos forman diversas relaciones simbióticas con las plantas, los animales y los hongos. Estas relaciones se definen, generalmente, porque el hospedador proporciona un entorno habitable, que incluye una fuente de carbono y energía y un sistema para regular la concentración de oxígeno, mientras que el simbionte microbiano aporta a su vez un suministro de nitrógeno fijado al hospedador.

La simbiosis entre los rizobios y las plantas leguminosas es una de las asociaciones simbióticas de fijación de nitrógeno mejor caracterizadas (↻ Sección 22.3). Las bacterias que forman nódulos radiculares pertenencen a *Alphaproteobacteria* (p. ej., *Mesorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium*), *Betaproteobacteria* (p. ej., *Burkholderia*), o *Actinobacteria* (p. ej., *Frankia*). Otros géneros de diazótrofos simbióticos se encuentran en asociación con teredínidos (*Teredinibacter*), con el intestino de termes (*Treponema*) (↻ Sección 22.10), con hongos endomicorrízicos (*Glomeribacter*) (↻ Sección 17.12) y con diversos hongos, algas y plantas (*Cyanobacteria*) (↻ Secciones 22.1 y 22.5). Estas diferentes simbiosis se han originado muchas veces de manera independiente como consecuencia de evolución convergente (Figura 14.30).

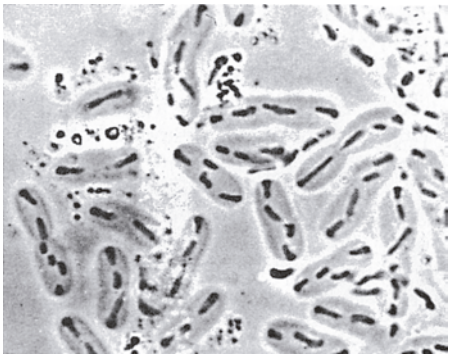
Diazótrofos de vida libre

Los diazótrofos de vida libre necesitan un mecanismo para proteger las nitrogenasas de la acción del oxígeno (↻ Secciones 3.17 y 7.13). La solución más sencilla a este problema es crecer solamente en ambientes anóxicos. El origen de la fijación del nitrógeno es anterior al origen de la fotosíntesis oxigénica, de modo que los primeros organismos fijadores de nitrógeno eran anaerobios de vida libre. Los diazótrofos anaerobios estrictos de vida libre son habituales en ambientes anóxicos como los sedimentos marinos y de agua dulce o los tapetes microbianos. Estos microorganismos pertenecen a los filos bacterianos *Firmicutes* (p. ej., *Clostridium*), *Chloroflexi* (p. ej., *Oscillochloris*), *Chlorobi* (p. ej., *Chlorobium*), *Spirochaetes* (p. ej., *Spirochaeta*) y *Proteobacteria* (p. ej., *Desulfovibrio*, *Chromatium*) y al filo arqueano *Euryarchaeota* (p. ej., *Methanosarcina*). Encontramos *Desulfovibrio* en los sedimentos anóxicos de marismas dominadas por la planta herbácea *Spartina*, y su fijación de N_2 es una fuente de nitrógeno importante para las plantas que viven en este ecosistema.

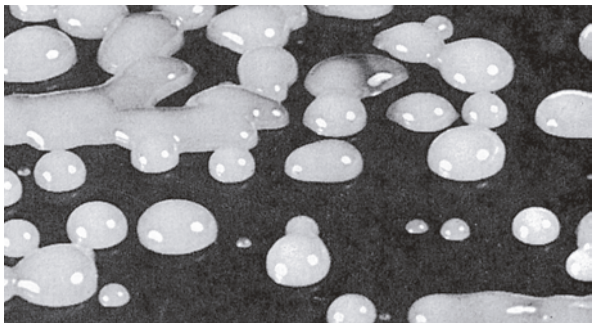
Otro mecanismo sencillo para proteger las nitrogenasas del oxígeno es fijar el nitrógeno solamente cuando no hay oxígeno en el medio o bien se encuentra en concentración muy baja. Por ejemplo, con frecuencia los aerobios facultativos fijarán

nitrógeno solo si crecen anaerobiamente (p. ej., *Klebsiella*). Algunos fijadores de nitrógeno aerobios son *microaerófilos*, es decir, que fijan nitrógeno únicamente en ambientes en los que el oxígeno está presente a concentración muy baja (normalmente menos del 2 %). No obstante, algunos organismos han desarrollado mecanismos más complejos para proteger sus nitrogenasas del oxígeno, y pueden crecer en presencia de aire. Entre los diazótrofos aerobios estrictos de vida libre se encuentran las cianobacterias, que han desarrollado una serie de mecanismos para proteger la nitrogenasa del oxígeno (Sección 14.3), además de otras bacterias quimioorganótrofas unicelulares de vida libre. *Azotobacter*, *Azotospirillum* y *Beijerinckia* son diazótrofos aerobios estrictos de vida libre. Las células de *Azotobacter* son bacilos o cocos grandes con un diámetro de 2 µm a 4 µm o más. Cuando crecen con N_2 como fuente de nitrógeno, producen normalmente grandes cápsulas o capas de mucosa (**Figura 14.31**) (↻ Figura 3.32*a*). Se piensa que la alta tasa de respiración característica de las células de *Azotobacter* y la abundante mucosa capsular que producen les ayuda a proteger las nitrogenasas del oxígeno. *Azotobacter* puede crecer con muchos carbohidratos, alcoholes y ácidos orgánicos diferentes, y su metabolismo es estrictamente oxidativo.

Azotobacter puede formar estructuras de reposo llamadas *cistos* (**Figura 14.32*b***). Al igual que las endosporas bacterianas, los cistos de *Azotobacter* presentan una respiración endógena apenas perceptible y son resistentes a la desecación, a la desintegración mecánica y a las radiaciones ultravioleta o ionizantes. No obstante, a diferencia de las endosporas, los cistos no son muy resistentes al calor, y no están en un estado completamente latente porque, si se les suministra alguna fuente de carbono, la oxidan rápidamente.

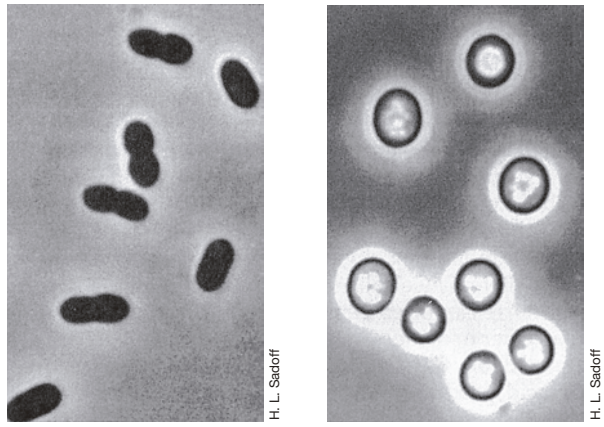


(a)



(b)

Figura 14.31 **Ejemplos de producción de mucosidad por parte de bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre.** *(a)* Células de *Derxia gummosa* recubiertas de mucosidad. Las células miden entre 1 µm y 2 µm de ancho. *(b)* Colonias de células de *Beijerinckia* creciendo en un medio con carbohidratos. Obsérvese el aspecto elevado y brillante de las colonias a causa de la abundancia de mucosidad capsular.



(a) *(b)*

Figura 14.32 ***Azotobacter vinelandii.*** *(a)* Células vegetativas y *(b)* cistos visualizados por microscopía de contraste de fases. Cada célula mide unos 2 µm de diámetro, y cada cisto unos 3 µm.

Azotobacter y las nitrogenasas alternativas

Ya vimos el proceso de la fijación biológica de nitrógeno molecular en la Sección 3.17, y hablamos de la importancia fundamental de los metales molibdeno (Mo) y hierro (Fe) para la nitrogenasa. La especie *Azotobacter chroococcum* fue la primera bacteria fijadora de nitrógeno que se observó que podía crecer en N_2 en ausencia de molibdeno. En *A. chroococcum* se vio que cuando la limitación de Mo impide la síntesis de la nitrogenasa MoFe normal, se forma cualquiera de las dos «nitrogenasas alternativas». Estas nitrogenasas son menos eficaces que la nitrogenasa MoFe y contienen vanadion (V) o Fe en lugar de Mo. Estos tres tipos de nitrogenasas (MoFe, VFe y FeFe) están codificadas por genes parálogos, y surgieron como resultado de mecanismos de duplicación génica (↻ Sección 12.6). Investigaciones posteriores de otras bacterias fijadoras de nitrógeno han puesto de manifiesto que estas nitrogenasas «de reserva» genéticamente distintas son muy frecuentes entre las bacterias fijadoras de nitrógeno, especialmente en las cianobacterias y en las arqueas.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué mecanismos utilizan los diazótrofos de vida libre para proteger las oxigenasas del oxígeno?
- ¿Dónde esperaríamos encontrar bacterias fijadoras de nitrógeno?

14.13 Diversidad de las bacterias y las arqueas nitrificantes y desnitrificantes

Los microorganismos que crecen mediante respiración anaerobia de nitrógeno inorgánico (nitratos o nitritos) para dar los productos gaseosos óxido nítrico (NO), óxido nitroso (N_2O) y

nitrógeno molecular (N_2) reciben el nombre de **desnitrificantes** (↻ Sección 13.17). Estos organismos son normalmente aerobios facultativos y quimioorganótrofos que utilizan el carbono orgánico como fuente de carbono y como donador de electrones.

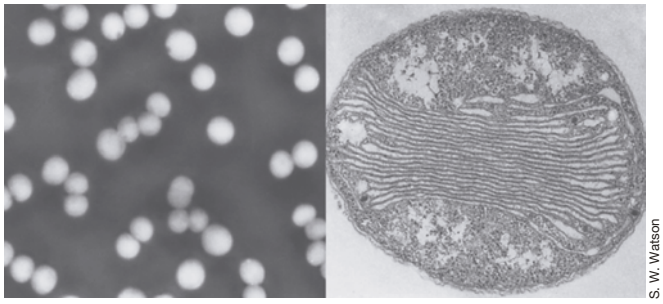
Los microorganismos que pueden crecer de manera quimiolitotrófica a expensas de los compuestos inorgánicos de nitrógeno reducido (amoniaco, nitrito) se llaman **nitrificantes** (Figura 14.33) (↻ Sección 13.10). Por regla general, estos organismos son aerobios estrictos que también pueden crecer de manera autotrófica; la mayoría de las especies fijan CO_2 mediante el ciclo de Calvin. Se ha visto que algunas también crecen mixotróficamente asimilando carbono orgánico además de CO_2.

Fisiología de las bacterias y las arqueas nitrificantes

No se conoce ningún quimiolitótrofo que lleve a cabo la oxidación completa de amoniaco (NH_3) a nitrato (NO_3^-). Por tanto, la nitrificación se produce por actividades secuenciales de dos grupos fisiológicos de organismos, los *oxidadores de amoniaco* (que oxidan el amoniaco a nitrito, NO_2^-) (Figura 14.33*a*), y los *oxidadores de nitrito*, los verdaderos microorganismos productores de nitrato, que oxidan el nitrito a nitrato (Figura 14.33*b*). Los oxidadores de amoniaco normalmente tienen nombres genéricos que empiezan por *Nitroso-*, mientras que los nombres genéricos de los productores de nitrato empiezan por *Nitro-*.

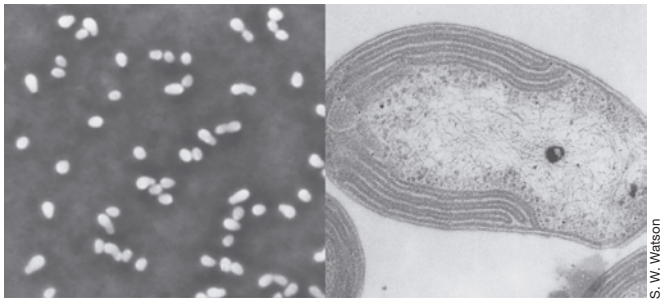
Muchas especies de nitrificantes tienen apilamientos de membrana en su interior (Figura 14.33) que se parecen mucho a las membranas fotosintéticas de sus parientes cercanos, las bacterias rojas fotótrofas (Sección 14.4) y las bacterias oxidadoras de metano (metanótrofas) (Sección 14.17). Las membranas son el lugar en el que se localizan las enzimas de la nitrificación: la *amoniaco-monooxigenasa*, que oxida el amoniaco a hidroxilamina (NH_2OH), y la *nitrito-oxidorreductasa*, que oxida el nitrito a nitrato (↻ Sección 13.10).

Es posible obtener cultivos de enriquecimiento de las bacterias nitrificantes usando medios con sales minerales que contengan amoniaco o nitrito como donadores de electrones, y bicarbonato (HCO_3^-) como única fuente de carbono. Como estos organismos producen muy poco ATP a partir de sus donadores de electrones (↻ Sección 13.10), es posible que no se desarrolle una turbidez visible en los cultivos, ni siquiera tras una nitrificación extensa. Una forma sencilla de llevar un seguimiento del crecimiento, por tanto, es ensayar la producción de nitrito (con amoniaco como donador de electrones) o de nitrato (con nitrito como donador de electrones).



Reacción: $NH_3 + 1\frac{1}{2}\ O_2 \longrightarrow NO_2^- + H_2O$

(a)



Reacción: $NO_2^- + \frac{1}{2}\ O_2 \longrightarrow NO_3^-$

(b)

Figura 14.33 Bacterias nitrificantes. *(a)* Micrografía de contraste de fases (izquierda) y micrografía electrónica (derecha) de la bacteria oxidadora de amoniaco *Nitrosococcus oceani*. Cada célula mide unos 2 µm de diámetro. *(b)* Micrografía de contraste de fases (izquierda) y micrografía electrónica (derecha) de la bacteria oxidadora de nitrito *Nitrobacter winogradskyi*. Cada célula mide unos 0,7 µm de diámetro. Bajo cada panel se encuentra la reacción quimiolitotrófica que cataliza cada organismo. Las nítidas membranas internas de cada especie son los sitios donde se ubican las enzimas fundamentales para la nitrificación.

Bacterias y arqueas nitrificantes: oxidadoras de amoniaco

Géneros principales: *Nitrosomonas, Nitros•• pira, Nitrosopumilus*

Los oxidadores de amoniaco se encuentran entre las betaproteobacterias (p. ej., *Nitrosomonas*, *Nitrospira*, *Nitrosolobus*, *Nitrosovibrio*) y entre las gammaproteobacterias (*Nitrosococcus*), y en el filo arqueano *Thaumarchaeota* (*Nitrosopumilus*, *Nitrosocaldus*, *Nitrosoarchaeum*, *Nitrososphaera*).

Los oxidadores de amoniaco están muy extendidos en el suelo y en el agua; los bacterianos están presentes sobre todo en hábitats en los que el amoniaco es abundante, como sitios en los que se produce gran descomposición de proteínas (amonificación), y también en plantas de depuración de aguas residuales (↻ Sección 21.6). Las bacterias nitrificantes se desarrollan especialmente bien en lagos y corrientes de agua que reciben aportes de aguas fecales u otras aguas residuales, porque normalmente tienen gran concentración de amoniaco. *Nitrosomonas* se suele encontrar en los lodos activos presentes en plantas de tratamiento aerobio de aguas residuales. Las bacterias oxidadoras de amoniaco también son habituales en suelos (como *Nitrosospira* y *Nitrosovibrio*) y en el mar (como *Nitrosococcus*).

Las arqueas oxidadoras de amoniaco (↻ Sección 16.6) parecen abundar sobre todo en hábitats en los que el amoniaco está presente en baja concentración. Se piensa que estos organismos dominan la oxidación del amoniaco en el mar, en los que la concentración de amoniaco es muy baja (↻ Secciones 19.9 y 19.11). Las arqueas oxidadoras de amoniaco son frecuentes también en suelos, y en algunos suelos superan en varios órdenes de magnitud a las bacterias oxidadoras de amoniaco. La disponibilidad de amoniaco respecto a amonio (NH_4^+) desciende con el pH, de manera que los suelos ácidos (pH < 6,5), que son habituales, favorecen a los organismos que crecen mejor con baja concentración de amoniaco.

Bacterias nitrificantes: oxidadoras de nitrito

Géneros principales: *Nitrospira, Nitrobacter*

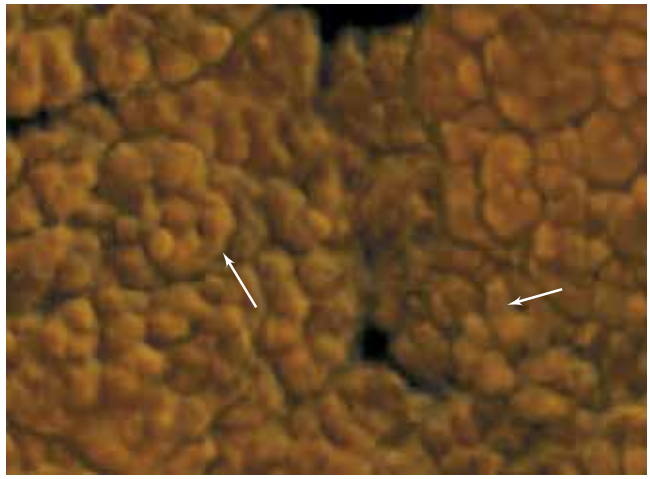
Los oxidadores de nitrito se encuentran en las clases *Alphaproteobacteria* (*Nitrobacter*), *Betaproteobacteria* (*Nitrotoga*), *Gammaproteobacteria* (*Nitrococcus*) y *Deltaproteobacteria* (*Nitrospina*), así como en el filo *Nitrospira* (↔ Sección 15.21).

Al igual que las proteobacterias oxidadoras de nitrito, *Nitrospira* oxida el nitrito (NO_2^-) a nitrato (NO_3^-) y crece de manera autotrófica (**Figura 14.34**). No obstante, *Nitrospira* carece de la amplia membrana interna que tienen las especies nitrificantes de *Proteobacteria*. A pesar de ello, *Nitrospira* habita en muchos de los mismos ambientes que las proteobacterias oxidadoras de nitrito como *Nitrobacter*, de manera que se ha sugerido que podría haber adquirido su capacidad para oxidar nitrito por transferencia horizontal desde las proteobacterias nitrificantes (o viceversa). Como sabemos, este mecanismo de adquisición de características fisiológicas ha sido muy explotado en el mundo bacteriano (↔ Secciones 6.12 y 12.5). No obstante, las prospecciones ambientales para detectar bacterias nitrificantes en la naturaleza han puesto de manifiesto que *Nitrospira* es mucho más abundante que *Nitrobacter*; por tanto, parece probable que la mayor parte de la oxidación de nitrito en ambientes naturales se deba a la actividad de *Nitrospira*.

Bacterias y arqueas desnitrificantes

Géneros principales: *Paracoccus, Pseudomonas*

Los desnitrificantes pueden crecer por respiración anaerobia de nitrato (NO_3^-) o nitrito (NO_2^-) a los productos gaseosos óxido nítrico (NO), óxido nitroso (N_2O) y nitrógeno molecular (N_2) (↔ Sección 13.17). Casi todos los desnitrificantes son quimioorganótrofos que utilizan el carbono orgánico como fuente de carbono y como donador de electrones. Hay excepciones, como los oxidadores de azufre desnitrificadores que estudiamos en la Sección 14.11. Los desnitrificantes son, en general, aerobios facultativos, y en casi todos los casos crecen preferentemente como aerobios si hay oxígeno en el medio. Son muy importantes en los suelos agrícolas, donde causan la pérdida de fertilizantes nitrogenados y la producción de óxido nitroso, que es un componente dominante de los gases invernadero producidos por los suelos agrícolas (↔ Sección 20.8).



Holger Daims

Figura 14.34 ***Nitrospira*, una bacteria nitrificante.** Agregado de células de *Nitrospira* enriquecido a partir de lodos activados de una planta depuradora de aguas residuales. Las células individuales son curvadas (flechas) y se agrupan en tétradas en el agregado. Cada célula de *Nitrospira* mide aproximadamente 0,3 µm × 1-2 µm.

Los desnitrificantes son filogenética y metabólicamente diversos y se encuentran repartidos en dos filos arqueanos y seis filos bacterianos (en cinco clases de *Proteobacteria*) (Figura 14.1). Uno de los desnitrificantes mejor conocidos es *Paracoccus denitrificans* (*Alphaproteobacteria*). La desnitrificación de nitrato a nitrógeno molecular requiere varias etapas enzimáticas fundamentales (↔ Sección 13.17), y los genes que codifican las enzimas necesarias están presentes a lo largo de todo el árbol de la vida. Muchos reductores de nitrato poseen solamente una parte de la ruta de desnitrificación, y por tanto son incapaces de reducir completamente el nitrato a nitrógeno molecular. En la distribución filogenética de los genes que codifican la desnitrificación se aprecia la importante función que ha tenido el intercambio horizontal de genes.

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué condiciones esperaría que crecieran los microorganismos como resultado de la desnitrificación?
- ¿Qué características comparten los oxidadores de amoniaco y los de nitrito?

V • Diversidad de otras bacterias quimiótrofas características

Continuamos nuestro estudio de grupos funcionales cuyas características fisiológicas y ecológicas se extienden a lo largo de diferentes filos como consecuencia de evolución convergente o de transferencia horizontal de genes. Desde un punto de vista fisiológico, todos estos grupos son quimiótrofos, ya sea quimiolitótrofos o quimioorganótrofos, que contribuyen en etapas específicas del ciclo del carbono o que metabolizan hidrógeno o metales.

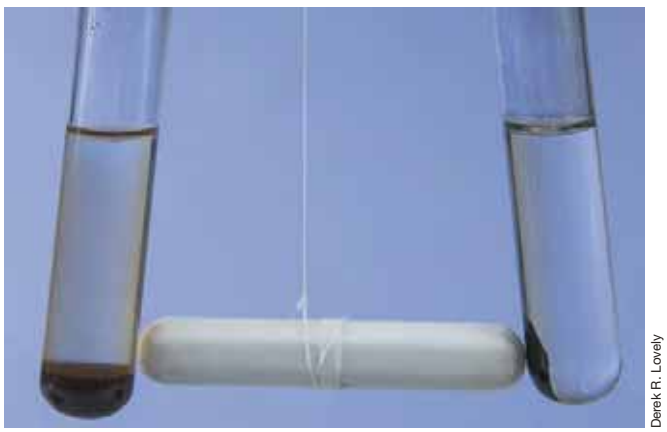
14.14 Bacterias desasimiladoras reductoras del hierro

Géneros principales: *Geobacter, Shewanella*

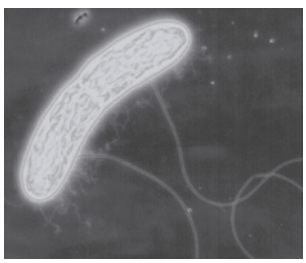
Los organismos reductores de hierro desasimiladores acoplan la reducción de metales o metaloides oxidados al crecimiento celular. Estos organismos necesitan vencer el obstáculo

fundamental de utilizar un material sólido insoluble como aceptor de electrones en la respiración. Diversos microorganismos son capaces de reducir metales enzimáticamente como consecuencia de reacciones de fermentación o de reducción de azufre o de sulfato, pero dichos organismos no obtienen energía de la reducción de metales. En cambio, los reductores de hierro desasimiladores realizan la respiración de metales acoplando la oxidación del hidrógeno molecular o de compuestos orgánicos a la reducción de hierro férrico (Fe^{3+}) o manganeso (Mn^{6+}) (**Figura 14.35*a***).

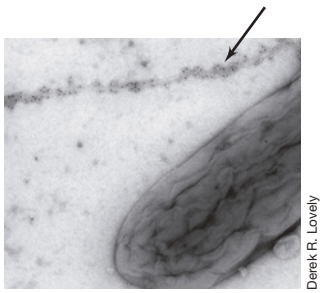
Los organismos reductores de hierro desasimiladores son heterogéneos en cuanto a su filogenia (Figura 14.1). Los encontramos en géneros bacterianos de *Proteobacteria* (*Geobacter*, *Shewanella*), *Acidobacteria* (*Geothrix*), *Deferribacter* (*Geovibrio*), *Deinococcus-Thermus* (*Thermus*), *Thermotogae* (*Thermotoga*) y *Firmicutes* (*Bacillus*, *Thiobacillus*), mientras que los géneros arqueanos pertenecen al filo *Crenarchaeota* (*Pyrobaculum*). La respiración del hierro se desarrolló probablemente muy temprano en la historia de la vida, y su amplia distribución puede ser debida a su presencia en el antepasado universal junto con las sucesivas pérdidas de material genético en algunos linajes y la transferencia horizontal en otros.



(a)



(b)



(c)

Figura 14.35 ***Geobacter*, una bacteria reductora de hierro desasimiladora.** *(a)* El tubo sin inocular (izquierda) contiene un medio anóxico con acetato y ferrihidrita, un óxido de hierro poco magnético. Durante el crecimiento de *Geobacter* (tubo derecho) la ferrihidrita se reduce a magnetita, que es magnética. *(b)* Micrografía electrónica de transmisión de *G. sulfurreducens* en la que se muestran los flagelos y los pelos. La célula mide aproximadamente 0,7 µm × 3,5 µm. *(c)* Micrografía electrónica de transmisión de *G. sulfurreducens* en la que se aprecia, en los pelos (flecha) el citocromo OmcS inmunomarcado con oro coloidal.

Fisiología

Los organismos reductores de hierro desasimiladores están especializados en aceptores de electrones insolubles externos, y estos organismos suelen ser extremadamente versátiles en la respiración anaerobia. Además, son anómalos porque poseen citocromos en la membrana externa que facilitan la transferencia electrónica con minerales insolubles. La mayoría de las especies pueden usar óxidos de hierro o de manganeso como aceptores de electrones, y diversas especies también pueden utilizar nitrato, fumarato, compuestos inorgánicos de azufre, cobalto, cromo, uranio, selenio, arsénico y compuestos húmicos (↻ Sección 13.21). La mayoría de los géneros de bacterias reductoras de hierro son anaerobios estrictos, pero algunos, como *Shewanella* y otros relacionados, son aerobios facultativos. Los donadores de electrones son generalmente compuestos orgánicos como ácidos grasos, alcoholes, azúcares y, en algunos casos, incluso compuestos aromáticos. Muchas especies también pueden usar hidrógeno como donador de electrones, pero normalmente no pueden crecer de manera autotrófica, y necesitan una fuente de carbono orgánico que permita el crecimiento.

La familia *Geobacteraceae*, que pertenece al filo de las *Deltaproteobacteria*, contiene cuatro géneros de bacterias desasimiladoras reductoras de hierro (*Geobacter*, *Desulfuromonas*, *Desulfuromusa* y *Pelobacter*) que demuestran fehacientemente la diversidad fisiológica de los reductores de metales anaerobios estrictos. *Geobacter*, *Desulfuromonas* y *Desulfuromusa* pueden usar acetato como donador de electrones, así como otras moléculas orgánicas pequeñas, y oxidan estos sustratos completamente a CO_2. Estos géneros están especializados en la respiración anaerobia. *Geobacter* en concreto, puede usar una gran variedad de donadores y aceptores de electrones. *Geobacter* produce unos pelos (Figura 14.35*b*) que contienen citocromos (Figura 14.35*c*), y estos pelos facilitan la transferencia electrónica a la superficie de los minerales de hierro oxidado (para saber cómo ocurre esto, léase la primera página del Capítulo 20). *Pelobacter*, en cambio, son organismos fundamentalmente fermentadores con una capacidad respiratoria más limitada. Por ejemplo, *P. carbinolicus* solo puede usar lactato como donador de electrones, y hierro férrico o azufre elemental como aceptores. *Pelobacter* es incapaz de oxidar sus sustratos de carbono completamente a CO_2.

Shewanella y sus parientes *Ferrimonas* y *Aeromonas*, que pertenecen a las *Gammaproteobacteria*, son aerobios facultativos y crecen aerobiamente cuando disponen de oxígeno. *Shewanella* puede utilizar una gran diversidad de donadores y aceptores de electrones además de hierro férrico y manganeso. No obstante, al igual que *Pelobacter*, es incapaz de oxidar completamente sus sustratos de carbono a CO_2, y tampoco puede oxidar acetato como donador de electrones para la respiración anaerobia.

Ecología

Los organismos reductores de hierro desasimiladores son habituales en los sedimentos anóxicos marinos y de aguas dulces. Se piensa que estos organismos cumplen una función importante en la oxidación de la materia orgánica en muchos hábitats anóxicos. También son habituales en el subsuelo profundo, y se encuentran tanto en acuíferos superficiales como a grandes profundidades (↻ Sección 19.7). Además, se conocen varias

especies reductoras de hierro termófilas e hipertermófilas (p. ej., *Thermus* y *Thermotoga*), y a menudo se encuentran en fuentes hidrotermales y otros sistemas con calor geotérmico, como el subsuelo profundo.

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué grupos filogenéticos podemos encontrar *Geobacter* y *Shewanella*?
- ¿Qué géneros de organismos desasimiladores reductores de hierro contienen aerobios facultativos?

14.15 Bacterias desasimiladoras oxidadoras del hierro

Géneros principales: *Acidithiobacillus, Gallionella*

La capacidad para acoplar la oxidación del hierro ferroso (Fe^{2+}) al crecimiento celular está muy extendida en el árbol de la vida, y se piensa que es una característica que apareció temprano en la historia de la Tierra. Los géneros que pueden usar hierro ferroso como donador de electrones para el crecimiento se distribuyen en cinco filos bacterianos y dos filos arqueanos (Figura 14.1).

La diversidad y la distribución de los oxidadores de hierro aerobios está muy determinada por el pH y la presencia de oxígeno molecular. El hierro ferroso se oxida espontáneamente para formar precipitados insolubles en presencia de oxígeno, a pH entre neutro y alcalino (mayor de 7), pero es estable, ya sea en condiciones anóxicas o aerobiamente, a pH ácido (menor de 4). Los oxidadores de hierro se dividen en cuatro grupos funcionales, según su fisiología básica: oxidadores de hierro aerobios acidófilos, oxidadores de hierro aerobios neutrófilos, oxidadores de hierro quimiótrofos anaerobios y oxidadores de hierro fotótrofos anaerobios.

Bacterias oxidadoras de hierro aerobias acidófilas

El crecimiento de las bacterias oxidadoras de hierro se ve favorecido por los ambientes ácidos ricos en hierro en los que hay hierro ferroso soluble. Estas bacterias suelen abundar en el drenaje ácido procedente de minas abandonadas de carbón o hierro o en los residuos de minería (↻ Secciones 21.1 y 21.2). Las bacterias oxidadoras de hierro aerobias acidófilas también habitan en manantiales ácidos ricos en hierro en áreas volcánicas. En estos ambientes, el azufre suele estar presente junto con hierro ferroso, y muchos oxidadores de hierro aerobios acidófilos pueden oxidar tanto hierro ferroso como azufre elemental. Las especies pueden ser autótrofas o heterótrofas, y entre los géneros más frecuentes están *Acidithiobacillus* (*Gammaprotebacteria*), *Leptospirillum* (*Nitrospirae*) y *Ferroplasma* (*Euryarchaeota*). Otros oxidadores de hierro aerobios acidófilos se pueden encontrar en *Actinobacteria* y *Firmicutes*.

Bacterias oxidadoras de hierro aerobias neutrófilas

Los oxidadores de hierro aerobios neutrófilos son organismos adaptados a nichos especializados (↻ Sección 13.9), ya que el hierro ferroso es relativamente insoluble a pH neutro, y su oxidación química es espontánea y rápida en presencia de aire. Además, a pH neutro la oxidación de hierro en la superficie celular provoca la formación de una corteza de óxido de hierro que puede sepultar de manera efectiva las células en crecimiento. Por tanto, los oxidadores de hierro aerobios neutrófilos crecen muy bien en aguas anóxicas ricas en hierro expuestas al aire. Estos hábitats son habituales cerca de humedales o suelos en los que las aguas subterráneas anóxicas surgen en forma de manantial, pero los oxidadores de hierro también habitan en la rizosfera de las plantas de humedales y en algunos sistemas hidrotermales submarinos.

Se han descrito pocos géneros de oxidadores de hierro aerobios neutrófilos, y todos ellos pertenecen a las *Proteobacteria*. Las especies encontradas en los hábitats de agua dulce pertenecen a un conjunto de géneros estrechamente relacionados de las *Betaproteobacteria*, mientras que las especies encontradas en hábitats marinos pertenecen a las *Zetaproteobacteria*. El metabolismo de estos organismos es bastante limitado. Las especies son generalmente microaerófilas y quimiolitótrofas estrictas, aunque en algunos casos se ha observado mixotrofia. Los géneros *Leptothrix* y *Sphaerotilus* son una excepción (Sección 14.22) pues son frecuentes en ambientes de agua dulce con oxidadores de hierro aerobios neutrófilos. Catalizan la oxidación de hierro y manganeso, pero no parecen obtener energía de estas reacciones, mientras que sí lo hacen de la oxidación de la materia orgánica. El género de agua dulce *Gallionella* y el género marino *Mariprofundus* comprenden especies características de bacterias oxidadoras de hierro aerobias neutrófilas. Son especies que forman una estructura parecida a un pedúnculo enrollado que contiene hidróxido férrico ($Fe[OH]_3$) procedente de la oxidación de hierro ferroso (**Figura 14.36**). El pedúnculo con hierro incrustado contiene una matriz orgánica sobre la que se acumula el hidróxido férrico a medida que es excretado desde la superficie celular. La formación del pedúnculo es presumiblemente una adaptación que impide que las células acaben sepultadas en una corteza de óxido de hierro.

Gallionella es habitual en las aguas de drenaje de turberas, en manantiales de aguas ferruginosas y otros hábitats en los que hay presencia de hierro ferroso. *Mariprofundus* se aisló por vez primera de Lō'ihi Seamount, un volcán submarino cerca de Hawaii. *Gallionella* y *Mariprofundus* son ambos quimiolitótrofos autótrofos y contienen enzimas del ciclo de Calvin (↻ Sección 13.5).

Bacterias oxidadoras de hierro anaerobias

La oxidación anaerobia del hierro ferroso puede estar mediada por bacterias tanto quimiótrofas como fotótrofas. Estos grupos son habituales en sedimentos anóxicos y en humedales. Las condiciones anóxicas favorecen la solubilidad del hierro ferroso en un amplio rango de pH, de manera que, a diferencia de las bacterias oxidadoras de hierro aerobias, el crecimiento de las oxidadoras de hierro anaerobias no se limita al pH neutro. Estos grupos contienen organismos metabólicamente diversos y capaces de crecer usando diferentes donadores y aceptores de electrones.

La oxidación fototrófica de hierro se produce en determinadas especies de bacterias rojas no del azufre de las *Alphaproteobacteria* (p. ej., *Rhodopseudomonas palustris*), de bacterias rojas del azufre de las *Gammaproteobacteria* (↻ Figura 13.25) y de bacterias verdes del azufre que se encuentran en los *Chlorobi* (*Chlorobium ferrooxidans*). En todos los casos, el hierro

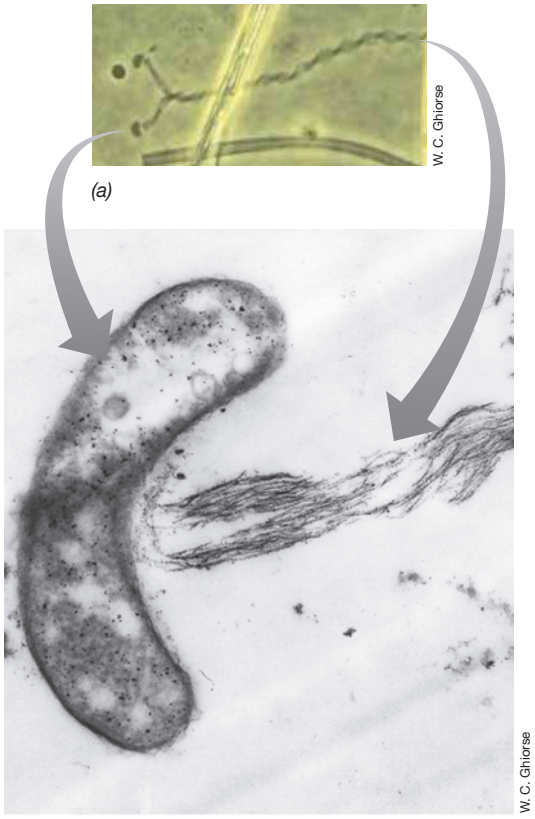


Figura 14.36 ***Gallionella ferruginea*, bacteria neutrófila oxidadora de hierro ferroso, procedente de una zona de filtrados de hierro cerca de Ithaca (Nueva York).** *(a)* Micrografía de dos células con forma de judía con pedúnculos que se combinan para formar una masa retorcida. *(b)* Micrografía electrónica de transmisión de una sección fina de una célula de *Gallionella* con pedúnculo. Las células miden unos 0,6 µm de ancho.

ferroso es uno de los diversos compuestos que pueden usar estos organismos como donadores de electrones en la fotosíntesis.

Los oxidadores de hierro quimiótrofos anaerobios acoplan la oxidación del hierro ferroso con la reducción de nitrato para producir nitrito o gases de nitrógeno (desnitrificación). Estos organismos pertenecen a las *Alpha-*, *Beta-*, *Gamma-* o *Deltaproteobacteria*, y la mayoría pueden usar varios donadores orgánicos de electrones en la reducción de nitrato; muchos pueden crecer también aerobiamente. Los géneros bacterianos *Acidovorax*, *Aquabacterium* y *Marinobacter* contienen oxidadores de hierro anaerobios. Mientras la mayoría de las especies son mixótrofas cuando crecen con hierro ferroso como donador de electrones, otras especies como *Marinobacter aquaeolei* y *Thiobacillus denitrificans* pueden crecer de manera autotrófica como quimiolitótrofos oxidadores de hierro.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué características del hábitat regulan la diversidad y la distribución de los oxidadores de hierro?
- ¿Cómo evitan los oxidadores de hierro neutrófilos aerobios que sus células queden sepultadas bajo una corteza de hierro?

14.16 Bacterias que metabolizan el hidrógeno

Géneros principales: *Ralstonia, Paracoccus*

El par H_2/H^+ es extremadamente electronegativo, lo que significa que el H_2 es un excelente donador de electrones en el metabolismo energético y se puede acoplar a prácticamente todos los aceptores de electrones existentes. Por tanto, la capacidad para obtener energía de la oxidación de H_2 se encuentra muy extendida por el árbol de la vida (Figura 14.1). A lo largo de todo este capítulo se dan ejemplos de diversos fotótrofos oxidadores de hidrógeno (Secciones 14.4 a 14.7) y quimiótrofos anaerobios (Secciones 14.9, 14.10 y 14.14). Además, la oxidación del hidrógeno se produce en prácticamente todos los géneros de arqueas anaerobias (Capítulo 16). Aquí trataremos de la diversidad de las bacterias autótrofas o quimiolitótrofas aerobias oxidadoras de hidrógeno.

Muchas bacterias pueden crecer con hidrógeno como único donador de electrones y oxígeno como aceptor de electrones en su metabolismo energético:

$$H_2 + \tfrac{1}{2}O_2 \rightarrow H_2O \qquad \Delta G^{0\prime} = -237 \text{ kJ}$$

La mayor parte de estos organismos, conocidos colectivamente como «bacterias del hidrógeno» también pueden crecer autotróficamente (usando reacciones del ciclo de Calvin para incorporar CO_2). Todas las bacterias del hidrógeno contienen una o más *hidrogenasas* que actúan uniendo hidrógeno, que luego usan para producir ATP (↻ Sección 13.7) o como poder reductor para el crecimiento autótrofo.

Diferentes miembros de las *Proteobacteria* oxidadoras de hidrógeno están distribuidas entre las subclases *Alfa*, *Beta* y *Gamma*. Convendría distinguir estos organismos de los muchos procariotas anaerobios estrictos que oxidan hidrógeno mediante respiración anaerobia; por ejemplo, las bacterias acetógenas, las metanógenas y las reductoras de sulfato (↻ Secciones 13.7 a 13.20). Se conocen bacterias del hidrógeno grampositivas y gramnegativas, y los representantes mejor estudiados están clasificados en los géneros *Ralstonia* (**Figura 14.37**), *Pseudomonas* y *Paracoccus*. *Paracoccus denitrificans* también puede oxidar hidrógeno anaerobiamente por desnitrificación, y ha sido especialmente bien estudiado por su bioenergética del transporte de electrones y la generación de fuerza protonmotriz.

Fisiología y ecología de las bacterias del hidrógeno

Cuando crecen quimiolitotróficamente con hidrógeno, la mayoría de las bacterias del hidrógeno lo hacen mejor en condiciones microaerófilas (5 %-10 % de O_2), porque las hidrogenasas normalmente son enzimas sensibles al oxígeno. El níquel (Ni^{2+}) debe estar presente en el medio para que se produzca el crecimiento quimiolitotrófico de las bacterias del hidrógeno, ya que prácticamente todas las hidrogenasas contienen este elemento como cofactor metálico fundamental. Algunas bacterias del hidrógeno también fijan nitrógeno (↻ Sección 3.17), lo que permite su cultivo en un medio con sales minerales que contenga únicamente gases —H_2, O_2, CO_2 y N_2— como fuente de energía, carbono y nitrógeno. Prácticamente todas las bacterias del hidrógeno son quimiolitótrofas facultativas, lo que significa que también pueden crecer quimioorganotróficamente con compuestos orgánicos como fuente de energía.

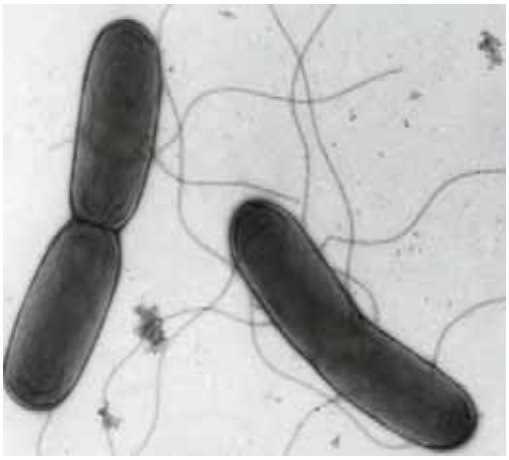

Frank Mayer

Figura 14.37 **Oxidadores de hidrógeno.** Micrografía electrónica de transmisión de células con tinción negativa del quimiolitótrofo oxidador de hidrógeno *Ralstonia eutropha*. Cada célula tiene un diámetro aproximado de 0,6 µm y posee varios flagelos.

Oxidación de monóxido de carbono

Algunas bacterias del hidrógeno pueden crecer aerobiamente con monóxido de carbono (CO) como donador de electrones. Las bacterias oxidadoras de monóxido de carbono, llamadas bacterias *carboxidótrofas*, crecen autotróficamente usando el ciclo de Calvin (↻ Sección 13.5) para fijar el CO_2 generado en la oxidación del CO. Los electrones procedentes de la oxidación de CO a CO_2 por acción de la monóxido de carbono-deshidrogenasa se desplazan por una cadena de transporte de electrones que genera fuerza protonmotriz. Curiosamente, el monóxido de carbono es un potente inhibidor de muchos citocromos y actúa como un veneno respiratorio. No obstante, las bacterias carboxidótrofas sortean este problema sintetizando citocromos resistentes al monóxido de carbono, de manera que se vuelven inmunes a los efectos tóxicos de este compuesto. Al igual que las bacterias del hidrógeno, prácticamente todas las bacterias carboxidótrofas pueden crecer también de manera quimioorganótrofa oxidando compuestos orgánicos, probablemente una señal de que los niveles de monóxido de carbono son muy variables en la naturaleza y es necesario contar con un metabolismo energético alternativo.

De manera global, el consumo de monóxido de carbono por parte de las bacterias carboxidótrofas es un proceso ecológico importante. Aunque gran parte del monóxido de carbono es generado por los humanos y otras fuentes, su concentración en el aire no ha aumentado significativamente en muchos años. Como la liberación más importante de monóxido de carbono (principalmente de los gases de escape de los automóviles, la combustión incompleta de los combustibles fósiles y el catabolismo de la lignina, un producto vegetal) se producen en ambientes óxicos, las bacterias carboxidótrofas de las capas más altas del suelo representan probablemente el principal sumidero de monóxido de carbono en la naturaleza.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué enzima fundamental es necesaria para el crecimiento de los quimiolitótrofos con el H_2 como donador de electrones?
- ¿Cuál es el producto de la oxidación del monóxido de carbono?

14.17 Bacterias metanótrofas y metilótrofas

Los **metilótrofos** son organismos que utilizan para crecer compuestos orgánicos que carecen de enlaces C—C, como donadores de electrones en el metabolismo energético y como fuente de carbono. La metilotrofia se encuentra en los filos bacterianos *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes* y *Verrucomicrobia* y en el filo arqueano *Euryarchaeota* (Figura 14.1). Los **metanótrofos** son un subconjunto de los metilótrofos definido por su capacidad para usar metano como sustrato para el crecimiento. En las Secciones 13.23 y 13.24 ya hemos tratado la fisiología de la metanotrofia.

Los metilótrofos aerobios son habituales en el suelo y en ambientes acuáticos en los que está presente el oxígeno. Los metilótrofos anaerobios son habituales en ambientes anóxicos, especialmente en sedimentos marinos. Muchos metilótrofos anaerobios son arqueas metanógenas. Además, en los sedimentos de los fondos oceánicos se combina un consorcio de arqueas metanógenas y bacterias reductoras de sulfato para oxidar metano a partir de hidratos gaseosos presentes en dichos sedimentos (↻ Sección 13.24). En esta sección estudiaremos solamente los metilótrofos aerobios.

Metilótrofos aerobios facultativos

Géneros principales: *Hyphomicrobium, Methylobacterium*

Los metilótrofos aerobios facultativos son incapaces de utilizar metano, pero pueden usar otros muchos compuestos metilados. Son especies de *Alpha-*, *Beta-* y *Gammaproteobacteria*, *Actinobacteria* y *Firmicutes*. Los metilótrofos aerobios facultativos son metabólicamente variados y, además de sustratos metilados, la mayoría de las especies pueden crecer aerobiamente con otros compuestos orgánicos, como ácidos orgánicos, etanol y azúcares. Cuando crecen como metilótrofos, la mayoría de las especies pueden crecer aerobiamente con metanol, y algunas también pueden metabolizar aminas metiladas, compuestos de azufre metilados y halometanos. La mayor parte son aerobios estrictos, aunque algunas especies pueden realizar desnitrificación.

El género *Hyphomicrobium* nos ofrece un ejemplo de la versatilidad metabólica de los metilótrofos aerobios facultativos. Algunas especies de este género pueden crecer como metilótrofos aerobios usando metanol, metilamina o sulfuro de dimetilo. Otras especies de *Hyphomicrobium* también pueden crecer como metilótrofos anaerobios con metanol como donador de electrones acoplado a un proceso de desnitrificación. Por último, *Hyphomicrobium* pueden crecer aerobiamente con diversos compuestos de C_2 y C_4.

Metanótrofos aerobios

Géneros principales: *Methylomonas, Methylosinus*

Los metanótrofos aerobios son metilótrofos que pueden usar metano como donador de electrones, y normalmente lo usan también como fuente de carbono. En la Tabla 14.2 se da un resumen taxonómico de los metanótrofos. La mayor parte de las especies de metanótrofos pertenecen a las *Proteobacteria* y están clasificadas en dos grandes grupos según su estructura celular interna, su filogenia y su ruta de asimilación de carbono.

Tabla 14.2 Algunas características de las bacterias metanótrofas

Organismo	*Morfología*	*Grupo filogenético*[a]	*Membranas internas*[b]	*Ruta de asimilación de carbono*[c]	*Fijación de N_2*
Methylomonas	Bacilo	Gamma	I	Monofosfato de ribulosa	No
Methylomicrobium	Bacilo	Gamma	I	Monofosfato de ribulosa	No
Methylobacter	Coco a elipsoide	Gamma	I	Monofosfato de ribulosa	No
Methylococcus	Coco	Gamma	I	Monofosfato de ribulosa y ciclo de Calvin	Sí
Methylosinus	Bacilo o vibrioide	Alfa	II	Serina	Sí
Methylocystis	Bacilo	Alfa	II	Serina	Sí
Methylocella[d]	Bacilo	Alfa	II	Serina	Sí
Methylacidiphilum[d]	Bacilo	*Verrucomicrobiaceae*[d]	Vesículas membranosas	Serina y ciclo de Calvin	Sí

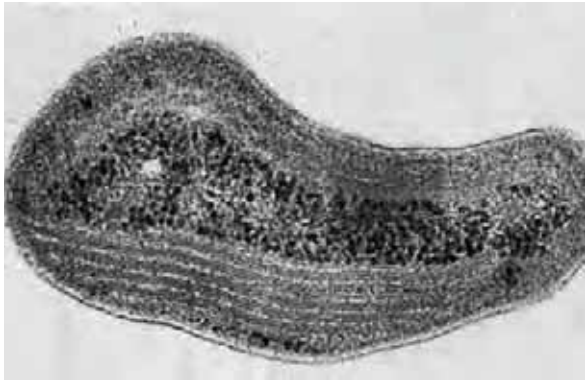
[a]Todas excepto *Methylacidiphilum* son proteobacterias.
[b]Membranas internas: tipo I, grupos de vesículas discoidales distribuidas por todo el organismo; tipo II, pares de membranas perimetrales. Véase la Figura 14.38.
[c]Véase la Figura 13.58.
[d]Acidófilos. Para saber las propiedades de las verrucomicrobiáceas acuda a la Sección 15.17.

Los *metanótrofos de tipo I* asimilan compuestos de un carbono mediante el ciclo del monofosfato de ribulosa, y son *Gammaproteobacteria*. Por otro lado, los *metanótrofos de tipo II* asimilan intermediarios C_1 por la ruta de la serina y son *Alphaprotobacteria* (Tabla 14.2). En la Sección 13.23 ya analizamos los detalles bioquímicos de estas rutas. La mayor parte de los metanótrofos están especializados metabólicamente para el crecimiento aerobio con metano, aunque algunos pueden crecer tanto con metano como con metanol. Los metanótrofos suelen ser metilótrofos estrictos; no obstante, el género metanótrofo *Methylocella* comprende especies que también pueden crecer con sustratos multicarbonados.

Además de las proteobacterias metanótrofas que acabamos de describir, el filo *Verrucomicrobia* contiene la bacteria *Methylacidiphilum*. El análisis genómico ha demostrado que algunas especies de *Methylacidiphilum* carecen de enzimas fundamentales para las rutas del monofosfato de ribulosa y de la serina. En lugar de esas rutas, *Methylacidiphilum* utiliza el ciclo de Calvin para asimilar carbono a partir del CO_2.

Fisiología

Los metanótrofos poseen una enzima fundamental, la *metano-monooxigenasa*, que cataliza la incorporación de un átomo de oxígeno del O_2 al metano (CH_4) para formar metanol (CH_3OH, ↻ Sección 13.23). La necesidad de O_2 como reactivo en la oxigenación inicial del metano explica por qué estos metanótrofos son aerobios estrictos. La metano-moooxigenasa está situada en unos sistemas extensos de membranas internas que son el lugar de oxidación del metano. En los metanótrofos de tipo I las membranas están dispuestas como grupos de vesículas discoidales distribuidos por toda la célula (**Figura 14.38*b***). Las especies de tipo II poseen membranas emparejadas a lo largo de todo el


D. W. Ribbons

(a)


D. W. Ribbons

(b)

Figura 14.38 **Metanótrofos.** *(a)* Micrografía electrónica de una célula de *Methylosinus*, en la que se ve un sistema de membrana de tipo II. Cada célula tiene un diámetro de unos 0,6 µm. *(b)* Micrografía electrónica de una célula de *Methylococcus capsulatus* con un sistema de membrana de tipo I. Las células tienen un diámetro aproximado de 1 µm. Compárese con la Figura 14.33.

perímetro de la célula (Figura 14.38*a*). Los metanótrofos verrucomicrobios también poseen vesículas membranosas. Los metilótrofos incapaces de usar metano carecen de estas formaciones membranosas internas.

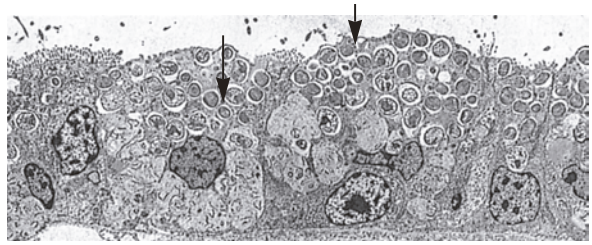
Los metanótrofos son prácticamente únicos entre las bacterias en cuanto a que poseen grandes cantidades de esteroles. Los esteroles son moléculas planas rígidas que se localizan en la membrana citoplasmática y otras membranas eucarióticas, pero no se encuentran en la mayoría de las bacterias. Los esteroles pueden ser una parte esencial del complejo sistema de membranas internas para la oxidación del metano (véase la Figura 14.38). El otro único grupo de bacterias con amplia distribución de esteroles es el de los micoplasmas, bacterias que carecen de pared celular, por lo que probablemente necesiten una membrana citoplasmática más dura (↔ Sección 15.9). Muchos metilótrofos contienen diversos pigmentos carotenoides y una alta concentración de citocromos en sus membranas, y estas características suelen dar a las colonias de metilótrofos aerobios un color rosado.

Ecología

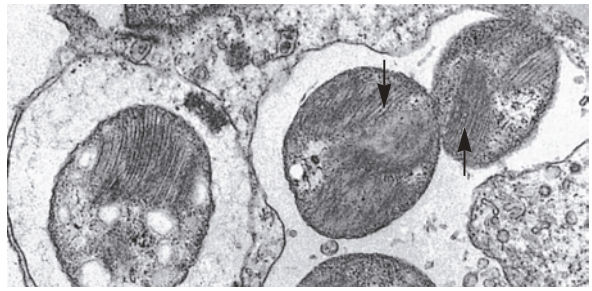
Los metilótrofos aerobios se encuentran en mar abierto, en suelos, en asociación con las raíces de las plantas y la superficie de las hojas y en la interfase óxica de muchos ambientes anóxicos (↔ Sección 13.23). Durante la degradación de las pectinas vegetales se produce metanol, y es probable que constituya un sustrato importante para los metilótrofos en los ecosistemas terrestres. Además, los suelos contienen metanótrofos aerobios que consumen metano atmosférico y son importantes sumideros biológicos de este compuesto. Los metanótrofos aerobios también son frecuentes en la interfase óxica de los ambientes anóxicos presentes en lagos, sedimentos y humedales, donde los metanógenos suponen una fuente constante de metano. Estos metanótrofos desempeñan una función importante en el ciclo del carbono global al oxidar el metano y convertirlo en material celular y CO_2 antes de que llegue a la atmósfera (el metano es un potente gas invernadero).

Los metanótrofos también establecen diferentes tipos de simbiosis con organismos eucariotas. Por ejemplo, algunos mejillones marinos viven cerca de emisiones de hidrocarburos en el fondo marino, sitios en los que el metano se libera en grandes cantidades. Los simbiontes metanótrofos viven en el tejido de las branquias del animal (**Figura 14.39**), lo que les asegura un buen intercambio de gas con el agua del mar. El metano asimilado es distribuido por todo el animal mediante la excreción de compuestos orgánicos por parte de los metanótrofos. Así pues, estas simbiosis metanotróficas son conceptualmente similares a las que se desarrollan entre los quimiolitótrofos oxidadores de sulfuro y los gusanos tubícolas y las almejas gigantes de las fumarolas hidrotermales (↔ Sección 22.12).

Methylomirabilis oxyfera es un metanótrofo aislado de aguas anóxicas del mar Negro, y fue el primero que se aisló del singular filo bacteriano NC-10 (véase la página 461). A pesar de ser un anaerobio estricto, *M. oxyfera* utiliza metano-monooxigenasa, la enzima dependiente de oxígeno de los metanótrofos aerobios, para oxidar metano a CO_2. Lo hace reduciendo nitrito a óxido nítrico (NO), que después es dismutado a nitrógeno y oxígeno ($2\ NO \rightarrow N_2 + O_2$). El oxígeno producido en esta ruta es consumido por la metano-monooxigenasa durante la oxidación del metano (↔ Sección 13.24). Al igual que el metanótrofo *Methylacidiphilum*, *M. oxyfera* asimila unidades C_1 en forma de CO_2, probablemente mediante el ciclo de Calvin.



(a)



(b)

Figura 14.39 Simbiontes metanótrofos de bivalvos marinos. *(a)* Micrografía electrónica de una sección fina a pocos aumentos de tejido de las branquias de un bivalvo marino que vive cerca de emanciones de hidrocarburos en el golfo de México. Las flechas indican la localización de los metanótrofos simbiontes en los tejidos. *(b)* Imagen a gran aumento del tejido de las branquias en el que se ven metanótrofos con grupos de membranas de tipo I (flechas). Las células de los metanótrofos tienen un diámetro aproximado de 1 µm. Compárese con la Figura 14.38*b*.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cuál es la diferencia entre un metanótrofo y un metilótrofo?
- ¿Qué tiene de exclusivo el metanótrofo *Methylomirabilis*?

14.18 Bacterias del ácido acético y acetógenas

Diversos microorganismos producen *acetato* como subproducto del metabolismo, por ejemplo, los microorganismos fermentadores (↔ Secciones 13.11 a 13.15), los reductores incompletos del sulfato (Sección 14.9) y los reductores incompletos del hierro (Sección 14.14). En esta sección estudiaremos los organismos cuyo producto metabólico principal es el acetato. Entre ellos están las **bacterias del ácido acético**, aerobios estrictos utilizados en la producción industrial del ácido acético (vinagre) a partir de azúcares o de alcoholes. También trataremos de los **acetógenos**, anaerobios estrictos que utilizan la ruta de la acetil-CoA (↔ Sección 13.19) para producir acetato a partir de compuestos C_1. Veremos que la producción de acetato en estos dos grupos tiene lugar a través de rutas metabólicas bastante diferentes y que las bacterias del ácido acético y los acetógenos se diferencian tanto en su fisiología como en su ecología.

Bacterias del ácido acético

Géneros principales: *Acetobacter, Gluconobacter*

Las bacterias del ácido acético comprenden bacilos gramnegativos, móviles y aerobios estrictos que llevan a cabo la oxidación incompleta de alcoholes y azúcares, lo que provoca la acumulación de ácidos orgánicos como productos finales. Con el etanol (C_2H_5OH) como sustrato se produce ácido acético ($C_2H_4O_2$), que da su nombre a las bacterias del ácido acético. Como es de esperar, las bacterias del ácido acético son tolerantes a las condiciones ácidas; la mayoría de las cepas crecen bien a valores de pH por debajo de 5. Las bacterias del ácido acético son un grupo heterogéneo de alfaproteobacterias que incluye tanto flagelados perítricos (*Acetobacter*), como flagelados polares (*Gluconobacter*).

Las bacterias del ácido acético se encuentran con frecuencia en zumos de frutas fermentados, como sidra o vino, o en la cerveza. Las colonias de bacterias del ácido acético se pueden reconocer en placas de agar con carbonato de calcio ($CaCO_3$) y etanol, porque el ácido acético que producen disuelve el carbonato, que de otro modo es insoluble, y genera zonas claras en las placas (**Figura 14.40**). Los cultivos de bacterias del ácido acético se usan en la producción comercial de vinagre. Además de etanol, las bacterias del ácido acético llevan a cabo la oxidación incompleta de algunos alcoholes y azúcares más grandes. Por ejemplo, la glucosa se oxida a ácido glucónico y el sorbitol se oxida a sorbosa. Esta propiedad de «infraoxidación» es explotada en la fabricación industrial de ácido ascórbico (vitamina C), en la que se usa la sorbosa como precursor.

Otra propiedad interesante de algunas bacterias del ácido acético es su capacidad para sintetizar celulosa químicamente semejante a la celulosa que se encuentra en las plantas. La celulosa producida por las bacterias del ácido acético se forma como una matriz en el exterior de la pared celular, y hace que las células queden embebidas en una masa enmarañada de microfibrillas de celulosa. Cuando estas especies de bacterias del ácido acético crecen en un matraz sin agitar, forman una película superficial de celulosa en la que se desarrollan las bacterias, probablemente para conseguir entrar en contacto con el aire.

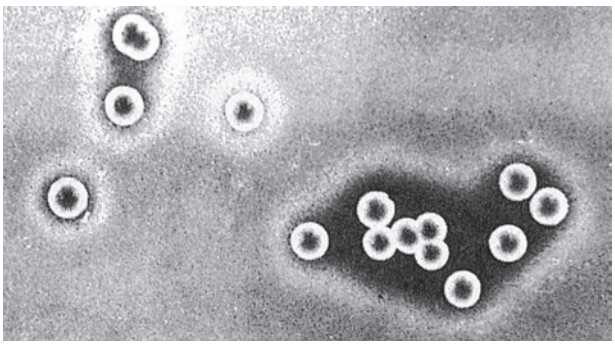
Acetógenos

Géneros principales: *Acetobacterium, Clostridium*

Los acetógenos son anaerobios estrictos que producen acetato como producto principal del metabolismo. La mayor diversidad de los acetógenos se encuentra en el filo *Firmicutes*, pero también se han descrito en *Spirochaetes* y en *Acidobacteria* (Figura 14.1). Los verdaderos acetógenos usan la ruta reductora de la acetil-CoA para obtener energía y asimilar carbono para el crecimiento (↪ Sección 13.19).

Muchos acetógenos crecen usando compuestos orgánicos sencillos como azúcares, alcoholes y ácidos orgánicos; para ello, en primer lugar oxidan estas moléculas a acetato y CO_2 y luego fijan la energía y asimilan el carbono mediante la ruta de la acetil-CoA. El uso de esta ruta también permite a la mayoría de los acetógenos crecer usando compuestos C_1 como única fuente de carbono y energía. Muchos acetógenos pueden crecer autotróficamente usando hidrógeno, CO_2 o metanol como donador de electrones. Con frecuencia se les llama *homoacetógenos* cuando el acetato es el único producto de su metabolismo. Algunos acetógenos pueden usar la ruta de la acetil-CoA para sintetizar otros productos (como butirato o etanol), si bien el acetato sigue siendo el producto principal del metabolismo acetógeno.

Los acetógenos son frecuentes en sedimentos anaerobios y suelos anegados, donde intervienen en la degradación de la materia orgánica. Los acetógenos que utilizan hidrógeno son especialmente importantes en las comunidades del intestino, donde compiten con los metanógenos por el hidrógeno. El acetato se asimila con facilidad en las paredes del intestino y contribuye a la nutrición del hospedador. La acetogénesis es un proceso dominante en el metabolismo total de los carbohidratos de la macrobiota intestinal de los seres humanos. Además, los termes obtienen más de un tercio de su energía del acetato producido por las espiroquetas acetógenas de su tubo digestivo.



T. D. Brock

Figura 14.40 **Colonias de *Acetobacter aceti* en agar con carbonato de calcio ($CaCO_3$) que contiene etanol como donador de electrones.** Obsérvese la zona clara alrededor de las colonias a causa de la disolución del carbonato por el ácido acético producido.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué procesos industriales utilizan bacterias del ácido acético?
- ¿Cuáles son las diferencias principales entre las bacterias del ácido acético y los acetógenos?

14.19 Bacterias depredadoras

Géneros principales: *Bdellovibrio, Myxococcus*

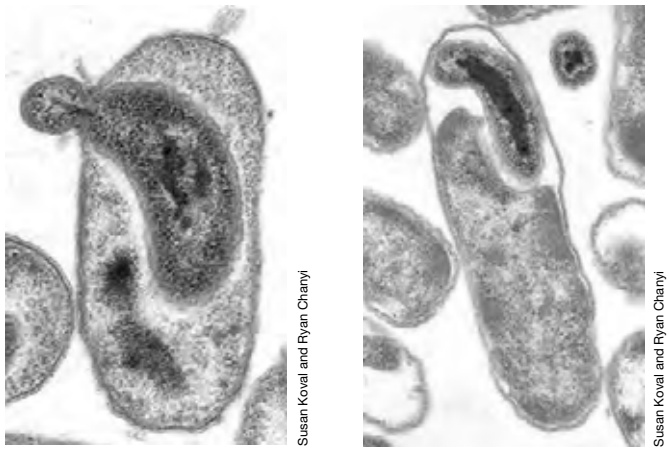
Algunas bacterias son depredadoras que se alimentan de otras bacterias. Las bacterias depredadoras conocidas pertenecen a distintas clases de *Proteobacteria* y de *Bacteroidetes*. Se han observado varios métodos de depredación diferentes. Algunos depredadores, como *Vampirococcus* (de filogenia desconocida) y *Micavibrio* (*Alphaproteobacteria*) son *depredadores epibióticos*; se adhieren a la superficie de su presa y adquieren los nutrientes de su citoplasma o periplasma. Otros depredadores, como *Daptobacter* (*Epsilonproteobacteria*) son *depredadores citoplasmáticos*, que invaden las células de sus hospedadores y se replican en el citoplasma, de modo que se alimentan de su presa desde el interior. *Bdellovibrio* tiene un estilo de vida similar como *depredador periplasmático*; invade las células de su presa y se replica en el espacio periplasmático. Por último, depredadores como *Lysobacter* (*Gammaproteobacteria*) y *Myxococcus* (*Deltaproteobacteria*) son *depredadores sociales*. Estas bacterias deslizantes usan su capacidad de formar enjambres para encontrar a sus presas, y una vez localizadas las lisan y se alimentan de ellas colectivamente. Los géneros de depredadores bacterianos mejor descritos son *Bdellovibrio* y *Myxococcus*.

Bdellovibrio

Las bacterias del género *Bdellovibrio* son pequeñas y curvadas, de gran motilidad, que capturan otras bacterias y usan los constituyentes citoplasmáticos de sus hospedadores como nutrientes (*bdello* es un prefijo que significa «sanguijuela»). Cuando una célula de *Bdellovibrio* se une a su presa, el depredador penetra a través de la pared celular y se replica en el espacio periplasmático, hasta formar una estructura esférica llamada *bdelloplasto*. En las micrografías electrónicas de la **Figura 14.41** y en el esquema de la **Figura 14.42** se muestran dos etapas de la penetración. *Bdellovibrio* ataca una gran variedad de bacterias gramnegativas, pero no se le conocen presas grampositivas.

Bdellovibrio es un aerobio estricto que obtiene su energía de la oxidación de aminoácidos y acetato. Además, *Bdellovibrio* asimila nucleótidos, ácidos grasos, péptidos e incluso algunas proteínas intactas directamente de su hospedador sin hidrolizarlos primero. Sin embargo, se pueden aislar y cultivar en medios complejos cepas de *Bdellovibrio* independientes de sus presas, lo que demuestra que la depredación no es un modo de vida obligado para estos organismos.

Filogenéticamente, *Bdellovibrio* pertenece a las *Deltaproteobacteria*, y es muy habitual en hábitats acuáticos. Los procedimientos para aislar esta bacteria son semejantes a los que se utilizan para aislar virus bacterianos (↔ Sección 8.4). Las bacterias presa se extienden en la superficie de una placa de agar formando un césped bacteriano, y se inocula una pequeña cantidad de suspensión de suelo que ha sido filtrado con un filtro de membrana; el filtro retiene la mayoría de las bacterias, pero permite el paso de las pequeñas células de *Bdellovibrio*. Al incubar la placa de agar, en los sitios en los que se multiplican las células de *Bdellovibrio* se forman calvas análogas a las calvas de los bacteriófagos (↔ Figura 8.8*b*). A partir de estas calvas se pueden aislar cultivos puros de *Bdellovibrio*. Es una bacteria extensamente distribuida, ya que se han obtenido cultivos a partir de muchos suelos y de aguas residuales.



(a) (b)

Figura 14.41 Ataque de *Bdellovibrio* a una célula presa. Micrografías electrónicas de secciones finas de *Bdellovibrio* atacando una célula de *Delftia acidovorans*. *(a)* Entrada de la célula depredadora. *(b)* Célula de *Bdellovibrio* en el interior del hospedador. La célula de *Bdellovibrio* está rodeada por el bdellopasto y se replica en el espacio periplasmático. Una célula de *Bdellovibrio* mide unos 0,3 µm de diámetro.

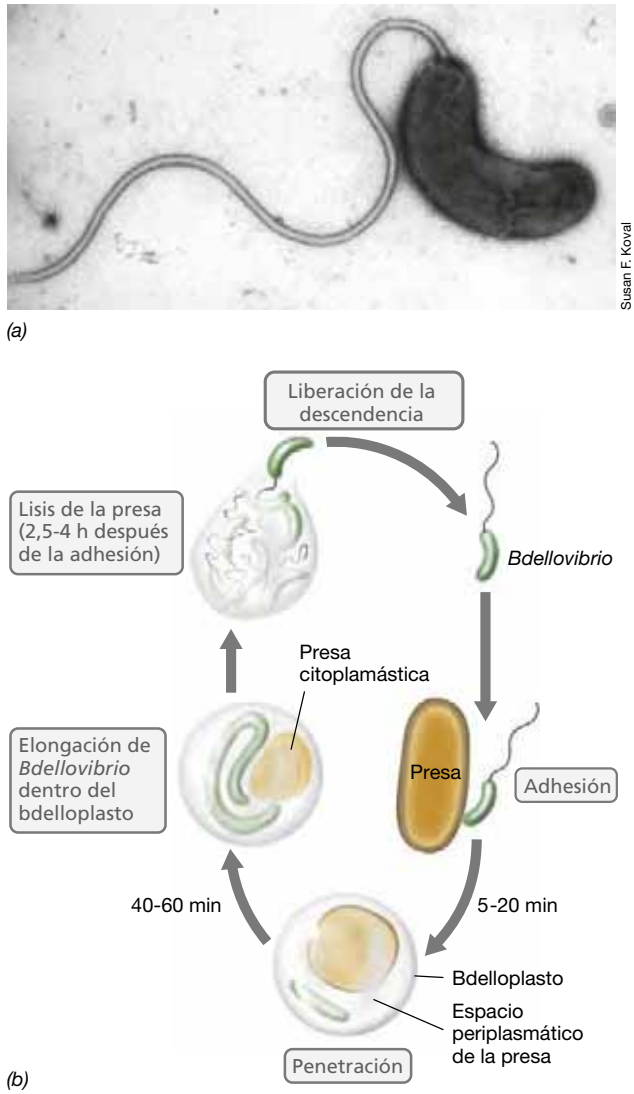


Figura 14.42 Ciclo de desarrollo del depredador bacteriano *Bdellovibrio bacteriovorus*. *(a)* Micrografía electrónica de una célula de *Bdellovibrio bacteriovorus*; obsérvese el grueso flagelo. Una célula mide unos 0,3 µm de ancho. *(b)* Etapas de la depredación. Después del primer contacto con una bacteria gramnegativa, la célula de *Bdellovibrio*, de gran motilidad, se adhiere a la presa y penetra en su espacio periplasmático. Allí, las células de *Bdellovibrio* se alargan y en 4 horas se libera la descendencia. El número de células que produce varía según el tamaño de la bacteria atacada; en *Escherichia coli* se liberan 5 o 6 células hijas, y de una presa más grande, como *Aquaspirillum*, entre 20 y 30.

Mixobacterias

Las mixobacterias presentan los patrones de comportamiento más complejos de todas las bacterias conocidas. El ciclo biológico de las mixobacterias culmina con la formación de estructuras multicelulares llamadas *cuerpos fructíferos*. Estas estructuras suelen ser de colores sorprendentes y morfológicamente elaboradas (**Figura 14.43**), y con frecuencia se pueden observar con una lupa en fragmentos húmedos de madera o material vegetal en descomposición. Las mixobacterias fructificantes se clasifican siguiendo criterios morfológicos a partir de las características de las células vegetativas, las mixosporas, y la estructura de los cuerpos fructíferos.



Figura 14.43 **Cuerpos fructíferos de tres especies de mixobacterias fructificantes.** *(a) Myxococcus fulvus* (125 µm de longitud). *(b) Myxococcus stipitatus* (170 µm de longitud). *(c) Chondromyces crocatus* (560 µm de longitud).

En la **Figura 14.44** se muestra el ciclo de vida de una mixobacteria típica. Las células vegetativas de las mixobacterias son bacilos gramnegativos sencillos, no flagelados (**Figura 14.45**) que se deslizan por las superficies y obtienen sus nutrientes principalmente usando enzimas extracelulares para lisar otras bacterias y tomar los nutrientes liberados. Una célula vegetativa excreta una sustancia mucosa y a medida que se desplaza por una superficie sólida deja tras de sí un rastro viscoso (**Figura 14.46**). Las células vegetativas forman un enjambre que presenta un comportamiento autoorganizado, y esto les permite comportarse como una sola entidad coordinada en respuesta a las señales ambientales.

Cuando los nutrientes escasean, las células vegetativas de las mixobacterias empiezan a migrar las unas hacia las otras y se agregan formando montones o pilas (**Figura 14.47**). Se piensa que la agregación está mediada por respuestas quimiotácticas o de percepción de quórum (↬ Secciones 7.8 y 7.9). A medida que la masa de células se hace más grande, empiezan a diferenciarse y forman los cuerpos fructíferos, que contienen *mixosporas*. Las mixosporas son células especializadas resistentes a la sequía, la radiación

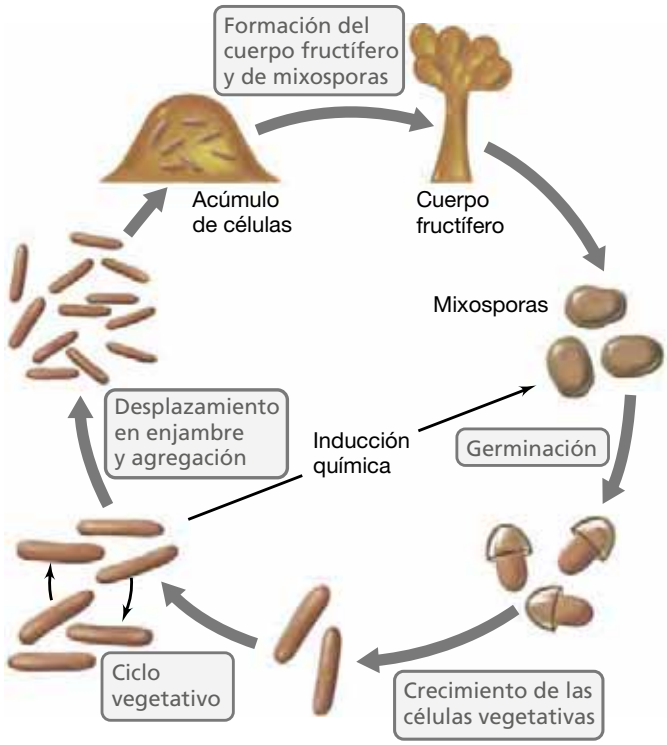


Figura 14.44 **Ciclo biológico de *Mycococcus xanthus*.** La agregación ensambla células vegetativas que después llevan a cabo la formación del cuerpo fructífero, en cuyo interior algunas células experimentan morfogénesis para formar células en reposo llamadas mixosporas. Las mixosporas germinan en condiciones físicas y nutricionales favorables para dar lugar a células vegetativas.

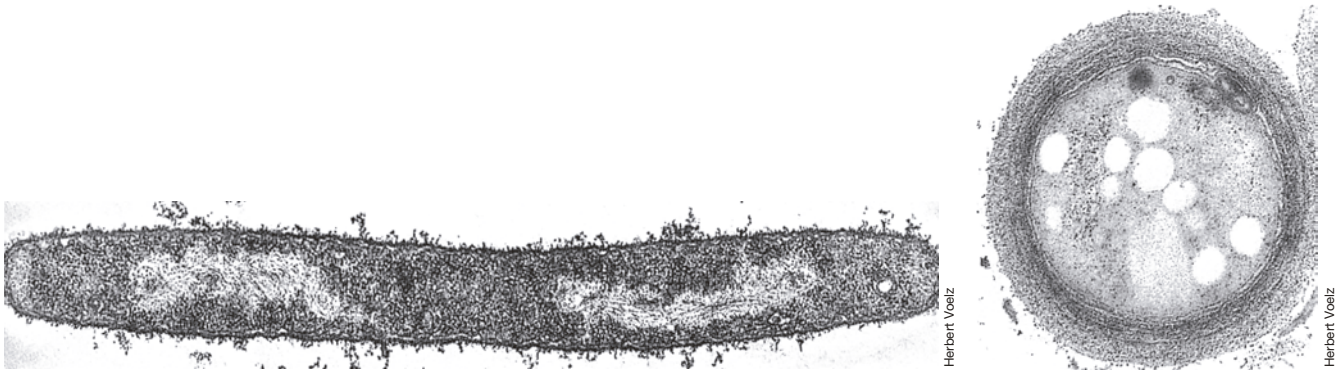


Figura 14.45 ***Myxococcus.*** *(a)* Micrografía electrónica de una sección fina de una célula vegetativa de *Myxococcus xanthus*. Cada célula mide unos 0,75 µm de ancho. *(b)* Mixospora de *M. xanthus* en la que se ve la pared externa con múltiples capas. Las mixosporas miden unos 2 µm de diámetro.

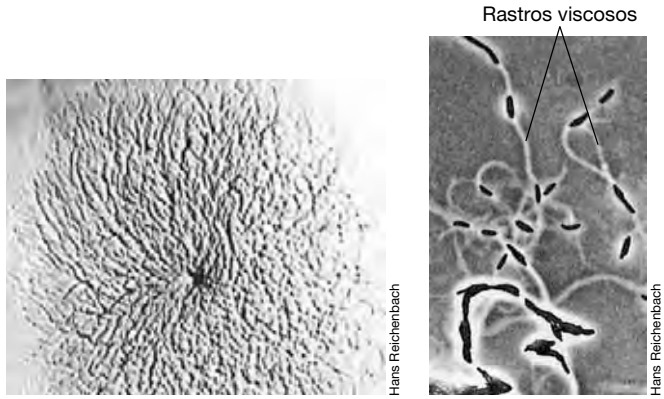


Figura 14.46 **Agregación en enjambre de *Myxococcus.*** *(a)* Micrografía de una colonia en enjambre (radio de 5 mm) de *Myxococcus xanthus* sobre agar. *(b)* Células individuales de *Myxococcus fulvus* de un cultivo que se desliza activamente; se observan los rastros mucosos característicos sobre el agar. Una célula de *M. fulvus* tiene unos 0,8 µm de diámetro. *M. xanthus* se ha utilizado como modelo de las etapas del desarrollo en las mixobacterias.

ultravioleta y el calor, aunque el grado de resistencia al calor es mucho menor que el de las endosporas bacterianas (↔ Sección 2.16). Los cuerpos fructíferos pueden ser sencillos, formados por masas de mixosporas embebidas en mucosa, o complejos, con un tallo y varias cabezas (**Figura 14.48**). El tallo del cuerpo fructífero está compuesto de mucosa en la que hay atrapadas algunas células. La mayoría de las células migran a la cabeza del cuerpo fructífero, donde se diferencian en mixosporas (Figura 14.44).

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué condiciones ambientales desencadenan la formación de un cuerpo fructífero en las mixobacterias?
- ¿Qué diferencias hay entre la forma de matar a sus presas de *Myxococcus* y la de *Bdellobivrio*?

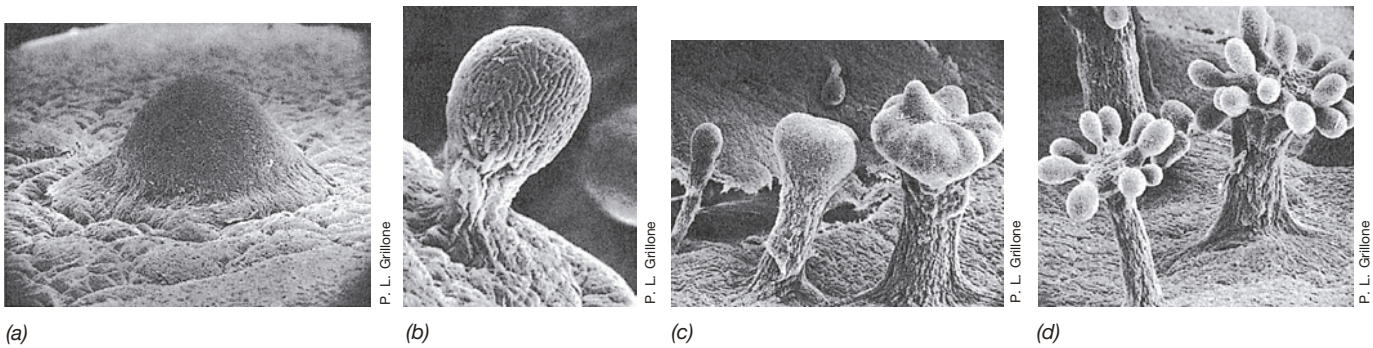
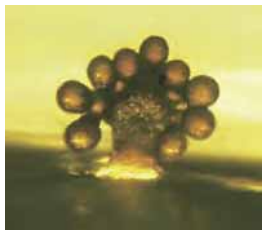
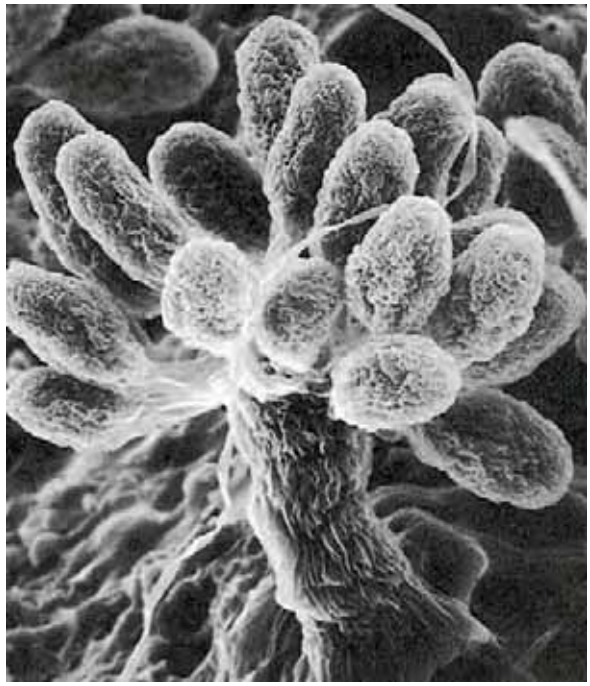


Figura 14.47 **Micrografía electrónica de barrido de la formación de un cuerpo fructífero en *Chondromyces crocatus.*** *(a)* Estadio temprano, donde se muestra la agregación y la formación del montículo. *(b)* Estadio inicial de formación del tallo. La formación de mucosa en la cabeza todavía no ha empezado, de modo que las células que la componen aún son visibles. *(c)* Tres estadios en la formación de la cabeza. Obsérvese que el diámetro del tallo también aumenta. *(d)* Cuerpos fructíferos maduros. Toda la estructura fructificante tiene una altura de unos 600 µm (compárese con la Figura 14.43*c*).


Hans Reichenbach

(a)


David White

(b)

Figura 14.48 ***Stigmatella aurantiaca.*** *(a)* Foto en color de un cuerpo fructífero. El color se debe a la producción de pigmentos carotenoides glucosilados. La estructura tiene unos 150 µm de largo. *(b)* Micrografía electrónica de barrido de un cuerpo fructífero creciendo sobre un trozo de madera. Obsérvese las células individuales visibles en cada cuerpo fructífero.

VI • Diversidad morfológica de las bacterias

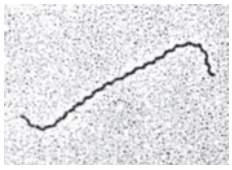
14.20 Espiroquetas y espirilos

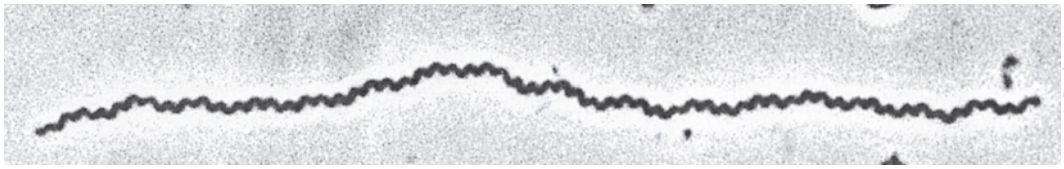
Géneros principales: *Spirochaeta, Treponema, Cristispira, Leptospira, Borrelia*

Las **espiroquetas** son bacterias morfológicamente singulares que se encuentran solamente en el fílum bacteriano *Spirochaetes*. Son bacterias gramnegativas, móviles y fuertemente enrolladas, de forma típicamente alargada y flexible (**Figura 14.49**). Son frecuentes en los sedimentos acuáticos y en los animales. Algunas de ellas causan enfermedades, como la sífilis, una grave enfermedad humana de transmisión sexual (↷ Sección 29.12). Las espiroquetas se clasifican en ocho géneros (**Tabla 14.3**), principalmente según su hábitat, patogenia, filogenia y características morfológicas y fisiológicas.

Las espiroquetas tienen un tipo de motilidad poco frecuente determinado por su inusual morfología. Contienen *endoflagelos*, que se asemejan a los flagelos normales pero se encuentran en el periplasma de la célula (**Figura 14.50**). Estos endoflagelos están anclados a los polos de la célula y se extienden a lo largo de toda la célula. Tanto los endoflagelos como el cilindro protoplasmático están rodeados por una membrana flexible llamada *vaina externa* (Figura 14.50*b*). Los endoflagelos rotan como lo hacen los flagelos bacterianos típicos. No obstante, cuando los endoflagelos de ambos polos rotan en el mismo sentido, el cilindro protoplasmático lo hace en sentido contrario y genera torsión en la célula (Figura 14.50*b*). Esta torsión hace que la célula de la espiroqueta se flexione, de manera que el movimiento resultante es similar al de un sacacorchos, y permite a la célula avanzar hundiéndose en materiales o tejidos viscosos (Figura 14.50*b*).

A menudo las espiroquetas se confunden con los espirilos. Los **espirilos** son bacilos curvos helicoidales, normalmente


E. Canale-Parola


E. Canale-Parola

(a) (b)

Figura 14.49 **Morfología de las espiroquetas.** Dos espiroquetas observadas con el mismo aumento, que ilustran el amplio rango de tamaños de este grupo. *(a) Spirochaeta stenostrepta* al microscopio de contraste de fases. Cada célula mide unos 0,25 µm de diámetro. *(b) Spirochaeta plicatilis*. Cada célula mide unos 0,75 µm de diámetro y puede alcanzar 250 µm (0,25 mm) de longitud.

Tabla 14.3 Géneros de espiroquetas y sus características

Género	*Dimensiones (mm)*	*Características generales*	*Número de endoflagelos*	*Hábitat*	*Enfermedades*
Cristispira	30-150 × 0,5-3,0	3-10 vueltas de espiral completas; manojo de endoflagelos visibles por microscopía de contraste de fases	>100	Tubo digestivo de moluscos; no se ha cultivado	No se conocen
Spirochaeta	5-250 × 0,2-0,75	Anaerobio o aerobio facultativo; vueltas de espiral fuertes o flojas	2-40	Acuático, de vida libre, agua dulce y marina	No se conocen
Treponema	5-15 × 0,1-0,4	Microaerófilo o anaerobio; vueltas de espiral helicoidales o planas con amplitud de hasta 0,5 µm	2-32	Comensal o parásito en humanos y otros animales	Sífilis, pian, disentería porcina, pinta
Borrelia	8-30 × 0,20,5	Microaerófilo; 5-7 vueltas de espiral de aproximadamente 1 µm de amplitud	7-20	Humanos y otros mamíferos, artrópodos	Fiebres recurrentes, enfermedad de Lyme, borreliosis ovina y bovina
Leptospira	6-0 × 0,1	Aerobio, fuertemente enrollado con extremos curvados o en gancho; requiere ácidos grasos de cadena larga	2	Vida libre o parásito en humanos y otros mamíferos	Leptospirosis
Leptonema	6-20 × 0,1	Aerobio; no requiere ácidos grasos de cadena larga	2	Vida libre	No se conocen
Brachyspira	7-10 × 0,35-0,45	Anaerobio	8-28	Intestino de animales de sangre caliente	Diarrea en pollos y cerdos
Brevinema	4-5 × 0,2-0,3	Microaerófilo; por análisis de la secuencia de rRNA 16S supone una bifurcación profunda en el linaje de las espiroquetas	2	Sangre y tejidos de ratones y musarañas	Infeccioso para ratones de laboratorio

móviles gracias a sus flagelos polares (**Figura 14.51**). La palabra *espirilo* hace referencia a una forma de las células muy extendida entre bacterias y arqueas. El número de vueltas helicoidales en un espirilo determinado puede variar de menos de una vuelta completa (en cuyo caso, el organismo se parece a un vibrio) hasta muchas vueltas. Además, los espirilos que se dividen por su zona terminal, como la cianobacteria *Spirulina* (Figura 14.5), pueden formar largos filamentos helicoidales que se parecen superficialmente a las espiroquetas. No obstante, los espirilos carecen de la vaina externa, los endoflagelos y la motilidad de tipo sacacorchos de las espiroquetas. Además, los espirilos suelen ser células bastante rígidas, mientras que las espiroquetas son muy flexibles y bastante finas (< 0,5 µm).

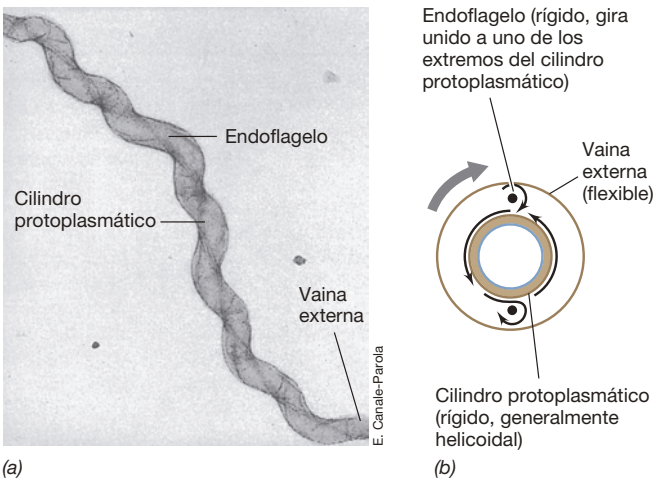
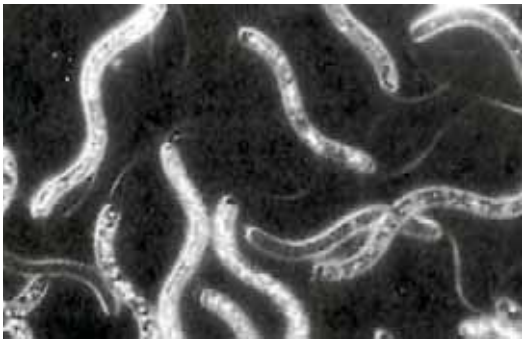


Figura 14.50 **Motilidad en espiroquetas.** *(a)* Micrografía electrónica de una célula de *Spirochaeta zuelzerae* teñida negativamente en la que se muestra la posición del endoflagelo; la célula tiene un diámetro de unos 0,3 µm. *(b)* Esquema de una célula de espiroqueta donde se muestra la disposición del cilindro citoplasmático, los endoflagelos y la vaina externa. También muestra cómo la rotación del endoflagelo genera la rotación del cilindro protoplasmático y de la vaina externa.

Spirochaeta y *Cristispira*

El género *Spirochaeta* comprende espiroquetas de vida libre, anaerobias y aerobias facultativas. Estos organismos, de los que se conocen diversas especies, son habituales en ambientes acuáticos como los de agua dulce y los sedimentos, y también en el mar. *Spirochaeta plicatilis* (Figura 14.49*b*) es una gran espiroqueta que se encuentra en ambientes de aguas dulces sulfurosa y en hábitats marinos. La veintena aproximada de endoflagelos insertos en cada polo de *S. plicatilis* se disponen formando un penacho que envuelve el cilindro protoplasmático enrollado. Otra especie, *Spirochaeta stenostrepta* (Figura 14.49*a*) es un anaerobio estricto que se encuentra con frecuencia en lodos negros ricos en sulfuro de hidrógeno. Fermenta azúcares a etanol, acetato, lactato, CO_2 e hidrógeno.

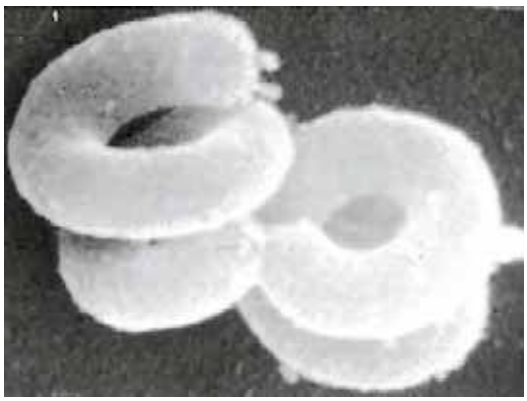
Cristispira (**Figura 14.52**) es una espiroqueta singular que en la naturaleza se ha encontrado únicamente en el estilo cristalino de algunos moluscos, como las almejas y las ostras. El estilo


Noel Krieg

(a)

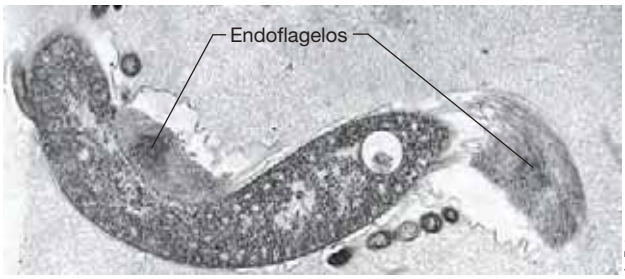

Stanley Erlandsen

(b)


H. D. Raj

(c)

Figura 14.51 **Espirilos.** *(a) Spirillum volutans* visualizados por microscopía de fondo oscuro que muestra los haces de flagelos y los gránulos de volutina (polifosfato). Las células miden aproximadamente 1,5 × 25 µm. *(b)* Micrografía electrónica de barrido de un espirilo intestinal. Obsérvese los penachos de flagelos y la estructura helicoidal de la superficie de la célula. *(c)* Micrografía electrónica de barrido de células de *Ancylobacter aquaticus*. Las células miden unos 0,5 µm de diámetro.



A. Ryter

Figura 14.52 ***Cristispira.*** Micrografía electrónica de una sección fina de una célula de *Cristispira*. Se trata de una espiroqueta grande, de unos 2 µm de diámetro. Obsérvese los numerosos endoflagelos.

cristalino es una estructura flexible y semisólida en forma de bastón, situada en el interior de un saco y que al rotar contra una superficie dura del tubo digestivo mezcla y tritura las pequeñas partículas de alimento ingeridas por el animal. *Cristispira* vive en moluscos de agua dulce y marinos, pero no todas las especies de moluscos son hospedadores de este organismo. Lamentablemente aún no se ha podido cultivar *Cristispira* en el laboratorio, de modo que se desconocen las razones fisiológicas para que esté restringida a este hábitat tan particular.

Treponema y *Borrelia*

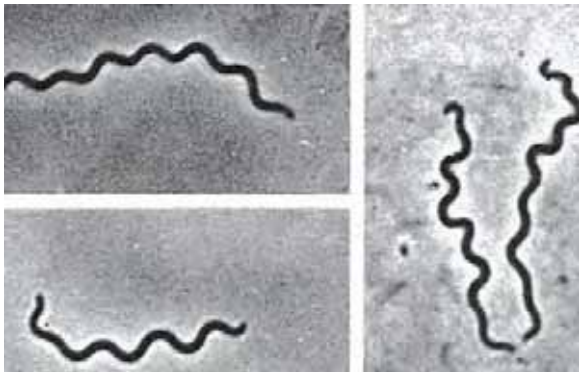
Las espiroquetas anaerobias o microaerófilas asociadas a un hospedador que son comensales o patógenos de humanos y otros animales pertenecen al género *Treponema*. *T. pallidum*, el agente causante de la sífilis (↻ Sección 29.12), es la especie mejor conocida de *Treponema*. Se diferencia morfológicamente de otras espiroquetas porque las células de *Treponema* no son helicoidales, sino planas y onduladas. Las células de *T. pallidum* son notablemente finas, ya que miden solamente 0,2 µm de diámetro. Por esta razón, desde hace mucho tiempo se usa la microscopía de campo oscuro para examinar exudados de presuntas lesiones sifilíticas (↻ Figura 29.37).

También se encuentran otras especies de *Treponema* como comensales en humanos y otros animales. Por ejemplo, *T. denticola* es habitual en la cavidad bucal humana y está asociada a la periodontitis. Fermenta aminoácidos como cisteína y serina y forma acetato como ácido principal de la fermentación, así como CO_2, amoniaco y sulfuro de hidrógeno. Las espiroquetas también son frecuentes en el rumen, el órgano digestivo de los rumiantes (↻ Sección 22.7). Por ejemplo, *T. saccharophilum* (**Figura 14.53**) es una espiroqueta grande y pectinolítica que se encuentra en el rumen de los bóvidos, donde fermenta pectina, almidón, inulina y otros polisacáridos vegetales. *Treponema primitia* se puede encontrar en el intestino de ciertos termes. En el intestino de los termes, la fermentación de la celulosa genera H_2 y CO_2. *Treponema primitia* es un acetógeno (↻ Sección 13.19) que crece con H_2 y CO_2 y produce acetato, que es un componente importante de la nutrición de los insectos. *Treponema azotonutricium* también se encuentra en el intestino de las termitas y es capaz de fijar nitrógeno (↻ Sección 3.17).

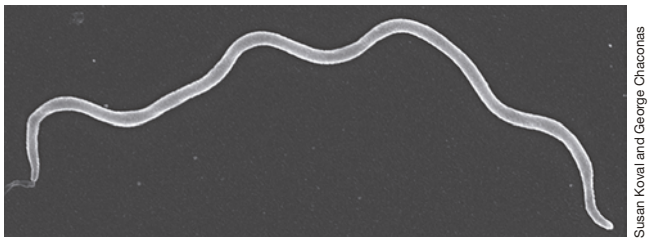
La mayoría de las especies de *Borrelia* son patógenos humanos o de otros animales. *Borrelia burgdorferi* (Figura 14.53*b*) es el agente causal de la *enfermedad de Lyme*, transmitida por las garrapatas, que afecta a humanos y animales (↻ Sección 30.4). Esta bacteria también es interesante porque es una de las pocas bacterias conocidas con un cromosoma lineal (en lugar de circular) (↻ Secciones 4.3 y 6.4). Otras especies de *Borrelia* son principalmente de importancia veterinaria, ya que causan enfermedades a vacas, caballos, ovejas y aves. En la mayoría de los casos, la bacteria es transmitida al animal por la mordedura de una garrapata.

Leptospira y *Leptonema*

Los géneros *Leptospira* y *Leptonema* comprenden espiroquetas aerobias estrictas que oxidan ácidos grasos de cadena larga (por ejemplo, el ácido graso C_{18} ácido oleico) como donadores de electrones y fuente de carbono. Con pocas excepciones, esos son los únicos sustratos que utilizan para crecer. Las células de



(a)



(b)

Figura 14.53 ***Treponema* y *Borrelia*.** *(a)* Micrografías de contraste de fases de *Treponema saccharophilum*, una espiroqueta pectinolítica de gran tamaño del rumen bovino. Cada célula mide unos 0,4 µm de diámetro. Izquierda, células enrolladas de manera regular; derecha, células enrolladas de manera irregular. *(b)* Micrografía electrónica de barrido de una célula de *Borrelia burgdorferi*, el agente causal de la enfermedad de Lyme.

Leptospira son delgadas y están finamente enrolladas, y normalmente se pliegan en los extremos en forma de gancho semicircular. Actualmente se conocen varias especies dentro de este grupo, algunas de vida libre y muchas parásitas. Dos especies importantes de *Leptospira* son *L. interrogans* (parásita) y *L. biflexa* (de vida libre). Las cepas de *L. interrogans* son parásitas de humanos y animales. Los roedores son los hospedadores naturales de la mayoría de especies de *Leptospira*, aunque los perros y los cerdos también son importantes portadores de ciertas cepas.

En los humanos, el síndrome más habitual causado por *Leptospira* es la *leptospirosis*, una enfermedad en la que el microorganismo se localiza en los riñones y puede causar insuficiencia renal e incluso la muerte. Las células de *Leptospira* entran normalmente en el cuerpo a través de las membranas mucosas o por heridas en la piel durante el contacto con un animal infectado. Tras una multiplicación transitoria en diversas partes del cuerpo, el organismo se localiza en los riñones y el hígado y causa nefritis e ictericia. Los animales domésticos como los perros se vacunan contra la leptospirosis con células muertas de una cepa virulenta en la vacuna combinada contra moquillo-leptospirosis-hepatitis.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cuáles son las diferencias principales entre las espiroquetas y los espirilos?
- Nombre dos enfermedades causadas por espiroquetas.

14.21 Bacterias que forman yemas, con prostecas y pedunculadas

Géneros principales: *Hyphomicrobium, Caulobacter*

El crecimiento de la mayoría de las bacterias está acoplado a la división celular mediante el conocido proceso de fisión binaria (↔ Sección 5.1). En esta sección trataremos de organismos que crecen y se dividen de otras maneras, como la gemación y la formación de apéndices. Las especias que forman yemas o tienen apéndices suelen tener ciclos biológicos diferentes a los del resto de las bacterias.

División por gemación

En las bacterias que forman yemas la división es consecuencia de un crecimiento celular desigual. A diferencia de la fisión binaria, en la que se forman dos células equivalentes (↔ Figura 5.1), en la división celular de las bacterias pedunculadas y de las que forman yemas se genera una célula hija completamente nueva, mientras la célula madre mantiene su identidad original (**Figura 14.54**).

Una diferencia fundamental entre las bacterias formadoras de yemas y las que se dividen por fisión binaria es la aparición de nuevo material de pared celular a partir de un solo punto (crecimiento polar), en lugar de por toda la célula (crecimiento intercalar), como ocurre en la fisión binaria (↔ Secciones 5.1 a 5.4). Varios géneros que no suelen considerarse bacterias formadoras de yemas presentan crecimiento polar sin diferenciación del tamaño de la célula (Figura 14.54). Una consecuencia importante del crecimiento polar es que las estructuras

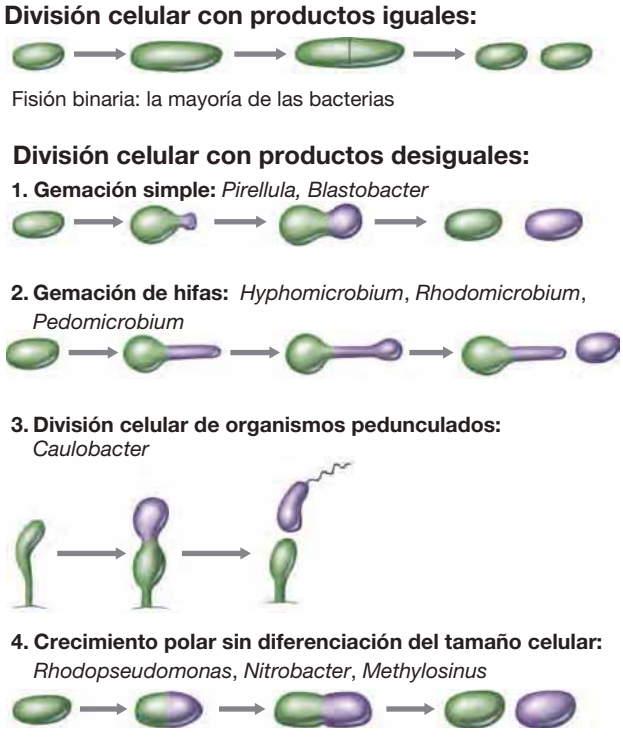


Figura 14.54 **División celular en diferentes bacterias.** Comparación de la división celular en las bacterias convencionales con las de diversas bacterias formadoras de yemas y pedunculadas.

UNIDAD 3

internas, como los complejos membranosos, no se reparten en el proceso de división celular, y deben formarse *de novo*. No obstante, esto supone una ventaja, ya que en estas células se pueden formar estructuras internas más complejas que en las células que se dividen por fisión binaria, porque estas últimas tienen que repartir dichas estructuras entre las dos células hijas. No es una casualidad que muchas bacterias formadoras de yemas, sobre todo las especies fotótrofas y quimiolitótrofas, contengan extensos sistemas membranosos internos.

Bacterias formadoras de yemas: *Hyphomicrobium*

Hay dos bacterias formadoras de yemas muy bien estudiadas que pertenecen a las *Alphaproteobacteria* y están estrechamente relacionadas: *Hyphomicrobium*, que es quimioorganótrofa, y *Rhodomicrobium*, fotótrofa. Estos organismos producen yemas en los extremos de largas y finas hifas. La hifa es una extensión celular directa con pared celular, membrana citoplasmática y ribosomas, y puede tener DNA.

En la **Figura 14.55** se muestra el ciclo vital de *Hyphomicrobium*. La célula madre, a menudo unida por su base a un sustrato sólido, forma una delgada protuberancia que se va alargando hasta convertirse en una hifa. En el extremo de la hifa se forma una yema. Esta yema crece, forma un flagelo, se separa de la célula madre y se aleja nadando. Más tarde, la célula hija pierde su flagelo y tras un período de maduración forma a su vez una hifa e inicia la gemación. En el extremo de la hifa de la célula madre se pueden formar varias yemas, lo que origina grupos de células conectados por hifas. En algunos casos, la yema se forma directamente desde la célula madre sin formación previa de hifa, mientras que en otros casos una célula individual forma una hifa en cada extremo (**Figura 14.56**). Los procesos de replicación del nucleoide se producen antes de la formación de la yema, y cuando esta ya se ha formado, una copia del cromosoma recorre la hifa hasta llegar a la yema. A continuación se forma un septo que separa la yema, todavía en crecimiento, de la hifa y la célula madre (Figura 14.55).

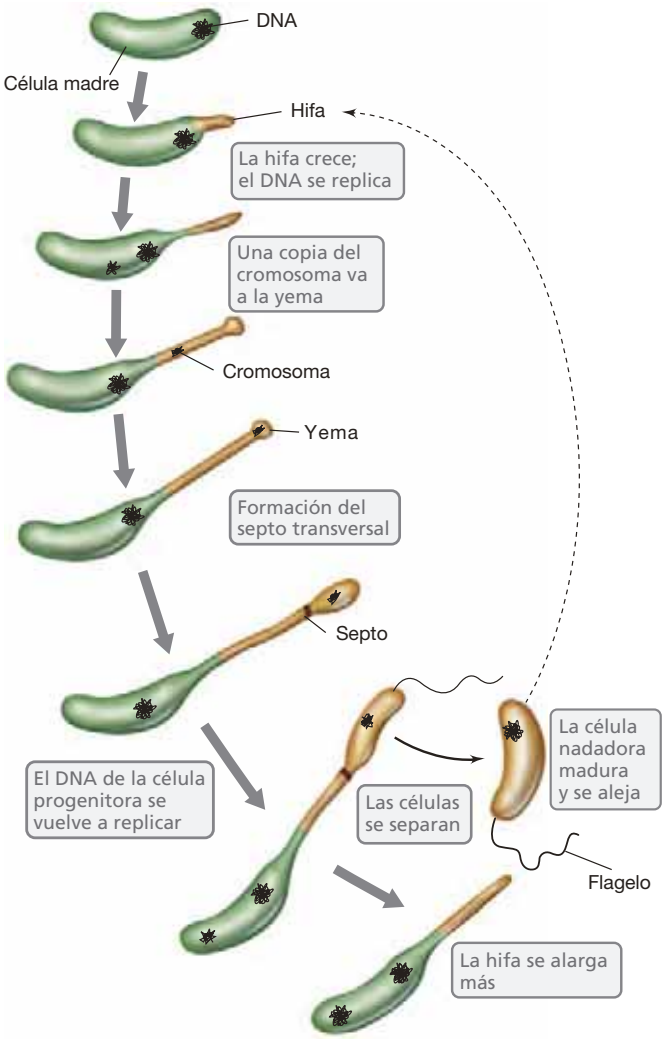


Figura 14.55 **Etapas del ciclo biológico de *Hyphomicrobium*.** *Hyphomicrobium* tiene un solo cromosoma circular.

Fisiológicamente, *Hyphomicrobium* es una bacteria metilótrofa (Sección 14.17), y está presente en hábitats de agua dulce, marinos y terrestres. Sus fuentes de carbono preferidas son compuestos C_1 como el metanol (CH_3OH), la metilamina (CH_3NH_2), el formaldehído (CH_2O) y el formiato ($HCOO^-$). Un proceso de enriquecimiento bastante específico para *Hyphomicrobium* es utilizar metanol como donador de electrones y nitrato (NO_3^-) como aceptor, en un medio diluido incubado en condiciones anóxicas. *Hyphomicrobium* es la única bacteria desnitrificante de crecimiento rápido conocida que utiliza metanol como donador de electrones, de modo que este procedimiento sirve para seleccionar este organismo de una gran variedad de ambientes.

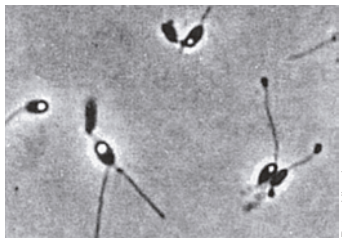
Bacterias con prostecas y pedunculadas

Diversas bacterias pueden producir extrusiones citoplasmáticas como *pedúnculos* (**Figura 14.57**), *hifas* y *apéndices* (**Tabla 14.4**). Las protuberancias de este tipo, que tienen un diámetro menor que la célula madura y contienen citoplasma y pared celular, reciben el nombre colectivo de **prostecas** (**Figura 14.58**). Las prostecas permiten a los organismos adherirse a materia particulada, material vegetal o a otros organismos en hábitats acuáticos. Además, se pueden utilizar para aumentar la relación entre la superficie y el volumen celular. Recordemos que una mayor relación superficie/volumen en las células procariotas refuerza, en general, su capacidad de captar nutrientes y expulsar residuos (↻ Sección 2.6). La inusual morfología de las bacterias con apéndices (Figura 14.58) lleva esta proporción al extremo y puede ser una adaptación evolutiva a la vida en aguas oligotróficas (pobres en nutrientes), que es donde se encuentran con más frecuencia estos organismos.

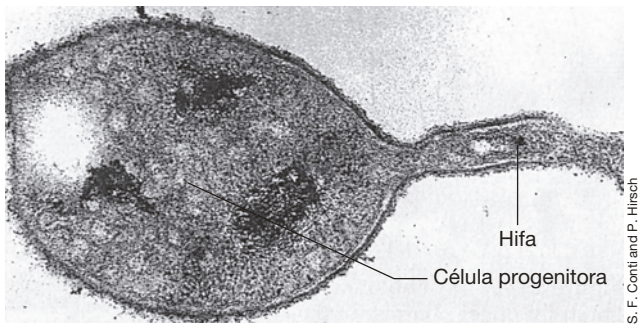
Las prostecas también pueden actuar reduciendo el hundimiento de las células. Al ser estos organismos acuáticos, y dado que su metabolismo es típicamente aerobio, las prostecas pueden evitar que las células se hundan hacia zonas anóxicas en las que no podrían respirar.

Caulobacter

Dos bacterias pedunculadas habituales son *Caulobacter* (Figura 14.57) y *Gallionella* (Figura 14.36). La primera es un quimioorganótrofo que produce un pedúnculo con citoplasma en su interior, es decir, una prosteca, y la segunda es una bacteria quimiolitótrofa oxidadora de hierro cuyo pedúnculo está compuesto por hidróxido férrico ($Fe(OH)_3$) (Sección 14.15). Las



(a)

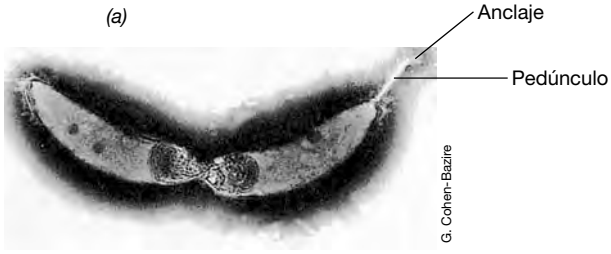


(b)

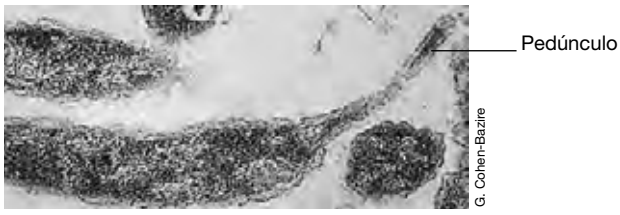
Figura 14.56 **Morfología de *Hyphomicrobium*.** *(a)* Micrografía de contraste de fases de células de *Hyphomicrobium*. Las células miden unos 0,7 µm de ancho. *(b)* Micrografía electrónica de una sección fina de una célula individual de *Hyphomicrobium*. La hifa mide unos 0,2 µm de ancho.



(a)

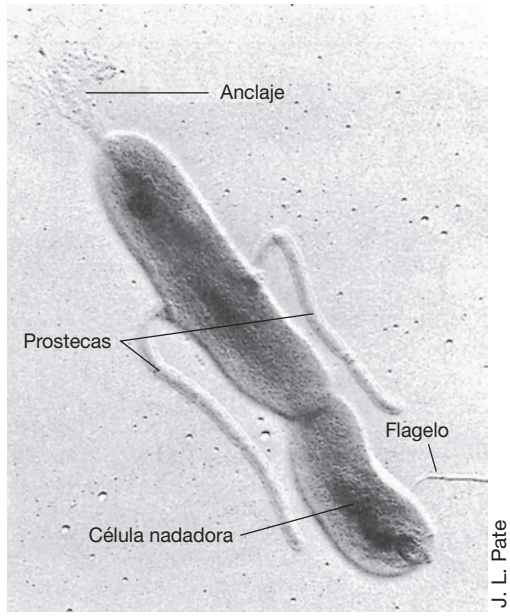


(b)

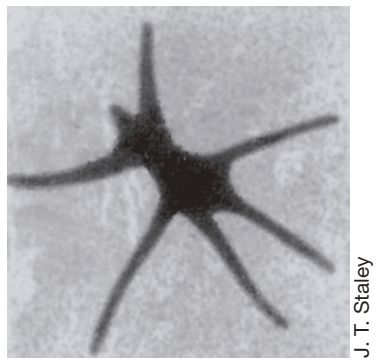


(c)

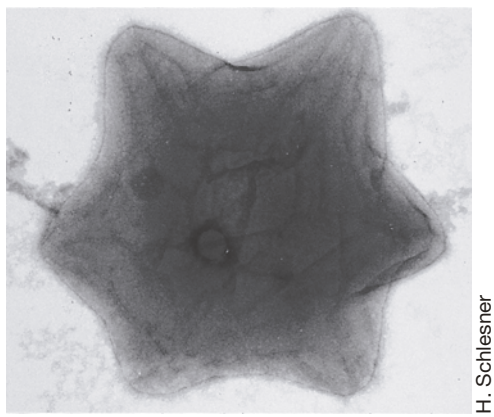
Figura 14.57 **Bacterias pedunculadas.** *(a)* Roseta de *Caulobacter*. Cada célula mide unos 0,5 µm de ancho. Las cinco células están unidas por sus pedúnculos, que también son prostecas. Dos de las células se han dividido, y las células hijas han formado flagelos. *(b)* Tinción negativa de una célula de *Caulobacter* en división. *(c)* Sección fina de *Caulobacter*, en la que se ve que el citoplasma está presente en el pedúnculo. Las partes *b* y *c* son micrografías electrónicas.



(a)



(b)



(c)

Figura 14.58 **Bacterias con prosteca.** *(a)* Micrografía electrónica de una preparación mediante sombra proyectada de *Asticcacaulis biprosthecum* en la que se muestra la ubicación y disposición de las prostecas, el anclaje y una célula nadadora. La célula nadadora se separa de la célula madre y empieza un nuevo ciclo celular. Las células miden unos 0,6 µm de ancho. *(b)* Micrografía electrónica de tinción negativa de una célula de *Ancalomicrobium adetum*. Las prostecas están delimitadas por la pared celular, contienen citoplasma y tienen un diámetro de unos 0,2 µm. *(c)* Micrografía electrónica de *Stella*, bacteria en forma de estrella. Las células miden unos 0,8 µm de diámetro.

Tabla 14.4 Características de los géneros principales de bacterias pedunculadas, con apéndices (prostecadas) y formadoras de yemas

Características	*Género*	*Grupo filogenético*[a]
Bacterias pedunculadas		
El pedúnculo es una extensión del citoplasma e interviene en la división celular	*Caulobacter*	*Alfa*
Células fusiformes y pedunculadas	*Prosthecobacter*	*Verrucomicrobiáceas*[b]
Pedunculadas, pero el pedúnculo es un producto de excreción sin citoplasma:		
Pedúnculo que deposita hierro, células vibrioides	*Gallionella*	*Beta*
Pedúnculo gelatinoso de excreción lateral que no deposita hierro	*Nevskia*	*Gamma*
Bacterias con apéndices (con prostecas)		
Prostecas sencillas o dobles	*Asticcacaulis*	*Alfa*
Prostecas múltiples:		
Prostecas cortas, se multiplican por fisión, algunas con vesículas de gas	*Prosthecomicrobium*	*Alfa*
Células planas y estrelladas, algunas con vesículas de gas	*Stella*	*Alfa*
Prostecas largas, se multiplican por gemación, algunas con vesículas de gas	*Ancalomicrobium*	*Alfa*
Bacterias formadoras de yemas		
Fotótrofas, producen hifas	*Rhodomicrobium*	*Alfa*
Fotótrofas, geman sin hifas	*Rhodopseudomonas*	*Alfa*
Quimioorganótrofas, bacilos	*Blastobacter*	*Alfa*
Quimioorganótrofas, yemas en los extremos de finas hifas:		
Hifas únicas de cada célula parental	*Hyphomicrobium*	*Alfa*
Muchas hifas de cada célula parental	*Pedomicrobium*	*Alfa*

[a]Todas, excepto *Prosthecobacter*, son proteobacterias.
[b]Véase la Sección 15.17.

células de *Caulobacter* se suelen ver en la superficie de ambientes acuáticos en los que los pedúnculos de varias células se unen para formar *rosetas* (Figura 14.57*a*). Al final del pedúnculo hay una estructura llamada *anclaje* mediante el cual el pedúnculo sujeta la célula a una superficie.

El ciclo de división celular de *Caulobacter* (**Figura 14.59**; ↻ Sección 7.12 y Figura 7.26) es singular, porque las células experimentan fisión binaria desigual. Una célula pedunculada de *Caulobacter* se divide por elongación seguida de fisión binaria, y se forma un solo flagelo en el polo opuesto al pedúnculo. La célula flagelada así formada, denominada *célula nadadora*, se separa de la célula madre no flagelada y finalmente se adhiere a una nueva superficie mediante la formación de un nuevo pedúnculo en el extremo flagelado; a continuación el flagelo se pierde. La formación del pedúnculo es el precursor necesario de la división celular, y está coordinada con la síntesis de DNA (Figura 14.59). El ciclo de división celular en *Caulobacter* es, pues, más complejo que la simple fisión binaria o la división por gemación, porque las células pedunculadas y las nadadoras son estructuralmente diferentes y el ciclo de crecimiento debe incluir ambas formas.

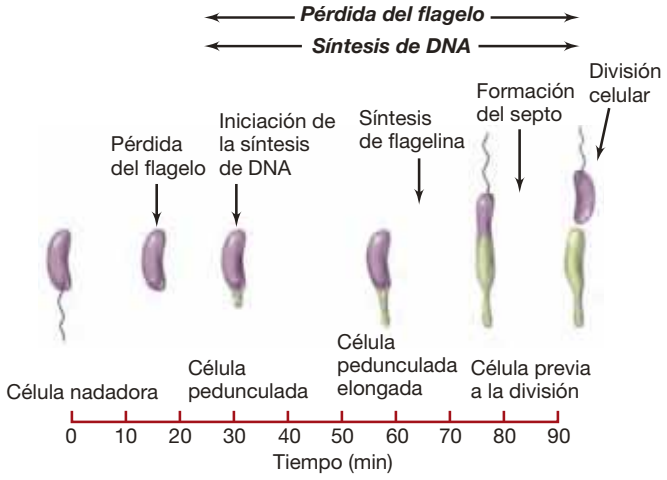


Figura 14.59 Crecimiento de *Caulobacter*. Etapas del ciclo celular de *Caulobacter* empezando por una célula nadadora. Compárese con la Figura 7.26.

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué se diferencia la división por gemación de la fisión binaria? ¿En qué se diferencia la fisión binaria del proceso de división de *Caulobacter*?
- ¿Qué ventaja tiene un organismo con prosteca en ambientes muy pobres en nutrientes?

14.22 Bacterias con vaina

Géneros principales: *Sphaerotilus, Leptothrix*

En muchos filos las bacterias forman vainas hechas de polisacáridos o proteínas que envuelven una o muchas células. A menudo las vainas sirven para unir las células en largos filamentos multicelulares (Secciones 14.3, 14.11). Las bacterias con vaina como *Sphaerotilus* y *Leptothrix* son betaproteobacterias con un ciclo biológico singular. Ambas son bacterias filamentosas que crecen en el interior de una vaina. En condiciones favorables, las células tienen un crecimiento vegetativo y producen vainas largas y llenas de células. Cuando las condiciones son desfavorables, en el interior de la vaina se forman células flageladas nadadoras que salen y se dispersan a nuevos ambientes, dejando tras de sí la vaina vacía.

Sphaerotilus y *Leptothrix* son habituales en hábitats de agua dulce ricos en materia orgánica, como aguas residuales y cursos de agua contaminados. Al encontrarse normalmente en

aguas que fluyen, también son abundantes en filtros por goteo y en digestores de lodos activados en las plantas depuradoras de aguas residuales (↻ Sección 21.6). En hábitats con presencia de hierro reducido (Fe^{2+}) o manganeso reducido (Mn^{2+}), las vainas pueden llegar a cubrirse de hidróxido férrico ($Fe(OH)_3$) u óxidos de manganeso, procedentes de la oxidación de estos metales.

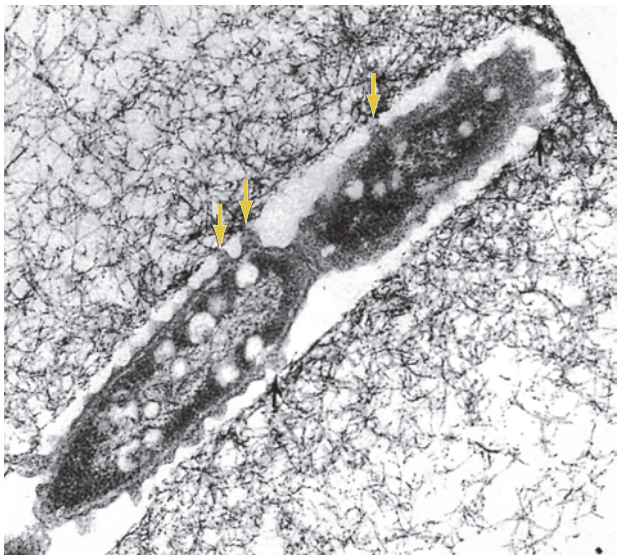
Leptothrix

Es bien conocida la habilidad de *Sphaerotilus* y *Leptothrix* para precipitar óxidos de hierro en sus vainas, y cuando las vainas quedan cubiertas por una costra de hierro como sucede en aguas ricas en hierro, con frecuencia se pueden ver al microscopio (**Figura 14.60**). Cuando el hierro ferroso (Fe^{2+}), quelado con materiales orgánicos como ácidos húmicos o tánicos, se oxida, se forman precipitados de hierro. Estas bacterias quimioorganótrofas usan materia orgánica como fuente de energía, y cuando el hierro ferroso no está quelado, se oxida y precipita en la vaina. La oxidación del hierro es accidental, y si bien estos organismos están estrechamente relacionados con los oxidadores de hierro desasimiladores (Sección 14.15), el organismo no obtiene energía de la oxidación del hierro. De manera semejante, *Leptothrix* también puede oxidar el manganeso.

Sphaerotilus

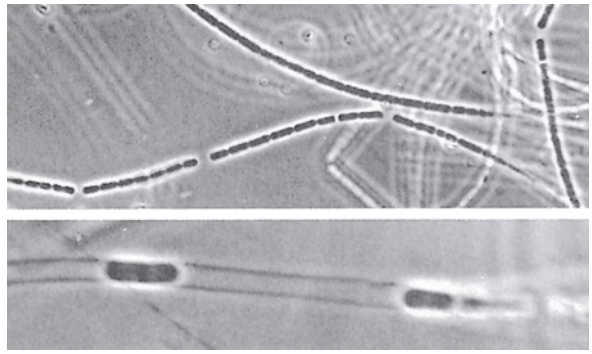
El filamento de *Sphaerotilus* está compuesto por una cadena de bacilos envueltos en una ajustada vaina. Esta estructura fina y transparente es difícil de ver cuando está llena de células, pero cuando está parcialmente vacía se ve más fácilmente (**Figura 14.61*a***). Las células individuales tienen unas dimensiones de 1-2 µm × 3-8 µm, y son gramnegativas. En el interior de la vaina las células se dividen por fisión binaria (Figura 14.61*b*), y las nuevas células sintetizan nuevo material para la vaina en los extremos de los filamentos. Con el tiempo, las células nadadoras se liberan de la vaina (Figura 14.61*c*) y emigran, se adhieren a una superficie sólida y empiezan a crecer; cada célula nadadora es la precursora de un nuevo filamento. La vaina, que carece de peptidoglicano, está formada por proteínas y polisacáridos.

Los cultivos de *Sphaerotilus* son nutricionalmente versátiles y usan compuestos orgánicos sencillos como fuente de carbono y energía. Como corresponde a su hábitat en corrientes de agua, *Sphaerotilus* es un aerobio estricto. En otoño, en corrientes y arroyos, cuando la caída de las hojas provoca un aumento temporal del contenido de materia orgánica en el agua, a menudo se encuentran grandes masas (floraciones) de *Sphaerotilus*. Además, sus filamentos son el componente principal de un complejo microbiano que los ingenieros de las depuradoras llaman «hongos de las aguas residuales», una mucosidad filamentosa que se encuentra en las rocas de las corrientes que reciben contaminación de aguas residuales. En los lodos activados de las



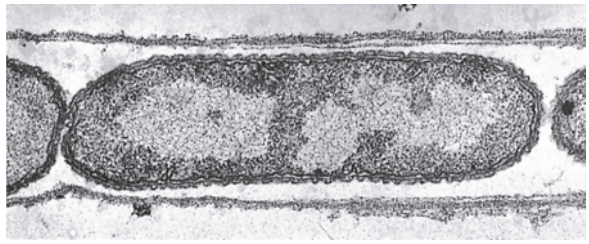
W. C. Ghiorse

Figura 14.60 ***Leptothrix* y la precipitación de hierro.** Micrografía electrónica de transmisión de una sección fina de *Leptothrix* creciendo en una película de ferromanganeso en un humedal de Ithaca (Nueva York). Cada célula mide unos 0,9 µm de diámetro. Obsérvense las protuberancias de la cubierta celular que entran en contacto con la vaina (flechas).



T. D. Brock

(a)



J. F. M. Hoeniger

(b)



J. F. M. Hoeniger

(c)

Figura 14.61 ***Sphaerothilus natans*.** Cada célula mide unos 2 µm de ancho. *(a)* Micrografías de contraste de fases de material recogido en un arroyo contaminado. Etapa de crecimiento activo (arriba) y células nadadoras saliendo de la vaina. *(b)* Micrografía electrónica de una sección fina de un filamento en la que se aprecia claramente la vaina. *(c)* Micrografía electrónica de una célula nadadora teñida negativamente. Obsérvese el penacho flagelar polar.

plantas depuradoras de aguas residuales (↔ Sección 21.6), *Sphaerotilus* causa a menudo un estado llamado *abultamiento* o *esponjamiento filamentoso*, en el que las masas enmarañadas de filamentos de *Sphaerotilus* hinchan los lodos, que quedan suspendidos y no se depositan como debería ocurrir. Esto tiene un efecto negativo en la oxidación de la materia orgánica y el reciclado de los nutrientes inorgánicos y hace que los vertidos procedentes de las plantas de tratamientos contengan gran cantidad de nitrógeno y carbono.

MINIRREVISIÓN

- Describa el crecimiento de una bacteria con vaina como *Sphaerotilus*.
- Cite dos metales que sean oxidados por bacterias con vaina.

14.23 Bacterias magnéticas

Géneros principales: *Magnetospirillum*

En presencia de un campo magnético, las bacterias magnéticas presentan un intenso movimiento dirigido llamado *magnetotaxia*. En el interior de estas células hay unas estructuras denominadas *magnetosomas*, formadas por cadenas de partículas magnéticas hechas de magnetita (Fe_3O_4) o greigita (Fe_3S_4). Los magnetosomas se localizan en invaginaciones de la membrana celular y están organizados en disposiciones lineales gracias a un armazón proteínico (↔ Sección 2.14 y Figura 2.38). Las bacterias magnéticas se orientan longitudinalmente con el momento magnético norte-sur de un campo magnético, y se alinean paralelas a las líneas del campo de la misma manera que la aguja de una brújula. Por regla general, estas bacterias son microaerófilas o anaerobias, y la mayoría de las veces se encuentran cerca de la interfase óxico-anóxica en sedimentos o lagos estratificados. Los magnetosomas de las especies aerobias contienen normalmente el mineral magnetita, mientras que las anaerobias contienen exclusivamente greigita.

La función ecológica de los imanes bacterianos no se conoce con exactitud, pero la capacidad para orientarse en un campo magnético puede suponer una ventaja selectiva para mantener a estos organismos en zonas de baja concentración de oxígeno. Generalmente, la concentración de oxígeno disminuye con la profundidad a través de los sedimentos o de la columna de agua de los lagos estratificados. Como la Tierra es esférica, las líneas de su campo magnético tienen un fuerte componente vertical en los hemisferios norte y sur. Por tanto, las bacterias que se orientan a lo largo de estas líneas de campo preferentemente nadan hacia abajo y se alejan del oxígeno. El magnetosoma actúa como una brújula que «señala» a la bacteria la dirección correcta; en cambio, la rotación del flagelo está controlada por una respuesta quimiotáctica al oxígeno (↔ Sección 2.19).

Las bacterias magnéticas presentan una de las dos polaridades magnéticas según la orientación de los magnetosomas en la célula. En el hemisferio norte, las células tienen el polo de los magnetosomas que se orienta al norte mirando hacia delante respecto a los flagelos, de modo que se desplazan en dirección norte (que en el hemisferio norte es hacia abajo). En el hemisferio sur, las células tienen la polaridad contraria y se mueven hacia el sur.

La mayoría de las bacterias magnéticas que se han descrito son especies de las *Alphaproteobacteria*, pero también se han encontrado especies en las *Gammaproteobacteria*, las *Deltaproteobacteria* y en el grupo de *Nitrospira*. La especie mejor caracterizada es *Magnetospirillum magnetotacticum* (**Figura 14.62**), que es un microaerófilo quimioorganótrofo que también puede crecer anaerobiamente reduciendo nitrato (NO_3^-) u óxido nitroso (N_2O). En cambio, *Desulfovibrio magneticus* es una especie sulfatorreductora anaerobia estricta. Además, se han observado magnetosomas en unas pocas especies de bacterias oxidadoras de azufre y de bacterias rojas no del azufre. También se conocen bacterias magnetotácticas multicelulares. Son miembros de las *Deltaproteobacteria* que forman agregados multicelulares de 10 a 20 células organizadas como una esfera hueca. Las bacterias magnetotácticas multicelulares son anaerobias estrictas, pero las bases de su metabolismo todavía no se han resuelto.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué beneficio obtienen las bacterias magnéticas de poseer magnetosomas?
- ¿Qué material esperaría encontrar en los magnetosomas de *Desulfovibrio magneticus*, magnetita o greigita?

14.24 Bioluminiscencia bacteriana

Géneros principales: *Vibrio, Aliivibrio, Photobacterium*

Varias especies de bacterias pueden emitir luz en un proceso denominado **bioluminiscencia** (**Figura 14.63**). La mayoría de las bacterias bioluminiscentes están clasificadas en los géneros *Photobacterium*, *Aliivibrio* y *Vibrio*, pero unas pocas especies

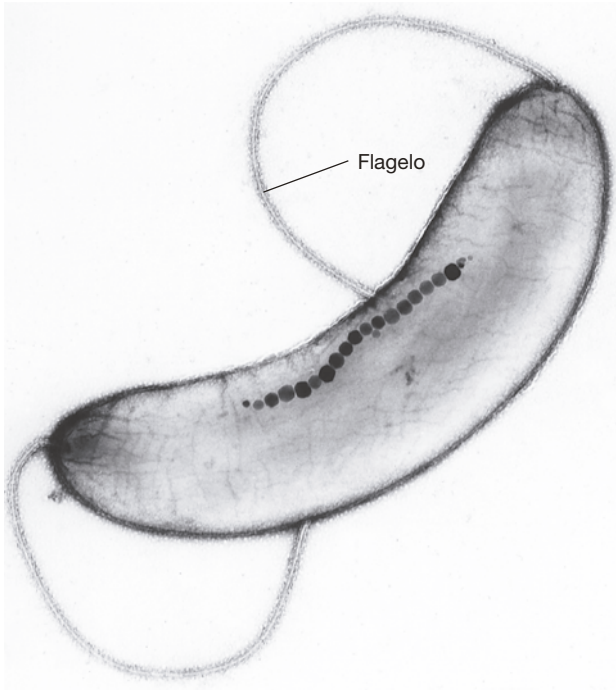


Figura 14.62 Espirilo magnético. Micrografía electrónica de una célula de *Magnetospirillum magnetotacticum*; cada célula mide 0,3 µm × 2 µm. La célula contiene partículas de magnetosomas hechos de Fe_3O_4 formando una cadena.

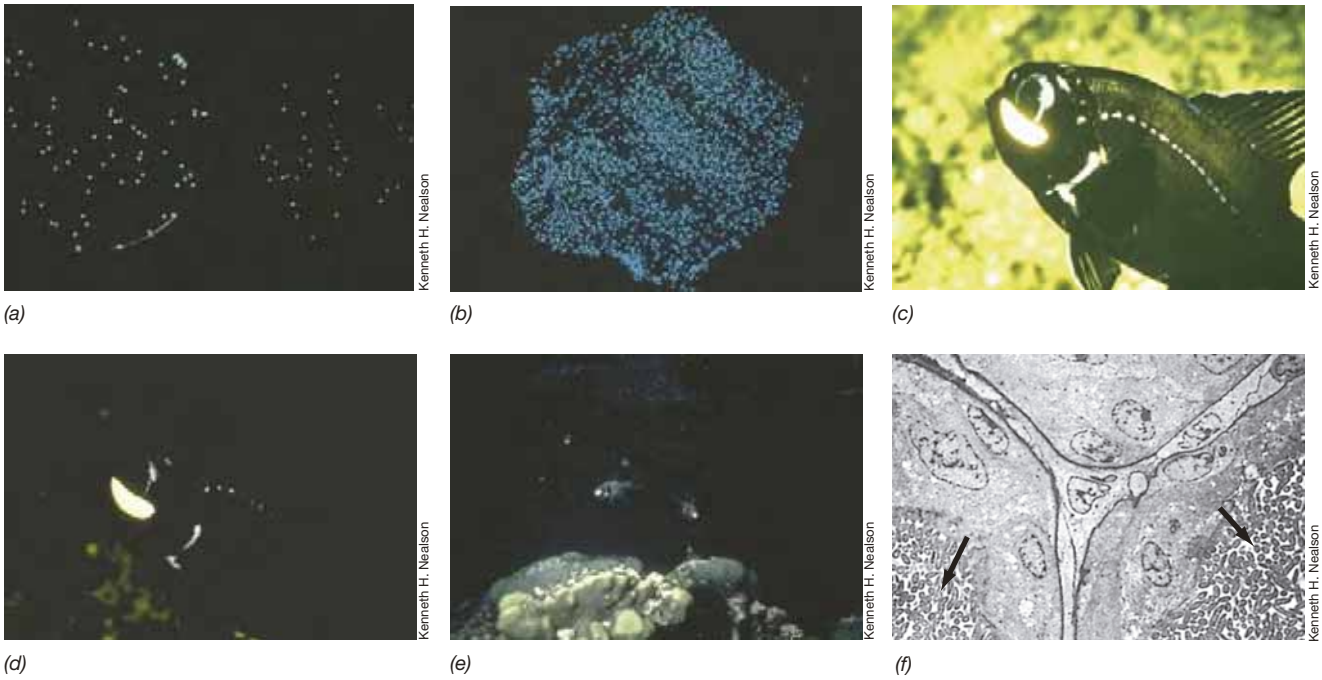


Figura 14.63 **Bacterias bioluminiscentes y su función como simbiontes en los órganos luminosos del pez linterna.** *(a)* Dos placas de Petri con bacterias luminiscentes fotografiadas con su propia luz. Obsérvese los diferentes colores. Izquierda, cepa MJ-1 de *Aliivibrio fischeri*, luz azul, y derecha, cepa Y-1, luz verde. *(b)* Colonias de *Photobacterium phosphoreum* fotografiadas con su propia luz. *(c)* El pez linterna *Photoblepharon palpebratus*; el área brillante es el órgano luminoso que contiene las bacterias bioluminiscentes. *(d)* El mismo pez fotografiado con su propia luz. *(e)* Fotografía submarina de *P. palpebratus* tomada de noche. *(f)* Micrografía electrónica de una sección fina del órgano luminoso de *P. palpebratus* que muestra la densa distribución de bacterias bioluminiscentes (flechas).

pertenecen a *Shewanella*, un género de bacterias principalmente marinas, y a *Photorhabdus* (introducción del ↻ Capítulo 7), un género de bacterias terrestres (todas ellas pertenecen a las *Gammaproteobacteria*).

La mayoría de las bacterias bioluminiscentes habitan en ambientes marinos, y algunas especies colonizan *órganos luminosos* especializados de determinados peces marinos y calamares y producen la luz que el animal utiliza para señalizar, evitar depredadores o atraer a sus presas (Figura 14.63*c-f* y ↻ Sección 22.11). Cuando viven simbióticamente en los órganos luminosos de los peces y los calamares, o saprofíticamente, por ejemplo en la piel de peces muertos, o como parásitos en el cuerpo de un crustáceo, las bacterias luminosas se pueden reconocer por la luz que producen.

Mecanismo y ecología de la bioluminiscencia

Aunque *Photobacterium*, *Aliivibrio* y *Vibrio* aislados son aerobios facultativos, solo son bioluminiscentes en presencia de oxígeno. La luminiscencia en las bacterias requiere los genes *luxCDABE* (↻ Sección 7.9) y está catalizada por la enzima *luciferasa*, que utiliza el oxígeno, un aldehído alifático de cadena larga (RCHO) como el tetradecanal, y el mononucleótido de flavina reducido ($FMNH_2$) como sustratos:

$$FMNH_2 + O_2 + RCHO \xrightarrow{\text{Luciferasa}} FMN + RCOOH + H_2O + \text{luz}$$

El sistema generador de luz constituye una ruta metabólica para lanzar los electrones directamente del $FMNH_2$ al O_2 sin utilizar otros transportadores de electrones como quinonas o citocromos.

En muchas bacterias luminosas, la luminiscencia se produce solo cuando hay una gran densidad de población. La luciferasa y otras proteínas del sistema de luminiscencia bacteriana son inducidas por la alta densidad de población en un mecanismo llamado **autoinducción**, en el que la transcripción de los genes *luxCDABE* está controlada por una proteína reguladora, LuxR, y una molécula inductora, la lactona acil-homoserínica (AHL, ↻ Sección 7.9 y Figura 7.20). Durante el crecimiento, las células producen AHL, que puede cruzar la membrana citoplasmática fácilmente en ambas direcciones, y difundirse dentro y fuera de la célula. En condiciones en las que se obtiene una gran densidad de células de una determinada especie, como por ejemplo un tubo de ensayo, una colonia en placa (↻ Figura 1.1), o en el órgano luminoso de un pez o un calamar (↻ Sección 22.11), la AHL se acumula. Solo cuando alcanza una cierta concentración en la célula se une a LuxR y forma un complejo que activa la transcripción de *luxCDABE*; las células entonces se vuelven luminosas (Figura 14.58*b*). Este mecanismo regulador de los genes también se llama *percepción de quórum*, por la naturaleza del fenómeno, que depende de la densidad de población (↻ Sección 7.9).

En hábitats saprofíticos, parasitarios y simbióticos, la estrategia para la inducción de la luminiscencia como respuesta a la densidad de población garantiza que la luminiscencia se desarrolla únicamente cuando se alcanza una densidad suficientemente alta para permitir que la luz generada sea visible para los animales. Entonces la luz bacteriana puede atraer a los animales para que se alimenten con el material luminoso, de modo que las bacterias alcancen el intestino del animal, rico en nutrientes,

para que puedan seguir creciendo. Por otro lado, el material luminiscente puede funcionar como fuente de luz en asociaciones simbióticas en órganos luminosos.

La percepción de quórum es una forma de regulación que también se ha encontrado en muchas bacterias no luminiscentes, como algunos patógenos animales y vegetales. En estas bacterias la percepción de quórum controla actividades como la producción de enzimas extracelulares y la expresión de factores de virulencia para los que resulta beneficiosa una alta densidad de población si las bacterias tienen que tener un efecto biológico.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué sustratos y qué enzima son necesarios para que un organismo como *Aliivibrio* emita luz visible?
- ¿Qué es la percepción de quórum y cómo controla la bioluminiscencia?

IDEAS PRINCIPALES

14.1 • La diversidad filogenética es el componente de la diversidad microbiana que tiene que ver con las relaciones evolutivas entre microorganismos. En cambio, la diversidad funcional está relacionada con la diversidad de formas y funciones en cuanto que vinculada a la fisiología y la ecología microbianas. La incongruencia entre la filogenia y las características funcionales de los microorganismos puede ser consecuencia de la pérdida de genes, la transferencia horizontal de genes o la evolución convergente.

14.2 • Los fotótrofos anoxigénicos, que no producen oxígeno, fueron los primeros organismos fotótrofos que se originaron. La transferencia horizontal de genes condicionó en gran medida la forma en que evolucionó la fotosíntesis.

14.3 • *Cyanobacteria* es el único filo bacteriano que contiene fotótrofos oxigénicos. Todas las especies de cianobacterias pueden fijar CO_2, y muchas de ellas pueden fijar también N_2, lo que hace de estos organismos importantes productores primarios en muchos ecosistemas.

14.4 • Las bacterias rojas del azufre son fotótrofas anoxigénicas que pertenecen a las *Gammaproteobacteria*. Estas bacterias usan sulfuro de hidrógeno y azufre elemental como donadores de electrones, y fijan CO_2 mediante el ciclo de Calvin. Tienen bacterioclorofilas *a* o *b* y usan un fotosistema de tipo II.

14.5 • Las bacterias rojas no del azufre son fotótrofas anoxigénicas que pertenecen a las *Alfaproteobacteria* o a las *Betaproteobacteria*. Son metabólicamente diversas, crecen mejor como fotoheterótrofas y también pueden crecer en la oscuridad. Estos fotótrofos pueden tener bacterioclorofilas *a* o *b* y usan un fotosistema de tipo II. Los fotótrofos anoxigénicos aerobios tienen un fotosistema de tipo II, pero solo poseen bacterioclorofila *a*.

14.6 • Las bacterias verdes del azufre son fotótrofos anoxigénicos del filo *Chlorobi*. Usan sulfuro de hidrógeno o azufre elemental como donadores de electrones, y fijan CO_2 a través del ciclo del ácido cítrico invertido. Estos fotótrofos contienen bacterioclorofilas *c*, *d* o *e* (localizadas en los clorosomas) así como bacterioclorofila *a* en los centros de reacción, y utilizan un fotosistema de tipo I.

14.7 • Las bacterias verdes no del azufre son fotótrofos anoxigénicos del filo *Chloroflexi* y crecen mejor como fotoheterótrofos. Estos fotótrofos contienen bacterioclorofila *c* en los clorosomas (igual que las bacterias verdes del azufre) y bacterioclorofila *a* y utilizan un fotosistema de tipo II (como las bacterias rojas fotótrofas).

14.8 • Las heliobacterias son fotótrofos anoxigénicos del filo *Firmicutes* que crecen como fotoheterótrofos, o en la oscuridad como quimiótrofos. Producen bacterioclorofila *g* y tienen un fotosistema de tipo I. *Chloracidobacterium thermophilum* es una acidobacteria fotótrofa anoxigénica que crece fotoheterotróficamente, tiene bacterioclorofila *a* y *c* así como clorosomas, y utiliza un fotosistema de tipo I.

14.9 • Los organismos reductores de sulfato desasimiladores son anaerobios estrictos que crecen reduciendo sulfato con hidrógeno o compuestos orgánicos sencillos como donadores de electrones. La mayoría de los reductores de sulfato pertenencen a las *Deltaproteobacteria*. Se conocen dos tipos fisiológicos de bacterias reductoras de sulfato: las oxidadoras completas, que oxidan acetato a CO_2, y las oxidadoras incompletas, que no pueden hacerlo.

14.10 • Los reductores del azufre desasimiladores son organismos metabólica y filogenéticamente diversos que crecen reduciendo azufre elemental y otros compuestos oxidados de azufre como aceptores de electrones, pero no pueden reducir sulfato.

14.11 • Los quimiolitótrofos del azufre, la mayoría de los cuales pertenencen a las *Proteobacteria*, oxidan sulfuro de hidrógeno y otros compuestos reducidos del azufre en el metabolismo energético, con oxígeno molecular o nitrato como aceptores de electrones, y utilizan CO_2 o compuestos orgánicos como fuentes de carbono. Estas bacterias usan diversas estrategias ecológicas para obtener energía a partir de sulfuro de hidrógeno y oxígeno, sustancias que, de otra forma, reaccionarían espontáneamente entre sí.

14.12 • Los diazótrofos son bacterias que asimilan nitrógeno molecular mediante la actividad de la enzima nitrogenasa. Son metabólica y filogenéticamente diversos y utilizan distintas adaptaciones para proteger la nitrogenasa del oxígeno, que la inactiva.

14.13 • Las bacterias nitrificantes son quimiolitótrofos aerobios que oxidan amoniaco a nitrito (prefijo *Nitroso-*) o nitrito a nitrato (prefijo *Nitro-*). Los oxidadores de amoniaco pertenecen a *Proteobacteria* o a *Thaumarchaeota*, mientras que los oxidadores de nitrito forman parte de *Proteobacteria* o *Nitrospira*. Los desnitrificantes son aerobios facultativos y quimioorganótrofos metabólica y filogenéticamente diversos, que reducen nitrato a los productos gaseosos óxido nítrico, óxido nitroso y nitrógeno molecular.

14.14 • Los organismos reductores de hierro desasimiladores reducen aceptores de electrones insolubles mediante algún tipo de respiración anaerobia. La mayoría de las especies pueden crecer anaerobiamente reduciendo hierro férrico con hidrógeno o compuestos orgánicos sencillos como donadores de electrones. Entre los géneros mejor caracterizados se encuentran *Geobacter*, que comprende exclusivamente anaerobios estrictos, y *Shewanella*, que comprende aerobios facultativos.

14.15 • Los oxidadores de hierro desasimiladores obtienen la energía de la oxidación aerobia del hierro ferroso. Estos organismos emplean varias estrategias ecológicas para sortear la inestabilidad química del hierro ferroso en hábitats óxicos a pH neutro. Los oxidadores de hierro se encuentran en cuatro grupos fisiológicos: acidófilos aerobios, neutrófilos aerobios, quimiótrofos anaerobios y fotótrofos anaerobios.

14.16 • Las bacterias del hidrógeno oxidan hidrógeno molecular con oxígeno como aceptor de electrones y fijan CO_2 mediante el ciclo de Calvin. Algunas bacterias del hidrógeno, las carboxidobacterias, oxidan monóxido de carbono. La mayoría de estas bacterias también pueden crecer con compuestos orgánicos.

14.17 • Los metilótrofos crecen con compuestos orgánicos que carecen de enlaces carbono-carbono. Algunos también son metanótrofos, organismos que pueden catabolizar metano. La mayoría de los metanótrofos son miembros de las *Proteobacteria* que contienen extensas membranas internas e incorporan carbono por las rutas de la serina o del monofosfato de ribulosa.

14.18 • Las bacterias del ácido acético *Acetobacter* y *Gluconobacter* son aerobias estrictas que producen acetato mediante la oxidación del etanol,. Estas bacterias acidotolerantes se encuentran a menudo en los fluidos fermentados de las bebidas alcohólicas. Los acetógenos son anaerobios estrictos que utilizan la ruta de la acetil-CoA para obtener energía y producir acetato.

14.19 • Los depredadores bacterianos como *Bdellovibrio* y *Myxococcus* se alimentan de otros microorganismos. Las mixobacterias tienen un ciclo de desarrollo complejo que implica la formación de cuerpos fructíferos que contienen mixosporas.

14.20 • El filo *Spirochaetes* contiene bacterias helicoidales que presentan una forma novedosa de motilidad que les permite «taladrar» materiales viscosos. Estos organismos son habituales en hábitats anóxicos y son la causa de muchas enfermedades humanas bien conocidas, como la sífilis.

14.21 • Las bacterias formadoras de yemas y con prostecas son células con apéndices que forman pedúnculos o prostecas que utilizan para adherirse o absorber nutrientes, y son fundamentalmente acuáticas. *Hyphomicrobium*, *Caulobacter* y *Gallionella* son géneros importantes y pertenecen todos a *Proteobacteria*.

14.22 • Las bacterias con vaina son proteobacterias filamentosas cuyas células individuales forman cadenas recubiertas por una cubierta externa llamada vaina. *Sphaerotilus* y *Leptothrix* son géneros importantes de bacterias con vaina y pueden oxidar metales como Fe^{2+} y Mn^{2+}.

14.23 • Los magnetosomas son estructuras magnéticas especializadas presentes en las bacterias magnetotácticas. Los magnetosomas orientan las células a lo largo de las líneas del campo magnético de la Tierra, y esto les permite usar su respuesta quimiotáctica normal para desplazarse verticalmente de manera dirigida a través de sedimentos o de sistemas acuáticos estratificados.

14.24 • Las especies *Vibrio*, *Aliivibrio* y *Photobacterium* son bacterias marinas, algunas de las cuales son patógenas y bioluminiscentes. La bioluminiscencia, catalizada por la enzima luciferasa, está controlada por un mecanismo de percepción de quórum que asegura que no se emite luz a menos que la población de células sea grande.

MasteringMicrobiology®

Revise lo que sabe y descubra lo que ha aprendido con MasteringMicrobiology. Acceda a material de estudio, revisiones de los capítulos, animaciones y tutoriales de microbiología práctica en el Área de Estudio y asegúrese de que ha asimilado todo el contenido de este capítulo.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Acetógeno: organismo anaerobio estricto que produce acetato mediante el ciclo reductor de la acetil-CoA.

Autoinducción: mecanismo regulador de genes en el que intervienen moléculas de señal pequeñas y difundibles que se producen en mayor cantidad a medida que crece el tamaño de la población.

Bacterias del ácido acético: organismos aerobios estrictos que producen acetato a partir de alcoholes; se utilizan para producir vinagre.

Bacterias rojas del azufre: grupo de bacterias fotótrofas que poseen bacterioclorofila *a* o *b* y un fotosistema de tipo II, y que pueden oxidar el sulfuro de hidrógeno a azufre.

Bacterias rojas no del azufre: grupo de bacterias fotótrofas que poseen bacterioclorofila *a* o *b* y un fotosistema de tipo II, y crecen mejor como fotoheterótrofos.

Bacterias verdes del azufre: fotótrofos anoxigénicos que contienen clorosomas, un fotosistema de tipo I, bacterioclorofilas *c*, *d* o *e* como clorofilas captadoras de luz, y normalmente crecen con sulfuro de hidrógeno como donador de electrones.

Bacterias verdes no del azufre: fotótrofos anoxigénicos que contienen clorosomas, un fotosistema de tipo II, bacterioclorofilas *a* y *c* como clorofilas captadoras de luz, y normalmente crecen mejor como fotoheterótrofos.

Bioluminiscencia: producción enzimática de luz visible por parte de organismos vivos.

Carboxisoma: inclusión poliédrica celular de bisfosfato de ribulosa-carboxilasa (rubisco) cristalina, la enzima fundamental del ciclo de Calvin.

Cianobacterias: procariotas fotótrofos oxigénicos que poseen clorofila *a* y ficobilinas.

Clorosoma: estructura en forma de puro rodeada por una membrana no unitaria y que contiene las bacterioclorofilas captadoras de luz (*c*, *d* o *e*) en las bacterias verdes del azufre y *Chloroflexus*.

Consorcio: asociación de bacterias de dos o más miembros, que normalmente viven en simbiosis estrecha.

Desnitrificante: organismo que lleva a cabo la respiración anaerobia con nitrato reduciéndolo a los productos gaseosos óxido nítrico, óxido nitroso y nitrógeno molecular.

Diazótrofo: organismo que puede asimilar nitrógeno molecular a biomasa mediante la acción de la enzima nitrogenasa.

Diversidad funcional: componente de la diversidad biológica relacionado con las formas y funciones de los organismos en cuanto que vinculadas con sus diferencias en fisiología y ecología.

Espirilos: células helicoidales.

Espiroqueta: bacteria gramnegativa alargada y muy enrollada del filo *Spirochaetes*, caracterizada por tener endoflagelos, que utiliza para moverse.

Evolución convergente: circunstancia por la cual una característica o un conjunto de características que son similares en forma, función o ambas cosas en dos organismos no han sido heredadas a partir de un antepasado común (es decir, características que son similares pero no homólogas).

Ficobilina: proteína que contiene el pigmento ficocianina o ficoeritrina, que actúa como pigmento fotosintético accesorio en las cianobacterias.

Fotótrofo anoxigénico aerobio: organismo heterótrofo aerobio que utiliza la fotosíntesis anoxigénica como fuente complementaria de energía.

Heliobacterias: fotótrofos anoxigénicos que contienen bacterioclorofila *g*.

Metanótrofo: organismo que puede oxidar metano (CH_4) como donador de electrones en el metabolismo energético.

Metilótrofo: organismo que puede oxidar compuestos orgánicos que no contengan enlaces carbono-carbono; si puede oxidar metano también es metanótrofo.

Mixótrofo: organismo que obtiene la energía de la oxidación de compuestos inorgánicos pero necesita compuestos orgánicos como fuente de carbono.

Nitrificante: quimiolitótrofo capaz de llevar a cabo la transformación $NH_3 \rightarrow NO_2^-$, o $NO_2^- \rightarrow NO_3^-$.

Oxidador de azufre desasimilador: microorganismo que obtiene energía para crecer mediante la oxidación de compuestos reducidos de azufre.

Proclorófito: fotótrofo oxigénico bacteriano que contiene clorofilas *a* y *b* pero carece de ficobilinas.

Prosteca: extrusión del citoplasma, a menudo formando distintos apéndices, envuelta por pared celular.

Quimiolitótrofo: organismo que puede oxidar compuestos inorgánicos (como hidrógeno, hierro ferroso, azufre elemental o amonio) como fuentes de energía (donadores de electrones).

Reductor de azufre desasimilador: microorganismo anaerobio que obtiene energía para el crecimiento a través de la reducción de azufre elemental pero no puede reducir sulfato.

Reductor de sulfato desasimilador: microorganismo anaerobio que obtiene energía a través de la reducción de sulfato.

Transferencia horizontal de genes: transferencia unidireccional de genes entre organismos no emparentados; puede causar la dispersión de genes homólogos en una filogenia.

PREGUNTAS DE REPASO

1. ¿Qué es la evolución convergente y en qué se diferencia de la transferencia horizontal de genes? (Sección 14.1)
2. ¿Qué filos bacterianos contienen fotótrofos? (Sección 14.2)
3. ¿En qué se diferencia el proclorófito *Prochlorococcus* de otras cianobacterias? (Sección 14.3)
4. Compare el metabolismo, la morfología y la filogenia de las bacterias rojas del azufre y las rojas no del azufre. (Secciones 14.4 y 14.5)
5. Compare el metabolismo de las bacterias rojas no del azufre con el de los fotótrofos anoxigénicos aerobios. (Sección 14.5)
6. ¿En qué grupo de organismos esperaría encontrar clorosomas? (Sección 14.6)
7. ¿Qué características comparten las bacterias verdes no del azufre con las bacterias verdes del azufre y con las bacterias rojas del azufre? (Sección 14.7)

8. ¿En qué se parece *Chloracidobacterium thermophilum* a las bacterias verdes del azufre y en qué se diferencia? (Sección 14.8)
9. En cuanto a las bacterias reductoras de sulfato, ¿cuál es la diferencia entre oxidadores completos e incompletos? (Sección 14.9)
10. ¿En qué se diferencian las bacterias reductoras de azufre de las bacterias reductoras de sulfato y en qué se parecen? (Secciones 14.9 y 14.10)
11. Indique algunas estrategias ecológicas que utilizan los oxidadores de sulfuro aerobios para competir con la oxidación química del sulfuro de hidrógeno por parte del oxígeno atmosférico. (Sección 14.11)
12. Cite algunas maneras que tienen los diazótrofos para proteger la nitrogenasa del oxígeno. (Sección 14.12)
13. Compare el metabolismo del nitrógeno de los nitrificantes con el de los desnitrificantes. (Sección 14.13)
14. ¿En qué se parecen y en qué se diferencian las bacterias reductoras de hierro desasimiladoras *Shewanella* y *Geobacter*? (Sección 14.14)
15. Compare el metabolismo de *Gallionella* con el de *Geobacter*. ¿En qué hábitats podría encontrar estos organismos? (Secciones 14.14 y 14.15)
16. ¿Qué grupo de oxidadores de hierro desasimiladores es el menos diverso y en qué forma está esto relacionado con el oxígeno y el pH? (Sección 14.15)
17. ¿Por qué la mayoría de las bacterias aerobias oxidadoras de hidrógeno son microaerófilas? (Sección 14.16)
18. ¿Qué diferencia hay entre los metanótrofos de tipo I y los de tipo II? (Sección 14.17)
19. Compare las características metabólicas de las bacterias del ácido acético y los acetógenos. ¿Qué características comparten y en qué se diferencian? (Sección 14.18)
20. Compare el ciclo biológico de *Myxococcus* con el de *Bdellovibrio*. (Sección 14.19)
21. Compare la motilidad de las espiroquetas con la de los espirilos. (Sección 14.20)
22. Compare el ciclo biológico de *Hyphomicrobium* con el de *Caulobacter*. (Sección 14.21)
23. ¿Qué material se puede encontrar en la vaina sintetizada por *Leptothrix*? (Sección 14.22)
24. ¿Cómo controlan los magnetosomas el movimiento de las bacterias magnetotácticas? (Sección 14.23)
25. Describa de qué manera la densidad celular regula la producción de luz en las bacterias luminiscentes. (Sección 14.24)

EJERCICIOS PRÁCTICOS

1. Describa una característica fisiológica fundamental de las siguientes bacterias que la diferencie del resto: *Acetobacter*, *Methylococcus*, *Azotobacter*, *Photobacterium*, *Desulfovibrio* y *Spirillum*.
2. Describa el metabolismo de cada una de las bacterias siguientes y diga si el organismo es aerobio o anaerobio: *Thiobacillus*, *Nitrosomonas*, *Ralstonia eutropha*, *Methylomonas*, *Pseudomonas*, *Acetobacter* y *Gallionella*.

CAPÍTULO

15 · Diversidad en *Bacteria*

microbiología **actual**

Descubrimiento de nuevos filos microbianos

Es bien conocido que muchas plantas y animales no pueden vivir en cautividad porque ocupan hábitats singulares, o porque requieren establecer interacciones biológicas complejas que no pueden ser reproducidas en un zoo o en un jardín botánico. Muchos microorganismos también son difíciles de aislar o mantener en cautividad debido a las íntimas relaciones que establecen con su ambiente. Estos microorganismos no-cultivados se desconocían en gran parte antes del desarrollo de las técnicas moleculares que estudian la diversidad microbiana. En 1987 solo se conocían 12 filos de *Bacteria*, pero tras la secuenciación de los genes del RNA 16S de muestras recogidas en ambientes naturales ahora conocemos más de 80 filos, la mayor parte de los cuales carece de representantes cultivables.

Un éxito reciente ocurrió con el filo OP10, llamado así porque las secuencias de genes del RNA ribosómico 16S se obtuvieron originalmente de una fuente termal denominada Obsidian Pool en el Parque Nacional de Yellowstone (Estados Unidos)[1]. Tras su descubrimiento, se observaron secuencias de genes 16S del filo OP10 en distintos ambientes termales de todo el mundo, pero nunca se lograba un cultivo de organismos de ese filo. Sin embargo, con persistencia y con las mejoras de las técnicas de cultivo, los microbiólogos consiguieron finalmente cultivar especies del filo OP10, actualmente conocido como filo *Armatimonadetes*[1].

Una de las primeras especies de *Armatimonadetes* cultivadas fue la bacteria *Chthonomonas calidirosea*, aislada de un suelo de Hell's Gate (Nueva Zelanda), que recibe calor geotérmico (foto). C. *calidirosea* es un termófilo, con una temperatura óptima de crecimiento a 68 °C, y degrada aeróbicamente celulosa y xilano. Las cepas con estas características producen con frecuencia enzimas que son útiles en procesos industriales que transforman la biomasa vegetal en energía o en otros productos de interés.

[1]Lee, K.C.-Y., *et al.* 2011. *Chthonomonas calidirosea* gen. nov., sp. nov., an aerobic, pigmented, thermophilic microorganism of a novel bacterial class, *Chthonomonadetes* classis nov., of the newly described phylum *Armatimonadetes* originally designated candidate division OP10, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 61:* 2482-2490.



I *Proteobacteria* 512

II *Firmicutes, Tenericutes* y *Actinobacteria* 524

III *Bacteroidetes* 538

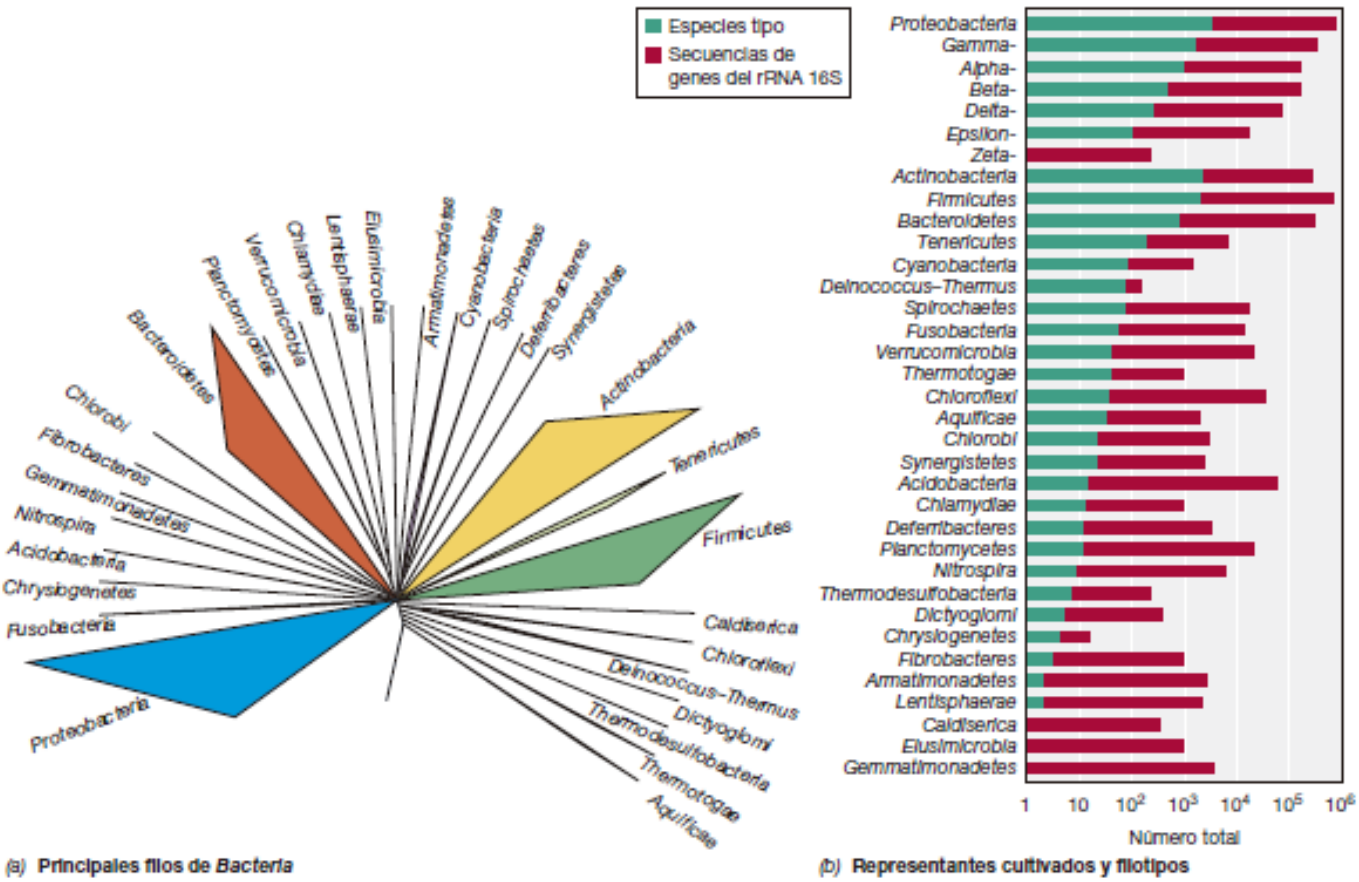
IV *Chlamydiae, Planctomycetes* y *Verrucomicrobia* 540

V *Bacteria* hipertermófilas 544

VI Otras *Bacteria* 546

En el capítulo precedente examinamos la diversidad microbiana con respecto a la diversidad *funcional*. En este capítulo y los dos siguientes variamos nuestro enfoque para referirnos a la diversidad *filogenética*. Examinaremos los principales linajes del dominio *Bacteria* (**Figura 15.1*a***) y los de las *Archaea* y los *Eukarya* microbianos se tratarán en los Capítulos 16 y 17, respectivamente.

En *Bacteria* se pueden distinguir alrededor de 80 filos, si se incluyen aquellos de los que solo se conocen las secuencias de genes del RNA ribosómico 16S (rRNA), obtenidos de ambientes naturales (↔ Sección 22.6). Sin embargo, menos de la mitad de estos filos contienen especies que se hayan podido caracterizar en cultivos de laboratorio (Figura 15.1*b*). Hay que destacar que más del 90 % de los géneros y especies de *Bacteria* que han sido caracterizados pertenecen a tan solo cuatro filos: *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Firmicutes*, y *Bacteroidetes* (Figura 15.1*b*). Con más de 10.000 especies de bacterias descritas, obviamente, no podemos presentarlas todas. Por tanto, empleando árboles filogenéticos para centrar la exposición, exploraremos algunas de las especies mejor conocidas dentro de una gran diversidad de filos. En este capítulo consideraremos especies de más de 20 filos bacterianos, centrándonos en aquellos que cuentan con el mayor número de especies caracterizadas. Comenzamos nuestro viaje considerando el filo *Proteobacteria*.



(a) **Principales filos de *Bacteria***

(b) **Representantes cultivados y filotipos**

Figura 15.1 Algunos filos importantes del dominio *Bacteria* basados en comparaciones de las secuencias del rRNA 16S. *(a)* Principales filos de *Bacteria* con especies que han sido cultivadas. Los análisis de secuencias de genes del rRNA 16S en ambientes naturales sugieren la existencia de más de 80 filos bacterianos. *(b)* Número de especies cultivadas y caracterizadas (barras verdes) y secuencias conocidas de genes del rRNA 16S (filotipos, barras rojas) para cada unos de los 29 filos bacterianos que tienen al menos una especie caracterizada en cultivo axénico. También se muestran esos datos para las diferentes clases de *Proteobacteria*. Las diferencias en el tamaño de las barras rojas y verdes indican el grado en que los miembros de cada grupo son frecuentes en ambientes naturales, aunque son difíciles de cultivar aisladamente. Obsérvese que la abscisa está en escala logarítmica.

I • *Proteobacteria*

Las ***Proteobacteria*** son, con mucho, el filo más extenso y metabólicamente más diversificado de *Bacteria* (**Figura 15.2**). Más de un tercio de las especies de *Bacteria* que han sido caracterizadas se incluyen en este grupo (Figura 15.1*b*). Las *Proteobacteria*, por otra parte, constituyen la mayoría de las bacterias conocidas con relevancia médica, industrial o agrícola.

Como grupo, todas las *Proteobacteria* son gramnegativas. Muestran una excepcional variedad en cuanto a mecanismos de generación de energía, con especies que son quimiolitótrofas, quimioorganótrofas y fotótrofas (Figura 15.2). En el Capítulo 13 ya hemos considerado la gran diversidad en cuanto al metabolismo energético que emplean diferentes representantes de este

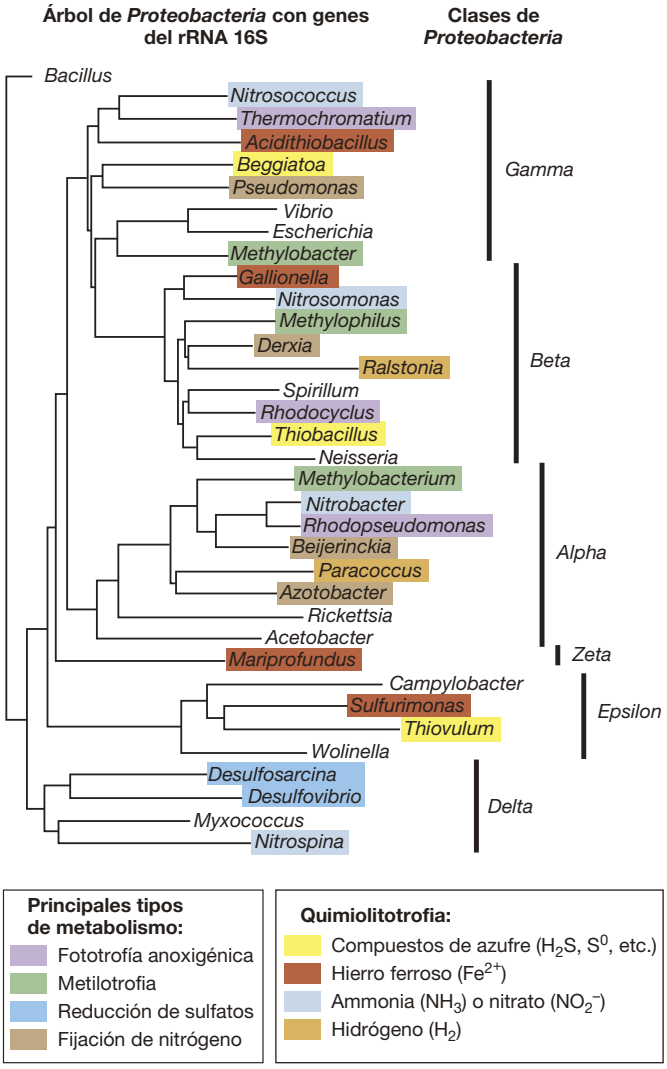


Figura 15.2 Árbol filogenético y relaciones metabólicas de algunos géneros destacados de *Proteobacteria*. Filogenia de géneros representativos de *Proteobacteria* revelada por análisis de las secuencias de genes de rRNA 16S. Obsérvese que metabolismos idénticos se distribuyen a menudo en géneros filogenéticamente distintos, lo que sugiere que la transferencia horizontal de genes ha sido extensa en las *Proteobacteria*. Algunos organismos indicados pueden tener varias propiedades; por ejemplo, algunos quimiolitótrofos del azufre lo son también del hierro o del hidrógeno, y hay varios organismos que pueden fijar nitrógeno. Los análisis filogenéticos y la construcción del árbol se deben a Marie Asao, de la Ohio State University.

grupo. Las *Proteobacteria* son igualmente diversas en lo que se refiere a su relación con el oxígeno (O_2), con especies conocidas que son anaerobias, microaerófilas y aerobias facultativas. Morfológicamente, también son muy variables en cuanto a forma, e incluyen bacilos rectos y curvados, cocos, espirilos, formas filamentosas, otras formadoras de yemas, o con apéndices.

El filo *Proteobacteria* puede dividirse en seis clases basándose en las secuencias de los genes del rRNA 16S: *Alpha-*, *Beta-*, *Gamma-*, *Delta-*, *Epsilon-*, y *Zetaproteobacteria*. Cada clase contiene muchos géneros, excepto *Zetaproteobacteria*, que incluye una sola especie, la bacteria marina oxidadora de hierro *Mariprofundus ferrooxydans* (↻ Sección 14.15). Pese a la amplitud filogenética de las *Proteobacteria*, las especies de diferentes clases tienen a menudo metabolismos parecidos. Por ejemplo, la fototrofía y la metilotrofía se dan en tres clases diferentes de *Proteobacteria*, y las bacterias nitrificantes se distribuyen en cuatro clases (↻ Figura 14.1). Esto sugiere que la transferencia horizontal de genes (↻ Sección 6.12) ha desempeñado un papel importante en la determinación de la diversidad metabólica de este filo. La constatación que diferentes clases de *Proteobacteria* comparten rasgos metabólicos nos recuerda que el fenotipo y la filogenia a menudo proporcionan diferentes visiones de la diversidad procariota (↻ Sección 14.1)

15.1 *Alphaproteobacteria*

Las *Alphaproteobacteria*, con casi mil especies descritas, es la segunda clase más amplia dentro de las *Proteobacteria* (Figura 15.1*b*). Las *Alphaproteobacteria* muestran una gran diversidad funcional (Figura 15.2, ↻ Figura 14.1) y muchos géneros de este grupo ya se han considerado en el Capítulo 14. La mayoría de las especies son aerobias estrictas o facultativas, y muchas son también **oligótrofas**, que crecen con preferencia en hábitats que tienen una baja concentración de nutrientes. Dentro de las *Alphaproteobacteria* se han descrito 10 órdenes, pero la gran mayoría de especies se encuentran incluidas en las *Rhizobiales*, las *Rickettsiales*, las *Rhodobacterales*, las *Rhodospirillales*, las *Caulobacterales*, y las *Sphingomonadales* (**Figura 15.3**, **Tabla 15.1**).

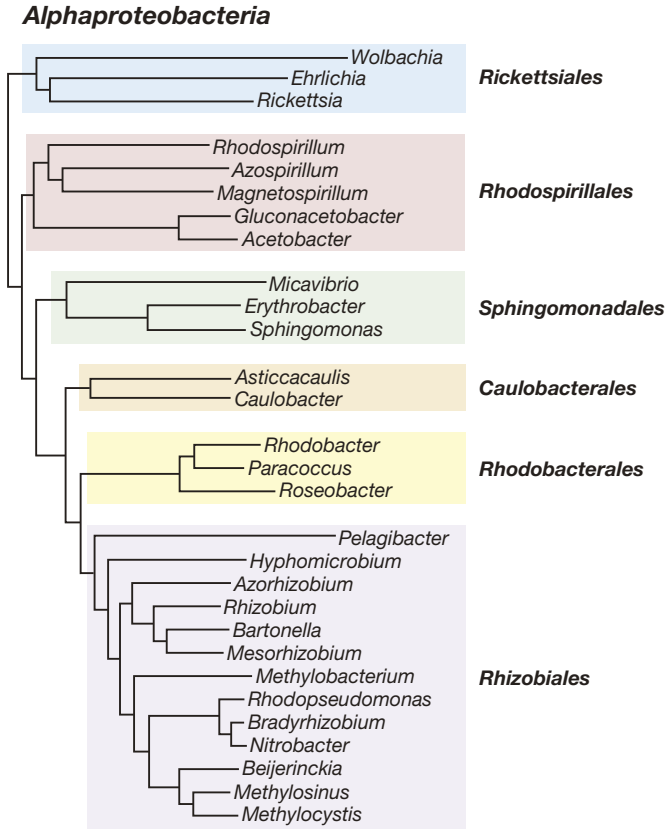


Figura 15.3 Principales órdenes de *Proteobacteria* incluidos en la clase *Alphaproteobacteria*. El árbol filogenético se dedujo de las secuencias de genes del rRNA 16S de géneros representativos de *Alphaproteobacteria*. Los nombres de los órdenes se indican en negrita.

UNIDAD 3

Tabla 15.1 Géneros destacados de *Alphaproteobacteria*

Familia	*Géneros*	*Características destacadas*
Caulobacterales	*Caulobacter*	División asimétrica y formación de prostecas
Rickettsiales	*Rickettsia*	Parásitos intracelulares estrictos transmitidos por artrópodos
	Wolbachia	Viven dentro de artrópodos y alteran su reproducción
Rhizobiales	*Bartonella*	Parásitos intracelulares estrictos, transmitidos por artrópodos
	Bradyrhizobium	Forman nódulos radiculares en la soja y otras leguminosas
	Brucella	Parásitos intracelulares facultativos de animales, patógenos de zoonosis
	Hyphomicrobium	Células pedunculadas, de metabolismo muy versátil
	Mesorhizobium	Forman nódulos radiculares en diversas leguminosas
	Methylobacterium	Metilótrofos en plantas y suelos
	Nitrobacter	Bacteria nitrificante que oxida NO_2^- a NO_3^-
	Pelagibacter	Quimioorganótrofo oligótrofo; muy abundante en la superficie del mar
	Rhodopseudomonas	Bacteria roja no del azufre de metabolismo versátil
Rhodobacterales	*Paracoccus*	Especie tomada como modelo para el estudio de la desnitrificación
	Rhodobacter	Bacteria roja no del azufre de metabolismo versátil
	Roseobacter	Fotótrofo aerobio anoxigénico
Rhodospirillales	*Acetobacter*	Usado para la producción industrial de ácido acético
	Azospirillum	Diazótrofo aerobio estricto
	Gluconobacter	Usado para la producción industrial de ácido acético
	Magnetospirillum	Bacteria magnética
Sphingomonadales	*Sphingomonas*	Degradador aerobio de compuestos aromáticos, biodegradador
	Zymomonas	Fermenta azúcares a etanol, de aplicación potencial en la producción de biocombustibles

Rhizobiales

Generos principales: *Bartonella, Methylobacterium, Pelagibacter, Rhizobium, Agrobacterium*

Dentro de las *Alphaproteobacteria*, las *Rhizobiales* (Figura 15.3) constituyen el orden más amplio y metabólicamente más diverso. Contiene fotótrofos (p. ej., *Rhodopseudomonas*), quimiolitótrofos (p. ej., *Nitrobacter*), simbiontes (p. ej., rizobios), fijadores de nitrógeno de vida libre (p. ej., *Beijerinckia*), unos cuantos patógenos de plantas y animales, y diversos quimioorganótrofos. El grupo toma el nombre de los *rizobios*, que son una colección *polifilética* de géneros que forman nódulos radiculares y fijan nitrógeno en asociación simbiótica con plantas leguminosas (↻ Sección 22.3).

Entre las *Rhizobiales* hay nueve géneros que contienen rizobios: *Bradyrhizobium*, *Ochrobactrum*, *Azorhizobium*, *Devosia*, *Methylobacterium*, *Mesorhizobium*, *Phyllobacterium*, *Sinorhizobium*, y *Rhizobium*. Suelen ser quimiorganótrofos y aerobios estrictos, y los genes que confieren la capacidad de formar nódulos radiculares se han distribuido entre estos géneros claramente por transferencia horizontal. Cada género presenta un espectro distinto de hospedadores vegetales que son susceptibles de ser colonizados (↻ Tabla 22.1). Los rizobios pueden aislarse aplastando nódulos y extendiendo su contenido en un medio sólido enriquecido; las colonias producen normalmente gran cantidad de un material viscoso de naturaleza exopolisacarídica (**Figura 15.4**).

El organismo *Agrobacterium tumefaciens* (también llamado *Rhizobium radiobacter*) está muy relacionado con las especies de *Rhizobium* formadoras de nódulos, pero es un patógeno vegetal que forma en plantas unos tumores conocidos como agallas de corona (↻ Sección 22.4). *Agrobacterium tumefaciens* es incapaz de formar nódulos en las raíces, y los genes que codifican la formación de agallas de corona no guardan ninguna relación con los que median la formación de nódulos.


Odile Berge

Figura 15.4 Colonias de *Rhizobium mongolense*. Las colonias de rizobios con frecuencia producen abundante secreción de exopolisacáridos. Estas colonias de *Rhizobium mongolense* se cultivaron en un medio con baja concentración de nitrógeno y con sacarosa como fuente de carbono.

El género *Methylobacterium* es uno de los más extensos de los *Rhizobiales*. Sus especies se denominan a menudo «metilótrofos facultativos con pigmentación rosa» (↻ Sección 14.17), debido al color de sus colonias cuando crecen con metanol. Son especies que se encuentran normalmente en la superficie de plantas, en suelos y en sistemas de agua dulce. También se encuentran a menudo en cuartos de baño y aseos, donde su crecimiento ocasiona la formación de biofilms rosáceos en cortinas de duchas, en las juntas de cemento de los azulejos y en la tazas del retrete. Las especies de *Methylobacterium* se aíslan con facilidad presionando la superficie de una hoja de una planta sobre una placa Petri con agar que contenga metanol como única fuente de carbono.

Bartonella es otro género destacable de las *Rhizobiales*. Estos organismos, que se clasificaban antes como *Rickettsiales*, son patógenos intracelulares que pueden causar varias enfermedades en la especie humana y en otros vertebrados. *Bartonella quintana* es el agente causal de la fiebre de las trincheras, una enfermedad que diezmó las tropas de la Primera Guerra Mundial. Otras especies de *Bartonella* pueden originar bartonelosis, la enfermedad del arañazo del gato, y diversas enfermedades inflamatorias. La transmisión de la enfermedad ocurre mediante artrópodos vectores como las pulgas, los piojos y los dípteros psicódidos (unos pequeños mosquitos, que chupan sangre). Las especies de *Bartonella* son exigentes y difíciles de cultivar, y el aislamiento se suele realizar usando agar sangre. Cuando crecen en cultivo de tejidos, las células de *Bartonella* lo hacen con preferencia en la superficie externa de las células eucariotas hospedadoras, y no en el citoplasma o en el núcleo.

Finalmente, el género *Pelagibacter* también pertenece a los *Rhizobiales*. *Pelagibacter ubique* es un oligótrofo y quimiorganótrofo aerobio estricto que habita la zona iluminada de los océanos de la Tierra. Este organismo puede representar hasta el 25 % de las células bacterianas que se encuentran en la superficie del mar, y alcanza el 50 % de las células durante el verano en aguas templadas; por consiguiente, *P. ubique* probablemente sea la especie bacteriana más abundante de la Tierra (↻ Sección 19.11).

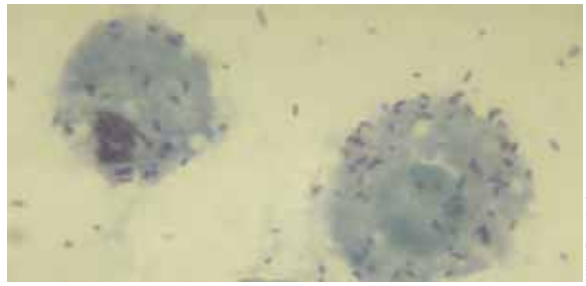
Rickettsiales

Géneros principales: *Rickettsia, Wolbachia*

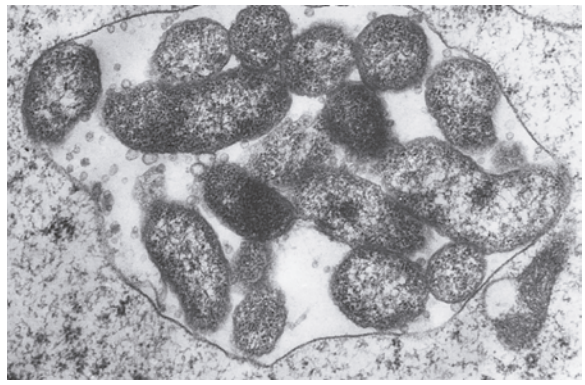
Todas las *Rickettsiales* (Figura 15.3) son parásitos intracelulares estrictos o mutualistas de células animales. Las especies de este orden no han sido aún cultivadas sin células hospedadoras (**Figura 15.5**) y deben cultivarse en huevo embrionado de pollo o en cultivo de tejidos de las células hospedadoras. Típicamente, las *Rickettsiales* guardan una estrecha relación con los artrópodos. Los géneros que causan enfermedades, como *Rickettsia* y *Ehrlichia*, se transmiten por picadura de artrópodos; otros géneros, como *Wolbachia*, son parásitos obligados o mutualistas de insectos o de otros artrópodos.

Las especies del género *Rickettsia* son agentes que causan varias enfermedades humanas, como el tifus (*Rickettsia prowazekii*) o la fiebre maculosa (*Rickettsia rickettsii*) (↻ Sección 30.3), más conocida como fiebre de las Montañas Rocosas. Estos organismos se transmiten por garrapatas, pulgas, piojos y ácaros. La mayoría de las rickettsias están especializadas metabólicamente: solamente pueden oxidar los aminoácidos glutamato o glutamina y son incapaces de oxidar glucosa o ácidos orgánicos. Tampoco pueden sintetizar algunos metabolitos, que deben por tanto obtener de las células hospedadoras. No sobreviven mucho fuera de las células y esto puede explicar por qué deben transmitirse de animal a animal a través de artrópodos vectores.

Las microfotografías de secciones finas de células de rickettsias muestran una morfología procariótica típica con pared celular (Figura 15.5*b*). La penetración de una célula por una rickettsia es un proceso activo que requiere que tanto la célula hospedadora como el parásito sean viables y estén metabólicamente activos. Una vez dentro de la célula, la bacteria se multiplica fundamentalmente en el citoplasma y continua dividiéndose hasta que la célula hospedadora está repleta de parásitos (Figura 15.5; ↻ Figura 30.6). Entonces la célula hospedadora explota y libera las células bacterianas.


Willy Burgdorfer

(a)


G. Devauchelle

(b)

Figura 15.5 ***Rickettsias* creciendo dentro de sus células hospedadoras.** *(a) Rickettsia rickettsii* en cultivo de tejidos. Las células miden unos 0,3 mm de diámetro. *(b)* Microfotografía electrónica de células de *Rickettsiella popilliae* dentro de una célula sanguínea de su hospedador, el escarabajo *Melolontha melolontha*. Obsérvese que las bacterias están creciendo dentro de una vacuola de la célula hospedadora.

El género *Wolbachia* comprende parásitos intracelulares de muchos insectos (**Figura 15.6**), un gran grupo zoológico que constituye el 70 % de todas las especies de artrópodos conocidas. Las especies de *Wolbachia* pueden causar varios efectos en sus insectos hospedadores. Pueden inducir la partenogénesis (desarrollo de huevos sin fecundar), la muerte de los machos, o la feminización (conversión de los insectos macho en hembras).


Richard Stouthamer and Merijn Salverda

Figura 15.6 ***Wolbachia*.** Microfotografía de una tinción DAPI de un huevo de la avispa parasítica *Trichogramma kaykai* infectada por *Wolbachia pipientis*, que induce la partenogénesis. Las células de *W. pipientis* se localizan principalmente en el extremo estrecho del huevo (flechas).

La especie más estudiada de este género es *Wolbachia pipientis*. Sus células colonizan el huevo del insecto (Figura 15.6) y se multiplican en vacuolas rodeadas por una membrana que origina la célula hospedadora. Las células de *W. pipientis* se transmiten desde la hembra infectada a su descendencia a través de esta infección del huevo. La partenogénesis inducida por *Wolbachia* se produce en varias especies de avispas. En estos insectos, los machos se originan normalmente de huevos no fecundados (que contienen solo un juego de cromosomas), mientras que las hembras se desarrollan a partir de huevos fecundados (que contienen dos juegos de cromosomas). Sin embargo, en los huevos no fecundados infectados por *Wolbachia*, el organismo de alguna manera induce la duplicación del número de cromosomas, originándose por tanto solamente hembras. Como es de esperar, si los insectos hembras se alimentan con antibióticos que destruyen a *Wolbachia*, deja de haber partenogénesis.

Otros órdenes de *Alphaproteobacteria*

Géneros principales: *Rhodobacter, Acetobacter, Caulobacter* y *Sphingomonas*

Las familias *Rhodobacterales* y *Rhodospirillales* (Figura 15.3) comprenden organismos de metabolismo variado que han sido comentados previamente, como las bacterias rojas no del azufre (*Rhodobacter y Rhodospirillum*, ↻ Sección 14.5), bacterias fotótrofas aerobias anoxigénicas (*Roseobacter*, ↻ Sección 14.5), bacterias fijadoras de nitrógeno (*Azospirillum*, ↻ Seccion 14.12), desnitrificantes (*Paracoccus*, ↻ Sección 14.13), metilótrofas (*Methylobacterium*, ↻ Sección 14.17), bacterias del ácido acético (*Acetobacter* and *Gluconobacter*, ↻ Sección 14.18), y bacterias magnéticas (*Magnetospirillum*, ↻ Sección 14.23).

Las *Caulobacterales* son normalmente organismos oligótrofos y quimioorganótrofos aerobios estrictos. Las especies forman prostecas o pedúnculos (↻ Sección 14.21) y muchas presentan formas asimétricas de división celular. El género más característico es *Caulobacter*, cuyo ciclo de vida hemos presentado previamente (↻ Secciones 7.12 y 14.21).

Las *Sphingomonadales* incluyen quimioorganótrofos aerobios y facultativos diversos, así como especies de fotótrofos aerobios anoxigénicos (*Erythrobacter*), y unos pocos anaerobios estrictos. El género principal es *Sphingomonas*, formado por aerobios estrictos y especies versátiles en cuanto a su nutrición, que están muy distribuidas en medios acuáticos y terrestres, y son notables por su capacidad de metabolizar una extensa gama de compuestos orgánicos que incluye muchos compuestos aromáticos que son contaminantes ambientales frecuentes (como tolueno, nonilfenol, dibenzo-*p*-dioxina, naftaleno y antraceno). Por consiguiente, las esfingomonas han sido muy bien estudiadas como posibles agentes de bioremediación (↻ Sección 21.5). Estos organismos suelen ser fáciles de cultivar y crecen bien en diversos medios de cultivo complejos.

MINIRREVISIÓN

- ¿De qué manera las especies de *Wolbachia* pueden afectar a los insectos?
- ¿Qué organismos pueden formar las manchas rosadas que se encuentran en los bordes de una bañera? ¿Cómo intentaría cultivar estos organismos?

15.2 *Betaproteobacteria*

Con casi 500 especies descritas, las *Betaproteobacteria* son la tercera clase más extensa de *Proteobacteria* (**Figura 15.7**). Presentan una inmensa variedad de diversidad funcional (Figura 15.2 y ↻ Figura 14.1) y muchas especies de este grupo ya se han considerado en el Capítulo 14. La clase *Betaproteobacteria* tiene seis órdenes, que contienen muchas especies descritas. Nos centraremos en ellos; son: *Burkholderiales*, *Hydrogenophilales*, *Methylophilales*, *Neisseriales*, *Nitrosomonadales*, y *Rhodocyclales*.

Burkholderiales

Género principal: *Burkholderia*

Las *Burkholderiales* son especies que presentan una gran variedad de propiedades metabólicas y ecológicas. Hay especies quimioorganótrofas que son aerobias estrictas, facultativas o anaerobias estrictas, otras son fotótrofas anoxigénicas, quimiolitótrofas estrictas o facultativas, fijadoras de nitrógeno de vida libre, y patógenas de plantas, de animales o de humanos.

El género tipo de las *Burkholderiales* es *Burkholderia*, que agrupa diversas especies quimiorganótrofas con metabolismo respiratorio estricto. Todas las especies pueden crecer aeróbicamente, aunque algunas también lo hacen anaeróbicamente con nitrato como aceptor de electrones, y muchas cepas son capaces de fijar N_2. La versatilidad metabólica de las especies de *Burkholderia* respecto a los compuestos orgánicos, y en particular respecto a los aromáticos, ha despertado interés en su uso en procesos de biorremediación (↻ Sección 21.5). Algunas cepas de *Burkholderia* también inducen el crecimiento en plantas. Sin embargo, muchas pueden ser patógenas para las plantas o para los animales.

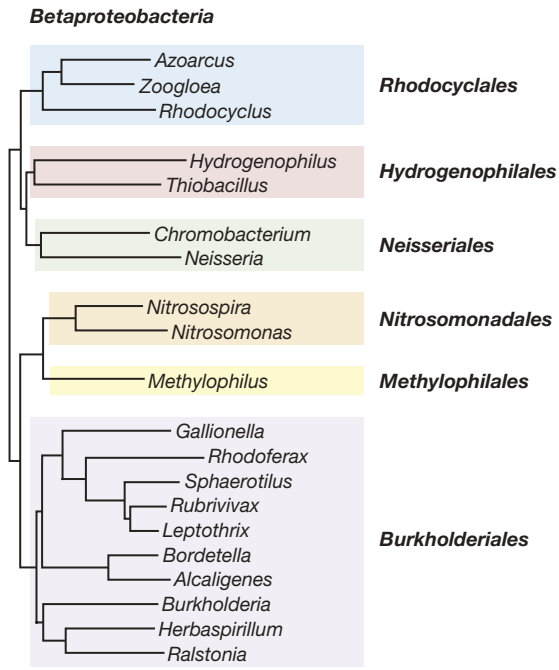


Figura 15.7 Principales órdenes de *Proteobacteria* incuidos en la clase *Betaproteobacteria*. El árbol filogenético se dedujo de las secuencias de genes del rRNA 16S de géneros representativos de *Betaproteobacteria*. Los nombres de los órdenes se indican en negrita.



James Shapiro

Figura 15.8 Colonias de *Burkholderia*. Fotografía de colonias de *B. capacea* creciendo en un medio sólido.

Una de las especies patógenas mejor conocidas es *Burkholderia cepacia*, que es fundamentalmente una bacteria de suelos, pero también un patógeno oportunista (**Figura 15.8**). A menudo se encuentra en la rizosfera de las plantas y puede producir compuestos antifúngicos, así como contra nematodos, por lo que su capacidad para colonizar las raíces de las plantas supone una protección que favorece el crecimiento de la planta. Sin embargo, *B. cepacia* también puede ser un patógeno vegetal en determinadas circunstancias, y es la principal causa de la podredumbre de la cebolla. Esta especie también ha emergido como oportunista en infecciones hospitalarias humanas y es difícil de erradicar de los ambientes clínicos. *Burkholderia cepacia* puede ocasionar infecciones pulmonares secundarias en pacientes inmunodeprimidos, o que padezcan neumonía o fibrosis cística. Su capacidad para formar biofilms en el pulmón y su resistencia natural a muchos antibióticos hace que este organismo sea particularmente peligroso para los pacientes con fibrosis cística (↻ Sección 19.4).

Rhodocyclales

Géneros principales: *Rhodocyclus, Zoogloea*

Como las *Burkholderiales*, el orden *Rhodocyclales* contiene especies con características metabólicas y ecológicas muy diversas. El género tipo de este orden es *Rhodocyclus*, una bacteria roja no del azufre (↻ Sección 14.5). Como la mayoría de las bacterias rojas no del azufre, las especies de *Rhodocyclus* crecen mejor como fotoheterótrofas, pero muchas pueden crecer también como fotoautótrofas con H_2 como donador de electrones. Hay especies que pueden crecer también mediante respiración en la oscuridad, pero normalmente se encuentran en ambientes anóxicos iluminados y con materia orgánica presente.

Zoogloea es otro género importante de las *Rhodocyclales*. Comprende especies aerobias y quimioorganótrofas que son peculiares por producir una espesa cápsula gelatinosa que mantiene unidas las células en una matriz compleja que muestra ramificaciones y proyecciones en forma de dedo. Esta matriz gelatinosa puede causar *floculación*, es decir, la formación de partículas macroscópicas que sedimentan en la solución. *Zoogloea ramigera* es particularmente importante en la depuración aerobia de aguas residuales (↻ Sección 21.6), porque degrada gran cantidad del carbono orgánico de dichas aguas y favorece la floculación y la sedimentación, que son pasos esenciales en la purificación del agua.

Neisseriales

Géneros principales: *Chromobacterium, Neisseria*

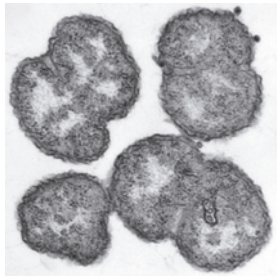
El orden *Neisseriales* comprende al menos 29 géneros de quimioorganótrofos diversos. Las especies mejor conocidas se incluyen en los géneros *Neisseria* y *Chromobacterium*. Las especies de *Neisseria*, que son siempre cocos (**Figura 15.9*a***), se aíslan con frecuencia de animales y algunas son patógenas. Otras son saprófitas de vida libre y se encuentran en la cavidad oral y en otras zonas húmedas del cuerpo de los animales. Algunas son patógenos importantes, como *Neisseria meningitidis,* que puede causar una inflamación grave de las meninges, a veces mortal (meningitis, ↻ Sección 29.5). Trataremos la microbiología clínica de *Neisseria gonorrhoeae* —el agente causal de la gonorrea— en la Sección 27.3, y la patogenia de esta enfermedad en la Sección 29.12.

Chromobacterium está estrechamente relacionado con *Neisseria*, pero tiene una morfología de bacilo. La especie más conocida es *C. violaceum*, un organismo pigmentado de color morado (Figura 15.9*b*) que se encuentra en suelos y aguas, y ocasionalmente en heridas purulentas en humanos y en otros animales. *Chromobacterium violaceum* y algunas otras cromobacterias producen el pigmento *violaceína* (Figura 15.9*b*), que es insoluble en agua y presenta propiedades antimicrobianas y antioxidantes. *Chromobacterium* es aerobio facultativo, crece por fermentación de azúcares y aeróbicamente con diversas fuentes de carbono.

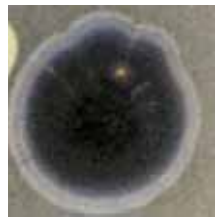
Hydrogenophilales, Methylophilales y *Nitrosomonadales*

Géneros principales: *Hydrogenophilus, Thiobacillus, Methylophilus, Nitrosomonas*

Estos tres órdenes contienen organismos con capacidades metabólicas bastante especializadas, que incluyen quimiolitótrofos y metilótrofos; la mayoría son aerobios estrictos y muchos son autrótrofos. *Hydrogenophilus thermoluteolus* es un aerobio estricto que puede crecer como quimiolitótrofo usando H_2 como donador de electrones en la respiración (↻ Secciones 13.7 y 14.16) y el ciclo de Calvin para fijar CO_2. Esta especie es un quimiolitótrofo facultativo y puede crecer también como quimioorganótrofo con fuentes de carbono sencillas. *Thiobacillus* es otro género importante de las *Hydrogenophilales* y sus especies pueden ser quimioorganótrofas o quimiolitótrofas. Las



Centers for Disease Control – PHIL



T. D. Brock

(a) *(b)*

Figura 15.9 *Neisseria* y *Chromobacterium* *(a)* Microfotografía electrónica de transmisión de células de *Neisseria gonorrhoeae*, que muestran la típica disposición de las células en diplococos. *(b)* Una gran colonia de *Chromobacterium violaceum.*

especies quimiolitótrofas de *Thiobacillus* son bacterias del azufre (↔ Secciones 13.8 y 14.11) que oxidan compuestos reducidos de azufre como donadores de electrones y crecen mediante respiración aerobia o desnitrificación (↔ Secciones 13.17 y 14.13). Algunas especies también pueden fijar CO_2 por el ciclo de Calvin y se encuentran por lo general en suelos, manantiales de aguas sulfurosas, hábitats marinos y otros lugares donde haya disponibles compuestos reducidos de azufre.

Los órdenes *Methylophilales* y *Nitrosomonadales* comprenden microorganismos de metabolismo especializado. Las especies de *Methylophilus* son metilótrofos obligados o facultativos (↔ Sección 14.17), que crecen con metanol o con otros compuestos C_1, pero no con metano. Las especies que son facultativas pueden crecer como quimioorganótrofas mediante respiración aerobia de azúcares sencillos. El orden *Nitrosomonadales* agrupa bacterias quimiolitótrofas estrictas que oxidan amoniaco, y los géneros principales son *Nitrosomonas* y *Nitrosospira* (↔ Seccion 14.13).

MINIRREVISIÓN

- Indique tres especies de *Betaproteobacteria* que sean patógenas para los humanos.
- Señale tres géneros de *Betaproteobacteria* que contengan quimiolitótrofos.

15.3 *Gammaproteobacteria*-*Enterobacteriales*

Géneros principales: *Enterobacter, Escherichia, Klebsiella, Proteus, Salmonella, Serratia, Shigella*

Las *Gammaproteobacteria* constituyen la clase más extensa y variada de las *Proteobacteria*, y contienen casi la mitad de las bacterias descritas del filo. La clase comprende más de 1.500 especies descritas en sus 15 órdenes (**Figura 15.10**, Figura 15.1*b*). Son especies con propiedades metabólicas y ecológicas muy variadas (Figura 15.2 y ↔ Figura 14.1) y algunas son patógenos humanos bien conocidos. Los miembros de este grupo pueden ser fotótrofos (como las bacterias rojas del azufre, ↔ Sección 14.4), quimiorganótrofos o quimiolitótrofos y pueden presentar metabolismo respiratorio o fermentador. Suelen crecer con facilidad en medios de cultivo en el laboratorio, y pueden aislarse de una gran diversidad de hábitats. En esta sección consideraremos las *Enterobacteriales*, uno de los órdenes más extensos y mejor conocidos dentro de las *Gammaproteobacteria*.

Las *Enterobacteriales*, comúnmente llamadas **bacterias entéricas**, comprenden un grupo filogenético relativamente homogéneo dentro de las *Gammaproteobacteria* formado por bacilos gramnegativos aerobios facultativos, que no esporulan y que son inmóviles o móviles por flagelos perítricos (**Figura 15.11**). Para diferenciar las bacterias entéricas de otras muchas *Gammaproteobacteria* se usan la prueba de la oxidasa y la prueba de la catalasa, que son ensayos rutinarios para caracterizar bacterias (↔ Sección 27.3). La prueba de la oxidasa determina la presencia de la citocromo *c*-oxidasa, una enzima presente en muchas bacterias respiradoras. La prueba de la catalasa detecta la enzima catalasa, que detoxifica el peróxido de hidrógeno y

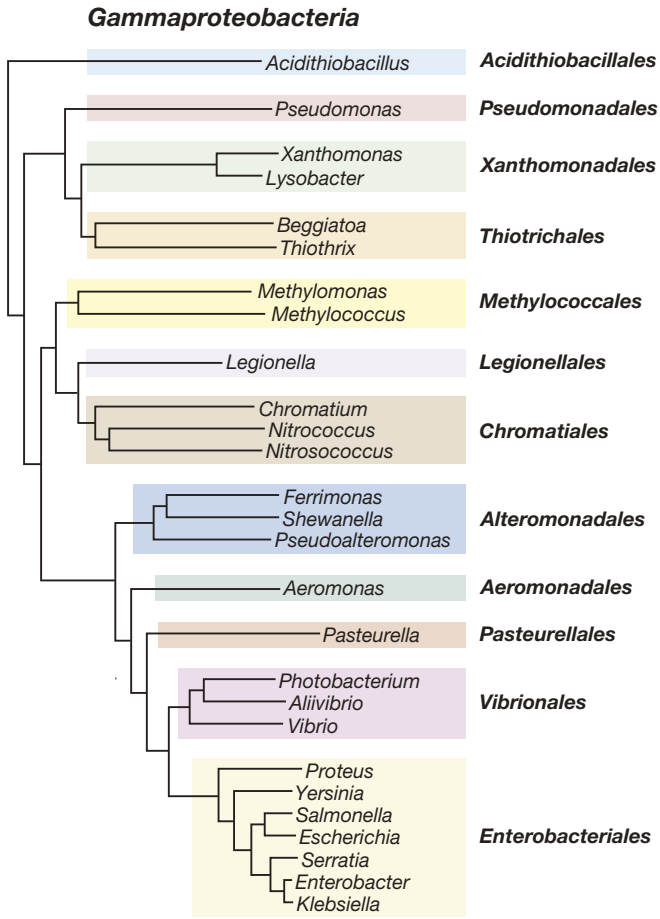
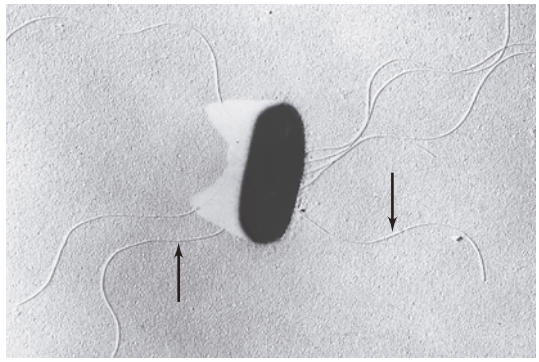


Figura 15.10 Principales órdenes de *Proteobacteria* incuidos en la clase *Gammaproteobacteria*. El árbol filogenético se dedujo de las secuencias de genes del rRNA 16S de géneros representativos de *Gammaproteobacteria*. Los nombres de los órdenes se indican en negrita.



Arthur Kelman

Figura 15.11 Bacteria entérica productora de butanodiol. Microfotografía electrónica de una preparación de células de la enterobacteria productora de butanodiol *Erwinia carotovora*. La célula mide aproximadamente 0,8 µm de ancho. Obsérvense los flagelos perítricos (flechas) típicos de bacterias entéricas.

que se encuentra en bacterias que crecen en presencia de oxígeno (↔ Sección 5.16 y Figura 5.31). Las bacterias entéricas son oxidasa negativas y catalasa positivas. También producen ácido a partir de la glucosa y reducen nitratos pero solo hasta

nitritos. Tienen exigencias nutricionales relativamente sencillas y fermentan azúcares originando productos finales variados.

Entre las bacterias entéricas hay muchas especies patógenas para los humanos, para otros animales o para plantas, y otras tienen importancia industrial. *Escherichia coli*, que es el organismo mejor conocido, es la bacteria entérica clásica. Por su importancia médica, se han estudiado con detalle muchas bacterias entéricas, y se ha descrito un gran número de géneros y especies, principalmente para facilitar su identificación en microbiología clínica. Sin embargo, como las bacterias entéricas guardan una estrecha relación genética, su identificación correcta presenta con frecuencia una considerable dificultad. En los laboratorios clínicos, la identificación suele basarse en el análisis combinado de un número elevado de pruebas diagnósticas realizadas utilizando kits miniaturizados de medios para diagnóstico, junto a análisis inmunológicos y genómicos para identificar proteínas distintivas o genes de una especie concreta (Capítulo 27).

Tipos de fermentación en las bacterias entéricas

Una importante característica taxonómica que distingue los diversos géneros de bacterias entéricas es el tipo y la proporción de los productos finales que se generan durante la fermentación de la glucosa. Se conocen dos tipos generales de fermentación, la *fermentación ácido-mixta* y la *fermentación butanodiólica* (**Figura 15.12**).

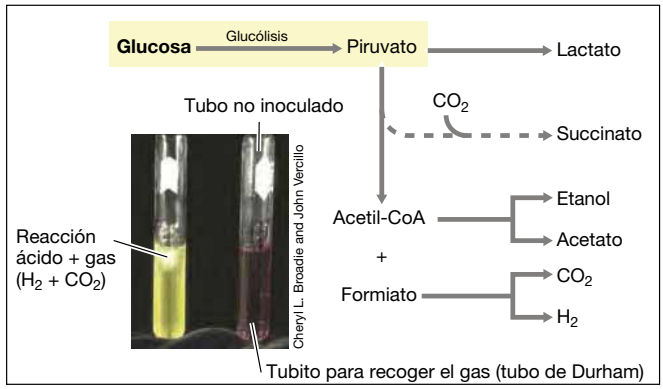
En la fermentación ácido-mixta se forman cantidades significativas de tres ácidos: acético, láctico y succínico. También se forma etanol, CO_2 y H_2, pero no butanodiol. En la fermentación butanodiólica se forman pequeñas cantidades de ácidos y los principales productos son butanodiol, etanol, CO_2 y H_2 (↻ Figura 13.32). Como consecuencia de la fermentación ácido-mixta se forman cantidades iguales de CO_2 y H_2, mientras que en la fermentación butanodiólica se produce mucho más CO_2 que H_2. Esto se debe a que los fermentadores de tipo ácido-mixto solo producen CO_2 a partir del ácido fórmico, por medio de la enzima formato-hidrogenoliasa:

$$HCOOH \rightarrow H_2 + CO_2$$

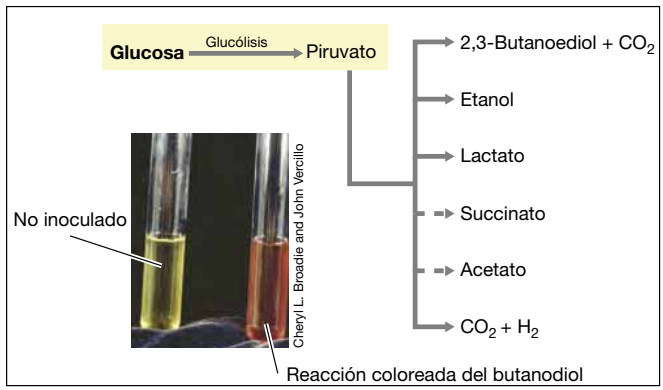
Esta reacción produce cantidades equimoleculares de CO_2 y H_2. Los fermentadores de tipo butanodiólico también producen CO_2 y H_2 a partir del ácido fórmico, pero originan dos moléculas más de CO_2 durante la formación de cada molécula de butanodiol (Figura 15.12*b*). La fermentación butanodiólica es característica de *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Erwinia* y *Serratia*, mientras que la fermentación ácido-mixta se presenta en *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Citrobacter*, *Proteus* y *Yersinia*.

Fermentación ácido-mixta: *Escherichia, Salmonella, Shigella* y *Proteus*

Las especies de *Escherichia* son habitantes casi universales del intestino humano y de otros animales de sangre caliente, aunque no son los organismos dominantes en dicho hábitat. *Escherichia* puede desempeñar un papel nutritivo en el intestino, donde sintetiza vitaminas, en particular la vitamina K. Como aerobio facultativo, probablemente ayuda a consumir O_2 y hacer anóxico el intestino. Las cepas silvestres de *Escherichia* no suelen requerir factores de crecimiento, y pueden crecer con muchos tipos de fuente de carbono y energía como azúcares, aminoácido o ácidos orgánicos.



(a) **Fermentación ácido-mixta** (por ejemplo, *Escherichia coli*)



(b) **Fermentación butanodiólica** (por ejemplo, *Enterobacter aerogenes*)

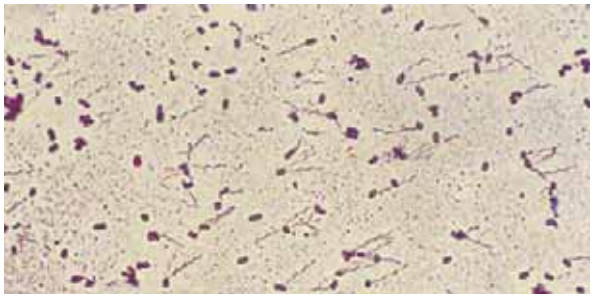
Figura 15.12 Tipos de fermentación entérica. Distinción entre *(a)* la fermentación ácido-mixta y *(b)* la fermentación butanodiólica, en enterobacterias (↻ Figura 13.32). Las flechas gruesas marcan las reacciones que dan lugar a los principales productos. Las flechas discontinuas marcan los productos secundarios. *(a)* La foto muestra la producción de ácido (amarillo) y gas (en el tubo de Durham invertido) en un cultivo de *Escherichia coli* que lleva a cabo una fermentación ácido-mixta (el tubo de color más oscuro no está inoculado). *(b)* La foto muestra el color rojo-rosado en la prueba de Voges-Proskauer (VP), lo que indica producción de butanodiol, como consecuencia del crecimiento de *Enterobacter aerogenes*. El tubo izquierdo (amarillo) no está inoculado. Obsérvese que la fermentación ácido-mixta produce menos CO_2 pero más productos ácidos a partir de glucosa que la fermentación del butanodiol.

Algunas cepas de *Escherichia* son patógenas y causan enfermedades diarreicas, especialmente en la infancia; las diarreas son un importante problema de salud pública en países en vías de desarrollo (↻ Sección 31.11). *Escherichia* es también una causa importante de infecciones urinarias en las mujeres. Las cepas enteropatógenas de *E. coli* son cada vez más frecuentes como causa de infecciones gastrointestinales y fiebre generalizada. Algunas cepas, como las *E. coli* enterohemorrágicas, con la cepa O157:H7 como representante importante, causan brotes esporádicos de enfermedades graves transmitidas por alimentos. La infección se debe principalmente al consumo de alimentos contaminados, como carne picada cruda o poco cocinada, leche no pasteurizada o agua contaminada. En un pequeño porcentaje de casos, *E. coli* O157:H7 origina complicaciones que pueden ser letales debido a la producción de una enterotoxina muy potente.

Salmonella y *Escherichia* guardan una estrecha relación. Sin embargo, a diferencia de *Escherichia*, las especies de *Salmonella*

son casi siempre patógenas para los humanos o para otros animales de sangre caliente (*Salmonella* también se encuentra en el intestino de animales de sangre fría, como tortugas o lagartos). En los humanos, las enfermedades más frecuentes causadas por salmonelas son la fiebre tifoidea y gastroenteritis (↻ Secciones 31.5 y 31.10). Las shígelas también guardan una estrecha relación con *Escherichia*; los análisis genómicos indican que *Shigella* y *Escherichia* han intercambiado un número significativo de genes por transmisión horizontal. No obstante, a diferencia de *Escherichia*, las especies de *Shigella* son normalmente patógenas para los humanos, y causa una gastroenteritis grave llamada *disentería bacilar*. Un buen ejemplo de esto es *Shigella dysenteriae*, que se transmite por la alimentación y por el agua. Esta bacteria, que contiene una endotoxina, invade las células del epitelio intestinal y excreta una neurotoxina que causa un dolor intestinal agudo.

El género *Proteus* normalmente presenta células con una gran motilidad (**Figura 15.13**) y que producen la enzima *ureasa*. A diferencia de *Salmonella* y *Shigella*, *Proteus* tiene una relación lejana con *E. coli*. *Proteus* origina con frecuencia infecciones de las vías urinarias en los humanos y probablemente saque provecho de su gran capacidad para degradar la urea mediante la ureasa. Debido a la gran motilidad de las células de *Proteus*, las colonias que crecen en medio sólido suelen mostrar un fenotipo característico en enjambre (*swarming*) (Figura 15.13*b*). Las células del borde de la colonia en crecimiento se desplazan más deprisa que las del centro de la colonia. Las del borde se desplazan en masa a una corta distancia de la colonia y luego sufren su motilidad se reduce, se detienen y se dividen, formando una nueva población de células móviles, que de nuevo se desplazan en masa. Como consecuencia, la colonia madura se muestra como una serie de círculos concéntricos, que corresponden a altas concentraciones de células que alternan con bajas concentraciones celulares (Figura 15.13*b*).



D. E. Snyder

(a)



James Shapiro

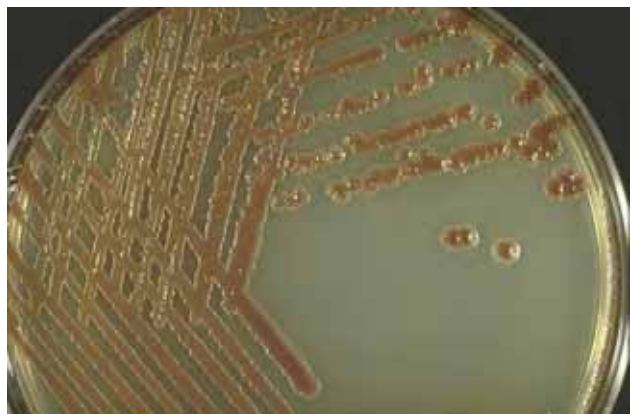
(b)

Figura 15.13 **Desplazamiento en enjambre de *Proteus*.** *(a)* Células de *Proteus mirabilis* marcadas con una tinción flagelar; los flagelos perítricos de cada célula se agrupan en un haz para rotar en sincronía. *(b)* Foto de una colonia con desplazmiento en enjambre de *Proteus vulgaris*. Obsérvense los anillos concéntricos.

Fermentación butanodiólica: *Enterobacter, Klebsiella* y *Serratia*

Los fermentadores butanodiólicos suelen guardar una relación más estrecha entre sí que con los que tienen fermentación ácido-mixta, lo que concuerda con las diferencias fisiológicas que muestran (Figura 15.12). *Enterobacter aerogenes* es una especie corriente en el agua y en aguas residuales así como en el intestino de animales de sangre caliente y de vez en cuando causa infecciones urinarias. Una especie de *Klebsiella*, *K. pneumoniae*, causa a veces neumonías en los humanos, pero las klebsiellas se encuentran más frecuentemente en el suelo y en el agua. La mayoría de las cepas de *Klebsiella* también fijan nitrógeno (↻ Sección 3.17), una propiedad que no es característica de otras bacterias entéricas.

El género *Serratia* forma una serie de pigmentos pirrólicos rojos llamados *prodigiosinas* (**Figura 15.14**). Las prodigiosinas se producen durante la fase estacionaria como metabolitos secundarios y son de interés porque contienen un anillo pirrólico que también se encuentra en los pigmentos que transfieren energía: porfirinas, clorofilas, bacterioclorofilas y ficobilinas (↻ Secciones 13.1-13.3). Sin embargo, no está claro si la prodigiosina desempeña algún papel en la transferencia de energía y se desconoce su función exacta. Se pueden aislar especies de *Serratia* del agua y del suelo, así como del intestino de varios insectos y vertebrados, y en ocasiones del intestino humano. *Serratia marcescens* es también un patógeno humano y puede causar infecciones en muchas partes del cuerpo. Se la relaciona con infecciones causadas por algunas técnicas médicas invasivas y es un contaminante ocasional de líquidos intravenosos.



John Vercillo and Cheryl Broadie

Figura 15.14 **Colonias of *Serratia marcescens*.** La pigmentación rojo-anaranjada se debe al pigmento pirrólico prodigiosina.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué es una fermentación ácido-mixta y que significado tiene para las bacterias entéricas?
- ¿Qué propiedades emplearía para distinguir entre *Escherrichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*?

15.4 *Gammaproteobacteria*- *Pseudomonadales* y *Vibrionales*

Géneros principales: *Aliivibrio, Pseudomonas, Vibrio*

La diversidad filogenética y metabólica de las *Gammaproteobacteria* hace difícil la selección de muchas especies notables en esta clase de *Proteobacteria*. Aquí nos centraremos en las *Pseudomonadales* y las *Vibrionales*, ya que estos grupos (junto con las *Enterobacteriales*) representan tres de los órdenes más abundantes y frecuentes de las *Gammaproteobacteria* (Figura 15.10).

Pseudomonadales

Las *Pseudomonadales* son bacterias exclusivamente quimioorganótrofas que realizan metabolismo respiratorio. Todas las especies pueden crecer como aerobias y normalmente son oxidasa y catalasa positivas, aunque algunas pueden también respirar anaeróbicamente con nitrato como aceptor de electrones. La mayoría de las especies pueden usar una gran diversidad de compuestos orgánicos como fuente de carbono y energía para el crecimiento. Estos organismos son muy frecuentes en el suelo y en sistemas acuáticos, y muchas especies causan enfermedades a plantas y animales, incluidos los humanos. El género tipo es *Pseudomonas* y las especies principales se definen según la filogenia y diversas propiedades fisiológicas y fenotípicas, como se indica en la **Tabla 15.2.** El término **pseudomonas** se usa a menudo para describir cualquier bacilo gramnegativo aerobio y con flagelación polar que puede usar varias fuentes de carbono. Tipos de pseudomonas pueden encontrarse en diferentes grupos de *Proteobacteria*, pero aquí consideraremos tan solo aquellos organismos que pertenecen al orden *Pseudomonadales*.

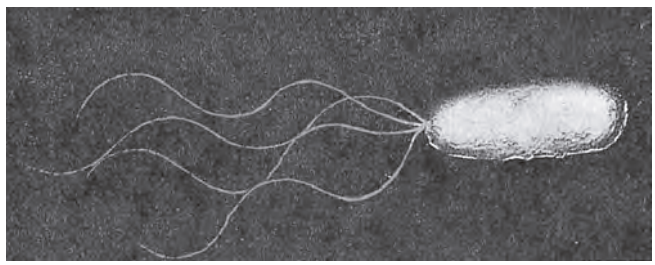
Tabla 15.2 Características de algunas especies importantes de Pseudomonas

Especie	*Características*
Pseudomonas aeruginosa	Producción de piocianina; crece hasta 43 °C; un único flagelo polar; desnitrificante; principalmente organismo del suelo, pero también frecuente en infecciones hospitalarias (nosocomiales)
Pseudomonas fluorescens	No produce piocianina ni crece a 43 °C; penacho de flagelos polares; principalmente organismo del suelo, raramente patógeno
Pseudomonas marginalis	Degrada pectina, causa podredumbre en varias plantas
Pseudomonas putida	Similar a *P. fluorescens,* pero no degrada la gelatina y crece con bencilamina
Pseudomonas syringae	No tiene arginina dihidrolasa; oxidasa-negativo; patógeno de plantas que causa clorosis y lesiones necróticas en hojas
Pseudomonas stutzer	Saprófito del suelo; potente desnitrificante y no fluorescente

Varias especies de *Pseudomonas* son patógenas (Tabla 15.2). Entre estas, *Pseudomonas aeruginosa* (**Figura 15.15**) produce frecuentemente infecciones urinarias y respiratorias en los humanos. *Pseudomonas aeruginosa* no es un patógeno estricto, sino más bien un oportunista, que inicia las infecciones en individuos con el sistema inmunitario debilitado. Es una causa frecuente de infecciones hospitalarias (nosocomiales), por el uso de catéteres, traqueotomías, punciones lumbares o infusiones intravenosas (gota a gota) y a menudo se encuentra en pacientes sometidos a tratamientos prolongados con inmunosupresores. También es un patógeno frecuente en pacientes que reciben tratamiento por quemaduras graves u otros daños traumáticos en la piel, y en personas afectadas de fibrosis cística. Además de producir infecciones localizadas, *P. aeruginosa* también puede causar infecciones sistémicas, por lo general en individuos que padecen lesiones cutáneas extensas.

Pseudomonas aeruginosa es resistente a muchos de los antibióticos usados normalmente, de modo que el tratamiento de estas infecciones suele ser difícil. La resistencia se debe normalmente a un plásmido de resistencia (plásmido R) (↪ Secciones 4.3 y 27.17), cuyos genes codifican proteínas que desactivan diversos antibióticos o los transportan fuera de la célula. La polimixina, que es un antibiótico de uso poco corriente en humanos porque es tóxico, resulta eficaz contra *P. aeruginosa* y se emplea en situaciones médicas críticas.

Algunas especies de *Pseudomonas* son organismos patógenos de plantas (fitopatógenas) bien conocidos (Tabla 15.2). Las especies fitopatógenas habitan frecuentemente en plantas no hospedadoras (en las que los síntomas de la enfermedad no son aparentes) y desde allí se transmiten a las hospedadoras, donde inician la infección. Los síntomas de la enfermedad varían considerablemente según la especie fitopatógena concreta y la planta hospedadora. El patógeno libera toxinas, enzimas líticas, factores de crecimiento y otras sustancias que destruyen o deforman el tejido vegetal liberando nutrientes para uso de la bacteria. En muchos casos los síntomas de la enfermedad ayudan a identificar el patógeno. Así, *P. syringae* suele aislarse de hojas que muestran lesiones cloróticas (amarillentas) mientras que *P. marginalis*, un patógeno que produce podredumbre, infecta tallos y brotes, pero raramente hojas.



Arthur Kelman

Figura 15.15 Morfología celular de las pseudomonas. Microfotografía electrónica de transmisión de una célula de *Pseudomonas*. La célula mide aproximadamente 1 μm de diámetro.

Vibrionales

Las *Vibrionales* comprenden bacilos (rectos y curvados) aerobios facultativos que muestran un metabolismo fermentador. Una importante diferencia entre este grupo y las bacterias entéricas es que los *Vibrio* son oxidasa positivos, mientras que las bacterias entéricas son oxidasa negativas. Aunque las especies de *Pseudomonas* son también oxidasa positivas, no son fermentadoras y por tanto se diferencian claramente de las especies de *Vibrio*. Los géneros mejor conocidos de este grupo son *Vibrio*, *Aliivibrio*, y *Photobacterium*, que contienen varias especies bioluminiscentes (↻ Sección 14.24).

La mayoría de los vibrios y bacterias relacionadas son acuáticos y se encuentran en hábitats marinos, salobres y dulces. *Vibrio cholerae* causa el cólera en los humanos (↻ Secciones 28.10 y 31.3) y no suele causar enfermedades en otros hospedadores. El cólera es una de las enfermedades más comunes en países en vías de desarrollo y se transmite casi exclusivamente por el agua.

Vibrio parahaemolyticus vive en ambientes marinos y es la principal causa de gastroenteritis en Japón, donde se consume mucho pescado crudo; este organismo se ha relacionado también con brotes de gastroenteritis en otras partes del mundo, incluidos los Estados Unidos. Se puede aislar directamente del agua marina o de moluscos y crustáceos, y su hábitat principal probablemente sean los animales marinos, mientras que los humanos serían hospedadores accidentales.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué especie de *Pseudomonas* suele causar infecciones pulmonares en pacientes con fibrosis cística?
- ¿Cuál es la principal característica que podría considerarse para diferenciar cepas de *Pseudomonas* de las de *Vibrio*?

15.5 *Deltaproteobacteria* y *Epsilonproteobacteria*

Estas clases de *Proteobacteria* contienen menos especies y menor diversidad funcional que las que se encuentran en las *Alpha-*, *Beta-*, y *Gammaproteobacteria* (Figura 15.2 y ↻ Figura 14.1). Las *Deltaproteobacteria* son fundamentalmente bacterias reductoras de sulfato y azufre (↻ Secciones 14.9 y 14.10), reductoras de hierro desasimiladoras (↻ Sección 14.14) y depredadoras de otras bacterias (↻ Sección 14.19). En cambio, las *Epsilonproteobacteria* contienen muchas especies que oxidan el H_2S producido por las reductoras de sulfato y de azufre. De la última clase de *Proteobacteria*, la clase de las *Zetaproteobacteria*, solo se ha descrito una especie (la oxidadora de hierro *Mariprofundus ferrooxydans*), que ya se ha considerado en el capítulo anterior (↻ Sección 14.15).

Deltaproteobacteria

Géneros principales: *Bdellovibrio, Myxococcus, Desulfovibrio, Geobacter, Syntrophobacter*

Dentro de las *Deltaproteobacteria* se han establecido ocho órdenes (**Figura 15.16**). El orden más extenso y común, que contiene organismos reductores de sulfato, es el de los *Desulfovibrionales*. Estos organismos se cultivan fácilmente a partir de sedimentos marinos y ambientes anóxicos ricos en nutrientes

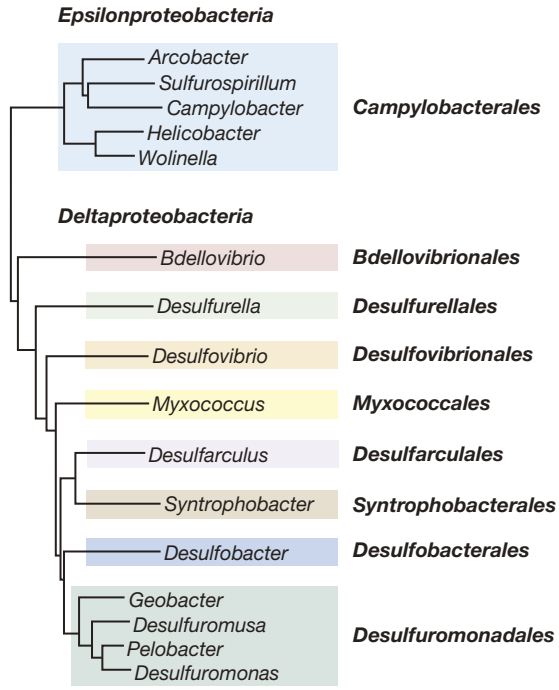


Figura 15.16 Principales órdenes de *Proteobacteria* incluidos en las clases *Deltaproteobacteria* y *Epsilonproteobacteria*. El árbol filogenético se dedujo de las secuencias de genes del rRNA 16S de géneros representativos de *Deltaproteobacteria* y *Epsilonproteobacteria*. Los nombres de los órdenes se indican en negrita.

y que contengan sulfatos. Las especies de este orden suelen ser oxidadoras incompletas (↻ Sección 14.9). Todas usan sulfato como aceptor terminal de electrones y requieren compuestos orgánicos sencillos, como lactato, como fuente de carbono y de energía para el crecimiento. Las especies de los órdenes *Desulfobacterales* y *Desulfarculales* normalmente también reducen sulfato pero, a diferencia de las *Desulfovibrionales*, estas especies pueden ser oxidadoras completas o incompletas de acetato (↻ Sección 14.9). Además de sulfato, algunas especies de estos tres órdenes también reducen sulfito, tiosulfato o nitrato, y las hay que pueden llevar a cabo algún tipo de fermentación.

El último orden que contiene reductores de sulfato es el de las *Syntrophobacterales,* algunas de cuyas especies, pero no todas, pueden reducir sulfato. Sin embargo, en la naturaleza, estos organismos interaccionan principalmente con bacterias que consumen H_2 en una relación metabólica llamada *sintrofia* (↻ Secciones 13.15 y 20.2). Por ejemplo, una especie sintrófica como *Syntrophobacter wolinii* oxida propionato produciendo acetato, CO_2 y H_2. Sin embargo, tal tipo de crecimiento solo es posible si en el medio está presente un consumidor de H_2. Si hay sulfatos, *S. wolinii* puede crecer como reductor de sulfato sin necesidad de un socio. Esta especie también puede crecer sin la necesidad de otro organismo asociado si fermenta piruvato, fumarato o malato.

Epsilonproteobacteria

Géneros principales: *Campylobacter, Helicobacter*

El grupo de las *Epsilonproteobacteria* (Figura 15.16) comprendía originalmente solo unas cuantas bacterias patógenas, en concreto, especies de *Campylobacter* y *Helicobacter*. Sin embargo, estudios ambientales de hábitats microbianos marinos y terrestres han

mostrado que en la naturaleza existe una diversidad de *Epsilonproteobacteria*, cuyo número y capacidades metabólicas sugieren que pueden desempeñar funciones ecológicas importantes (Tabla 15.3). Las especies de las *Epsilonproteobacteria* son particularmente abundantes en la interfase entre la zona óxica y la anóxica de los ambientes ricos en azufre, y desempeñan un papel importante en la oxidación de compuestos de azufre en la naturaleza.

Campylobacter y *Helicobacter*

Estos dos géneros de las *Epsilonproteobacteria* comparten algunas características. Las especies de *Campylobacter* y *Helicobacter* son espirilos móviles gramnegativos, oxidasa y catalasa positivos y la mayoría son patógenas para los humanos y otros animales (Tabla 15.3). Además, estos organismos son también microaerófilos (↔ Sección 5.16), y por tanto deben cultivarse a partir de muestras clínicas con concentraciones bajas de O_2 (3-15 %) y altas de CO_2 (3-10 %).

Se ha descrito más de una docena de especies de *Campylobacter*, que causan una gastroenteritis aguda, y que normalmente se manifiesta por una diarrea sanguinolenta. La patogenia se debe a varios factores, entre ellos una enterotoxina parecida a la toxina colérica. *Helicobacter pylori,* también patógeno, causa gastritis agudas y crónicas que llevan a la formación de úlceras pépticas. Estudiaremos con más detalle estas enfermedades, con su modo de transmisión y síntomas clínicos, en las Secciones 29.10 y 31.12.

Sulfurospirillum y *Wolinella*

Las especies de *Sulfurospirillum*, género que está relacionado con *Campylobacter*, son microaerófilas, no patógenas y de vida libre, que se encuentran en hábitats marinos y de agua dulce (Tabla 15.3). Estas bacterias también realizan diferentes tipos de respiración anaerobia, usando azufre elemental (S^0), seleniato o arseniato como aceptores de electrones (↔ Secciones 13.18 y 13.21).

Wolinella es una bacteria anaerobia aislada del rumen de bóvidos (Tabla 15.3; ↔ Sección 22.7). A diferencia de otras *Epsilonproteobacteria*, la única especie conocida, *W. succinogenes*, crece mejor como anaerobio y realiza respiración anaerobia usando fumarato o nitrato como aceptores de electrones, y con H_2 o formiato como donadores. Aunque hasta ahora *W. succinogenes* solo se ha encontrado en el rumen, su genoma muestra muchas homologías con los de *Campylobacter* y *Helicobacter*, aunque contiene genes adicionales que codifican la fijación de nitrógeno, muchos mecanismos de transducción de señales y rutas metabólicas casi completas, que están ausentes en esos otros genomas. Esto sugiere que *Wolinella* puede vivir en ambientes diversos fuera del rumen.

Epsilonproteobacteria del ambiente

Además de los géneros representativos cultivables indicados más arriba, y de muchos otros géneros y especies no considerados aquí, dentro de esta clase existen grandes grupos que solo se conocen por las secuencias del RNA 16S obtenidas del ambiente (↔ Sección 18.5). Mediante estudios de secuenciación y los esfuerzos que se están haciendo por cultivarlas, se empieza a ver que las especies de *Epsilonproteobacteria* son ubicuas en ambientes terrestres y marinos en los hábitats donde hay actividades relacionadas con el ciclo del azufre, particularmente en los hábitats de las fuentes hidrotermales de las grandes profundidades marinas, donde se mezclan aguas oxigenadas y aguas ricas en sulfuro (↔ Sección 19.13). Además, se ha encontrado una gran variedad de *Epsilonproteobacteria* no cultivables adheridas a la superficie de animales como el gusano tubular *Alvinella* y la crustáceo *Rimicaris*, que viven próximos a las fuentes hidrotermales. Mediante su metabolismo del azufre, estas bacterias pueden eliminar el H_2S, que de otro modo sería perjudicial para sus hospedadores, permitiendo así a estos

Tabla 15.3 Características de los géneros principales de *Epsilonproteobacteria*

Género	*Hábitat*	*Caracteres distintivos*	*Fisiología y metabolismo*
Campylobacter	Órganos reproductores, cavidad oral e intestino humano y de otros animales; patógeno	Bacilos delgados curvados en espiral; motilidad a modo de sacacorchos mediante un solo flagelo polar	Microaerófilo; quimiorganótrofo
Arcobacter	Hábitats diversos (ambientes de agua dulce, aguas residuales, ambientes salinos, aparato reproductor de animales, plantas); algunas especies son patógenas para los humanos y otros animales.	Bacilos delgados y curvados, móviles por un solo flagelo polar	Microaerófilo; aerotolerante o aerobio; quimiorganótrofo; oxidación de sulfuro a azufre elemental (S^0) en algunas especies; una especie es fijadora de nitrógeno
Helicobacter	Intestino y cavidad oral de los humanos y otros animales; patógeno	Bacilares o espirales no flexibles; algunas especies tienen fibras periplasmáticas enrolladas fuertemente	Microaerófilos, quimioorganótrofos; producen mucha ureasa (asimilación del nitrógeno)
Sulfurospirillum	En hábitats de aguas dulce o marinas con azufre	Células con forma de vibrio o espiral, móviles por flagelos polares	Microaerófilo; reduce azufre elemental (S^0)
Thiovulum	En hábitats de aguas dulces o marinas con azufre, no aislado en cultivo axénico (Figura 14.29)	Las células contienen gránulos rómbicos de S^0; motilidad rápida por flagelos perítricos	Microaerófilo, quimiolitótrofo oxidador de H_2S
Wolinella	Rumen de los bóvidos	Muy móvil con flagelo polar, solo se conoce la especie *W. succinogenes*	Anaerobio; respiración anaerobia con fumarato, nitrato u otros compuestos como aceptores terminales de electrones, y con H_2 o formiato como donadores de electrones

animales vivir en un ambiente químicamente hostil para ellos (↔ Sección 22.12). La investigación futura sobre la filogenia, la actividad metabólica y la función ecológica de las *Epsilonproteobacteria* probablemente conducirán al descubrimiento de nuevos aspectos apasionantes de la diversidad procariota.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué cuatro propiedades metabólicas son comunes en las especies de *Deltaproteobacteria*?
- ¿Por qué es *Wolinella* diferente fisiológicamente dentro de las *Epsilonproteobacteria*?

II • *Firmicutes, Tenericutes* y *Actinobacteria*

Continuamos nuestro viaje por la diversidad filogenética procariota con las bacterias grampositivas de los filos *Actinobacteria* y *Firmicutes*, y el filo *Tenericutes*, que guarda relación con ellos (**Figura 15.17**). Estos tres filos contienen casi la mitad de todas las especies de *Bacteria* descritas (Figura 15.1*b*).

En las *Actinobacteria* se incluyen los actinomicetos, un enorme grupo de bacterias del suelo, mayoritariamente filamentosas. Una característica distintiva de las *Actinobacteria* es que contienen genomas de alto contenido en GC y por ello se denominan también **bacterias grampositivas con elevado contenido de GC**. Las *Tenericutes* incluyen células que carecen de pared celular y las *Firmicutes* contienen las bacterias formadoras de endósporas, las bacterias del ácido láctico y varios grupos más. A diferencia de las *Actinobacteria*, los genomas de las *Firmicutes* tienen generalmente menos contenido de GC y son también denominadas **bacterias grampositivas con bajo contenido de GC**.

Comenzamos analizando las *Firmicutes* que no forman endósporas.

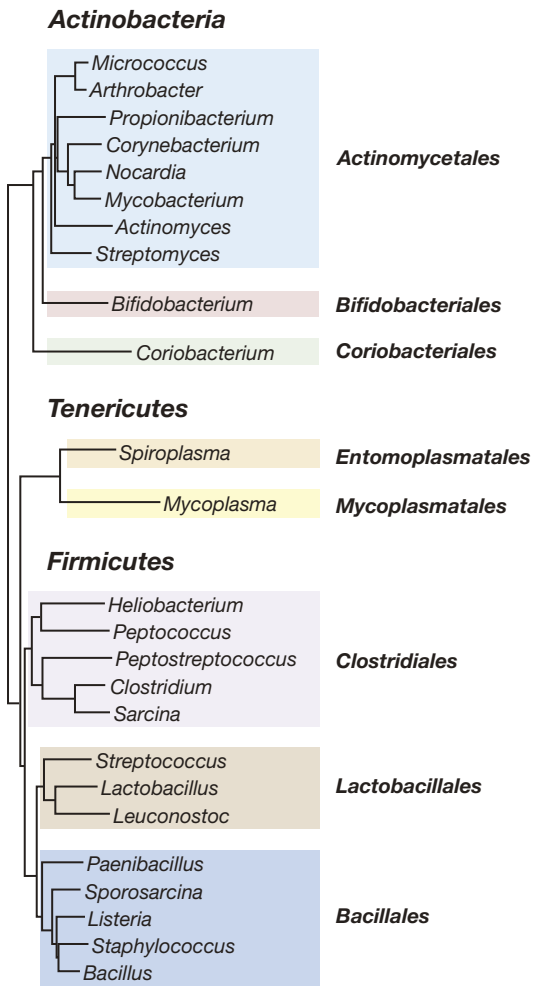


Figura 15.17 Principales órdenes de bacterias grampositivas y bacterias relacionadas. El árbol filogenético se dedujo de las secuencias de genes del rRNA 16S de géneros representativos de *Actinobacteria*, *Firmicutes*, y *Tenericutes*. Los nombres de los órdenes se indican en negrita.

15.6 *Firmicutes*-*Lactobacillales*

Géneros principales: *Lactobacillus, Streptococcus*

El orden de las *Lactobacillales* comprende las **bacterias del ácido láctico,** organismos fermentadores que producen ácido láctico como producto final mayoritario de su metabolismo. Estos organismos se utilizan mucho en la producción y conservación de alimentos. Las bacterias del ácido láctico son bacilos o cocos oxidasa y catalasa negativos, que no esporulan, y muestran un metabolismo exclusivamente fermentador. Todas las bacterias del ácido láctico producen este compuesto como el principal o único producto fermentador. Los miembros de este grupo carecen de porfirinas y citocromos, no realizan fosforilación oxidativa y, por tanto, obtienen energía solo por fosforilación a nivel de sustrato. Sin embargo, a diferencia de muchos anaerobios, la mayoría no son sensibles al oxígeno (O_2) y pueden crecer en su presencia, por lo que se llaman *anaerobios aerotolerantes*.

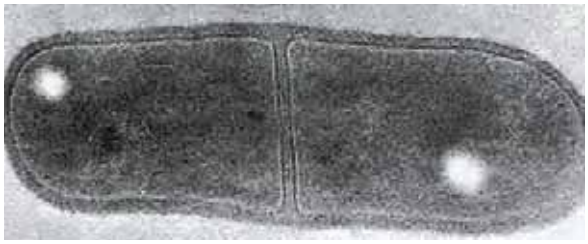
La mayoría de las bacterias del ácido láctico obtienen energía solamente del metabolismo de azúcares y, por consiguiente, su distribución está normalmente limitada a ambientes en los que hay azúcares presentes. Suelen tener limitadas capacidades biosintéticas y sus exigencias nutritivas son complejas, requiriendo aminoácidos, vitaminas, purinas y pirimidinas (por ejemplo, véase la ↔ Tabla 3.2 para *Leuconostoc mesenteroides*). Una diferencia importante para establecer subgrupos entre las bacterias del ácido láctico reside en el tipo de productos formados en la fermentación de los azúcares. Un grupo, los llamados **homofermentadores**, producen un único tipo de compuesto, *ácido láctico*. Otro grupo, los **heterofermentadores**, producen más de un compuesto, principalmente etanol y CO_2, además de lactato (la ↔ Sección 13.12 proporciona más información sobre las rutas homofermentadora y heterofermentadora).

Lactobacillus

Los lactobacilos son normalmente bacilos que crecen en cadenas; su morfología puede variar entre bacilos largos y delgados o cortos y curvados (**Figura 15.18**), y la mayoría son



(a)



(b)



(c)

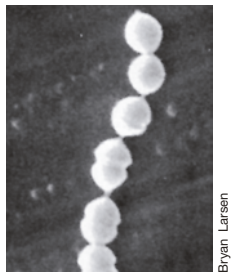
Figura 15.18 **Especies de *Lactobacillus*.** *(a) Lactobacillus acidophilus*, en contraste de fase. Las células miden 0,75 µm de ancho. *(b) Lactobacillus brevis*, micrografía electrónica de transmisión. Cada célula mide aproximadamente 0,8 × 2 µm. *(c) Lactobacillus delbrueckii*, micrografía electrónica de barrido. Cada célula mide aproximadamente 0,7 µm de diámetro.

homofermentadores. Son comunes en los productos lácteos y algunas cepas se utilizan en la preparación de productos derivados de la leche fermentada. Por ejemplo, *Lactobacillus acidophilus* (Figura15.18*a*) se usa en la producción de leche ácida; *Lactobacillus delbrueckii* (Figura 15.18*c*) en la producción de yogur; y otras especies se emplean en la producción de «coles ácidas», forraje ensilado y encurtidos (↻ Sección 31.6).

Los lactobacilos son normalmente más resistentes a las condiciones ácidas que el resto de bacterias del ácido láctico y pueden crecer bien a valores de pH tan bajos como 4. Por esto, pueden obtenerse en cultivos de enriquecimiento selectivos a partir de productos lácteos y de material vegetal fermentado con medios de cultivo ácidos que contengan carbohidratos. La resistencia de los lactobacilos al ácido les permite continuar creciendo durante las fermentaciones naturales, incluso cuando el pH ha bajado demasiado y no permite el crecimiento de otras bacterias del ácido láctico. Por consiguiente, suelen ser los responsables de las fases finales de la mayoría de las fermentaciones de este tipo. Casi nunca son patógenos.

Streptococcus y otros cocos

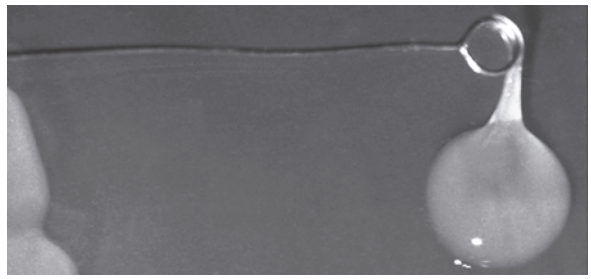
Los géneros *Lactococcus* y *Streptococcus* (**Figura 15.19**) contienen especies homofermentadoras de bacterias del ácido láctico de forma cocoide, que viven en hábitats muy variados y



(a)



(b)



(c)

Figura 15.19 **Cocos grampositivos.** *(a) Streptococcus* sp., micrografía electrónica de barrido. *(b) Lactococcus lactis*, micrografía de contraste de fases. Las células tanto en *(a)* como en *(b)* miden entre 0,5 y 1 µm de diámetro. *(c)* Colonia de *Leuconostoc mesenteroides*, que muestra la abundante producción de dextrano por células cultivadas con sacarosa.

llevan a cabo actividades de considerable importancia práctica para los humanos. Algunas especies son patógenas para la especie humana y otros animales (↻ Sección 29.2). Las especies de *Streptococcus* (Figura 15.19*a*) tienen una morfología celular característica; son cocos que forman cadenas o tétradas por lo que se distinguen fácilmente de los lactobacilos. Como productores de ácido láctico, otros estreptococos desempeñan papeles importantes en la producción de suero de mantequilla (o mazada), forraje ensilado y otros productos fermentados (↻ Sección 31.6); además, determinadas especies producen caries dental (↻ Sección 23.3)

Hay otros géneros de cocos homofermentadores. El género *Lactococcus* (Figura 15.19*b*) contiene estreptococos de importancia en las industrias lácteas, mientras que *Enterococcus* incluye estreptococos principalmente de origen fecal y que pueden ser patógenos para los humanos. Las especies de los géneros *Peptococcus* y *Peptostreptococcus* son anaerobios estrictos que fermentan proteínas en vez de azúcares.

Los estreptococos se han dividido en dos grupos con especies relacionadas: el *subgrupo pyogenes*, representado por *Streptococcus pyogenes*, que causa infecciones de garganta (↻ Seccion 29.2), y el *subgrupo viridans*, caracterizado por *Streptococcus mutans*, que causa la caries dental (↻ Seccion 23.3). La hemólisis en agar sangre es importante en la subdivisión del género en especies. Por ejemplo, las especies que producen los factores de virulencia estreptolisina O o S forman colonias rodeadas por una amplia zona de hemólisis completa de los glóbulos rojos cuando se cultivan en agar sangre, una propiedad llamada *β-hemólisis* (↻ Figura 23.18*a*). La *β*-hemólisis es una prueba diagnóstica para estreptococos del *subgrupo pyogenes.* En cambio, los estreptococos del *subgrupo viridans* causan una

hemólisis incompleta en agar sangre, lo que origina un color verdoso del agar bajo las colonias. Los estreptococos también se dividen en grupos inmunológicos (designados por letras como A, B, C, F, G), según la presencia de carbohidratos específicos antigénicos (es decir, sustancias que inducen una respuesta inmunitaria). Los estreptococos β-hemolíticos hallados en los humanos normalmente contienen antígeno del grupo A, mientras que los enterococos contienen antígeno del grupo D.

Los lactococos heterofermentadores forman el género *Leuconostoc*, cuyas cepas producen también los condimentos saborizantes diacetil y acetoína mediante el catabolismo del citrato, y que se usan como cultivos iniciadores en fermentaciones lácticas. Algunas cepas de *Leuconostoc* producen grandes cantidades de un polísacárido viscoso formado por glucosa o fructosa, especialmente cuando se cultivan con sacarosa como fuente de carbono y energía (Figura 15.19*c*); varios de estos polímeros tienen uso médico como sustitutos del plasma en transfusiones sanguíneas.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cómo se diferencian fisiológicamente las bacterias homofermentadoras y las heterofermentadoras?
- ¿En qué se distingue *Streptococcus pyogenes* de *Streptococcus mutans*?

15.7 *Firmicutes-Bacillales* y *Clostidiales* no formadores de endósporas

Géneros principales: *Listeria, Staphylococcus, Sarcina*

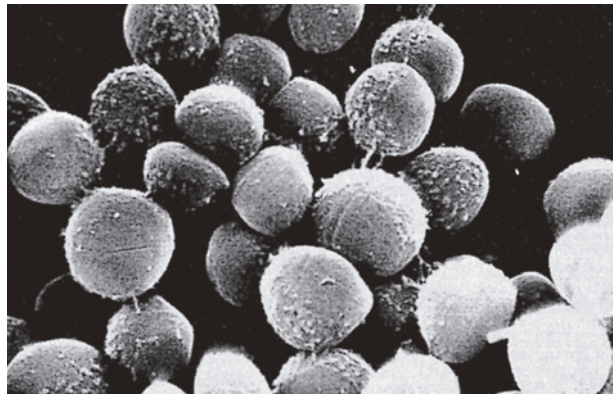
Los *Firmicutes* que forman endósporas están en los órdenes *Bacillales* y *Clostridiales*. Sin embargo, muchos *Bacillales* y *Clostridiales* son incapaces de formar endósporas y consideraremos aquí algunos de estos.

Listeria

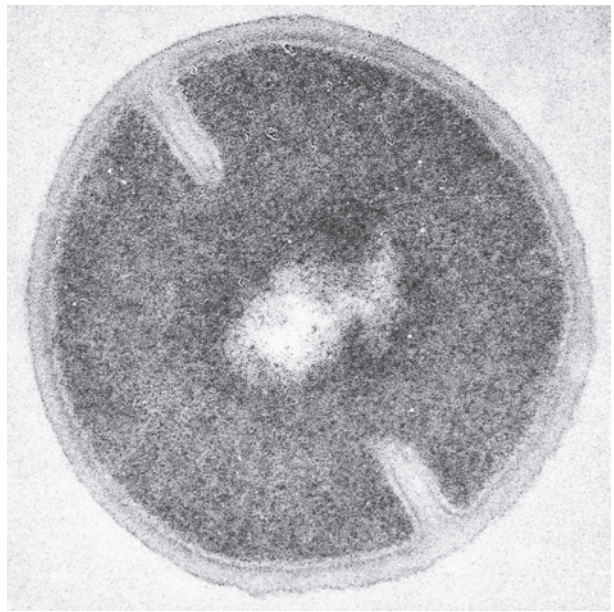
El orden *Bacillales* contiene quimioorganótrofos aerobios y facultativos. En este grupo se encuentran pocos patógenos humanos, pero el género *Listeria* es una notable excepción. Los miembros de *Listeria* son cocobacilos grampositivos, catalasa positivos y aerobios estrictos, que suelen formar cadenas de tres a cinco células (↻ Figura 31.16). Aunque se conocen varias especies de *Listeria*, la más destacada es *L. monocytogenes*, porque causa una importante enfermedad transmitida por los alimentos, la listeriosis (↻ Sección 31.13). Este organismo se transmite por alimentos contaminados listos para el consumo, como queso o salchichas, y puede causar desde una enfermedad leve a una forma de meningitis mortal. A menudo, las especies de *Listeria* crecen a baja temperatura, lo que permite su crecimiento en alimentos refrigerados.

Staphylococcus

Staphylococcus (**Figura 15.20**) es un aerobio facultativo que muestra un típico metabolismo respiratorio, pero que puede crecer también por fermentación. Las células suelen disponerse en grupos, a veces con forma de racimo, de donde viene el nombre *staphylo*, y producen ácido a partir de glucosa, tanto



(a)



(b)

Figura 15.20 ***Staphylococcus.*** *(a)* Microfotografía electrónica de barrido de células típicas de *Staphylococcus aureus*, que muestran la disposición irregular de los agrupamientos de células. Cada célula mide unos 0,8 µm de diámetro. *(b)* Microfotografía electrónica de transmisión de una célula en división de *S. aureus*. Obsérvese la gruesa pared celular grampositiva.

aeróbicamente como anaeróbicamente. Las especies de *Staphylococcus* son catalasa positivas y esto permite diferenciarlas de *Streptococcus* y otros géneros de bacterias del ácido láctico. Los estafilococos son relativamente resistentes a potenciales de agua bajos y toleran bastante bien la desecación y concentraciones altas de sal (NaCl). Su capacidad de crecimiento en medios con sal proporciona un método selectivo de aislamiento. Por ejemplo, si un inóculo apropiado, como un frotis epidérmico, suelo seco o polvo de una habitación, se extiende sobre una placa con un medio de agar rico que contenga 7,5 % de NaCl, y la placa se incuba luego aeróbicamente, las colonias predominantes suelen ser cocos grampositivos. Muchas especies son pigmentadas y esto es una ayuda adicional para su selección.

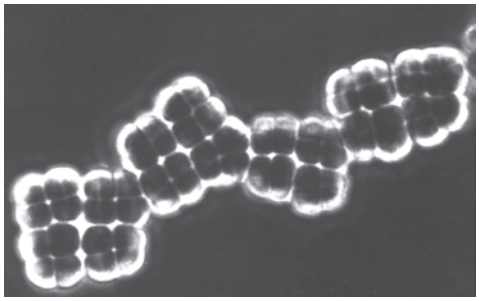
Los estafilococos son comensales y parásitos corrientes de los humanos y de otros animales, y de vez en cuando causan infecciones graves. En los humanos hay dos especies importantes, *Staphylococcus epidermidis*, un organismo no pigmentado

y no patógeno que normalmente se encuentra en la piel y en las membranas mucosas, y *Staphylococcus aureus* (Figura 15.20), con pigmentación amarilla y frecuentemente asociada a condiciones patológicas como forúnculos, espinillas, neumonía, osteomielitis, meningitis y artritis. Estudiaremos la patogenia de *S. aureus* en la Sección 23.2 y las enfermedades estafilocócicas en las Secciones 29.9 y 31.8.

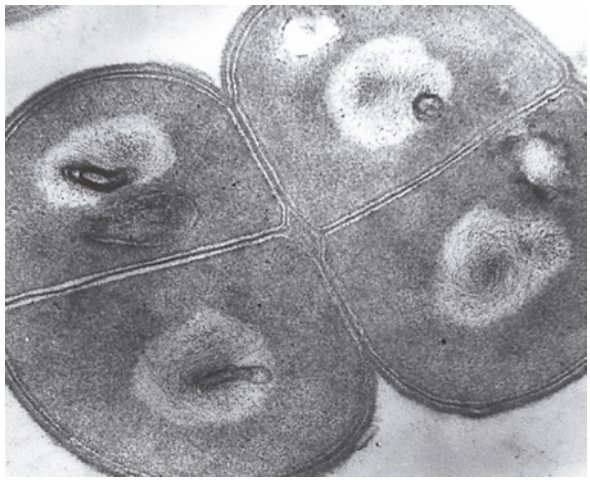
Sarcina

El género *Sarcina* agrupa anaerobios estrictos que son catalasa negativos y se incluye en el orden *Clostridiales*. Las especies de *Sarcina* se dividen en tres planos perpendiculares, lo que origina paquetes de ocho o más células; esto les da una morfología característica (**Figura 15.21**). También son muy tolerantes al ácido y son capaces de fermentar azúcares y crecer en medios a un pH tan bajo como 2. Las células de una especie, *Sarcina ventriculi*, presentan una gruesa capa fibrosa de celulosa rodeando la pared celular (Figura 15.21*b*). Las capas celulósicas de células adyacentes se unen formando un material cementante que mantiene unidos paquetes de células de *S. ventriculi*.

Las especies de *Sarcina* se pueden aislar del suelo, barro, heces y contenido estomacal. Por su extremada tolerancia al ácido, *S. ventriculi* es una de las pocas bacterias que pueden habitar y crecer en el estómago de los humanos y de otros animales monogástricos. En el estómago de personas que sufren trastornos gastrointestinales, como ulceraciones del píloro, se observa un rápido crecimiento de esta bacteria. Estas condiciones patológicas retardan el flujo del alimento hacia el intestino y su corrección a menudo requiere tratamiento quirúrgico.



(a)



(b)

Figura 15.21 ***Sarcina.*** *(a)* Microfotografía de contraste de fase de células típicas del coco grampositivo *Sarcina*. Cada célula mide unos 2 µm de diámetro. *(b)* Micrografía electrónica de una sección fina de *S. ventriculi*. La capa más externa de la célula está compuesta de celulosa.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cómo pueden diferenciarse las especies de *Staphylococcus* de las de *Streptococcus*?
- ¿Qué propiedades diferencian *Sarcina* de *Staphylococcus*?

15.8 *Firmicutes: Bacillales* y *Clostridiales* formadores de endósporas

Géneros principales: *Bacillus, Clostridium, Sporosarcina*

Todas las bacterias formadoras de endósporas son especies grampositivas de las *Bacillales* o las *Clostridiales*. La capacidad de formación de endósporas se originó una sola vez en un antepasado común de las *Bacillales*, las *Clostridiales* y las *Lactobacillales* (Figura 15.17). Sin embargo, muchas *Bacillales* y *Clostridiales*, y el orden *Lactobacillales* completo, no pueden formar endósporas. La capacidad de formación de endósporas requiere muchos genes (↬ Secciones 2.16 y 7.11), que no se han adquirido por transferencia horizontal. Por tanto, parece ser que la distribución filogenética de las endósporas contempla muchos casos en los que la capacidad para formar endósporas se ha perdido a lo largo de la evolución.

Las bacterias que forman endósporas (**Tabla 15.4**) pueden distinguirse entre ellas por su morfología, y por el tamaño y la posición intracelular de la endóspora (**Figura 15.22**), además de por su relación con el O_2 y su metabolismo energético. Los dos géneros



(a)



(b)



(c)

Figura 15.22 **Especies de *Clostridium* y localización de las endósporas.** *(a) Clostridium cadaveris*, con endósporas terminales. Cada célula mide unos 0,9 µm de ancho. *(b) Clostridium sporogenes*, endósporas subterminales. Cada célula mide aproximadamente 1 µm de ancho. *(c) Clostridium bifermentans*, endósporas centrales. Cada célula mide aproximadamente 1,2 µm de ancho. Todas las microfotografías son de contraste de fases.

Tabla 15.4 Principales géneros de bacterias formadoras de endósporas

Caracteristicas	*Género*
I. Bacilos	
Aerobios o facultativos, catalasa-positivos	*Bacillus*
	Paenibacillus
Microaerófilo, catalasa-negativos; con fermentación ácido láctica homofermentadora	*Sporolactobacillus*
Anaerobios:	
Reductor de sulfato	*Desulfotomaculum*
Noreductores de sulfato, fermentador	*Clostridium*
Termófilos, temperatura óptima 65-70 °C, fermentador	*Thermoanaerobacter*
Gramnegativo; crece como homoacetógeno con $H_2 + CO_2$	*Sporomusa*
Halófilo, aislado del Mar Muerto	*Sporohalobacter*
Produce hasta cinco esporas por célula; fija N_2	*Anaerobacter*
Acidófilo, pH óptimo 3	*Alicyclobacillus*
Alcalófilo, pH óptimo 9	*Amphibacillus*
Fotótrofo (↻ Sección 14.8)	*Heliobacterium, Heliophilum, Heliorestis*
Sintrófico, degrada ácidos grasos pero solo en co-cultivo con una bacteria que utilice H_2	*Syntrophospora*
Elimina el cloro de clorofenoles por reducción	*Desulfitobacterium*
II. Cocos	
Disposición en tétradas o paquetes, aerobio	*Sporosarcina* (Figura 15.24)

más conocidos son *Bacillus*, cuyas especies son aerobias o facultativas, y *Clostridium*, que comprende especies fermentadoras anerobias estrictas. Todas las bacterias que forman endósporas están relacionadas ecológicamente, puesto que en la naturaleza se encuentran fundamentalmente en el suelo. Incluso las especies que son patógenas para los humanos u otros animales son principalmente organismos saprófitos del suelo que infectan a los animales solo accidentalmente. Por supuesto, la capacidad de producir endósporas resulta ventajosa para los microorganismos del suelo, puesto que el suelo es un ambiente muy variable en cuanto a nutrientes, temperatura y actividad del agua.

Las bacterias formadoras de endósporas se pueden aislar de forma selectiva a partir del suelo, alimentos, polvo y otros materiales mediante calentamiento de la muestra a 80 °C durante 10 minutos, un tratamiento que mata las células vegetativas pero permite que las endósporas presentes continúen siendo viables. Extendiendo esas muestras tratadas con calor sobre placas con el medio adecuado e incubando aerobia o anaeróbicamente se obtienen de modo selectivo especies de *Bacillus* o *Clostridium*, respectivamente.

Bacillus y *Paenibacillus*

La Tabla 15.5 presenta una lista de representantes del grupo *Bacillus*. Las especies de *Bacillus* y *Paenibacillus* crecen bien en medios definidos que contengan una adecuada fuente de carbono. Muchos bacilos producen enzimas hidrolíticas extracelulares que hidrolizan polímeros complejos, como polisacáridos, ácidos nucleicos o lípidos, lo que permite que estos organismos utilicen estos productos como fuentes de carbono y donadores de electrones. Muchos producen antibióticos, como la bacitracina, la polimixina, la tirocidina, la gramicidina y la circulina. En la mayoría, los antibióticos se liberan cuando el cultivo alcanza la fase estacionaria de crecimiento y comienza la esporulación.

Algunos bacilos, especialmente *Paenibacillus popilliae* y *Bacillus thuringiensis*, producen proteínas tóxicas con actividad insecticida. *Paenibacillus popilliae* causa una enfermedad letal llamada enfermedad lechosa en larvas del escarabajo japonés y de otros escarabajos de la familia *Scarabaeidae*. *Bacillus thuringiensis* causa una enfermedad también letal en muchos grupos diferentes de insectos. Estos dos patógenos de insectos forman una proteína cristalina durante la esporulación llamada *cuerpo paraesporal*, que se deposita en el esporangio pero fuera de la propia endóspora (Figura 15.23). En *B. thuringiensis*,

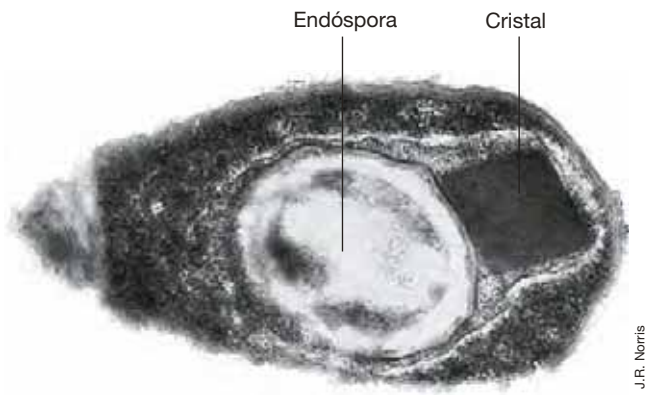


Figura 15.23 El cristal paraesporal tóxico en el patógeno de insectos *Bacillus thuringiensis*. Microfotografía electrónica de una sección fina de la célula esporulando. La proteína cristalina (toxina Bt) es tóxica para ciertos insectos al causar la lisis de sus células intestinales.

Tabla 15.5 Características de especies representativas de bacilos

Características	*Género/especie*	*Posición de la endospora*
I. Endosporas ovales o cilíndricas, anaeróbios facultativos, hidrolizan caseína y almidón.		
Esporangios no hinchados, pared de la endospora fina		
Termófilos y acidófilos	*Bacillus coagulans*	Central o terminal
	Alicyclobacillus acidocaldarius	Terminal
Mesófilos	*Bacillus licheniformis*	Central
	Bacillus cereus	Central
	Bacillus anthracis	Central
	Bacillus megaterium	Central
	Bacillus subtilis	Central
Patógenos de insectos	*Bacillus thuringiensis*	Central
Esporangios claramente hinchados, pared de la espora gruesa		
Termófilos	*Geobacillus stearothermophilus*	Terminal
Mesófilos	*Paenibacillus polymyxa*	Terminal
	Bacillus macerans	Terminal
	Bacillus circulans	Central o terminal
Patógenos de insectos	*Paenibacillus larvae*	Central o terminal
	Paenibacillus popilliae	Central
II. Endosporas esféricas, aerobios estrictos, no hidrolizan caseína ni almidón		
Esporangios hinchados	*Bacillus sphaericus*	Terminal
Esporangios no hinchados	*Sporosarcina pasteurii*	Terminal

el cuerpo paraesporal es una protoxina que se convierte en toxina en el intestino del insecto. La toxina se une a receptores específicos en las células del epitelio intestinal de ciertos insectos e induce la formación de poros que causan el escape del contenido citoplásmico de las células hospedadora y su lisis posterior. Distintas cepas de *B. thuringiensis* pueden producir diferentes tipos de toxinas que tienen especificidad sobre distintos grupos de insectos. Las preparaciones de endósporas de *B. thuringiensis* y *P. popilliae* se comercializan como insecticidas biológicos.

Los genes *cry* que codifican las proteinas cristalinas se han aislado de varias cepas de *B. thuringiensis*. Los genes para esta proteína (conocida comercialmente como «toxina Bt») se han introducido en cultivos modificados genéticamente (como maíz, soja o algodón) para obtener plantas resistentes a los insectos. Tales «cultivos Bt», modificados genéticamente, están distribuidos por todo el mundo. También se han desarrollado por ingeniería genética toxinas Bt alteradas genéticamente, que aumentan la toxicidad para insectos y reducen la resistencia (↻ Seccion 11.13).

Clostridium

Los clostridios carecen de cadena respiratoria y, a diferencia de las especies de *Bacillus*, obtienen el ATP por fosforilación a nivel de sustrato. En los clostridios se conocen muchos mecanismos anaerobios generadores de energía (↻ Seccion 13.13) y la separación del género *Clostridium* en subgrupos se basa en estas propiedades y en el sustrato fermentable utilizado (**Tabla 15.6**). Hay clostridios que son *sacarolíticos* y fermentan azúcares produciendo ácido butírico como principal producto final. Algunos de estos también producen acetona y butanol, como *Clostridium pasteurianum*, que es una bacteria con una gran actividad como fijadora de nitrógeno.

Un grupo de clostridios que comprende las especies *C. thermocellum*, *C. cellulolyticum*, y *C. cellulovorans* fermenta la celulosa con formación de ácidos y alcoholes. Estas especies son probablemente los principales organismos descomponedores de celulosa en ambientes anóxicos, como el rumen o sedimentos. Los clostridios celulolíticos poseen *celulosomas*, una compleja estructura multienzimática que se encuentra en la superficie externa de la pared celular. El celulosoma facilita la unión de celulosa insoluble y la degrada hasta productos solubles que se transportan al citoplasma, donde son metabolizados. Este mecanismo es común en bacterias que degradan la celulosa anaeróbicamente.

Otro grupo de clostridios son *proteolíticos* y obtienen energía por fermentación de aminoácidos. Algunas especies fermentan aminoácidos individuales, pero otras solo lo hacen fermentando pares de aminoácidos. Los productos habituales de la fermentación de aminoácidos son acetato, butirato, CO_2 y H_2. El catabolismo acoplado de un par de aminoácidos se llama *reacción de Stickland*; por ejemplo, un aminoácido funciona como donador de electrones y se oxida, mientras que otro es el aceptor y se reduce (↻ Figura 13.34). Muchos de los

Tabla 15.6 Características de algunos grupos de clostridios

Características clave	*Otras características*	*Especie*
Fermentan carbohidratos		
Fermentan celulosa	Productos de fermentación: acetato, lactato, succinato, etanol, CO_2, H_2	*C. cellobioparum*[a]
		C. thermocellum
Fermentan azúcares, almidón y pectina; algunos fermentan celulosa	Productos de fermentación: acetona, butanol, etanol, isopropanol, butirato, acetato, propionato, succinato, CO_2, H_2; algunos fijan N_2	*C. butyricum* *C. cellobioparum* *C. acetobutylicum* *C. pasteurianum* *C. perfringens*
Fermentan azúcares principalmente a ácido acético	Síntesis total de acetato a partir de CO_2; citocromos presente en algunas especies	*C. aceticum* *Moorella thermoacetica* *C. formicaceticum*
Fermenta solo pentosas o metilpentosas	Células con forma de anillo, cadenas helicoidales; productos de la fermentación: acetato, propionato, *n*-propanol, CO_2, H_2	*C. methylpentosum*
Fermentan aminoácidos	Productos de fermentación: acetato, otros ácidos grasos, NH_3, CO_2, a veces H_2; algunos también fermentan azúcares a butirato y acetato; pueden producir exotoxinas	*C. sporogenes* *C. histolyticum* *C. putrefaciens* *C. tetani* *C. botulinum* *C. tetanomorphum*
	Fermenta aminoácidos de tres carbonos (por ejemplo, alanina) a propionato, acetato y CO_2	*C. propionicum*
Fermenta carbohidratos o aminoácidos	Productos de la fermentación a partir de glucosa: acetato, fórmico, pequeñas cantidades de isobutirato e isovalerato	*C. bifermentans*
Fermentadores de purinas	Fermenta ácido úrico y otras purinas, dando lugar a acetato, CO_2, NH_3	*C. acidurici*
Fermentación de etanol a ácidos grasos	Produce butirato, caproato y H_2; requiere acetato como aceptor de electrones; no utiliza azúcares, aminoácidos o purinas	*C. kluyveri*

[a] Todos los listados que comienzan con «*C.*» son especies del género *Clostridium*.

productos de la fermentación de aminoácidos por los clostridios son sustancias de olor nauseabundo, y el que resulta de la putrefacción es debido sobre todo a la acción de los clostridios. Además de ácido butírico, otros compuestos de fuerte olor producidos por estos organismos son los ácidos isobutírico, isovalérico y caproico, el sulfuro de hidrógeno, el metilmercaptano (a partir de aminoácidos con azufre), la cadaverina (a partir de lisina), la putresceína (a partir de ornitina) y el amoniaco.

El hábitat principal de los clostridios es el suelo, donde viven principalmente en nichos anóxicos originados por el metabolismo previo de bacterias aerobias facultativas o estrictas. Además, varios clostridios viven en el ambiente anóxico del intestino de los mamíferos. Hay clostridios que pueden causar enfermedades graves en humanos, como se verá en las Secciones 23.9 y 30.9. Por ejemplo, el botulismo está causado por *Clostridium botulinum*, el tétanos por *Clostridium tetani*, y la gangrena gaseosa por *Clostridium perfringens* y otros clostridios fermentadores de azúcares y de aminoácidos. Estos clostridios patógenos no parecen diferentes desde el punto de vista metabólico, pero lo son en tanto que producen toxinas específicas o, en el caso de la gangrena gaseosa, un grupo de toxinas. *Clostridium perfringens* y otras especies relacionadas pueden causar también gastroenteritis en los humanos y en animales domésticos (↻ Sección 31.9) y los brotes de botulismo son comunes en aves, como patos, y en otros animales.

Sporosarcina

El género *Sporosarcina* (**Figura 15.24**) es especial entre los formadores de endósporas porque las células son cocos en vez de bacilos. Sus células, esféricas u ovales, son aerobias estrictas y se dividen en dos o tres planos perpendiculares formando tétradas o paquetes de ocho o más células. La especie principal es *Sporosarcina ureae*. Esta bacteria puede aislarse del

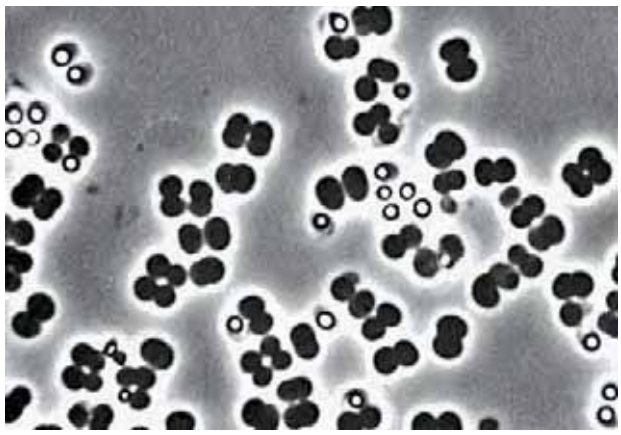

Dieter Claus

Figura 15.24 ***Sporosarcina ureae.*** Microfotografía de contraste de fases. Cada célula mide unos 2 μm de ancho. Obsérvese la brillante refracción de las endósporas. La mayoría de los paquetes contiene ocho células.

suelo sembrando diluciones de una muestra pasteurizada del suelo sobre agar nutritivo alcalino enriquecido con 8 % de urea e incubando aeróbicamente. La mayoría de las bacterias del suelo se inhiben incluso con tan solo un 2 % de urea. Sin embargo, *S. ureae* tolera esto y cataboliza la urea a CO_2 y amoniaco (NH_3), lo que eleva mucho el pH. Es una bacteria que tolera muy bien la alcalinidad y puede crecer hasta a pH 10, y esta propiedad puede aprovecharse para su enriquecimiento a partir de suelos.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cuál es la principal diferencia fisiológica entre las especies de *Bacillus* y *Clostridium*?
- ¿Qué es la proteina cristalina producida por *Bacillus thuringiensis* y qué mportancia tiene en la agricultura?

15.9 *Tenericutes*: los micoplasmas

Géneros principales: *Mycoplasma, Spiroplasma*

Las *Tenericutes*, que solo contienen la clase *Mollicutes*, son bacterias que carecen de pared celular (*mollis* en latin es «blando») y son algunos de los organismos más pequeños conocidos. Este grupo se llama con frecuencia grupo de los *micoplasmas* porque el mejor caracterizado del filo es *Mycoplasma*, un género destacado con varios patógenos humanos (Tabla 15.7).

Aunque no son bacterias grampositivas (pues carecen de pared celular) están relacionadas filogenéticamente con las *Firmicutes*. Los micoplasmas suelen vivir asociados a animales y plantas, y esto puede eliminar la necesidad de una pared celular grampositiva. Además, estos organismos tienen genomas muy pequeños (cuyo tamaño varía de 600 a 2.200 pares de bases), lo que es una característica de los simbiontes estrictos (↻ Secciones 6.5 y 22.9).

Propiedades de los micoplasmas

En los micoplasmas, la ausencia de paredes celulares se ha confirmado por microscopía electrónica y por análisis químicos que muestran ausencia de peptidoglicano. Los micoplasmas parecen protoplastos (bacterias tratadas para eliminar su pared celular), pero son más resistentes a la lisis osmótica y sobreviven en condiciones en las que se lisan los protoplastos. Esta capacidad de resistencia a la lisis osmótica se debe, al menos en parte, a la presencia de esteroles, que hacen que las membranas citoplásmicas de los micoplasmas sean más estables que las de otras bacterias. Algunos micoplasmas requieren esteroles en su medio de cultivo y esta dependencia sirve de ayuda para su clasificación (Tabla 15.7).

Además de esteroles, determinados micoplasmas contienen *lipoglicanos* (Tabla 15.7), que son heteropolisacáridos de cadena larga unidos covalentemente a lípidos de membrana y que se presentan embebidos en la membrana citoplásmica. De algún modo, los lipoglicanos recuerdan los lipopolisacáridos de la membrana externa de las bacterias gramnegativas, pero carecen de lípido A (↻ Sección 2.11). Los lipoglicanos tienen como función ayudar a estabilizar la membrana citoplásmica y también parecen facilitar la adherencia de los micoplasmas a los receptores de la superficie de las células animales.

Crecimiento de los micoplasmas

Los micoplasmas pueden cultivarse en el laboratorio y son células pleomórficas pequeñas. Un cultivo aislado puede contener elementos cocoides pequeños, formas mayores e hinchadas, y formas filamentosas a menudo muy ramificadas (Figura 15.25). Los elementos cocoides menores (0,2-0,3 µm) están entre las células de vida libre más pequeñas (↻ Sección 2.6). El modo de crecimiento difiere si se cultivan en medio líquido o sólido (agar). En agar, los organismos suelen crecer de modo que quedan embebidos en el medio y las colonias muestran un aspecto característico de «huevo frito», con una zona central densa, que

Tabla 15.7 Características principales de micoplasmas

Género	*Propiedades*	*Tamaño del genoma (kilopares de bases)*	*Presencia de lipoglicanos*
Requieren esteroles			
Mycoplasma	Muchos son patogénos; anaerobios facultativos (véase Figura 15.25)	600-1.350	+
Anaeroplasma	Pueden requerir esteroles o no; anaerobios estrictos; degradan almidón, produciendo ácido acético, ácido láctico y ácido fórmico más etanol y CO_2; se inhiben por acetato de talio; se encuentran en el rumen de vacas y ovejas	1.500-1.600	+
Spiroplasma	Células espirales; asociadas con varias condiciones fitopatogénicas (enfermedades de plantas)	940-2.200	–
Ureaplasma	Cocos; asociados ocasionalmente en grupos y cadenas cortas; crecimiento óptimo a pH 6; reacción ureasa fuerte; asociados a ciertas infecciones urinarias en humanos; se inhiben por acetato de talio	750	–
Entomoplasma	Anaerobio facultativo; asociados con insectos y plantas	790-1.140	Desconocido
No requieren esteroles			
Acholeplasma	Anaerobios facultativos	1.500	+
Asteroleplasma	Anaerobio estricto; aislados de rumen de vacas y ovejas	1.500	+
Mesoplasma	Filogenéticamente y ecológicamente relacionados con *Entomoplasma*	870-1.100	Desconocido

UNIDAD 3

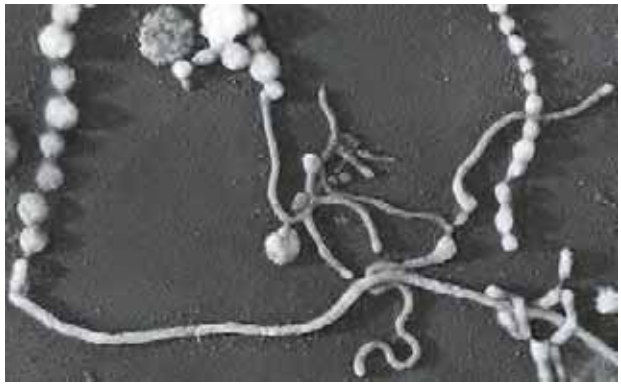

Alan Rodwell

Figura 15.25 ***Mycoplasma mycoides.*** Microfotografía electrónica de transmisión. Obsérvense los elementos cocoidales y en forma de hifa. El diámetro medio de las células que forman las cadenas es de unos 0,5 µm.

penetra hacia abajo en el agar, rodeada por una zona circular de color más suave (**Figura 15.26**). Como es de esperar en células sin pared celular, el crecimiento de los *Mollicutes* no se ve afectado por los antibióticos que inhiben la síntesis de la pared celular. Sin embargo, como la mayoría de *Bacteria*, los micoplasmas son sensibles a los antibióticos cuya diana es distinta de la pared celular.

Los medios para el cultivo de micoplasmas suelen ser muy complejos y para muchas especies el crecimiento es pobre o nulo, incluso en medios con extracto de levadura–peptona–infusión de corazón de buey. También se necesita suero fresco o líquido ascítico (fluido peritoneal), y hay que proporcionarles ácidos grasos no saturados y esteroles. Sin embargo, algunos micoplasmas, pueden cultivarse en medios relativamente simples e incluso hay medios definidos para algunas especies. La mayoría usan carbohidratos como fuente de carbono y energía, y requieren vitaminas, aminoácidos, purinas y pirimidinas como factores de crecimiento. El metabolismo energético de los micoplasmas es variable; algunas especies son aerobias estrictas, mientras otras son facultativas o anaerobias estrictas (Tabla 15.7).

Spiroplasma

El género *Spiroplasma* comprende *Mollicutes* con forma helicoidal o espiral. Curiosamente, aunque carecen de pared celular y de flagelos, los espiroplasmas tienen motilidad causada por un movimiento rotacional de rosca o por una suave ondulación. Se han observado fibrillas intracelulares que parecen


T. D. Brock

Figura 15.26 **Colonias de una especie de *Mycoplasma* crecida en medio sólido**. Obsérvese el típico aspecto de «huevo frito» de las colonias, que tienen unos 0,5 mm de diámetro.

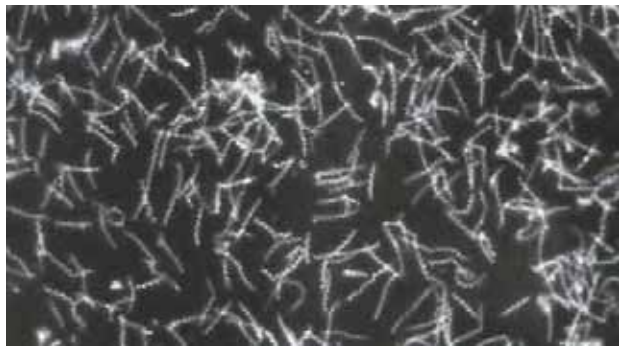

David L. Williamson

Figura 15.27 **Espiroplasma de la «proporción de sexos» (relación machos/hembras) de la hemolinfa de la mosca *Drosophila pseudoobscura*.** Micrografía de campo obscuro. Las moscas hembras infectadas con el espiroplasma solo producen descendencia femenina. Cada célula de espiroplasma mide unos 0,15 µm de diámetro.

relacionadas con la movilidad. El organismo se ha aislado de garrapatas, de la hemolinfa e intestino de varios insectos (**Figura 15.27**), de fluidos de plantas vasculares y de insectos que ingieren estos líquidos, así como de la superficie de flores y otras partes de vegetales. Por ejemplo, *Spiroplasma citri* se ha aislado de hojas de cítricos, en los que causa la llamada enfermedad persistente de los cítricos, y desarrolla deformaciones, y de plantas de maíz, donde producen enanismo. Otros organismos parecidos a miclopasmas se han detectado por microscopía electrónica en plantas enfermas, lo que indica que puede existir un gran grupo de *Mollicute*s asociados a plantas. Se conocen algunas especies de *Spiroplasma* que causan enfermedades en insectos, como la espiroplasmosis de la abeja y la enfermedad letárgica del escarabajo *Melolontha*.

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué los micoplasmas necesitan una membrana citoplásmica más resistente que otras bacterias?
- Los espiroplasmas móviles no pueden tener un flagelo bacteriano normal ¿Por qué?

15.10 *Actinobacteria*: bacterias corineformes y del ácido propionico

Géneros principales: *Arthrobacter, Corynebacterium, Propionibacterium*

Otro grupo importante de bacterias grampositivas es el de las *Actinobacteria*, que forma su propio filo dentro de *Bacteria*. Las *Actinobacteria* contienen sobre todo bacterias aerobias bacilares o filamentosas, y son habitantes normales del suelo y de materiales vegetales. En su mayoría son comensales inocuos, con la notable excepción de especies de *Mycobacterium* (por ejemplo, *Mycobacterium tuberculosis*). Algunos tienen gran valor económico por producir antibióticos o determinados productos lácteos fermentados. Aunque hay nueve órdenes de *Actinobacteria*, la mayor cantidad de especies se agrupa

en el orden *Actinomycetales* (Figura 15.17). Aquí trataremos de las bacterias corineformes, que son especies de *Actinomycetales* con un modo de división celular poco frecuente, y de las bacterias del ácido propiónico, que son agentes importantes en la maduración del queso suizo.

Bacterias corineformes

Las **bacterias corineformes** son organismos grampositivos, aerobios, inmóviles, con forma de bacilos que adoptan disposiciones irregulares, y en forma de bastón o de V durante el crecimiento. La forma de V se produce por un brusco movimiento que ocurre inmediatamente después de la división celular en un proceso que se llama *división por fractura* (**Figura 15.28**). La división por fractura se produce porque la pared celular tiene dos capas; solamente la interna participa en la formación del tabique de separación y tras su formación las dos células hijas permanecen unidas por la capa externa de la pared. La ruptura localizada de esta capa externa en solo un lado ocasiona la flexión de las dos células en dirección opuesta al punto de ruptura (**Figura 15.29**) y por tanto adoptan la morfología en V.

Los principales géneros de bacterias corineformes son *Corynebacterium* y *Arthrobacter*. El género *Corynebacterium* comprende un grupo de bacterias muy diversificado, que incluye patógenos de plantas y de animales, y también bacterias saprófitas. Algunas especies, como *Corynebacterium diphtheriae*, son patógenas (difteria, Seccion 29.3). El género *Arthrobacter*, formado esencialmente por organismos del suelo, se distingue de *Corynebacterium* por un ciclo de desarrollo que consiste en la conversión de bacilo a coco y viceversa (**Figura 15.30**). Sin embargo, algunas corinebacterias son pleomórficas y forman células cocoides durante el crecimiento, de modo que la distinción entre los dos géneros basándose en el ciclo biológico no es siempre segura. Las células de *Corynebacterium* tienen con frecuencia un extremo hinchado, lo que le da un aspecto de palo de golf, mientras que las especies de *Arthrobacter* no es frecuente que tengan esa forma.



Figura 15.28 División por fractura en *Arthrobacter*. Micrografía de contraste de fases de los grupos celulares con la característica forma de V en *Arthrobacter crystallopoietes*, que se generan por división por fractura. Las células miden unos 0,9 µm de diámetro.

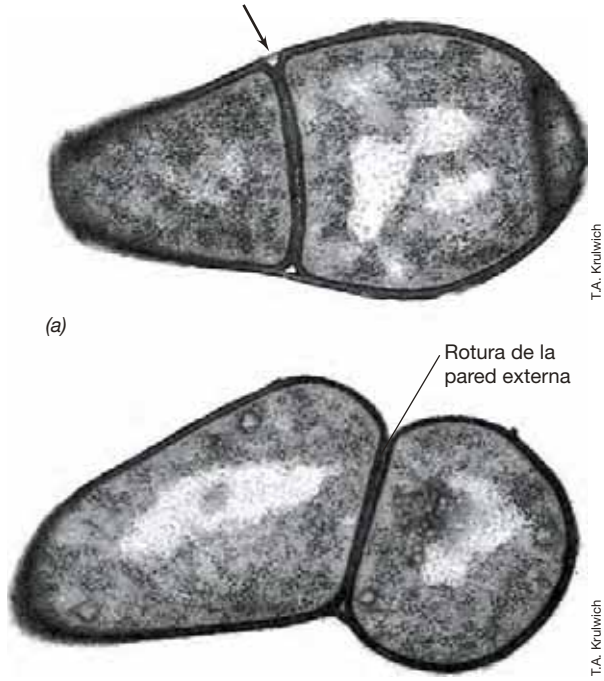


Figura 15.29 División celular en *Arthrobacter*. Micrografía electrónica de transmisión de la división celular de *Arthrobacter crystallopoietes*, que muestra cómo se produce la división por fractura y cómo surgen los grupos de células en forma de V. *(a)* Antes de la ruptura de la capa externa de la pared celular (flecha). *(b)* Después de la ruptura de la capa externa en uno de los lados. Las células miden 0,9-1 µm de diámetro.

Junto con las *Acidobacteria* (Sección 15.21), las especies de *Arthrobacter* son las bacterias del suelo más comunes. Son extremadamente resistentes a la desecación y a la falta de nutrientes, aunque no forman esporas ni otras formas de reposo. Son un grupo heterogéneo muy versátil en cuanto a la nutrición y se han aislado cepas que descomponen herbicidas, cafeína, nicotina, fenoles y otros compuestos orgánicos poco comunes.

Bacterias del ácido propiónico

Las **bacterias del ácido propiónico** (género *Propionibacterium*) se descubrieron en un queso suizo (Emmentaler), en el



Figura 15.30 Etapas del ciclo biológico de *Arthrobacter globiformis* observados en un cultivo sobre portaobjetos. *(a)* Elemento cocoidal individual; *(b-e)* transformación a bacilo y crecimiento de una microcolonia compuesta predominantemente por bacilos; *(f-g)* transformación de bacilos a cocos. Las células miden unos 0,9 µm de diámetro.

que la producción de CO_2 por fermentación origina los característicos agujeros y el ácido propiónico que producen es responsable en gran medida del aroma exclusivo de este queso. Las bacterias de este grupo son grampositivas y anaerobias, fermentan ácido láctico, carbohidratos y polihidroxialcoholes, y producen principalmente ácido propiónico, ácido acético y CO_2 (↻ Sección 13.13).

La fermentación del lactato es interesante porque el lactato mismo es un producto final de la fermentación de muchas bacterias (Sección 15.6). El cultivo iniciador del queso suizo consiste en una mezcla de lactobacilos y estreptococos homofermentadores, además de bacterias del ácido propiónico. Los organismos homofermentadores realizan la primera fermentación de la lactosa hasta ácido láctico durante la formación de la cuajada (proteína y grasa). Después de eliminar el suero de la cuajada, las bacterias del ácido propiónico se desarrollan rápidamente. Los ojos o agujeros característicos del queso suizo se forman por la acumulación de CO_2, ya que este gas se difunde por la cuajada y se acumula en los puntos más débiles. Por tanto, las bacterias del ácido propiónico pueden obtener energía anaeróbicamente a partir de un compuesto que otras bacterias han producido por fermentación. Esta estrategia metabólica se llama *fermentación secundaria*.

El propionato también se forma por fermentación a partir del succinato por la bacteria *Propionigenium*. Este organismo no está relacionado filogenética ni ecológicamente con *Propionibacterium*, pero los aspectos energéticos de su fermentación tienen un considerable interés. Ya se trató el mecanismo fermentador de *Propionigenium* en la Sección 13.14.

MINIRREVISIÓN

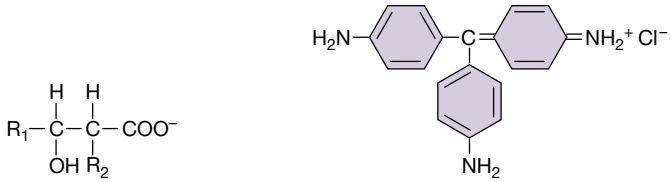
- ¿Qué es la división por fractura y qué organismo la presenta?
- ¿Qué organismo interviene en la elaboración del queso suizo Emmentale y qué productos determinan el sabor y la aparición de los agujeros de ese queso?

15.11 *Actinobacteria*: *Mycobacterium*

Género principal: *Mycobacterium*

El género *Mycobacterium* incluye varios patógenos humanos importantes, entre los que destaca *Mycobacterium tuberculosis*, que causa la tuberculosis (↻ Sección 29.4). Estas especies son bacilos que en alguna fase de su ciclo de crecimiento poseen una propiedad de tinción exclusiva llamada **ácido-resistencia**. Esta propiedad se debe a la presencia de unos lípidos especiales llamados *ácidos micólicos*, que solo se encuentran en especies de *Mycobacterium*, en la superficie de sus células. Los ácidos micólicos son un grupo de lípidos hidroxilados y ramificados complejos (**Figura 15.31*a***), que están unidos covalentemente al peptidoglicano de la pared celular formando un complejo que proporciona a la superficie celular una consistencia cérea e hidrófoba.

Debido a su superficie cérea, las micobacterias no se tiñen bien con la tinción de Gram. En la tinción de ácido-resistencia (Ziehl-Neelsen) se usa el colorante rojo fucsina básica y fenol. El colorante se introduce en las células por calentamiento lento y el fenol actúa favoreciendo la penetración de la fucsina en los lípidos. Tras lavar con agua destilada, la preparación se decolora con ácido y alcohol y se añade azul de metileno como colorante de contraste. Las células de los organismos ácido-resistentes aparecen rojas, mientras que el fondo y los organismos que no son ácido-resistentes aparecen azules (↻ Figura 29.15*a*).



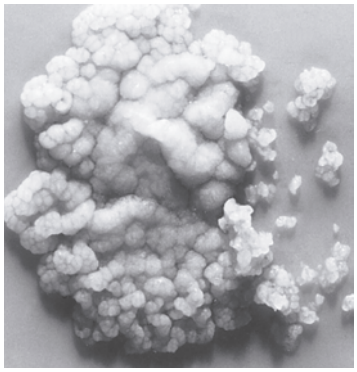
(a) **Ácido micólico; R_1 y R_2 son hidrocarburos alifáticos de cadena larga** *(b)* **Fucsina básica**

Figura 15.31 Tinción ácido-alcohol resistente. Estructura de *(a)* ácido micólico y *(b)* fucsina básica, el colorante utilizado en la tinción ácido-alcohol resistente. El colorante fucsina se une a los ácidos micólicos de la pared celular mediante enlaces iónicos entre COO^- y NH_2^+.

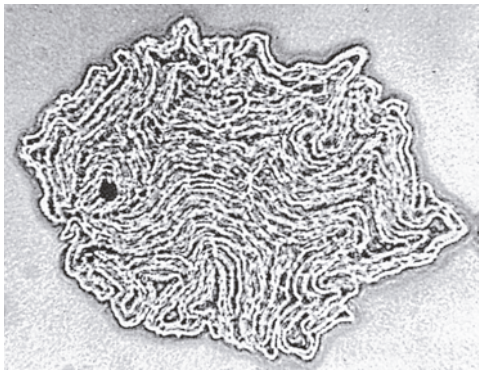
Las micobacterias son algo pleomórficas y pueden mostrar ramificaciones e incluso crecimiento filamentoso. Sin embargo, a diferencia de los filamentos de los actinomicetos (Sección 15.12), los de las micobacterias no forman un verdadero micelio. Las micobacterias se pueden dividir en dos grupos principales: las de crecimiento lento (como *M. tuberculosis*, *M. avium*, *M. bovis*, y *M. gordonae*) y las de crecimiento rápido (como *M. smegmatis*, *M. phlei*, *M. chelonae*, y *M. parafortuitum*). *Mycobacterium tuberculosis* es un ejemplo de crecimiento lento y solo se producen colonias visibles con un inóculo diluido tras días o semanas de incubación. Cuando crecen en medios sólidos, las micobacterias forman colonias duras y compactas, a menudo rugosas (**Figura 15.32**). Esta morfología probablemente se deba al alto contenido de lípidos y la naturaleza hidrófoba de la superficie celular, que facilita que las células se mantengan unidas.

En su mayoría, las micobacterias muestran exigencias nutritivas relativamente sencillas. Muchas crecen aeróbicamente en un medio son sales minerales sencillo con amoniaco como fuente de nitrógeno y glicerol o acetato como fuente de carbono y donador de electrones único. El crecimiento de *M. tuberculosis* es más difícil y se estimula con lípidos y ácidos grasos. La virulencia de *M. tuberculosis* en cultivo se ha correlacionado con la formación de unas estructuras largas en forma de cuerda (Figura 15.32*b*) que se forman por agregación lateral de largas cadenas entremezcladas de bacterias. El crecimiento en cuerda refleja la presencia en la superficie celular de un glicolípido característico, el *factor cuerda* (**Figura 15.33**). La patogenia de la tuberculosis, junto a otra enfermedad originada por micobacterias, la lepra, se presenta en la Sección 29.4.

Algunas micobacterias producen pigmentos carotenoides de color amarillo (Figura 15.32*c*), y la pigmentación puede ayudar en la identificación. Las micobacterias pueden ser no pigmentadas (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. smegmatis*, *M. chelonae*), pueden formar pigmento solo cuando se cultivan a la luz, una propiedad llamada *fotocromogénesis* (*M. parafortuitum*), o pueden formar pigmento incluso cuando se cultivan en la oscuridad, una propiedad llamada *escotocromogénesis* (*M. gordonae*, *M. phlei*). La fotocromogénesis es inducida por la región azul del espectro visible y se caracteriza por la fotoindución de una de las primeras enzimas que intervienen en la biosíntesis de carotenoides. Como ocurre en otras bacterias con carotenoides,



(a)



(b)



(c)

Figura 15.32 Morfología colonial característica de las micobacterias. *(a) Mycobacterium tuberculosis*, que muestra la apariencia compacta y arrugada de la colonia. La colonia mide unos 7 mm de diámetro. *(b)* Una colonia de *M. tuberculosis* virulento en un estadio temprano, que muestra el crecimiento característico en cordón. Las células miden unos 0,5 µm de diámetro. (Véanse también los dibujos históricos realizados por Robert Koch, ↻ Figura 1.22). *(c)* Colonias de una cepa de *Mycobacterium avium* aislada como patógeno oportunista de un enfermo de sida.

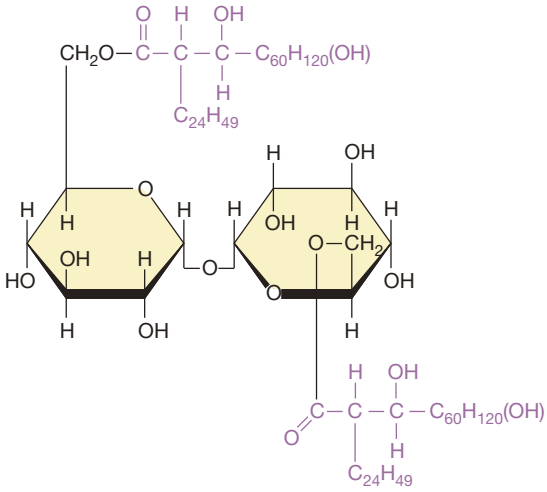


Figura 15.33 Estructura del factor cuerda, un glicolípido de las micobacterias: 6,6′-di-*O*-mycolil trehalosa. Los dos grupos dialcohol de cadena larga idénticos se muestran en violeta.

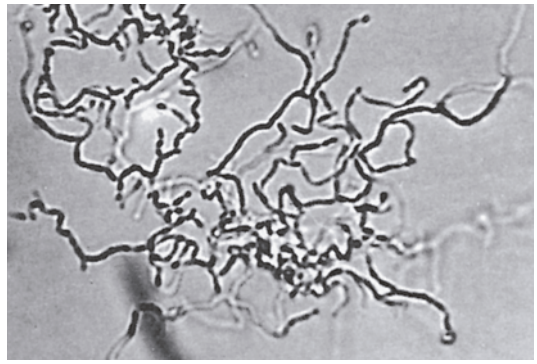


Figura 15.34 *Nocardia*. Colonia joven de un actinomiceto del género *Nocardia*, que muestra la típica estructura celular filamentosa (micelio). Cada filamento mide entre 0,8 y 1 µm de diámetro.

es probable que estos compuestos protejan a las micobacterias del daño oxidativo causado por el singlete de oxígeno (↻ Sección 5.16).

MINIRREVISIÓN

- ¿Que es un ácido micólico y qué propiedades confiere a las micobacterias?

15.12 *Actinobacteria* filamentosas: *Streptomyces* y géneros relacionados

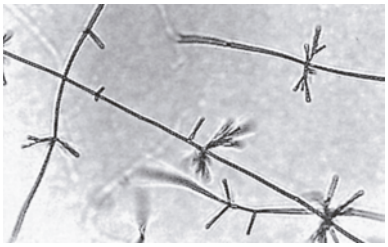
Géneros principales: *Streptomyces, Actinomyces, Nocardia*

Los **actinomicetos** forman un gran grupo de bacterias grampositivas aerobias y filamentosas, relacionadas filogenéticamente y que son abundantes en el suelo. Muchos actinomicetos tienen un ciclo de desarrollo característico que culmina con la producción de esporas resistentes a la desecación. Los filamentos se alargan por sus extremos y forman *hifas* ramificadas. Este crecimiento ocasiona una red de hifas llamada *micelio* (**Figura 15.34**), análogo al formado por los hongos filamentosos (↻ Sección 17.9). Cuando se agotan los nutrientes, el micelio forma hifas aéreas que se diferencian dando esporas para la supervivencia y dispersión. Nos centramos aquí en el género *Streptomyces*, que es el más importante de este grupo.

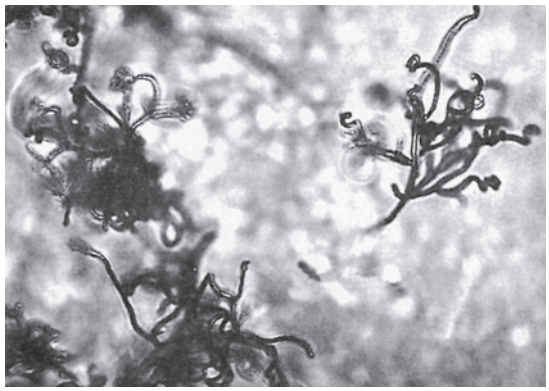
Streptomyces

Se conocen más de 500 especies de *Streptomyces*. Sus filamentos suelen tener un diámetro de 0,5-1,0 µm, una longitud indefinida y normalmente carecen de septos en la fase vegetativa. *Streptomyces* crece por los ápices de los filamentos y a menudo se ramifica. Así, la fase vegetativa consta de una matriz compleja y muy entrelazada que origina un micelio compacto y enrevesado y la consiguiente colonia. Cuando la colonia envejece, se forman unos filamentos aéreos característicos llamados *esporóforos*, que sobresalen de la superficie de la colonia y originan esporas (**Figura 15.35**).

Las esporas de *Streptomyces*, llamadas *conidios*, son muy diferentes de las endósporas de *Bacillus y Clostridium*. A diferencia



(a)



(b)

Figura 15.35 Estructuras portadoras de esporas en actinomicetos. Microfotografía de contraste de fases. Compárense estas fotos con los dibujos de la Figura 15.37. *(a) Streptomyces*, tipo monoverticilado. *(b) Streptomyces*, tipo espiral cerrada. Los filamentos miden unos 0,8 µm de ancho en ambos tipos.

de la elaborada diferenciación celular que conduce a la formación de una endóspora, los conidios se forman por la aparición de septos en los esporóforos multinucleados, a la que sigue la separación directa de las células como esporas (**Figura 15.36**). Entre los caracteres fundamentales para la clasificación de especies de *Streptomyces* se consideran las diferencias en la forma

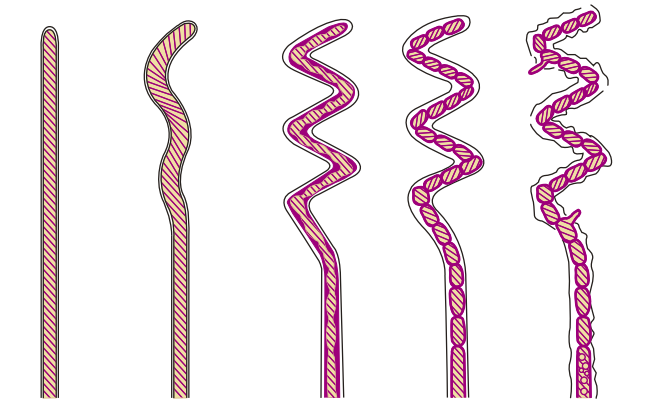


Figura 15.36 Formación de esporas en *Sreptomyces*. Diagrama de los estadios de la transformación de una hifa aérea de *Streptomyces* (esporóforo) en esporas (conidios).



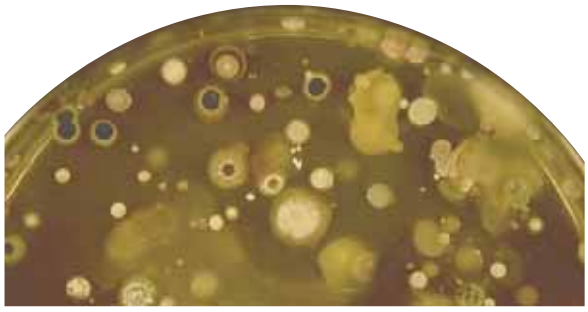
Figura 15.37 Morfología de las estructuras portadoras de esporas en estreptomicetos. Cada especie de *Streptomyces* produce un solo tipo morfológico de estructura portadora de esporas.

y disposición de las estructuras que llevan las esporas (**Figura 15.37**). Los conidios y los esporóforos suelen estar pigmentados y contribuyen a la coloración característica de la colonia madura (**Figura 15.38**). La apariencia pulverulenta de las colonias maduras, su naturaleza compacta y su color hacen relativamente fácil la detección de colonias de *Streptomyces* en placas de agar (Figura 15.38*b*).

Ecología y aislamiento de *Streptomyces*

Aunque unos pocos estreptomicetos viven en ambientes acuáticos, son fundamentalmente organismos del suelo. De hecho, el olor característico del suelo se debe a la producción por los estreptomicetos de una serie de metabolitos complejos denominados *geosminas*. Los suelos alcalinos y neutros son más favorables que los ácidos para el desarrollo de *Streptomyces*. Además, se encuentran muchos *Streptomyces* en suelos bien drenados (como gredas y suelos que recubren formaciones calcáreas), donde las condiciones pueden ser aerobias, con preferencia a los suelos pantanosos, que rápidamente se convierten en ambientes anóxicos.

El aislamiento de *Streptomyces* del suelo es relativamente fácil. Se diluye una suspensión de suelo en agua estéril y se extiende sobre medio sólido selectivo, y las placas se incuban aeróbicamente a 25 °C (Figura 15.38). Los medios selectivos para *Streptomyces* contienen sales minerales y, como nutrientes orgánicos, sustancias poliméricas como el almidón o la caseína. Normalmente, los estreptomicetos producen enzimas



(a)



(b)

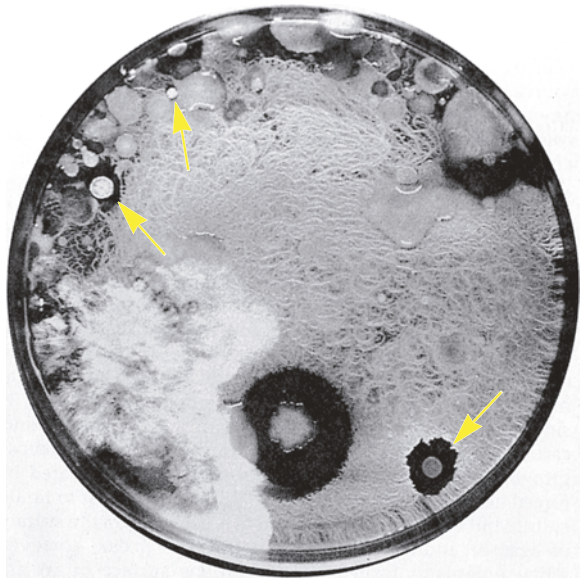
Figura 15.38 ***Estreptomicetos.*** *(a)* Colonias de *Streptomyces* y otras bacterias del suelo obtenidas al extender una dilución de tierra en una placa de agar con caseína y almidón. Las colonias de *Streptomyces* tienen distintos colores (cerca de la parte superior de la placa se ven varias colonias negras de *Streptomyces*) pero pueden identificarse fácilmente por su aspecto opaco, rugoso y poco extenso. *(b)* Foto ampliada de colonias de *Streptomyces coelicolor*.

hidrolíticas extracelulares que permiten la utilización de polisacáridos (almidón, celulosa y hemicelulosa), proteínas y grasas; algunas cepas pueden usar hidrocarburos, lignina, taninos y otros polímeros. Después de cinco a siete días de incubación se examinan las placas para buscar la presencia de las colonias características de *Streptomyces* (Figura 15.38) y las esporas de las colonias pueden ser resembradas para obtener cultivos axénicos.

Antibióticos de *Streptomyces*

La propiedad fisiológica más llamativa de los estreptomicetos es la gran capacidad que tienen de producir *antibióticos* (Tabla 15.8). La prueba de esta producción se ve a menudo en las placas empleadas para su aislamiento inicial: las colonias adyacentes de otras bacterias muestran zonas de inhibición (Figura 15.39*a*).

Casi el 50 % de todos los *Streptomyces* aislados producen antibióticos. Los estreptomicetos producen más de 500 antibióticos distintos y se supone que pueden ser más; la mayor parte se han identificado químicamente (Figura 15.39*b*). Algunas especies producen más de un antibiótico y con frecuencia los diferentes antibióticos producidos por un mismo organismo no están relacionados químicamente. Aunque un productor de antibiótico es resistente a su propio antibiótico, normalmente es sensible a los producidos por otros estreptomicetos. Se necesitan muchos genes para codificar las enzimas que sintetizan antibióticos, y por esto los genomas de



(a)



(b)

Figura 15.39 **Antibióticos de *Streptomyces.*** *(a)* Efecto antibiótico de microorganismos del suelo en una placa con muchas colonias. Las más pequeñas rodeadas por halos de inhibición (flechas) son estreptomicetos; las mayores y extendidas son de especies de *Bacillus*, y algunas de ellas también producen antibióticos. *(b)* El antibiótico de color rojizo undecilprodigiosina es excretado por colonias de *Streptomyces coelicolor*.

las especies de *Streptomyces* son generalmente muy grandes (8 Mbp o más, ↻ Tabla 6.1). En medicina humana y veterinaria se emplean más de 60 antibióticos de estreptomicetos; algunos de los más usados frecuentemente se indican en la Tabla 15.8.

Paradójicamente, a pesar de la extensa investigación realizada sobre los actinomicetos por la industria de antibióticos y de que los antibióticos de *Streptomyces* muevan miles de millones de dólares anualmente, se conoce poco de la ecología de *Streptomyces*. Las interacciones de estos organismos con otras bacterias y la base ecológica de la producción de antibióticos es un tema importante, pero poco conocido. Una hipótesis para explicar por qué las especies de *Streptomyces* producen antibióticos es que la formación de esta sustancia, que está ligada a la esporulación (proceso que a su vez se induce por la falta

Tabla 15.8 Algunos antibióticos comúnmente sintetizados por especies de Streptomyces

Clase química	*Nombre común*	*Producido por*	*Activo contra*[a]
Aminoglicósidos	Estreptomicina	*S. griseus*[b]	Mayoría de bacterias gramnegativas
	Espectinomicina	*Streptomyces spp.*	*M. tuberculosis, N. gonorrhoeae* productora de penicilina
	Neomicina	*S. fradiae*	Amplio espectro, habitualmente utilizada en aplicaciones tópicas por su toxicidad
Tetraciclinas	Tetraciclina	*S. aureofaciens*	Amplio espectro, grampositivas y gramnegativas bacterias, rickettsias y clamidias, Micoplasmas
	Clortetraciclinas	*S. aureofaciens*	Como la tetraciclina
Macrólidos	Eritromicina	*Saccharopolyspora erythraea*	Mayoría de bacterias grampositivas, frecuentemente utilizadas en lugar de la penicilina *Legionella*
	Clindamicina	*S. lincolnensis*	Efectiva contra anaerobios estrictos, especialmente *Bacteroides fragilis*
Polienos	Nistatina	*S. noursei*	Hongos, especialmente infecciones por *Candida*
	Anfotericina B	*S. nodosus*	Hongos
Ninguno	Cloranfenicol	*S. venezuelae*	Amplio espectro; tratamiento principal contra las fiebres tifoideas

[a] La mayoría de los antibióticos son efectivos contra varias bacterias diferentes. Las entradas en esta columna hacen referencia a la aplicación clínica más común de cada antibiótico. Las estructuras y modo de acción de muchos de estos antibióticos se discuten en las Seccioness 27.11-27.14.
[b] Todos los listados que comienzan por «*S.*» son especies del género Streptomyces.

de nutrientes), podría ser un mecanismo para inhibir el crecimiento de otros organismos competidores los nutrientes limitantes. Esto permitiría a *Streptomyces* completar la esporulación y formar estructuras de reposo que aumentarían las posibilidades de supervivencia.

MINIRREVISIÓN

- Defina los términos *aumento* y *resolución*.
- ¿Cuál es el límite superior de aumento para un microscopio de campo claro? ¿Por qué?

III • *Bacteroidetes*

El filo *Bacteroidetes* contiene más de 700 especies descritas, distribuidas en cuatro órdenes: *Bacteroidales*, *Cytophagales*, *Flavobacteriales*, y *Sphingobacteriales* (**Figura 15.40**). Los *Bacteroidetes* son bacilos gramnegativos no esporulados; sus especies, que son normalmente sacarolíticas, y pueden ser aerobias o fermentadoras, comprenden aerobios estrictos, aerobios facultativos y anaerobios estrictos. El desplazamiento por deslizamiento (↻ Sección 2.18) está extendido en este filo, aunque muchas especies son inmóviles y otras cuantas poseen flagelos. El género *Bacteroides* ha sido especialmente bien estudiado, porque comprende organismos que son un componente principal de la comunidad microbiana del intestino humano.

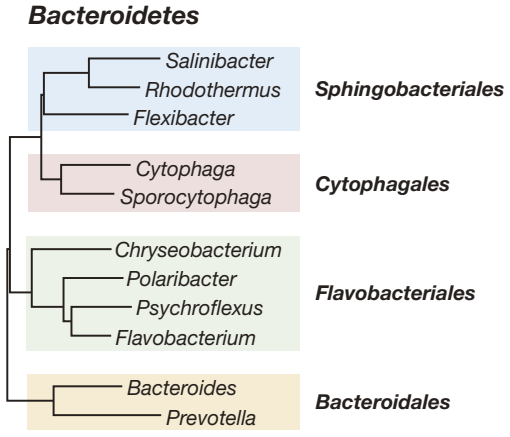


Figura 15.40 Principales órdenes de *Bacteroidetes*. El árbol filogenético se dedujo de las secuencias de genes del rRNA 16S de géneros representativos de *Bacteroidetes*. Los nombres de los órdenes se indican en negrita.

15.13 Bacteroidales

Género principal: *Bacteroides*

El orden *Bacteroidales* contiene principalmente especies anaerobias estrictas que son fermentadoras. El género tipo es *Bacteroides*, con especies que son sacarolíticas y que fermentan azúcares o proteínas (según la especie) hasta acetato y succinato como productos principales de la fermentación. Los *Bacteroides* son normalmente comensales en el intestino de los humanos y de otros animales. En realidad, las especies de *Bacteroides* son las bacterias dominantes, en cuanto a su número, en el intestino grueso humano, donde se alcanza hasta 10^{10}-10^{11} células procariotas por gramo de heces (↻ Sección 22.6). Sin embargo, las especies de *Bacteroides* a veces pueden ser patógenas, y son las bacterias anaerobias más importantes asociadas con infecciones como la *bacteremia* (presencia de bacterias en la sangre).

Bacteroides thetaiotaomicron es una de las especies más destacadas de *Bacteroides* que se encuentran en el lumen del

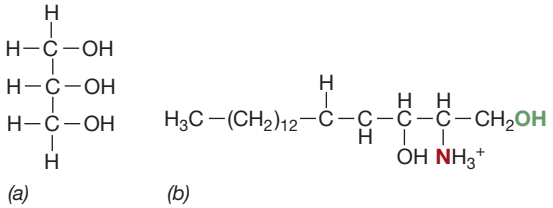


Figura 15.41 Esfingolípidos. Comparación de *(a)* glicerol, con *(b)* esfingosina. En los esfingolípidos, característicos de las especies de *Bacteroides*, la esfingosina es el alcohol esterificado; un ácido graso está unido por un enlace peptídico por su átomo de N (que se muestra en rojo) y el grupo —OH terminal (que se muestra en verde) puede ser cualquiera de una serie de compuestos como la fosfatidilcolina (esfingomielina), o diversos azúcares (cerebrósidos y gangliósidos).

intestino grueso y está especializada en la degradación de polisacáridos complejos. La mayor parte de su genoma está dedicada a codificar enzimas que degradan polisacáridos. La diversidad y el número de genes para el metabolismo de carbohidratos que contiene su genoma exceden con mucho al de cualquier otra especie bacteriana. *Bacteroides thetaiotaomicron* produce muchas enzimas que no están codificadas por el genoma humano y aumenta por tanto enormemente la diversidad de polímeros vegetales que se pueden degradar en el tracto digestivo humano.

Las especies de *Bacteroides* son singulares porque constituyen uno de los pocos grupos de bacterias que sintetiza un tipo especial de lípidos llamados *esfingolípidos* (**Figura 15.41**), caracterizados por el alcohol de cadena larga esfingosina que sustituye al glicerol en la formulación lipídica. Los esfingolípidos como la esfingomielina, los cerebrósidos y los gangliósidos son comunes en los tejidos de mamíferos, especialmente en el cerebro y otros tejidos nerviosos, pero son raros en las bacterias. La producción de esfingolípidos se da también en otros géneros del filo *Bacteroidetes*, como *Flectobacillus*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, y *Sphingobacterium*.

MINIRREVISIÓN

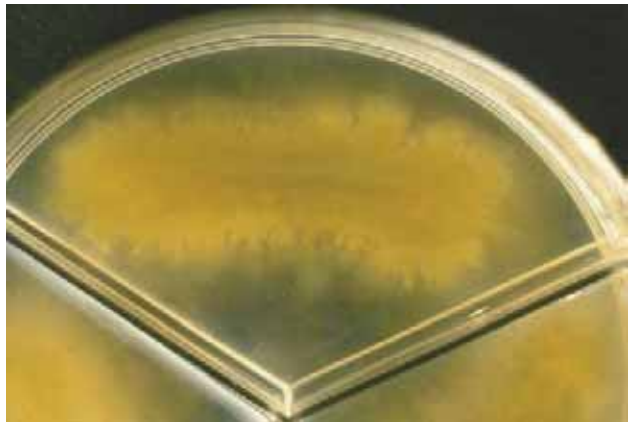
- ¿Cual es el papel de *Bacteroides thetaiotaomicron* en el intestino humano?

15.14 *Cytophagales*, *Flavobacteriales*, y *Sphingobacteriales*

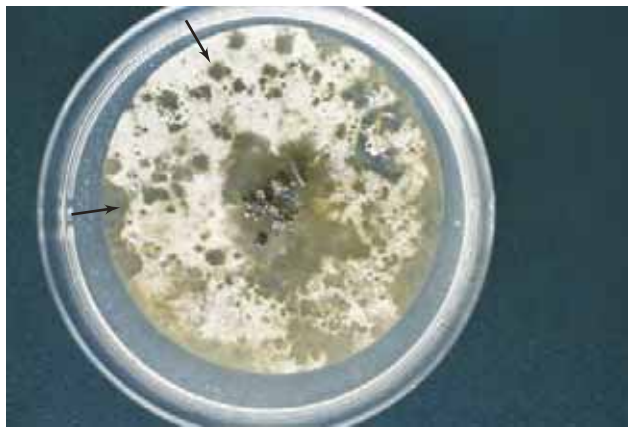
Géneros principales: *Cytophaga, Flavobacterium, Flexibacter*

Cytophagales

El orden *Cytophagales* (Figura 15.40) comprende casi exclusivamente aerobios estrictos, aunque algunas especies tienen capacidades fermentadoras limitadas. Las células suelen ser bacilos gramnegativos largos y delgados que a menudo presentan extremos puntiagudos y que se desplazan por deslizamiento (**Figura 15.42**). Las especies de este orden están especializadas en la degradación de polisacáridos complejos. Están muy distribuidas por suelos óxicos y ambientes de agua dulce, donde probablemente llevan a cabo gran parte de la digestión bacteriana de la celulosa. Los organismos celulolíticos pueden aislarse con



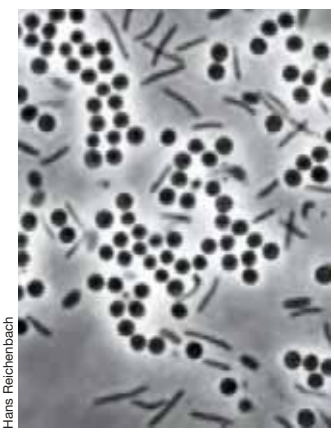
(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 15.42 *Cytophaga* y *Sporocytophaga*. *(a)* Siembra en estrías de una especie marina agarolítica de *Cytophaga*, hidrolizando el agar en una placa de Petri. *(b)* Colonias de *Sporocytophaga* que crecen con celulosa. Obsérvense las zonas de clareado (flechas) donde ha sido degradada la celulosa. *(c)* Microfotografía de contraste de fases de células de *Cytophaga hutchinsonii* cultivadas sobre un papel de filtro de celulosa (cada célula mide aproximadamente 1,5 μm de diámetro). *(d)* Microfotografía de contraste de fases de las células en forma de bacilo y los microcistos esféricos de *Sporocytophaga myxococcoides* (cada célula mide unos 0,5 μm de diámetro y los microcistos 1,5 μm de diámetro). Aunque los microcistos de *Sporocytophaga* son solo ligeramente más resistentes a la temperatura que las células vegetativas, son muy resistentes a la desecación, lo que facilita la supervivencia del organismo en el suelo en períodos secos.

facilidad colocando pequeñas muestras de suelo sobre filtros de papel de celulosa depositados sobre la superficie de un medio mineral solidificado. Las bacterias se adhieren a las fibras de celulosa y las digieren formando colonias expansivas (Figura 15.42*c*).

La degradación de celulosa por citofagas puede producirse de dos modos diferentes. El mecanismo típico se debe a celulasas libres que la célula secreta como enzimas extracelulares llamadas *exoenzimas* y que degradan la celulosa fuera de la célula. Se secreta una mezcla compleja de enzimas que contiene, entre otras, *endocelulasas*, que rompen enlaces glucosídicos β-1,4 *internos*, y *exocelulasas*, que rompen enlaces glucosídicos β-1,4 *terminales* liberando celobiosa. Estas *exoenzimas* degradan la celulosa, que es insoluble, hasta polisacáridos y disacáridos solubles, que pueden ser fácilmente asimilados por la célula. *Cytophaga hutchinsonii* no produce celulasas para que degrade la celulosa parece requerir el contacto físico entre las fibras de celulosa y las celulasas localizadas en la parte externa de su pared celular.

El género *Cytophaga* contiene especies que, además de degradar la celulosa, (Figura 15.42*c*), degradan también el agar (Figura 15.42*a*) y la quitina. En cultivo axénico, *Cytophaga* puede crecer en agar que contenga fibras de celulosa embebidas en el medio (Figura 15.42*b*). El género relacionado *Sporocytophaga* es similar a *Cytophaga* en morfología y fisiología, pero las células forman estructuras esféricas quiescentes llamadas *microcistos* (Figura 15.42*d*), semejantes a las producidas por algunas mixobacterias (↻ Sección 14.19).

Varias especies de *Cytophaga* son patógenas de peces y causan graves problemas en la acuicultura. Dos de las enfermedades más importantes son la *enfermedad columnar*, causada por *C. columnaris* y el *síndrome del agua fría*, causado por *C. psychrophila*. Ambas enfermedades afectan preferentemente a peces en condiciones de estrés, por ejemplo a aquellos que viven en aguas contaminadas o en situaciones de confinamiento y superpoblación, como ocurre en piscifactorías y criaderos. Los peces infectados muestran tejidos necrosados, frecuentemente alrededor de las agallas, debido probablemente a la actividad proteolítica de *Cytophaga*.

Flavobacteriales y *Sphingobacteriales*

Los órdenes *Flavobacteriales* y *Sphingobacteriales* (Figura 15.40) comprenden normalmente quimiorganótrofos aerobios estrictos y aerobios facultativos. Como la mayoría de *Bacteroidetes*, estos organismos son bacilos gramnegativos y sacarolíticos, con muchas especies que se desplazan por deslizamiento. Las especies se encuentran ampliamente distribuídas en el suelo y en hábitats acuáticos, donde suelen degradar polisacáridos complejos.

Las *Flavobacteriales* pueden ser particularmente abundantes en aguas marinas; entre otros, en los sistemas acuáticos de ambientes polares. Las especies de *Flavobacterium* se encuentran principalmente en ambientes acuáticos, tanto marinos como de agua dulce, así como en alimentos y en plantas de procesamiento de alimentos. La mayoría de las especies son aerobias estrictas, aunque algunas especies reducen los nitratos por respiración anaerobia. Las flavobacterias tienen frecuentemente pigmentación amarilla y generalmente son sacarofílicas; la mayoría pueden degradar también almidón y proteínas. Aunque rara vez son patógenas, hay una especie, *Flavobacterium meningosepticum*, que se ha asociado con casos de meningitis infantil, y se conocen también varios patógenos de peces.

Algunas *Flavobacteriales* son psicrófilas o psicrotolerantes (↻ Sección 5.12). En particular, los géneros *Polaribacter* y *Psychroflexus*, son organismos que normalmente se aíslan de ambientes permanentemente fríos, como las aguas polares y el hielo marino. Muchos géneros relacionados pueden también crecer bien por debajo de 20 °C, y por tanto pueden causar el deterioro de alimentos. Ninguno es patógeno.

Las *Sphingobacteriales* son parecidas, en cuanto a su fenotipo, a muchas *Flavobacteriales*. En cuanto a su fisiología, por lo general las especies de las *Sphingobacteriales* degradan un espectro más amplio de polisacáridos complejos que las *Flavobacteriales*, y en esto se parecen a las especies de *Cytophagales*. El género *Flexibacter* es el modelo de muchos géneros de *Sphingobacteriales*. Las especies de *Flexibacter* se diferencian de las citofagas en que normalmente necesitan medios complejos para crecer bien y no son celulolíticas. Las células de algunas especies de *Flexibacter* también sufren cambios de morfología celular, que va de filamentos largos deslizantes en forma de hebras y sin tabicación a bacilos cortos sin capacidad de desplazamiento. Muchas especies están pigmentadas por carotenoides situados en la membrana citoplasmática o por otros pigmentos relacionados denominados *flexirrubinas*, localizados en la membrana externa de la pared gramnegativa. Las especies de *Flexibacter* son saprófitos comunes en suelos y agua dulce, donde degradan polisacáridos, y ninguna ha sido identificada como patógeno.

MINIRREVISIÓN

- Describa un método para aislar especies de *Cytophaga* de la naturaleza.
- ¿Por qué las penicilinas no matan a las especies de *Archaea*?

IV • *Chlamydiae, Planctomycetes* y *Verrucomicrobia*

Los filos *Chlamydiae*, *Planctomycetes* y *Verrucomicrobia* comparten un antepasado común y guardan una mayor relación entre sí que con otros filos bacterianos (**Figura 15.43**). Estos tres grupos contienen organismos que pueden encontrarse en hábitats variados, como suelos, ambientes acuáticos y en asociación con hospedadores eucariotas. Consideramos primero las clamidias, que son un grupo de pequeñas bacterias gramnegativas que causan algunas enfermedades graves a los humanos y a otros animales.

15.15 *Chlamydiae*

Géneros principales: *Chlamydia, Chlamydophila, Parachlamydia*

El filo *Chlamydiae* consta de un solo orden, *Chlamydiales*, que comprende parásitos intracelulares estrictos de eucariotas. Aunque las especies patógenas de los humanos han sido las más estudiadas, el filo presenta algunas especies que interaccionan con una gran variedad de hospedadores eucariotas. Las especies son normalmente cocos muy pequeños, de aproximadamente

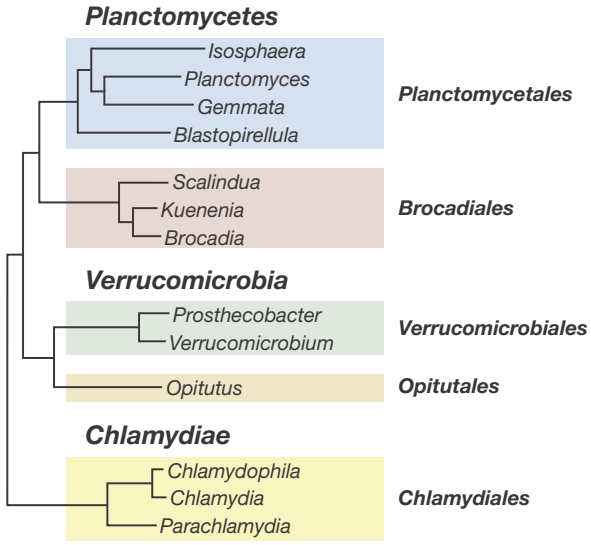


Figura 15.43 Principales órdenes de *Chlamydiae*, *Planctomycetes*, y *Verrucomicrobia*. El árbol filogenético se dedujo de las secuencias de genes del rRNA 16S de géneros representativos de *Chlamydiae*, *Planctomycetes*, y *Verrucomicrobia*. Los nombres de los órdenes se indican en negrita.

0,5 µm de diámetro y muestran un ciclo de vida peculiar. Como ocurre con muchos parásitos estrictos y con simbiontes, el genoma de las *Chlamydiae* es reducido, con un tamaño que va de 550 a 1.000 pares de kilobases (↻ Sección 6.4).

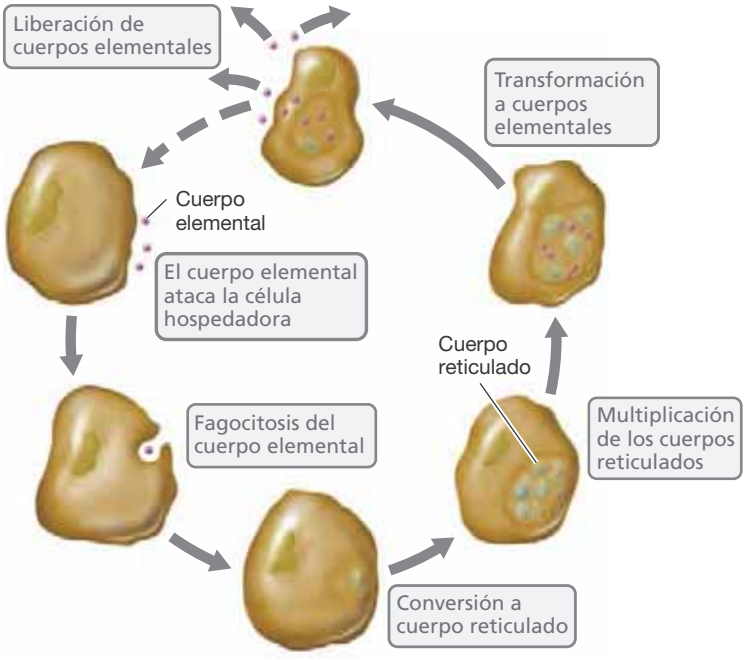
Ciclo biológico de las *Chlamydiae*

Todas las especies de *Chlamydiae* muestran un ciclo biológico particular (**Figura 15.44**), con dos tipos de células: (1) una célula pequeña y densa, denominada *cuerpo elemental*, que es relativamente resistente a la desecación y actúa como medio de dispersión y (2) una célula más grande y menos densa, denominada *cuerpo reticulado*, que se divide por fisión binaria y actúa como forma vegetativa.

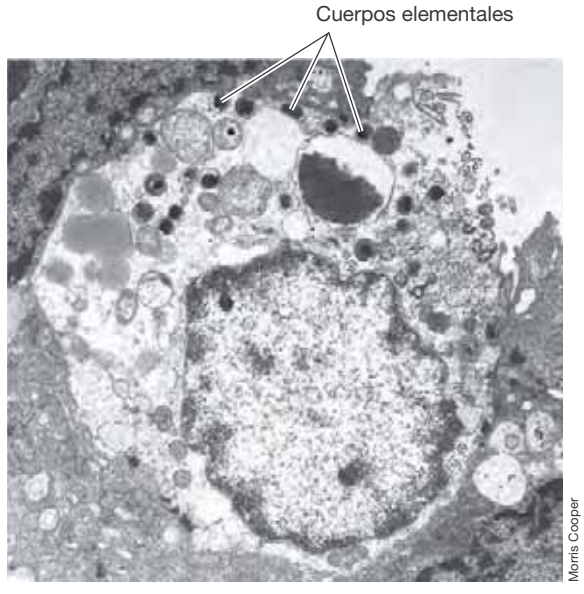
Los cuerpos elementales son células que no se replican y están especializadas en la transmisión de la infección. En cambio, los cuerpos reticulados son formas no infecciosas cuya única función es multiplicarse dentro de las células del hospedador, generando un gran inóculo para la transmisión. A diferencia de las rickettsias, las clamidias no se transmiten por artrópodos, sino por el aire e invaden el aparato respiratorio —de ahí la importancia de la resistencia a la desecación que presentan los cuerpos elementales. La **Figura 15.45** muestra la división de un cuerpo reticulado. Después de unas cuantas divisiones, las células vegetativas se transforman en cuerpos elementales, que son liberados cuando la célula hospedadora se desintegra (Figura 15.44*b*) y pueden entonces infectar otras células cercanas. El tiempo de generación de los cuerpos reticulados se ha calculado de dos a tres horas, considerablemente más rápidos que los tiempos de generación de las rickettsias (Sección 15.1).

Géneros destacados de *Chlamydiae*

Las *Chlamydiae* están particularmente bien adaptadas para invadir y colonizar células eucariotas, y diferentes especies pueden invadir una gran diversidad de hospedadores eucariotas. *Parachlamydia acanthamoebae* infecta amebas de vida libre, sobre todo amebas del género *Acanthamoeba*, y muestra el típico ciclo de vida durante esta infección (Figura 15.44). La mayoría de las especies de las *Chlamydiae* se multiplican o sobreviven en el interior de amebas de vida libre, que son por tanto importantes para la supervivencia y la dispersión de



(a)



(b)

Figura 15.44 Ciclo infectivo de una *Chlamydia*. *(a)* Diagrama esquemático del ciclo: el ciclo se completa en unas 48 h. *(b)* Infección de *Chlamydia* en humanos. Los cuerpos elementales (unos 0,3 µm de diámetro) son la forma infecciosa y los cuerpos reticulados (aproximadamente 1 µm de diámetro) son la forma multiplicativa. Una célula de una trompa de Falopio infectada estalla y libera cuerpos elementales maduros.

UNIDAD 3

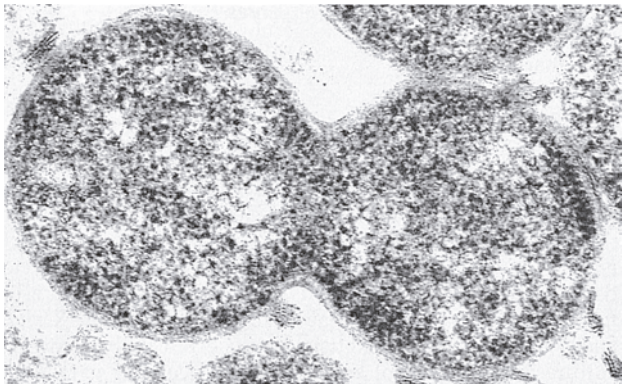


Figura 15.45 ***Chlamydia.*** Micrografía electrónica de una sección fina de un cuerpo reticulado en división de *Chlamydia psittaci* dentro de una célula de ratón en cultivo de tejidos. Cada célula de *Chlamydia* mide aproximadamente 1 µm de diámetro.

estas bacterias en la naturaleza. En medios naturales se detectan secuencias variadas del gen del rRNA 16S de *Chlamydia*, lo que sugiere que estos organismos están muy extendidos y que aún no se han identificado muchos de sus hospedadores naturales. Aunque las amebas son los hospedadores naturales de *P. acanthamoebae*, esta especie también puede afectar a los humanos, aunque de manera más débil que las *Chlamydiae*, cuyos hospedadores naturales son los humanos.

Los patógenos humanos mejor estudiados pertenecen a los géneros *Chlamydia* y *Chlamydophila*. Se reconocen varias especies dentro de estos géneros: *Chlamydophila psittaci*, agente causal de la psitacosis; *Chlamydia trachomatis*, agente causal del tracoma y otra serie de enfermedades en humanos, y *Chlamydophila pneumoniae*, causante de varios síndromes respiratorios. La psitacosis es una enfermedad epidémica de las aves que ocasionalmente se transmite a los humanos, en los cuales produce síntomas parecidos a una neumonía. El tracoma es una enfermedad ocular crónica que se caracteriza por la vascularización, ulceración y cicatrización de la córnea, y es la causa principal de ceguera en humanos. Otras cepas de *C. trachomatis* infectan el aparato genitourinario, y actualmente las infecciones por *Chlamydia* constituyen las enfermedades más comunes de transmisión sexual (↔ Sección 29.13).

Propiedades moleculares y metabólicas

De todas las especies conocidas de *Bacteria*, las clamidias están entre las que tienen más limitaciones bioquímicas. Su genoma, de un tamaño aproximado de 1 Mbp, parece aún más limitado que el de las rickettsias, el otro grupo de parásito intracelulares estrictos en *Bacteria* (Sección 15.1). Curiosamente, el genoma de *C. trachomatis* carece del gen que codifica la proteína FtsZ, una proteína clave para la formación del septo durante la división celular (↔ Sección 5.2), que se considera indispensable para el crecimiento de todos los procariotas. La pared celular de *C. trachomatis* también parece carecer de peptidoglicano, aunque en su genoma posee los genes para su biosíntesis. Algunos genes de *C. trachomatis* son claramente eucariotas, lo que indica la existencia de transferencia horizontal del hospedador a la bacteria; estos genes pueden codificar funciones que facilitan el estilo de vida patogénico de *C. trachomatis* (↔ Sección 29.13). En resumen, las clamidias parecen haber desarrollado una estrategia eficaz de supervivencia que incluye el parasitismo de los recursos del hospedador y la producción de formas celulares de resistencia para su transmisión.

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué se parecen *Chlamydia* y *Mycoplasma* (Sección 15.9)? ¿Y en qué se diferencian?
- ¿Cuál es la diferencia entre un cuerpo elemental y un cuerpo reticular?

15.16 *Planctomycetes*

Géneros principales: *Planctomyces, Blastopirellula, Gemmata, Brocadia*

El filo *Planctomycetes* contiene varias bacterias de morfología singular que se agrupan principalmente en dos órdenes, *Planctomycetales* y *Brocadiales* (Figura 15.43).

Las *Planctomycetes* son bacterias gramnegativas y muchas de ellas se dividen por gemación. A menudo presentan pedúnculos o apéndices y las células se disponen en rosetas. Una característica de las *Planctomyces* que no es habitual en las bacterias es que su pared celular carece de peptidoglicano y es del tipo capa S (↔ Sección 2.12). Como es de esperar en organismos que carecen de peptidoglicano, estas bacterias son resistentes a antibióticos como la penicilina o la cefalosporina, que alteran la síntesis de peptidoglicano. Otra característica destacable de las *Planctomycetes* es que a menudo presentan una compartimentalización interna, en el citoplasma celular, que se recuerda los orgánulos de los eucariotas.

Compartimentalización en *Planctomycetes*

En la Sección 1.2 señalamos las principales diferencias estructurales entre las células procariotas y eucariotas. En particular, los eucariotas tienen un núcleo rodeado por membrana, mientras que en los procariotas el DNA se superenrrolla y compacta formando el nucleoide presente en el citoplasma. Sin embargo, los *Planctomycetes* son únicos entre todos los procariotas porque muestran una extensa compartimentalización celular, en algunos casos incluso una estructura nuclear rodeada de membrana.

Todos los *Planctomycetes* producen una estructura rodeada por una membrana no unitaria; esta estructura, llamada *pirelulosoma*, contiene el nucleoide, ribosomas y otros componentes citoplasmáticos necesarios. Pero en algunos *Planctomycetes*, como en la bacteria *Gemmata* (**Figura 15.46**), el propio nucleoide se rodea de una «envoltura nuclear» formada por una membrana de doble capa como la membrana nuclear de los eucariotas. El DNA de *Gemmata* mantiene la estructura típica de los procariotas y se presenta en forma circular, cerrada covalentemente y superenrollada (↔ Sección 4.3), pero está muy condensado y separado del citoplasma por una auténtica membrana unitaria (Figura 15.46).

Otro interesante compartimento es el *anamoxosoma* de algunos *Planctomycetes*, como *Brocadia anammoxidans*. Esta bacteria lleva a cabo la oxidación anaerobia del amoniaco (NH_3) dentro de la estructura cerrada del anamoxosoma. La membrana de este compartimento está compuesta por lípidos

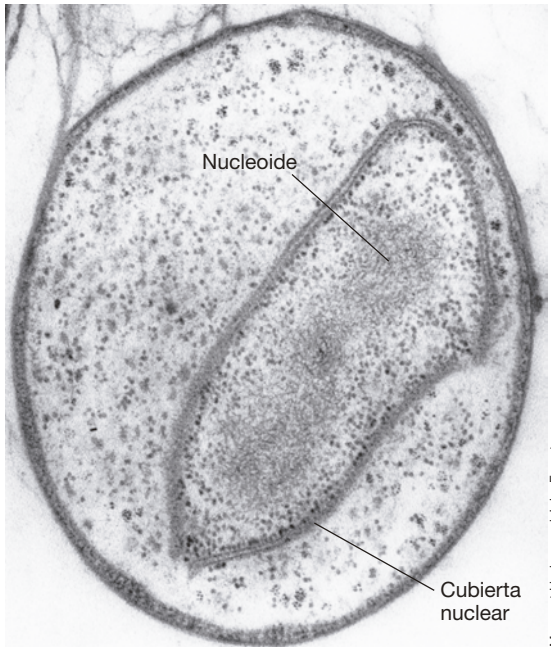


Figura 15.46 ***Gemmata*: una bacteria con «núcleo».** Micrografía electrónica de transmisión de una sección fina de una célula de *Gemmata obscuriglobus*, que muestra el nucleoide rodeado por una envoltura nuclear. Cada célula mide aproximadamente 1,5 µm de diámetro.

exclusivos que forman un cerramiento completo, protegiendo a los componentes citoplásmicos de los intermediarios tóxicos que se forman durante la oxidación anaerobia del amoniaco (↔ Sección 13.10).

Planctomyces

Planctomyces es el género mejor conocido dentro de los *Planctomycetes*. Como la proteobacteria pedunculada *Caulobacter*, que vimos en la Sección 14.21, *Planctomyces* es también una bacteria pedunculada (**Figura 15.47**). Sin embargo, a diferencia de *Caulobacter*, el pedúnculo de *Planctomyces* está formado por proteína y no contiene una pared celular ni citoplasma (compárese la Figura 15.47 con la 14.57). Se supone que este pedúnculo tiene funciones de fijación, pero es una estructura mucho más estrecha y fina que la prosteca del pedúnculo de *Caulobacter*.

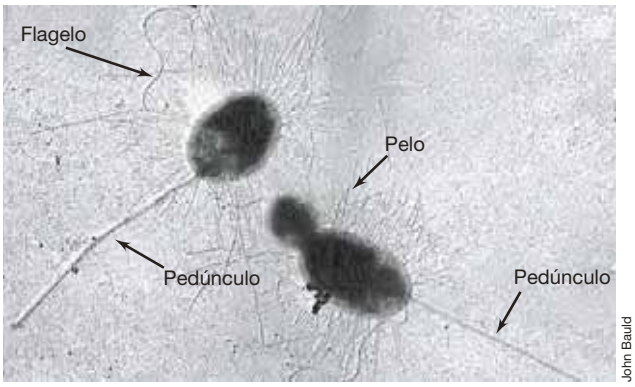


Figura 15.47 ***Planctomyces maris*.** Micrografía electrónica de transmisión de una muestra cubierta de una fina capa de metal. Cada célula mide entre 1 y 1,5 µm de largo. Obsérvese el carácter fibrilar del pedúnculo. Los pelos también son muy abundantes. Obsérvese también los flagelos (apéndices curvados) en cada célula y la yema que se está formando en el extremo sin pedúnculo de una de las células.

Como *Caulobacter* (↔ Figuras 7.26 y 14.57), *Planctomyces* es una bacteria que forma yemas, con un ciclo biológico complejo. Sus células móviles nadadoras se fijan a una superficie, desarrollan un pedúnculo en el punto de fijación y generan una nueva célula en el polo opuesto por gemación. Esta célula hija desarrolla un flagelo, se separa de la célula progenitora anclada y comienza un nuevo ciclo. Fisiológicamente, las especies de *Planctomyces* son quimioorganótrofas anaerobias facultativas, que crecen bien mediante fermentación o por respiración de azúcares.

El hábitat de *Planctomyces* es fundamentalmente acuático, tanto de agua dulce como de agua marina, mientras que el género *Isosphaera* es una bacteria filamentosa y deslizante de manantiales termales. El aislamiento de *Planctomyces* y otros organismos relacionados necesita medios diluidos, como sucede con *Caulobacter*. Además, dado que todos los miembros conocidos de este grupo carecen de peptidoglicano, el enriquecimiento puede hacerse aún más selectivo si se añade penicilina.

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué se diferencia el pedúnculo de *Planctomyces* del de *Caulobacter*?
- ¿Qué tiene de especial la bacteria *Gemmata*?

15.17 *Verrucomicrobia*

Géneros principales: *Verrucomicrobium, Prosthecobacter*

El filo *Verrucomicrobia* contiene al menos cuatro órdenes con especies conocidas, pero la mayoría pertenecen al orden *Verrucomicrobiales* (Figura 15.43). Las especies de este filo son bacterias aerobias o facultativas, con capacidad de fermentar azúcares. Una excepción es el género *Methylacidiphilum*, que comprende metanótrofos aerobios (↔ Sección 14.17). Además, algunas especies forman asociaciones simbióticas con protistas. Los miembros de *Verrucomicrobia* están muy extendidos en la naturaleza, en medios acuáticos marinos y de agua dulce, así como en suelos agrícolas y forestales. Pueden tener estructuras membranosas intracelulares similares a las encontradas en *Planctomycetes*. Normalmente forman apéndices citoplásmicos denominados *prostecas* (↔ Sección 14.21). Las especies de *Verrucomicrobia* comparten con otras especies de bacterias con prostecas la presencia de peptidoglicano en la pared celular, y esto los diferencia claramente de los *Planctomycetes*.

Los géneros *Verrucomicrobium* y *Prosthecobacter* producen dos o más prostecas por célula (**Figura 15.48**). A diferencia de las células de *Caulobacter* (↔ Figuras 7.26 y 14.57), que presentan una sola prosteca y producen formas nadadoras flageladas y sin prostecas, *Verrucomicrobium* y *Prosthecobacter* se dividen simétricamente de manera que tanto la célula progenitora como la hija presentan prostecas en el momento de la división celular. El nombre de género *Verrucomicrobium* deriva de la raíz griega que significa «verrugoso», lo que describe apropiadamente a las células de *Verrucomicrobium spinosum* con sus múltiples y prominentes prostecas (Figura 15.48).

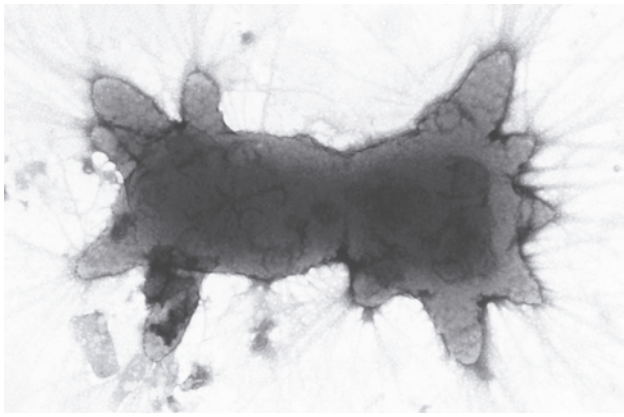

Heinz Schlesner

Figura 15.48 ***Verrucomicrobium spinosum.*** Micrografía electrónica de transmisión por tinción negativa. Obsérvense las prostecas con aspecto de verrugas. Cada célula mide aproximadamente 1 µm de diámetro.

Las especies del género *Prosthecobacter* tienen dos genes con considerable homología con los genes que codifican la tubulina de las células eucariotas. La tubulina es una proteína fundamental en la composición del citoesqueleto de las células eucariotas (↔ Sección 2.22). Aunque la proteína FtsZ, importante en la división celular (↔ Sección 5.2), es también homóloga de la tubulina, las proteínas de *Prosthecobacter* son estructuralmente más parecidas a la tubulina eucariota de lo que lo es la proteína FtsZ. No se conoce la función que desempeñan en *Prosthecobacter* las proteínas tipo tubulina, ya que no se ha observado en estos organismos un citoesqueleto como el de los eucariotas.

MINIRREVISIÓN

- Describa dos diferencias entre *Verrucomicrobia* y *Planctomycetes*.

V • *Bacteria* hipertermófilas

Cerca de la raíz del árbol filogenético de *Bacteria* se encuentran tres filos de bacterias hipertermófilas (Figura 15.1). Cada grupo está formado por uno o dos géneros principales y el rasgo fisiológico principal de la mayoría de las especies de estos géneros es la hipertermofilia —su temperatura óptima de crecimiento supera los 80 °C (↔ Sección 5.13). Comenzamos la presentación con *Thermotoga* y *Thermodesulfobacterium*, que representan cada una su propio linaje.

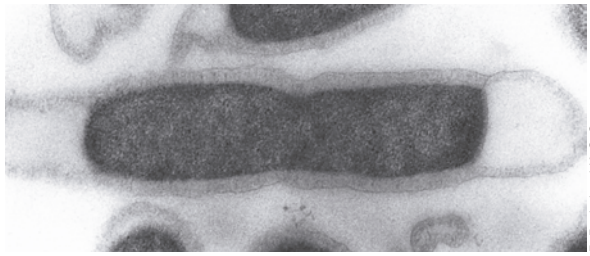
15.18 *Thermotogae* y *Thermodesulfobacteria*

Géneros principales: *Thermotoga, Thermodesulfobacterium*

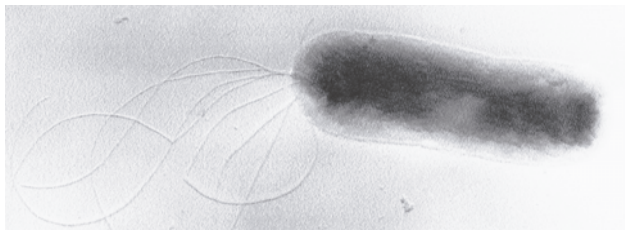
Las especies de *Thermotoga* son bacilos hipertermófilos que forman una especie de vaina (llamada *toga*, de donde deriva el nombre del género) (**Figura 15.49*a***). Muestran tinción gramnegativa y no esporulan. Las especies de *Thermotoga* son anaerobias fermentadoras, que catabolizan azúcares o almidón y producen lactato, acetato, CO_2 y H_2 como productos de fermentación. Estos organismos también pueden crecer mediante respiración anaerobia, utilizando H_2 como donante de electrones y hierro férrico como aceptor de electrones. Se han aislado especies de *Thermotoga* en fuentes de aguas termales terrestres y en chimeneas hidrotermales marinas.

Aunque se trata de una bacteria, el genoma de *Thermotoga* contiene muchos genes que muestran una notable homología con genes de arqueas hipertermófilas. De hecho, más del 20 % de los genes de *Thermotoga* se han obtenido probablemente por transferencia horizontal (↔ Secciones 6.12 y 12.15) de especies hipertermófilas de arqueas. Aunque en los genomas de otras bacterias se han identificado unos cuantos genes similares a los de arqueas y viceversa, hasta el momento solo en *Thermotoga* se ha podido detectar un intercambio tan extenso de genes por transferencia horizontal entre dominios.

Thermodesulfobacterium (**Figura 15.50**) es una bacteria termófila y reductora de sulfato, que en el árbol filogenético


R. Rachel and K. O. Stetter

(a)

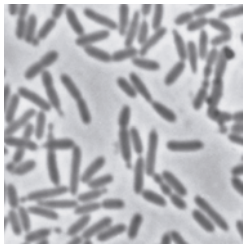

R. Rachel and K. O. Stetter

(b)

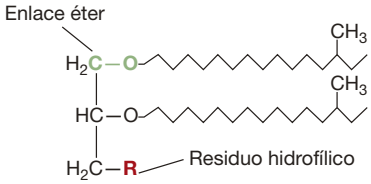
Figura 15.49 **Bacterias hipertermófilas.** Micrografías electrónicas de dos bacterias hipertermófilas *(a) Thermotoga marítima* (temperatura óptima, 80 °C). Obsérvese la cubierta externa, denominada toga. *(b) Aquifex pyrophilus* (temperatura óptima, 85°C). Las células de *Thermotoga* miéden 0,6 × 3,5 µm; las células de *Aquifex* miden 0,5 × 2,5 µm.

constituye un filo independiente, situado entre *Thermotoga* y *Aquifex* (Figura 15.1). *Thermodesulfobacterium* es anaerobio estricto y usa lactato, piruvato y etanol (pero no acetato) como donadores de electrones, como hacen otras bacterias reductoras de sulfato como *Desulfovibrio* (↔ Sección 14.9), reduciendo SO_4^{2-} hasta H_2S.

Un rasgo bioquímico poco común de las especies de *Thermodesulfobacterium* es la presencia de *lípidos con enlaces éter*. Recordemos que dichos lípidos son un sello distintivo de las arqueas, y que una cadena poliisoprenoíde C_{20} (fitanilo)


Fritz Widdel

(a)



(b)

Figura 15.50 ***Thermodesulfobacterium.*** *(a)* Micrografía de células de *Thermodesulfobacterium thermophilum*. *(b)* Estructura de uno de los lípidos de *T. mobile*. Obsérvese que aunque las dos cadenas laterales hidrófobas presentan enlaces éter, no son unidades de fitanilo como en las arqueas. «R» designa un residuo hidrófilo, como un grupo fosfato.

reemplaza al ácido graso como cadena lateral en los lípidos de arqueas (↔ Sección 2.7). Sin embargo, los lípidos unidos con enlace éter de *Thermodesulfobacterium* son inusuales en tanto que las cadenas laterales del glicerol no son grupos fitanilo como lo son en las arqueas, sino que están formados por un hidrocarburo C_{17} específico, junto a ciertos ácidos grasos (Figura 15.50*b*). Así, en *Thermodesulfobacterium* nos encontramos con un linaje filogenético muy antiguo (Figura 15.1) y un perfil lipídico que combina características de bacterias y de arqueas. Sin embargo, unas cuantas bacterias más también tienen lípidos unidos a éter; por tanto, este tipo de lípidos podría ser más frecuente entre las bacterias que lo que se pensaba.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué tienen de especial el genoma de *Thermotoga* y los lípidos de *Thermodesulfobacterium*?

15.19 *Aquificae*

Géneros principales: *Aquifex, Thermocrinis*

El género *Aquifex* (Figura 15.49*b*) es un hipertermófilo, autótrofo y quimiolitótrofo estricto, y la bacteria más termófila de todas las conocidas. Diversas especies de *Aquifex* utilizan H_2, azufre (S^0) o tiosulfato ($S_2O_3^{2-}$) como donadores de electrones y O_2 o nitrato (NO_3^-) como aceptores de electrones; estas células habitan ambientes de hasta 95 °C de temperatura. *Aquifex* solo puede soportar concentraciones de O_2 muy bajas (microaerófilo), y es incapaz de oxidar todos los compuestos orgánicos que se han probado. *Hydrogenobacter* es un organismo relacionado con *Aquifex* que muestra casi las mismas propiedades, pero es un aerobio estricto.

Aquifex y la autotrofía

La autotrofía de *Aquifex* se basa en las enzimas del ciclo de Krebs inverso, una serie de reacciones que se habían descrito previamente solo en las bacterias verdes del azufre (↔ Sección 13.3 y Sección 14.6), dentro del dominio *Bacteria*. Se ha secuenciado el genoma completo de *Aquifex aeolicus*, cuyo estilo de vida quimiolitótrofo y autótrofo está codificado por un genoma muy pequeño, de tan solo 1,55 Mbp (un tercio del tamaño del genoma de *Escherichia coli*). El descubrimiento de que tantas especies hipertermófilas de arqueas y bacterias, como *Aquifex*, son quimiolitótrofos del H_2, combinado con el hallazgo de que se separan como linajes muy antiguos en sus respectivos árboles filogenéticos (Figura 15.1), sugiere que el H_2 fue un donador de electrones fundamental para el metabolismo energético de los organismos primitivos que aparecieron en la Tierra primigenia (↔ Secciones 12.1 y 16.14).

Thermocrinis

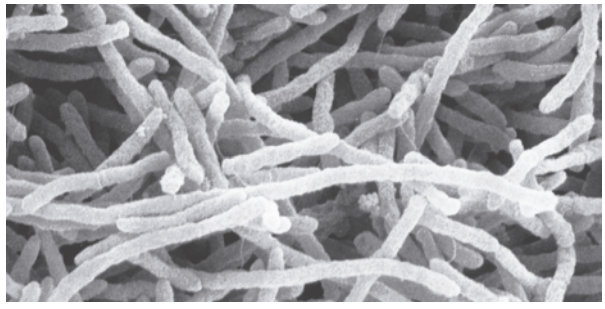
Thermocrinis (**Figura 15.51**) es un género emparentado con *Aquifex* y con *Hydrogenobacter*. Este organismo es un hipertermófilo (con temperatura óptima de 80 °C) quimiolitótrofo, que oxida


David Ward

(a)


Michael T. Madigan

(b)


Reinhard Rachel and Karl O. Stetter

(c)

Figura 15.51 ***Thermocrinis.*** *(a)* Octopus Spring, en el parque Nacional de Yellowstone (Estados Unidos). El agua de esta fuente termal alcalina y silícea mana a una temperatura de 92 °C. *(b)* Células de *Thermocrinis ruber*, que crecen como serpentinas filamentosas (flecha) adheridas a conglomerados silíceos en la corriente de salida (85 °C). *(c)* Micrografía electrónica de barrido de células de *T. ruber* con forma bacilar crecidas sobre un cubreobjetos recubierto de silicio. Cada célula de *T. ruber* mide aproximadamente 0,4 µm de diámetro y de 1 a 3 µm de largo.

H_2, tiosulfato ($S_2O_3^{2-}$) o azufre (S^0) como donadores de electrones, y utilizando O_2 como aceptor. La única especie conocida es *Thermocrinis ruber*, que crece en el agua que fluye de ciertos manantiales termales del Parque Nacional de Yellowstone (Estados Unidos), donde forma unas «serpentinas» de color de rosa constituidas por una forma celular filamentosa fijada a conglomerados silíceos (Figura 15.51*b*). En un cultivo sin agitación, las células de *T. ruber* crecen individualmente en forma de bacilos (Figura 15.51*c*). Sin embargo, cuando se cultivan en un sistema de flujo en el que el medio de cultivo se va derramando de manera continua sobre una superficie sólida de cristal a la que las células pueden adherirse, *Thermocrinis* adopta la morfología de serpentina que forma cuando se encuentra en el flujo constante de su hábitat natural.

Thermocrinis ruber es una especie de significado histórico en microbiología, porque fue uno de los organismos estudiados en la década de 1960 por Thomas Brock, pionero en el campo de la microbiología termal. El descubrimiento de Brock de que las serpentinas rosas (Figura 15.51*b*) contenían proteínas y ácidos nucleicos, indicaba claramente que se trataba de organismos vivos y no tan solo de detritos minerales. Además, la existencia de serpentinas en el agua que fluye de los manantiales termales a 80-90 °C, pero no en los que tienen una temperatura inferior, apoyaba la hipótesis de Brock de que aquellos organismos necesitaban realmente calor para crecer y que probablemente podrían encontrarse incluso en agua hirviendo o sobrecalentada. Ambas conclusiones fueron respaldadas por el descubrimiento de Brock y otros investigadores de docenas de géneros de bacterias hipertermófilas viviendo en manantiales termales, chimeneas hidrotermales y otros ambientes similares. Véase más información sobre hipertermófilos en las Secciones 5.11, 5.13, y en el Capítulo 16.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cuál es el significado evolutivo de que los organismos del linaje *Aquifex* sean tanto hipertermófilos como quimiolitótrofos del H_2?

VI • Otras *Bacteria*

En este capítulo hemos visto hasta ahora filos que tienen muchas especies caracterizadas (Figura 15.1). Pero más allá de estos filos mayoritarios hay otros muchos que no tienen más que una especie descrita, o como mucho un pequeño grupo de especies (Figura 15.1*b*). Además, se conoce la existencia de muchos otros filos solamente por el muestreo de genes del rRNA 16S en la naturaleza (↻ Sección 18.5). No podemos referirnos a todos y en esta unidad final del capítulo consideramos un filo que ha sido bien estudiado y a continuación resumimos algunos otros filos que se empiezan a conocer y están emergiendo entre los grupos principales de la diversidad microbiana.

15.20 *Deinococcus-Thermus*

Géneros principales: *Deinococcus, Thermus*

El grupo de los deinococos incluye solamente unos pocos géneros dentro de dos órdenes, el orden *Deinococcales* y el orden *Thermales*. Los miembros de este grupo son quimiorganótrofos aerobios que metabolizan azúcares, aminoácidos y ácidos orgánicos, o diversas mezclas complejas. Aunque los deinococos se tiñen como grampositivos, la estructura de su pared celular es de tipo gramnegativo (**Figura 15.52**). La pared está formada por varias capas, entre ellas una membrana externa, que es característica de las bacterias gramnegativas (↻ Sección

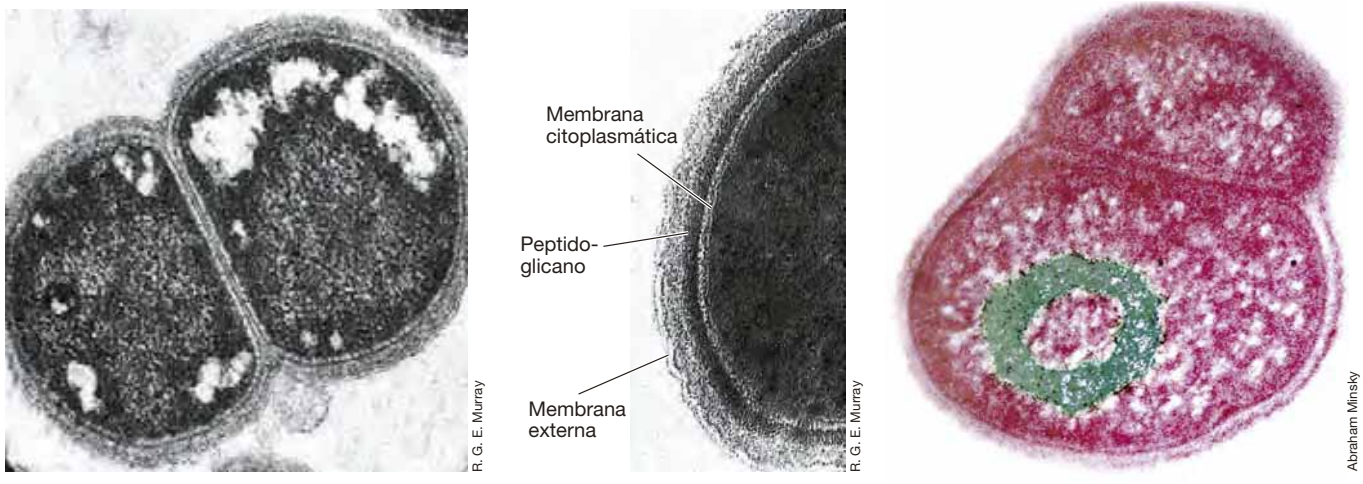


Figura 15.52 ***Deinococcus radiodurans*, coco resistente a la radiación.** Cada célula mide unos 2,5 µm de diámetro. *(a)* Micrografía electrónica de transmisión de *D. radiodurans*. Obsérvese la capa de la membrana externa. *(b)* Micrografía de gran aumento de la pared. *(c)* Micrografía electrónica de transmisión de células de *D. radiodurans*, coloreada para mostrar la morfología toroidal del nucleoide (en verde).

2.11). Sin embargo, a diferencia de la membrana externa de bacterias como *Escherichia coli*, la de los deinococos carece de lípido A. Además, los deinococos contienen una forma especial de peptidoglicano en el que la ornitina reemplaza al ácido diaminopimélico en los enlaces entre los aminoácidos del *N*-acetilmurámico (↔ Sección 2.10).

Las especies que pertenecen al orden *Thermales* normalmente son termófilas o hipertermófilas y el género tipo es *Thermus*. *Thermus aquaticus*, descubierta en la década de 1960 por Thomas Brock en un manantial termal del Parque Nacional de Yellowstone (Estados Unidos), es un organismo modelo para estudiar la vida a altas temperaturas. Con posterioridad, *T. aquaticus* se ha aislado de muchos sistemas geotérmicos y es el origen de la polimerasa *Taq*. Debido a su termoestabilidad, la polimerasa *Taq* hizo posible la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, del inglés *polymerase chain reaction*), que permitió la automatización de la técnica de amplificación del DNA (↔ Sección 11.3), lo que ha supuesto un avance que ha revolucionado toda la biología

Resistencia a la radiación de *Deinococcus radiodurans*

Las especies de las *Deinococcales* tienen la peculiaridad de ser extremadamente resistentes a la radiación y *Deinococcus radiodurans* es la especie mejor estudiada a este respecto. La mayoría de los deinococos son rojos o rosados por la presencia de carotenoides, y muchas cepas son muy resistentes a las radiaciones y a la desecación. Su resistencia a la radiación ultravioleta (UV) puede aprovecharse para su aislamiento. Estos organismos tan especiales pueden aislarse por selección a partir del suelo, de carne picada, de polvo y de aire filtrado, si se somete la muestra correspondiente a una intensa radiación UV (o incluso a radiación gamma) y luego se siembra en medio rico, con triptona y extracto de levadura. Por ejemplo, las células de *D. radiodurans* pueden sobrevivir a una exposición de hasta 15.000 grays (Gy) de radiación ionizante (1 Gy = 100 rad). Esta dosis sería suficiente para destruir el cromosoma de cualquier otro organismo en cientos de fragmentos. (Una persona, por ejemplo, puede morir por una exposición de menos de 10 Gy).

Además de su impresionante resistencia a la radiación, *D. radiodurans* es resistente al efecto mutagénico de muchos agentes mutágenos. Los únicos mutágenos químicos que parecen hacer efecto sobre *D. radiodurans* son compuestos del tipo de la nitrosoguanidina, que induce deleciones en el DNA. Aparentemente, las deleciones no se reparan en este organismo tan eficientemente como las mutaciones puntuales y este es el método apropiado para aislar mutantes de *D. radiodurans*.

Reparación del DNA en *Deinococcus radiodurans*

El estudio de *D. radiodurans* ha demostrado que es muy eficaz reparando el DNA dañado y para ello cuenta con varias enzimas distintas. Además de la enzima reparadora de DNA RecA (↔ Sección 10.4), *D. radiodurans* tiene varios sistemas de reparación independientes de RecA, que pueden reparar cortes de cadena simple y de doble cadena, así como escindir y reparar bases incorporadas incorrectamente. Son procesos de reparación tan eficientes que incluso pueden reensamblar el cromosoma a partir de sus fragmentos.

Se cree que la peculiar disposición del DNA en las células de *D. radiodurans* puede contribuir a su resistencia a la radiación. Las células de esta bacteria siempre forman parejas o tétradas (Figura 15.52*a*). En lugar de tener el DNA disperso por todo el interior de la célula, como sucede con el nucleoide típico, el DNA de *D. radiodurans* está organizado en una estructura toroidal (en espiral o anillos apilados) (Figura 15.52*c*). La reparación se ve facilitada por la fusión de nucleoides situados en compartimentos adyacentes, ya que la estructura toroidal proporciona una plataforma para la recombinación homóloga. Gracias al gran alcance de este proceso de recombinación se puede recuperar un cromosoma reparado, de manera que la célula que lo contenga puede seguir creciendo y dividiéndose.

MINIRREVISIÓN

- Describa una aplicación comercial de *Thermus aquaticus*.
- Describa una característica biológica especial de *Deinococcus radiodurans*.

UNIDAD 3

15.21 Otros filos notables de *Bacteria*

A continuación presentamos las propiedades básicas de otros siete filos de *Bacteria*. Aunque la mayoría de estos tienen pocos representantes que hayan sido cultivados (Figura 15.1*b*), muchos pueden tener una importancia ecológica considerable. De ser así, la investigación futura sobre su cultivo y sus actividades ecológicas nos aportarán las pruebas necesarias. Hasta entonces tenemos un cuadro de estos filos poco detallado, pero que nos presenta sus principales características de un modo general.

Acidobacteria

Las *Acidobacteria* son frecuentes en el ambiente, según revelan las secuencias de los genes del rRNA 16S obtenidas a partir de muestras de campo (Figura 15.1*b*). Las *Acidobacteria* abundan en el suelo, particularmente en suelos ácidos (pH < 6.0), donde a menudo representan la mayor parte de algunas comunidades del suelo. También viven en ambientes de agua dulce, en tapetes microbianos de manantiales termales, en reactores de depuradoras de aguas residuales y en sus fangos activados. Hay pruebas de que existen unos 25 subgrupos principales dentro de las *Acidobacteria*, lo que indica una importante diversidad filogénetica y metabólica entre las especies de este filo. Su abundancia, su amplia distribución y su probable diversidad metabólica sugieren una gran relevancia ecológica, especialmente en el suelo. Lamentablemente, aunque abundan en el ambiente, resultan difíciles de cultivar; por consiguiente, se han aislado pocas especies (Figura 15.1*b*) y solo se han descrito unos pocos géneros.

Las pocas especies que han sido caracterizadas tienen un metabolismo diverso y comprenden tanto quimioorganótrofos como fotoheterótrofos, así como aerobios estrictos y anaerobios estrictos fermentadores. Se han caracterizado detalladamente tres especies de *Acidobacteria*: *Acidobacterium capsulatum*, *Geothrix fermentans* y *Holophaga foetida*; todas ellas son quimioorganótrofas gramnegativas. *Acidobacterium capsulatum* es una bacteria aerobia estricta, acidófila y capsulada, que se ha aislado de aguas ácidas de drenajes de minas, y que utiliza diversos azúcares y ácidos orgánicos. *Geothrix fermentans* es un anaerobio estricto que oxida ácidos orgánicos simples (acetato, propionato, lactato, fumarato) hasta CO_2, utilizando hierro

férrico como aceptor de electrones (reducción desasimiladora del hierro, ↔ Sección 14.14), y que también puede fermentar citrato produciendo acetato más succinato. *Holophaga foetida* es una bacteria anaerobia estricta homoacetógena (↔ Secciones 13.19 y 14.18), que degrada compuestos aromáticos metilados hasta acetato. Algunas *Acidobacteria* degradan polímeros como la celulosa y la quitina, y, al menos un género, *Chloracidobacterium*, es fotótrofo (↔ Sección 14.8).

Nitrospirae, Deferribacteres y *Chrysiogenetes*

El filo *Nitrospirae* toma su nombre del género *Nitrospira*, un quimiolitótrofo que oxida el nitrito a nitrato y que crece autótrofamente (↔ Sección 14.13), como lo hacen las especies de la proteobacteria *Nitrobacter* (↔ Sección 13.10). *Nitrospira* vive en muchos de los ambientes en los que también se encuentra *Nitrobacter*. Sin embargo, los análisis ambientales muestran que *Nitrospira* es mucho más abundante en la naturaleza que *Nitrobacter*. Por tanto, la mayor parte del nitrito oxidado en ambientes nitrogenados, como las plantas depuradoras de aguas residuales y suelos con abundante amoniaco, probablemente se debe a *Nitrospira*. Otro género importante de este filo es *Leptospirillum*, un quimiolitótrofo aerobio y acidófilo que oxida hierro (↔ Sección 14.15), y que es frecuente en el drenaje ácido de minas asociado a la extracción de carbón y de hierro (↔ Sección 21.1).

Los filos *Deferribacteres* y *Chrysiogenetes* (Figura 15.1) contienen quimioorganótrofos anaerobios que muestran una considerable diversidad metabólica respecto a los aceptores de electrones que usan en la respiración anaerobia (Capítulo 13). La mayoría de las especies, aunque no todas, pueden crecer respirando anaeróbicamente nitrato, que pasa a nitrito o a amoniaco. El grupo de los *Deferribacteres* debe su nombre al género *Deferribacter*, que es un reductor termófilo del hierro férrico desasimilador (↔ Secciones 13.21 y 14.14) y que puede reducir también nitrato y óxidos metálicos. *Geovibrio* es un género relacionado, que puede crecer también usando azufre elemental como aceptor de electrones (↔ Sección 14.10). La bacteria *Chrysiogenes arsenatis* y otros organismos relacionados destacan por poder acoplar la oxidación del acetato y otros pocos compuestos orgánicos a la reducción de arseniato, compuesto que utiliza como aceptor terminal de electrones, reduciéndolo a arsenito. Además de arseniato, muchas especies de *Chrysiogenetes* pueden reducir seleniato, nitrito, nitrato, tiosulfato y azufre elemental mediante diferentes tipos de respiración anaerobia (↔ Sección 13.21)

Synergistetes, Fusobacteria, Fibrobacteres

Los filos *Synergistetes, Fusobacteria*, y *Fibrobacteres* comprenden relativamente pocas especies caracterizadas (Figura 15.1*b*), pero las que han sido cultivadas tienen metabolismo fermentador. Las especies de estos grupos viven a menudo en el tubo digestivo de animales y algunas se han asociado con determinadas enfermedades humanas.

Los *Synergistetes* son bacilos gramnegativos no esporulados, que se encuentran en asociación con animales y en sistemas marinos y ambientes terrestres anóxicos. Las especies que se han descrito son normalmente anaerobias estrictas que degradan proteínas y pueden fermentar aminoácidos. En los animales, se encuentran con frecuencia en el tubo digestivo; por ejemplo *Synergistes jonesii* habita en el rumen. En los humanos, varias especies de *Synergistetes* se han relacionado con abcesos y heridas en tejidos blandos, con la placa dental y con enfermedades periodontales.

Las *Fusobacteria* son bacilos gramnegativos no esporulados, que se encuentran en sedimentos y en el tracto gastrointestinal y la cavidad oral de animales. Estas bacterias son anaerobias estrictas y fermentan carbohidratos, péptidos y aminoácidos. Las especies de *Fusobacterium* son componentes usuales del microbioma humano como colonizadores de membranas mucosas. Se pueden encontrar diferentes especies en la cavidad oral, en la zona gástrica e intestinal, y en la vagina. *Fusobacterium nucleatum* se encuentra a menudo en los huecos de las encías. Algunas especies pueden ser patógenas de los humanos y *F. nucleatum* aparece con frecuencia en pacientes que padecen enfermedad periodontal.

Aunque los genes del rRNA 16S de los *Fibrobacteres* se detectan en muchos tipos de ambiente, las pocas especies caracterizadas proceden del rumen o del tubo digestivo de animales. El género *Fibrobacter* comprende anaerobios estrictos que son fermentadores y gramnegativos. Sin embargo, a diferencia de la mayoría de las especies de los filos *Fusobacteria* y *Synergistetes*, las especies de *Fibrobacter* no pueden fermentar proteínas o aminoácidos y se especializan, en cambio, en la fermentación de carbohidratos, como la celulosa. En el rumen, la celulosa es la principal fuente de energía, y en tal ambiente se encuentran no solo bacterias celulolíticas como *Fibrobacter*, sino muchas anaerobias no celulolíticas que pueden usar la glucosa liberada de la degradación de la celulosa.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cual es el principal hábitat de muchas especies de *Acidobacteria*?
- ¿En qué se diferencian *Nitrospira* y *Deferribacter* respecto al tipo de vida y al metabolismo?
- ¿Qué características metabólicas comparten la mayoría de las *Synergistetes*, *Fusobacteria*, y *Fibrobacteres*, y qué enfermedades humanas se han relacionado con la presencia de *Synergistetes* y *Fusobacteria*?

IDEAS PRINCIPALES

15.1 • Las *Alphaproteobacteria* constituyen la segunda clase más extensa de las *Proteobacteria* y tienen un metabolismo variado. Los géneros principales son: *Rhizobium*, *Rickettsia*, *Rhodobacter*, y *Caulobacter.*

15.2 • Las *Betaproteobacteria* forman la tercera clase más extensa de las *Proteobacteria* y tienen un metabolismo variado. Los géneros principales son: *Burkholderia*, *Rhodocyclus*, *Neisseria*, y *Nitrosomonas.*

15.3 • Las *Gammaproteobacteria* son la clase más extensa y diversa de las *Proteobacteria* y contiene muchos patógenos humanos. Las *Enterobacteriales*, o bacterias entéricas, son las más estudiadas de todas las bacterias. Los géneros principales son: *Escherichia* y *Salmonella.*

15.4 • Las *Pseudomonadales* y *Vibrionales* son *Gammaproteobacteria* muy comunes. Los géneros principales son: *Pseudomonas* y *Vibrio.*

15.5 • Las *Deltaproteobacteria* y las *Epsilonproteobacteria* son las clases más reducidas y menos diversas metabólicamente de entre las *Proteobacteria*. Los géneros principales de *Deltaproteobacteria* son: *Myxococcus*, *Desulfovibrio*, y *Geobacter*. Los géneros principales de *Epsilonproteobacteria* son *Campylobacter* y *Helicobacter*.

15.6 • Las bacterias del ácido láctico, como *Lactobacillus* y *Streptococcus*, producen lactato como principal producto final de la fermentación, y pueden tener importancia en la producción y conservación de alimentos. Los *Firmicutes* son uno de los dos filos principales de las bacterias grampositivas.

15.7 • Muchos géneros de *Firmicutes* en los órdenes *Bacillales* y *Clostridiales*, como *Staphylococcus*, *Listeria*, y *Sarcina*, no forman endósporas.

15.8 • La producción de endósporas, que solo se da en el filo *Firmicutes*, es una característica distintiva de dos géneros importantes, *Bacillus* y *Clostridium.*

15.9 • El filo *Tenericutes* comprende los micoplasmas, organismos que carecen de pared celular y tienen genomas muy pequeños. Muchas especies son patógenas para los humanos, para otros animales y para las plantas. El género principal es *Mycoplasma.*

15.10 • El segundo filo más importante de bacterias grampositivas es de las *Actinobacteria*. *Corynebacterium* y *Arthrobacter* son bacterias grampositivas comunes en el suelo. *Propionibacterium* fermenta lactato a propionato y es el principal agente que causa el aroma y la textura característicos del queso suizo.

15.11 • Las especies de *Actinobacteria* que pertenecen al género *Mycobacterium* son en su mayoría saprófitas inocuas del suelo, pero *Mycobacterium tuberculosis* causa la tuberculosis.

15.12 • Los estreptomicetos son un gran grupo de bacterias grampositivas filamentosas que forman esporas en el extremo de hifas aéreas y pertenecen al filo *Actinobacteria*. Muchos antibióticos de uso clínico, como la tetraciclina y la neomicina, se obtienen de especies de *Streptomyces.*

15.13 • El filo *Bacteroidetes* comprende bacilos gramnegativos que no forman esporas, y muchos se desplazan por deslizamiento. La mayoría de las especies del orden *Bacteroidales* son anaerobios estrictos que fermentan carbohidratos en ambientes anóxicos. El género *Bacteroides* comprende especies que son frecuentes en el tubo digestivo de animales.

15.14 • Las *Cytophagales* las *Flavobacteriales* son órdenes de los *Bacteroidetes* que comprenden bacterias capaces de degradar polisacáridos complejos como la celulosa. Estas bacterias son importantes en la descomposición de la materia orgánica.

15.15 • El filo *Chlamydiae* comprende pequeños parásitos intracelulares estrictos que invaden células eucarióticas. Muchas especies causan enfermedades diversas en humanos y en otros animales.

15.16 • Los *Planctomycetes* son un grupo de bacterias pedunculadas y formadoras de yemas que forman compartimentos intracelulares de varios tipos, en algunos casos indistinguibles del núcleo de las células eucarióticas.

15.17 • Las especies de *Verrucomicrobia* se distinguen por las múltiples células con prosteca y por su particular filogenia.

15.18 • Los linajes de *Thermotogae* y *Thermodesulfobacteria* forman dos filos que se separan muy pronto en la evolución dentro del dominio *Bacteria*. Estas bacterias hipertermófilas demuestran que se ha producido una extensa transferencia horizontal de genes desde *Archaea* a *Bacteria* (*Thermotoga*) y que los lípidos con enlace éter no son exclusivos de *Archaea* (*Thermodesulfobacterium*).

15.19 • El filo de *Aquifex* comprende un grupo de bacterias hipertermófilas que oxidan H_2 y representan la rama más antigua del árbol del dominio *Bacteria*.

15.20 • *Deinococcus* y *Thermus* son los principales géneros de un filo diferente de *Bacteria*. *Thermus* es el productor de la enzima fundamental en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) automatizada, mientras que *Deinococcus* es la bacteria conocida más resistente a la radiación, superando incluso a las esporas a este aspecto.

15.21 • Las *Acidobacteria* se encuentran en muchos ambientes, especialmente en el suelo, y muestran diversos tipos fisiológicos. El género *Nitrospira* comprende bacterias oxidadoras de nitritos, mientras que las de *Deferribacteres* y *Chrysiogenetes* tienen varias formas de respiración anaerobia especializada. Las especies de *Synergistetes*, *Fusobacteria*, y *Fibrobacteres* son anaerobios fermentadores que habitan en el tubo digestivo y otros nichos anóxicos de animales.

MasteringMicrobiology®

Revise lo que sabe y descubra lo que ha aprendido con MasteringMicrobiology. Acceda a material de estudio, revisiones de los capítulos, animaciones y tutoriales de microbiología práctica en el Área de Estudio y asegúrese de que ha asimilado todo el contenido de este capítulo.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Ácido-alcohol resistencia: propiedad de las especies de *Mycobacterium* por la cual las células teñidas con el colorante básico fucsina resisten la decoloración por ácido-alcohol.

Actinomicetos: término para referirse a las bacterias aerobias filamentosas del filo *Actinobacteria*.

Bacterias corineformes: bacilos grampositivos, aerobios e inmóviles, que presentan la característica de formar agrupaciones irregulares de células con forma de palo de golf o en disposiciones en V, típicas de varios géneros de *Actinobacteria* unicelulares.

Bacterias del ácido láctico: bacterias fermentadoras productoras de ácido láctico, incluidas en las *Firmicutes*, y que son importantes en la producción y conservación de muchos alimentos.

Bacterias del ácido propiónico: bacterias fermentadoras grampositivas que producen propionato como producto final de la fermentación y son importantes en la fabricación del queso.

Bacterias entéricas: un gran grupo de bacterias gramnegativas con forma de bacilo, caracterizadas por su metabolismo aerobio facultativo y que se encuentran normalmente en el intestino de animales.

Bacterias grampositivas con alto contenido de GC: término que hace referencia a las bacterias del grupo de las *Actinobacteria.*

Bacterias grampositivas con bajo contenido de GC: término que hace referencia a las bacterias del grupo de las *Firmicutes.*

Heterofermentadoras: con relación a las bacterias del ácido láctico, que pueden originar más de un producto de la fermentación.

Homofermentadoras: con relación a las bacterias del ácido láctico, que solamente producen ácido láctico como producto de la fermentación.

Oligotróficos: término que se refiere a organismos que crecen mejor en condiciones de baja concentración de nutrientes.

***Proteobacteria*:** el grupo más extenso de bacterias y con el metabolismo más variado.

Pseudomonas: término empleado para referirse a cualquier bacilo aerobio, gramnegativo y con flagelación polar capaz de usar una gran variedad de fuentes de carbono.

PREGUNTAS DE REPASO

1. ¿Qué cuatro filos de bacterias contienen la mayor parte de las especies que se han descrito? (Sección 15.1)
2. ¿Qué filo contiene la mayoría de las bacterias gramnegativas conocidas? ¿A qué subgrupo de este filo pertenece *Escherichia coli*? ¿A cuál pertenece *Pseudomonas aeruginosa*? (Secciones 15.1-15.5)
3. ¿Qué propiedades morfológicas y fisiológicas distinguen a *Burkholderia cepacia* de *Pseudomonas aeruginosa*? ¿En qué ambientes comunes podrían encontrarse estos organismos? (Secciones 15.2, 15.4)
4. ¿Qué es la prueba de la catalasa? ¿Qué resultado cabría esperar en esta prueba de un aerobio estricto? ¿Y de un anaerobio estricto? (Sección 15.3)
5. ¿Qué propiedades morfológicas y fisiológicas distinguen a *Escherichia* de *Vibrio*? (Secciones 15.3, 15.4)
6. ¿En qué filos y géneros se pueden encontrar bacterias formadoras de endósporas? (Sección 15.8)
7. Señale qué propiedades fundamentales pueden considerarse para diferenciar los siguientes géneros de bacterias grampositivas: *Bacillus*, *Mycoplasma*, *Staphylococcus*, *Propionibacterium*, *Streptomyces* y *Mycobacterium* (Secciones 15.6-15.12)
8. ¿En qué filo esperaría encontrar una bacteria deslizante, anaerobia estricta, gramnegativa, no esporulada y con forma de bacilo? Cite un ambiente donde pueda encontrarse este tipo de bacteria (Secciones 15.13-15.14)
9. ¿Qué características comparten las clamidias y las rickettsias? ¿En qué se diferencian? ¿Cuál es la función de cada uno de los dos tipos de células formadas por *Chlamydia*? (Secciones 15.1, 15.15)
10. ¿Qué tienen en común las especies de *Planctomycetes* con el dominio *Archaea*? ¿Y con *Eukarya*? (Sección 15.16)
11. Describa una propiedad esencial que permitiría distinguir cada una de las siguientes bacterias: *Streptococcus*, *Planctomyces*, *Verrucomicrobium* y *Gemmata*. (Secciones 15.6, 15.16, 15.17)
12. Describa una propiedad fisiológica esencial que diferenciaría a cada una de las siguientes bacterias: *Lactobacillus*, *Nitrospira* y *Geothrix*. (Secciones 15.6, 15.21)
13. ¿Qué característica fisiológica importante comparten las especies de *Thermotoga*, *Aquifex* y *Thermocrinis*? (Secciones 15.18, 15.19)
14. ¿Por qué *Deinococcus* podría crecer bien en suelos contaminados con residuos radioactivos? (Sección 15.20)
15. Cite cuatro tipos metabólicos mediante los cuales se ha demostrado que diferentes especies de *Acidobacteria* pueden generar energía. (Sección 15.21)
16. Señale tres géneros diferentes de bacterias anaerobias capaces de degradar la celulosa (Secciones 15.8, 15.12, 15.14, 15.21)

EJERCICIOS PRÁCTICOS

1. Las bacterias entéricas, las del ácido láctico y las del ácido propiónico tienen rasgos metabólicos distintivos que pueden usarse para caracterizar e identificar estos organismos. Describa las propiedades metabólicas de estos organismos, cite un género de cada grupo e indique de qué modo se pueden diferenciar.
2. Los microorganismos pueden tener relaciones diferentes con el oxígeno. Describa los términos empleados para definir la respuesta de una célula frente al oxígeno y mencione un ejemplo de este capítulo de algún organismo que pueda ser descrito en cada caso por dichos términos.

CAPÍTULO

16 · Diversidad en *Archaea*

microbiología **actual**

Las *arqueas* y el calentamiento global

Las emisiones de CO_2 de origen humano han afectado notablemente el clima global. Sin embargo, los organismos de los dominios *Archaea* y *Bacteria* también han afectado a nuestro planeta y a su clima. Un ejemplo llega del Ártico, donde el suelo está permanentemente congelado formando el permafrost. El permafrost puede alcanzar una profundidad de 100 metros y representa el 25 % de la superficie terrestre de nuestro planeta. En su interior se acumula una ingente cantidad de carbono orgánico, que en su mayor parte ha estado encerrado en el hielo durante más de 20.000 años. Pero este hielo está comenzando a fundirse y el resultado podría tener consecuencias globales.

El Panel Intergubernamental sobre Cambio Climático predice que la temperatura en el Ártico habrá aumentado 7 °C en el año 2100. Cuando el permafrost se descongela, se convierte en humedales, que son los principales hábitats para las *Archaea* que producen metano (metanógenos). El metano es un gas con efecto invernadero con un potencial de calentamiento 25 veces mayor que el CO_2. Por tanto, si el calentamiento del Ártico continúa a la velocidad actual, gran parte del carbono que contiene el permafrost podría convertirse en metano y acelerar de manera significativa el cambio climático global.

En Stordalen Mire, al norte de Suecia, los microbiólogos están estudiando los metagónenos del permafrost descongelado[1]. Se usan cámaras para atrapar y medir el metano producido en los humedales que han sustituido al permafrost descongelado (foto). Se ha encontrado que el origen de la mayor parte del metano se debe a un nuevo metanógeno, *Methanoflorens stordalenmirensis*, que crece rápidamente en el permafrost descongelado. Este microorganismo representa un nuevo orden de metanógenos previamente denominado «Rice Cluster II». Son metanógenos que se encuentran en humedales por todo el mundo, pero *M. stordalenmirensis* es la primera especie descrita de esta nueva familia taxonómica, las *Methanoflorentaceae*.

Además de la influencia de la actividad humana sobre el clima, el control del cambio climático en el futuro puede depender en gran medida de lo que se conozca acerca de la ecología de la metanogénesis llevada a cabo por *M. stordalenmirensis.*

[1]Mondav, R., *et al.* 2012. Microbial dynamics in a thawing world: Linking microbial communities to increased methane flux. *Proc. 14th Int. Symp. Microbial Ecology,* Copenhagen, Denmark.



I *Euryarchaeota* 554

II *Thaumarchaeota*, *Nanoarchaeota* y *Korarchaeota* 565

III *Crenarchaeota* 569

IV Evolución y vida a altas temperaturas 575

Consideramos ahora los organismos del dominio *Archaea*. La **Figura 16.1** muestra un árbol filogenético de las *Archaea* basado en la comparación de secuencias de proteínas ribosómicas, que revela varios filos, como ***Euryarchaeota, Crenarchaeota, Thaumarchaeota, Korarchaeota*** y ***Nanoarchaeota.*** El origen exacto de estos grupos es un tema polémico, y los árboles filogenéticos construídos a partir de secuencias de los genes del RNA 16S entran a menudo en conflicto con los que se obtienen al usar otros loci genómicos (compárense, por ejemplo, las Figuras 12.13 y la 16.1)

La historia evolutiva de las *Archaea* es antigua y compleja, presentando transferencia horizontal de genes dentro de los filos y entre los filos. Los rasgos comunes que comparten todas las *Archaea* son lípidos con enlace éter, ausencia de peptidoglicano en la pared celular (Capítulo 2), y la presencia de RNA polimerasas de estructura compleja, que se parecen a las de los *Eukarya* (↔ Figura 4.21). Pero, además, las *Archaea* muestran una enorme diversidad fenotípica.

Entre los miembros de *Archaea* hay especies que realizan metabolismo quimiorganótrofo o quimiolitótrofo, y que pueden ser aerobias o anaerobias (véase un resumen más adelante, Tabla 16.6). La quimiorganotrofia está muy distribuida entre las *Archaea*, y las fermentaciones y la respiración anaerobia son frecuentes, La quimiolitotrofia está también bien establecida, y el H_2 es un donador de electrones común (Sección 16.14); además en especies de *Thaumarchaeota* se da la oxidación de amoniaco. La respiración anaerobia, especialmente en las formas que emplean azufre elemental (S^0) como aceptor de electrones, es predominante en las *Archaea*, sobre todo en *Crenarchaeota*. En cambio, la respiración aerobia se da sobre todo en *Thaumarchaeota* y es frecuente en unos cuantos grupos de *Euryarchaeota*, pero aparece solo en unas cuantas especies de *Crenarchaeota*.

Muchas características metabólicas de las arqueas se encuentran también en las bacterias, pero otros son exclusivos de las arqueas. Los **metanógenos**, por ejemplo, son *Euryarchaeota* que obtienen energía de la producción de metano (↔ Sección 13.20). La *metanogénesis* es un proceso importante a escala global que es exclusivo de las arqueas (↔ Secciones 13.20, 20.1, y 20.2). Las *Archaea* también destacan por comprender muchas especies **extremófilas**, entre las que hay **hipertermófilas** (organismos cuya temperatura óptima es superior a 80 °C), *halófilas* y *acidófilas* (Capítulo 5). Sin embargo, muchas especies de *Euryarchaeota* y la mayoría de *Thaumarchaeota* no son extremófilas y se encuentran en suelos, en sedimentos, en el mar, en lagos, en asociación con animales e incluso en el intestino humano.

Con esta breve introducción y teniendo en cuenta la filogenia de *Archaea* (Figura 16.1), estudiaremos la diversidad de organismos en este fascinante dominio de la vida.

I • *Euryarchaeota*

Las *Euryarchaeota* forman un gran grupo diversificado fisiológicamente dentro del dominio *Archaea*. Este filo comprende metanógenos así como muchos géneros de organismos halófilos extremos, dos grupos destacados como ejemplos de contrastes fisiológicos. Los metanógenos son anaerobios estrictos, mientras que los halófilos extremos suelen ser aerobios estrictos. Otros grupos de euriarqueotas están representados por los hipertermófilos *Thermococcus* y *Pyrococcus*, el metanógeno

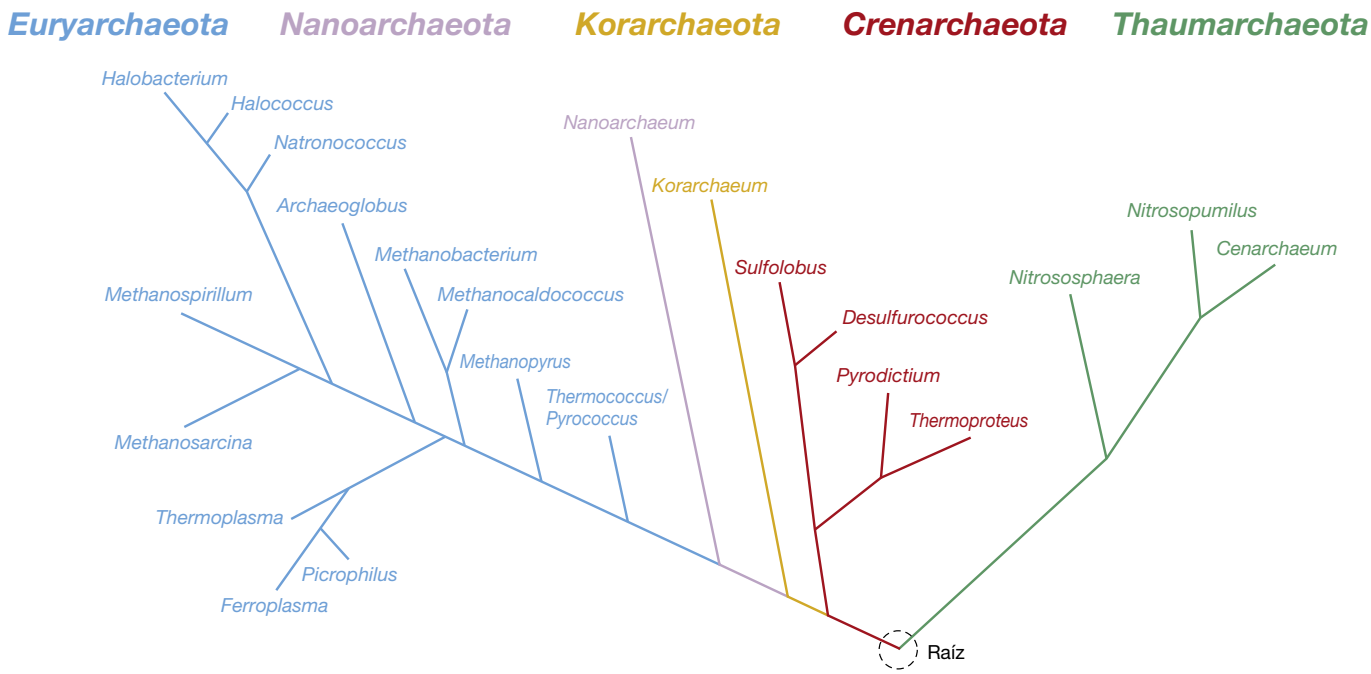


Figura 16.1 Árbol filogenético detallado del dominio *Archaea*, basado en la comparación de proteínas ribosómicas de genomas secuenciados. Cada uno de los cinco filos de arqueas se indica en un color diferente. Las *Korarchaeota* y las *Nanoarchaeota* contienen en cada caso una sola especie conocida.

hipertermófilo *Methanopyrus*, y por *Thermoplasma*, un organismo que carece de pared celular y que en este sentido es semejante fenotípicamente a los micoplasmas (↻ Sección 15.9). Comenzaremos el análisis de las *Euryarchaeota* estudiando las *Archaea* halófilas.

16.1 *Archaea* halófilas extremas

Géneros principales: *Halobacterium, Haloferax, Natronobacterium*

Las arqueas halófilas extremas, a veces denominadas haloarqueas, son un grupo variado de procariotas que habitan en ambientes naturales de elevada salinidad, como los estanques de evaporación de las salinas y lagos salados, o en ambientes salinos artificiales, como la superficie de salazones de carne o pescado. Dichos hábitats se denominan *hipersalinos* (**Figura 16.2**). El término **halófilo extremo** se emplea para indicar que estos organismos, además de vivir en ambientes de elevada salinidad, necesitan concentraciones de sal muy altas, en algunos casos rondando la saturación (↻ Figura 5.26).

Se considera a un organismo como halófilo extremo si necesita al menos 1,5 M (alrededor del 9 %) de cloruro sódico (NaCl) para crecer. La mayoría de las especies de halófilos extremos necesitan entre 2 M y 4 M de NaCl (12-23 %) para un crecimiento óptimo. Prácticamente todos los halófilos extremos pueden crecer hasta 5,5 M de NaCl (32 %, el límite de saturación para el NaCl), aunque algunas especies crecen muy lentamente a esta salinidad. Algunos organismos relacionados filogenéticamente con las arqueas halófilas extremas, por ejemplo, especies de *Haloferax* y *Natronobacterium*, pueden crecer a salinidades mucho menores, similares a la del agua marina (aproximadamente un 2,5 % NaCl); sin embargo, estos organismos están relacionados filogenéticamente con otros halófilos extremos.


T. D. Brock

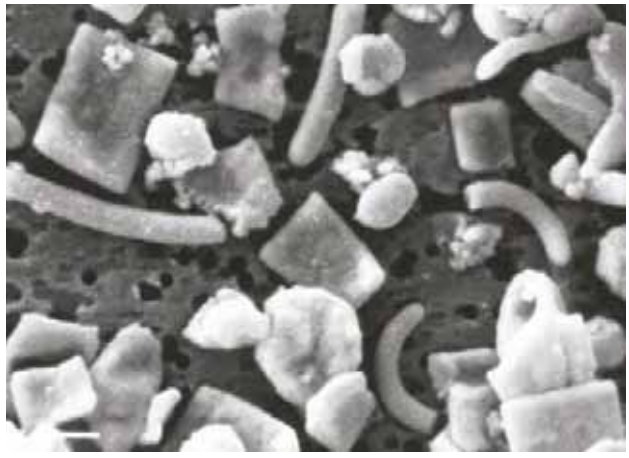
(a)


NASA

(b)


Michael T. Madigan

(c)


Francisco Rodriguez-Valera

(d)

Figura 16.2 **Hábitats hipersalinos de arqueas halófilas.** *(a)* El Gran Lago Salado de Utah, un lago hipersalino en el que la proporción de iones es parecida a la del agua de mar, pero en el que las concentraciones absolutas de iones son varias veces más altas. El color verde se debe fundamentalmente a células de cianobacterias y de algas verdes. *(b)* Vista aérea de la bahía de San Francisco, en California, donde pueden verse balsas de evaporación de agua marina de las que se obtiene la sal. El color rojizo se debe fundamentalmente a las bacteriorruberinas y la bacteriorrodopsina de las células de haloarqueas. *(c)* Lago Hamara, Wadi El Natroun, Egipto. El color se debe a una floración de haloalcalófilos pigmentados creciendo en este lago alcalino a pH 10. Obsérvense los depósitos de natrón ($NaHCO_3 \cdot Na_2CO_3 \cdot 2H_2O$) en los bordes del lago. *(d)* Microfotografía con el microscopio electrónico de barrido que muestra bacterias halófilas, incluyendo algunas bacterias de forma cuadrada, de una salina en España.

Ambientes hipersalinos: química y productividad

Los ambientes hipersalinos son habituales por todo el mundo, pero los ambientes extremadamente hipersalinos son poco frecuentes. La mayoría se localiza en regiones del planeta secas y cálidas. Los lagos salados varían considerablemente en su composición iónica. Los iones predominantes en un lago hipersalino dependen de la topografía del terreno circundante, la geología y las condiciones climáticas generales.

Por ejemplo, el Gran Lago Salado de Utah (Estados Unidos) (Figura 16.2*a*), es básicamente agua marina concentrada; las proporciones relativas de los distintos iones (como sodio, Na^+, cloruro, Cl^- y sulfato, SO_4^{2-}) son las mismas que en el agua de mar, aunque la concentración total de iones sea mucho más alta. Además, el pH de este lago hipersalino es ligeramente alcalino. Los lagos alcalinos (*soda lakes*, en inglés), en cambio, son ambientes hipersalinos de pH muy alto. La química del agua de los lagos alcalinos recuerda la de lagos hipersalinos, como el Gran Lago Salado, pero debido a los altos niveles de carbonatos en los estratos circundantes, el pH de los lagos alcalinos es bastante alto. En este tipo de ambientes es fácil que el agua tenga un pH de 10 a 12 (Figura 16.2*c*). Además, en estos lagos el Ca^{2+} y el Mg^{2+} están prácticamente ausentes, porque precipitan a pH alto y a elevadas concentraciones de carbonatos.

La química tan variada de los ambientes hipersalinos ha favorecido la selección de una gran diversidad de microorganismos halófilos. Algunos se circunscriben a un solo ambiente, mientras que otros se extienden por diversos hábitats. Además, a pesar de sus condiciones extremas, los lagos salinos pueden ser ecosistemas muy productivos (en el sentido de un alto nivel de fijación de CO_2). Las arqueas no son los únicos microorganismos presentes en ese ambiente. Un organismo eucariota, el alga *Dunaliella* (↪ Figura 17.33*a*), es el principal, si no el único, fotótrofo oxigénico en la mayoría de los lagos salinos. En los lagos que son muy alcalinos, donde no existe *Dunaliella*, predominan las bacterias rojas fotótrofas anoxigénicas de los géneros *Ectothiorhodospira* y *Halorhodospira* (↪ Sección 14.5). La materia orgánica procedente de la producción primaria de fotótrofos oxigénicos o anoxigénicos prepara el terreno para el crecimiento de haloarqueas, que son quimioorganótrofas. Además, unas cuantas bacterias halófilas extremas y quimioorganótrofas, como *Halanaerobium, Halobacteroides* y *Salinibacter*, prosperan en estos ambientes.

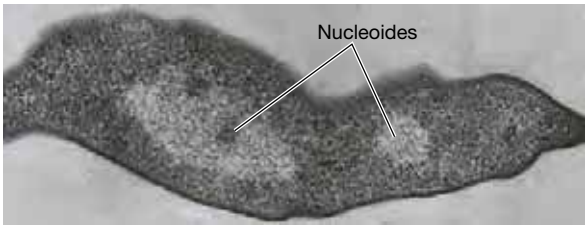
Las salinas marinas también son el hábitat de halófilos extremos. Dichas salinas están formadas por balsas pequeñas y cerradas, llenas de agua de mar, que se dejan evaporar al sol para obtener la sal marina (Figura 16.2*b*, *d*). Conforme las salinas se van acercando al límite mínimo de salinidad para las haloarqueas, su agua se vuelve de un color rojizo debido al crecimiento masivo —denominado *floración* (*bloom*, en inglés)— de arqueas halófilas. (El color rojo que se ve en las Figuras 16.2*b* y *c* se debe a los carotenoides y otros pigmentos que se tratarán más adelante.) En las salinas se encuentran a menudo arqueas de morfología especial, como algunas especies de forma cuadrada, o en forma de copa (Figura 16.2*d*). Los halófilos extremos también están presentes en alimentos muy salados, como ciertos tipos de salchichas, pescado marino o cerdo salado.

Taxonomía y fisiología de *Archaea* halófilas extremas

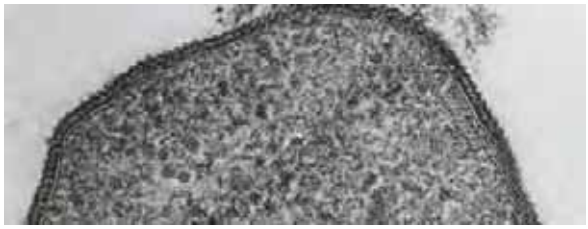
La **Tabla 16.1** enumera varios géneros de arqueas halófilas extremas reconocidos hasta el momento. Además del término haloarqueas, estas arqueas son a veces denominadas

Tabla 16.1 Algunos géneros de *Archaea* halófilos extremos

Género	*Morfología*	*Hábitat*
Halófilas extremas		
Halobacterium	Bacilo	Salazones; pieles; lagos hipersalinos; salinas
Halorubrum	Bacilo	Mar muerto; salinas
Halobaculum	Bacilo	Mar muerto
Haloferax	Disco aplanado	Mar muerto; salinas
Haloarcula	Disco irregular	Piscinas saladas, Valle de la Muerte, California, EEUU; salinas marinas
Halococcus	Coco	Salazones; salinas
Halogeometricum	Coco	Salinas solares
Haloterrigena	Bacilo ovalado	Suelo salino
Haloquadratum	Cuadrados planos	Salinas
Haloalcalófilos		
Natronobacterium	Bacilo	Lagos alcalinos altamente salados
Natrinema	Bacilo	Salazones; pieles
Natrialba	Bacilo	Lagos alcalinos; arena de playa
Natronomonas	Bacilo	Lagos alcalinos
Natronococcus	Coco	Lagos alcalinos
Natronorubrum	Células aplastadas	Lagos alcalinos



(a)



(b)

Figura 16.3 Microfotografía con el microscopio electrónico de secciones finas del halófilo extremo *Halobacterium salinarum*. Cada célula mide aproximadamente 0,8 µm de diámetro. *(a)* Sección longitudinal de una célula en división que muestra los nucleoides. *(b)* Microfotografía con el microscopio electrónico de gran aumento que muestra la estructura de subunidades de glicoproteínas de la pared celular.

«halobacterias», porque el género *Halobacterium* (Figura 16.3) fue el primero descrito en este grupo y todavía sigue siendo su representante mejor conocido. *Natronobacterium*, *Natronomonas* y otros organismos relacionados se diferencian de otros halófilos extremos en que además de halófilos, también son alcalófilos extremos. Como corresponde a su hábitat en lagos alcalinos (Tabla 16.1 y Figura 16.2*c*), el crecimiento de las natronobacterias es óptimo a concentraciones muy bajas de Mg^{2+} y a pH alto (9-11).

Las haloarqueas son gramnegativas, se reproducen por fisión binaria y no forman esporas u otras formas de resistencia. Las células de los diversos géneros que han podido cultivarse tienen morfología de bacilo, coco, o en forma de copa, e incluso se conocen células de forma cuadrada (Figura 16.2*d*). Las células de *Haloquadratum* son cuadradas y de tan solo 0,1 µm de espesor y presentan vesículas gaseosas que les permiten flotar en el hábitat hipersalino, probablemente para estar en contacto con el aire, porque, como la mayoría de los halófilos extremos, son aerobias estrictas.

Muchas otras arqueas halófilas extremas también producen vesículas de gas. La mayoría de las especies carecen de flagelos pero hay unas pocas cepas que se mueven débilmente mediante unos flagelos que rotan para impulsar la célula hacia adelante (↔ Sección 2.17). El genoma de *Halobacterium* y el de *Halococcus* presentan la particularidad de tener grandes plásmidos que contienen hasta el 30 % del DNA celular total y la relación GC de estos plásmidos (aproximadamente 60 %) difiere significativamente de la del DNA cromosómico (66-68 % GC). Los plásmidos de los halófilos extremos se encuentran entre los de mayor tamaño que se conocen.

La mayor parte de las especies de arqueas halófilas extremas son aerobias estrictas. La mayor parte de las haloarqueas utilizan aminoácidos o ácidos orgánicos como donadores de electrones y necesitan una serie de factores de crecimiento, por ejemplo, vitaminas, para un crecimiento óptimo. Unas cuantas haloarqueas oxidan carbohidratos aeróbicamente, aunque esto no es muy frecuente, y son incapaces de fermentar azúcares. *Halobacterium* tiene cadenas de transporte de electrones con citocromos *a*, *b* y *c*, y durante el crecimiento aerobio la energía se capta a través de la fuerza protonmotriz generada por el transporte de electrones. Se ha visto que algunas haloarqueas crecen anaeróbicamente, ya que en ciertas especies se ha demostrado que crecen mediante respiración anaerobia (↔ Sección 13.16) acoplada a la reducción de nitrato o fumarato.

Equilibrio hídrico en halófilos extremos

Las arqueas halófilas extremas necesitan una gran cantidad de NaCl para crecer. Detallados estudios sobre salinidad de *Halobacterium* han demostrado que su necesidad de Na^+ no puede ser satisfecha por ningún otro ion, ni siquiera por el ion K^+, parecido químicamente. No obstante, las células de *Halobacterium* necesitan para crecer *tanto* Na^+ como K^+, porque cada uno de ellos cumple un importante cometido en el mantenimiento del equilibrio osmótico.

Como vimos en la Sección 5.15, las células microbianas deben soportar fuerzas osmóticas inherentes a su estilo de vida. Para conseguirlo en un ambiente con tan elevada concentración de soluto como el de los hábitats con tanta sal de *Halobacterium*, los organismos deben acumular o sintetizar solutos intracelularmente. Este tipo de solutos se denominan **solutos compatibles**. Estos compuestos contrarrestan la tendencia de la célula a deshidratarse en condiciones de alta presión osmótica, al permitir a la célula alcanzar un equilibrio hídrico positivo respecto a su entorno. Sin embargo, las células de *Halobacterium* no sintetizan ni acumulan compuestos orgánicos, sino que bombean grandes cantidades de K^+ del ambiente hacia el interior del citoplasma. Esto asegura que la concentración de K^+ en el *interior* de la célula sea incluso mayor que la concentración de Na^+ en el *exterior* (Tabla 16.2). Esta distribución de iones mantiene un balance hídrico positivo.

La pared celular de *Halobacterium* (Figura 16.3*b*) está formada por glicoproteínas estabilizada por Na^+. Los iones de sodio se unen a la superficie externa de la pared de *Halobacterium* y son absolutamente esenciales para mantener la integridad celular. Cuando no hay suficiente Na^+, la pared celular se disgrega y la célula se lisa. Esto es consecuencia del contenido excepcionalmente alto de aspartato y glutamato, que son aminoácidos cargados negativamente, en la glicoproteína de la pared celular de *Halobacterium.* Las cargas negativas de los

Tabla 16.2 Concentración de iones en células de *Halobacterium salinarum*[a]

Ion	*Concentración en el medio (M)*	*Concentración en la célula (M)*
Na^+	4,0	1,4
K^+	0,032	4,6
Mg^2	0,13	0,12
Cl^-	4,0	3,6

[a]Datos de *Biochim. Biophys. Acta 65:* 506-508 (1962).

UNIDAD 3

grupos carboxilo de estos aminoácidos se unen a Na^+. Cuando el Na^+ se diluye, las zonas de las proteínas cargadas negativamente se repelen entre sí, provocando a la lisis celular.

Componentes citoplasmáticos de los halófilos

Como las proteínas de la pared celular, las proteínas citoplasmáticas de *Halobacterium* son muy ácidas, pero es el K^+ y no el Na^+, el ion que necesita para su actividad. Esto, resulta lógico porque el K^+ es el catión predominante en el citoplasma de las células de esta arquea (Tabla 16.2). Las proteínas citoplasmáticas de *Halobacterium*, además de tener una composición más rica en aminoácidos cargados negativamente que las proteínas de organismos no halófilos, también contienen habitualmente niveles más bajos de aminoácidos hidrofóbicos y de lisina, un aminoácido cargado positivamente (básico). Esto también es previsible, porque en un citoplasma con alto contenido de iones, las proteínas polares suelen mantenerse en solución, mientras que las proteínas no polares suelen agregarse y quizás pierden actividad. Los ribosomas de *Halobacterium* también necesitan altos niveles de K^+ para su estabilidad, mientras que los ribosomas de organismos no halófilos no lo necesitan.

Las arqueas halófilas extremas están por tanto bien adaptadas, tanto interna como externamente, a la vida en ambientes de alto contenido en iones. Los componentes celulares expuestos al medio externo necesitan una alta concentración de Na^+ para su estabilidad, mientras que los componentes internos necesitan una alta concentración de K^+. En ningún grupo de procariotas se presenta esta necesidad particular de altas concentraciones de cationes específicos, con la excepción de unos pocos miembros halófilos extremos de *Bacteria*, que también utilizan KCl como soluto compatible.

Bacteriorrodopsina y la síntesis de ATP mediada por la luz en las halobacterias

Ciertas especies de haloarqueas pueden llevar a cabo la síntesis de ATP mediada por la luz. Esto sucede en ausencia de pigmentos clorofílicos y por tanto no se considera fotosíntesis. No obstante, intervienen otros pigmentos sensibles a la luz, como carotenoides rojos y naranjas —principalmente pigmentos C_{50} denominados *bacteriorruberinas*— y pigmentos inducibles, que intervienen en la conservación de la energía, como analizaremos ahora.

En condiciones de baja aireación, *Halobacterium salinarum* y algunas otras haloarqueas sintetizan una proteína denominada **bacteriorrodopsina**, que insertan en su membrana citoplasmática. La bacteriorrodopsina se denomina así por su parecido estructural y funcional con la rodopsina, el pigmento visual del ojo. La bacteriorrodopsina tiene conjugada una molécula de retinal, un carotenoide que puede absorber energía luminosa y bombear un protón a través de la membrana citoplasmática. El retinal confiere a la bacteriorrodopsina un tono rojizo. Por esto, cuando las células de *Halobacterium* pasan de crecer en condiciones de mucha aireación a otras en las que el oxígeno resulta limitante (lo que dispara la síntesis de bacteriorrodopsina), cambian su color gradualmente de rojo anaranjado a rojo violáceo, conforme sintetizan bacteriorrodopsina y la integran en sus membranas citoplasmáticas.

La bacteriorrodopsina absorbe luz verde, con un máximo de absorción de unos 570 nm. Después de absorber la luz, el retinal de la bacteriorrodopsina, que normalmente se encuentra en

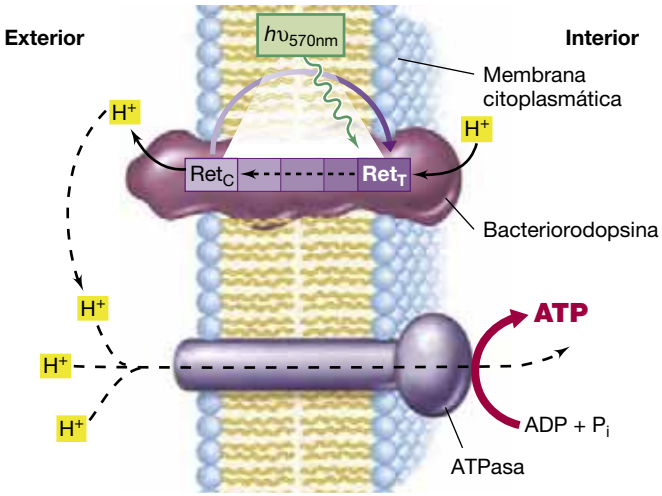


Figura 16.4 Modelo del mecanismo de funcionamiento de la bacteriorrodopsina. La luz a 570 nm ($h\nu_{570}$) transforma el retinal protonado de la bacteriorrodopsina desde su configuración *trans* (Ret_T) hasta su configuración en *cis* (Ret_C), simultáneamente a la translocación de un protón hacia la superficie externa de la membrana citoplasmática, generando de este modo una fuerza protonmotriz. La actividad de la ATPasa será impulsada por dicha fuerza protonmotriz.

configuración *trans* (Ret_T), se excita y pasa a adoptar una configuración *cis* (Ret_C) (**Figura 16.4**). Esta transformación está acoplada a la translocación de un protón a través de la membrana citoplasmática. Posteriormente la molécula de retinal vuelve a su configuración *trans* al mismo tiempo que capta un protón del citoplasma, lo que completa el ciclo. La bomba de protones está de nuevo lista para repetir el ciclo (Figura 16.4). Conforme se van acumulando protones en la superficie externa de la membrana, se genera una fuerza protonmotriz que se acopla a la síntesis de ATP mediante la actividad de una ATPasa translocadora de protones (↻ Sección 3.11; Figura 16.4).

La producción de ATP mediada por la bacteriorrodopsina en *H. salinarum* permite un crecimiento lento de este organismo en condiciones anóxicas. La bomba de protones estimulada por la luz también sirve para bombear Na^+ fuera de la célula mediante la actividad de un sistema de cotransporte bidireccional Na^+/H^+ y también para impulsar la captación de nutrientes, como el K^+ que se necesita para alcanzar el equilibrio osmótico. En *H. salinarum*, la captación de aminoácidos está igualmente impulsada de modo indirecto por la luz, porque los aminoácidos entran a la célula junto con el Na^+, mediante un cotransportador unidireccional (↻ Sección 2.9); la expulsión de Na^+ del interior de la célula se produce por medio de un cotransportador bidireccional Na^+/H^+ impulsado por la luz.

Otras rodopsinas

Además de la bacteriorrodopsina, en la membrana citoplasmática de *H. salinarum* hay al menos otras tres rodopsinas. La **halorrodopsina** es una bomba impulsada por la luz que bombea cloruro (Cl^-) al interior de la célula como anión para el K^+. El retinal de la halorrodopsina se une al Cl^- y lo transporta al interior de la célula. En *H. salinarum* también hay otros dos sensores de luz, denominados *rodopsinas sensoras*, que controlan la fototaxia (el movimiento hacia la luz, ↻ Sección 2.19) de

este organismo. Las rodopsinas sensoras modulan la rotación flagelar, por medio de la interacción de una cascada de proteínas parecida a las de quimiotaxia (↔ Secciones 2.19 y 7.8), de tal modo que las células de *H. salinarum* se desplazan hacia la luz, donde la bacteriorrodopsina pueda funcionar para producir ATP (Figura 16.4).

Cuando analicemos la microbiología marina (↔ Secciones 19.9 y 19.11), veremos que varias *Proteobacteria* (del dominio *Bacteria*) que habitan en las capas superiores del mar contienen proteínas parecidas a la bacteriorrodopsina, denominadas *proteorrodopsinas*. Por lo que se sabe, las proteorrodopsinas funcionan de forma similar a la bacteriorrodopsina; de todos modos, existen diversas formas espectrales de proteorrodopsinas, cada una de las cuales absorbe luz a una diferente longitud de onda. Las proteorrodopsinas constituyen un mecanismo para la conservación de la energía con un claro sentido ecológico para las bacterias marinas, ya que en mar abierto el nivel de materia orgánica disuelta es habitualmente muy bajo, lo que hace difícil un modo de vida estrictamente quimiorganótrofo.

MINIRREVISIÓN

- Si las células de *Halobacterium* necesitan niveles elevados de Na^+ para crecer ¿por qué esto no se cumple para los enzimas citoplásmicos del organismo?
- ¿Qué beneficios aporta la bacteriorrodopsina a las células de *Halobacterium salinarum*?

16.2 *Archaea* metanógenas

Géneros principales: *Methanobacterium*, *Methanocaldococcus*, *Methanosarcina*

Muchas especies de *Euryarchaeota* son metanógenas, es decir microorganismos que producen metano (CH_4) como parte integral de su metabolismo energético (la producción de metano se denomina *metanogénesis*). En la Sección 13.20 estudiamos la bioquímica de metanogénesis. Más adelante veremos que la metanogénesis es la fase terminal de la biodegradación de la materia orgánica en muchos hábitats anóxicos de la naturaleza (↔ Sección 20.2). La **Tabla 16.3** indica las principales fuentes de metano en la naturaleza.

Tabla 16.3 Hábitats de metanógenos

I. Sedimentos anóxicos: marismas, pantanos y sedimentos lacustres, arrozales, terrenos encharcados
II. Tracto digestivo animal[a]:
  A) Rumen de rumiantes, como vacas, ovejas, alces, ciervos y camellos
  B) Ciego de animales, como caballos y conejos
  C) Intestino grueso de animales monogástricos, como humanos, cerdos y perros
  D) Intestino posterior de insectos celulolíticos (por ejemplo, termitas)
III. Fuentes geotérmicas de H_2 + CO_2: chimeneas hidrotermales
IV. Instalaciones artificiales de biodegradación: digestores de aguas residuales
V. Endosimbiontes de protozoos anaerobios

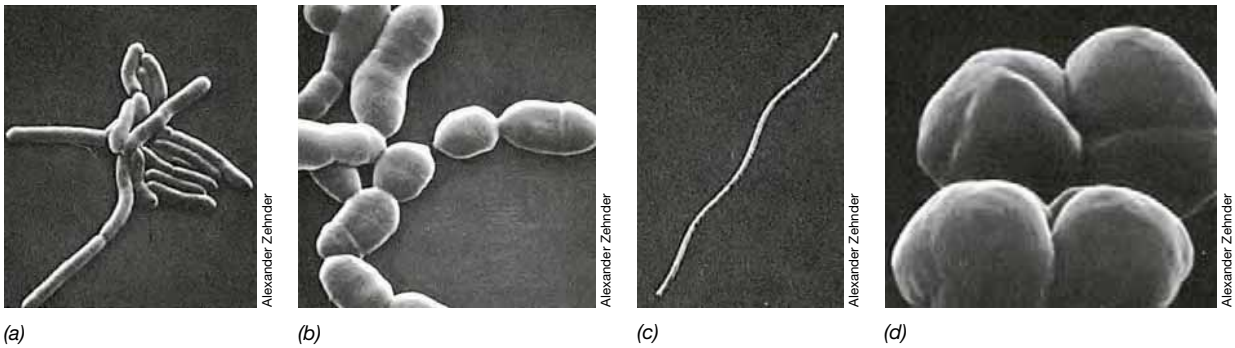
[a] Véanse las Secciones 22.6 y 22.7 y las Figuras 22.27 y 22.28.

Diversidad y fisiología de los metanógenos

Los metanógenos muestran diversas morfologías (**Figura 16.5** y **Tabla 16.4**). Su taxonomía se basa en análisis fenotípicos y filogenéticos y existen varios órdenes taxonómicos reconocidos (en taxonomía, un orden comprende grupos de familias relacionadas, cada una de las cuales tiene uno o más géneros, ↔ Sección 12.10).

La composición química de la pared celular de los metanógenos es variada. Por ejemplo, las paredes de las especies de *Methanobacterium* y organismos relacionados (**Figura 16.6*a***) son de pseudomureína; las paredes de *Methanosarcina* (Figura 16.6*b*) y organismos relacionados son de metanocondroitina (así denominada por su parecido estructural con la condroitina, el polímero del tejido conjuntivo de vertebrados); las paredes de las especies de *Methanocaldococcus* (**Figura 16.7*a***) y *Methanoplanus*, son de proteínas o de glicoproteínas, respectivamente; y las paredes de *Methanospirillum* son de capa S (Figura 16.5*c*; ↔ Sección 2.12).

Fisiológicamente, los metanógenos son anaerobios estrictos y para cultivarlos se requiere utilizar técnicas anóxicas rigurosas. La mayoría son mesófilos y no halófilos, aunque se han descrito también especies que crecen de modo óptimo a temperaturas muy altas (Figura 16.7) o muy bajas, a concentraciones salinas elevadas o a valores extremos de pH. Varios sustratos pueden resultar convertidos en CH_4 por los metanógenos, pero es extraño que entre esos sustratos no haya compuestos



(a) (b) (c) (d)

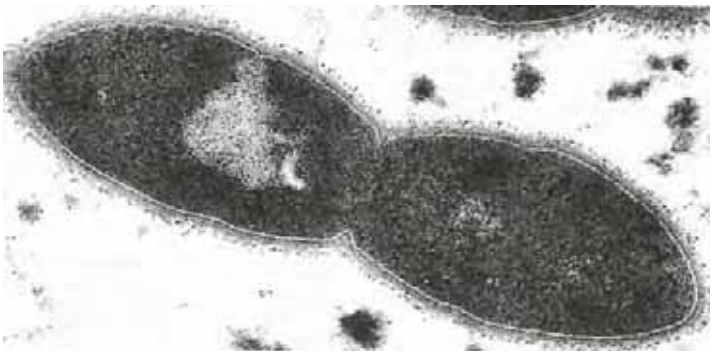
Figura 16.5 Microfotografía con el microscopio electrónico de barrido de varias células de *Archaea* metanogénicas. *(a) Methanobrevibacter ruminantium*. Cada célula mide aproximadamente 0,7 µm de diámetro. *(b) Methanobrevibacter arboriphilus*. Cada célula mide aproximadamente 1 µm de diámetro. *(c) Methanospirillum hungatei*. Cada célula mide aproximadamente 0,4 µm de diámetro. *(d) Methanosarcina barkeri*. Cada célula mide aproximadamente 1,7 µm de ancho.

UNIDAD 3

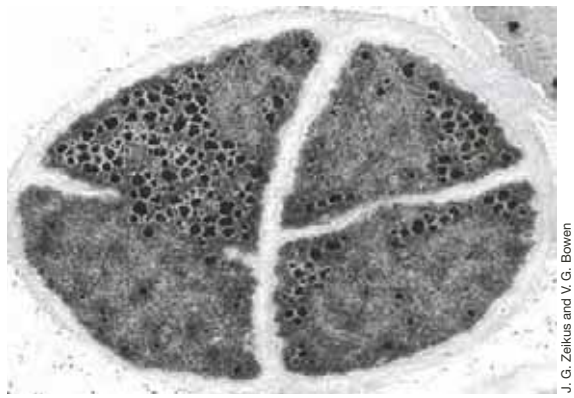
Tabla 16.4 Características de algunas Archaea metanogénicas[a]

Orden/Género	*Morfología*	*Sustratos de metanogénesis*
Methanobacteriales		
Methanobacterium	Bacilos largos	$H_2 + CO_2$, fórmico
Methanobrevibacter	Bacilos cortos	$H_2 + CO_2$, fórmico
Methanosphaera	Cocos	Metanol + H_2 (ambos necesarios)
Methanothermus	Bacilos	$H_2 + CO_2$
Methanothermobacter Bacilos	Bacilos	$H_2 + CO_2$, fórmico
Methanococcales		
Methanococcus	Cocos irregulares	$H_2 + CO_2$, piruvato + CO_2, fórmico
Methanothermococcus	Cocos	$H_2 + CO_2$, fórmico
Methanocaldococcus	Cocos	H2 + CO_2
Methanotorris	Cocos	H2 + CO_2
Methanomicrobiales		
Methanomicrobium	Bacilos cortos	$H_2 + CO_2$, fórmico
Methanogenium	Cocos irregulares	$H_2 + CO_2$, fórmico
Methanospirillum	Espirilos	$H_2 + CO_2$, fórmico
Methanoplanus	Células con forma de placa —placas finas con bordes afilados	$H_2 + CO_2$, fórmico
Methanocorpusculum	Cocos irregulares	$H_2 + CO_2$, fórmico, alcoholes
Methanoculleus	Cocos irregulares	$H_2 + CO_2$, alcoholes, fórmico
Methanofollis	Cocos irregulares	$H_2 + CO_2$, fórmico
Methanolacinia	Bacilos irregulares	$H_2 + CO_2$, alcoholes
Methanosarcinales		
Methanosarcina	Grandes cocos irregulares en paquetes	$H_2 + CO_2$, metanol, metilaminas, acetato
Methanolobus	Cocos irregulares en agregados	Metanol, metilaminas
Methanohalobium	Cocos irregulares	Metanol, metilaminas
Methanococcoides	Cocos irregulares	Metanol, metilaminas
Methanohalophilus	Cocos irregulares	Metanol, metilaminas, metilsulfatos
Methanosaeta	Bacilos largos a filamentos	Acetato
Methanosalsum	Cocos irregulares	Metanol, metilaminas, dimetilsulfatos
Methanosalsum	Cocos irregulares	Metanol, metilaminas (necesitan H_2 necesario con cualquier sustrato metanófeno)
Methanopyrales		
Methanopyrus	Bacilos en cadenas	$H_2 + CO_2$

[a]Los órdenes taxonómicos están en negrita. Una orden es un rango taxonómico que se compone de varias familias; las familias se componen de varios géneros.

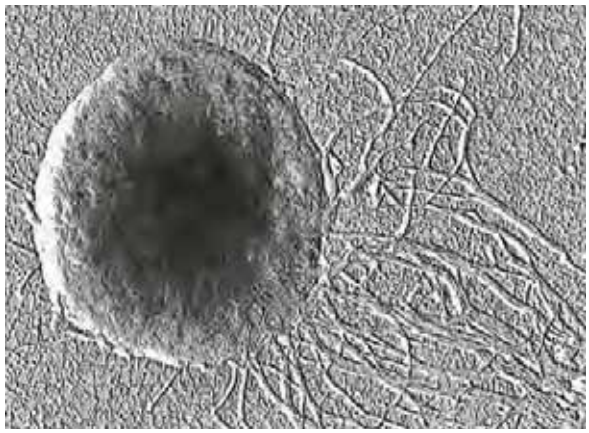


(a)

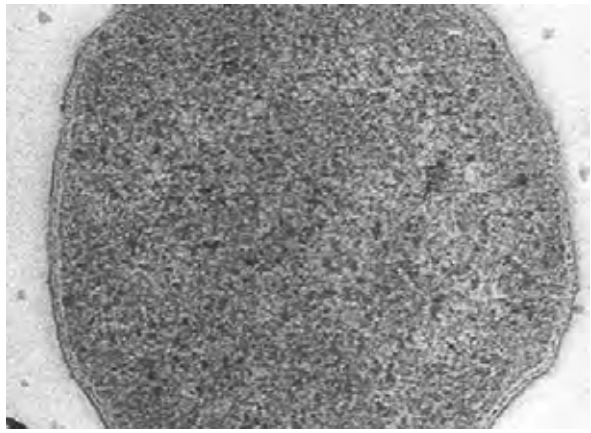


(b)

Figura 16.6 Microfotografía con el microscopio electrónico de transmisión de secciones finas de arqueas metanogénicas. *(a) Methanobrevibacter ruminantium.* Cada célula mide aproximadamente 0,7 µm de diámetro. *(b) Methanosarcina barkeri*, que muestra su gruesa pared celular y el modo de segmentación celular y de formación del septo. Cada célula mide aproximadamente 1,7 µm de diámetro.



(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 16.7 **Metanógenos termófilos e hipertermófilos.** *(a) Methanocaldococcus jannaschii* (temperatura óptima, 85 °C), microfotografía con el microscopio electrónico. Cada célula mide aproximadamente 1 µm de diámetro. *(b) Methanotorris igneus* (temperatura óptima, 88 °C), sección fina. Cada célula mide aproximadamente 1 µm de diámetro. *(c) Methanothermus fervidus* (temperatura óptima, 88 °C), microfotografía con el microscopio electrónico de una sección fina. Cada célula mide aproximadamente 0,4 µm de diámetro. *(d) Methanosaeta thermophila* (temperatura óptima, 60 °C), microfotografía de contraste de fase. Cada célula mide aproximadamente 1 µm de diámetro. Los cuerpos refráctiles en el interior de las células son vesículas de gas.

tan comunes como la glucosa, ácidos orgánicos o ácidos grasos (aparte del acetato y el piruvato). Compuestos como la glucosa pueden convertirse en metano, pero solo mediante la cooperación entre metanógenos y otros organismos anaerobios. Con una mezcla adecuada de microorganismos, prácticamente cualquier compuesto orgánico, incluso hidrocarburos, puede ser convertido en metano y CO_2 (↻ Sección 20.2).

La lista de sustratos que se muestra en la **Tabla 16.5** incluye tres clases de compuestos. Estas clases corresponden a los sustratos *tipo* CO_2, sustratos *metilados* y *acetato*. Entre los sustratos tipo CO_2 está por supuesto el propio CO_2, que es reducido a metano usando H_2 como donador de electrones. Otros sustratos de esta clase son el formiato (que es CO_2 + H_2 en una forma combinada) y el monóxido de carbono (CO). Los sustratos metilados comprenden el metanol (CH_3OH) y muchos otros (Tabla 16.5).El metanol (CH_3OH) puede reducirse empleando un donador de electrones externo como por ejemplo el H_2. Alternativamente y en ausencia de H_2, parte del CH_3OH puede oxidarse hasta CO_2 para generar los electrones que se necesitan para reducir otras moléculas de CH_3OH hasta CH_4 (↻ Figura 13.50*a*). El último proceso metanogénico es la rotura del acetato hasta CO_2 + CH_4, lo que se denomina reacción *acetotrófica*. Muy pocos metanógenos son acetótrofos (Tablas 16.4 y 16.5), aunque el acetato es una fuente importante de metano en la naturaleza. La bioquímica de la metanogénesis de cada una de las tres clases de sustratos se estudia en la Sección 13.20, además de la manera cómo está acoplada la formación del CH_4 a la captación de energía.

Tabla 16.5 Sustratos convertidos a metano por diversas *Archaea* metanógenas

I. Sustratos tipo CO_2	
Dióxido de carbono, CO_2 (con electrones derivados de H_2, algunos alcoholes o piruvato)	
Formiato, $HCOO^-$	
Monóxido de carbono, CO	
II. Sustratos metilados	III. Sustratos acetótrofos
Metanol, CH_3OH	Acetato, CH_3COO^-
Metilamina, $CH_3NH_3^+$	Piruvato, CH_3COCOO^-
Dimetilamina, $(CH_3)_2NH_2^+$	
Trimetilamina, $(CH_3)_3NH^+$	
Metilmercaptano, CH_3SH	
Dimetilsulfuro, $(CH_3)_2S$	

Methanocaldococcus jannaschii como modelo de metanógeno

Se han secuenciado el genoma del metanógeno hipertermófilo *Methanocaldococcus jannaschii* (Figura 16.7*a*) y los de muchos otros metanógenos. El genoma de *M. jannaschii*, un organismo empleado como modelo en el estudio molecular de la metanogénesis y de la movilidad en *Archaea* (véase «La liebre y la tortuga arqueanas», página 27), es circular y tiene 1,66 Mbp; contiene aproximadamente 1.700 genes, de

los cuales ya se han identificado los que codifican enzimas de la metanogénesis y los de varias funciones celulares esenciales. Curiosamente, la mayoría de los genes de *M. jannaschii* que codifican funciones tales como las rutas metabólicas esenciales o la división celular son parecidos a los de *Bacteria*. En cambio, la mayoría de los genes de *M. jannaschii* que codifican procesos moleculares básicos, como la transcripción o la traducción, se parecen más a los de los eucariotas. Estos descubrimientos reflejan los diversos rasgos compartidos entre organismos de los tres dominios celulares y son coherentes con la noción que tenemos de cómo evolucionaron los tres dominios celulares, como se trató en el Capítulo 12. No obstante, el análisis del genoma de *M. jannaschii* también demuestra que al menos el 40 % de sus genes no tienen equivalentes entre los genes de ninguno de los otros dominios. Por supuesto, algunos de estos genes son los que codifican la metanogénesis, pero muchos otros probablemente codifican nuevas funciones celulares ausentes en las células de los otros dos dominios, o puede que codifiquen funciones redundantes llevadas a cabo por tipos de enzimas distintas de los encontradas en *Bacteria* y en *Eukarya*.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cuáles son los principales sustratos para la metanogénesis?
- ¿Qué resulta especial en el genoma de *Methanocaldococcus jannaschii*?

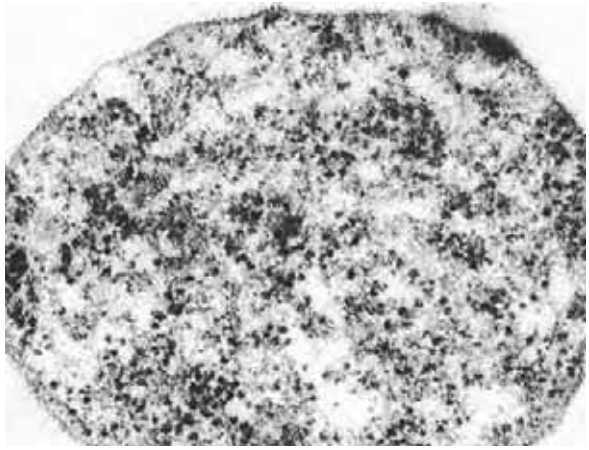
16.3 *Thermoplasmatales*

Géneros principales: *Thermoplasma*, *Picrophilus*, *Ferroplasma*

Una línea filogenética clara de arqueas incluye géneros termófilos y acidófilos extremos: *Thermoplasma*, *Ferroplasma* y *Picrophilus* (Figura 16.1). Estos procariotas se encuentran entre los más acidófilos de todos los microorganismos conocidos, hasta el extremo de que *Picrophilus* es capaz de crecer incluso a pH por debajo de 0. La mayoría son también termófilos. Además, forman su propio orden taxonómico dentro de las *Euryarchaeota*: las *Thermoplasmatales*. Comenzaremos con una descripción de *Thermoplasma* y *Ferroplasma*, dos organismos con cierto parecido a los micoplasmas.

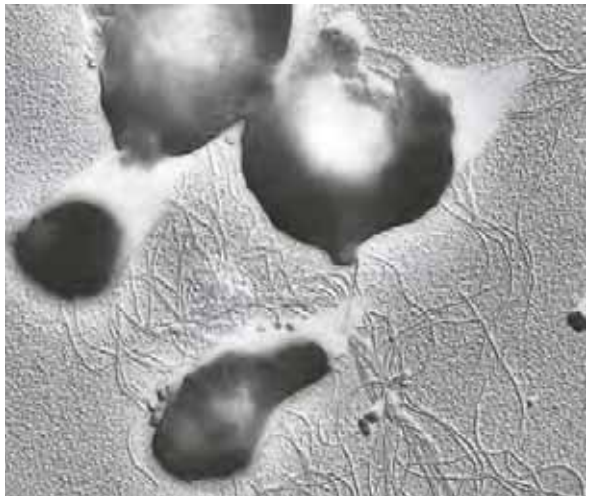
Arqueas carentes de pared celular

Thermoplasma y *Ferroplasma* carecen de pared celular, y en este aspecto se parecen a los micoplasmas (↔ Sección 15.9). *Thermoplasma* (**Figura 16.8**) es un quimiorganótrofo que crece en medios complejos a una temperatura óptima de 55 °C y pH 2. Se han descrito dos especies de *Thermoplasma*, *T. acidophilum* y *T. volcanium*. Las especies de *Thermoplasma* son aerobios facultativos, que crecen aerobia o anaeróbicamente mediante la respiración de azufre (↔ Sección 13.18). La mayoría de las cepas de *T. acidophilum* se han obtenido de pilas de residuos de carbón que se autocalientan. Los residuos de carbón contienen fragmentos de carbón, pirita (FeS_2) y otros materiales orgánicos extraídos del carbón. Cuando se amontonan en las minas a cielo abierto, los residuos de carbón se calientan a consecuencia del metabolismo microbiano que los llevan a la temperatura de combustión (**Figura 16.9**). Esto prepara el terreno para el crecimiento de *Thermoplasma*, que probablemente



T. D. Brock

(a)



A. Segerer and K. O. Stetter

(b)

Figura 16.8 **Especies de *Thermoplasma*.** *(a) Thermoplasma acidophilum*, una arquea termófila y acidófila parecida a los micoplasmas. Microfotografía con el microscopio electrónico de una sección fina. El diámetro de las células es muy variable, desde 0,2 hasta 5 µm. La célula de la imagen tiene alrededor de 1 µm de diámetro. *(b)* Preparación de células de *Thermoplasma volcanium* aisladas de manantiales termales. Las células miden 1-2 µm de diámetro. Obsérvense los abundantes flagelos y la morfología irregular de la célula.



T. D. Brock

Figura 16.9 **Una pila típica de residuos de carbón autocalentados, como hábitat de *Thermoplasma*.** La pila de desechos que contiene restos de carbón, pirita y otros sustratos microbianos, se mantiene caliente como consecuencia del metabolismo de los microorganismos.

metaboliza los compuestos orgánicos que se filtran desde los residuos de carbón calientes. La otra especie, *Thermoplasma volcanium*, se ha aislado en suelos ácidos calientes de todo el mundo y tiene una gran movilidad gracias a sus múltiples flagelos (Figura 16.8*b*).

Para sobrevivir el estrés osmótico inherente a la vida sin una pared celular y para soportar el doble carácter extremo de su ambiente, con bajo pH y alta temperatura, *Thermoplasma* ha desarrollado una membrana citoplásmica con una estructura peculiar. Esta membrana está formada por un material de tipo lipopolisacárido denominado *lipoglicano* (Sección 16.3). Esta sustancia consiste en una membrana monocapa de lípido tetraéter con manosa y glucosa (**Figura 16.10**). Esta molécula constituye una proporción importante de la composición total de lípidos de *Thermoplasma*. La membrana también contiene glicoproteínas, pero no esteroles. Estas moléculas estabilizan la membrana de *Thermoplasma* frente a las condiciones ácidas y la temperatura alta.

Como los micoplasmas (↻ Sección 15.9), *Thermoplasma* tiene un genoma relativamente pequeño (1,5 Mbp). Además, el DNA de *Thermoplasma* está asociado con una proteína de unión a DNA muy básica, que organiza el DNA en partículas globulares que recuerdan a los nucleosomas de las células eucariotas. Esta proteína es homóloga a la proteína HU de las bacterias, que se une a DNA, es similar a las histonas y desempeña un papel importante en la organización del DNA celular. En cambio, otros miembros de las *Euryarchaeota* contienen proteínas básicas homólogas a las histonas de unión a DNA de las células eucariotas.

Ferroplasma

Ferroplasma es un pariente quimiolitótrofo de *Thermoplasma*. *Ferroplasma* es un acidófilo extremo; sin embargo no es termófilo, ya que crece a una temperatura óptima de 35 °C. Para obtener energía, *Ferroplasma* oxida hierro ferroso (Fe^{2+}) a hierro férrico (Fe^{3+}), en una reacción que produce ácido (Figura 16.18*d*), y emplea CO_2 como fuente de carbono (autotrofia). *Ferroplasma* vive en residuos mineros que contengan pirita (FeS), que es su fuente de energía. La acidofilia extrema de *Ferroplasma* le permite bajar el pH de su hábitat hasta valores extremadamente ácidos. Una vez que se ha generado una acidez moderada por medio de la oxidación del Fe^{2+} por organismos acidófilos, como por ejemplo *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Leptospirillum ferrooxidans* (↻ Sección 20.5), *Ferroplasma* se activa y acaba generando el pH extremadamente bajo propio del drenaje ácido de las minas. La actividad de *Ferroplasma* puede llegar a producir agua ácida a pH 0.

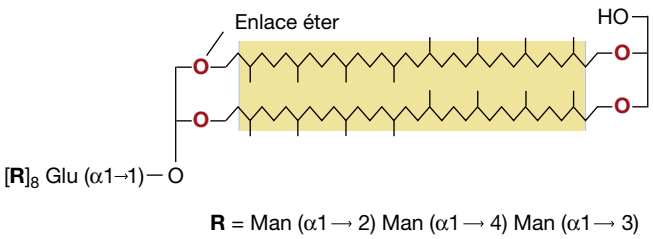


Figura 16.10 **Estructura del lipoglicano tetraéter de *Thermoplasma acidophilum*.** Glu, Glucosa; Man, manosa. Fíjese en los enlaces éter (marcados en rosa) y observe que este lípido tiende a formar una membrana monocapa en lugar de una membrana bicapa (compare con la Figura 2.17*e*).

Picrophilus

Picrophilus es un organismo relacionado filogenéticamente con *Thermoplasma* y *Ferroplasma*. Aunque *Thermoplasma* y *Ferroplasma* son acidófilos extremos, *Picrophilus* lo es aún más, dado que su pH óptimo de crecimiento es de 0,7 y es capaz de crecer a valores de pH por debajo de 0. *Picrophilus* sí que tiene pared celular (una pared S; ↻ Sección 2.12) y su DNA presenta una proporción de GC mucho más baja que la de *Thermoplasma* o *Ferroplasma*. Aunque están relacionados filogenéticamente, *Thermoplasma*, *Ferroplasma* y *Picrophilus* tienen genomas bastante diferentes. Se han aislado dos especies de *Picrophilus* de solfataras ácidas en Japón y, como *Thermoplasma*, ambas crecen como heterótrofos en medios complejos.

La fisiología de *Picrophilus* resulta interesante como modelo de tolerancia a condiciones extremas de acidez. El análisis de su membrana citoplasmática revela una disposición inusual de lípidos, lo que conforma una membrana muy impermeable a los ácidos a un pH muy bajo. En cambio, a una acidez moderada, como por ejemplo pH 4, las membranas de las células de *Picrophilus* empiezan a perder consistencia y se desintegran. Resulta obvio que estos organismos han evolucionado para sobrevivir tan solo en hábitats muy ácidos.

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué se parecen *Thermoplasma* y *Picrophilus*? ¿En qué se diferencian?
- ¿Cómo refuerza *Thermoplasma* su membrana citoplásmica para sobrevivir sin pared celular?

16.4 *Thermococcales* y *Methanopyrus*

Géneros principales: *Thermococcus*, *Pyrococcus*, *Methanopyrus*

Hay unas cuantas euriarqueotas que crecen muy bien en ambientes termales y algunas son hipertermófilas. Analizaremos aquí tres euriarqueotas hipertermófilas que se separan muy cerca de la raíz del árbol filogenético de las *Euryarchaeota* (Figura 16.1). Dos de estos organismos, *Thermococcus* y *Pyrococcus*, forman el orden taxonómico de las *Thermococcales*. El tercer organismo, *Methanopyrus*, es un metanógeno que en su fisiología básica se parece mucho a otros metanógenos (Sección 16.2 y Tabla 16.4), pero su hipertermofilia, composición lipídica y localización filogenética son especiales (Figura 16.1).

Thermococcus y *Pyrococcus*

Thermococcus es una *Euryarchaeota* hipertermófila esférica, que vive en aguas termales anóxicas en diversos lugares de la Tierra. Sus células esféricas tienen un penacho de flagelos polares y son por tanto muy móviles (**Figura 16.11**). *Thermococcus* es un quimioorganótrofo anaerobio estricto, que metaboliza proteínas y otras mezclas orgánicas complejas (también algunos azúcares) utilizando S^0 como donador de electrones, a temperaturas que varían entre 55 y 95 °C.

Por su morfología, *Pyrococcus* es parecido a *Thermococcus* (Figura 16.11*b*), pero se diferencian fundamentalmente en que *Pyrococcus* necesita temperaturas más altas, ya que crece mejor entre 70 y 106 °C, con 100 °C como temperatura óptima. Metabólicamente, *Thermococcus* y *Pyrococcus* son también muy parecidos. Oxidan proteínas, almidón o maltosa como

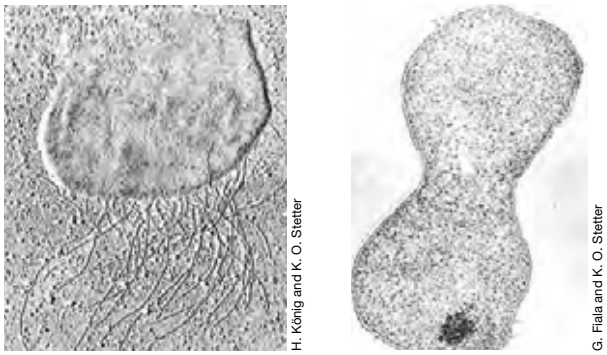


Figura 16.11 Euriarqueas hipertermófilas esféricas de regiones volcánicas submarinas. *(a) Thermococcus celer.* Microfotografía con el microscopio electrónico de una preparación de células (observe en los mechones de flagelos). *(b)* Célula de *Pyrococcus furiosus* en división. Microfotografía con el microscopio electrónico de una sección fina. Las células de ambos organismos miden aproximadamente 0,8 µm de diámetro.

donadores de electrones y utilizan S^0 como aceptor final de electrones, y lo reducen a sulfuro de hidrógeno (H_2S). Tanto *Thermococcus* como *Pyrococcus* generan H_2S en presencia de S^0, mientras que en su ausencia generan H_2 (véase la Tabla 16.6).

Methanopyrus

Methanopyrus es un bacilo metanógeno hipertermófilo (**Figura 16.12**). Se ha aislado de los sedimentos calientes alrededor de fuentes hidrotermales submarinas y de las paredes de chimeneas hidrotermales (Sección 16.11; ↻ Sección 19.13). *Methanopyrus* comparte características fenotípicas con los hipertermófilos y con los metanógenos. *Methanopyrus* produce metano solamente a partir de H_2 y CO_2 y crece muy rápidamente para ser un organismo autótrofo (a 100 °C, su tiempo de generación es menor de 1 h). En recipientes especiales con alta presión, se ha logrado cultivar una cepa de *Methanopyrus* a 122 °C, la temperatura más elevada que se ha demostrado que permite el crecimiento microbiano.

Otra particularidad de *Methanopyrus* es que contiene lípidos de membrana que no se encuentran en ningún otro organismo conocido. Recordemos que, en los lípidos de las arqueas, las cadenas laterales de glicerol contienen **fitanilo** en lugar de ácidos grasos unidos al glicerol mediante enlaces éter (↻ Sección 2.7). En *Methanopyrus*, el lípido unido mediante enlace éter es una forma *insaturada* de los tetraéteres de dibifitanilo, a diferencia de los éteres normalmente saturados que se encuentran en otras arqueas hipertermófilas. Estos lípidos poco comunes pueden ayudar a estabilizar la membrana citoplasmática de *Methanopyrus* a temperaturas de crecimiento tan elevadas.

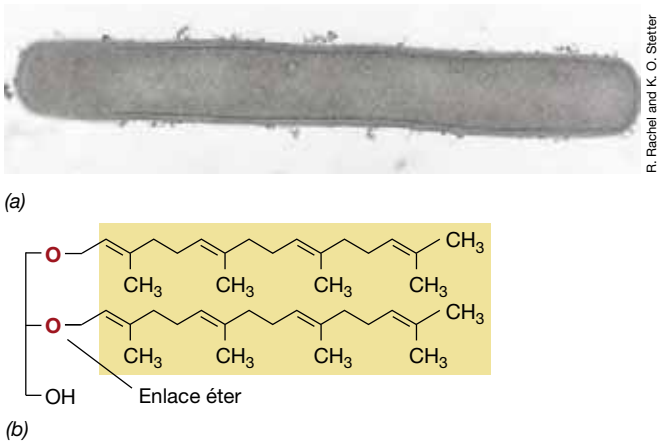


Figura 16.12 *Methanopyrus.* *Methanopyrus* crece a una temperatura óptima de 100 °C y solo puede producir CH_4 a partir de $CO_2 + H_2$. *(a)* Microfotografía con el microscopio electrónico de una célula de *Methanopyrus kandleri*, el más termófilo de todos los metanógenos (límite superior de temperatura, 110 °C). Esta célula mide 0,5 × 8 µm. *(b)* Estructura del inusual lípido de *M. kandleri*. Se trata del lípido con enlace éter habitual de las arqueas, excepto en que sus cadenas laterales están constituidas por una forma insaturada de fitanilo denominada geranilgeraniol.

16.5 *Arquaeoglobales*

Géneros principales: *Archaeoglobus, Ferroglobus*

Más adelante veremos que una serie de *Crenarchaeota* hipertermófilas llevan a cabo respiración anaerobia en la que el azufre elemental (S^0) se emplea como aceptor de electrones y se reduce a H_2S (véase la Tabla 16.6). *Archaeoglobus* es una euriarqueota hipertermófila que puede reducir sulfato (SO_4^{2-}) y forma un linaje filogenéticamente independiente dentro de las *Euryarchaeota* (Figura 16.1).

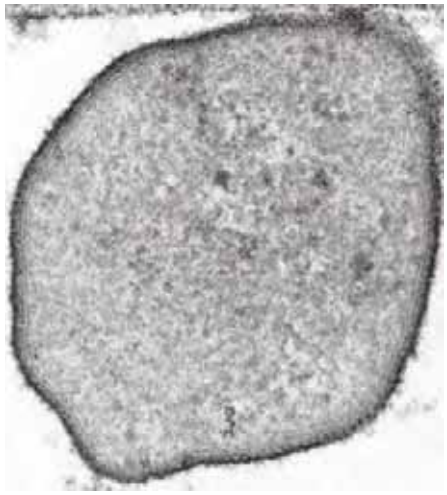
Archaeoglobus

Archaeoglobus fue aislado de sedimentos marinos calientes en los alrededores de chimeneas hidrotermales. El metabolismo de *Archaeoglobus* acopla la oxidación de H_2, lactato, piruvato, glucosa o compuestos orgánicos complejos a la reducción de sulfato, dando sulfuro de hidrógeno. Las células de *Archaeoglobus* son cocos irregulares (**Figura 16.13*a***) y crecen de forma óptima a 83 °C.

Archaeoglobus comparte una serie de características con los metanógenos. En la Sección 13.20 vimos la bioquímica distintiva de la metanogénesis. Resumiendo, este proceso requiere una serie de coenzimas características. Con raras excepciones, estas coenzimas solo se han encontrado en metanógenos. Sin embargo, *Archaeoglobus* también tiene muchas de estas coenzimas y de hecho los cultivos de este organismo pueden generar pequeñas cantidades de metano. Por tanto, *Archaeoglobus*, que tiene una relación filogenética cercana a los metanógenos (Figura 16.1), podría ser un tipo de organismo intermedio metabólicamente, enlazando los procesos de captación de energía de la metanogénesis con otras formas de respiración dentro de *Archaea*. No resulta sorprendente que el genoma de *Archaeoglobus*, que tiene unos 2.400 genes, comparta una serie de esos genes con los metanógenos (Sección 16.2).

Ferroglobus

Ferroglobus (Figura 16.13*b*) está relacionado con *Archaeoglobus*, pero no es un reductor de sulfato, sino un quimiolitótrofo oxidador de hierro, que obtiene energía de la oxidación de Fe^{2+} a Fe^{3+}, acoplada a la reducción de NO^{3-} hasta NO^{2-} y NO (véase la Tabla 16.6). Crece autotróficamente y también puede utilizar H_2 o H_2S como donadores de electrones en su metabolismo energético. *Ferroglobus* fue aislado en chimeneas hidrotermales de fondos marinos someros y crece a una temperatura óptima de 85 °C.



(a)



(b)

Figura 16.13 ***Archaeoglobales.*** *(a)* Microfotografía con el microscopio electrónico de transmisión de *Archaeoglobus fulgidus*, un hipertermófilo reductor de sulfato. Cada célula mide aproximadamente 0,7 µm de diámetro. *(b)* Microfotografía con el microscopio electrónico de una muestra de criofractura del hipertermófilo *Ferroglobus placidus*, un oxidador de hierro ferroso y reductor de nitrato. La célula mide aproximadamente 0,8 µm de diámetro.

Ferroglobus resulta interesante por varias razones, pero especialmente por su capacidad de oxidar Fe^{2+} hasta Fe^{3+} en condiciones anóxicas. Este proceso podría explicar la abundancia de Fe^{3+} en rocas muy antiguas, como las formaciones de hierro en bandas (↻ Sección 12.2), rocas cuya datación es anterior a la aparición de las cianobacterias en la Tierra. Con organismos como *Ferroglobus* hubiera sido posible que la oxidación del Fe^{2+} continuase sin necesidad de que el oxígeno molecular actuara como aceptor de electrones. Por tanto, el metabolismo de *Ferroglobus* puede tener cierta repercusión en la datación del origen de las cianobacterias y la subsecuente oxigenación de la Tierra. Ciertas bacterias fotótrofas anoxigénicas también pueden oxidar Fe^{2+} en condiciones anóxicas (↻ Secciones 13.3 y 13.9) y, por tanto, son posibles varios orígenes anaerobios para el Fe^{3+} formado en tiempos remotos. Esto dificulta estimar el momento preciso de aparición de las cianobacterias y en qué medida los organismos no fotótrofos pudieron desencadenar la Gran Oxidación (↻ Figura 12.1).

MINIRREVISIÓN

- Compare los metabolismos energéticos de *Archaeoglobus* y *Ferroglobus*.

II • *Thaumarchaeota*, *Nanoarchaeota* y *Korarchaeota*

Nuestro conocimiento de las *Archaea* ha sufrido una revolución con el desarrollo de la filogenia molecular (↻ Secciones 12.4 y 12.5) y con los métodos de estudio de los microorganismos sin necesidad de su cultivo en el laboratorio (↻ Secciones 18.5-18.7). Todos los organismos pertenecientes a *Thaumarchaeota*, *Nanoarchaeota*, y *Korarchaeota* se descubrieron y caracterizaron inicialmente por medio de técnicas de análisis de los genes del rRNA 16S. Gracias a estos esfuerzos iniciales, se logró el aislamiento, o al menos el crecimiento en cultivos enriquecidos, de especies representativas de cada uno de estos tres filos. Comenzaremos la exposición de estos filos tan especiales con los *Thaumarchaeota*.

16.6 *Thaumarchaeota* y nitrificación en *Archaea*

Géneros principales: *Nitrosopumilus*, *Nitrososphaera*

Los primeros estudios sobre genes del rRNA 16S realizados sobre comunidades microbianas de mar abierto llegaron a la sorprendente conclusión de que las *Archaea* eran muy abundantes y estaban muy extendidas en el mar. Por entonces se consideraba que el dominio de las arqueas contenía solo organismos extremófilos y anaerobios estrictos, por lo que su presencia en ambientes marinos oxigenados, templados, o incluso polares, constituía un misterio. Más notable resultó comprobar que esas nuevas arqueas también eran abundantes y estaban muy extendidas en el suelo por todo el mundo. Los análisis filogenéticos basados en las secuencias de sus genes de rRNA 16S sugirieron que se trataba de un nuevo grupo de *Archaea* que constituía un linaje profundamente divergente de las *Crenarchaeota*, un grupo de *Archaea* hipertermófilas (véase la Sección 16.9). Pero tras la secuenciación del genoma del nitrificante marino *Nitrosopumilus maritimus* quedó claro que los *Thaumarchaeota* constituyen un filo propio de las *Archaea*, y que se separaron de la línea principal de las arqueas antes de la divergencia de *Crenarchaeota* y *Euryarchaeota* (Figura 16.1).

Características fisiológicas de *Thaumarchaeota*

La fisiología de las *Thaumarchaeota* fue un misterio hasta el aislamiento de *Nitrosopumilus maritimus* (**Figura 16.14**). Este organismo crece quimiolitotróficamente mediante la oxidación aerobia de amoniaco (NH_3) hasta nitrito (NO_2^-), el primer paso de la nitrificación (↻ Secciones 13.10, 14.13, y 20.3); usa el CO_2 como única fuente de carbono (autotrofía), como hacen las *Bacteria* nitrificantes (↻ Sección 14.13). Sin embargo, a diferencia de las *Bacteria* oxidadoras de amoniaco, como *Nitrosomonas*, *Nitrosopumilus maritimus* está adaptado a la vida en condiciones extremas de limitación de nutrientes, como cabría esperar de un organismo que vive en aguas de mar abierto. *Nitrosopumilus maritimus* puede crecer con concentraciones de amoniaco que son cien veces menores que las que necesitan las bacterias nitrificantes. En realidad, su crecimiento se inhibe a las concentraciones más altas necesarias para sustentar el crecimiento de las especies nitrificantes de *Bacteria*.

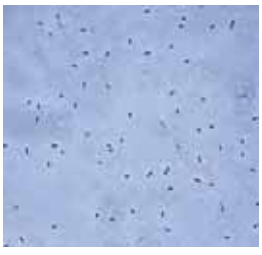
Se han aislado y descrito varias especies de *Thaumarchaeota*, que tienen las propiedades comunes del grupo. Se han aislado de diversos hábitats como el mar, sedimentos marinos, un estuario, el suelo y fuentes termales. Todos los organismos aislados son quimiolitótrofos, oxidadores de amoniaco, y la mayoría de las especies, como *N. maritimus*, pueden crecer con concentraciones muy bajas de NH_3. Las membranas de todos los *Thaumarchaeota* tienen un lípido particular llamado *crenarqueol* (↻ Figura 2.17*c*), que solo se presenta en las especies de este filo. Además, la autotrofia de los *Thaumarchaeota* se basa en el ciclo del 3-hidroxipropionato/4-hidroxibutirato, lo que distingue aún más a estos nitrificantes arqueanos de las *Bacteria* nitrificantes que usan el ciclo de Calvin para la fijación del CO_2 (↻ Sección 13.5). El ciclo del 3-hidroxipropionato/ 4-hidroxibutirato también permite la asimilación de carbono orgánico, y se ha demostrado que algunos nitrificantes arqueanos asimilan piruvato en crecimiento mixotrófico. La temperatura de crecimiento de las *Thaumarchaeota* es muy variable, pues hay especies que viven muy bien en ambientes polares, mientras que otras se desarrollan en fuentes termales de hasta 75 °C.

Nitrososphaera viennensis, que es un organismo del grupo *Thaumarchaeota* común en el suelo, puede crecer en una amplia gama de concentraciones de NH_3. Como las especies marinas de *Thaumarchaeota*, *N. viennensis* puede crecer a bajas concentraciones de amoniaco, pero, a pH neutro, también puede tolerar concentraciones altas (de hasta 10 mM). Por tanto, *N. viennensis*, y otras arqueas nitrificantes, pueden ser activas en suelos con concentraciones bastante altas de amoniaco y en estos ambientes pueden competir directamente con las bacterias nitrificantes. Además, varias especies de *Thaumarchaeota*, como *N. viennensis*, tienen actividad ureasa. *Nitrososphaera viennensis* puede crecer con urea como única fuente de energía, hidrolizándola a amoniaco, que puede luego utilizar como donador de electrones.

Distribución ambiental de las *Thaumarchaeota*

Ahora sabemos que las *Thaumarchaeota*, ubicuas en el suelo y presentes a lo largo de la columna de agua en el mar, desde el Ecuador hasta los mares polares, constituyen uno de los filos más abundantes y extendidos en nuestro planeta. En análisis de muestras de suelo o de agua de mar, estos organismos suelen constituir el grupo dominante de arqueas. Usando sondas filogenéticas fluorescentes (FISH, ↻ Sección 18.4), se han detectado taumarqueas en aguas marinas oxigenadas por todo el mundo; crecen muy bien incluso en agua de mar y hielo cerca de la Antártida (**Figura 16.15**). Las especies marinas son planctónicas (suspendidas libremente o fijadas a partículas en suspensión en la columna de agua, Figura 16.5*b*) y se presentan en número elevado (~10^4/ml) en aguas que son a la vez pobres en nutrientes y muy frías (0-4 °C en el agua marina y por debajo de 0 °C en el hielo marino). En los océanos de todo el planeta, las especies marinas de este grupo pueden constituir el 20 % del picoplancton (procariotas muy pequeños). Son particularmente abundantes en las profundidades oceánicas, donde también pueden representar hasta el 40 % del picoplancton (↻ Sección 19.12). La concentración de amoniaco en el agua de mar está a menudo en el límite de la nitrificación por arqueas, lo que sugiere que las taumarqueas desempeñan un papel importante en el control de la concentración de amoniaco en el mar (véase «Genómica y nuevas arqueas», en la página 191).

Estas arqueas son también comunes en el suelo, alcanzando de un 1 a un 2 % del RNA ribosómico total de las comunidades


Martin Könneke

(a)

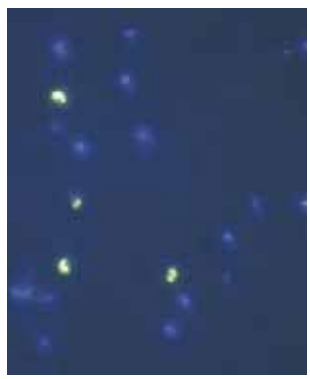

Martin Könneke

(b)

Figura 16.14 ***Nitrosopumilus maritimus*, una especie nitrificante de *Archaea*.** Este organismo puede oxidar el NH_3 presente a muy bajas concentraciones en los ambientes marinos típicos. *(a)* Microfotografía de contraste de fases. *(b)* Microfotografía con el microscopio electrónico de barrido. Una célula de *N. maritimus* mide aproximadamente 0,2 µm de diámetro.


Ed DeLong

(a)


Ed DeLong

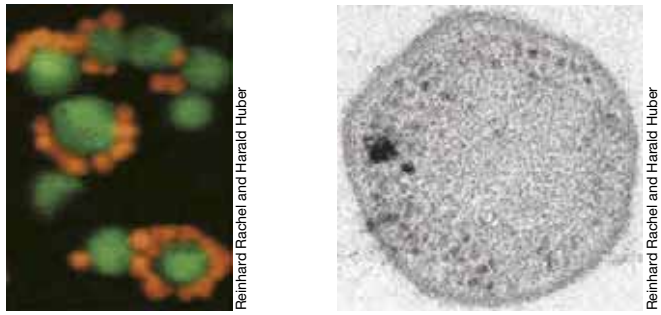
(b)

Figura 16.15 ***Thaumarcheota* de ambientes fríos.** *(a)* Foto de la Península Antártica tomada desde un barco. Las aguas gélidas bajo la superficie del hielo que aquí se muestran son el hábitat de las *Thaumarchaeota* de ambientes fríos. *(b)* Microfotografía con el microscopio de fluorescencia de agua marina tratada con una sonda FISH (↻ Sección 18.4) específica para especies de *Thaumarchaeota* (células en verde). Las células en azul están teñidas con DAPI, un colorante que tiñe todas las células.

microbianas del suelo, y en algunos suelos llegan a ser mil veces más abundantes que las bacterias nitrificantes. Se encuentran en un amplio margen de pH, de 3,5 a 8,7. Aunque están en muchos suelos, suelen ser importantes en aquellos con pH ácido (pH < 5,5), que son más del 30 % de todos los suelos. Los nitrificantes oxidan NH_3, pero si el pH es bajo, predomina la forma NH_4^+, que no es susceptible de nitrificación. La nitrificación se produce en suelos ácidos, a menudo con un rendimiento elevado, pero las bacterias nitrificantes no parecen crecer a un pH por debajo de 6,3. En cambio, la taumarquea *Nitrosotalea devanaterra*, aislada de suelos agrícolas ácidos, tiene su crecimiento óptimo a pH 4-5. La capacidad de las taumarqueas para crecer a bajas concentraciones de amoniaco explica su éxito en suelos ácidos, donde el NH_3 libre está presente a muy bajas concentraciones.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cómo obtiene energía y carbono *Nitrosopumilus maritimus*?
- ¿En qué ambientes esperaría encontrar especies de *Thaumarchaeota*?



(a) *(b)*

Figura 16.16 ***Nanoarchaeum equitans.*** *(a)* Microfotografía con el microscopio de fluorescencia de células de *N. equitans* (en rojo) adheridas a células de *Ignicoccus* (en verde). Las células están teñidas por FISH (↻ Sección 18.4), empleando sondas de ácidos nucleicos específicas para cada organismo. *(b)* Microfotografía con el microscopio electrónico de transmisión de una sección fina de una célula de *Nanoarchaeum*. Obsérvese la peculiar pared celular. Las células de *Nanoarchaeum* miden aproximadamente 0,4 µm de diámetro.

UNIDAD 3

16.7 *Nanoarchaeota* y la «bola de fuego hospitalaria»

Género principal: *Nanoarchaeum*

El filo *Nanoarchaeota* está representado por una sola especie, la extraña *Nanoarchaeum equitans,* que es uno de los organismos celulares más pequeños conocidos y que presenta el genoma menor entre las especies de *Archaea* (0,49 Mbp). Las células cocoides de *N. equitans* son muy pequeñas, de unos 0.4 µm de diámetro, y un volumen que es tan solo el 1 % del volumen de una célula de *Escherichia coli*. No pueden crecer en cultivo axénico y solo se dividen cuando están adheridas a la superficie de su organismo hospedador, *Ignicoccus hospitalis* (Sección 16.11), una especie hipertermófila de *Crenarchaeota* cuyo nombre significa «bola de fuego hospitalaria». En cada célula de *Ignicoccus* se desarrollan diez o más células de *N. equitans*, que tienen un estilo de vida aparentemente parásito (**Figura 16.16**); es el único caso conocido de simbionte dentro de las arqueas.

Nanoarchaeum y su hospedador

Nanoarchaeum equitans y su hospedador *Ignicoccus* se aislaron por primera vez de una chimenea hidrotermal submarina (↻ Sección 19.13) en el mar abierto frente a la costa de Islandia. No obstante, muestreos ambientales de genes del rRNA 16S (↻ Sección 18.5) indican que existen organismos parecidos filogenéticamente a *Nanoarchaeum* en otras chimeneas hidrotermales submarinas y en manantiales termales terrestres; por tanto, es probable que haya arqueas de este tipo distribuidas por todo el mundo en hábitats lo suficientemente calientes. *Nanoarchaeum*, al igual que su hospedador *Ignicoccus*, crece a temperaturas que varían entre los 70 y los 98 °C, con un óptimo alrededor de los 90 °C.

El metabolismo de *Nanoarchaeum* no se conoce suficientemente, pero parece depender de su hospedador para muchas funciones metabólicas. *Ignicoccus* es un autótrofo que utiliza H_2 como donador de electrones y S^0 como aceptor de electrones, por lo que probablemente proporcione a *N. equitans* carbono orgánico. *Nanoarchaeum* no puede metabolizar H_2 y S^0 para obtener energía, y no está claro si genera ATP a partir de compuestos que obtiene de *Ignicoccus* o si consigue el ATP directamente de su hospedador. El aspecto de las células de *Nanoarchaeum* es el típico de las arqueas, con una pared celular compuesta por una capa S (↻ Sección 2.12), que reviste lo que parece ser un espacio periplasmático (Figura 6.16*b*)

Aunque la secuencia de los genes del rRNA 16S sitúa a *Nanoarchaeum* claramente dentro del dominio *Archaea*, dicha secuencia se diferencia en muchos sitios de las secuencias de los genes del rRNA 16S de otras *Archaea*, incluso en regiones de la molécula que están muy conservadas entre las *Archaea*. Estas diferencias llevaron inicialmente a la conclusión que *N. equitans* sería un linaje que se separó pronto en el árbol filogenético de las *Archaea* (↻ Figura 12.13). Sin embargo, análisis filogenéticos más detallados de genes de proteínas ribosómicas sugieren que la divergencia de *N. equitans* ocurrió cuando se formaron los *Euryarchaeota* (Figura 16.1). Algunos análisis sugieren incluso que *N. equitans* pueda ser una especie de los *Euryarchaeota.* Sin embargo, el análisis genómico muestra que el organismo carece de varios genes que codifican el proceso de la información y la división celular en *Euryarchaeota*. La situación filogenética definitiva de las *Nanoarchaeota* dependerá en gran medida del descubrimiento de más especies de este grupo.

El genoma de *Nanoarchaeum equitans*

La secuencia del genoma de *N. equitans* proporciona información sobre el estilo de vida de parásito estricto de este organismo. Su genoma circular único solo tiene 490.885 nucleótidos; es uno de los genomas celulares más pequeños secuenciados (↻ Tabla 6.1). En el genoma de *N. equitans* faltan los genes para varias funciones metabólicas importantes, como los de la biosíntesis de aminoácidos, nucleótidos, coenzimas y lípidos. También faltan genes que codifican proteínas de rutas catabólicas muy frecuentes, como la glicólisis. Se supone que todas estas funciones las lleva a cabo para *Nanoarchaeum* su hospedador *Ignicoccus*, y desde este se transfieren las sustancias necesarias hasta las células de *Nanoarchaeum* que tiene adheridas. A

Nanoarchaeum le faltan también algunos de los genes necesarios para codificar ATPasa, lo que sugiere que quizás no pueda sintetizar una ATPasa funcional. Si eso fuese cierto, sería el primer caso para un organismo celular. Si no tiene ATPasa y no se produce la fosforilación a nivel de sustrato (debido a la falta de enzimas glicolíticas), entonces *Nanoarchaeum* dependería de su hospedador *Ignicoccus* tanto para la energía como para el carbono.

Son tantos los genes que le faltan, que cabe preguntarse cuáles son los que tiene el genoma de *Nanoarchaeum.* Contiene genes que codifican enzimas esenciales para la replicación del DNA, la transcripción y la traducción, así como genes que codifican las enzimas de reparación del DNA. Además de ser muy pequeño, el genoma de *Nanoarchaeum* se cuenta entre los más compactos (densos en genes) de todos los organismos conocidos; más del 95 % del cromosoma de *Nanoarchaeum* codifica proteínas. Parece que *N. equitans* está en los límites de la vida en cuanto a volumen celular y a capacidad genética.

MINIRREVISIÓN

- ¿Que aspectos de la biología de *Nanoarchaeum equitans* son especialmente interesantes desde el punto de vista evolutivo?
- ¿Por qué puede decirse que *Nanoarchaeum equitans* es un parásito del carbono y la energía?

16.8 *Korarchaeota* y el «filamento secreto»

Género principal: *Korarchaeum*

Se han descubierto secuencias de RNA ribosómico del filo *Korachaeota* en diversos hábitats geotermales, tanto submarinos como terrestres. Sin embargo, *Korarchaeum cryptofilum* (*cryptofilum* significa «filamento secreto u oculto»), es la única especie caracterizada dentro de este filo.

Korarchaeum cryptofilum se observó por primera vez como un filotipo de rRNA 16S recuperado de muestras de un manantial hidrotermal denominado Obsidian Pool en el Parque Nacional de Yellowstone (Estados Unidos), y aún no se ha obtenido en cultivo axénico, como en el caso de *N. equitans* (Sección 16.7). Sin embargo, su secuencia genómica se ha determinado por análisis metagenómico (véanse las ↔ Secciones 6.10 y 18.7) de un cultivo enriquecido. *Korarchaeum cryptofilum* es un quimioorganótrofo anaerobio estricto e hipertermófilo, que crece a 85 °C. Las células son filamentos de longitud variable largos y finos (<0,2 µm de diámetro) (**Figura 16.17*a-c***), la mayoría de los cuales miden unos 15 µm de largo, aunque algunos alcanzan los 100 µm. Los filamentos de *K. cryptofilum* tienen una fuerte capa S paracristalina, que mantiene la integridad celular en su hábitat tan cálido.

Aunque *K. cryptofilum* no ha podido obtenerse en cultivo axénico, la secuencia de su genoma proporciona información sobre su estilo de vida y se sabe que no puede llevar a cabo respiración anaerobia (con la posible excepción de la reducción de protones, ↔ Sección 13.21) y que tiene un estilo de vida fermentativo. Como otras arqueas hipertermófilas, *K. cryptofilum* crece fermentando péptidos o aminoácidos (véase la Tabla 16.6). También carece de muchos genes fundamentales para la biosíntesis, como los que determinan la síntesis de purinas, coenzima A, y varios cofactores esenciales. Probablemente, *K. cryptofilum* obtenga estos componentes esenciales del ambiente. Su incapacidad para sintetizar moléculas esenciales para su propio crecimiento puede explicarse por la evolución de la dependencia mutua, como se ha descrito en la hipótesis de la Reina Negra (véase ↔ Explorando el mundo microbiano, Capítulo 12). Esta dependencia de otros miembros de la comunidad microbiana presente en los manantiales hidrotermales justifica la dificultad de su obtención en cultivo axénico.

Como ocurre con el filo *Nanoarchaeota*, resulta difícil situar la posición filogenética de las *Korarchaeota*. El genoma de *K. cryptofilum* comprende algunos grupos de genes que presentan afinidad con los *Euryarchaeota* y otros que la presentan con los *Crenarchaeota*. Por ejemplo, el análisis filogenético de las proteínas ribosómicas, las subunidades de la RNA polimerasa y los genes del rRNA indican que existe afinidad entre *Crenarchaeota* y *Korarchaeota*. En cambio, los genes relacionados con la división celular, la maduración del tRNA y la replicación y reparación del DNA indican que existe afinidad entre *Euryarchaeota*

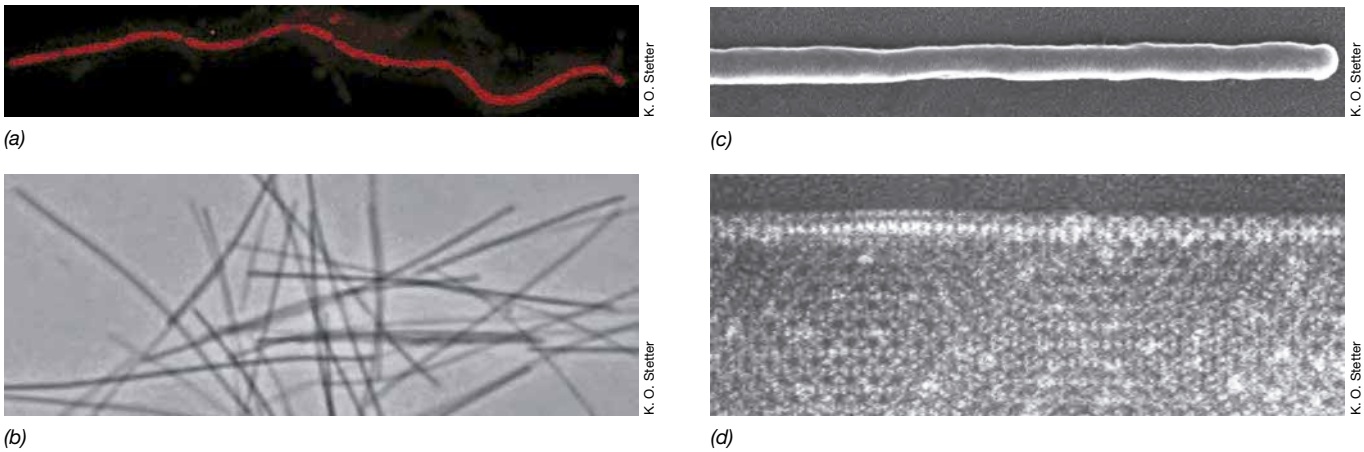


Figura 16.17 ***Korarchaeum cryptofilum.*** *(a)* Para identificar la morfología de las *Korarchaeota* en un cultivo de enriquecimiento a 85 °C, se usó hibridación fluorescente *in situ* (FISH). *(b)* Imagen de filamentos de *K. cryptofilum* por contraste de fases. *(c)* Microfotografía de un filamento de *K. cryptofilum* visto al microscopio electrónico de barrido. *(d)* Microfotografía con el microscopio electrónico de transmisión de la superficie de un filamento de *K. cryptofilum* mostrando la capa S paracristalina (↔ Sección 2.12). Los filamentos de *K. cryptofilum* tienen aproximadamente 0,17 µm de ancho y 15 µm de largo.

y *Korarchaeota*. La composición genética exclusiva de *K. cryptofilum* apoya su colocación en la base de la radiación de las arqueas (Figura 16.1), pero futuras investigaciones sobre esta interesante arquea aclarará su posición real.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cuál es la causa más probable por la que es difícil aislar *Korarchaeum cryptofilum* en cultivo axénico?

III • *Crenarchaeota*

Entre las arqueas cultivables en el laboratorio, las del filo ***Crenarchaeota*** son las más hipertermófilas y comprenden especies que crecen de modo óptimo por encima del punto de ebullición del agua. Muchos hipertermófilos son quimiolitótrofos autótrofos, y debido a que los fotótrofos no resisten esas temperaturas, estos organismos son los productores primarios en estos hábitats.

16.9 Hábitats y metabolismo energético de *Crenarchaeota*

La mayoría de las arqueas hipertermófilas se han aislado de suelos o aguas calentados por energía geotérmica, que contienen azufre elemental y sulfuro de hidrógeno, y la mayoría de las especies metabolizan el azufre de una forma u otra. En ambientes terrestres, las fuentes termales ricas en sulfuros, lodo en ebullición y ciertos suelos pueden tener temperaturas de hasta 100 °C, y pueden ser desde ambientes moderadamente ácidos hasta extremadamente ácidos, debido a la producción de ácido sulfúrico (H_2SO_4), que procede de la oxidación biológica del H_2S y del S^0 (↷ Secciones 13.8 y 20.4). Estos ambientes calientes y ricos en sulfuros, denominados **solfataras**, pueden encontrarse por todo el mundo (**Figura 16.18**), por ejemplo en Italia, Islandia, Nueva Zelanda y el Parque Nacional de Yellowstone en Wyoming (Estados Unidos). Dependiendo de la geología del terreno circundante, las solfataras pueden ser desde moderadamente ácidas a ligeramente alcalinas (pH 5-8), o extremadamente ácidas, con valores de pH inferiores a 1. Las



(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 16.18 Hábitats de *Archaea* hipertermófilas en el Parque Nacional de Yellowstone (Wyoming, Estados Unidos). *(a)* Una solfatara típica; el vapor de agua rico en H_2S sube hasta la superficie. *(b)* Manantial termal rico en azufre, un hábitat con una densa población de *Sulfolobus*. La acidez de las solfataras y de los manantiales sulfurosos proviene de la oxidación del H_2S y S^0 hasta H_2SO_4 (ácido sulfúrico), por parte de *Sulfolobus* y otros procariotas relacionados. *(c)* Imperial Geyser, un manantial hirviente típico de pH neutro, donde pueden vivir muchas especies diferentes de *Archaea* hipertermófilas. *(d)* Un manantial geotermal ácido y rico en hierro, que constituye otro hábitat para *Sulfolobus*. Aquí, las condiciones ácidas están producidas por la oxidación de Fe^{2+} hasta Fe^{3+}.

UNIDAD 3

crenarqueotas hipertermófilas se han obtenido en todos estos ambientes, pero la mayoría se encuentran en hábitats termales neutros o débilmente ácidos.

Las crenarqueotas hipertermófilas también viven en las fuentes termales submarinas denominadas **chimeneas hidrotermales**. Analizaremos la geología y microbiología de estos hábitats en la Sección 19.13. Aquí solo destacaremos que el agua del fondo del mar puede estar mucho más caliente que el agua de la superficie, porque el agua del fondo se encuentra sometida a una presión hidrostática. De hecho, todos los hipertermófilos cuya temperatura óptima de crecimiento supera los 100 °C han sido aislados en hábitats submarinos. Entre estos hábitats hay chimeneas de aguas someras (a una profundidad de 2-10 m), como las de la costa de Vulcano, en Italia, y de aguas profundas (entre 2.000 y 4.000 metros), cercanas a las dorsales oceánicas (Sección 16.14). Las chimeneas hidrotermales del fondo oceánico son los ambientes más calientes conocidos donde se han encontrado procariotas.

Con unas pocas excepciones, las crenarqueotas hipertermófilas son organismos anaerobios estrictos. Su metabolismo de producción de energía puede ser quimiorganótrofo o quimiolitótrofo (o de ambos tipos, por ejemplo, en *Sulfolobus*) y depende de donadores y aceptores de electrones variados. La fermentación es infrecuente y la mayoría de las estrategias bioenergéticas implican algún tipo de respiración anaerobia (Tabla 16.6). Durante estos procesos respiratorios la energía se conserva por el mismo mecanismo general tan extendido entre las bacterias: la transferencia de electrones en la membrana citoplasmática, dirigida a la generación de fuerza protonmotriz, que se aprovecha para producir ATP por medio de ATPasas translocadoras de protones (↻ Sección 3.11). En las arqueas no se conoce la clásica fosforilación a nivel de sustrato, que es una seña de identidad de las bacterias fermentadoras (↻ Sección 3.7).

Muchas crenarqueotas hipertermófilas pueden crecer quimiolitotróficamente en condiciones anóxicas, con H_2 como donador de electrones y S^0 o NO_3^- como aceptores de electrones; unas cuantas también pueden oxidar H_2 aeróbicamente (Tabla 16.6). La respiración de H_2 con ion férrico (Fe^{3+}) como aceptor de electrones se da en varias hipertermófilas. Otros estilos de vida quimiolitótrofos incluyen la oxidación de S^0 y Fe^{2+} aeróbicamente, o la de Fe^{2+} anaeróbicamente con NO_3^- como aceptor de electrones (Tabla 16.6). Solo se conoce un hipertermófilo reductor de sulfato (*Archaeoglobus*, de las *Euryarchaeae*, Sección 16.5). La única opción bioenergética que no parece posible es la fotosíntesis, un medio de captación de energía que parece ser que está limitado a temperaturas por debajo de 74 °C (véase la Figura 16.28).

Tabla 16.6 Reacciones de producción de energía en *Archaea* hipertermófilas

Clase nutricional	*Reacción energética*	*Tipo metabólico*[a]	*Ejemplo*[b]
Quimiorganótrofo	Compuesto orgánico + $S^0 \rightarrow H_2S + CO_2$	AnR	*Thermoproteus, Thermococcus, Desulfurococcus, Thermofilum, Pyrococcus*
	Compuesto orgánico + $SO_4^{2-} \rightarrow H_2S + CO_2$	AnR	*Archaeoglobus*
	Compuesto orgánico + $O_2 \rightarrow H_2O + CO_2$	AeR	*Sulfolobus*
	Compuesto orgánico $\rightarrow CO_2 + H_2$ + ácidos grasos	AnR	*Staphylothermus, Pyrodictium*
	Compuesto orgánico + $Fe^{3+} \rightarrow CO_2 + Fe^{2+}$	AnR	*Pyrodictium*
	Compuesto orgánico + $NO_3^- \rightarrow CO_2 + N_2$	AnR	*Pyrobaculum*
	Piruvato $\rightarrow CO_2 + H_2$ + acetato	AnR	*Pyrococcus*
	Péptidos	F	*Hyperthermus, Korarchaeum*
Quimiolitótrofo	$H_2 + S^0 \rightarrow H_2S$	AnR	*Acidianus, Pyrodictium, Thermoproteus, Stygiolobus, Ignicoccus*
	$H_2 + NO_3^- \rightarrow NO_2^- + H_2O$ (algunas especies reducen NO_2^- a N_2)	AnR	*Pyrobaculum*
	$4\ H_2 + NO_3^- + H^+ \rightarrow NH_4^+ + 2\ H_2O + OH^-$	AnR	*Pyrolobus*
	$H_2 + 2\ Fe^{3+} \rightarrow 2\ Fe^{2+} + 2\ H^+$	AnR	*Pyrobaculum, Pyrodictium, Archaeoglobus*
	$2\ H_2 + O_2 \rightarrow 2\ H_2O$	AeR	*Acidianus, Sulfolobus, Pyrobaculum*
	$2\ S^0 + 3\ O_2 + 2\ H_2O \rightarrow 2\ H_2SO_4$	AeR	*Sulfolobus, Acidianus*
	$2\ FeS_2 + 7\ O_2 + 2\ H_2O \rightarrow 2\ FeSO_4 + 2\ H_2SO_4$	AeR	*Sulfolobus, Acidianus, Metallosphaera*
	$2\ FeCO_3 + NO_3^- + 6\ H_2O \rightarrow 2\ Fe(OH)_3 + NO_2^- + 2\ HCO_3^- + 2\ H^+ + H_2O$	AnR	*Ferroglobus*
	$4\ H_2 + SO_4^{2-} + 2\ H^+ \rightarrow 4\ H_2O + H_2S$	AnR	*Archaeoglobus*
	$4\ H_2 + CO_2 \rightarrow CH_4 + 2\ H_2O$	AnR	*Methanopyrus, Methanocaldococcus, Methanothermus*

[a]AnR, respiración anerobia; AeR, respiración aerobia; F, fermentación.
[b]La mayoría son *Crenarchaeota*; véase la Figura 16.1.

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué es improbable encontrar en manantiales termales terrestres a hipertermófilos con temperatura óptima de crecimiento superior a 100 °C?
- ¿Qué tipo de metabolismo energético está extendido entre los hipertermófilos?

16.10 *Crenarchaeota* de hábitats volcánicos terrestres

Géneros principales: *Sulfolobus*, *Acidianus*, *Thermoproteus*, *Pyrobaculum*

Los hábitats volcánicos terrestres pueden alcanzar temperaturas de hasta 100 °C y son, por tanto, adecuados para las arqueas hipertermófilas. *Sulfolobus* y *Acidianus* son dos organismos relacionados filogenéticamente aislados de dichos ambientes. Estos géneros forman el núcleo del orden denominado *Sulfolobales* (Tabla 16.7). Además, *Sulfolobus* es un organismo modelo para estudios de biología molecular de las arqueas.

Sulfolobales

Sulfolobus crece en zonas con manantiales hidrotermales ácidos, ricos en azufre (Figura 16.18), a temperaturas de hasta 90 °C y a valores de pH entre 1 y 5. Es un quimiolitótrofo aerobio, que oxida H_2S o S^0 hasta SO_4^{2-} y fija CO_2 como fuente de carbono; también puede crecer como quimiorganótrofo. Las células de *Sulfolobus* son más o menos esféricas, pero son claramente lobuladas (Figura 16.19*a*) y se adhieren fuertemente a cristales de azufre, donde son visibles al microscopio si se tiñen con colorantes fluorescentes (↻ Figura 13.21*b*). Además de la respiración aerobia de azufre o de compuestos orgánicos, *Sulfolobus* también puede oxidar Fe^{2+} hasta Fe^{3+}, y esta propiedad se ha aplicado en la biolixiviación a alta temperatura de mineral de hierro y de cobre (↻ Secciones 20.5 y 21.1).

Table 16.7 Propiedades de algunas Crenarqueotas hipertermófilas

			Temperatura			
Orden/Género[a]	*Morfología*	*Relación con el O_2*[b]	*Mínimo*	*Óptimo*	*Máximo*	*pH óptimo*
Sulfolobales						
Sulfolobus	Coco lobulado	Ae	55	75	87	2-3
Acidianus	Coco	Fac	60	88	95	2
Metallosphaera	Coco	Ae	50	75	80	2
Stygiolobus	Coco lobulado	An	57	80	89	3
Sulfurisphaera	Coco	Fac	63	84	92	2
Sulfurococcus	Coco	Ae	40	75	85	2,5
Thermoproteales						
Thermoproteus	Bacilo	An	60	88	96	6
Thermofilum	Bacilo	An	70	88	95	5,5
Pyrobaculum	Bacilo	Fac	74	100	102	6
Caldivirga	Bacilo	An	60	85	92	4
Thermocladium	Bacilo	An	60	75	80	4,2
Desulfurococcales						
Desulfurococcus	Coco	An	70	85	95	6
Aeropyrum	Coco	Ae	70	95	100	7
Staphylothermus	Cocos en grupo	An	65	92	98	6-7
Pyrodictium	Forma de disco con filamentos	An	82	105	110	6
Pyrolobus	Coco lobulado	Fac	90	106	113	5,5
Thermodiscus	Forma de disco	An	75	90	98	5,5
Ignicoccus	Coco irregular	An	65	90	103	5
Hyperthermus	Coco irregular	An	75	102	108	7
Stetteria	Coco	An	68	95	102	6
Sulfophobococcus	Forma de disco	An	70	85	95	7,5
Thermosphaera	Coco	An	67	85	90	7
Cepa 121[c]	Coco	An	85	106	121	7

[a]Los nombres de grupo acabados en «ales» corresponden a órdenes.
[b]Ae, aerobio; An, anaerobio; Fac, facultativo.
[c]También conocido con el nombre taxonómico no oficial de «*Geodemma barossii*».

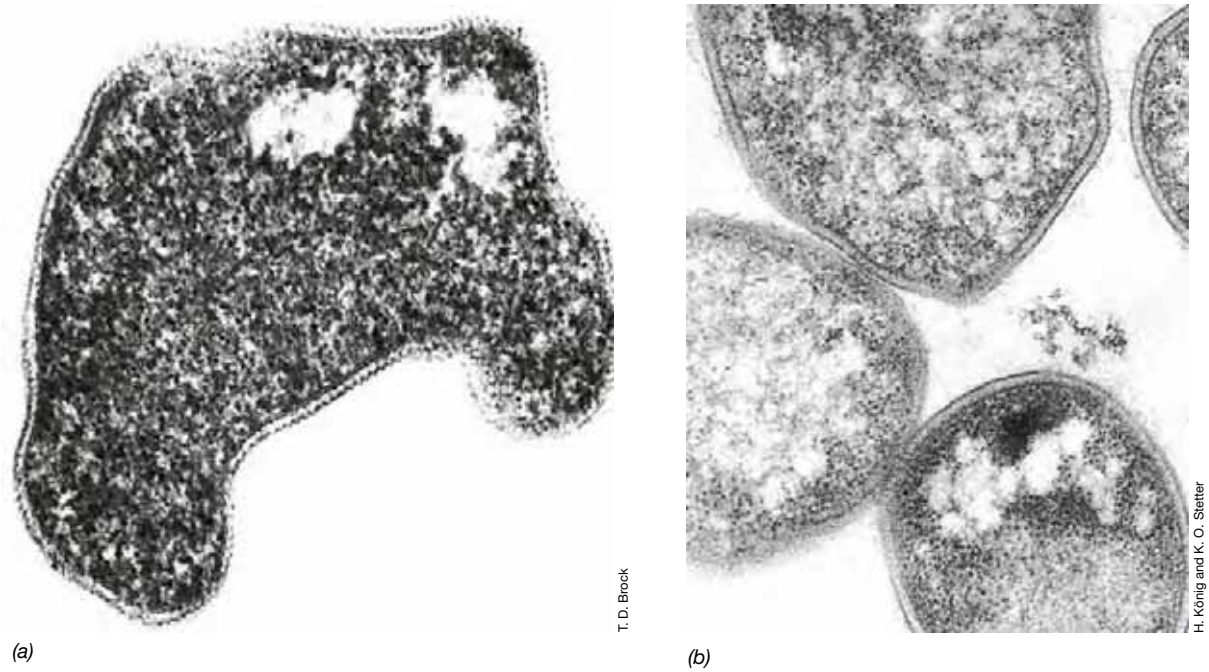


Figura 16.19 **Las *Sulfolobales*, *Archaea* hipertermófilas y acidófilas.** *(a) Sulfolobus acidocaldarius.* Microfotografía con el microscopio electrónico de una sección fina. *(b) Acidianus infernus.* Microfotografía con el microscopio electrónico de una sección fina. Las células de ambos organismos varían entre los 0,8 y los 2 µm de diámetro. Típicamente, las *Sulfolobales* tienen temperaturas óptimas por debajo de 90 °C (Tabla 16.7).

Existe un aerobio facultativo que también vive en solfataras ácidas y se parece a *Sulfolobus*. Este organismo, llamado *Acidianus* (Figura 16.19*b*), se diferencia de *Sulfolobus* fundamentalmente por su capacidad para crecer utilizando azufre elemental tanto aerobia como anaeróbicamente. En condiciones aerobias este organismo emplea S^0 como *donador* de electrones, y lo oxida hasta H_2SO_4, utilizando O_2 como aceptor de electrones. Cuando crece anaeróbicamente, *Acidianus* utiliza S^0 como *aceptor* de electrones y H_2 como donador de electrones, formando H_2S como producto reducido. Por tanto, el destino metabólico del S^0 en los cultivos de *Acidianus* depende de la presencia o ausencia de O_2. El género *Acidianus* es más o menos esférico, como *Sulfolobus*, pero no está tan lobulado (Figura 16.19*b*). Crece a temperaturas que varían desde 65 °C hasta un máximo de 95 °C, con un óptimo de 90 °C. Como grupo, las sulfolobales contienen los organismos más termófilos de todas las arqueas más acidófilas.

Thermoproteales

Los géneros principales de las *Thermoproteales* son *Thermoproteus*, *Thermofilum* y *Pyrobaculum*. Los géneros *Thermoproteus* y *Thermofilum* están formados por bacilos que habitan en manantiales hidrotermales neutros o ligeramente ácidos. Las células de *Thermoproteus* son bacilos rígidos, de aproximadamente 0,5 µm de diámetro y de longitud muy variable, desde células cortas de 1-2 µm (**Figura 16.20*a***) hasta filamentos de 70-80 µm de longitud. Los filamentos de *Thermofilum* son más finos, unos 0,17-0,35 µm de ancho, con una longitud que puede llegar hasta los 100 µm (Figura 16.20*b*).

Tanto *Thermoproteus* como *Thermofilum* son anaerobios estrictos que llevan a cabo una respiración anaerobia basada en el S^0 (Tabla 16.6). La mayoría de los aislados de *Thermoproteus* crecen quimiolitotróficamente utilizando H_2, o quimiorganotróficamente

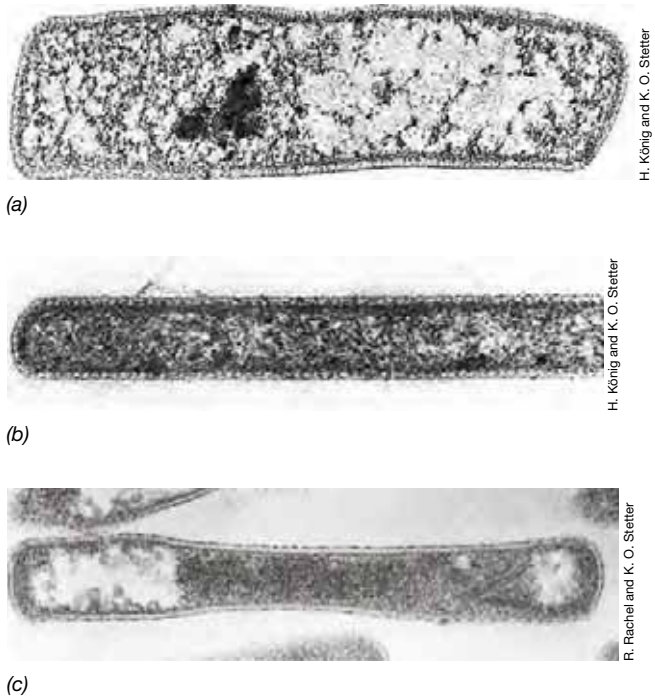


Figura 16.20 **Las *Termoproteales*, unas *Archaea* hipertermófilas con morfología bacilar.** *(a) Thermoproteus neutrophilus.* Microfotografía con el microscopio electrónico de una sección fina. Cada célula mide aproximadamente 0,5 µm de diámetro. *(b) Thermofilum librum.* Cada célula mide aproximadamente 0,25 µm de diámetro. *(c) Pyrobaculum aerophilum.* Microfotografía con el microscopio electrónico de transmisión de una sección fina; cada célula mide aproximadamente 0,5 × 3,5 µm. Aunque la temperatura óptima de *P. aerophilum* es 100 °C, la óptima para otros *Thermoproteales* está por debajo de 90 °C (Tabla 16.7).

utilizando sustratos de carbono complejos, como extracto de levadura, péptidos pequeños, almidón, glucosa, etanol, malato, fumarato o formiato (Tabla16.6). *Pyrobaculum* (Figura 16.20*c*) es un bacilo hipertermófilo, pero fisiológicamente distinto de otras *Termoproteales*, porque algunas especies de *Pyrobaculum* pueden respirar aeróbicamente. Sin embargo, *Pyrobaculum* pueden crecer también mediante respiración anaerobia utilizando NO_3^-, Fe^{3+} o S^0 como aceptores de electrones, y H_2 como donador de electrones (es decir, pueden crecer quimiolitotróficamente y autotróficamente). Otras especies de *Pyrobaculum* pueden crecer anaeróbicamente utilizando donadores orgánicos de electrones, reduciendo S^0 hasta H_2S. La temperatura óptima de crecimiento de esta arquea es de 100 °C y algunas especies de este organismo se han aislado en fuentes hidrotermales terrestres y en chimeneas hidrotermales submarinas.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cuáles son las principales diferencias entre *Sulfolobus* y *Pyrolobus*?
- En las *Thermoproteales*, ¿qué tiene de especial el metabolismo de *Pyrobaculum*?

16.11 *Crenarchaeota* de hábitats volcánicos submarinos

Géneros principales: *Pyrodictium, Pyrolobus, Ignicoccus, Staphylothermus*

Ahora analizaremos la microbiología de los hábitats volcánicos submarinos, donde viven las arqueas más hipertermófilas conocidas. Estos hábitats comprenden manantiales hidrotermales de aguas someras y chimeneas hidrotermales de las grandes profundidades oceánicas. En la Sección 19.13 analizaremos la geología de estos fascinantes hábitats microbianos y en la Sección 22.12 conoceremos las interesantes comunidades animales que allí se desarrollan. Los organismos que ahora describiremos constituyen un orden de las arqueas denominado *Desulfurococcales* (Tabla 16.7).

Pyrodictium y *Pyrolobus*

Pyrodictium y *Pyrolobus* son ejemplos de microorganismos cuya temperatura óptima de crecimiento supera los 100 °C; el óptimo para *Pyrodictium* es de 105 °C y para *Pyrolobus* es de 106 °C. Las células de *Pyrodictium* tienen forma de disco irregular y cuando crecen en cultivo forman una capa de aspecto micelial fijada a cristales de azufre elemental. La masa celular está formada por una red de fibras a las que se fijan las células individuales (**Figura 16.21*a***). Las fibras son huecas y están formadas por proteínas dispuestas de manera semejante a las de los flagelos bacterianos (↔ Sección 2.17). Sin embargo, estos filamentos no están relacionados con la movilidad, sino que funcionan como órganos de adhesión. La pared celular de *Pyrodictium* está compuesta de glicoproteínas. Fisiológicamente, *Pyrodictium* es un anaerobio estricto que crece quimiolitotróficamente utilizando H_2, con S^0 como aceptor de electrones, o quimiorganotróficamente utilizando mezclas complejas de compuestos orgánicos (Tabla 16.6).

Pyrolobus fumarii (Figura 16.21*c*) es uno de los más termófilos entre los hipertermófilos, con una temperatura máxima de crecimiento de 113 °C (Tabla 16.7). Vive en las paredes de las chimeneas hidrotermales (↔ Sección 9.13 y Figuras 19.35, 19.37 y 19.38), donde su actividad como autótrofo proporciona carbono orgánico a este ambiente, por lo demás inorgánico. Las células de *Pyrolobus* son cocoidales (Figura 16.21*c*) y su pared celular está compuesta por proteínas. Este organismo es un quimiolitótrofo estricto de H_2, que crece mediante la oxidación del H_2 acoplada a la reducción NO_3^- hasta amonio (NH_4^+), tiosulfato ($S_2O_3^{2-}$) hasta H_2S, o concentraciones muy bajas de O_2 hasta H_2O. Además de su naturaleza extremadamente termófila, *P. fumarii* también resiste temperaturas muy por encima de su temperatura máxima de crecimiento. Por ejemplo, los cultivos de *P. fumarii* sobreviven al autoclave (121 °C) durante una hora, una situación que no pueden resistir ni siquiera las endósporas bacterianas (↔ Sección 2.16).

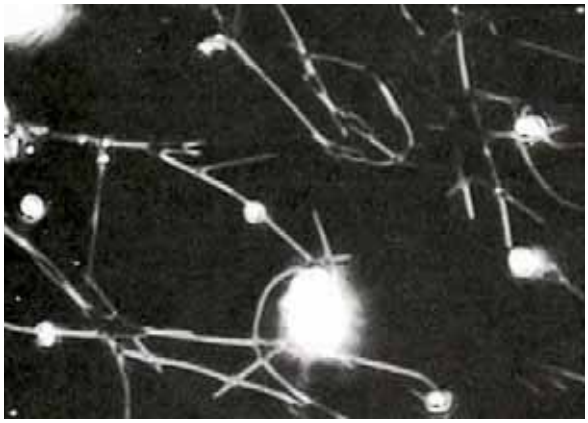
Otro organismo de este grupo, al que se le ha asignado el nombre provisional de «Cepa 121», comparte con *Pyrolobus* una temperatura óptima de crecimiento de 106 °C. Sin embargo, este nuevo organismo puede crecer, aunque débilmente, hasta 121 °C, y las células permanecen viables después de dos horas a 130 °C. Solo el metanógeno hipertermófilo *Methanopyrus* puede crecer a mayor temperatura (122 °C, Sección 16.4). La Cepa 121 está formada por células cocoidales flageladas (Figura 16.21*d*), y es un organismo anaerobio estricto que crece quimiolitotróficamente y autotróficamente con Fe^{3+} como aceptor de electrones, y formiato o H_2 como donadores de electrones. Es evidente que el grupo *Pyrodictium*/*Pyrolobus* comprende en conjunto los procariotas más hipertermófilos que se conocen.

Desulfurococcus e *Ignicoccus*

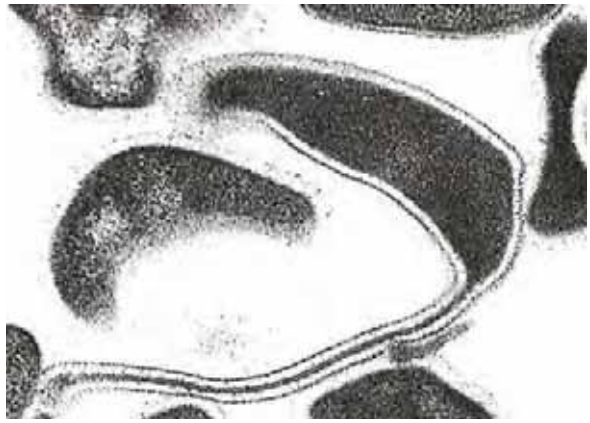
Otros miembros destacados de las *Desulfurococcales* son *Desulfurococcus*, el género que da nombre a este orden (**Figura 16.22**) e *Ignicoccus*. *Desulfurococcus* es un organismo anaerobio estricto que reduce S^0, al igual que *Pyrodictium*, pero que se diferencia de este último en su filogenia y en que es mucho menos termófilo, ya que crece a una temperatura óptima de 85 °C.

Ignicoccus crece a una temperatura óptima de 90 °C, con un metabolismo basado en H_2 como donador de electrones y S^0 como aceptor, como en tantas arqueas hipertermófilas (Tabla 16.6). Algunas especies de *Ignicoccus* son hospedadoras de la pequeña arquea parásita *Nanoarchaeum equitans* (Sección 16.7). *Ignicoccus* (Figura 16.22*b*) tiene una estructura celular novedosa que carece de la capa S y posee una *membrana celular externa* exclusiva. Esta membrana externa es distinta en algunos aspectos de la membrana externa de las bacterias gramnegativas (↔ Sección 2.11). Lo más destacable de esta membrana es que contiene ATPasa y es el sitio de generación de energía. *Ignicoccus* también tiene una membrana celular interna que rodea al citoplasma y contiene las enzimas que intervienen en la biosíntesis y otros procesos de información. Por tanto, ni la membrana externa ni la membrana interna de la célula se ajustan a la típica definición de una membrana citoplásmica (↔ Sección 2.7).

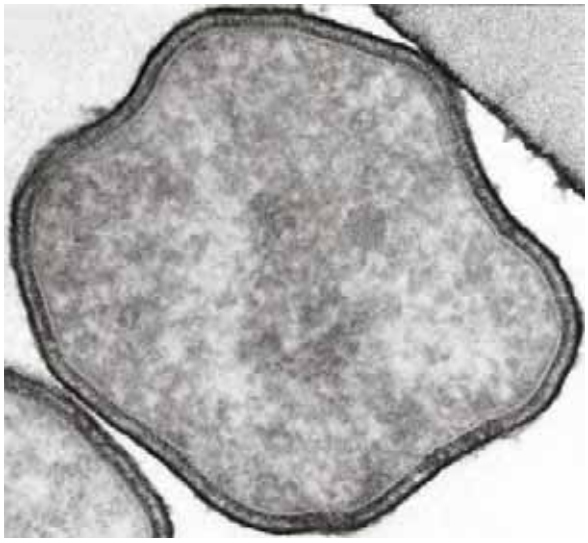
Entre la membrana interna y la externa de *Ignicococcus* hay un amplio *espacio intermedio* que es análogo al periplasma de las bacterias gramnegativas, pero de mucho mayor volumen, alcanzando dos o tres veces el volumen del citoplasma (Figura 16.22*b*). El periplasma de esta arquea también contiene vesículas unidas


H. König and K. O. Stetter

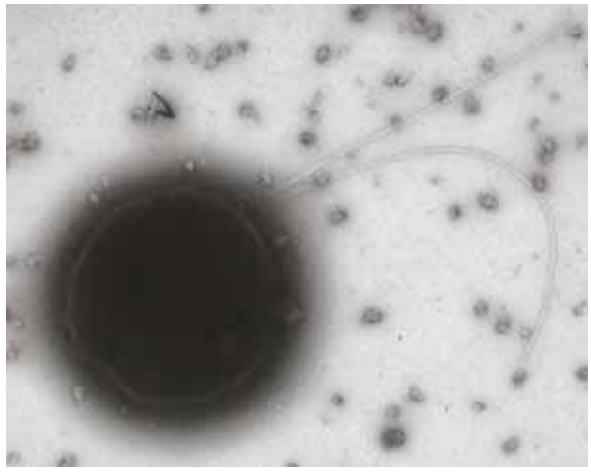
(a)


H. König and K. O. Stetter

(b)


R. Rachel and K. O. Stetter

(c)


Kazem Kashefi

(d)

Figura 16.21 ***Desulfurococcales* con una temperatura óptima de crecimiento >100 °C.** *(a) Pyrodictium occultum* (temperatura óptima de crecimiento, 105 °C), microfotografía de campo oscuro. *(b)* Microfotografía con el microscopio electrónico de una sección fina de *P. occultum*. Las células tienen un diámetro muy variable, entre 0,3 y 2,5 µm. *(c)* Sección fina de una célula de *Pyrolobus fumarii*, una de las bacterias más termófilas conocidas (temperatura óptima de crecimiento, 106 °C); una célula mide aproximadamente 1,4 µm de diámetro. *(d)* Tinción negativa de una célula de la «Cepa 121», capaz de crecer a 121 °C; una célula mide aproximadamente 1 µm de ancho. Aunque las *Desulfurococcales* contienen el mayor número de hipertermófilos capaces de crecer por encima de 100 °C, la más termófila de todas las arqueas conocidas es realmente una euriarqueota, *Methanopyrus* (Sección 16.4).

a la membrana (Figura 16.22*b*) que pueden servir para exportar sustancias fuera de la célula. De este modo, la estructura celular de *Ignicoccus* se parece a la de los *Eukarya* y por ello se ha propuesto que podría ser un descendiente moderno del tipo ancestral de célula que dio origen a las células eucariotas (↻ Figura 12.9).

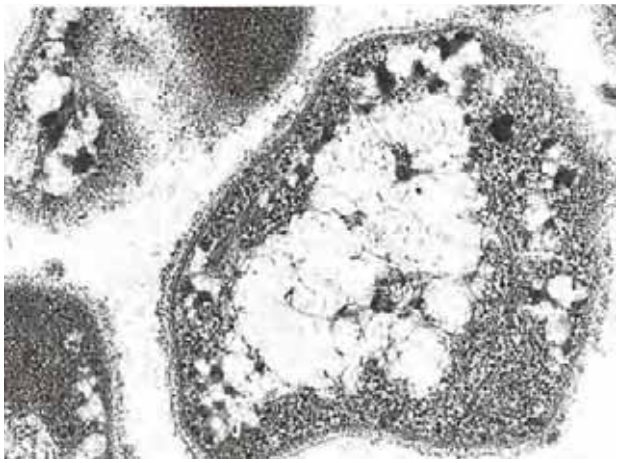
Staphylothermus

El género *Staphylothermus* (**Figura 16.23**) es un miembro del orden *Desulfurococcales* con una morfología especial. Sus células son esféricas, de aproximadamente 1 µm de diámetro, y forman agregados de hasta 100 células, como lo hace *Staphylococcus*, su equivalente morfológico en el dominio *Bacteria* (↻ Figuras 15.20 y 29.29*a*). A diferencia de tantos hipertermófilos, *Staphylothermus* no es un quimiolitótrofo, sino un quimiorganótrofo, que crece a una temperatura óptima de 92 °C. Este organismo consigue su energía mediante la fermentación de péptidos, y genera los ácidos grasos acetato e isovalerato como productos de fermentación (Tabla 16.6).

Staphylothermus se ha aislado de chimeneas hidrotermales de fondos marinos someros y de las extremadamente calientes chimeneas hidrotermales (Figura 16.24; ↻ Sección 19.13). Este organismo está aparentemente muy extendido por zonas submarinas termales, donde es probable que desempeñe una función importante como consumidor de las proteínas liberadas en la descomposición de organismos muertos.

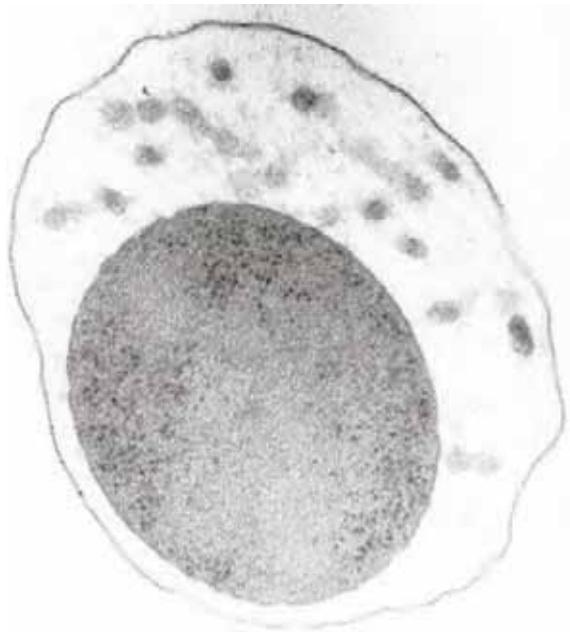
MINIRREVISIÓN

- ¿Qué podemos concluir sobre el grupo *Pyrodictium/Pyrolobus* respecto a la vida a altas temperaturas?
- ¿Qué estructuras especiales se encuentran en *Ignicoccus* y *Staphylothermus*?



R. Rachel and K. O. Stetter

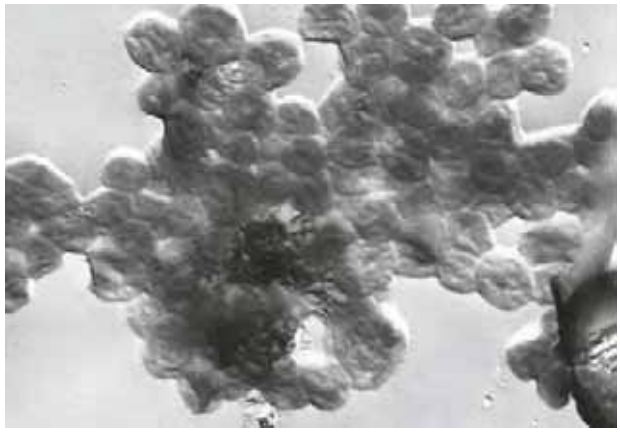
(a)



Reinhard Rachel and Karl O. Stetter

(b)

Figura 16.22 ***Desulfurococcales* con una temperatura óptima de crecimiento < 100 °C.** *(a)* Sección fina de *Desulfurococcus saccharovorans*; una célula mide aproximadamente 0,7 µm de diámetro. *(b)* Sección fina de *Ignicoccus islandicus*. La célula está rodeada de un periplasma extremadamente grande. La célula en sí mide aproximadamente 1 µm de diámetro, mientras que la célula con el periplasma incluido mide 1,4 µm.



H. König and K. O. Stetter

Figura 16.23 **El hipertermófilo *Staphylothermus marinus*.** Microfotografía con el microscopio electrónico de una preparación de células sombreadas. Cada célula mide aproximadamente 1 µm de diámetro.

IV • Evolución y vida a altas temperaturas

La mayoría de los hipertermófilos descubiertos hasta ahora son especies de arqueas y algunas crecen cerca de lo que podría ser el límite superior de temperatura para la vida. En esta sección analizaremos los factores principales que probablemente definan el límite superior de temperatura para la vida y las adaptaciones biológicas de los hipertermófilos que les permite sobrevivir a temperaturas excepcionalmente altas, iguales o superiores a los 100 °C. Cerraremos esta sección analizando la importancia del metabolismo del hidrógeno para la biología de los hipertermófilos.

16.12 Un límite superior de temperatura para la vida microbiana

Los hábitats que contienen agua líquida, lo que constituye un requisito previo para la vida celular, y que están a temperaturas superiores a 100 °C, se encuentran solamente en los sitios por donde el agua calentada geotérmicamente mana de las chimeneas o fisuras del fondo marino (↻ Figuras 12.3 y 19.34-19.38).

La presión hidrostática que actúa sobre el agua en estos hábitats la mantiene sin hervir y hace posible que alcance temperaturas de hasta 400 °C en chimeneas hidrotermales a varios kilómetros de profundidad. En cambio, los manantiales hidrotermales terrestres sí que pueden hervir, y por tanto solo alcanzan temperaturas de unos 100 °C. Por tanto, no es de extrañar que en las chimeneas hidrotermales submarinas abunden los hipertermófilos, con temperatura de crecimiento óptima superior a 100 °C (Tabla 16.7).

Las chimeneas hidrotermales submarinas emiten fluidos a una temperatura que va de los 250 a los 350 °C, o más. A medida que el fluido tan caliente se mezcla con el agua de mar circundante, mucho más fría, precipitan los sulfuros metálicos que contiene y se van formando unas acumulaciones o estructuras verticales denominadas *chimeneas* (**Figura 16.24**). Según parece, el agua supercalentada que fluye es de por sí estéril. Sin embargo, los hipertermófilos son muy abundantes en las paredes de las chimeneas, donde la temperatura es compatible con su desarrollo y supervivencia (↔ Sección 19.13 y Figura 19.37). Estudiando estructuras como estas podemos preguntarnos cuál es el límite superior de temperatura para la vida microbiana (y presumiblemente para todas las formas de vida).

¿Cuál es el límite superior de temperatura para la vida?

¿Hasta qué temperatura pueden sobrevivir los hipertermófilos? En las últimas décadas, el límite superior conocido de temperatura que permite la vida ha continuado subiendo cada vez más, a medida que se han ido aislando y caracterizando nuevas especies de termófilos e hipertermófilos (**Figura 16.25**). Hasta hace muy poco, el récord lo poseía *Pyrolobus fumarii* (Figura 16.21*c*), con un límite superior de temperatura de 113 °C . Sin embargo, el que muestra la máxima resistencia a la temperatura, por ahora, es *Methanopyrus* (Sección 16.4 y Figura 16.12), que ha llevado el límite algo más arriba, con su capacidad de crecer a 122 °C y de sobrevivir períodos considerables incluso a mayor temperatura. Vista la tendencia de los últimos años (Figura 16.25), podemos predecir que en los ambientes hidrotermales quizás existan *Archaea* incluso más hipertermófilas que *Methanopyrus*, pero que todavía no han sido aisladas. Muchos expertos predicen que el límite superior de temperatura para la vida procariota probablemente supere los 140 °C, o quizás incluso los 150 °C, y que una temperatura máxima, que permita la supervivencia, pero no el crecimiento, podría ser todavía superior.

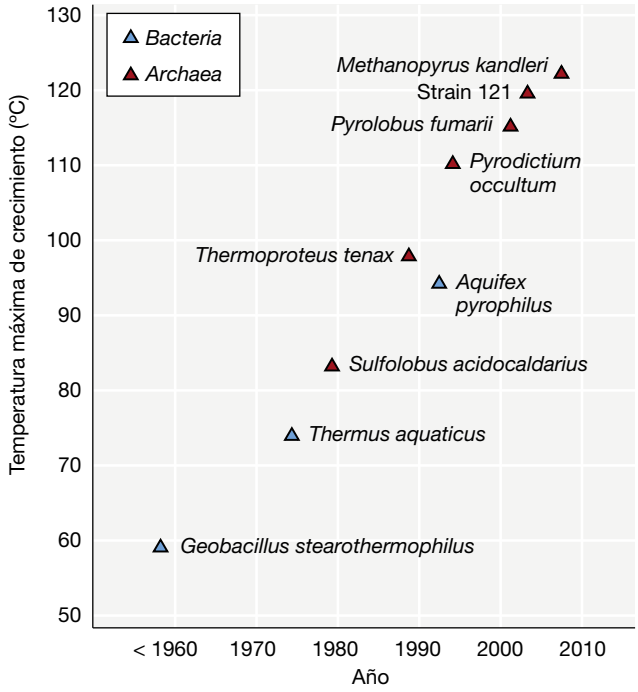
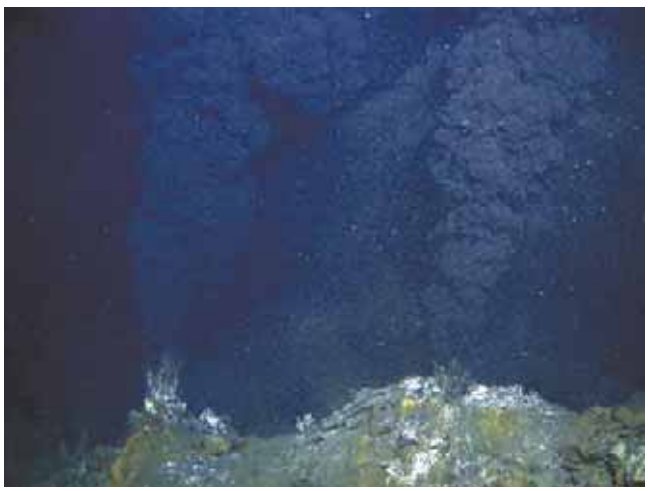


Figura 16.25 **Procariotas termófilos e hipertermófilos.** La gráfica muestra las especies que en su momento poseyeron el récord de crecimiento a la temperatura más alta, desde antes de 1960 hasta el momento actual.



Anna-Louise Reysenbach and Woods Hole Oceanographic Institution

Figura 16.24 **Emanaciones hidrotermales.** Chimenea hidrotermal de la zona de emanación Rainbow, en el sistema hidrotermal de la dorsal oceánica del Atlántico medio. El fluido que emiten las dos pequeñas chimeneas tiene una temperatura superior a los 300 °C.

Problemas bioquímicos a temperaturas supercríticas

Cualquiera que sea el límite superior de temperatura, es probable que esté definido por una o más limitaciones bioquímicas que la evolución no ha podido superar. Obviamente existe un límite superior, pero aún no lo conocemos. Las muestras de agua supercalentada (>250 °C) tomadas directamente de las chimeneas hidrotermales no presentan marcadores bioquímicos reconocibles (DNA, RNA, o proteínas) que indicarían signos de vida tal como la conocemos, pero las chimeneas de las que mana agua a unos 150 °C contienen macromoléculas. Estos resultados son coherentes con experimentos de laboratorio sobre la estabilidad de biomoléculas esenciales. Por ejemplo, el ATP se degrada casi instantáneamente a 150 °C, por lo que, por encima de esa temperatura, cualquier forma de vida tendría que resolver el problema de la inestabilidad frente al calor de esta molécula, que está universalmente distribuida en las células. Sin embargo, hay que tener en cuenta que la estabilidad de pequeñas moléculas, como el ATP, puede ser significativamente mayor en las condiciones existentes en el citoplasma,

con concentraciones más elevadas de solutos disueltos que en las soluciones puras probadas en el laboratorio. No obstante, si existe vida por encima de 150 °C, debe de ser singular en muchos aspectos, ya sea usando una serie de moléculas pequeñas nuevas, que no existen en las células que conocemos, ya sea desarrollando sistemas especiales de protección que mantengan a las moléculas pequeñas en un estado estable que permita su funcionalidad bioquímica.

MINIRREVISIÓN

- ¿Dónde se podrían localizar, en la Tierra, los hábitats microbianos más cálidos?
- ¿Por qué resulta imposible para los organismos crecer a 200 o 300 °C?

16.13 Adaptaciones moleculares a la vida a altas temperaturas

Como todas las estructuras y funciones celulares son afectadas por el calor, los hipertermófilos probablemente hayan desarrollado múltiples adaptaciones a las temperaturas excepcionalmente altas de sus hábitats. Examinaremos aquí brevemente algunas adaptaciones empleadas por los hipertermófilos para proteger sus proteínas y ácidos nucleicos a elevadas temperaturas.

Plegamiento proteico y termoestabilidad

Como la mayoría de las proteínas se desnaturalizan a alta temperatura, se ha investigado mucho para identificar las propiedades de las proteínas termoestables. La termoestabilidad de una proteína depende del plegamiento de la propia molécula y no de la presencia de algún aminoácido especial. Aunque pueda parecer extraño, la composición en aminoácidos de las proteínas termoestables no es especialmente rara, excepto quizás porque suelen mostrar una proporción algo mayor de aminoácidos que favorecen la estructura secundaria en hélices alfa. De hecho, en muchas enzimas de los hipertermófilos las principales características estructurales en la conformación primaria y secundaria (↻ Sección 4.14) son iguales que en las enzimas homólogas termolábiles de organismos que crecen mejor a temperaturas mucho más bajas.

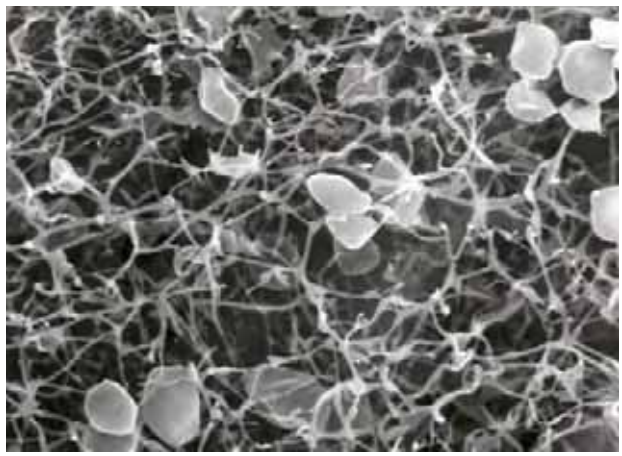
Las proteínas termoestables muestran normalmente algunas características estructurales que probablemente mejoren su termoestabilidad. Por ejemplo, núcleos muy hidrofóbicos, que disminuyen la tendencia de una proteína a desplegarse en un ambiente con alta concentración de iones, o más interacciones iónicas en la superficie de la proteína, lo que también la ayuda a mantenerse intacta y a contrarrestar la tendencia al plegamiento. A fin de cuentas, el *plegamiento* de una proteína es lo que más influye en su termoestabilidad, y es probable que la presencia en la superficie de la proteína de *puentes salinos*, que son enlaces iónicos no covalentes, tengan un peso importante en el mantenimiento de la estructura activa biológicamente. Con todo, y como hemos mencionado previamente, muchos de estos cambios son posibles con tan solo cambios mínimos en la estructura primaria (la secuencia de aminoácidos), como puede verse al comparar versiones termoestables y termolábiles de una misma proteína.

Chaperoninas: ayuda a las proteínas para mantener su forma nativa

En la ↻ Sección 4.14 mencionamos una clase de proteínas denominadas *chaperoninas* o chaperonas (proteínas de choque térmico), que actúan replegando proteínas parcialmente desnaturalizadas. Las *Archaea* hipertermófilas producen tipos especiales de chaperoninas, que funcionan solo a las temperaturas de crecimiento más elevadas. Por ejemplo, en las células de *Pyrodictium abyssi* (**Figura 16.26**), el complejo proteico denominado **termosoma** es una chaperonina importante. Este complejo mantiene a otras proteínas correctamente plegadas y funcionales a alta temperatura, ayudando a las células a sobrevivir, incluso a temperaturas por encima de la temperatura máxima de crecimiento. Las células de *P. abyssi* que crecen a una temperatura cercana a su máximo (110 °C) contienen una alta concentración de termosomas. Probablemente, como consecuencia de ello, estas células se mantienen viables después de un choque térmico, como un tratamiento de una hora en el autoclave (121 °C). Se cree que, en las células que han estado sometidas a un tratamiento de ese tipo y que se vuelven a situar a su temperatura óptima, el termosoma (que de por sí es bastante termoestable) es capaz de plegar correctamente un número suficiente de copias de proteínas esenciales desnaturalizadas como para que *P. abyssi* pueda volver a crecer y a dividirse. Por tanto, gracias a la actividad de las chaperoninas, la temperatura máxima a la que muchos hipertermófilos son capaces de *sobrevivir* es mayor que la temperatura máxima a la que pueden *crecer*. La «red de seguridad» formada por la actividad de las chaperoninas probablemente asegura que las células que en la naturaleza experimenten una exposición breve a temperaturas por encima de su temperatura máxima de crecimiento no mueran a consecuencia de dicha exposición.

Estabilidad del DNA: solutos, girasa inversa y proteínas de unión al DNA

¿Cómo se mantiene intacto el DNA a altas temperaturas, evitando su destrucción? A ello pueden contribuir diversos mecanismos. Uno de ellos consiste en aumentar la concentración



G. Rieger, R. Hermann, R. Rachel, K. O. Stetter

Figura 16.26 ***Pyrodictium abyssi*, microfotografía con el microscopio electrónico de barrido.** *Pyrodictium* se ha estudiado como modelo de estabilidad macromolecular a altas temperaturas. Las células están aglomeradas por medio de una matriz glicoproteica que las mantiene unidas.

celular de solutos, en especial de potasio (K^+), o de compuestos orgánicos compatibles. Por ejemplo, el citoplasma del metanógeno hipertermófilo *Methanopyrus* (Sección 16.4) contiene concentraciones molares del compuesto cíclico 2,3-difosfoglicerato de potasio. Este soluto impide el deterioro químico del DNA como la depurinación o depirimidinación (pérdida de un nucleótido como consecuencia de la hidrólisis del enlace glicosídico) por altas temperaturas. Estos cambios químicos pueden originar mutaciones (↻ Sección 10.2). Este compuesto y otros solutos compatibles, como el dimioinositol fosfato de potasio, que protege frente al estrés osmótico, o las poliaminas putresceína y espermidina, que estabilizan los ribosomas y los ácidos nucleicos a alta temperatura, ayudan a mantener en su forma activa importantes macromoléculas celulares.

Existe una proteína *exclusiva* de hipertermófilos que probablemente sea la causa principal de la estabilidad del DNA en estos organismos. Todos los hipertermófilos producen una topoisomerasa de DNA denominada **DNA-girasa inversa**. La girasa inversa introduce superenrollamiento positivo en el DNA de los hipertermófilos (en contraposición al superenrollamiento negativo introducido por la DNA-girasa de la que disponen todos los otros procariotas; ↻ Sección 4.4). El superenrollamiento positivo estabiliza al DNA frente al calor e impide por tanto que la hélice de DNA se desnaturalice espontáneamente. La ausencia de DNA-girasa inversa en los procariotas cuya temperatura óptima de crecimiento está por debajo de 80 °C sugiere claramente una función específica para esta enzima en la estabilidad del DNA a alta temperatura.

Las especies de *Euryarchaeota* también contienen proteínas de unión a DNA muy básicas (cargadas positivamente), que son parecidas en la secuencia de aminoácidos y en el plegamiento a las histonas centrales (*core*) de los organismos del dominio *Eukarya* (↻ Figura 2.61). Las histonas arqueanas del metanógeno hipertermófilo *Methanothermus fervidus* (Figura 16.7*c*) han sido particularmente bien estudiadas. Estas proteínas enrollan el DNA y lo compactan formando estructuras análogas a los nucleosomas (**Figura 16.27**) y mantienen el DNA en forma de doble cadena a muy altas temperaturas. Tales histonas se encuentran en la mayoría de *Euryarchaeota*, entre las cuales hay arqueas halófilas extremas como *Halobacterium*. Sin embargo, como los halófilos extremos no son termófilos, las histonas de las arqueas pueden tener otras funciones además de la estabilidad del DNA, en particular de ayuda a la expresión génica mediante la apertura de la hélice y permitiendo la transcripción.

Lípidos y estabilidad del RNA ribosómico

¿Cómo se adaptan los lípidos celulares y la maquinaria de síntesis proteica de los hipertermófilos a las altas temperaturas? Prácticamente todas las arqueas hipertermófilas sintetizan lípidos del tipo tetraéter de dibifitanilo (↻ Sección 2.7). Los lípidos de este tipo son naturalmente resistentes al calor, porque las unidades de fitanilo que forman cada mitad de la estructura de la membrana están unidas covalentemente entre sí, lo que produce una membrana *lipídica monocapa*, en lugar de la habitual bicapa lipídica (↻ Figura 2.17). Esta estructura resiste el efecto normal del calor de destruir la bicapa lipídica formada por ácidos grasos o cadenas laterales de fitanilo, que no están unidas covalentemente. Un aspecto final sobre las adaptaciones moleculares a la vida a altas temperaturas es la composición de bases de los RNA ribosómicos, que son componentes estructurales y funcionales importantes del ribosoma, que es el aparato que sintetiza las proteínas de la célula (↻ Sección 4.13). Las especies hipertermófilas de *Bacteria* y *Archaea* tienen una proporción de pares GC en sus rRNA de la subunidad pequeña hasta un 15 % mayor que otros organismos que crecen a menor temperatura. Los pares de bases GC forman tres puentes de hidrógeno en lugar de los dos pares de bases de la AU (↻ Figura 4.2). El mayor contenido de GC posiblemente confiera una mayor termoestabilidad a los ribosomas de estos organismos, lo que facilitaría la síntesis de proteínas a altas temperaturas. En cambio, la proporción de GC del DNA genómico de los hipertermófilos suele ser bastante bajo, lo que sugiere que la termoestabilidad específica de los rRNAs de la subunidad pequeña es crítica para la vida en condiciones hipertermófilas.

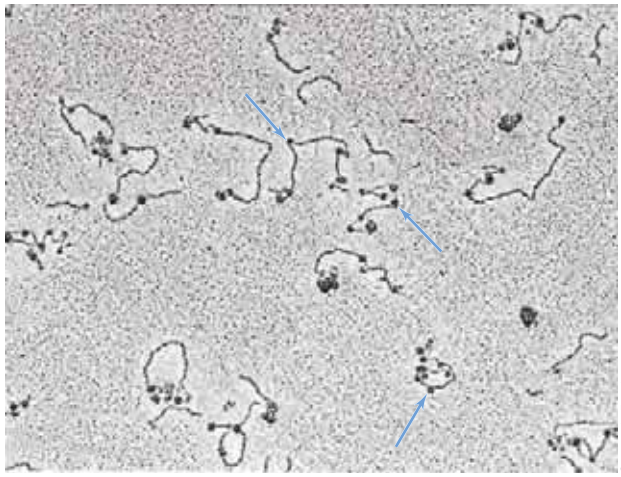


Figura 16.27 **Histonas y nucleosomas de arqueas.** Microfotografía con el microscopio electrónico de DNA plasmídico linearizado, enrollado alrededor de copias de la histona de arqueas Hmf (del metanógeno hipertermófilo *Methanothermus fervidus*) para formar las estructuras tipo nucleosoma aproximadamente esféricas y teñidas de color oscuro (flechas). Compare esta microfotografía con la ilustración de las histonas y los nucleosomas de *Eukarya* que se muestra en la Figura 2.61*b*.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cómo protegen los hipertermófilos las proteínas y el DNA de los efectos de la temperatura?
- ¿Cómo se protegen los lípidos y los ribosomas de los hipertermófilos de la desnaturalización térmica?

16.14 *Archaea* hipertermófilas, H_2 y evolución microbiana

En el momento en el que surgió la vida celular, hace aproximadamente 4.000 millones de años, es casi completamente seguro que la Tierra era mucho más caliente de lo que es ahora. Por tanto, durante cientos de miles de años la Tierra podría haber sido adecuada solo para hipertermófilos. Considerando el análisis previo sobre los límites de temperatura adecuados para la vida, se ha propuesto la hipótesis de que las moléculas

biológicas, los procesos bioquímicos y las primeras células surgieran sobre la Tierra en el entorno de los manantiales hidrotermales y las chimeneas en el fondo marino, conforme estos se enfriaban hasta temperaturas compatibles con las moléculas biológicas (↔ Sección 12.1 y Figuras 12.3 y 12.4). La filogenia de los hipertermófilos modernos (Figura 16.1), así como las semejanzas entre sus hábitats y su metabolismo con los de la Tierra primigenia, sugieren que estos organismos, más que ninguna otra forma de vida procariota, podrían ser los descendientes más cercanos de las células hipertermófilas primitivas y que estas representan una ventana que nos permite ver las características de la vida microbiana del pasado lejano.

Hábitats hipertermófilos y el hidrógeno (H_2) como fuente de energía

La oxidación del hidrógeno acoplada a la reducción del Fe^{3+}, S^0, NO_3^- o, más raramente, del O_2, es una forma de metabolismo energético común a muchos hipertermófilos (Tabla 16.6 y **Figura 16.28**). Esto, acoplado con la posibilidad de que estos hipertermófilos representen fenotipos microbianos de la Tierra primitiva, resalta el importante papel que el H_2 ha podido desempeñar en la evolución de la vida microbiana. El metabolismo del H_2 podría haber evolucionado en organismos primitivos como resultado de la notable disponibilidad en los ambientes primigenios de H_2 y de aceptores inorgánicos de electrones adecuados, y también porque el catabolismo del H_2 necesita pocas proteínas (↔ Figura 12.5). Como quimiolitótrofos, estos organismos pudieron obtener del CO_2 sus necesidades de carbono, o bien pudieron asimilar compuestos orgánicos directamente disponibles para sus exigencias biosintéticas. En cualquier caso, la oxidación del H_2 fue la fuerza energética que mantuvo el proceso de la vida.

Si se comparan los mecanismos de obtención de energía en función de la temperatura a partir de los datos de procariotas cultivables, solo los quimiolitótrofos son capaces de resistir las temperaturas más elevadas (Figura 16.28). La quimiorganotrofia es posible hasta al menos los 110 °C, ya que este es el límite superior de temperatura para el crecimiento de *Pyrodictium occultum*, un organismo que puede fermentar ciertos compuestos orgánicos, así como crecer quimiolitotróficamente utilizando H_2, con S^0 como aceptor de electrones (Tabla 16.6). La fotosíntesis es el proceso menos tolerante al calor, ya que no se conocen representantes hipertermófilos y parece mostrar un límite superior de temperatura de 73 °C. Esto coincide con la conclusión de que la fotosíntesis anoxigénica apareció en la Tierra varios cientos de millones de años después de la aparición de las primeras formas de vida (↔ Figura 12.1).

La comparación de las opciones energéticas en función de la temperatura (Figura 16.28) apunta a que los hipertermófilos oxidadores de H_2 de los dominios *Archaea* y *Bacteria* son los ejemplos existentes más cercanos a las primeras formas de vida celular sobre la Tierra. Mejor que ningún otro tipo de procariotas, estos organismos mantienen los rasgos metabólicos y fisiológicos que pudieran suponerse necesarios para la supervivencia en los hábitats hipertermófilos de la Tierra primigenia.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué pruebas filogenéticas y fisiológicas sugieren que los hipertermófilos actuales son la conexión más próxima a las primeras células de la Tierra primitiva?

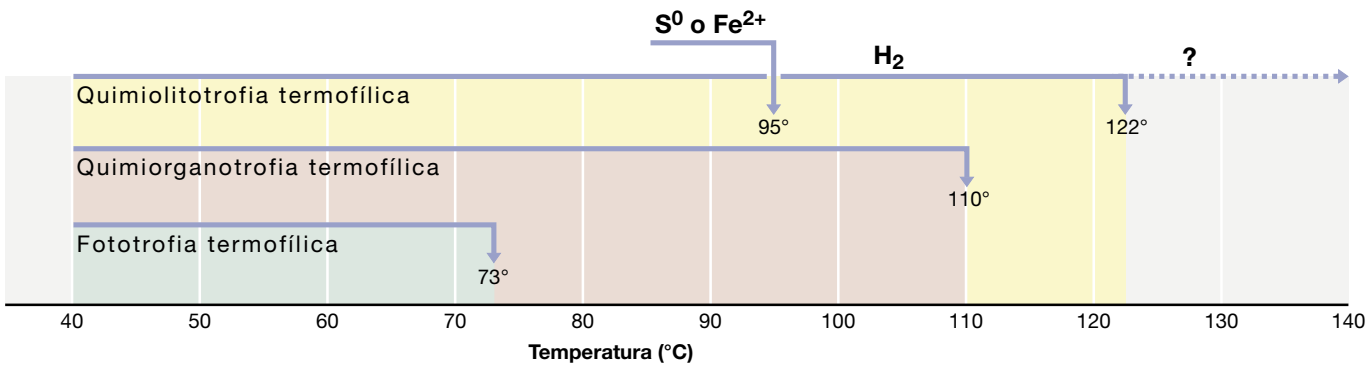


Figura 16.28 Límites superiores de temperatura para el metabolismo energético. El récord entre los fotótrofos es *Synechococcus lividus* (*Bacteria*, cianobacteria); entre los quimiorganotrofos es *Pyrodictium occultum* (*Archaea*); entre los quimiolitótrofos con S^0 como donador de electrones es *Acidianus infernus* (*Archaea*); entre los quimiolitótrofos con Fe^{2+} como donador de electrones, *Ferroglobus placidus* (*Archaea*); y el récord entre los quimiolitótrofos con H_2 como donador de electrones es *Methanopyrus kandleri* (*Archaea*, 122 °C).

IDEAS PRINCIPALES

16.1 • Las *Archaea* halófilas extremas necesitan grandes cantidades de NaCl para crecer, y acumulan niveles elevados de KCl como soluto compatible en su citoplasma. Estas sales determinan la estabilidad de la pared celular y la actividad enzimática. La bacteriorrodopsina, que es una bomba de protones dependiente de la luz, facilita a los halófilos extremos la síntesis de ATP.

16.2 • Las *Archaea* metanógenas son anaerobias estrictas cuyo metabolismo está ligado a la producción de CH_4. El metano lo pueden formar mediante reducción del CO_2 por H_2, a partir de sustratos metilados como CH_3OH, o a partir de acetato.

16.3 • *Thermoplasma*, *Ferroplasma*, y *Picrophilus* son termófilos y acidófilos extremos, que forman una familia filogenética propia dentro de las *Archaea*. Las células de *Thermoplasma* y de *Ferroplasma* carecen de paredes celulares, por lo que, a este respecto, se parecen a los micoplasmas.

16.4 • *Methanopyrus* es un metanógeno hipertermófilo que contiene lípidos inusuales y puede crecer a 122 °C, la temperatura conocida más elevada a la que todavía puede existir alguna forma de vida.

16.5 • *Archaeoglobus* y *Ferroglobus* son arqueas anaerobias relacionadas que realizan respiraciones anaerobias diferentes. *Archaeoglobus* reduce sulfatos y *Ferroglobus* reduce nitratos oxidando hierro ferroso.

16.6 • El filo *Thaumarchaeota* está muy extendido y abunda en suelos y ambientes marinos. Todas las especies cultivadas de este filo son organismos autótrofos que oxidan amoniaco y tienen importancia en el ciclo del nitrógeno a nivel global.

16.7 • *Nanoarchaeum equitans* es un hipertermófilo que forma su propio filo, *Nanoarchaeota*, y parasita al crenarqueota *Ignicoccus*. *Nanoarchaeum equitans* tiene un genoma muy pequeño y compacto, y depende de *Ignicoccus* para la mayoría de sus necesidades celulares, incluyendo la fuente de carbono y energía.

16.8 • *Korarchaeum cryptofilum* también forma su propio filo, *Korarchaeota*, y es un hipertermófilo que carece de rutas biosintéticas importantes, obteniendo sus elementos básicos del medio circundante. *Korarchaeum cryptofilum* tiene algunos genes que son similares a los de *Euryarchaeota* y otros que son similares a los de *Crenarchaeota.*

16.9 • Entre los hipertermófilos que forman las *Crenarchaeota*, se ha encontrado una amplia variedad de metabolismo energético de tipo quimioorganótrofo y quimiolitótrofo, con fermentaciones y respiraciones anaerobias. En este grupo, son corrientes los estilos de vida estrictamente autótrofos, pero nunca hay fotosíntesis.

16.10 • Las *Crenarchaeota* viven en fuentes termales terrestres de composición química variada. En particular, aquí se encuentran organismos como *Sulfolobus*, *Acidianus*, *Thermoproteus*, y *Pyrobaculum*.

16.11 • Los *Crenarchaeota* como *Pyrolobus*, *Pyrodictium*, *Ignicoccus*, y *Staphylothermus* viven en escapes hidrotermales marinos profundos. Dejando aparte al metanógeno *Methanopyrus* (*Euryarchaeota*), las especies de estos géneros viven a las temperaturas más altas de todas las *Archaea*, y en muchos casos por encima de la temperatura de ebullición del agua (a la presión atmosférica normal).

16.12 • Probablemente, la presencia de vida, tal como la conocemos, está restringida a la existencia de temperaturas inferiores a 150 °C. Por encima de esta temperatura se destruyen rápidamente pequeñas moléculas importantes, como el ATP, y tampoco existen macromoléculas muy estables frente al calor extremo.

16.13 • Las macromoléculas de los hipertermófilos están protegidas de la desnaturalización térmica por plegamientos estables (proteínas), la presencia de solutos y proteínas de unión (DNA), la singular arquitectura de membranas monocapa (lípidos), y por el alto contenido en GC de sus RNAs ribosómicos.

16.14 • Parece probable que la fuerza energética que sustentó las primeras células que aparecieron sobre la Tierra se basó en el metabolismo del hidrógeno. Un metabolismo quimiolitótrofo, en el que el H_2 actúa como donador de electrones, se encuentra en la mayoría de los organismos más tolerantes al calor de todos los procariotas conocidos.

MasteringMicrobiology®

Revise lo que sabe y descubra lo que ha aprendido con MasteringMicrobiology. Acceda a material de estudio, revisiones de los capítulos, animaciones y tutoriales de microbiología práctica en el Área de Estudio y asegúrese de que ha asimilado todo el contenido de este capítulo.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Bacteriorrodopsina: proteína que contiene retinal, localizada en la membrana de algunas arqueas halófilas extremas y que está implicada en la síntesis de ATP dependiente de la luz.

Chimeneas hidrotermales: manantiales marinos profundos que emiten agua que puede variar de caliente (unos 20 °C) a supercaliente (>300 °C).

***Crenarchaeota*:** filo del dominio *Archaea* que contiene tanto organismos hipertermófilos, como organismos que viven en ambientes fríos.

DNA girasa inversa: proteína universalmente presente en los hipertermófilos que introduce superenrollamientos positivos en el DNA circular.

***Euryarchaeota*:** filo del dominio *Archaea* que contiene fundamentalmente

metanógenos, halófilos extremos, *Thermoplasma*, y algunos hipertermófilos marinos.

Extremófilo: organismo cuyo crecimiento depende de valores extremos de temperatura, salinidad, pH, presión o radiación, que suelen ser inapropiados para la mayoría de las formas de vida.

Fitanil: hidrocarburo ramificado con 20 átomos de carbono y frecuente en los lípidos de *Archaea.*

Halófilo extremo: organismo cuyo crecimiento depende de grandes concentraciones (generalmente 9 %, o más) de NaCl.

Halorrodopsina: bomba de cloro dependiente de la luz que acumula Cl^- en el citoplasma.

Hipertermófilo: organismo con temperatura óptima de crecimiento de 80 °C, o mayor.

***Korarchaeota*:** filo del dominio *Archaea* que contiene el hipertermófilo *Korarchaeum cryptophilum.*

Metanógeno: organismo que produce CH_4.

***Nanoarchaeota*:** filo del dominio *Archaea* que contiene al parásito hipertermófilo *Nanoarchaeum equitans.*

Solfatara: hábitat de elevada temperatura, rico en sulfuro y de pH generalmente ácido, que suele ser habitado por arqueas hipertermófilas.

Soluto compatible: sustancia orgánica o inorgánica que se acumula en el citoplasma de un organismo halófilo para mantener la presión osmótica.

Termosoma: complejo formado por proteínas de choque térmico (chaperoninas) cuya función en organismos hipertermófilos es devolver en parte el plegamiento inicial a las proteínas desnaturalizadas por el calor.

***Thaumarchaeota*:** filo del dominio *Archaea* que contiene especies de amplia distribución capaces de realizar una oxidación aerobia del amoniaco.

PREGUNTAS DE REPASO

1. ¿Cómo puede un organismo como *Halobacterium* vivir en un ambiente de elevada salinidad, mientras otros como *Escherichia coli* no pueden hacerlo? (Sección 16.1)
2. Compare las funciones de la bacteriorrodopsina, la halorrodopsina, y la rodopsina sensorial en *Halobacterium salinarum* (Sección 16.1).
3. ¿Cuál es el donador de electrones en la metanogénesis cuando el CO_2 se reduce a CH_4? (Sección 16.2)
4. Cite dos propiedades fisiológicas que presentan las especies de *Thermoplasmatales*. ¿Por qué esto permite a algunas de ellas colonizar con éxito pilas de residuos de carbón? (Sección 16.3)
5. ¿Qué característica fisiológica es exclusiva de *Methanopyrus,* en comparación con otros metanógenos, como *Methanobacterium*? (Sección 16.4) ¿Qué característica fisiológica es exclusiva de *Archaeoglobus*? (Sección 16.5)
6. Describa una propiedad fisiológica inusual de la especie de la taumarqueota *Nitrosopumilus maritimus* (Sección 16.6).
7. ¿En qué se parece *Nanoarchaeum* a otras *Archaea*? ¿En qué se diferencia? (Sección 16.7)
8. ¿Por qué resulta difícil determinar la posición filogenética de *Nanoarchaeota* y *Korarchaeota*? (Secciones 16.7 y 16.8)
9. ¿Qué tipos de metabolismo energético se presentan en las *Crenarchaeota*? ¿Qué tipo está ausente? (Sección 16.9)
10. ¿Qué resulta particular en el metabolismo del S^0 por *Acidianus*? (Sección 16.10)
11. ¿Qué resulta inusual en el organismo *Pyrolobus fumarii*? (Sección 16.11)
12. Mencione el organismo que mantiene el récord actual de crecimiento a mayor temperatura (Sección 16.12).
13. ¿Qué es la DNA girasa y qué importancia tiene en los hipertermófilos? (Sección 16.13)
14. ¿Por qué el metabolismo del H_2 pudo haber representado evolutivamente el mecanismo de conservación de energía en los primeros organismos que aparecieron en la Tierra? (Sección 16.14)

EJERCICIOS PRÁCTICOS

1. Empleando como guía el árbol filogenético de la Figura 16.1, comente por qué la bacteriorrodopsina puede haber sido una adquisición evolutiva tardía y por qué la respiración anerobia con S^0 como aceptor de electrones puede haber sido un invento temprano en la evolución.
2. Defienda o rechace la siguiente afirmación: La temperatura más elevada que determina el límite para el desarrollo de la vida no está relacionada con la estabilidad de las proteínas y los ácidos nucleicos.

CAPÍTULO

17 · Diversidad de los organismos eucariotas

microbiología **actual**

Transferencia horizontal de genes en un eucariota extremófilo

La transferencia horizontal de genes es una característica de los dominios *Bacteria* y *Archaea*, pero ¿qué sucede con los microorganismos eucariotas?, ¿ocurre también en ellos? La respuesta es claramente afirmativa, porque recientemente se ha descubierto un microorganismo eucariota que ha adquirido varios genes importantes de bacterias y de arqueas vecinas.

El alga roja *Galdieria sulphuraria* vive en ambientes calientes y ácidos, que son ricos en azufre y en metales (foto). El alga es muy tolerante a temperaturas elevadas, a ácidos, sales y metales tóxicos, como el arsénico, aluminio, cadmio y mercurio. Un análisis detallado del genoma de *G. sulphuraria* (véase el inserto en la foto) reveló que al menos 75 genes se habían adquirido por transferencia horizontal desde procariotas, y que dichos genes proporcionaban al alga sus propiedades extremófilas[1]. Entre estos genes se detectó una familia de genes que codifica ATPasas solubles que se encuentran en las arqueas termófilas y que probablemente contribuyen a su termotolerancia; esas ATPasas no se han encontrado en ningún otro eucariota.

Otros genes adquiridos por *G. sulphuraria* permiten la supervivencia del alga en condiciones de estrés salino y de elevada toxicidad por metales, además de conferir la capacidad de sintetizar una membrana citoplasmática con escasa permeabilidad a los protones, lo que es muy necesario para poder vivir en ambientes ácidos. *Galdieria sulphuraria* tiene también la propiedad, poco común para un alga, de crecer en la oscuridad con más de 50 fuentes de carbono diferentes. Esta diversidad metabólica está también ligada a los genes adquiridos por transferencia horizontal, incluyendo aquellos que codifican transportadores de azúcares, aminoácidos, ácidos grasos y glicerol.

A medida que se descifren más genomas de microorganismos eucariotas, la naturaleza en mosaico del genoma de *G. sulphuraria* puede que sea más común. Pero, por ahora, esta alga roja de fisiología tan resistente representa un notable ejemplo de un eucariota cuyo genoma ha sido fortalecido por transferencia horizontal de genes procedentes de otros dominios filogenéticos.

[1]Schönknecht, G., *et al.* 2013. Gene transfer from *Bacteria* and *Archaea* facilitated evolution of an extremophilic eukaryote. *Science 339*: 1207-1210.



I Orgánulos y filogenia de los microolrganismos eucariotas 584
II Protistas 587
III Hongos 595
IV Algas rojas y algas verdes 604

I • Orgánulos y filogenia de los microorganismos eucariotas

En el Capítulo 2 consideramos la arquitectura de la célula de los microorganismos eucariotas, y repasamos sus componentes típicos: el núcleo, mitocondrias, retículo endoplásmico y aparato de Golgi (estructuras que son virtualmente comunes a todos los eucariotas), junto con los cloroplastos, presentes en los eucariotas fotótrofos (↻ Secciones 2.20-2.22). En este capítulo trataremos la filogenia y diversidad de los microorganismos eucariotas y comenzaremos con la consideración de las estructuras de mitocondrias y cloroplastos porque su historia evolutiva es diferente de la filogenia de la célula eucariota como tal (↻ Secciones 2.21 y 12.3).

17.1 La endosimbiosis y la célula eucariota

Los biólogos están de acuerdo en que la célula eucariota es una quimera genética. La parte principal de este tipo de célula, como su citoplasma (y probablemente su núcleo) puede relacionarse con el dominio *Eukarya*, mientras que los orgánulos que generan energía (las mitocondrias y los clotoplastos) derivan claramente del dominio *Bacteria*.

Las especulaciones iniciales sobre la relación entre estos orgánulos y las bacterias datan de hace más de un siglo y se basaban en el hecho de que las mitocondrias y los cloroplastos, vistos al microscopio, «se parecían» a las bacterias. A través de los años esta idea ha tenido apoyo experimental hasta generar la visión actual de que las mitocondrias y los cloroplastos derivan respectivamente de bacterias respiradoras o fotosintéticas, que establecieron su residencia dentro de otro tipo de célula como una fuente de ATP, en intercambio por una existencia segura y más estable. Esto constituye la **hipótesis endosimbiótica** (↻ Sección 12.3) que representa un importante avance de la biología actual.

Pruebas a favor de la hipótesis endosimbiótica

Varias líneas de pruebas apoyan la hipótesis endosimbiótica:

1. **Las mitocondrias y los cloroplastos contienen DNA.** Aunque la mayoría de las proteínas de la mitocondria y del cloroplasto están codificadas en el DNA del núcleo, algunas están codificadas por un pequeño genoma que se encuentra dentro de dichos orgánulos. Estas proteínas incluyen algunas de la cadena respiratoria (en el caso de la mitocondria) y del aparato fotosintético (en el caso del cloroplasto), así como RNAs ribosómicos y RNAs de transferencia. La mayoría de los DNAs mitocondriales y de cloroplastos son moléculas circulares cerradas covalentemente, parecidas a las de bacterias (↻ Sección 1.2). El DNA de los orgánulos puede verse en las células eucariotas mediante métodos especiales de tinción (**Figura 17.1**).
2. **El núcleo eucariota contiene genes procedentes de *Bacteria*.** La secuenciación genómica y otros estudios genéticos han proporcionado pruebas de que varios genes nucleares codifican propiedades características y únicas de las mitocondrias y los cloroplastos. Dado que las secuencias de estos genes se parecen más a las de *Bacteria* que a las de *Archaea* o *Eukarya*, se ha concluido que estos genes han sido transferidos al núcleo a partir de los endosimbiontes, durante la transición evolutiva producida desde que estos fueron incorporados hasta que se convirtieron en orgánulos especializados.
3. **Filogenia de los ribosomas de los orgánulos.** Los ribosomas pueden ser de tamaño 80S, típicos del citoplasma de células eucariotas, o de tipo 70S, típicos de *Bacteria* y *Archaea*. Mitocondrias y cloroplastos contienen ribosomas 70S y los análisis filogenéticos de las secuencias de los genes de su RNA ribosómico (Capítulo 12), junto con estudios genómicos del DNA de los orgánulos (↻ Sección 6.5), demuestran de modo inequívoco que estas estructuras fueron originalmente *Bacteria*.
4. **Especificidad antibiótica.** Varios antibióticos (por ejemplo, la estreptomicina) matan o inhiben las bacterias interrumpiendo la función de los ribosomas 70S en la síntesis de proteínas. Estos mismos antibióticos también inhiben la síntesis de proteínas en mitocondrias y cloroplastos.
5. **Hidrogenosomas.** Los hidrogenosomas son orgánulos encerrados en una membrana que se encuentran en algunos eucariotas anaerobios que carecen de mitocondrias y que suministran ATP a la células mediante reacciones de fermentación (↻ Figura 2.64*b*). Como las mitochondrias, los hidrogenosomas contienen también su propio DNA y ribosomas. Los análisis filogenéticos del RNA ribosómico de los hidrogenosomas ha revelado su conexión con *Bacteria*.

Endosimbiosis secundaria

La mitocondria, el cloroplasto y el hidrogenosoma son estructuras que se originaron mediante una endosimbiosis *primaria*. Es decir, estas estructuras derivan de células bacterianas. La endosimbiosis primaria originó el cloroplasto en un antecesor común a las algas verdes, las algas rojas y las plantas (**Figura 17.2** y véase Figura 17.3). No obstante, tras esta endosimbiosis primaria,

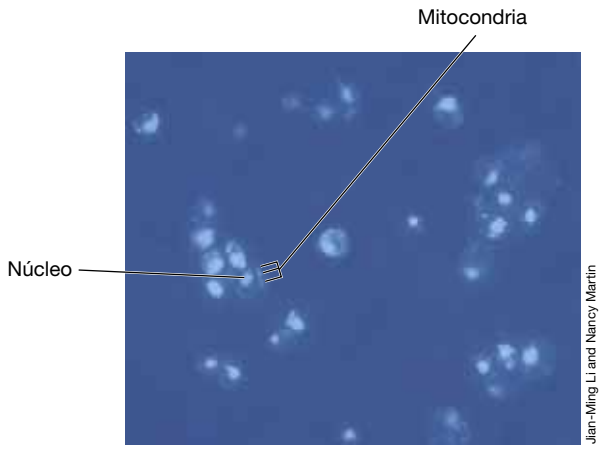


Figura 17.1 DNA de orgánulos. Células de *Saccharomyces cerevisiae* teñidas con el colorante fluorescente DAPI que se une al DNA para mostrar el DNA mitocondrial. Cada mitocondria tiene de dos a cuatro cromosomas que se tiñen en azul con este colorante.

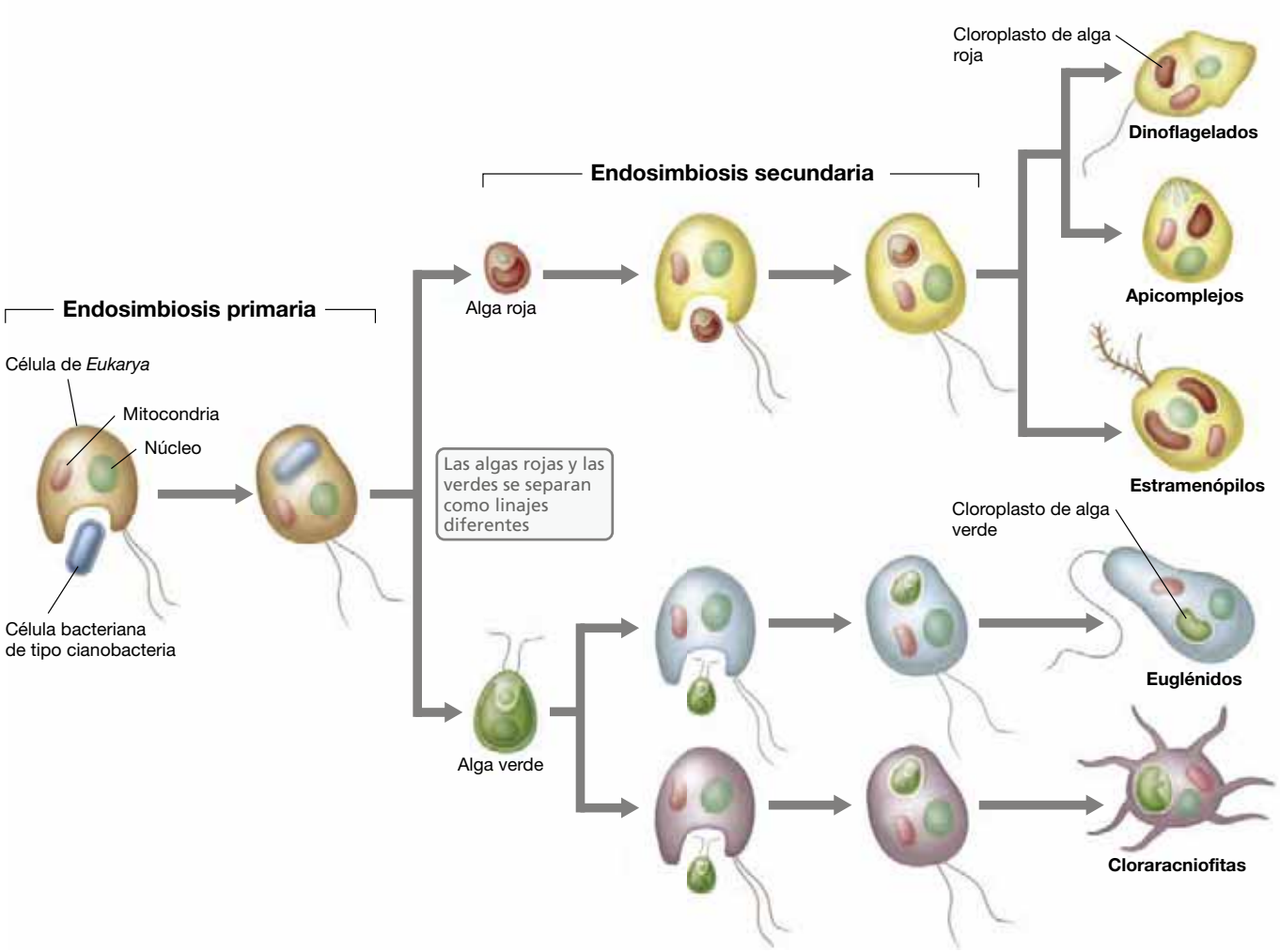


Figura 17.2 **Endosimbiosis.** Tras las asociaciones por endosimbiosis primaria que originaron las mitocondrias, las endosimbiosis primarias con bacterias fototrofas originaron las algas verdes y rojas. La endosimbiosis secundaria por estas algas extendió la propiedad de la fotosíntesis a muchos linajes independientes de protistas.

varios grupos de eucariotas no fotótrofos adquirieron cloroplastos por *endosimbiosis secundaria*. Estos procesos secundarios ocurrieron cuando algas verdes o rojas fueron incorporadas por entero a otros sistemas biológicos que, al retener el cloroplasto de modo estable, se convirtieron en hospedadores fotótrofos.

La **endosimbiosis secundaria** con algas verdes explica la presencia de cloroplastos en euglénidos y cloraracniofitos, mientras que los alveolados (ciliados, apicomplejos y dinoflagelados) y los estramenópilos obtuvieron sus cloroplastos mediante endosimbiosis secundaria con algas rojas (Figuras 17.2 y 17.3). Los cloroplastos ancestrales de las algas rojas se perdieron en algunos linajes, como los ciliados, o se redujeron, como en los apicomplejos, que solo mantienen trazas de cloroplastos, o bien fueron reemplazados en distintos momentos, como en los dinoflagelados, por cloroplastos de un alga diferente, probablemente un alga verde.

Muchos ejemplos de sucesos de endosimbiosis revelan la importancia de este proceso en la evolución y diversificación de los microorganismos eucariotas. Parece poco probable que la endosimbiosis primaria ocurriera solo una vez en la historia evolutiva —en definitiva, el ensayo y el error es la esencia de la evolución—; y casi con toda seguridad la endosimbiosis secundaria ocurrió con frecuencia (Figura 17.2). Incluso en la actualidad, hay ejemplos de protistas no fotótrofos que atrapan e incorporan a protistas fotótrofos y los atrapados llevan a cabo fotosíntesis por largos períodos de tiempo (↻ Sección 22.14). Sin duda, en el mundo eucariota las endosimbiosis son aparentemente comunes y se dan continuamente.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué es la hipótesis endosimbiótica?
- Resuma las pruebas moleculares que apoyan la relación entre orgánulos eucariotas y bacterias.
- Distinga entre endosimbiosis primaria y secundaria.

17.2 Linajes filogenéticos de *Eukarya*

Del árbol filogenético universal de la vida (↻ Figuras 1.6*b* y 12.13), hemos aprendido que el dominio *Eukarya* está más relacionado con *Archaea* que con *Bacteria*. La filogenia de *Eukarya* se estableció en un principio a partir de las secuencias del gen

del RNA ribosómico (rRNA) 18S. Sin embargo, a diferencia de los árboles de los procariotas, basados en el rRNA 16S, se ha demostrado que algunos aspectos del árbol filogenético de los eucariotas basado en el rRNA 18S no es correcto, y por tanto la visión moderna del árbol eucariota se ha deducido de una combinación de métodos comparativos de secuenciación.

Visión de la evolución eucariota basada en el RNA ribosómico y en otras técnicas

La visión de la filogenia de los eucariotas basada en el rRNA considera que ciertos organismos, por ejemplo, diplomónadas como *Giardia*, el microsporidio *Encephalitozoon* y el parabasálido *Trichomonas* se separaron hace mucho tiempo, bastante antes que otros eucariotas, como el caso de las plantas y los hongos (↬ Figura 1.6*b*). En apoyo de este punto de vista, los representantes de estos grupos eucariotas de ramificación temprana parecían inicialmente tener carácter «primitivo», por carecer, por ejemplo, de mitocondrias y por tanto podrían haber surgido antes del suceso (o sucesos) endosimbiótico originario que dio lugar a las células eucariotas con mitocondrias, que conocemos actualmente. Sin embargo, en eucariotas que se consideraban carentes de mitocondrias se ha demostrado después que poseen hidrogenosomas, que son estructuras análogas a las mitocondrias (Figura 17.1) y por tanto pueden no resultar filogenéticamente tan «antiguos» como antes se consideraba. Debido a estas inconsistencias, se han empleado otros métodos moleculares para ayudar a resolver la verdadera filogenia de los microorganismos eucariotas.

La secuenciación de varios genes eucariotas, como los que codifican proteínas del citoesqueleto tipo tubulina, RNA polimerasa, ATPasa, y proteínas de choque térmico, se han empleado para generar el moderno árbol filogenético del dominio *Eukarya*. Las filogenias basadas en estos marcadores muestran varias diferencias con el árbol de *Eukarya* basado en los genes del rRNA. En primer lugar, parece ser que muy al principio de la evolución de los eucariotas se produjo una notable radiación filogenética. Esta radiación incluye la evolución de los antepasados de todos, o prácticamente todos, los organismos eucariotas actuales. En segundo lugar, el árbol muestra que los eucariotas sin mitocondrias, antes considerados como *basales* (primarios en la evolución) son, en cambio, organismos muy *derivados*, y también que los animales y los hongos están estrechamente relacionados entre sí (**Figura 17.3**).

El árbol de los *Eukarya* muestra igualmente cómo eventos secundarios de endosimbiosis pueden explicar el origen de los cloroplastos en algunos eucariotas unicelulares fotótrofos. Después de una endosimbiosis primaria de una antigua cianobacteria, que constituyó el ancestro de los cloroplastos, con un eucariota poseedor de mitocondrias, dicho linaje acabó divergiendo en las algas rojas y las algas verdes. Posteriormente, en sucesos secundarios de endosimbiosis, los ancestros de ciertos euglenozoos y cercozoos adquirieron algas verdes, mientras que ciertos alveolados y estramenópilos adquirieron algas rojas (Figuras 17.2 y 17.3). Estos sucesos secundarios de endosimbiosis son la cuasa de la gran diversidad filogenética de los eucariotas fotótrofos, y probablemente han ocurrido recientemente en el tiempo de la evolución.

Evolución eucariota: visión general

Aunque la filogenia basada en los genes del rRNA (Capítulo 12) confirma la existencia de los tres dominios de la vida, *Bacteria*, *Archaea* y *Eukarya*, nuestra visión general de la evolución eucariota se ha alterado significativamente con la nueva información procedente de nuevos genes y proteínas. Los principales

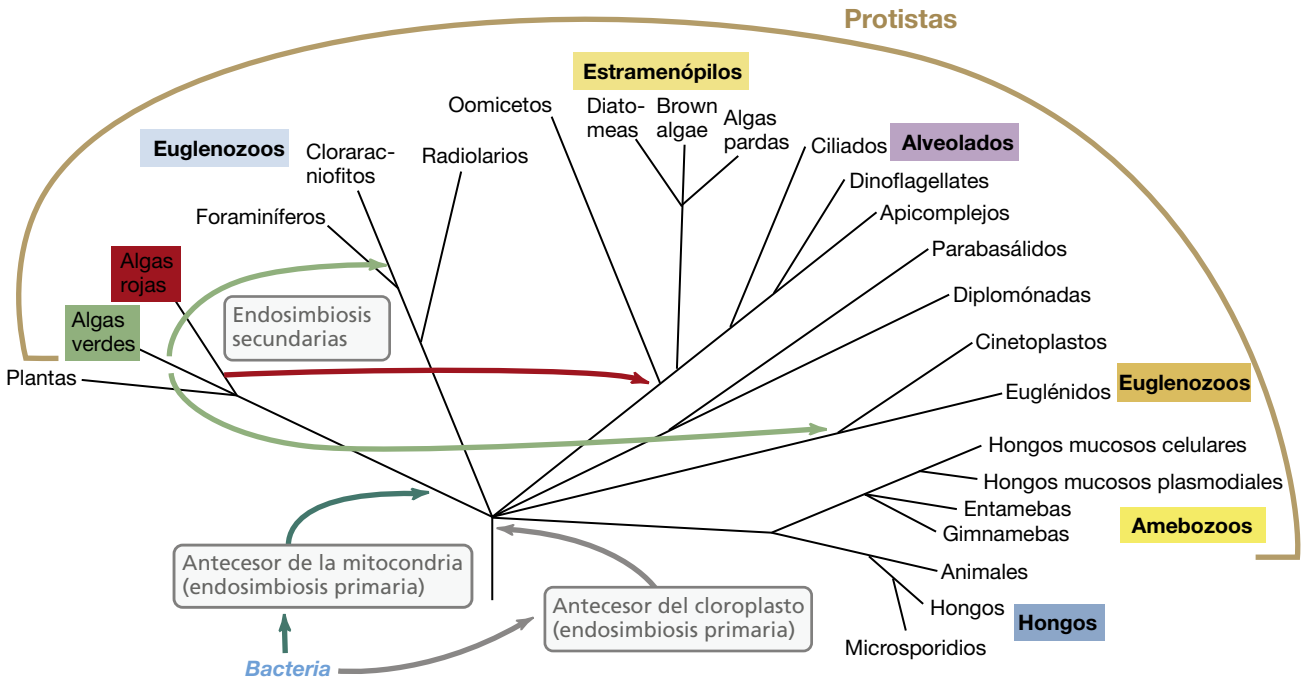


Figura 17.3 **Árbol filogenético de *Eukarya*.** Este árbol compuesto está basado en las secuencias de varios genes y proteínas. Las flechas fuertes indican endosimbiosis primaria para la adquisición de la mitocondria (rojo) y el cloroplasto (verde). Las flechas finas indican sucesos de endosimbiosis secundaria en la adquisición por varios protistas de cloroplastos a partir de algas verdes y rojas. Nótese que la mayor diversidad en el mundo eucariota se encuentra entre los protistas.

conceptos nuevos incluyen el hecho de que algunos grupos de eucariotas que se suponía que habían surgido muy pronto en la evolución aparecieron probablemente más recientemente, y que la endosimbiosis secundaria ha desempeñado un papel clave en la extensión de la capacidad fotosintética dentro de los microorganismos del dominio *Eukarya* (Figura 17.3).

El origen de la mitocondria probablemente precedió a la principal radiación de los eucariotas, ya que todos los niveles de *Eukarya* contienen mitocondrias, hidrogenosomas o trazas genéticas de estas estructuras. La mitocondria, o una estructura similar, pudo haber dotado a la célula eucariota primitiva con notables y nuevas capacidades metabólicas, disparando la radiación de los microorganismos eucariotas. Se desconoce por qué se provocó esta endosimbiosis primaria, pero es posible que la causa fuera la acumulación de O_2 en la atmósfera, debido a la fotosíntesis por cianobacterias (↬ Figura 12.1). Algo más tarde en la historia evolutiva, fue incorporado el antecesor del cloroplasto, mediante un proceso de endosimbiosis primaria, y la gran diversidad de fotótrofos eucariotas, se desarrolló después mediante endosimbiosis secundarias (Figura 17.2).

El árbol filogenético mostrado en la Figura 17.3 no debería considerarse como la última palabra sobre la evolución de los eucariotas. Como nuevos resultados pueden revelar aspectos insospechados de la biología de los eucariotas, aparecerán periódicamente nuevas visiones de la filogenia. Pero en la actualidad dos conclusiones parecen claras. Primera, un árbol de tipo compuesto, mejor que un árbol basado en el rRNA ribosómico, es el andamio sobre el que se puede construir el verdadero árbol de la vida de los eucariotas. Y segunda, la adquisición de mitocondrias por los *Eukarya* primitivos fue un hecho esencial para lograr el éxito evolutivo de este dominio.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué propone la hipótesis endosimbiótica?
- ¿En qué difiere el árbol filogenético compuesto de los eucariotas del basado en el RNA ribosómico?
- Explique la forma en la que la endosimbiosis secundaria ayuda a explicar la diversidad de los eucariotas fotótrofos.

II • Protistas

Teniendo en mente la visión general de la filogenia de los eucariotas, procederemos a examinar los principales grupos de microorganismos eucariotas. Comenzaremos con los protistas, que no son algas verdes o rojas. Los **protistas** incluyen tanto microorganismos eucariotas fotótrofos, como no fotótrofos. Estos organismos tienen una amplia distribución en la naturaleza, muestran una variada morfología y una gran diversidad filogenética. Los protistas representan una gran parte de la diversidad que contiene el dominio *Eukarya* (Figura 17.3).

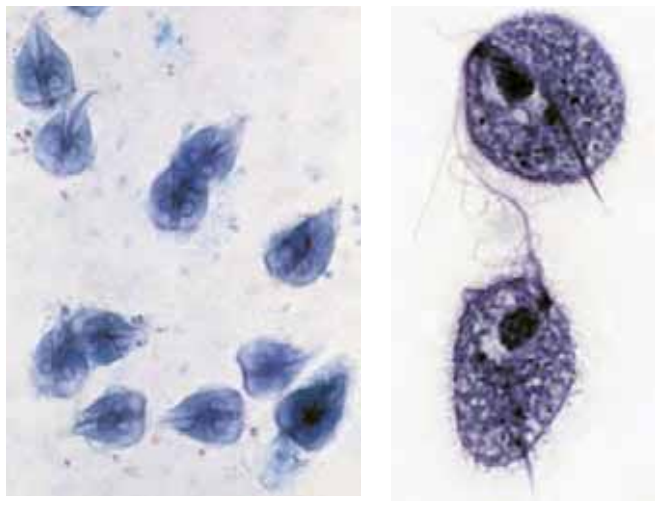
17.3 Diplomónadas y parabasálidos

Géneros principales: *Giardia*, *Trichomonas*

Diplomónadas y parabasálidos son protistas unicelulares y flagelados que carecen de mitocondrias y cloroplastos. Viven en ambientes carentes de oxígeno, como el intestino de animales, bien de forma simbiótica o bien como parásitos, y emplean la fermentación para la generación de energía. Algunas diplomónadas causan enfermedades graves y comunes en peces, animales domésticos y en los humanos. Y un parabasálido origina una importante enfermedad de transmisión sexual en la especie humana. Ambos grupos comparten un antecesor común relativamente reciente, antes de que divergieran para formar linajes filogenéticos diferentes (Figura 17.3).

Diplomónadas

Las diplomónadas (**Figura 17.4*a***), que tienen como característica poseer dos núcleos del mismo tamaño, contienen mitosomas, que son mitocondrias reducidas que carecen de proteínas de transporte de electrones y de enzimas del ciclo del ácido cítrico. La diplomónada *Giardia* tiene un genoma relativamente pequeño para un eucariota, de unos 12 Mbp. El genoma es también muy compacto, contiene pocos intrones, y carece de genes para muchas rutas metabólicas, incluyendo el ciclo del ácido cítrico (↬ Figura 3.22). Estas características explican el estilo de vida como parásito de este organismo. *Giardia intestinalis* (Figura 17.4*a*), también conocida como *Giardia lamblia*, causa la giardiasis, una de las enfermedades diarreicas transmitidas por el agua más comunes en Estados Unidos. Examinaremos dicha enfermedad en la Sección 32.4.



(a) (b)

Figura 17.4 Diplomónadas y parabasálidos. *(a)* Microfotografía de células de *Giardia intestinalis*, una diplomónada típica, al microscopio óptico. Nótense los dos núcleos. Las células tienen aproximadamente 10 μm de ancho. *(b)* Microfotografía de células del parabasálido *Trichomonas vaginalis* al microscopio óptico. Las células tienen aproximadamente 6 μm de ancho. La estructura lanceolada (axostilo) se emplea para fijar la célula al tejido urogenital.

Parabasálidos

Los parabasálidos contienen un cuerpo parabasal que, entre otras funciones, proporciona soporte estructural al aparato de Golgi. Carecen de mitocondrias, pero disponen de hidrogenosomas para su metabolismo anaerobio (↻ Sección 2.21). Los parabasálidos viven en el tracto intestinal y urogenital de vertebrados e invertebrados, actuando como parásitos o como comensales (↻ Sección 32.4). El parabasálido *Trichomonas vaginalis* es móvil por un penacho de flagelos (Figura 17.4*b*), y causa una enfermedad de transmisión sexual en humanos.

Los genomas de los parabasálidos son únicos entre los eucariotas, ya que la mayoría de ellos carece de intrones, que son las secuencias no codificantes características de los genes eucariotas (↻ Sección 4.9 y 6.6). Además, el genoma de *T. vaginalis* es enorme para un organismo parásito, con unos 160 Mbp, y muestra indicios de haber adquirido genes de bacterias por transferencia horizontal. Gran parte del genoma de *T. vaginalis* contiene secuencias repetidas y elementos de transposición (↻ Sección 10.11) que han hecho difícil su análisis genómico. Aún así, este organismo tiene casi 60.000 genes, aproximadamente el doble que el genoma humano y cerca del límite superior conocido para genomas eucariotas.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cómo obtienen energía las diplomónadas?
- ¿Qué es inusual en el genoma de *Trichomonas*?

17.4 Euglenozoos

Géneros principales: *Trypanosoma*, *Euglena*

Los euglenozoos forman un variado agrupamiento de eucariotas unicelulares y flagelados, libres o parásitos, que comprenden los cinetoplástidos y los euglénidos. Estos microorganismos eucariotas compartieron recientemente un antecesor común antes de su divergencia en linajes filogéneticos separados (Figura 17.3).

Cinetoplástidos

Los cinetoplástidos son un grupo muy estudiado de los euglenozoos. Reciben su nombre de la presencia de un *cinetoplasto*, que es una masa de DNA localizada en su única mitocondria de gran tamaño. Los cinetoplástidos viven principalmente en ambientes acuáticos, donde se alimentan de bacterias. Sin embargo algunas especies son parásitas de animales y causan una serie de graves enfermedades en humanos y otros vertebrados. En *Trypanosoma*, que es un género que infecta la especie humana, las células son pequeñas, de aproximadamente 20 µm de longitud, delgadas y con forma de media luna. Los tripanosomas tienen un único flagelo que se origina en el cuerpo basal y se dobla lateralmente a lo largo de la célula, donde queda envuelto por un reborde de membrana citoplasmática (**Figura 17.5**). Tanto el flagelo como la membrana participan en la propulsión del organismo, permitiendo un movimiento eficiente incluso en líquidos viscosos, como la sangre, donde los tripanosomas patógenos se encuentran a menudo.

Trypanosoma brucei (Figura 17.5) es la especie que causa la *enfermedad del sueño africana*, una enfermedad crónica y a menudo mortal. En los humanos, este parásito vive y crece principalmente en el torrente sanguíneo, aunque en los últimos estados de la enfermedad invade el sistema nervioso central, provocando una inflamación del cerebro y de la médula espinal, que es la responsable de los síntomas neurológicos característicos de la enfermedad. Este parásito se transmite entre hospedadores utilizando como vector a la mosca tsé tsé, *Glossina* spp., una mosca chupadora de sangre que solo se encuentra en ciertas regiones de África. Después de transmitirse del ser humano a la mosca a través de la sangre, el parásito prolifera en el tracto intestinal de la mosca e invade las glándulas salivares y las mandíbulas del insecto, por las que se transmite mediante una picadura a un nuevo hospedador humano (↻ Sección 32.6).

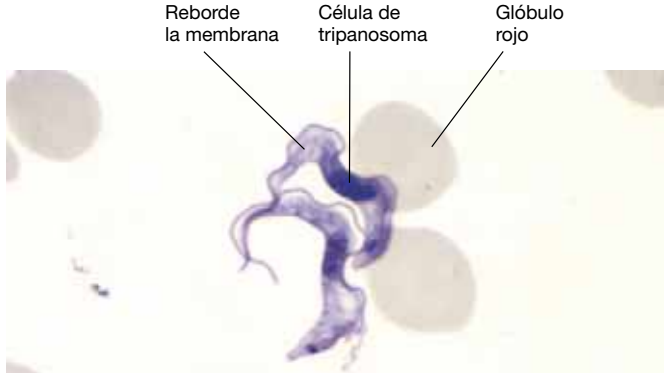


Figura 17.5 Tripanosomas. Fotografía con el microscopio óptico del euglenozoo flagelado *Trypanosoma brucei*, el agente causante de la enfermedad africana del sueño, en una muestra de sangre. Una célula tiene aproximadamente 3 µm de ancho.

Otros cinetoplástidos que son parásitos humanos son *Trypanosoma cruzi*, el agente causal de la *enfermedad de Chagas*, y especies de *Leishmania*, que causan *leishmaniasis* cutánea y sistémica. La enfermedad de Chagas se transmite por la picadura de un triatomino (Redúvidos, Hemípteros), un insecto hematófago. Normalmente, la enfermedad es autolimitada, pero puede llegar a hacerse crónica y conducir a una infección de consecuencias fatales. La leishmaniasis es una enfermedad de regiones tropicales y subtropicales, que se transmite a los humanos y otros mamíferos por la picadura de un simúlido (Dípteros). Esta enfermedad es potencialmente letal y puede tener una manifestación local en la piel que rodea la picadura, o puede infectar el bazo y el hígado provocando una infección sistémica. Tanto la enfermedad de Chagas como la leishmaniasis se tratan con más detalle en la Sección 32.6.

Euglénidos

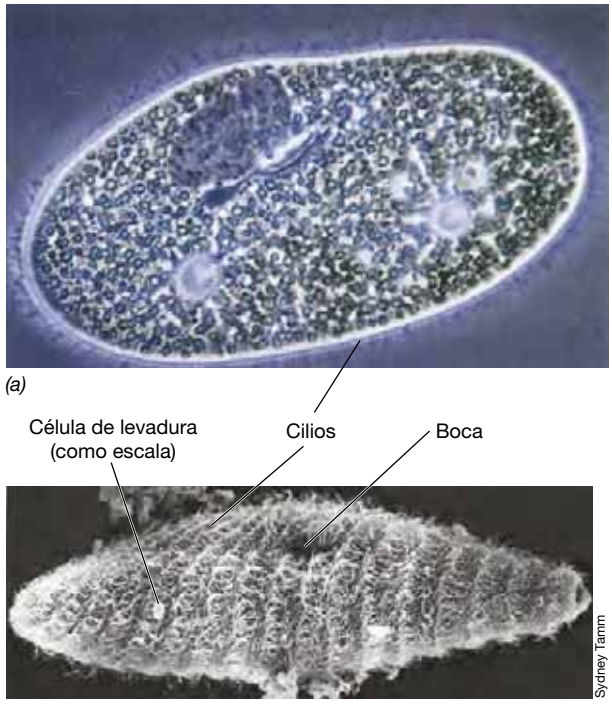
Otro grupo de euglenozoos bien estudiado son los euglénidos (**Figura 17.6**). A diferencia de los tripanosomas, estos microorganismos eucariotas móviles no son patógenos y pueden ser tanto quimiótrofos como fotótrofos. La mayoría contiene dos flagelos, dorsal y ventral, y su activa movilidad permite a estos organismos tener acceso tanto a los hábitats iluminados como a los oscuros de su ambiente natural, permitiendo la alternancia de sus posibilidades metabólicas.

Los euglénidos viven exclusivamente en ambientes acuáticos, tanto marinos como de agua dulce y contienen cloroplastos, que les permiten crecer fototróficamente (Figura 17.6). Sin



(a) (b)

Figura 17.6 ***Euglena*, un euglenozoo.** *(a)* Este protista fototrófico, como otros euglénidos, no es patógeno. Una célula mide unos 15 µm de ancho. *(b)* Vista amplificada.



(a) (b)

Figura 17.7 ***Paramecium*, un protista ciliado.** *(a)* Fotografía de microscopía de contraste de fase *(b)* Fotografía del microscopio electrónico de barrido. Obsérvense los cilios en ambas fotografías. Una célula de *Paramecium* tiene unos 60 µm de diámetro.

embargo, en la oscuridad las células de *Euglena*, un euglénido típico, pueden perder sus cloroplastos y funcionar como organismos quimiorganótrofos. Muchos euglénidos pueden también alimentarse de bacterias por **fagocitosis**, un proceso en el que una partícula de alimento es rodeada por una parte de la membrana citoplasmática flexible, para englobar dicha partícula e introducirla en la célula, donde es digerida.

MINIRREVISIÓN

- Compare las dos opciones nutricionales de *Euglena*.
- ¿Cómo pasan de un ser humano a otro las células de *Trypanosoma brucei*?
- ¿Qué enfermedades son causadas respectivamente por *Trypanosoma cruzi* y por *Leishmania* spp.?

17.5 Alveolados

Géneros principales: *Gonyaulax*, *Plasmodium*, *Paramecium*

Como grupo, los alveolados se caracterizan por la presencia de *alveolos*, unos sacos localizados bajo su membrana citoplasmática. Aunque la función de los alveolos se desconoce, es posible que ayuden a la célula a mantener el equilibrio osmótico controlando la entrada y salida de agua, y en los dinoflagelados, en particular, podrían funcionar como una coraza (Figura 17.9). En el grupo de los alveolados se incluyen tres tipos de organismos filogenéticamente diferenciados, pero de alguna manera bastante relacionados entre sí: los *ciliados*, que emplean cilios para desplazarse; los *dinoflagelados*, que se mueven por medio de un flagelo; y los *apicomplejos*, que son parásitos de animales (Figura 17.3).

Ciliados

En algún momento de su ciclo de vida, los **ciliados** tienen *cilios* (Figura 17.7), que son estructuras que emplean para desplazarse. Los cilios pueden recubrir toda la célula o agruparse en mechones o en filas, dependiendo de las especies. Los ciliados más conocidos y más ampliamente distribuidos son probablemente los del género *Paramecium* (Figura 17.7). Como muchos otros ciliados, *Paramecium* emplea sus cilios no solo para moverse, sino también para conseguir alimento, al ingerir partículas, como por ejemplo células bacterianas, a través de un distintivo surco oral en forma de embudo. Los cilios que recubren el surco oral mueven el alimento a lo largo de dicho surco hacia la boca de la célula (Figura 17.7*b*). Una vez allí es englobado en una vacuola alimenticia por fagocitosis. Diversas enzimas digestivas se secretan dentro de la vacuola alimenticia para digerir el alimento.

Los ciliados son únicos entre los protistas porque tienen dos tipos de núcleos, los *micronúcleos* y los *macronúcleos.* Los genes en el macronúcleo regulan las funciones celulares básicas, como el crecimiento y la alimentación, mientras que los genes de los micronúcleos están implicados en la reproducción sexual, que se lleva a cabo mediante conjugación, que es la fusión parcial de dos células de *Paramecium* con el intercambio de micronúcleos. El genoma de *Paramecium* es enorme, y los genes del macronúcleo son cerca de 40.000, casi dos veces el número del genoma humano (↻ Sección 6.6).

Muchas especies de *Paramecium* (así como las de otros protistas) son hospedadoras de procariotas o de eucariotas endosimbióticos; en el segundo caso, normalmente algas verdes. Estos organismos podrían cumplir una función nutritiva al sintetizar vitaminas u otros factores de crecimiento utilizados por la célula hospedadora. Algunos protistas ciliados anaerobios

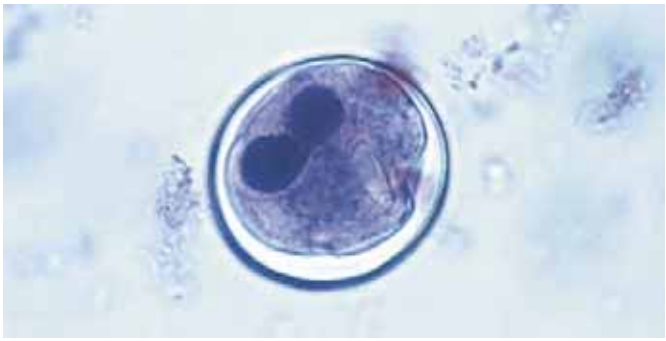


Figura 17.8 ***Balantidium coli*, un protista ciliado que causa una enfermedad en humanos parecida a la disentería.** La estructura teñida en azul de este microcisto, obtenido de un intestino porcino, es el macronúcleo. La célula tiene unos 50 µm de ancho.

contienen endosimbiontes procariotas. Por ejemplo, los protistas ciliados que actúan como comensales en el aparato digestivo de las termitas son portadores de metanógenos (*Archaea*) endosimbiontes, que consumen hidrógeno y CO_2 para producir metano. Además, los propios ciliados pueden ser simbiontes, como sucede con los ciliados anaerobios estrictos presentes en el rumen o estómago anterior de los rumiantes. Los protistas del rumen tienen funciones beneficiosas para los procesos fermentativos y digestivos del animal (↔ Sección 22.7).

En contraste con estos ejemplos de simbiosis, algunos ciliados son parásitos de animales, aunque este estilo de vida sea menos frecuente en ciliados que en otros grupos de protistas. Por ejemplo, la especie *Balantidium coli* (**Figura 17.8**) es un parásito intestinal de animales domésticos, y ocasionalmente infecta el tracto intestinal de los humanos, produciendo síntomas de disentería. Las células de *B. coli* forman cistos (Figura 17.8), que facilitan la transmisión de la enfermedad a través del agua y de alimentos infectados.

Dinoflagelados

Los dinoflagelados son un grupo diverso de alveolados fotótróficos de agua dulce y marina (**Figura 17.9**) que adquirieron la capacidad de hacer la fotosíntesis por endosimbiosis secundaria (Figuras 17.2 y 17.3). Los flagelos que circundan la célula generan un movimiento de giro que da su nombre a los dinoflagelados (en griego *dinos* significa «girar»). Los dinoflagelados tienen dos flagelos de diferente longitud y con distintos puntos de inserción en la célula, transversales y longitudinales. El flagelo transversal está unido lateralmente, mientras que el flagelo longitudinal se origina en el surco lateral de la célula y se extiende a lo largo de esta (**Figura 17.10*b***). Algunos dinoflagelados son de vida libre, mientras que otros viven en simbiosis con los animales que forman los arrecifes de coral, de los que obtienen un hábitat protegido a cambio de proporcionarles carbono fijado fototróficamente como alimento.

Algunas especies de dinoflagelados son tóxicas. Por ejemplo, en aguas costeras templadas y contaminadas, pueden formarse densas suspensiones de células de *Gonyaulax*, denominadas «mareas rojas» (Figura 17.10*a*), nombre debido a los pigmentos de color rojo brillante que poseen estos organismos. Estos florecimientos (*blooms*, en inglés) están a menudo asociadas con la muerte de peces y el envenenamiento de personas que han consumido mejillones contaminados, que acumulan *Gonyaulax* al alimentarse por filtración. La toxicidad de *Gonyaulax* se debe a una potente neurotoxina que puede producir *envenenamiento*

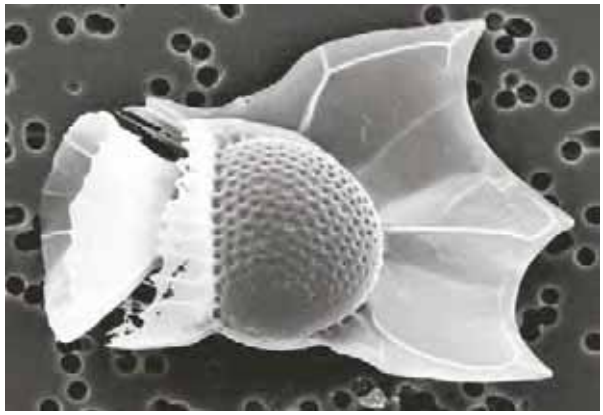
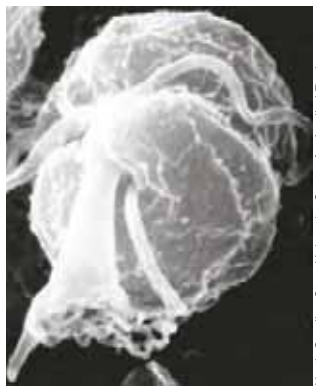


Figura 17.9 **El dinoflagelado marino, *Ornithocercus magnificus* (un alveolado).** La célula en sí es la estructura globular central; las ornamentadas estructuras unidas a ella se denominan listas. Una célula tiene unos 30 µm de ancho.



(a)



(b)



(c)

Figura 17.10 **Dinoflagelados tóxicos (alveolados).** *(a)* Fotografía de una marea roja causada por el crecimiento masivo de dinoflagelados productores de toxinas, tales como *Gonyaulax*. La toxina es excretada al agua y se acumula en moluscos que se alimentan de dinoflagelados. *(b)* Fotografía del microscopio electrónico de una espora tóxica de *P. piscicida*; la célula tiene unos 12 µm de ancho. *(c)* Peces muertos por *P. piscicida*. Obsérvense las lesiones.

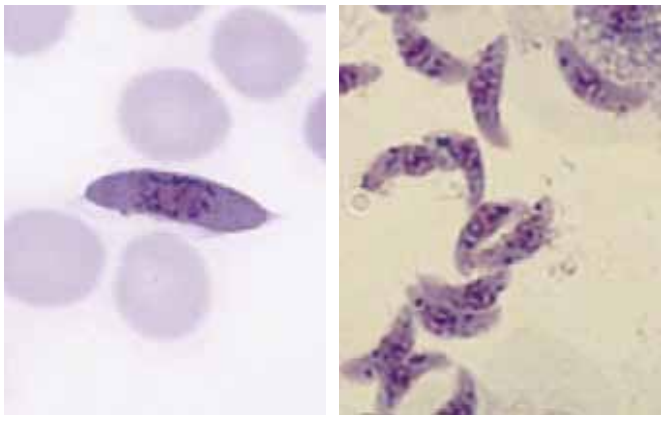
paralizante por marisco en los humanos y en algunos animales, como la nutria marina. Los síntomas incluyen insensibilización de los labios, mareos y dificultad al respirar, pudiendo provocar la muerte por fallo respiratorio. Otro dinoflagelado tóxico es *Pfiesteria.* Las esporas tóxicas de *Pfiesteria piscicida* (Figura 17.10*b*) infectan peces y eventualmente causan su muerte debido a neurotoxinas que afectan al movimiento y destruyen la piel. Se forman lesiones en varias áreas del pez, permitiendo el crecimiento de bacterias patógenas oportunistas (Figura 17.10*c*). La intoxicación por *Pfiesteria* en humanos produce erupciones cutáneas y problemas respiratorios.

Apicomplejos

Los apicomplejos son organismos no fotótrofos y parásitos obligados de animales que causan graves enfermedades como la malaria (especies de *Plasmodium*) (**Figura 17.11*a***), la toxoplasmosis (*Toxoplasma*) (Figura 17.11*b*) y la coccidiosis (*Eimeria*). Estos organismos se caracterizan por presentar formas adultas carentes de movilidad, que toman su alimento en forma soluble a través de la membrana citoplasmática, como los procariotas y los hongos.

Los apicomplejos producen estructuras llamadas esporozoitos (Figura 17.11*b*), que funcionan en la transmisión del parásito a un nuevo hospedador, y el nombre de apicomplejos proviene de la presencia de un complejo de orgánulos localizado en uno de los extremos del esporozoito y que penetra en las células del hospedador. Los apicomplejos también contienen apicoplastos, que son cloroplastos degenerados que carecen de pigmentos y capacidad fotosintética pero contienen algunos genes propios. Los apicoplastos catalizan la biosíntesis de ácidos grasos, isoprenoides y grupos hemo, y exportan sus productos al citoplasma. Se supone que los apicoplastos derivan de algas rojas fagocitadas por los apicomplejos mediante endosimbiosis secundaria (Figuras 17.2 y 17.3). Con el tiempo, los cloroplastos del alga roja degeneraron hasta desarrollar una función no fotótrofa en la célula.

Numerosos vertebrados e invertebrados pueden ser hospedadores de apicomplejos. En algunos casos, se produce una alternancia de hospedadores, con ciertos estadios del ciclo de vida ligados a un hospedador y otros estadios a un hospedador diferente. Algunos apicomplejos relevantes son los coccidios, habitualmente parásitos de aves, y los miembros del género *Plasmodium* (parásitos de la malaria) (Figura 17.11*a*). En la Sección 32.5 dedicaremos un espacio considerable al análisis de esta enfermedad que a lo largo de la historia ha matado más humanos que ninguna otra enfermedad.



(a) *(b)*

Figura 17.11 Apicomplejos. *(a)* Gametocito de *Plasmodium falciparum* en una muestra de sangre. El gametocito es la fase del ciclo de vida del parásito de la malaria que infecta al mosquito vector. *(b)* Esporozoitos de *Toxoplasma gondii*.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cómo se mueve *Paramecium*?
- ¿Qué problemas sanitarios se asocian con *Gonyaulax*?
- ¿Qué son los apicoplastos, qué organismos los tienen y cuál es su función?

UNIDAD 3

17.6 Estramenópilos

Géneros principales: *Phytophthora*, *Nitzschia*, *Ochromonas*, *Macrocystis*

Los *estramenópilos* incluyen tanto microorganismos quimiorganótrofos y fotótrofos como macroorganismos. Los miembros de este grupo tienen flagelos con muchas extensiones cortas parecidas a pelos (**Figura 17.12**), lo que le da el nombre al grupo (de los términos latinos *stramen* y *pilos*, que significan «paja» y «pelo», respectivamente). Los principales grupos de estramenópilos son las diatomeas, los oomicetos, las crisofíceas y las algas pardas, o feofitas (Figura 17.3).

Diatomeas

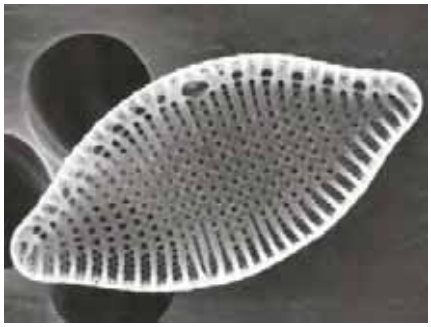
Las diatomeas están representadas por más de 200 géneros de eucariotas fotótrofos unicelulares y son los principales componentes de las comunidades microbianas del fitoplancton planctónico (suspendido) de aguas marinas y de agua dulce. Producen una pared celular compuesta por sílice la que se añaden proteínas y polisacáridos. Esta pared, que les protege de la predación, muestra formas extremadamente diversas en las distintas especies y puede ser muy elaborada (Figura 17.12). La estructura externa formada por la pared, denominada *frústula*, a menudo se mantiene después de que la célula haya muerto y de que el material orgánico haya desaparecido. Las frústulas de diatomeas normalmente muestran una morfología simétrica, incluyendo *simetría pinnada* (con elementos similares dispuestos en lados opuestos de un mismo eje), como ocurre en la diatomea común *Nitzschia* (Figura 17.12*b*) y *simetría radial* como en las diatomeas marinas *Thalassiosira* y *Asterolampra* (Figura 17.12*c, d*). Como las frústulas de diatomeas, que contienen fundamentalmente sílice, son resistentes a la descomposición, se mantienen intactas durante largos períodos de tiempo y son algunos de los mejores fósiles conocidos de eucariotas unicelulares en sedimentos. Gracias a este excelente registro fósil, se sabe que las diatomeas aparecieron en la Tierra recientemente, hace unos 200 millones de años.

Oomicetos

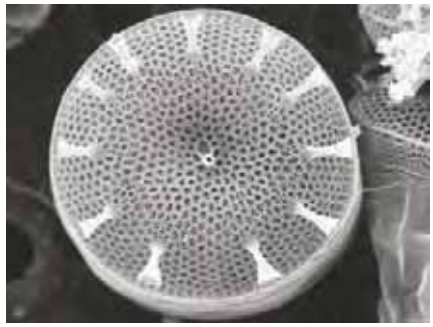
Los oomicetos, también denominados *hongos acuáticos*, estaban agrupados previamente con los hongos, debido a su crecimiento filamentoso y a la presencia de hifas **cenocíticas** (es decir, multinucleadas), rasgos morfológicos que son característicos de los hongos (Sección 17.9). Sin embargo, desde el punto de vista



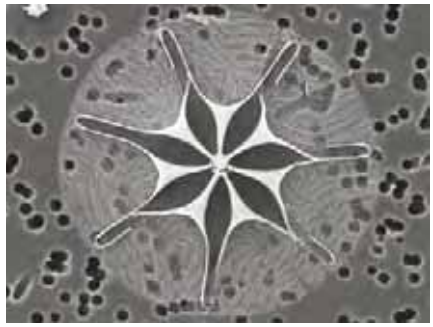
(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 17.12 **Frústulas de diatomeas.** *(a)* Microfotografía con microsopio de fondo oscuro de frústulas de diferentes especies de diatomeas mostrando varias formas de simetría. *(b-d)* Microfotografías con microscopía electrónica de barrido de frústulas de diatomeas con simetría pinnada (parte b) o radial (partes c, d). Las diatomeas varían considerablemente en tamaño, con especies muy pequeñas, de unos 5 µm de ancho, y otras de hasta 200 µm de ancho.

filogenético, los oomicetos están más cercanos a los estramenópilos y más bien distantes de los hongos (Figura 17.3). Además, los oomicetos se diferencian de los hongos por otras razones importantes. Por ejemplo, la pared celular de los oomicetos está compuesta típicamente por celulosa y no por quitina como en los hongos y además sus células tienen flagelos, de los que carecen la mayoría de los hongos. En cualquier caso los oomicetos son parecidos en su ecología a los hongos, en tanto que crecen como una masa de hifas, descomponiendo animales y plantas muertos en ambientes acuáticos.

Los oomicetos han tenido un notable impacto en la sociedad humana ya que muchas especies son fitopatógenas. El oomiceto *Phytophthora infestans*, que causa el mildiu de la patata, contribuyó a enormes hambrunas en Irlanda a mediados del siglo XIX. Dichas hambrunas provocaron la muerte de un millón de irlandeses e impulsó la emigración de otros muchos hacia Estados Unidos. Otros fitopatógenos importantes son *Pythium*, un patógeno común en invernaderos y *Albugo*, que origina la «roya blanca» en varios tipos de cultivos agrícolas.

Crisofíceas y algas pardas

Junto con las diatomeas, las crisofíceas y las algas pardas constituyen los linajes mayoritarios de los estramenópilos. Las algas pardo-doradas, también llamadas *crisofitas,* son fotótrofos marinos y de agua dulce, en su mayoría unicelulares. Algunas especies son quimiorganótrofos que se alimentan bien por fagocitosis, bien transportando compuestos orgánicos solubles a través de la membrana citoplasmática. Algunas crisofíceas, como por ejemplo *Dinobryon* (**Figura 17.13*a***), que viven en agua dulce, son coloniales. Sin embargo, la mayoría de las crisofíceas son unicelulares y se mueven por medio de dos flagelos de distinta longitud.

Las crisofíceas deben su nombre a su color marrón-dorado (Figura 17.13*a, c*). Este color se debe a sus pigmentos cloroplásticos, entre los que predomina la fucoxantina, un carotenoide de color marrón. Además, el principal pigmento clorofílico de las crisofíceas es la clorofila *c* en vez de la clorofila *a* y carecen de las ficobilinas habituales en los cloroplastos de las algas rojas (Sección 17.15). Las células de la crisofícea unicelular



(a) (b) (c)

Figura 17.13 Crisofíceas y algas pardas. *(a) Dinobryon*, una crisofícea (familia *Crisofíceas*) que forma colonias ramificadas. *(b) Macrocystis*, una macroalga marina que pertenece a las algas pardas (familia *Feofícea*). *(c) Ochromonas*, un crisofita unicelular. El color dorado o marrón de los cloroplastos de estas algas se debe al pigmento fucoxantina.

Ochromonas, el género más estudiado de este grupo, solo tienen 1 o 2 cloroplastos (Figura 17.13*c*).

Las algas pardas suelen ser marinas, multicelulares y típicamente macroscópicas. No se conocen formas unicelulares. Estas algas pardas, como la gigantesca *Macrocystis* (Figura 17.13*b*), que puede alcanzar hasta 50 m de longitud, son quizás las de más amplia distribución entre las algas marinas. *Fucus*, es otra alga común, frecuente en zonas intermareales, y que puede crecer hasta 2 m. Como su nombre indica, las algas pardas son marrones o marrón-verdosas, dependiendo de la cantidad del carotenoide fucoxantina que producen. La mayoría de estas algas presentan un crecimiento rápido, particularmente en aguas marinas frías, y pueden ocasionar problemas molestos cuando se depositan en la orilla y se descomponen.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué estructura de las diatomeas es responsable de su excelente conservación como fósiles?
- ¿En qué se parecen los oomicetos a los hongos y en qué se diferencian?
- ¿Qué tipo de pigmento clorofílico se encuentra en las crisofíceas y en las algas pardas?

17.7 Cercozoos y radiolarios

Cercozoos y radiolarios son grupos filogenéticos que se han separado recientemente uno del otro (Figura 17.3). Se diferencian de otros protistas porque emiten pseudópodos filiformes citoplásmicos, con los que se desplazan y se alimentan. Los cercozoos se denominaban previamente amebas debido a sus pseudópodos, pero ahora se sabe que muchos organismos filogenéticamente distintos utilizan pseudópodos.

Cercozoos

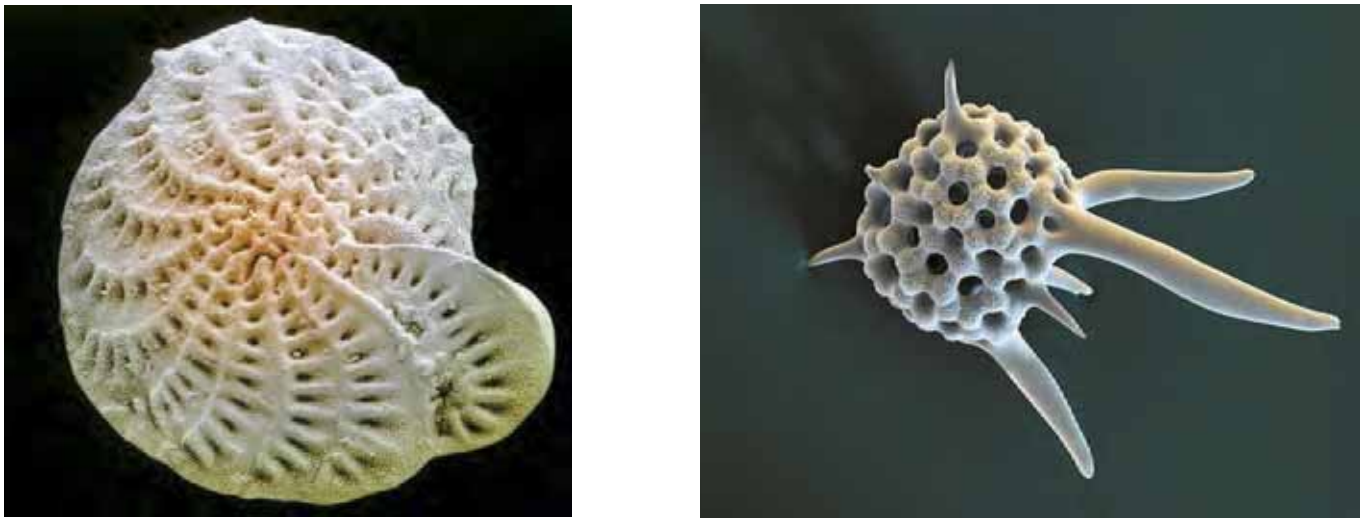
Los cercozoos incluyen entre otros grupos a los cloraracniofitos y a los foraminíferos. Los cloraracniofitos son organismos fotótrofos ameboides de aguas marinas y aguas dulces que desarrollan un flagelo para dispersarse; su adquisición de cloroplastos es un ejemplo de simbiosis secundaria (Figura 17.2) y ejemplifica la frecuencia de este proceso que ha modelado distintas líneas filogenéticas de microorganismos eucariotas (Figura 17.3).

En contraste, los foraminíferos son organismos exclusivamente marinos, que forman estructuras similares a conchas, denominadas *testas*, con características distintivas y a menudo muy ornamentadas (**Figura 17.14*a***). Las testas están normalmente compuestas por material orgánico reforzado con minerales como carbonato cálcico. La célula ameboide no está unida firmemente a la testa y puede extenderse parcialmente fuera de su caparazón durante la alimentación. Sin embargo, debido al peso de la testa, la célula suele acabar hundiéndose hasta el fondo y se cree que estos organismos se alimentan de las partículas depositadas en los sedimentos, principalmente bacterias y restos de organismos muertos. Las células de foraminíferos también pueden albergar distintas algas que forman una relación endosimbiótica con el protista y le suministran carbono orgánico, probablemente como intercambio por los nutrientes inorgánicos originados por la descomposición de organismos muertos. Los tipos fototróficos se encuentran sobre todo en los foraminíferos planctónicos que quedan suspendidos en las columnas de agua para poder proporcionar suficiente luz a sus endosimbiontes.

Las testas de los foraminíferos (Figura 17.14*a*) son relativamente resistentes a la descomposición y por tanto es fácil que acaben fosilizadas, lo que resulta muy útil para los geólogos. Como grupos particulares de estos organismos se asocian con estratos geológicos concretos, las testas fosilizadas de muestras obtenidas de pozos de exploración se usan en la industria petrolera para datar y establecer el potencial petrolífero de una excavación.

Radiolarios

La mayoría de los radiolarios son marinos y planctónicos, y, como los cercozoos, forman pseudópodos (Figura 17.14*b*). Los radiolarios son organismos heterótrofos estrictos, que residen



(a) (b)

Figura 17.14 Cercozoos y radiolarios. *(a)* Un foraminifero. Nótese la decoración de la muestra multilobulada, que mide aproximadamente 1 mm de ancho. *(b)* Un radiolario espinoso del grupo *Nassellaria*. La muestra mide unos 150 µm de ancho. Tanto (*a*) como (*b*) son microfotografías coloreadas del microscopio electrónico de barrido.

en los primeros 100 metros de las aguas oceánicas donde se alimentan de bacterias y de materia orgánica particulada. Algunas especies se asocian con algas y desarrollan una simbiosis (pero no endosimbiosis) que suministra nutrientes a los radiolarios.

El nombre de radiolarios les viene de la simetría radial de sus testas, que son envolturas esqueléticas transparentes o traslúcidas, generalmente compuestas de sílice y formadas por una única pieza (Figura 17.14*b*). Junto a la acumulación de gotas lipídicas y la presencia de grandes vacuolas citoplásmicas, los pseudópodos de los radiolarios ayudan a estos organismos a evitar el hundimiento en los hábitats planctónicos de los océanos. Sin embargo, cuando la célula muere, las testas de los radiolarios marinos sedimentan en el fondo oceánico y pueden acumularse hasta formar con el tiempo gruesas capas de material celular en descomposición.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué estructura distingue a los cercozoos y radiolarios de otros protistas?
- ¿Cómo adquirieron los cloraracniofitas la capacidad de realizar fotosíntesis?

17.8 Amebozoos

Géneros principales: *Amoeba*, *Entamoeba*, *Physarum*, *Dictyostelium*

Los amebozoos son un grupo muy diverso de protistas acuáticos y terrestres, que utilizan unos pseudópodos lobulados para desplazarse y alimentarse. Estos pseudópodos son diferentes de los pseudópodos filiformes de cercozoos y radiolarios. Los grupos principales de amebozoos son las *gimnamebas*, las *entamebas* y los *hongos mucosos (celulares* y *plasmodiales)*. Filogenéticamente, los amebozoos se separaron de un linaje que con el tiempo condujo a los hongos y a los animales (Figura 17.3).

Gimnamebas y entamebas

Las gimnamebas son protistas de vida libre que habitan ambientes acuáticos y terrestres. Utilizan pseudópodos para desplazarse con *movimiento ameboideo* (Figura 17.15) y también para alimentarse por fagocitosis de bacterias, de otros protistas y de materia orgánica particulada. El movimiento ameboideo se genera mediante la formación de corrientes del citoplasma, conforme este fluye hacia el extremo de la célula menos contraído y viscoso, y siguiendo el camino de menor resistencia. A la formación de estas corrientes citoplasmáticas contribuyen los microfilamentos, que están dispuestos formando una fina capa situada justo debajo de la membrana citoplasmática en las células eucariotas (↻ Sección 2.22). *Amoeba* (Figura 17.15) es un género común de agua dulce, a menudo presente en estanques, con especies que varían de tamaño entre 15 µm de diámetro —claramente microscópicas— hasta más de 750 µm —casi visibles a simple vista.

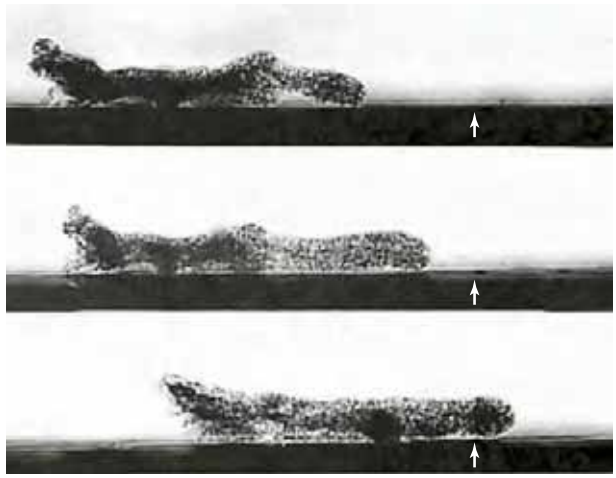


Figura 17.15 Movimiento del amebozoo *Amoeba proteus*. El intervalo de tiempo entre la parte superior y la inferior es de unos 6 segundos. Las flechas señalan un punto fijo de la superficie. Una célula tiene unos 80 µm de ancho.

A diferencia de las gimnamebas, las entamebas son parásitos de vertebrados e invertebrados. Su hábitat más frecuente es la cavidad oral o el tracto intestinal de animales. *Entamoeba histolytica* es patógena de humanos y puede causar disentería amebiana, una ulceración del tracto intestinal que produce diarrea sanguinolenta. Este parásito se transmite de persona a persona en fase quística por contaminación fecal de agua, alimentos o utensilios de cocina. En la Sección 32.3 analizaremos la etiología y patogenia de la amebiasis, una causa importante de muerte por parásitos en humanos.

Hongos mucosos

Los **hongos mucosos** estaban antes agrupados con los hongos, porque tienen ciclos de vida parecidos y porque para su dispersión producen cuerpos fructíferos con esporas. Ahora se consideran protistas, porque son móviles y pueden desplazarse bastante rápidamente sobre superficies sólidas (Figuras 17.16-17.18). Los hongos mucosos se dividen en dos grupos, los *hongos mucosos plasmodiales*, también llamados *hongos mucosos acelulares*, cuyas formas vegetativas son masas protoplásmicas de tamaño y forma indefinidos denominadas plasmodios (**Figura 17.16**) y los *hongos mucosos celulares*, cuyas formas vegetativas son amebas individuales. Los hongos mucosos viven principalmente sobre materia vegetal en descomposición, como restos de hojas, de troncos y sobre el suelo. Su alimento consiste principalmente en otros microorganismos, especialmente bacterias, que ingieren por fagocitosis. Los hongos mucosos pueden mantenerse en estado vegetativo por largos períodos de tiempo, pero finalmente forman estructuras diferenciadas tipo espora que pueden permanecer latentes y posteriormente germinar, para dar lugar a nuevas formas ameboides activas.

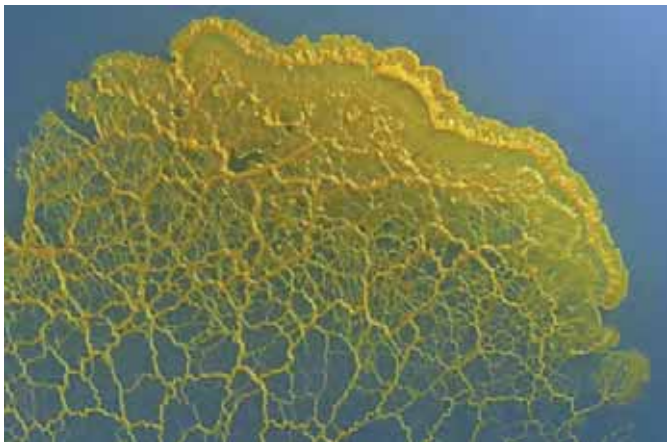


Figura 17.16 Hongo mucoso. Plasmodio del hongo mucoso plasmodial *Physarum*, crecido en una superficie de agar. El plasmodio tiene aproximadamente 5 cm de largo y unos 3,5 cm de ancho.

Los hongos mucosos plasmodiales, como por ejemplo *Physarum*, presentan una fase vegetativa en forma de una masa de protoplasma en expansión denominada plasmodio, que contiene muchos núcleos diploides (Figura 17.16). El plasmodio se desplaza mediante movimiento ameboideo. A partir del plasmodio puede formarse un esporangio con esporas haploides. En condiciones favorables las esporas germinan, para producir células nadadoras haploides flageladas. La fusión de dos células nadadoras da lugar de nuevo a un plasmodio diploide.

A diferencia de las formas plasmodiales, los hongos mucosos celulares son células haploides individuales que solo forman diploides bajo ciertas condiciones. La especie de hongo mucoso celular *Dictyostelium discoideum* ha sido muy estudiada. Presenta un ciclo de vida asexual en el que las células vegetativas individuales se agregan, se desplazan como una masa celular y eventualmente producen cuerpos fructíferos donde las células se diferencian y forman esporas (**Figuras 17.17** y **17.18**). Cuando las células de *Dictyostelium* no pueden obtener nutrientes, se agregan y forman un seudoplasmodio; en esta fase las células pierden su individualidad pero no se fusionan. La agregación se induce por la producción de AMP cíclico. Las primeras células de *Dictyostelium* que producen este compuesto atraen a células vecinas y se agregan en masa móviles llamadas *babosas*. La formación de cuerpos fructíferos comienza cuando el estadio de babosa alcanza una fase estacionaria y se dispone en posición vertical. Esta estructura emergente se diferencia en un tallo y una cabeza; las células del tallo forman celulosa que confiere rigidez a la estructura y las de la cabeza se diferencian en esporas. Al madurar la cabeza, las esporas se liberan y se dispersan. Cada espora germinará para formar una nueva ameba independiente (Figuras 17.17 y 17.18).

Además de este ciclo asexual, *Dictyostelium* también pueden producir esporas sexuales. Estas se forman cuando dos amebas de un agregado se fusionan para formar una ameba gigante aislada. Alrededor de esta célula se desarrolla una gruesa pared de celulosa formando una estructura llamada *macrocisto*, que puede permanecer latente por largos períodos. El núcleo diploide puede luego sufrir meiosis formando núcleos haploides que forman nuevas amebas que inician otra vez el ciclo asexual.

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué se distinguen los amebozoos de los cercozoos y radiolarios?
- Compare y contraste los estilos de vida de gimnamebas y entamebas.
- Describa las principales fases del ciclo de vida de *Dictyostelium discoideum*.

III • Hongos

Los **hongos** constituyen un gran grupo de organismos, diverso y muy extendido, que incluye a los *mohos*, las *setas* y las *levaduras*. Se han descrito aproximadamente 100.000 especies de hongos, y se estima que podrían existir hasta 1,5 millones de especies. Los hongos se agrupan filogenéticamente separados de otros protistas, y son el grupo microbiano más estrechamente relacionados con los animales (Figura 17.3).

La mayoría de los hongos son microscópicos y terrestres. Habitan en el suelo o en materia vegetal muerta y cumplen una importante función en la mineralización del carbono orgánico.

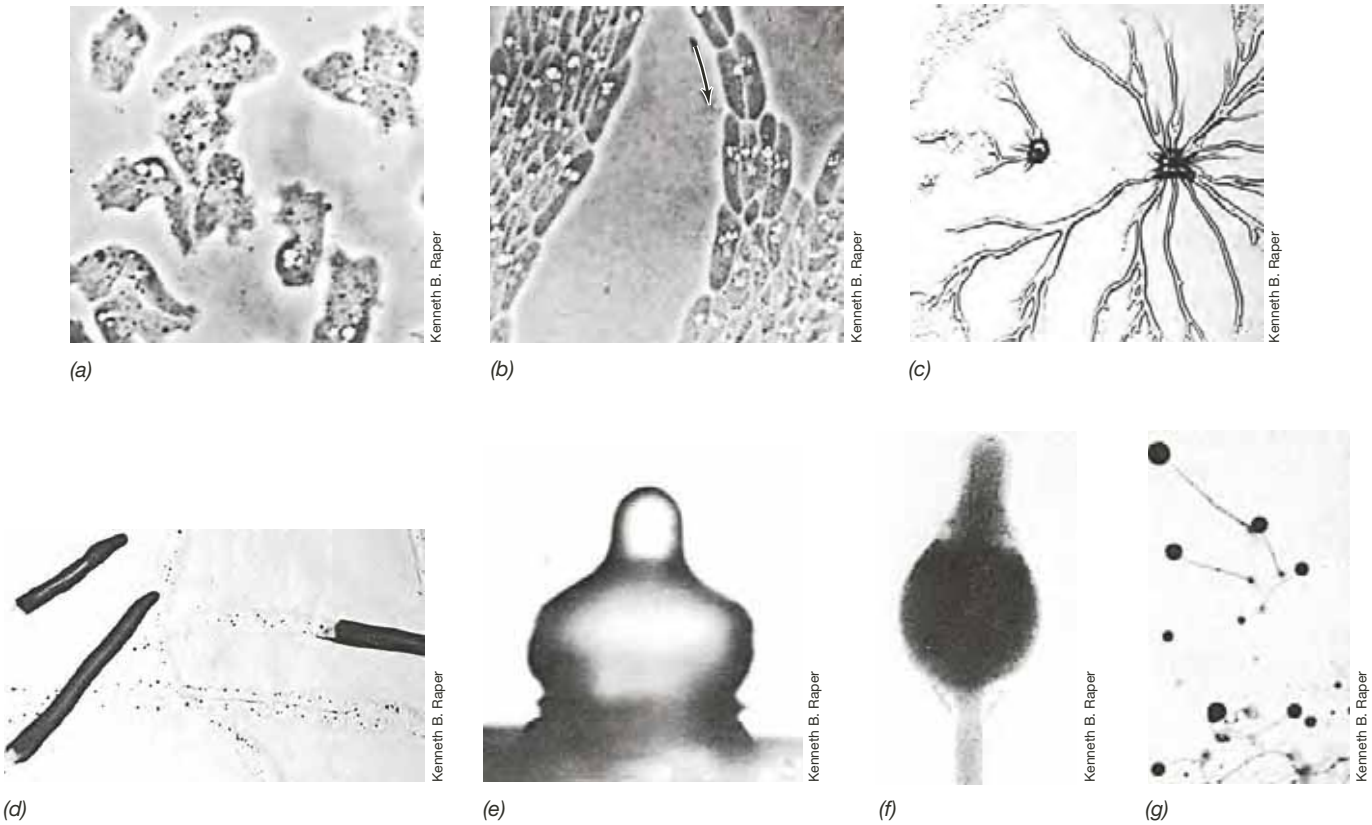


Figura 17.17 **Fotografía con el microscopio óptico de varios estadios del ciclo de vida del hongo mucoso *Dictyostelium discoideum*.** *(a)* Amebas en estadio preagregacional. Obsérvense la forma y ausencia de orientación. *(b)* Amebas agregándose. Las amebas son de unos 300 μm de diámetro. Obsérvense la forma regular y la orientación. *(c)* Amebas agregándose a pocos aumentos *(d)* Pseudoplasmodios migrando (masas celulares), moviéndose en una superficie de agar y dejando un rastro de secreción mucosa. *(e, f)* Estadios tempranos de los cuerpos fructíferos. *(g)* Cuerpos fructíferos maduros. La Figura 17.18 muestra los tamaños de estas estructuras.

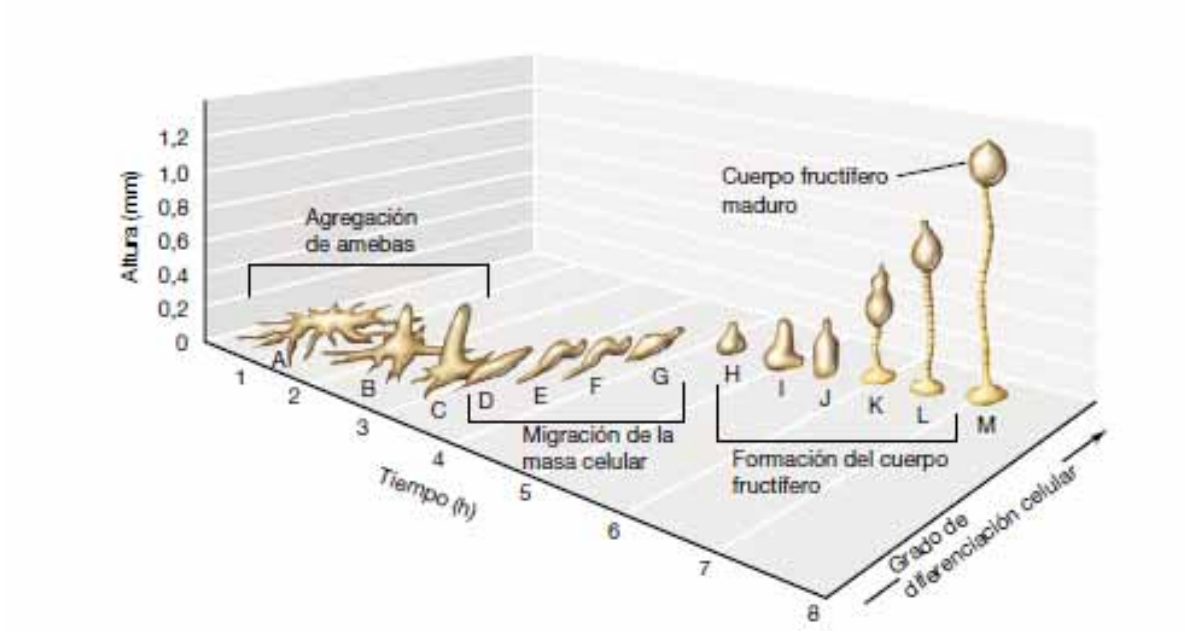


Figura 17.18 **Estadios en la formación del cuerpo fructífero del hongo mucoso *Dictyostelium discoideum*.** (A-C) Agregación de las amebas. (D-G) Migración de las masas celulares formadas a partir de los agregados de amebas. (H-L) Culminación de la migración y formación del cuerpo fructífero. (M) Cuerpo fructífero maduro compuesto de tallo y cabeza. Las células de la parte trasera de las masas celulares forman la cabeza y dan lugar a las esporas. *Dictyostelium* también presenta reproducción sexual (no mostrado), cuando dos amebas se fusionan formando un macrocisto; los núcleos fusionados en el macrocisto vuelven al estado haploide por meiosis, originando nuevas amebas vegetativas.

Un gran número de hongos son parásitos de plantas y unos cuantos causan enfermedades en animales, incluido los humanos. Algunos hongos también pueden establecer asociaciones simbióticas con muchas plantas, facilitando a la planta la adquisición de minerales del suelo, y muchos hongos colaboran de forma beneficiosa con la especie humana mediante ciertos procesos fermentativos y la síntesis de antibióticos.

17.9 Fisiología, estructura y simbiosis de los hongos

En esta sección describiremos algunos rasgos generales de los hongos, incluyendo su fisiología, su estructura celular y las asociaciones que desarrollan con plantas y animales. En la siguiente sección examinaremos su reproducción y su filogenia.

Nutrición y fisiología

Los hongos son quimiorganótrofos, con necesidades nutricionales habitualmente sencillas y en su mayoría aerobios. Se alimentan mediante la secreción de enzimas extracelulares que digieren compuestos orgánicos complejos, como polisacáridos o proteínas, hasta lograr sus monómeros constituyentes, que son absorbidos por la célula fúngica como fuentes de carbono y energía. Como organismos relacionados con la descomposición, los hongos digieren animales muertos y restos vegetales. Cuando son parásitos de plantas y animales, los hongos emplean el mismo modo de alimentación, pero toman sus nutrientes de las células vivas de las plantas o de animales invadidos e infectados en vez de a partir de materiales orgánicos inertes.

Una importante función ecológica de los hongos, especialmente los basidiomicetos, es la descomposición de madera, papel, tejidos y otros productos derivados de fuentes naturales. Los hongos que degradan estos materiales pueden utilizar la celulosa o la lignina como fuente de carbono y energía. La lignina es un polímero complejo cuyos componentes individuales son compuestos fenólicos. La lignina es un constituyente importante de las plantas leñosas, a las que confiere rigidez en asociación con la celulosa. La lignina es descompuesta en la naturaleza casi exclusivamente mediante la actividad de ciertos basidiomicetos, denominados *hongos de la podredumbre de la madera*. Se conocen dos tipos de podredumbre en la madera: la *podredumbre marrón*, en la que la celulosa es el componente descompuesto con preferencia, mientras que la lignina no es metabolizada y la *podredumbre blanca*, en la que se descompone tanto la celulosa como la lignina. Los hongos de la podredumbre blanca tienen una enorme importancia ecológica, porque cumplen una función esencial en la descomposición del material leñoso de los bosques.

Morfología, esporas, y paredes celulares

En su mayoría, los hongos son multicelulares y forman un entramado de filamentos denominados *hifas*, a partir de las cuales se forman esporas asexuales (**Figura 17.19**). Las hifas están formadas por paredes celulares tubulares que rodean la membrana citoplasmática. Las hifas fúngicas a menudo están septadas, es decir, con paredes que dividen cada hifa en células separadas. Sin embargo en algunos casos la célula vegetativa de una hifa fúngica contiene más de un núcleo (es *cenocítica*); con frecuencia pueden encontrarse cientos de núcleos, como consecuencia de repetidas divisiones sin formación de septos. Cada filamento de una hifa crece fundamentalmente por su extremo, mediante extensión de la célula terminal (Figura 17.19).

Las hifas habitualmente crecen juntas sobre una superficie y forman masas compactas, macroscópicamente visibles, denominadas colectivamente *micelio* (**Figura 17.20*a***). A partir del tapiz miceliar, algunas hifas pueden formar ramas que se extienden hacia arriba sobre la superficie, y en el extremo de estas hifas aéreas se forman las esporas denominadas **conidios** (Figura 17.20*b*). Los conidios son esporas asexuales que

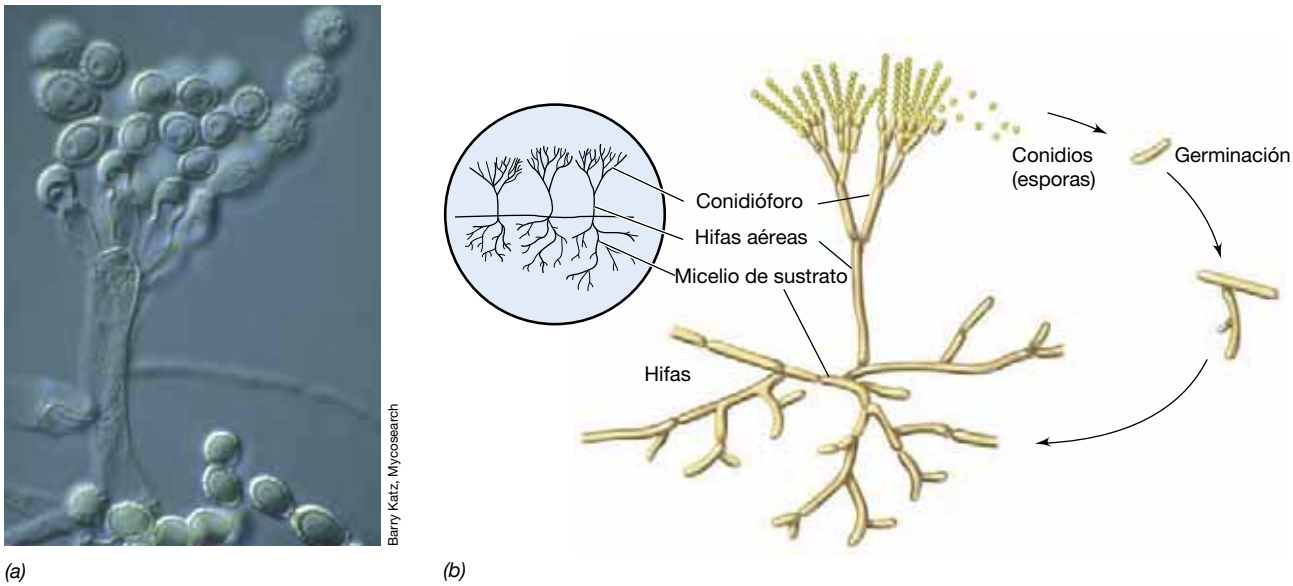
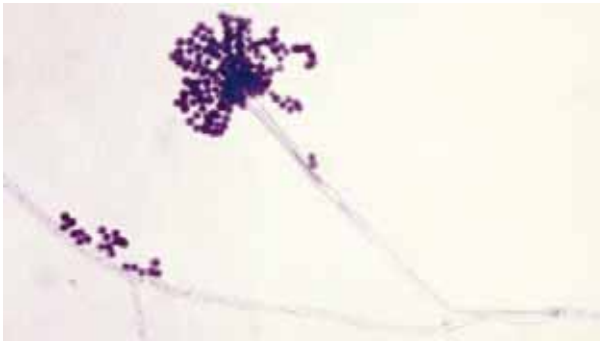


Figura 17.19 Estructura fúngica y crecimiento. *(a)* Fotografía con el microscopio óptico de un moho típico. Las estructuras esféricas en los extremos de las hifas aéreas son esporas asexuales (conidios). *(b)* Diagrama del ciclo de vida de un moho. Los conidios pueden ser dispersados por el viento o por animales y tienen unos 2 μm de ancho.

UNIDAD 3



(a)



(b)

Figura 17.20 **Hongos filamentosos**. *(a)* Colonias de una especie del ascomiceto *Aspergillus*, crecidas en una placa de agar. Obsérvese la apariencia de la masa de células filamentosas (el micelio) y las esporas asexuales que le dan a la colonia ese aspecto polvoriento y mate. *(b)* Conidióforo y conidios de *Aspergillus fumigatus* (Figura 17.19). El conidióforo tiene unos 300 µm de largo y los conidios unos 3 µm de ancho.

a menudo están pigmentadas de color negro, verde, rojo, amarillo o marrón (Figura 17.20). Los conidios dan al micelio un aspecto polvoriento (Figura17.20*a*) y sirven para la dispersión del hongo a nuevos hábitats. Algunos hongos forman estructuras reproductivas macroscópicas denominadas *cuerpos fructíferos* (por ejemplo las **setas**), en las que se producen millones de esporas y desde las cuales se pueden dispersar por el viento, el agua o los animales (**Figura 17.21**). En contraste con los hongos que desarrollan micelio, algunos otros crecen como organismos unicelulares; estos hongos se denominan **levaduras**.

La mayoría de las paredes celulares fúngicas contiene **quitina**, que es un polímero de *N*-acetilglucosamina. La quitina se dispone en las paredes celulares formando haces microfibrilares, como sucede con la celulosa en las paredes celulares de plantas, dando consistencia estructural a esta formación. En algunas paredes celulares de hongos, otros polisacáridos, como por ejemplo mananos, galactosanos o incluso celulosa, pueden suplementar o sustituir a la quitina. Las paredes celulares fúngicas están habitualmente compuestas de un 80-90 % de polisacáridos, además de una matriz compuesta por pequeñas cantidades de proteínas, lípidos, polifosfatos e iones inorgánicos, que cementan la pared.

Simbiosis y patogenia

La mayoría de las plantas dependen de los hongos para que les faciliten la adquisición de los minerales del suelo. Los hongos

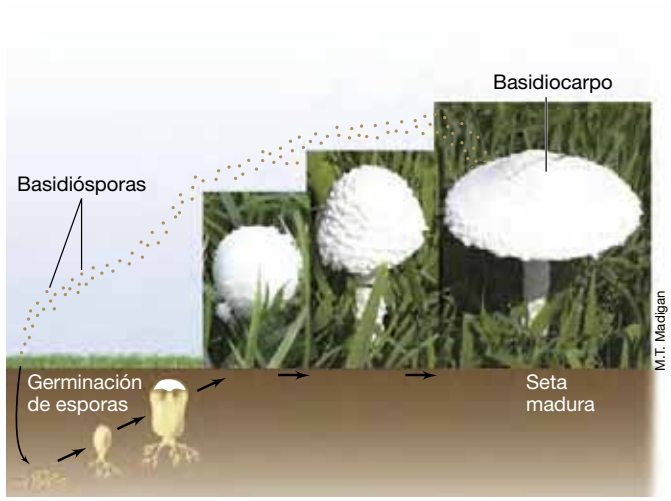


Figura 17.21 **Ciclo de vida de un basidiomiceto**. Las setas se desarrollan típicamente en el interior del suelo emergiendo a la superficie rápidamente (normalmente en una noche), en respuesta a un incremento de la humedad. Las fotos corresponden a fases en la formación de una seta común (véase también Sección 17.14).

forman asociaciones simbióticas con las raíces de las plantas, que se denominan *micorrizas* (palabra que significa literalmente «raíces hongo»). Los hongos de micorrizas establecen un contacto íntimo con las raíces y ayudan a la planta a obtener del suelo fosfato y otros minerales y también agua. A cambio, los hongos obtienen nutrientes de la raíz, como por ejemplo azúcares (↻ Figura 22.24). Existen dos tipos de asociaciones tipo micorrizas. Uno son las *ectomicorrizas*, que se forman típicamente entre hongos basidiomicetos (Sección 17.14) y las raíces de plantas leñosas. Otro tipo de asociación son las *endomicorrizas*, que se forman entre los hongos glomeromicetos (Sección 17.12) y muchas plantas herbáceas (no leñosas). Algunos hongos también forman asociaciones simbióticas con cianobacterias y con algas verdes. Estas asociaciones se denominan *líquenes* y parecen costras coloreadas crecidas sobre las superficies de árboles y rocas. Se presentan datos adicionales sobre la biología de las micorrizas y los líquenes en las Secciones 22.1 y 22.5, respectivamente.

Los hongos pueden invadir y causar enfermedades en plantas y animales. Los hongos patógenos de plantas ocasionan daños considerables a plantas y cosechas en todo el mundo y, en particular, las cosechas de frutas y cereales sufren pérdidas anuales significativas como consecuencia de las infecciones por hongos. En humanos las enfermedades causadas por hongos se denominan *micosis* y pueden varíar desde molestias menores que se curan con facilidad, como el pie de atleta, hasta micosis sistémicas potencialmente mortales, como la histoplasmosis. En la Sección 32.2 se describen algunas enfermedades causadas por hongos en los humanos.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué son los conidios? Diferencie entre conidio, micelio e hifa.
- ¿Qué es la quitina y dónde se presenta en los hongos?
- Establezca diferencias entre micorrizas y líquenes.

17.10 Reproducción y filogenia de los hongos

Los hongos se reproducen de modo asexual por alguna de estas tres maneras distintas: (1) mediante el crecimiento y extensión de las hifas filamentosas; (2) mediante la producción de esporas asexuales (conidios: Figuras 17.20 y 17.21) o (3) por simple división celular como en las levaduras con yemas (**Figura 17.22**). La mayoría de los hongos también forman esporas sexuales como parte de un elaborado ciclo vital. Durante tiempo se pensó que algunos hongos, como el conocido moho *Penicillium* (productor del antibiótico penicilina), eran incapaces de tener una fase sexual, y que solamente se reproducían mediante conidios. Pero recientemente se ha visto que *Penicillium* (y probablemente muchos otros hongos de su clase taxonómica, los *Deuteromicetos*) presenta una fase sexual en su ciclo de vida.

Esporas sexuales de hongos

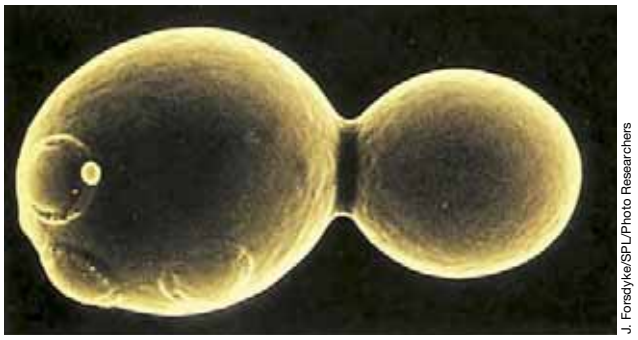
Algunos hongos producen esporas como resultado de la reproducción sexual. Las esporas se desarrollan por la fusión de gametos unicelulares o bien por la fusión de hifas especializadas denominadas *gametangios*. Alternativamente, las esporas sexuales pueden originarse por la fusión de dos células haploides para dar lugar a una célula diploide; esta célula diploide sufre meiosis y mitosis para producir esporas haploides individuales. Dependiendo del grupo, se pueden producir distintos tipos de esporas sexuales. Las esporas formadas dentro de un saco cerrado (asca) se denominan *ascósporas*. Muchas levaduras producen ascósporas y analizaremos esta situación en la Sección 17.13 cuando presentemos el ciclo de vida de la levadura común de panadería, *Saccharomyces cerevisiae*. Las esporas sexuales producidas en los extremos de estructuras en forma de maza (basidios) se denominan *basidiósporas* (Figuras 17.21 y 17.30*c*). Las *zigósporas*, producidas por zigomicetos como el moho común del pan, *Rhizopus* (Sección 17.12), son estructuras visibles macroscópicamente que se forman mediante la fusión de hifas e intercambio genético. Finalmente, la zigospora madura produce esporas asexuales que se dispersan por el aire y germinan para formar nuevo micelio fúngico. Los hongos quitridios producen esporas sexuales móviles llamadas *zoósporas*.

Las esporas sexuales de los hongos son típicamente resistentes a la desecación, al calentamiento, a la congelación y a algunos productos químicos. Sin embargo, ni las esporas sexuales ni las asexuales de los hongos son tan resistentes al calor como las endósporas bacterianas (↔ Sección 2.16). Tanto las esporas sexuales como las asexuales de un hongo pueden germinar y desarrollar nuevas hifas y micelios.

La filogenia de los hongos

Los hongos comparten un antecesor común con los animales que es más reciente que cualquier otro grupo de organismos eucariotas (Figura 17.3). Se cree que los hongos y los animales se separaron hace aproximadamente 1.500 millones de años. Se considera que el linaje fúngico más antiguo lo constituyen los quitridiomicetos, un grupo inusual en el que las células producen esporas flageladas (zoósporas, Sección 17.11). Por tanto, la falta de flagelo en la mayoría de los hongos nos indica que la movilidad es una característica que se ha perdido en distintos momentos en los diferentes linajes fúngicos.

La **Figura 17.23** presenta una imagen detallada de la filogenia de los hongos en el árbol evolutivo. La filogenia mostrada, que se basa en la comparación de secuencias del RNA 18S (empleado para resolver entre eucariotas relaciones próximas, más bien que distantes; véase la Sección 17.2) define varios grupos distintos de hongos: los quitridiomicetos, zigomicetos,



J. Forsdyke/SPL/Photo Researchers

Figura 17.22 La levadura del pan y la cerveza *Saccharomyces cerevisiae* (ascomicetos). En esta microfotografía coloreada del microscopio electrónico de barrido se observa la división por gemación y las cicatrices de gemaciones previas. Una célula aislada tiene unos 6 μm de diámetro.

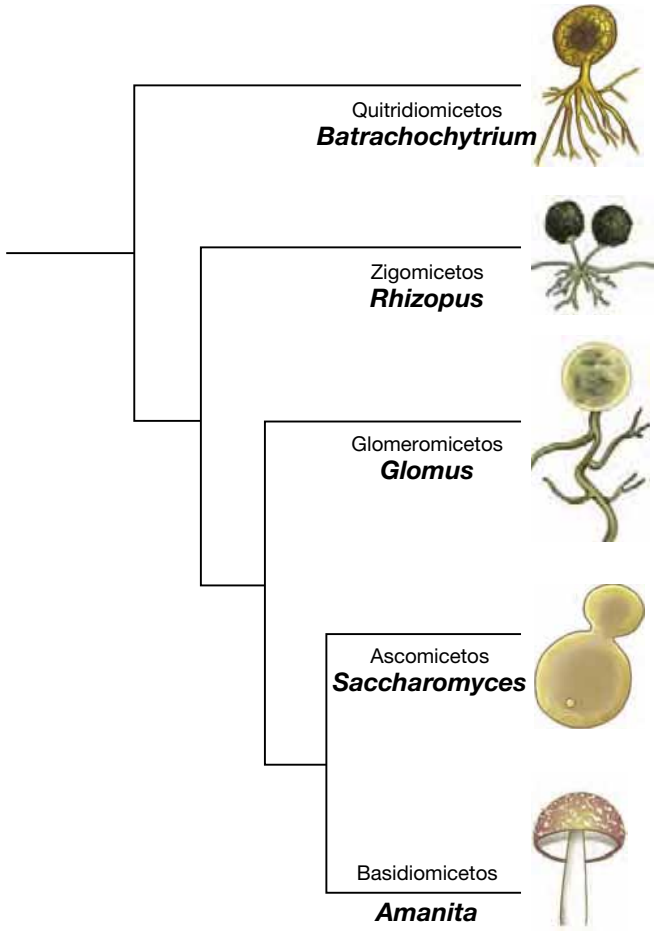


Figura 17.23 Filogenia de los hongos. Este árbol filogenético basado en la secuencia del gen que codifica el RNA ribosómico 185, muestra las relaciones entre los grandes grupos (filums) de hongos. En el árbol, se indica un género típico para cada grupo.

glomeromicetos, ascomicetos y basidiomicetos. La Figura 17.23 también apoya la idea de que los quitridiomicetos están filogenéticamente más cercanos a la raíz del árbol filogenético respecto a los demás grupos de hongos y que los grupos de hongos más alejados de la raíz son los basidiomicetos, que incluyen las setas (Figuras 17.21 y 17.30), y los ascomicetos, que incluye las levaduras como *Saccharomyces* (Figura 17.22) y los mohos como *Aspergillus* (Figura 17.20).

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué *Penicillium* es económicamente importante?
- ¿Cuales son las principales diferencias entre conidios y ascósporas?
- ¿Con qué grupo de macroorganismos están los hongos más estrechamente relacionados?

17.11 Chytridiomycetes

Géneros principales: *Allomyces, Batrachochytrium*

Los quitridiomicetos o *quitridios*, son el primer linaje divergente de hongos (Figura 17.23). Su nombre hace referencia a la estructura de sus cuerpos fructíferos («pequeño tiesto»), que contiene sus esporas sexuales (*zoósporas*). Estas esporas son inusuales entre las esporas fúngicas porque son flageladas y móviles, y por tanto ideales para su dispersión en los ambientes acuáticos, que son en general de agua dulce o suelos húmedos, donde estos organismos se encuentran habitualmente.

Se conocen muchas especies de quitridios, algunos de los cuales son unicelulares, mientras que otros forman colonias con hifas. Incluyen formas de vida libre que degradan material orgánico, como *Allomyces* y también parásitos de animales, plantas y protistas. *Batrachochytrium dendrobatidis* es un quitridio que causa la quitidriomicosis en ranas (**Figura 17.24**), una enfermedad en la que el hongo infecta la epidermis de la rana e interfiere con su capacidad de respirar a través de la piel. Los hongos quitridios se han relacionado con la muerte generalizada de anfibios por todo el mundo, posiblemente como consecuencia del incremento en la temperatura ambiental asociada al calentamiento global. Se cree que las temperaturas más cálidas han mejorado las condiciones ambientales para los quitridios y en consecuencia es más frecuente que estos entren en contacto con las ranas. Otros factores podrían estar contribuyendo a la mortalidad de ranas, lo que incluye una mayor susceptibilidad de estos anfibios a la infección por quitridios, debida a la pérdida de sus hábitats y a la contaminación ambiental del agua.

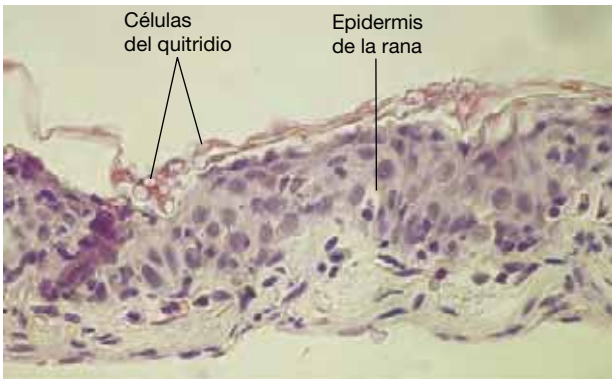


Figura 17.24 Quitridiomicetos. Células del quitridio *Batrachochytrium dendrobatidis* teñidas de rosa creciendo en la superficie de la epidermis de una rana.

Algunos quitridios son anaerobios estrictos, una propiedad que es poco común entre los eucariotas, y se encuentran en el rumen de animales rumiantes, es decir, en la porción del aparato digestivo donde tiene lugar la hidrólisis de la celulosa y polisacáridos relacionados (↔ Sección 22.7). Por ejemplo, el quitridio *Neocallimastix* habita en el rumen y obtiene energía de la fermentación de azúcares produciendo ácidos, alcohol y H_2. Las células de *Neocallimastix* carecen de mitocondrias pero contienen hidrogenosomas que ayudan a este estilo de vida fermentativo degradando el piruvato hasta acetato más CO_2 y H_2 (↔ Figura 2.64).

Algunos aspectos sin resolver de la filogenia de los quitridios sugieren que este grupo no es monofilético. Varios organismos actualmente aceptados como quitridios podrían estar más relacionados con especies pertenecientes a otros grupos de hongos, como por ejemplo los zigomicetos. Como sucede con otros protistas, hay muchos aspectos de la evolución de los hongos que todavía desconocemos.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué grupo animal ha sido muy afectado por los quitridios?
- ¿Qué característica distingue a los quitridios de otros hongos?
- ¿Qué propiedad fisiológica poco usual presenta el quitridio *Neocallimastix*?

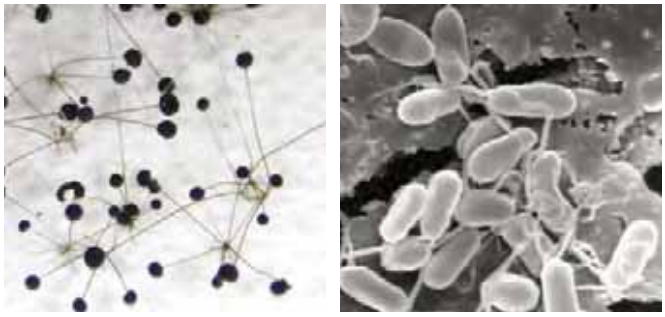
17.12 Zigomicetos y Glomeromicetos

Géneros principales: *Rhizopus, Encephalitozoon, Glomus*

Se consideran aquí dos grupos de hongos, los zigomicetos, conocidos principalmente por su papel en el deterioro de alimentos, y los glomeromicetos, que son importantes por establecer varias asociaciones como micorrizas. Los zigomicetos se suelen encontrar en el suelo o en materiales vegetales en descomposición mientras que los glomeromicetos se encuentran formando simbiosis radiculares en las plantas. Todos estos hongos son cenocíticos (multinucleados) y una propiedad común a todos ellos es la formación de esporas sexuales llamadas *zigósporas* (Sección 17.10).

Rhizopus, el moho común del pan

El moho negro del pan *Rhizopus* (**Figura 17.25*a***) es un zigomiceto común. Este organismo desarrolla un ciclo de vida complejo que incluye reproducción tanto sexual como asexual. Durante la fase asexual el micelio forma esporangios, dentro de los cuales se producen esporas haploides. Cuando se liberan, estas esporas se dispersan y acaban germinando, dando lugar a un micelio que crece vegetativamente. Durante la fase sexual, gametangios miceliares de diferente tipo sexual (análogos a macho y hembra, véase la Sección 17.3) se fusionan para formar una célula con dos núcleos que se llama *zigosporangio* y que puede mantenerse latente y resistir la sequedad y otras condiciones desfavorables. Cuando las condiciones son favorables, los diferentes



(a) (b)

Figura 17.25 Zigomicetos y microsporidios. *(a)* Micelio de *Rhizopus* con esporangios esféricos que contienen esporas asexuales. *(b)* Micrografía con el microscopio electrónico de barrido de células de *Encephalitozoon intestinalis*.

núcleos haploides se fusionan para formar núcleos diploides, que sufren meiosis produciendo esporas haploides. Como en la fase asexual, la liberación de las esporas, que en este caso no son genéticamente idénticas, permite la dispersión del organismo para su crecimiento vegetativo en forma de hifas.

Microsporidios y glomeromicetos

Los microsporidios son minúsculos (2-5 µm) organismos unicelulares, parásitos obligados de animales y de protistas. Teniendo en cuenta la secuenciación de genes del RNA 18S y su carencia de mitocondrias, se consideró con anterioridad que representaban un linaje muy antiguo de *Eukarya*. Sin embargo, la secuenciación de diversos genes y proteínas indica que los microsporidios están estrechamente relacionados con los zigomicetos (Figura 17.3).

Los microsporidios se han adaptado a un estilo de vida parasítico mediante la eliminación o pérdida de varios rasgos clave de la biología eucariota; están incluso más simplificados estructuralmente que otros eucariotas carentes de mitocondrias. Por ejemplo, el microsporidio *Encephalitozoon* (Figura 17.25*b*) carece de todo orgánulo, incluyendo el aparato de Golgi y los hidrogenosomas (↬ Figura 2.60) y tiene un genoma muy pequeño. El genoma de *Encephalitozoon* solo tiene 2,9 Mbp y unos 2.000 genes (¡esto significa que tiene 1,5 Mbp y 2.600 genes menos que el genoma de la bacteria *Escherichia coli*!). El genoma de *Encephalitozoon* no tiene genes para rutas metabólicas básicas, como la del ciclo del ácido cítrico, lo que implica que este patógeno tiene que depender en gran medida de su hospedador, incluso para los procesos metabólicos más básicos. *Encephalitozoon* causa enfermedades crónicas y debilitantes en el intestino, pulmones, ojos, músculos y algunos órganos internos pero no es común entre adultos sanos con un sistema inmune normal. Sin embargo, las enfermedades por microsporidios aparecen actualmente con incrementada frecuencia en individuos inmunocomprometidos, como los pacientes con sida, o con aquellos a los que se administran terapias de larga duración con agentes inmunosupresores.

Los glomeromicetos son un grupo singular y relativamente pequeño de hongos simbióticos, cuyas especies forman asociaciones con plantas llamadas *endomicorrizas* (Sección 17.9 y ↬ Sección 22.5). El 80 % o más de las plantas terrestres forman estas asociaciones en las que las hifas del hongo penetran en la célula vegetal y ayudan a la planta mediante el suministro de minerales del suelo en contraprestación al carbono fijado por la planta. Como simbiontes vegetales, los glomeromicetos pueden haber jugado un importante papel en la capacidad de las plantas vasculares primitivas para colonizar nuevas tierras. Parece que estos hongos se reproducen solamente de modo asexual y presentan hifas de naturaleza cenocítica. Las esporas de *Glomus* (Figura 17.23), un género importante formador de endomicorrizas, pueden recogerse de las raíces de plantas cultivadas y emplearse como inóculo para asegurar asociaciones simbióticas vigorosas en otros cultivos.

MINIRREVISIÓN

- Compare los hábitats de los zigomicetos y de los glomeromicetos.
- ¿Qué es peculiar del genoma de los microsporidios?
- ¿Cómo favorece *Glomus* la adquisición de nutrientes por las plantas?

UNIDAD 3

17.13 Ascomicetos

Géneros principales: *Saccharomyces*, *Candida*, *Aspergillus*

Los ascomicetos son un grupo grande y variado de hongos, que varían desde especies unicelulares, como la levadura *Saccharomyces* que se utiliza en panadería (**Figura 17.26** y Figura 17.22), hasta especies de crecimiento filamentoso, como el moho común *Aspergillus* (Figura 17.20). El grupo de los ascomicetos, cuyos representantes se encuentran en ambientes acuáticos y terrestres, reciben su nombre de la producción de *ascas*, células en las que dos núcleos haploides de diferente tipo sexual se fusionan, formando un núcleo diploide que sufre meiosis para formar ascósporas haploides. Además de producir ascósporas, los ascomicetos se reproducen asexualmente mediante la producción de conidios que se forman por mitosis en el extremo de hifas especializadas denominadas *conidióforos* (Figura 17.20). En la naturaleza son frecuentes levaduras saprofitas y levaduras patógenas, como *Candida albicans*. Aquí nos centraremos en la levadura *Saccharomyces* como ascomiceto representativo.

Saccharomyces cerevisiae

Las células de *Saccharomyces* y de otros ascomicetos unicelulares son normalmente esféricas, ovales o cilíndricas y su división celular se produce por gemación. En el proceso de gemación, la nueva célula se forma como una pequeña excrecencia de la célula

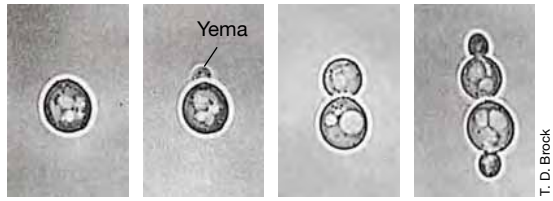


Figura 17.26 Crecimiento por gemación de *Saccharomyces cerevisiae*. Se muestra una serie temporal de fotografías bajo el microscopio de contraste de fase de la división por gemación, a partir de una única célula. Obsérvese el núcleo pronunciado. Una célula de *S. cerevisiae* tiene unos 6 µm de diámetro.

progenitora; esta yema va engrosándose gradualmente y se acaba separando de la célula progenitora (Figuras 17.22 y 17.26).

Las células de levadura son mucho más grandes que las células bacterianas y pueden distinguirse microscópicamente de los procariotas gracias a su mayor tamaño y a la presencia obvia de estructuras intracelulares como el núcleo o vacuolas citoplasmáticas (Figura 17.26). Las levaduras prosperan en hábitats donde hay azúcares disponibles, como en frutas, flores o la corteza de los árboles. La mayoría de las levaduras son anaerobias facultativas, capaces tanto de un metabolismo totalmente aerobio como de un metabolismo fermentativo. Una serie de especies de levaduras viven en simbiosis con animales, especialmente insectos y otras cuantas especies son patógenas de animales y de humanos (↻ Sección 32.2). Las levaduras de mayor relevancia comercial son las levaduras panaderas y cerveceras, que son especies del género *Saccharomyces*. La levadura *S. cerevisiae* ha sido estudiada como modelo de eucariota durante muchos años y fue el primer eucariota en tener su genoma completamente secuenciado (↻ Sección 6.6)

Tipos de apareamiento y reproducción sexual en *Saccharomyces*

Saccharomyces presenta reproducción sexual mediante un proceso en el cual se fusionan dos células de levadura. Dentro de la célula producto de dicha fusión, denominada *zigoto*, ocurre una meiosis y acaban formándose ascósporas. El ciclo de vida de *S. cerevisiae* se describe en la **Figura 17.27**. Las células de *S. cerevisiae* pueden crecer vegetativamente en fase haploide o diploide. *S. cerevisiae* forma dos tipos diferentes de células haploides llamados *tipos sexuales* o tipos de apareamiento, que se designan como α (alfa) y como *a* (codificados por los genes α y *a*), y que son análogos a los gametos masculinos y femeninos. Los genes α y *a* regulan respectivamente la producción del factor α y del factor *a* que son hormonas peptídicas secretadas por la levadura durante el apareamiento. Estas hormonas se unen a las células del tipo de apareamiento opuesto, e inducen cambios en su superficie celular que permiten que las células se fusionen. Una vez que el apareamiento se ha completado, los núcleos se fusionan y forman un zigoto diploide (**Figura 17.28**). El zigoto crece vegetativamente por gemación y en condiciones de limitación de nutrientes, sufrirá meiosis y de nuevo producirá ascósporas (Figura 17.27).

Las células haploides de *S. cerevisiae* están genéticamente determinadas para ser de tipo *a* o de tipo α, pero son capaces

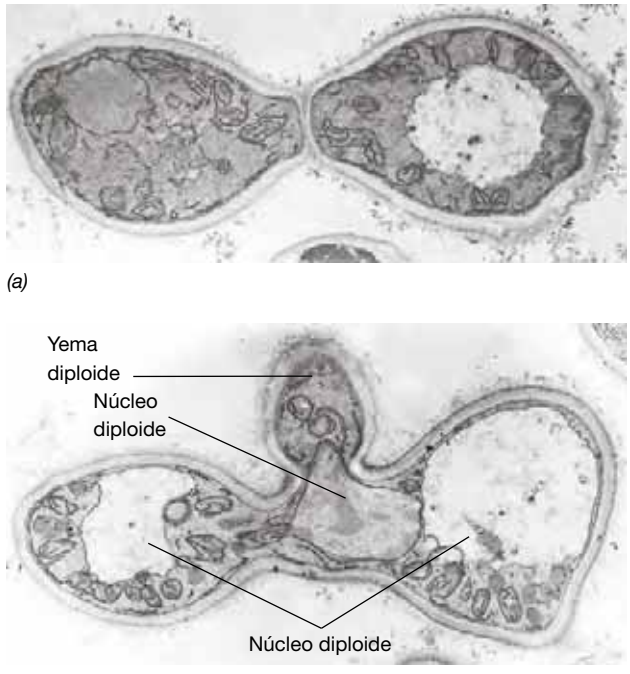


Figura 17.28 **Fotografía con el microscopio electrónico del proceso de apareamiento de la levadura ascomiceto *Hansenula wingei*.** *(a)* Dos células se han fusionado en el punto de contacto y cada una ha emitido protuberancias en dirección a la otra. *(b)* Estadio tardío del apareamiento. El núcleo de las dos células se ha fusionado y se ha formado una yema diploide en ángulo recto a las células fusionadas. Esta yema se acaba separando y convirtiéndose en el progenitor de una línea celular diploide. Una célula de *Hansenula* tiene unos 10 μm de diámetro.

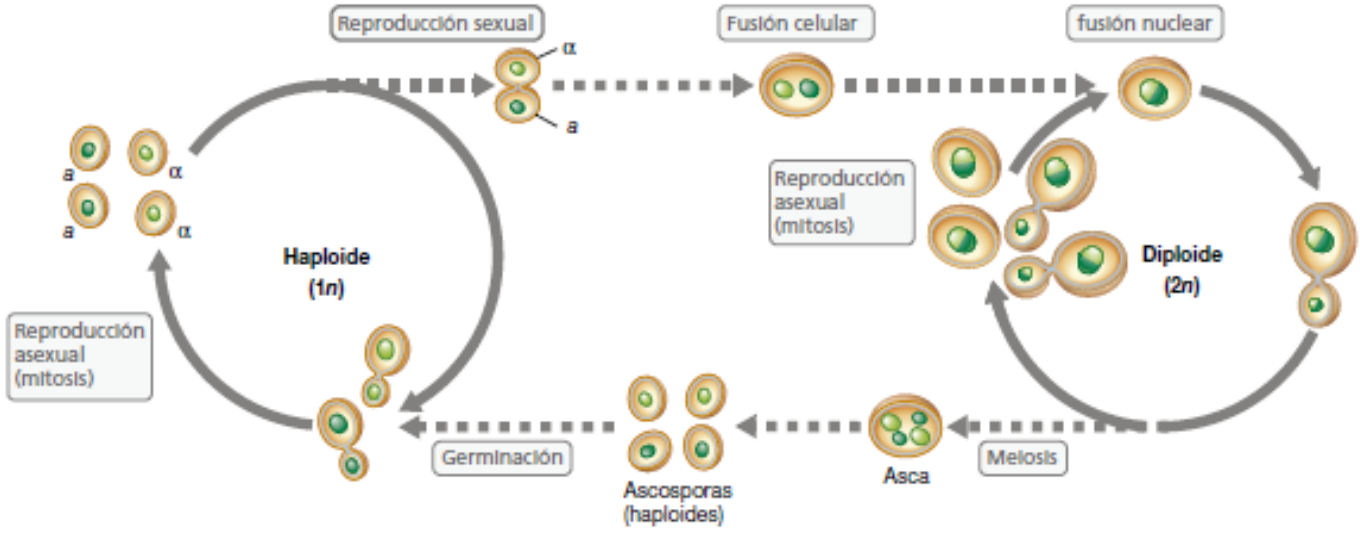


Figura 17.27 **Ciclo de vida de una levadura ascomiceto típica, *Saccharomyces cerevisiae*.** Las células pueden crecer vegetativamente como haploides por largo tiempo, o como células diploides antes de que el ciclo de vida (flechas de puntos) genere la forma genética alternativa.

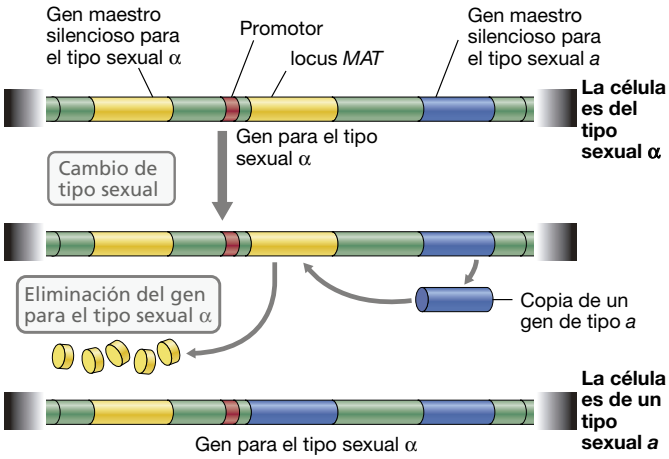


Figura 17.29 El mecanismo de casete permite la conversión del tipo sexual de una levadura ascomiceto de *α* a *a*. El casete insertado en el locus MAT determina el *tipo sexual*. El proceso es reversible de modo que una levadura *a* también puede convertirse a *α*.

de cambiar su tipo sexual. Este cambio de tipo sexual se produce cuando el gen activo que es determinante del tipo de apareamiento es sustituido por uno de los dos genes normalmente inactivos, como se muestra en la Figura 17.29. Existe un único sitio en uno de los cromosomas de *S. cerevisiae* denominado locus MAT (del inglés *mating type*, o tipo de apareamiento), en el cual puede insertarse alternativamente el gen *a* o el gen *α*. En este locus, el promotor MAT controla la transcripción del gen allí insertado. Si el gen *a* está ocupando el locus, entonces la célula presenta el tipo sexual *a*, mientras que si el locus está ocupado por el gen *α*, la célula presenta el tipo sexual *α*. En otro sitio del genoma de la levadura hay copias sin expresar de los genes *a* y *α*, que es la fuente de donde proceden los genes que acaban insertados en el locus MAT. Para que se produzca el cambio de tipo sexual (Figura 17.29) el gen correspondiente, *a* o *α*, se copia a partir del sitio silencioso y se inserta en el locus MAT, sustituyendo al gen que estuviera presente. El gen determinante del tipo de apareamiento a sustituir se escinde y se elimina, y el nuevo gen se inserta en su lugar. Solo se transcribe el gen insertado en el locus MAT, independientemente de cuál de los dos genes sea. Resulta por tanto posible que en un cultivo puro de *S. cerevisiae*, derivado de una célula aislada, las células del cultivo se apareen si ocurre un cambio del tipo sexual en una o más células del cultivo.

MINIRREVISIÓN

- ¿Las ascósporas son haploides o diploides?
- Explique cómo una sola célula haploide de *Saccharomyces* puede llegar a producir una célula diploide.

17.14 Setas y otros basidiomicetos

Géneros principales: *Agaricus, Amanita*

Los basidiomicetos son un gran grupo de hongos, con más de 30.000 especies descritas. Muchas de ellas son conocidas comúnmente como setas, algunas de las cuales son comestibles, como *Agaricus*, que se produce comercialmente, mientras que otras como *Amanita* son extremadamente venenosas (Figura 17.30*a*). El grupo de los basidiomicetos también incluye los pedos de lobo, los tizones, las royas y un patógeno importante de la especie humana, *Cryptococcus* (↬ Sección 32.2). La característica común de los basidiomicetos es el *basidio*, una estructura en la que se forman las basidiósporas mediante meiosis. El basidio (que significa «pequeño pedestal») (Figura 17.30*c*) da su nombre a este grupo.

Durante la mayor parte de su existencia, un hongo de este tipo vive como un sencillo micelio haploide, que crece vegetativamente en el suelo, sobre restos de hojas o troncos en descomposición. Lo que produce la estructura visible de estos hongos, en forma de la tan familar seta, es la fase sexual reproductiva de los basidiomicetos (Figuras 17.21 y 17.30). En este proceso, micelios haploides de tipos sexuales distintos se fusionan para formar un micelio dicariótico (con dos núcleos por célula) cuyo rápido crecimiento sobrepasa a los micelios haploides parentales. Cuando las condiciones resultan favorables, normalmente después de un corto período de tiempo con clima húmedo y frío, el micelio dicariótico se transforma en el *basidiocarpo* o cuerpo fructífero, empezando como una masa micelial que se diferencia en una pequeña estructura subterránea en forma de botón y que acaba expandiéndose hasta convertirse en el basidiocarpo

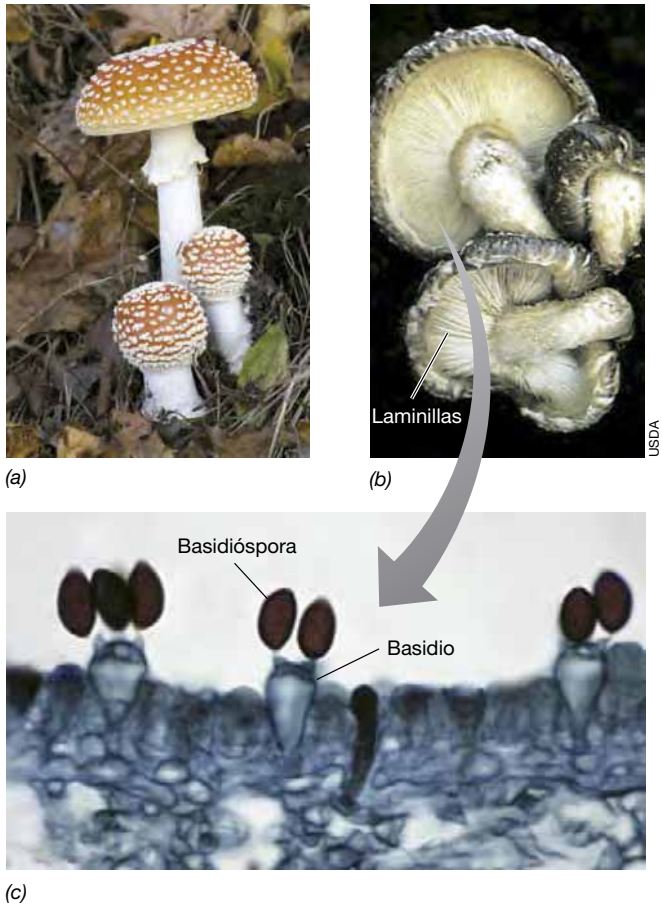


Figura 17.30 Setas. *(a)* El basidiomiceto *Amanita*, una seta muy venenosa. *(b)* Laminillas en la cara inferior del cuerpo fructífero de la seta que contienen los basidios portadores de esporas. *(c)* Fotografía con el microscopio óptico de basidios y basidiósporas de la seta *Coprinus*.

aéreo maduro que podemos ver y que denominamos seta (Figuras 17.21 y 17.30). Los basidios dicarióticos, localizados en la superficie inferior del basidiocarpo, sobre unas laminillas denominadas *himenios* unidas al sombrero de la seta (Figura 17.30*b*, *c*), experimentan la fusión de ambos núcleos, formando basidios con núcleos diploides. Las dos rondas de división meiótica generan cuatro núcleos haploides en el basidio, cada uno de los cuales da lugar a una basidióspora. Las basidiósporas, genéticamente distintas, se dispersan por el viento hacia nuevos hábitats para recomenzar el ciclo, germinando en condiciones favorables y creciendo como micelios haploides (Figura 17.21).

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué basidiomicetos son comestibles?
- ¿Las basidiósporas son haploides o diploides?

IV • Algas rojas y verdes

Finalizamos nuestra revisión de la diversidad microbiana eucariota con las **algas**. Como hemos dicho, solo las algas rojas y las algas verdes se originaron por un suceso de endosimbiosis primaria, mientras que otros protistas con cloroplastos fueron el resultado de una endosimbiosis secundaria (Figuras 17.2 y 17.3). Aquí nos centraremos en las algas verdes y las algas rojas, un grupo grande y variado de organismos eucariotas que contienen clorofila y que llevan a cabo fotosíntesis oxigénica.

17.15 Algas rojas

Géneros principales: *Polysiphonia, Cyanidium, Galdiera*

Las algas rojas, también llamadas *rodofíceas*, se encuentran principalmente en hábitats marinos, aunque unas pocas especies viven en hábitats terrestres o de agua dulce. Incluyen tanto formas unicelulares como pluricelulares, y algunas de estas últimas son macroscópicas.

Propiedades básicas

Las algas rojas son fotótrofas y contienen clorofila *a*; son notables entre las algas porque sus cloroplastos carecen de clorofila *b* y contienen ficobiliproteínas, los principales pigmentos captadores de luz de las cianobacterias (↻ Sección 13.2). El color rojizo de muchas algas rojas (**Figura 17.31**) se debe a la ficoeritrina, un pigmento accesorio que enmascara el color verde de la clorofila. Este pigmento se presenta junto con ficocianina y aloficocianina en estructuras llamadas *ficobilisomas*, componentes captadores de luz (antenas) de las cianobacterias. A gran profundidad en los ambientes acuáticos donde penetra poca luz, las células producen más ficoeritrina y son de un rojo más oscuro, mientras que aquellas especies que viven en aguas someras tienen frecuentemente menos ficoeritrina y pueden llegar a ser verdes (véase la Figura 17.32).

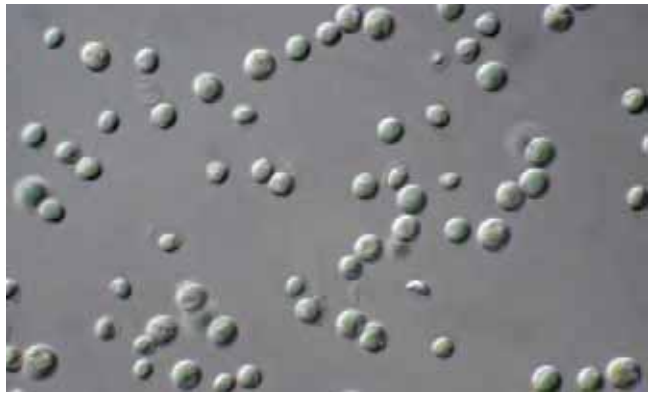
La mayoría de las especies de algas rojas son multicelulares y carecen de flagelos. Algunas están incluidas entre las grandes algas marinas y sirven de fuente de agar, el polisacárido usado como agente solidificante en medios de crecimiento para bacteriología, y de otros agentes espesantes y solidificantes empleados en la industria alimentaria. Otras especies, como las del género *Porphyra*, se recolectan y se secan para la preparación de sushi. Algunas especies de algas rojas pueden ser filamentosas, con forma de hoja o incluso coralinas (parecidas al coral). Estas algas rojas coralinas juegan un papel importante en el desarrollo de los arrecifes de coral y ayudan a reforzar los arrecifes frente al daño de las olas (↻ Sección 22.14)

Cyanidium y organismos relacionados

También se conocen especies unicelulares de algas rojas. Un grupo de ellas, miembros de las *Cianidiales*, que incluyen los géneros *Cyanidium*, *Cyanidioschyzon* y *Galdieria* (**Figura 17.32**), viven en manantiales termales ácidos a temperaturas que rondan entre los 35 °C y los 56 °C y valores de pH que varían entre 0,5 y 4,0; en estas condiciones extremas no puede vivir ningún otro microorganismo fotótrofo (ni incluso los fotótrofos



Figura 17.31 ***Polysiphonia*, un alga roja filamentosa marina.** Fotografía con el microscopio óptico. *Polysiphonia* crece unida a la superficie de plantas marinas. Las células son de unos 150 μm de ancho.



Richard W. Castenholz

Figura 17.32 ***Galdieria*, un alga roja unicelular.** Esta alga vive a pH bajo y elevadas temperaturas en manantiales termales. Las células tienen unos 25 μm de diámetro y son de color verdeazulado más bien que rojo véase la página 583 sobre las interesantes propiedades del genoma de *Galdieria*.

anoxigénicos). Las algas rojas unicelulares son inusuales por varios otros motivos. Por ejemplo, las células de *Cyanidioschyzon merolae* son inusualmente pequeñas (1-2 µm de diámetro) para ser eucariotas y además el genoma de esta especie, de aproximadamente 16,5 Mbp, es uno de los más pequeños conocidos entre los eucariotas fotótrofos.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué características relacionan las cianobacterias con las algas rojas?
- ¿Qué propiedades fisiológicas presenta *Galdieria* para vivir en su hábitat?

17.16 Algas verdes

Géneros principales: *Chlamydomonas*, *Volvox*

Las algas verdes, también llamadas *clorofíceas*, tienen cloroplastos con clorofila *a* y *b*, lo que les confiere su color verde característico, pero carecen de ficobilinas (Figuras 17.31 y 17.32), por lo que no desarrollan las coloraciones de las algas rojas. Su composición de pigmentos fotosintéticos es similar a la de plantas, con las que se encuentran filogenéticamente muy relacionadas. Existen dos grupos principales de algas verdes: las clorofitas, entre las que se cuentan las algas unicelulares *Chlamydomona* y *Dunaliella* (Figura 17.33*a*) y las carofitas, como *Chara* (Figura 17.33*b*), organismos macroscópicos que forman el grupo más relacionado con las plantas terrestres.

La mayoría de las algas unicelulares viven en agua dulce, aunque también pueden vivir en suelos húmedos o en la nieve, a la que confieren un color rosado (↔ Figura 5.22), o como simbiontes en los líquenes (↔ Sección 22.1). La clorofitas presentan variadas morfologías y pueden ser unicelulares (Figura 17.33*a, c*); filamentosas, con células individuales dispuestas una tras otra (Figura17.33*e*); **coloniales,** en forma de agregados celulares (Figura17.33*f*) y multicelulares, como en el alga marina *Ulva*. La mayoría tiene un ciclo de vida complejo, con estadios reproductivos sexuales y asexuales.

Algas verdes microscópicas y coloniales

Uno de los eucariotas más pequeños conocidos es el alga verde *Ostreococcus tauri*, un miembro unicelular habitual del fitoplancton marino (↔ Sección 19.10), que presenta un diámetro celular de aproximadamente 2 µm. *Ostreococcus tauri* también es notable por poseer el genoma más pequeño de cualquier eucariota fotótrofo conocido, con aproximadamente 12,6 Mbp. Así, *Ostreococcus* sirve como organismo modelo para la investigación sobre la evolución por reducción genómica y la especialización en eucariotas.

Volvox (Figura 17.33*f*) es un alga verde con organización colonial. Esta alga forma colonias compuestas por varios cientos

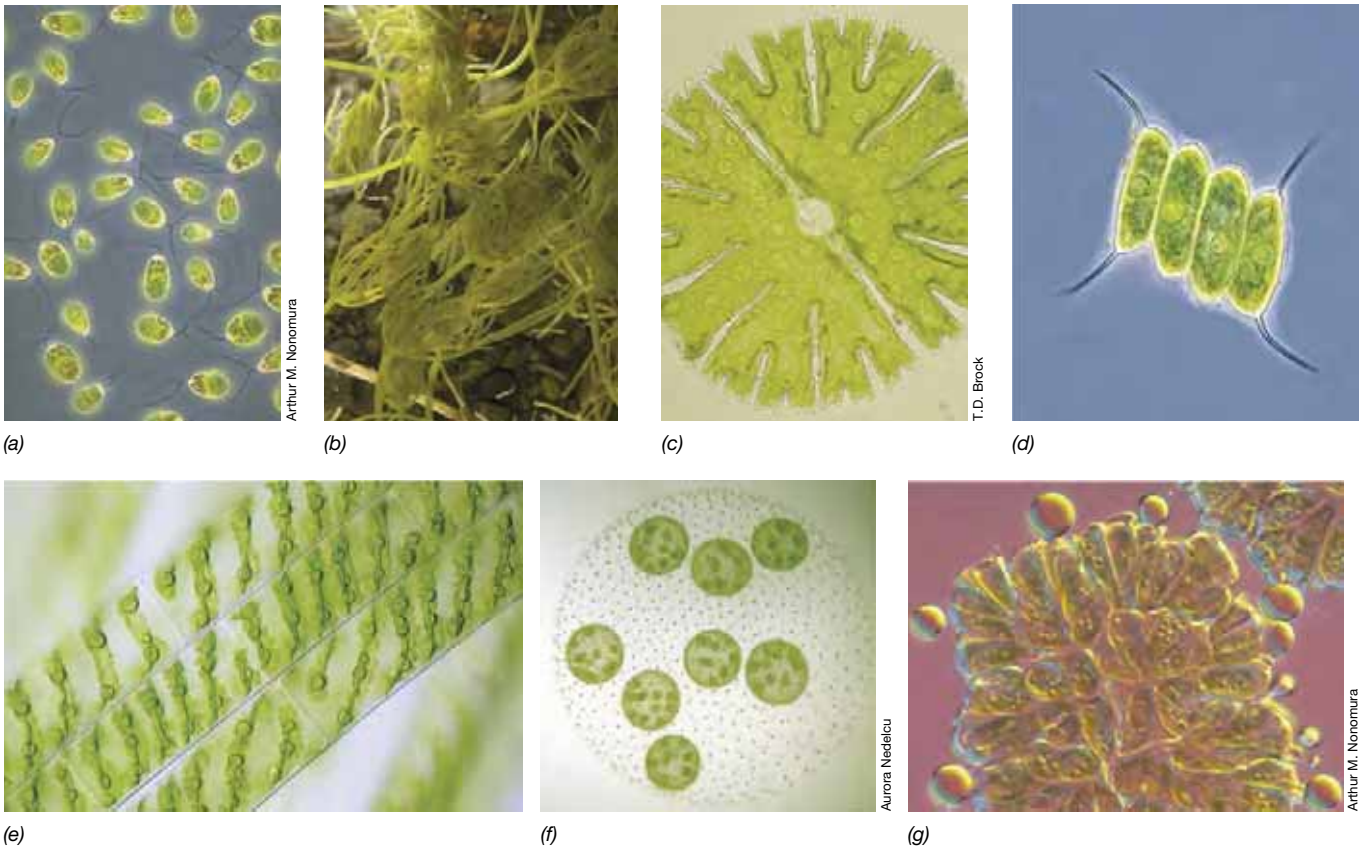


Figura 17.33 Algas verdes. *(a)* Un alga verde unicelular y flagelada, *Dunaliella*. Cada célula mide aproximadamente 5 µm de ancho. *(b)* El alga verde *Chara*, con aspecto de planta. *(c) Micrasterias*. Esta célula aislada multilobulada mide aproximadamente 100 µm de ancho. *(d) Scenedesmus*, formando paquetes de cuatro células. *(e) Spirogyra*, un alga filamentosa con células de unos 20 µm de ancho. Obsérvense los cloroplastos verdes en forma de espiral. *(f)* Colonia de *Volvox carteri,* con ocho colonias hijas. *(g)* El alga verde productora de petróleo *Botryococcus braunii*. Adviértanse las gotas de aceite excretado que rodean la célula.

de células flageladas, que están implicadas en movilidad y en fotosíntesis, y por otras células especializadas en la reproducción. Las células de una colonia de este organismo se comunican por finas hebras de citoplasma que permiten a la colonia completa nadar de un modo coordinado. *Volvox* es un organismo modelo para la investigación de los mecanismos genéticos que controlan la multicelularidad y el reparto de funciones entre las células de organismos pluricelulares.

Algunas algas verdes coloniales son fuentes potenciales de biocombustibles. Por ejemplo, el alga verde colonial *Botryococcus braunii* secreta hidrocarburos de cadena larga (C_{30}-C_{36}) que tienen la consistencia del crudo de petróleo (Figura 17.33*g*). Cerca del 30 % del peso seco de *B. braunii* representa este tipo de petróleo, por lo que ha habido gran interés en la utilización de este producto, y otros similares producidos por algas, como fuente renovable de energía. Hay pruebas de estudios con biomarcadores que muestran que las reservas de petróleo se originaron de algas verdes similares a *B. braunii* que se depositaron en tiempos antiguos en el fondo de lagos. Por tanto, si pudieran resolverse los problemas de escalado para la producción comercial de petróleo por algas verdes, sería posible que parte del consumo mundial de petróleo tuviera su origen en la fotosíntesis de estas algas verdes.

Fotótrofos endolíticos

Algunas algas verdes crecen dentro de las rocas. Estos fotótrofos *endolíticos* (*endo* significa «dentro de») viven en rocas porosas, por ejemplo en aquellas que contienen cuarzo y normalmente se encuentran en las capas más superficiales de las rocas (**Figura 17.34**). Las comunidades de fotótrofos endolíticos son más frecuentes en ambientes secos como los desiertos o en ambientes fríos y secos como la Antártida. Por ejemplo, en los valles secos antárticos, donde la temperatura y la humedad son muy bajas (↻ Figura 5.21*d*), vivir dentro de las rocas presenta sus ventajas. Las rocas se calientan por el sol y el agua de la nieve fundida puede ser absorbida y retenida dentro de la roca por períodos de tiempo más o menos largos, proporcionando la humedad necesaria para crecer. Además, el agua absorbida por las rocas porosas hace a la roca más transparente, proporcionando más luz a las capas de algas.

Una gran variedad de fotótrofos pueden formar comunidades endolíticas, incluyendo a las cianobacterias y a varias algas verdes (Figura17.34). Además de ser fotótrofos de vida libre, las algas verdes y las cianobacterias coexisten con los hongos en comunidades endolíticas de líquenes (↻ Sección 22.1 para información sobre la simbiosis tipo liquen). El metabolismo y el crecimiento de estas comunidades en el interior de las rocas va erosionando lentamente a la roca, favoreciendo la formación de grietas donde puede entrar el agua que, mediante varios ciclos de congelación y descongelación, acaba partiendo la roca y creando nuevos hábitats para la colonización microbiana. La roca descompuesta forma así el suelo desnudo que puede mantener el desarrollo de comunidades vegetales y de animales en medios donde las condiciones ambientales de temperatura, humedad, y otros factores, lo permitan.

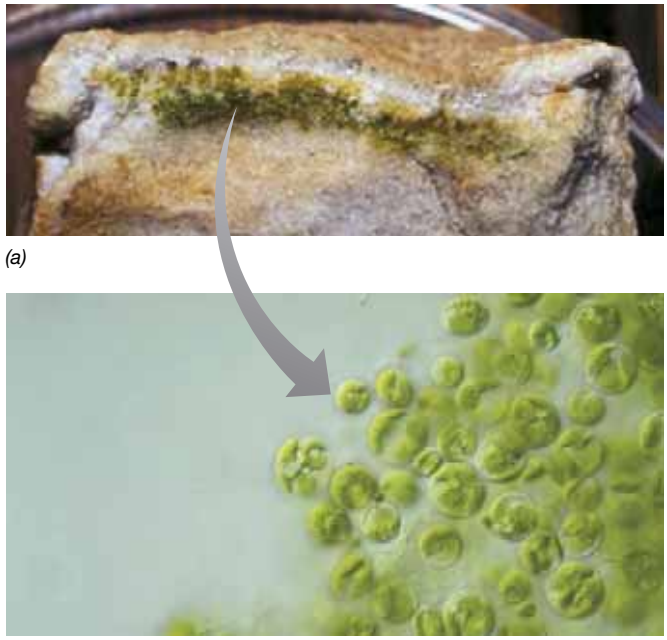


Figura 17.34 Fotótrofos endolíticos. *(a)* Fotografía de una roca caliza de la región Dry Valleys de la Antártida, abierta para mostrar la capa de algas verdes endolíticas. *(b)* Fotografía con el microscopio óptico del alga verde *Trebouxia*, un alga endolítica de amplia distribución.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué propiedades fotótrofas relacionan a las algas verdes con las plantas?
- ¿Qué resulta inusual en las algas verdes *Ostreococcus*, *Volvox*, y *Botryococcus*?
- ¿Qué son los fotótrofos endolíticos?

IDEAS PRINCIPALES

17.1 • El cloroplasto es un orgánulo metabólico muy importante en eucariotas cuya función es llevar a cabo la fotosíntesis, y también la mitocondria o el hidrogenosoma, que funcionan en la respiración o en la fermentación. Estos orgánulos fueron originalmente bacterias que establecieron una residencia permanente dentro de las células (endosimbiosis).

17.2 • Las secuencias de genes del RNA ribosómico no proporcionan un árbol filogenético de los *Eukarya* tan fiable como el que deriva de otros genes o proteínas. El árbol multigenético moderno de los eucariotas muestra la aparición de una importante radiación de la diversidad eucariótica poco tiempo después de los procesos simbióticos que condujeron a la aparición de la mitocondria.

17.3 • Las diplomónadas como *Giardia* son protistas unicelulares, flagelados y no fotótrofos. Los parabasálidos como *Trichomonas* son patógenos de la especie humana, que contienen grandes genomas carentes de intrones.

17.4 • Los euglenozoos son protistas unicelulares y flagelados, algunos de los cuales son fotótrofos. Este grupo incluye importantes patógenos humanos como *Trypanosoma*, y algunos no patógenos muy estudiados como *Euglena*.

17.5 • Los alveolados comprenden tres grupos: los ciliados, los dinoflagelados y los apicomplejos. La mayoría de los ciliados y dinoflagelados son organismos con formas libres, mientras que los apicomplejos son parásitos estrictos de animales.

17.6 • Los estramenópilos son protistas que tienen un flagelo con finas extensiones en forma de pelos. Incluyen los oomicetos, las diatomeas y las algas pardas y las crisofíceas.

17.7 • Los cercozoos y radiolarios son dos grupos relacionados de protistas. Los cercozoos incluyen los cloracniofitos y los foraminíferos fotótrofos, mientras que los radiolarios son quimiorganotrofos.

17.8 • Los amebozoos son protistas que usan seudópodos para el movimiento y la alimentación. Dentro de los amebozoos están las gimnamebas, las entamebas y los hongos mucosos. Los hongos mucosos plasmodiales forman masas protoplásmicas móviles, mientras que los hongos mucosos celulares son células individuales que se agregan formando cuerpos fructíferos que liberan esporas.

17.9 • Los hongos incluyen mohos, setas y levaduras. Además de la filogenia, los hongos se diferencian de otros protistas por la posesión de una pared celular fuerte, la producción de esporas y la falta de movilidad.

17.10 • Los hongos producen varias esporas sexuales, como ascósporas, basidiósporas y zigósporas. Desde el punto de vista filogenético, los hongos son los más próximos a los animales, y los quitridiomicetos representan el linaje más antiguo de los hongos.

17.11 • Los quitridios son fundamentalmente hongos acuáticos y, en el árbol filogenético basado en el rRNA 18S, son los que ocupan la zona más basal respecto a los demás grupos fúngicos conocidos. Algunos quitridios son patógenos de anfibios.

17.12 • Los zigomicetos forman hifas cenocíticas y presentan tanto reproducción sexual como asexual. El moho del pan *Rhizopus* es un buen ejemplo, Los microsporidios, que antes se pensó que eran un linaje antiguo de los *Eukarya*, están estrechamente relacionados con los zigomicetos. Los glomeromicetos son hongos que forman asociaciones de tipo endomicorriza con plantas.

17.13 • Los ascomicetos son un grupo amplio y diverso de hongos saprofitas. Algunos, como *Candida albicans*, pueden ser patógenos para la especie humana. Hay dos tipos sexuales en la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, y las células pueden presentar uno u otro tipo por un mecanismo de cambio genético.

17.14 • Los basidiomicetos incluyen setas, pedos de lobo, tizones, y royas. Se reproducen vegetativamente como micelio haploide y muestran reproducción sexual mediante fusión de tipos sexuales y formación de basidiósporas haploides.

17.15 • Las algas rojas suelen ser marinas y varían de unicelulares a multicelulares. Su color rojo se debe al pigmento ficoeritrina, un pigmento clave en las cianobacterias, que está presente en sus cloroplastos.

17.16 • Las algas verdes son comunes en ambientes acuáticos y pueden ser unicelulares, filamentosas, coloniales o multicelulares. Un alga verde unicelular, *Ostreococcus*, tiene el genoma más pequeño conocido de los eucariotas fotótrofos, mientras el alga verde *Volvox* es un modelo de fotótrofo colonial.

MasteringMicrobiology®

Revise lo que sabe y descubra lo que ha aprendido con MasteringMicrobiology. Acceda a material de estudio, revisiones de los capítulos, animaciones y tutoriales de microbiología práctica en el Área de Estudio y asegúrese de que ha asimilado todo el contenido de este capítulo.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Algas: eucariotas fotótrofos, tanto microorganismos como macroorgansimos.
Cenocítico: presencia de múltiples núcleos en hifas fúngicas sin septos.
Ciliados: protistas caracterizados en parte por una rápida movilidad, impulsada por numerosos apéndices cortos denominados cilios.
Colonial: forma de crecimiento de ciertos protistas y algas verdes según la cual varias células viven juntas y cooperan para su alimentación, desplazamiento o reproducción; es una forma primitiva de multicelularidad.
Conidios: esporas asexuales de hongos.
Endosimbiosis secundaria: adquisición de una célula de alga verde o roja por parte de una célula eucariota ya portadora de mitocondrias.

Fagocitosis: mecanismo para ingerir alimento sólido en el cual una porción de la membrana citoplasmática rodea la partícula de alimento y la introduce en el interior de la célula.
Hipótesis endosimbiótica: la idea de que una bacteria con metabolismo respiratorio y una cianobacteria se incorporaron establemente en otro tipo celular para constituir, respectivamente, las mitocondrias y los cloroplastos de las células eucarióticas.
Hongo mucoso: protista no fotótrofo que carece de pared celular y se agrega para formar estructuras fructíferas (hongos mucosos celulares) o masas de protoplasma (hongos mucosos acelulares).
Hongos: microorganismos eucariotas no fotótrofos con paredes celulares rígidas.
Levadura: forma unicelular de varios hongos.
Protistas: microorganismos eucariotas unicelulares; pueden ser flagelados o carecer de flagelos, fotótrofos o no fotótrofos, y la mayoría de ellos carecen de pared celular; incluyen algas y protozoos.
Quitina: un polímero de *N*-acetilglucosamina que se encuentra habitualmente en la pared celular de los hongos.
Seta: el cuerpo fructífero aéreo, o basidiocarpo, de los hongos basidiomicetos.

PREGUNTAS DE REPASO

1. Si la estreptomicina bloquea la síntesis de proteínas en los orgánulos, ¿qué nos indica esto acerca de la relación de los orgánulos con las bacterias? (Sección 17.1)
2. Diferencie entre endosimbiosis primaria y secundaria. ¿Qué grupos de protistas derivan de una u otra de estas formas de endosimbiosis? (Sección 17.1)
3. Examine el árbol filogenético de la vida en la Figura 1.6*b*. ¿De qué modo y por qué difiere del árbol de la Figura 17.3? (Sección 17.2)
4. ¿En qué se diferencian las diplomonadas de los parabasálidos? (Sección 17.3)
5. ¿Qué característica morfológica une a los cinetoplástidos con los euglénidos? (Sección 17.4)
6. ¿Qué organismo origina las mareas rojas y por qué este organismo es tóxico? (Sección 17.5)
7. Respecto a sus pigmentos fotosintéticos, ¿en qué se parecen las algas pardas y las crisofíceas? (Sección 17.6)
8. ¿Qué rasgo morfológico relaciona a los cercozoos con los radiolarios y los distingue de otros protistas? (Sección 17.7)
9. Aunque tanto *Dictyostelium* como *Physarum* son hongos mucosos, se diferencian en aspectos importantes. Explique esto (Sección 17.8).
10. ¿Cuál es la principal diferencia entre un moho y una levadura? (Sección 17.9)
11. Indique los diferentes tipos de esporas sexuales en los hongos. Los conidios, ¿son esporas sexuales o asexuales? (Sección 17.10)
12. ¿En qué se diferencian los quitridios de otros hongos? (Sección 17.11)
13. ¿Cuál es la principal propiedad ecológica de los glomeromicetos? (Sección 17.12)
14. ¿Cómo se determina el tipo sexual de una levadura? (Sección 17.13)
15. ¿Qué característica morfológica une a los basidiomicetos y donde se encuentra? (Sección 17.14)
16. ¿En qué tipo de hábitats es probable encontrar algas rojas? (Sección 17.15)
17. ¿Qué une a las algas verdes con las plantas? (Sección 17.16)

EJERCICIOS PRÁCTICOS

1. Explique por qué el proceso de endosimbiosis puede considerarse a la vez como un suceso antiguo y como un suceso reciente. ¿Qué ventajas puede proporcionar la endosimbiosis al endosimbionte y al hospedador?
2. Resuma las pruebas a favor de la endosimbiosis. ¿Cómo pudo aparecer la hipótesis endosimbiótica antes de la era de la biología molecular? ¿Cómo ha apoyado la biología molecular esta hipótesis?

CAPÍTULO

18 · Métodos de estudio en ecología microbiana

microbiología **actual**

Ensamblaje de genomas

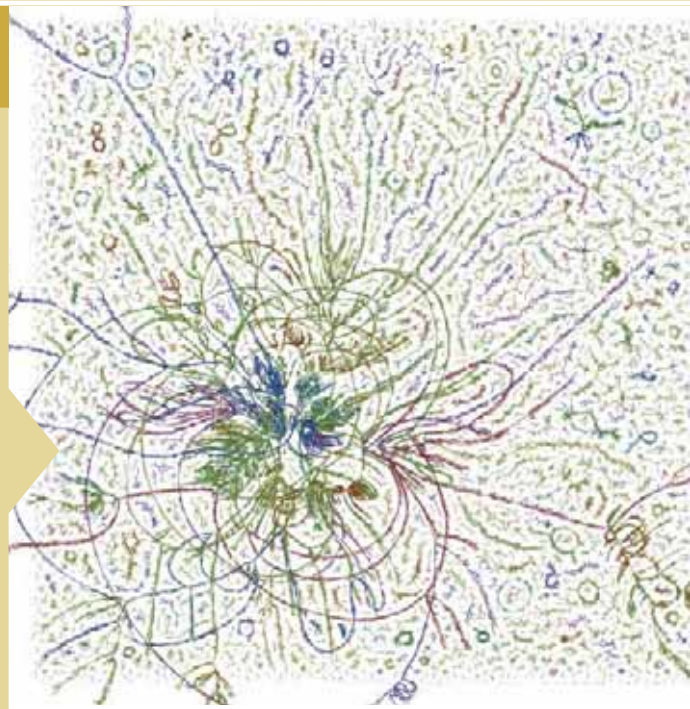
Hasta el momento solo se ha cultivado en el laboratorio una fracción minúscula de la enorme diversidad microbiana. Si bien en este capítulo hablamos de los métodos avanzados que nos están ayudando a cultivar cada vez más especies, la secuenciación del DNA recuperado directamente de muestras ambientales es una alternativa para evaluar las capacidades metabólicas de una comunidad microbiana natural.

Este método, llamado *metagenómica,* relaciona las secuencias génicas con funciones bioquímicas específicas, y pone de manifiesto la capacidad metabólica y otras capacidades de la comunidad microbiana. No obstante, las comunidades microbianas no son simplemente una colección de genes; son más bien un sistema de organismos interaccionando, cada uno con una dotación específica de genes que determina las propiedades de dicho organismo. Para una comprensión amplia del funcionamiento de un ecosistema, es esencial realizar el ensamblaje de los genomas individuales.

La capacidad de ensamblar genomas completos a partir de cientos de millones de pequeños retazos de secuencia (normalmente de cincuenta a doscientos nucleótidos) obtenidos mediante análisis metagenómicos, se ha conseguido recientemente a través de métodos computacionales avanzados. La figura de la derecha muestra un «esquema de conexiones» en el que se ve un ensamblaje de genomas procedentes de una muestra de agua de mar de una zona costera. Para ensamblar estos genomas completos y casi completos se utilizó un total de 58,5 *miles de millones* de nucleótidos en el metagenoma[1]. Las cadenas están coloreadas según las diferencias en el porcentaje del contenido de guanina y citosina de los DNA genómicos. Las cadenas largas corresponden a genomas procariotas, y las cadenas pequeñas y circulares son, probablemente, de virus o plásmidos.

Los resultados de este gigantesco estudio metagenómico han compensado con creces el esfuerzo, porque se han identificado las capacidades fisiológicas de un grupo abundante de *Euryarchaeota* (*Archaea*) marinos que aún no se han podido cultivar. Los genomas han mostrado que estos organismos son fotoheterótrofos móviles que degradan proteínas y lípidos como fuente de carbono y utilizan la luz como fuente de energía.

[1]Iverson, V., *et al.* 2012. Untangling genomes from metagenomes: Revealing an uncultured class of marine *Euryarchaeota. Science 335*: 587-590.



I Análisis de las comunidades microbianas basados en técnicas de cultivo 610

II Análisis microscópico de comunidades microbianas no basados en técnicas de cultivo 617

III Análisis genético de comunidades microbianas no basados en técnicas de cultivo 621

IV Medición de la actividad microbiana en la naturaleza 630

Con este capítulo empezamos una nueva unidad, dedicada a los microorganismos en su hábitat natural. En el Capítulo 1 aprendimos que las *comunidades microbianas* están formadas por poblaciones de células que viven en asociación con otras poblaciones en la naturaleza. La ciencia de la **ecología microbiana** se centra en estudiar cómo se juntan las poblaciones microbianas para formar comunidades, y cómo interaccionan estas comunidades entre sí y con su ambiente.

Los componentes principales de la ecología microbiana son la *biodiversidad* y la *actividad microbiana*. Para estudiar la biodiversidad, la ecología microbiana debe identificar y cuantificar los microorganismos en su hábitat. Saber cómo hacerlo suele resultar útil también para aislar organismos de interés, que es otro de los objetivos de la ecología microbiana. Para estudiar la actividad microbiana, los ecólogos microbianos deben medir los procesos metabólicos que los microorganismos realizan en su hábitat. En este capítulo estudiaremos métodos modernos para evaluar la diversidad y la actividad microbianas. En el Capítulo 19 describiremos los principios básicos de la ecología microbiana y examinaremos los tipos de ambiente en los que habitan los microorganismos. Los Capítulos 20, 21 y 22 completarán nuestro tratamiento de la ecología microbiana con una visión de los ciclos de nutrientes, la microbiología aplicada y la función de los microorganismos en las asociaciones simbióticas con formas de vida superiores.

Empezaremos con la caja de herramientas del ecólogo microbiano, que comprende una colección de instrumentos muy eficaces para analizar la estructura y el funcionamiento de las comunidades microbianas en relación con su hábitat natural.

I • Análisis de las comunidades microbianas basados en técnicas de cultivo

La inmensa mayoría de los microorganismos, más del 99 % de todas las especies, nunca se ha cultivado en el laboratorio. El reconocimiento de esta realidad, a partir de estudios de la diversidad molecular (Secciones 18.3-18.7) de los hábitats microbianos, ha impulsado el desarrollo de nuevos métodos para seleccionar especies microbianas concretas —es decir, *aislarlas*— para establecer cultivos axénicos (puros). Cultivar un microorganismo sigue siendo la única manera de caracterizar completamente sus propiedades y predecir su influencia en el ambiente.

En la primera parte de este capítulo trataremos el método de enriquecimiento, forma útil y consagrada para aislar microorganismos del medio natural, pero con limitaciones. El enriquecimiento se basa en el cultivo en un medio selectivo, y las herramientas y los métodos utilizados para ello reciben el nombre colectivo de *análisis basados en técnicas de cultivo*. Como veremos, la robótica ha supuesto un progreso considerable en el cultivo de los microorganismos más escurridizos de las poblaciones naturales, puesto que ha permitido establecer grandes cantidades de cultivos de enriquecimiento que se pueden monitorizar con herramientas moleculares. En las partes segunda y tercera del capítulo estudiaremos los *análisis que no están basados en técnicas de cultivo*, técnicas que nos pueden dar mucha información acerca de la estructura y la función de las comunidades microbianas sin necesidad de cultivar los microorganismos en el laboratorio. En la parte final del capítulo hablaremos de métodos para medir la actividad microbiana en la naturaleza y vincularlos a organismos específicos.

18.1 Enriquecimiento

Para preparar un **cultivo de enriquecimiento** se utiliza un medio determinado y un conjunto de condiciones de incubación que sean *selectivas* para el organismo en cuestión, y contraselectivas para el resto. Los cultivos de enriquecimiento eficaces reproducen en la medida de lo posible los recursos y las condiciones de un nicho ecológico concreto. Se han diseñado literalmente cientos de estrategias de enriquecimiento diferentes, y en las **Tablas 18.1** y **18.2** se ofrece un resumen de algunas de las que han tenido éxito.

Inóculos

Para que un enriquecimiento tenga éxito es necesario preparar un inóculo adecuado que contenga el organismo de interés. Por tanto, la elaboración de un cultivo de enriquecimiento empieza con la recogida de una muestra de un hábitat apropiado, que sirva como inóculo (Tablas 18.1 y 18.2). Los cultivos de enriquecimiento se establecen colocando el inóculo en un medio selectivo e incubándolo en condiciones específicas. De esta manera se pueden aislar muchos procariotas comunes. Por ejemplo, el gran microbiólogo holandés Martinus Beijerinck, que conceptualizó la técnica del cultivo de enriquecimiento (↻ Sección 1.9), utilizó este tipo de cultivos para aislar por primera vez la bacteria fijadora de nitrógeno *Azotobacter* (**Figura 18.1**). *Azotobacter* es una bacteria de crecimiento rápido, capaz de fijar el nitrógeno molecular del aire (↻ Sección 3.17), de modo que el enriquecimiento con medios carentes de nitrógeno fijado, como amoniaco o nitrato, y la incubación en aire resultan muy selectivos para esta bacteria y sus parientes cercanos. Las bacterias que no fijan nitrógeno y las fijadoras de nitrógeno anaerobias son contraseleccionadas mediante esta técnica.

Resultados de los cultivos de enriquecimiento

Para que los cultivos de enriquecimiento funcionen es necesario poner atención tanto en el medio de cultivo como en las condiciones de incubación. Es decir, que los *recursos* (nutrientes) y las *condiciones* (temperatura, pH, condiciones osmóticas, etc.) deben imitar las del hábitat para tener las mayores posibilidades de obtener el organismo que interesa (↻ Tabla 19.1). Algunos cultivos de enriquecimiento no producen ningún resultado; esto puede deberse a que el organismo capaz de crecer en las condiciones de enriquecimiento especificadas no se encuentra en el hábitat. Por otro lado, aunque el organismo de interés exista en el hábitat del que se ha obtenido la muestra, es

Tabla 18.1 Algunos métodos de cultivo de enriquecimiento para bacterias fotótrofas y quimiolitótrofas

Bacterias fotótrofas con luz: principal fuente de C, CO_2

Tipo de incubación	*Organismos enriquecidos*	*Inóculo*
Incubación en aire		
N_2 como fuente de nitrógeno	Cianobacterias	Agua de charcas o lagos; lodos ricos en sulfuro; agua estancada; aguas residuales sin tratar; lecho de hojas descompuestas y húmedas; suelo húmedo expuesto a la luz
NO_3^- como fuente de nitrógeno, 55 °C	Cianobacterias termófilas	Tapetes microbianos de fuentes termales
Incubación anóxica		
H_2 o ácidos orgánicos; N_2 como única fuente de nitrógeno	Bacterias rojas no del azufre, heliobacterias	Lo mismo que arriba más aguas lacustres hipolimnéticas (↔ Sección 19.8); suelo pasteurizado (heliobacterias); tapetes microbianos para especies termófilas
H_2S como donador de electrones	Bacterias rojas y verdes del azufre	
Fe^{2+}, NO_2^- como donadores de electrones	Bacterias rojas	

Bacterias quimiolitótrofas en oscuridad: principal fuente de C, CO_2 (el medio debe carecer de C orgánico)

Donador de electrones	*Aceptor de electrones*	*Organismos enriquecidos*	*Inóculo*
Incubación en aire: respiración aerobia			
NH_4^+	O_2	Bacterias oxidantes de amoniaco (*Nitrosomonas*) o arqueas oxidantes de amoniaco (*Nitrosopumilus*)	Suelo, lodo, aguas residuales, agua de mar
NO_2^-	O_2	Bacterias oxidantes de nitrito (*Nitrobacter*, *Nitrospira*)	
H_2	O_2	Bacterias del hidrógeno (varios géneros)	
H_2S, S^0, $S_2O_3^{2-}$	O_2	*Thiobacillus* spp.	
Fe^{2+}, pH bajo	O_2	*Acidithiobacillus ferrooxidans*	
Incubación anóxica			
S^0, $S_2O_3^{2-}$	NO_3^-	*Thiobacillus denitrificans*	Lodo, sedimentos lacustres, suelo
H_2	NO_3^-	*Paracoccus denitrificans*	
Fe^{2+}, pH neutro	NO_3^-	*Acidovorax* y otras bacterias autótrofas gramnegativas	

posible que los recursos y las condiciones del cultivo de laboratorio sean insuficientes para su crecimiento. Así pues, de los cultivos de enriquecimiento se puede extraer una conclusión claramente positiva (que un organismo con determinadas capacidades existe en un entorno particular), pero nunca una completamente negativa (que dicho organismo no está presente). Además, el aislamiento del organismo de interés a partir de un cultivo de enriquecimiento no nos dice nada sobre su importancia ecológica o su abundancia en ese hábitat; un enriquecimiento positivo solamente demuestra que el organismo estaba presente en la muestra, y en teoría, para ello es suficiente con una única célula viable en el inóculo del cultivo de enriquecimiento.

La columna de Winogradsky

La **columna de Winogradsky** es un ecosistema microbiano artificial y una fuente a largo plazo de diversas bacterias para los cultivos de enriquecimiento. Se han usado columnas de Winogradsky para aislar bacterias fotótrofas rojas y verdes, bacterias reductoras de sulfato y muchos otros organismos anaerobios. Esta columna, que toma su nombre del famoso microbiólogo ruso Sergei Winogradsky (↔ Sección 1.9), fue utilizada por él a finales del siglo XIX en sus clásicos estudios de los microorganismos del suelo.

Para preparar una columna de Winogradsky se rellena un cilindro de vidrio hasta la mitad con lodo con abundante materia orgánica, preferiblemente que contenga sulfuros, en el que se han mezclado sustratos de carbono. Los sustratos determinan qué organismos se enriquecen. Conviene evitar los sustratos fermentativos, como la glucosa, que pueden provocar condiciones ácidas y formación excesiva de gas (lo cual puede generar bolsas de gas que alteran el enriquecimiento y dejan entrar aire). El lodo se complementa con pequeñas cantidades de carbonato de calcio ($CaCO_3$) como tampón, y yeso ($CaSO_4$) como fuente de sulfato. Se comprime bien el lodo en el cilindro, con cuidado para evitar que quede aire atrapado, y después se cubre con agua de algún lago, estanque o acequia (o con agua de mar, si es una columna marina). La parte superior del cilindro se cubre para impedir la evaporación, y la columna se deja durante unos meses cerca de una ventana que reciba luz solar difusa.

Tabla 18.2 Algunos métodos de cultivo de enriquecimiento para bacterias quimioorganótrofas y anaerobias estrictas[a]

Donador de electrones (y fuente de nitrógeno)	*Aceptor de electrones*	*Organismos típicos enriquecidos*	*Inóculo*
Incubación en aire: respiración aerobia			
Lactato + NH_4^+	O_2	*Pseudomonas fluorescens*	Suelo, lodo; sedimentos lacustres; vegetación en descomposición; inóculos pasteurizados (80 °C durante 15 min) para todos los enriquecimientos de *Bacillus*
Benzoato + NH_4^+	O_2	*Pseudomonas fluorescens*	
Almidón + NH_4^+	O_2	*Bacillus polymyxa,* otras especies de *Bacillus*	
Etanol (4 %) + extracto de levadura 1 %, pH 6,0	O_2	*Acetobacter, Gluconobacter*	
Urea (5 %) + extracto de levadura 1 %	O_2	*Sporosarcina ureae*	
Hidrocarburos (p. ej. aceite mineral, gasolina, tolueno) + NH_4^+	O_2	*Mycobacterium*, *Nocardia*, *Pseudomonas*	
Celulosa + NH_4^+	O_2	*Cytophaga*, *Sporocytophaga*	
Manitol o benzoato, N_2 como fuente de N	O_2	*Azotobacter*	
CH_4 + NO_3^-	O_2	*Methylobacter*, *Methylomicrobium*	Sedimentos lacustres, termoclina (↔ Sección 19.8) o lagos estratificados
Incubación anóxica: respiración anaerobia			
Ácidos orgánicos	NO_3^-	*Pseudomonas* (especies desnitrificantes)	Suelo, lodo, sedimentos lacustres
Extracto de levadura	NO_3^-	*Bacillus* (especies desnitrificantes)	
Ácidos orgánicos	SO_4^{2-}	*Desulfovibrio*, *Desulfotomaculum*	
Acetato, propionato, butirato	SO_4^{2-}	Reductores de sulfato que oxidan ácidos grasos	Como arriba; o lodo digestor de aguas residuales; contenidos del rumen; sedimentos marinos
Acetato, etanol	S^0	*Desulfuromonas*	
Acetato	Fe^{3+}	*Geobacter*, *Geospirillum*	
Acetato	ClO_3^-	Diversas bacterias reductoras de clorato	
H_2	CO_2	Metanógenos (solo especies quimiolitótrofas), homoacetógenos	Lodo, sedimentos, lodo de aguas residuales
CH_3OH	CO_2	*Methanosarcina barkeri*	
CH_3NH_2 o CH_3OH	NO_3^-	*Hyphomicrobium*	
Hidrocarburos	SO_4^{2-} o NO_3^-	Bacterias que degradan hidrocarburos en condiciones anóxicas	Agua dulce o sedimentos marinos
Acetato + H_2 + NH_4^+	Tetracloroeteno (PCE)	*Dehalococcoides* spp.	Acuíferos
Incubación anóxica: fermentación			
Glutamato o histidina	No se añade ningún aceptor de electrones exógeno	*Clostridium tetanomorphum* u otras especies proteolíticas de *Clostridium*	Lodo, sedimentos lacustres; material vegetal o animal en descomposición; productos lácteos (bacterias del ácido láctico y del ácido propiónico); contenidos del rumen o del intestino (enterobacterias); lodos de aguas residuales; suelo; pasteurícese el inóculo para el enriquecimiento de *Clostridium*
Almidón + NH_4^+	Ninguno	*Clostridium* spp.	
Almidón + N_2 como fuente de N	Ninguno	*Clostridium pasteurianum*	
Lactato + extracto de levadura	Ninguno	*Veillonella* spp.	
Glucosa o lactosa + NH_4^+	Ninguno	*Escherichia*, *Enterobacter*, otros organismos fermentadores	
Glucosa + extracto de levadura (pH 5)	Ninguno	Bacterias del ácido láctico (*Lactobacillus*)	
Lactato + extracto de levadura	Ninguno	Bacterias del ácido propiónico	
Succinato + NaCl	Ninguno	*Propionigenium*	
Oxalato	Ninguno	*Oxalobacter*	
Acetileno	Ninguno	*Pelobacter* y otros fermentadores del acetileno	

[a]Todos los medios deben contener diversas sales minerales como N, P, S, Mg^{2+}, Mn^{2+}, Fe^{2+}, Ca^{2+}, y otros elementos traza (↔ Secciones 3.1-3.2). Algunos organismos pueden necesitar vitaminas u otros factores de crecimiento. Esta tabla constituye una visión general de los métodos de enriquecimiento y no considera el efecto que la temperatura de incubación puede tener al aislar especies termófilas (de temperatura elevada), hipertermófilas (de temperatura muy elevada) y psicrófilas (de temperatura baja), o el efecto que puedan tener el pH o la salinidad extremos, suponiendo que se dispone del inóculo adecuado. Algunos sustratos de enriquecimiento son más específicos que otros de manera natural. Por ejemplo, la glucosa es bastante inespecífica como sustrato de enriquecimiento comparada con el benzoato o el metanol.

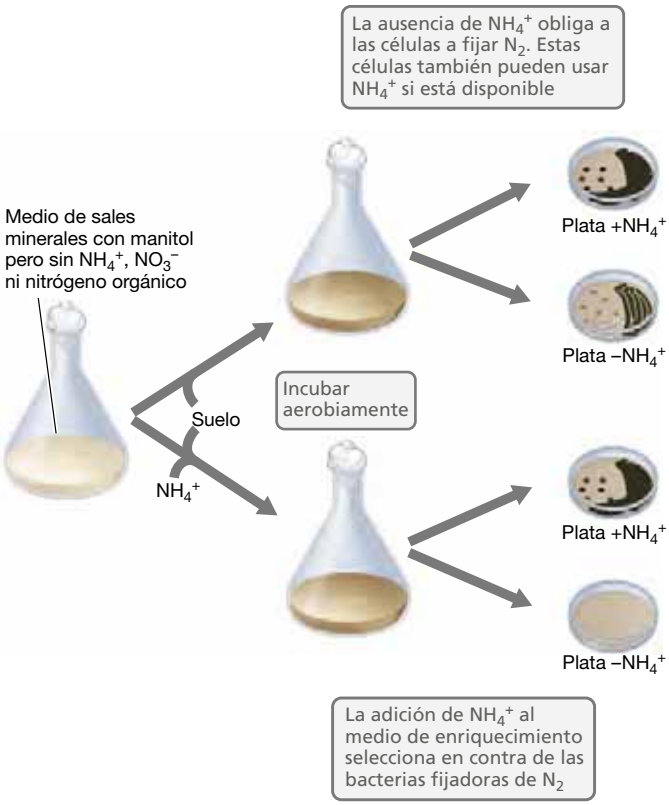


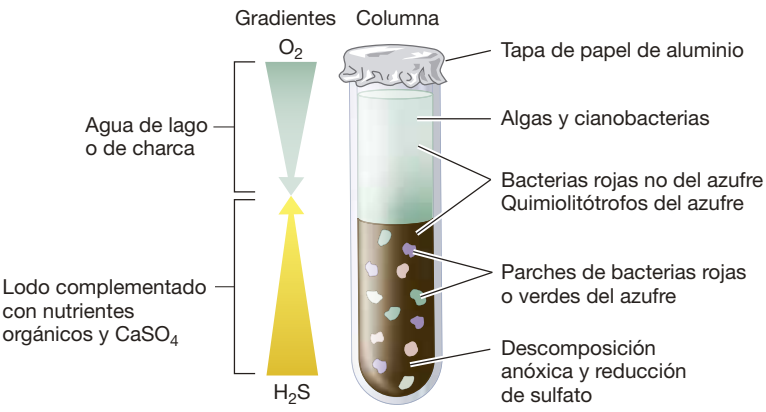
Figura 18.1 **Aislamiento de *Azotobacter*.** La selección de bacterias aerobias fijadoras de nitrógeno normalmente deriva en el aislamiento de *Azotobacter* o especies relacionadas. Véase la Sección 1.9 y la Figura 1.23 para saber más sobre la importancia histórica de *Azotobacter*.

En una columna de Winogradsky típica se desarrolla una comunidad de organismos variada (**Figura 18.2*a***). Las algas y las cianobacterias crecen rápidamente en la parte superior de la columna de agua; al producir oxígeno, estos organismos ayudan a mantener esta zona de la columna óxica. Los procesos de descomposición en el lodo provocan la producción de ácidos orgánicos, alcoholes e hidrógeno, sustratos adecuados para las bacterias reductoras de sulfato (↔ Sección 13.18). El sulfuro de hidrógeno (H_2S) producido por los reductores de sulfato origina el desarrollo de las bacterias rojas y verdes del azufre (fotótrofos anoxigénicos, ↔ Sección 13.3) que utilizan el sulfuro como donador de electrones fotosintético. Estos organismos crecen normalmente en parches en el lodo a los lados de la columna, pero pueden proliferar en el agua misma si escasean los fotótrofos oxigénicos (Figura 18.2*b*). Las células pigmentadas de los fotótrofos anoxigénicos se pueden muestrear con una pipeta para observarlas a través del microscopio, y para su aislamiento y caracterización (Tabla 18.1).

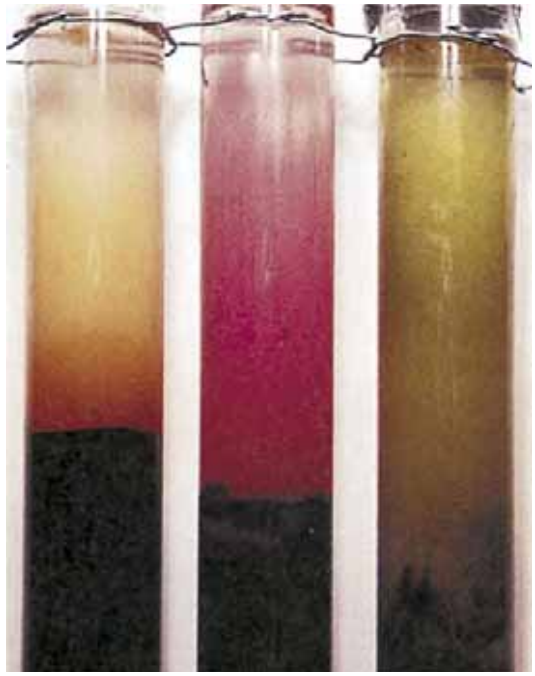
Las columnas de Winogradsky se han utilizado para obtener cultivos de enriquecimiento de procariotas, tanto aerobios como anaerobios. Además de ser una fuente de obtención rápida de inóculos para los cultivos de enriquecimiento, las columnas se pueden complementar con un compuesto específico para obtener en el inóculo un organismo que pueda degradar dicho compuesto. Una vez que se ha establecido un enriquecimiento grosero en la columna, se pueden inocular medios de cultivo para aislar cultivos axénicos, como veremos en la sección siguiente.

Sesgo de enriquecimiento

Aunque el cultivo de enriquecimiento es una técnica muy eficaz, existe un sesgo, a veces muy grande, en los resultados de los enriquecimientos. Este sesgo suele ser más acusado en los



(a)



Norbert Pfennig

(b)

Figura 18.2 **La columna de Winogradsky.** *(a)* Esquema de una columna típica usada para enriquecer bacterias fotótrofas. La columna se incuba de manera que reciba luz solar atenuada. La descomposición anóxica que lleva a la reducción de SO_4^{2-} genera un gradiente de H_2S. *(b)* Foto de columnas de Winogradsky que han permanecido anóxicas hasta la parte superior; cada columna tenía un crecimiento intenso de diferentes bacterias fotótrofas. De izquierda a derecha: *Thiospirillum jenense*, *Chromatium okenii* (ambas son bacterias rojas del azufre), y *Chlorobium limicola* (bacteria verde del azufre).

UNIDAD 4

cultivos de enriquecimiento líquidos en los que predominan los organismos que crecen más rápidamente en las condiciones seleccionadas. No obstante, gracias a técnicas moleculares que se describirán más adelante, sabemos ahora que los organismos que crecen más rápidamente en cultivos de laboratorio con frecuencia son solo componentes minoritarios de su comunidad microbiana, y no los organismos más abundantes y ecológicamente relevantes que llevan a cabo el proceso de interés. Esto podría deberse a varias razones, por ejemplo que la concentración de los recursos disponibles en los cultivos de laboratorio sea mucho mayor que la que hay en la naturaleza; o que las condiciones del hábitat natural, como el tipo y las proporciones de los diferentes organismos presentes, o las condiciones físicas y químicas, sean prácticamente imposibles de reproducir y mantener durante períodos largos en un cultivo de laboratorio.

Este problema del **sesgo en el enriquecimiento** se puede demostrar comparando los resultados obtenidos en cultivos diluidos (Sección 18.2) con el enriquecimiento líquido clásico. La dilución de un inóculo, seguida del enriquecimiento líquido o la siembra, suele producir el crecimiento de organismos diferentes de los que se obtienen mediante enriquecimientos líquidos establecidos con los mismos inóculos sin diluir. Se piensa que la dilución del inóculo elimina especies no deseables que son cuantitativamente insignificantes pero de crecimiento rápido, y permite así el desarrollo de organismos que son más abundantes en la comunidad pero crecen más lentamente. La dilución del inóculo es, pues, una práctica común actualmente en la microbiología de los cultivos de enriquecimiento. Como se explica más adelante, el problema del crecimiento excesivo de especies no deseables también se puede sortear mediante el aislamiento físico del organismo de interés antes de introducirlo en el medio de cultivo, lo que se consigue en parte usando el método de dilución. No obstante, más recientemente se han desarrollado métodos sofisticados para aislar físicamente células de interés individuales (o tipos celulares individuales) y colocarlas en un medio de cultivo que no tenga células no deseables. En la siguiente sección explicaremos estas técnicas.

MINIRREVISIÓN

- Describa la estrategia de enriquecimiento subyacente al aislamiento de *Azotobacter* por parte de Beijerinck.
- ¿Por qué se añade sulfato (SO_4^{2-}) a una columna de Winogradsky?
- ¿Qué es el sesgo de enriquecimiento? ¿De qué manera la dilución reduce el sesgo de enriquecimiento?

18.2 Aislamiento

Un *cultivo axénico* (o *puro*) —que contiene una sola clase de microorganismos— se puede aislar de muchas maneras a partir de un cultivo de enriquecimiento. Entre las técnicas habituales de aislamiento están la siembra en placa por estrías, la dilución en agar y la dilución en líquido. Para los organismos que forman colonias en placas de agar, la siembra por estrías es rápida, fácil y el método preferido (**Figura 18.3**); si una colonia bien aislada se selecciona y resiembra varias veces seguidas mediante este método, normalmente se puede obtener un cultivo axénico. Con el material de incubación adecuado (por ejemplo jarras o cámaras anóxicas para anaerobios, ↪ Sección 5.16), es posible aislar tanto aerobios como anaerobios en placas de agar por el método de siembra en estrías.

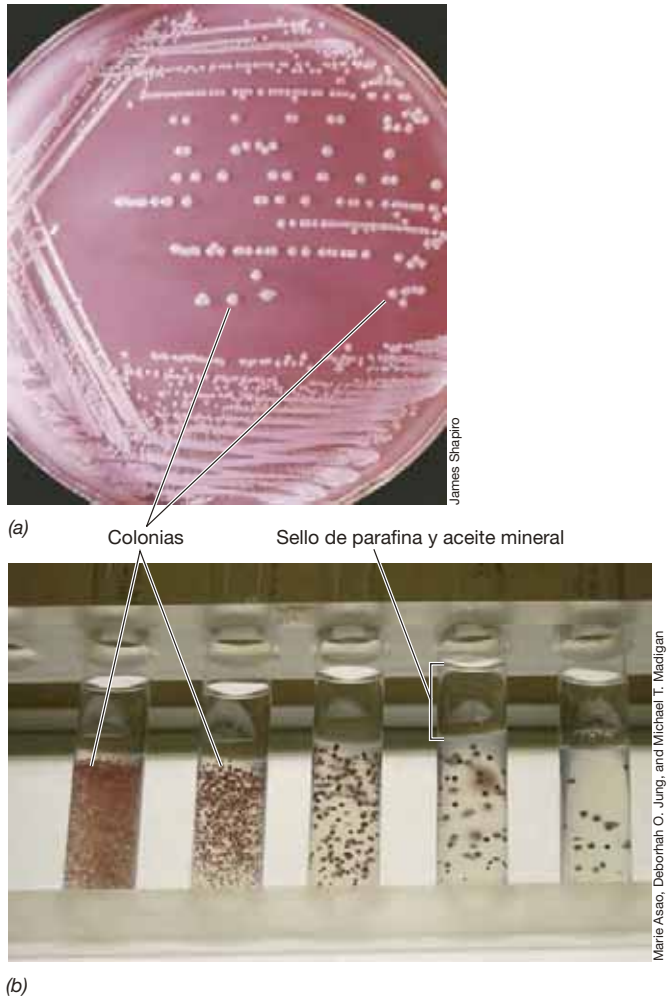


Figura 18.3 Métodos de cultivo axénico (puro). *(a)* Los organismos que forman colonias independientes sobre las placas normalmente son fáciles de purificar. *(b)* Colonias de bacterias rojas fotótrofas en tubos de dilución en agar; el agar fundido se enfrió aproximadamente a 45 °C antes de la inoculación. Se estableció una serie de diluciones de izquierda a derecha, que finalmente produjo colonias bien aisladas. Los tubos se sellan con una mezcla de parafina estéril y aceite mineral 1:1 para mantener la anaerobiosis.

Tubos de dilución en agar y la técnica del número más probable

En el método del tubo de dilución en agar se diluye un cultivo mixto en tubos de agar fundido, de manera que se obtengan colonias embebidas en el agar. Este método es útil para aislar organismos anaerobios como bacterias fotótrofas del azufre o bacterias reductoras de sulfato a partir de muestras obtenidas de columnas de Winogradsky o de otras fuentes. Se purifica un cultivo mediante diluciones sucesivas de suspensiones celulares en tubos de agar fundido (Figura 18.3). La repetición de este procedimiento usando una colonia del tubo más diluido como inóculo para un nuevo grupo de diluciones da normalmente cultivos axénicos. En un método relacionado con este, llamado

método del tubo giratorio, se utilizan tubos que contienen una delgada capa de agar recubriendo el interior. Después, el agar se puede estriar para aislar colonias. Como en esos tubos se puede hacer circular un gas sin oxígeno cuando se realiza la siembra en estria, este método se usa principalmente para el aislamiento de procariotas anaerobios.

Otro método de obtención de cultivo axénico es la dilución en serie de un inóculo en un medio líquido hasta que el último tubo de la serie no presenta crecimiento. Por ejemplo, cuando se usan diluciones en series de diez en diez el último tubo con crecimiento se habrá originado a partir de diez células o menos. Además de ser un método para obtener cultivos axénicos, las técnicas de dilución seriada se usan mucho para estimar cantidades de células viables en la **técnica del número más probable (NMP)** (Figura 18.4). Los métodos del NMP se han utilizado para estimar el número de microorganismos en alimentos, aguas residuales y otras muestras en las que la cantidad de células se evalúa rutinariamente. Un recuento del NMP de una muestra natural se puede hacer empleando medios y condiciones de incubación muy selectivos dirigidos a un organismo o un pequeño grupo de ellos o a un patógeno concreto. Por otro lado, un recuento puede hacerse también utilizando medios complejos para obtener una estimación general de número de células viables (pero véanse en la Sección 5.9 las precauciones que hay que tomar con estas estimaciones).

El uso de réplicas de los tubos en cada dilución mejora la precisión del NMP final obtenido.

Criterios de pureza

Independientemente de los métodos utilizados para obtener un cultivo axénico, una vez que se ha obtenido es esencial verificar su pureza. Esto se lleva a cabo normalmente mediante una combinación de (1) microscopía, (2) observación de las características de las colonias en placas o en tubos de dilución, y (3) ensayos de crecimiento del cultivo en otros medios. En este último método, es importante realizar el ensayo de crecimiento en medios para los que se ha predicho que el organismo de interés crecerá poco o nada en absoluto, pero que organismos contaminantes lo harán vigorosamente. En el análisis final, la observación microscópica de un solo tipo morfológico de célula que presenta características uniformes de tinción (por ejemplo en una tinción de Gram), unida a las características uniformes de la colonia y la ausencia de contaminación en los ensayos de crecimiento con varios medios de cultivo es una buena prueba de que un cultivo es axénico (también llamado *puro*).

Los métodos moleculares descritos en las secciones siguientes para caracterizar poblaciones naturales también se pueden aplicar para verificar la pureza de un cultivo. No obstante, estas técnicas suelen ser complementarias y no sustituyen las observaciones más básicas de las características del cultivo y la morfología celular.

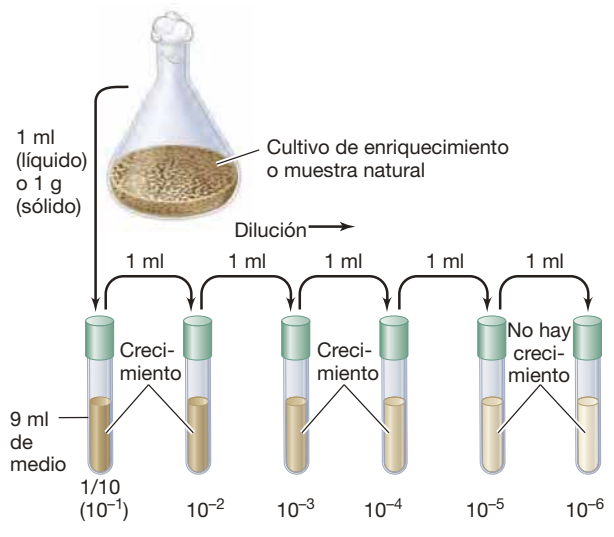


Figura 18.4 Procedimiento para el análisis del número más probable. El crecimiento en la dilución 10^{-4} pero no en 10^{-5} significa que había al menos 10^4 células/ml en la muestra usada para la inoculación. Como los microorganismos unidos a partículas pueden alterar significativamente los resultados, se suelen usar métodos suaves para disociarlos antes de la dilución.

Aislamiento selectivo de células individuales: las pinzas de láser y la citometría de flujo

Además de los métodos que acabamos de describir, existen otras herramientas tecnológicamente más avanzadas para obtener cultivos axénicos, como las pinzas de láser o la citometría de flujo. Estos métodos son especialmente útiles para aislar microorganismos de crecimiento lento que, de otro modo, serían superados por especies no deseables en los cultivos de enriquecimiento, o para aislar organismos presentes en tan poca cantidad que se perderían en los métodos de enriquecimiento por dilución.

Las **pinzas de láser** consisten en un microscopio óptico invertido equipado con un láser de infrarrojos enfocado con precisión y un dispositivo de micromanipulación. Se puede atrapar una célula individual porque el haz de láser crea una fuerza que empuja una célula microbiana (u otro objeto pequeño) y la deja inmóvil (Figura 18.5*a*). Después, al mover el haz de láser, la célula atrapada se mueve con él. Si tenemos una muestra de mezcla en un tubo capilar, podemos atrapar una sola célula y separarla de organismos contaminantes (Figura 18.5*b*). A continuación, se puede aislar la célula rompiendo el tubo en el punto entre la célula y los microorganismos contaminantes y haciéndola pasar a un tubo pequeño con medio estéril. Las pinzas de láser acopladas a técnicas de tinción para identificar organismos concretos (Secciones 18.3 y 18.4) se pueden usar para seleccionar organismos de interés a partir de mezclas, para obtener cultivos axénicos, y posteriormente estudiarlos en el laboratorio.

Un segundo método para el aislamiento selectivo de células individuales utiliza la **citometría de flujo**, una técnica para contar y examinar partículas microscópicas suspendiéndolas en una corriente de fluido y pasándolas por un detector electrónico. Los citómetros de flujo evalúan criterios seleccionados (como tamaño, forma, o propiedades fluorescentes) de células individuales a medida que pasan por un detector a velocidades de muchos miles de células por segundo, y también pueden clasificar células individuales según criterios de medición determinados (véase la Sección 18.10 y la Figura 18.29). Esta última propiedad del citómetro de flujo es útil para obtener cultivos de enriquecimiento de tipos de células determinados a partir de una mezcla con muchos tipos.

Esta capacidad para clasificar células individuales permite disponerlas en la superficie de un medio de crecimiento sólido o depositarlas en pocillos individuales en una placa con múltiples

Los ecólogos en general hablan de dos categorías de nichos ecológicos, el **nicho fundamental** y el **nicho efectivo**. El nicho fundamental se refiere a la variedad de entornos en los que una especie sobrevivirá mientras los recursos no estén limitados como ocurriría como resultado de la competencia con otras especies. Por otra parte, el nicho efectivo abarca los entornos naturales que permiten la supervivencia de una especie que se enfrenta a factores como la limitación de los recursos, la depredación y la competencia con otras especies. Esta distinción entre nichos fundamentales y efectivos nos da una pista acerca de por qué algunos microorganismos son tan difíciles de aislar de su entorno.

El establecimiento en el laboratorio de unas condiciones que estén dentro de las del nicho fundamental será suficiente para mantener a un organismo en un cultivo axénico, pero es muy probable que dichas condiciones no sean adecuadas para enriquecer selectivamente esta especie cuando tenga que competir con otros organismos presentes en el inóculo de muestra. Puesto que se desconoce el nicho efectivo de la mayor parte de los microorganismos, existe un interés creciente por desarrollar métodos de cultivo de alto rendimiento, usando la robótica para establecer muchos intentos de cultivo en paralelo. Los métodos de alto rendimiento permiten la investigación simultánea de muchas condiciones de crecimiento alternativas en un intento por replicar el nicho efectivo o, al menos, permitir al organismo que ocupe su nicho fundamental liberándolo de la competencia. Esta última estrategia es la más habitual, ya que son necesarios menos medios para sustentar el crecimiento.

Los métodos para recoger y depositar una sola célula en medios nutritivos están bien desarrollados, incluidos los métodos de dilución establecidos, así como las aplicaciones más recientes de clasificación celular por citometría de flujo y las pinzas de láser. Cuando el cultivo de alto rendimiento se une a las sondas moleculares para detectar el crecimiento de organismos nuevos identificados previamente por métodos que no están basados en el cultivo (Sección 18.5), cada vez se obtiene más éxito en el aislamiento de algunas bacterias interesantes de la mayoría que hay sin cultivar en la naturaleza. De hecho, este método general se utilizó para el aislamiento de uno de los organismos más abundantes de la Tierra, *Pelagibacter ubique* (**Figura 1**)[1]. Como se explica en la Sección 19.10, esta bacteria es una especie de bacterioplánccton marino (células bacterianas suspendidas) muy competente que medra en la reserva diluida de materia orgánica presente en el océano.

En cada cultivo es necesaria paciencia y dedicación, ya que el descubrimiento de organismos de crecimiento lento o durmientes puede llevar meses de incubación. También, muchos microorganismos en la naturaleza, quizás la mayoría, están adaptados a concentraciones extremadamente bajas de nutrientes, y son inhibidos por las concentraciones utilizadas para el crecimiento de los organismos estudiados habitualmente en el laboratorio. Además, otros muchos dependen de complejas relaciones interespecíficas que no pueden sustituirse con un medio de crecimiento definido. Así pues, los métodos de alto rendimiento son la opción más adecuada para ofrecer diversas combinaciones de recursos con las que descubrir el conjunto que fomenta mejor el cultivo de laboratorio de los organismos más interesantes y ecológicamente relevantes de la naturaleza.

Los métodos que no están basados en técnicas de cultivo han identificado cerca de cincuenta grandes divisiones (filos) solamente en el dominio *Bacteria*. Sorprendentemente, en 1987 tan solo se conocían doce filos. Entre las principales divisiones bacterianas identificadas hasta el momento, únicamente la mitad tienen organismos que han sido cultivados. Además, incluso cuando existen cultivos de una división determinada, generalmente son pocos, de manera que no representan toda la diversidad filogenética dentro del grupo. Por tanto, el reto de obtener cultivos representativos es una cuestión tanto de *amplitud* (obtener al menos un miembro de cada división) como de *profundidad* (conseguir una colección de cultivos que abarque la diversidad filogenética de cada división). La representación relativamente pobre de la diversidad natural de las bacterias en las colecciones de cultivos actuales (↻ Figura 15.1) también se aplica a los eucariotas microbianos y a las arqueas. No obstante, esta situación no representa un gran problema, ya que supone una gran oportunidad para una nueva generación de microbiólogos interesados en la diversidad microbiana. Hoy en día contamos con el conocimiento y la tecnología necesarios para explorar más a fondo la increíble diversidad de la vida microbiana a través de los análisis basados en las técnicas de cultivo.[1]

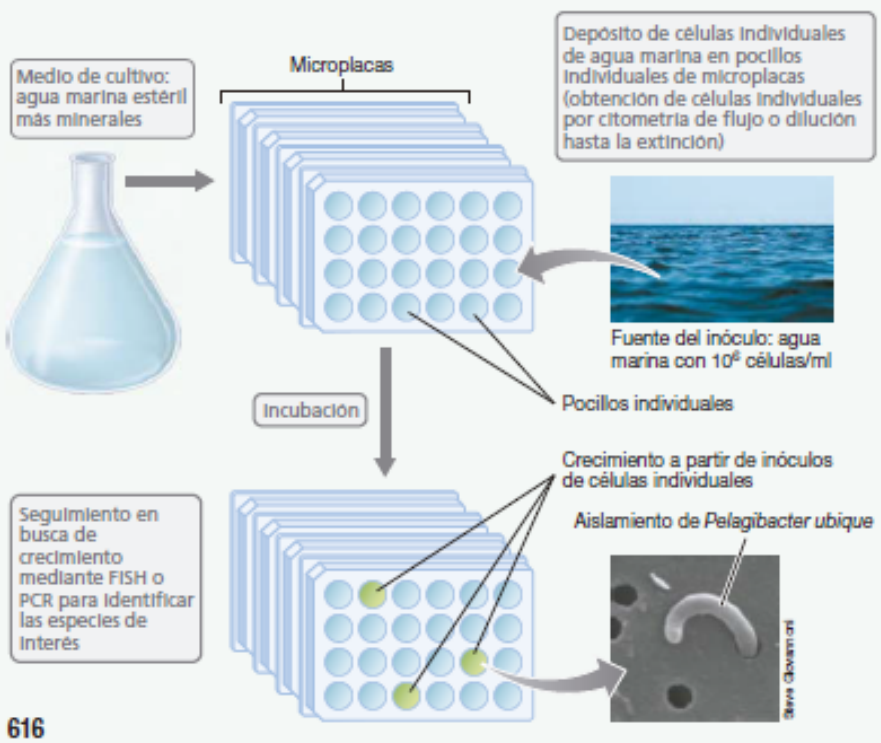


Figura 1 Esquema metodológico del cultivo de alto rendimiento de microorganismos no cultivados previamente. El método que se muestra se utilizó para aislar *Pelagibacter ubique,* una de las bacterias más abundantes de la Tierra. Tras la adición de agua marina filtrada y concentraciones bajas de nutrientes a los pocillos individuales se obtuvieron cultivos axénicos de *Pelagibacter* y otras bacterias nuevas.

[1]Rappé, M.S., S.A. Connon, K.L. Vergin, y S.J. Giovannoni, 2002. Cultivation of the ubiquitous SAR11 marine bacterioplankton clade. *Nature 418*: 630-633.

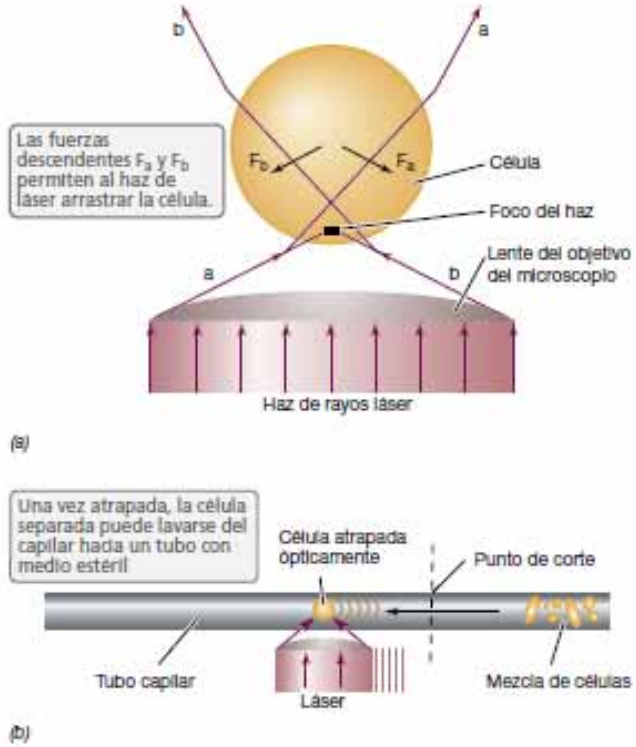


Figura 18.5 Pinzas de láser para el aislamiento de células individuales. Técnica para aislar físicamente células individuales para su posterior cultivo axénico.

pocillos (microplaca), donde cada pocillo contiene el mismo medio de crecimiento o medios ligeramente diferentes. Como algunos organismos necesitan para crecer compuestos orgánicos y metabolitos producidos por otros organismos con los que comparten hábitat, la adición de agua esterilizada mediante filtración (para los organismos acuáticos) o de extractos de agua del suelo (para organismos terrestres) ha resultado útil para poder cultivar algunos organismos en el laboratorio.

El desarrollo de estos métodos y otros relacionados para el cribado de los cultivos ha abierto un nuevo campo de *tecnología de alto rendimiento* para el cultivo de microorganismos que no habían sido cultivados previamente (véase Explorando el mundo microbiano, «Cultivando lo no cultivado»). Los métodos de alto rendimiento también incluyen el uso de sistemas robóticos para ensayar, con rapidez, cientos de combinaciones de nutrientes para el crecimiento o de cientos a miles de pocillos diferentes en busca de secuencias de DNA que identifiquen los organismos que crecen en los cultivos de enriquecimiento, todo ello de manera simultánea para obtener resultados rápidos (es decir, con un alto rendimiento).

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué se diferencia el método de dilución con agar de la siembra por estrías para obtener colonias aisladas?
- ¿Cómo podemos aislar una bacteria con una morfología exclusiva que está presente en un cultivo de enriquecimiento en cantidad relativamente baja?
- ¿Qué se entiende por «alto rendimiento» en el cultivo de microorganismos? ¿Cómo ha beneficiado esto a la microbiología?

UNIDAD 4

II • Análisis microscópico de comunidades microbianas no basados en técnicas de cultivo

Los ecólogos microbianos cuantifican las células en un hábitat microbiano para estimar la abundancia relativa de las diferentes especies. Para obtener este tipo de datos es necesario teñir las células; a continuación detallaremos los métodos de tinción que se utilizan. Los organismos en su ambiente natural también pueden detectarse analizando sus genes. Los genes que codifican RNA ribosómico (rRNA, ↪ Sección 12.4) o enzimas que participan en algún tipo específico de fisiología son los objetivos habituales de estos estudios. La *genómica ambiental* (Sección 18.7) es un método para evaluar toda la dotación genética de un hábitat, y pone de manifiesto simultáneamente la biodiversidad y las capacidades metabólicas de la comunidad microbiana.

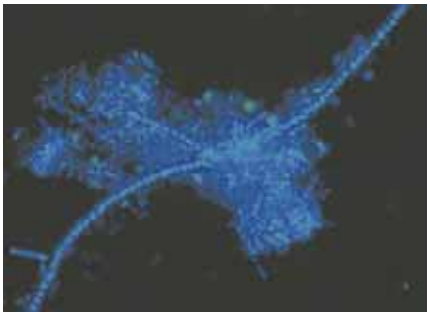
18.3 Métodos generales de tinción

Existen diversos métodos de tinción adecuados para cuantificar microorganismos en muestras naturales. Aunque estos métodos no revelan la fisiología ni la filogenia de las células, son fiables y muy utilizados por los ecólogos microbianos para contar el número total de células. Un método de los que vamos a describir también permite evaluar la viabilidad celular.

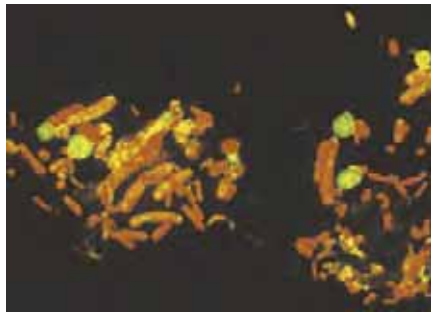
Tinción fluorescente con colorantes que se unen a los ácidos nucleicos

Los colorantes fluorescentes se pueden usar para teñir microorganismos procedentes de prácticamente cualquier hábitat. El **DAPI** (4′,6-diamidino-2-fenilindol) es un colorante habitual para ello, al igual que el **naranja de acridina**. También se usa cada vez más el *SYBR Verde* (*SYBR Green I*), un colorante que confiere una fluorescencia muy brillante a todos los microorganismos, incluso a los virus. Estos colorantes se unen al DNA y emiten una fuerte fluorescencia cuando se exponen a la radiación ultravioleta (UV) (máximo de absorción de DAPI, 400 nm; máximo de absorción del naranja de acridina, 500 nm; máximo de absorción del SYBR Verde, 497 nm), lo que hace a las células presentes en la muestra fáciles de ver y de contar. Las células teñidas con DAPI emiten fluorescencia azul; las células teñidas con naranja de acridina, fluorescencia naranja o verde anaranjado, y las teñidas con SYBR Verde emiten fluorescencia verde (Figura 18.6).

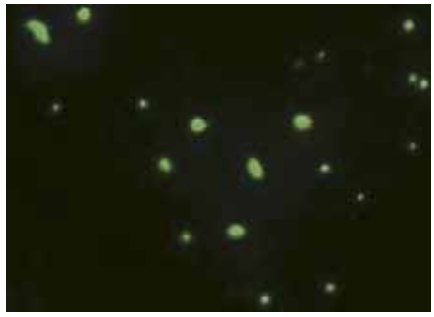
Los colorantes que tiñen el DNA se usan mucho para contar microorganismos en muestras ambientales, alimentarias y clínicas. Según la muestra, en ocasiones la tinción del fondo puede


Marc Mussman and Michael Wagner

(a)


Marc Mussman and Michael Wagner

(b)


Willm Martins-Habenna

(c)

Figura 18.6 **Tinciones fluorescentes inespecíficas.** *(a)* DAPI y *(b)* naranja de acridina que permiten ver comunidades microbianas que habitan en el lodo de una planta de tratamiento de aguas residuales municipales. Con el naranja de acridina las células que contienen poco RNA se tiñen de verde. *(c)* Muestra de agua superficial de Puget Sound (Washington, EE. UU.) teñida con SYBR Verde, donde se ven células bacterianas que emiten fluorescencia de color verde. Las células grandes cerca del centro del campo tienen diámetros de entre 0,8-1,0 µm.

ser un problema con los tintes fluorescentes, pero como estos colorantes tiñen específicamente ácidos nucleicos, en su mayor parte no reaccionan con la materia inerte. Así, para muchas muestras, desde las procedentes de suelo a las procedentes de un medio acuático, es posible obtener una estimación razonable de la cantidad de células presentes. La tinción con el colorante fluorescente brillante SYBR Verde también proporciona un recuento excelente de las poblaciones acuáticas de virus (↻ Sección 19.11). Para muestras diluidas procedentes de un medio acuático, las células se pueden teñir tras su recolección por filtración en la superficie de una membrana.

La tinción del DNA es un proceso inespecífico; *todos* los microorganismos de la muestra se teñirán. Si bien en principio esto puede parecer deseable, no necesariamente lo es. Por ejemplo, el DAPI y el naranja de acridina no distinguen entre células vivas y células muertas, ni entre especies diferentes de microorganismos, de modo que no se pueden utilizar para evaluar la viabilidad celular ni para rastrear especies determinadas de microorganismos en un ambiente.

Tinción de viables

La tinción de viables diferencia las células vivas de las muertas, de modo que aporta datos sobre la abundancia y la viabilidad al mismo tiempo. La base de la diferenciación entre las células vivas y las muertas radica en comprobar que la membrana citoplasmática esté intacta. Dos colorantes que emiten fluorescencia verde y roja se añaden a una muestra; el colorante verde penetra en todas las células, sean o no viables, mientras que el colorante rojo, que contiene yoduro de propidio, penetra solamente en aquellas células cuya membrana citoplasmática no está intacta y, por tanto, están muertas. Así, cuando se observan al microscopio, las células verdes se clasifican como vivas y las rojas como muertas, con lo que se obtiene una evaluación instantánea de la abundancia y la viabilidad (**Figura 18.7**).

Aunque resulta útil para la investigación basada en los cultivos de laboratorio, el método de tinción de células vivas/muertas no es adecuado para el examen microscópico directo de muestras procedentes de muchos hábitats naturales a causa de los problemas de tinción inespecífica de los materiales de fondo. No obstante, se han desarrollado procedimientos para evitar este problema en análisis de ambientes acuáticos; para hacerlo, se filtra una muestra de agua, se tiñen los filtros con la tinción de células vivas/muertas y se examinan al microscopio. Así pues, en microbiología acuática se suele usar la tinción de células vivas/muertas para medir la viabilidad de las poblaciones celulares en la columna de agua de los lagos o del mar, o en las aguas que fluyen por arroyos, ríos y otros ambientes acuáticos.

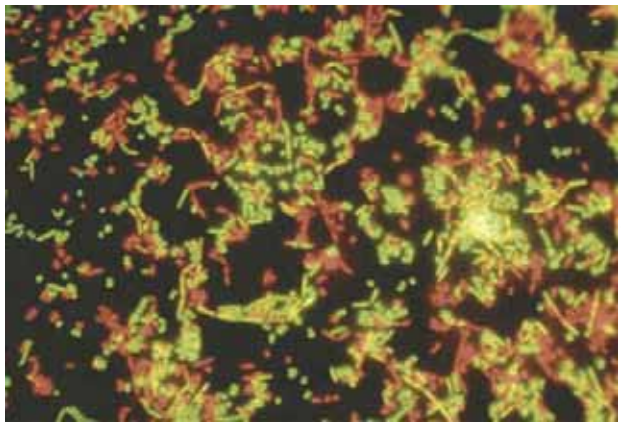

Molecular Probes, Inc., Eugene, OR

Figura 18.7 **Tinción de células viables.** Células vivas (verdes) y muertas (rojas) de *Micrococcus luteus* (cocos) y *Bacillus cereus* (bacilos) teñidas con la tinción de viabilidad bacteriana LIVE/DEAD BacLight.

Proteínas fluorescentes para etiquetar células y genes reporteros

Las células bacterianas se pueden alterar mediante ingeniería genética para hacerlas autofluorescentes. Como se ha dicho anteriormente (↻ Sección 11.6), se puede insertar un gen que codifica la **proteína fluorescente** verde (GFP) en el genoma de prácticamente cualquier bacteria cultivada. Cuando el gen de la GFP (el gen *gfp*) se expresa, las células emiten fluorescencia verde al observarlas con un microscopio de ultravioleta (**Figura 18.8**). Aunque la GFP no es útil para el estudio de poblaciones naturales de microorganismos (porque estas células carecen del gen de la GFP), se pueden introducir células marcadas con GFP en un ambiente, como las raíces de las plantas, y después seguirles el rastro a lo largo del tiempo por microscopía. Con este método,

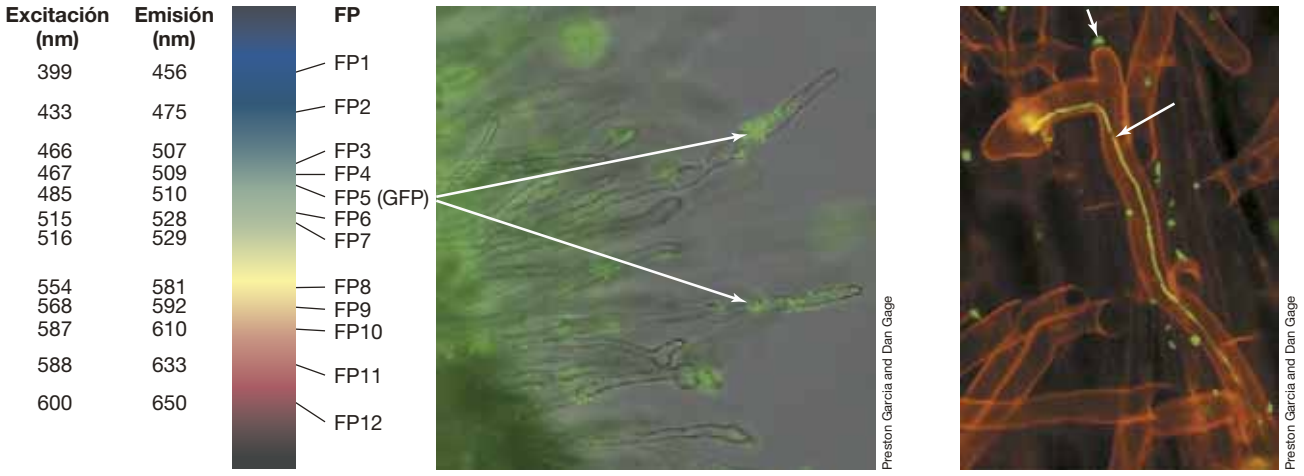


Figura 18.8 Proteínas fluorescentes testigo. *(a)* Se conocen doce proteínas fluorescentes diferentes (FP1-FP12) con propiedades de excitación y emisión diferentes. *(b)* Células de *Sinorhizobium meliloti* (flechas) portadoras de un plásmido con un promotor inducible por alfa-galactósido fusionado a la GFP (FP5); las células están en las raíces de una planta de trébol. La fluorescencia verde indica que los alfa-galactósidos se han liberado y están disponibles para favorecer el crecimiento de esta bacteria. *(c)* Células de *S. meliloti* (flecha) portando un plásmido con un promotor inducible por succinato fusionado a la GFP; la fluorescencia verde indica que los pelos radiculares de la planta han secretado succinato y otros ácidos dicarboxílicos C_4.

los ecólogos microbianos pueden estudiar la competencia entre la microbiota nativa y una cepa introducida marcada con GFP y evaluar el efecto de las perturbaciones ambientales en la supervivencia de la cepa introducida. El marcaje con GFP también se usa ampliamente en el estudio de las asociaciones simbióticas microbianas con plantas y animales (Capítulo 22). No obstante, la GFP necesita O_2 para emitir fluorescencia, de modo que el método con GFP no es adecuado para detectar células introducidas en hábitats anóxicos estrictos. Por ello, las propiedades fotofísicas de la GFP y de otras proteínas fluorescentes aisladas de diferentes invertebrados marinos (medusas, corales, anémonas) se han alterado mediante mutaciones para obtener un espectro amplio de proteínas fluorescentes con diversas propiedades espectrales (Figura 18.8*a*) que nos aportan la base experimental para el seguimiento simultáneo de muchas especies.

El gen *gfp* y los que codifican otras proteínas fluorescentes también se usan mucho en el cultivo en laboratorio de diversas bacterias y en ambientes controlados como *genes reporteros*. Cuando el gen *gfp* se fusiona con un operón bajo el control de una proteína reguladora específica, se puede estudiar la transcripción usando la fluorescencia como indicadora («reportera») de actividad. Es decir, cuando los genes que contienen el gen fusionado de la proteína fluorescente se transcriben y traducen, se sintetizan tanto la proteína de interés como la proteína fluorescente, y las células emiten el color característico (↻ Sección 11.6 y Figura 11.11). Por ejemplo, la expresión de *gfp* se utilizó para demostrar que la colonización de las raíces de la alfalfa por parte de *Sinorhizobium meliloti* (simbiosis legumbre-nódulo radicular, ↻ Sección 22.3) es impulsada por azúcares y ácidos dicarboxílicos liberados por la planta (Figura 18.8*b*, *c*).

Limitaciones de la microscopía

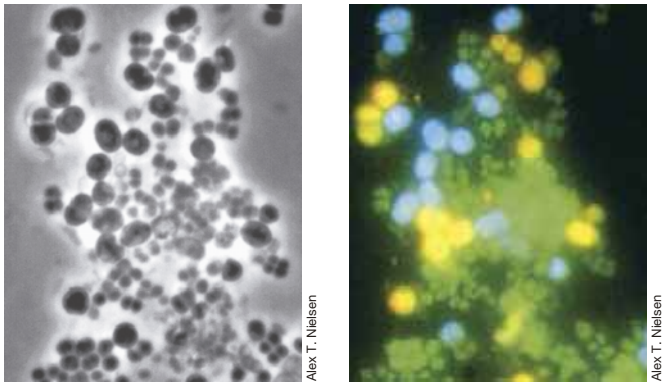
El microscopio es un instrumento fundamental para explorar la diversidad microbiana y para contar e identificar los microorganismos en muestras naturales. No obstante, por sí sola, la microscopía no es suficiente para el estudio de la diversidad microbiana. Los procariotas presentan una gran variabilidad de tamaños (↻ Sección 2.6 y Tabla 2.1). Las células muy pequeñas pueden ser un gran problema y pasar totalmente desapercibidas, y algunas de ellas están cerca del límite de resolución del microscopio óptico. Es fácil que estas células no se detecten en el examen de muestras naturales, especialmente si las muestras contienen gran cantidad de materia particulada o muchas células de mayor tamaño. Además, en las muestras naturales a menudo es difícil diferenciar las células vivas de las muertas, o las células en general de algunos materiales inertes. Sin embargo, la mayor limitación de los métodos microscópicos que hemos estudiado hasta ahora es que ninguno de ellos revela la diversidad filogenética de los microorganismos en el hábitat de estudio.

En la próxima sección trataremos con detalle potentes métodos de tinción que esbozaremos aquí (**Figura 18.9**), que pueden revelar la *filogenia* de los organismos observados en una muestra natural. Estos métodos han revolucionado la ecología microbiana y han ayudado a los microbiólogos a vencer la principal limitación del microscopio óptico en ecología microbiana: identificar desde un punto de vista filogenético las células que se observan en un campo microscópico. Estos métodos también han enseñado una importante lección a los ecólogos microbianos: cuando se observan al microscopio poblaciones naturales o microorganismos sin teñir o con una tinción inespecífica, debemos recordar que la muestra, casi con toda seguridad, contiene una comunidad genéticamente diversa, aunque muchas células «parezcan» iguales (Figura 18.9). La sencillez de las formas bacterianas esconde su notable diversidad.

MINIRREVISIÓN

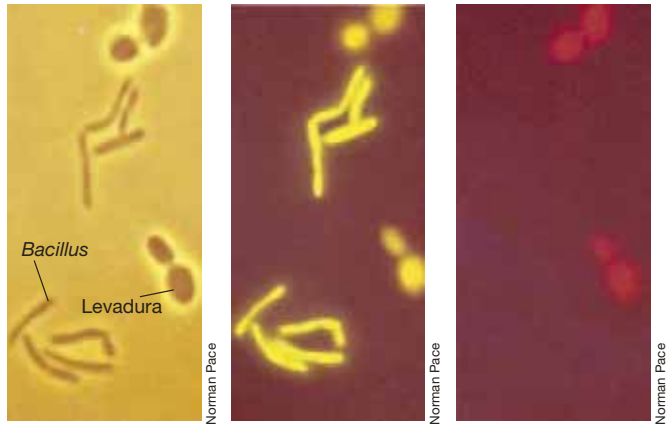
- ¿En qué se diferencia la tinción de viables de colorantes como el DAPI?
- ¿Qué es un gen reportero?
- ¿Por qué es incorrecto afirmar que la GFP es un método de «tinción»?

UNIDAD 4



(a) (b)

Figura 18.9 Morfología y diversidad genética. Las micrografías mostradas aquí producidas por *(a)* microscopía de contraste de fases y *(b)* una técnica llamada FISH filogenética (Sección 18.4), pertenecen al mismo campo de células. Aunque las células ovaladas grandes tienen un tamaño inusual para las células procarióticas y parecen similares por microscopía de contraste de fases, la tinción filogenética revela que se trata de dos tipos genéticamente distintos (una se tiñe de amarillo y la otra de azul). Ambos tipos de células miden unos 2,25 µm de diámetro. Las células verdes en pares o agrupamientos miden aproximadamente 1 µm de diámetro.



(a) (b) (c)

Figura 18.10 Sondas de rRNA marcadas con fluorescencia: tinciones filogenéticas. *(a)* Micrografía de contraste de fases de células de *Bacillus megaterium* (bacilo, *Bacteria*) y de levaduras *Saccharomyces cerevisiae* (células ovales, *Eukarya*). *(b)* El mismo campo; células teñidas con una sonda de rRNA amarillo-verdosa universal (esta sonda hibrida con el rRNA de organismos de cualquier dominio filogenético. *(c)* El mismo campo; células teñidas con una sonda eucariótica (solo reaccionan las células de *S. cerevisiae*). Las células de *B. megaterium* tienen un diámetro aproximado de 1,5 µm y el diámetro de las células de *S. cerevisiae* mide unos 6 µm.

18.4 Hibridación fluorescente *in situ* (FISH)

Gracias a su gran especificidad, las sondas de ácidos nucleicos son herramientas muy eficaces para identificar y cuantificar microorganismos. Recordemos que una **sonda de ácido nucleico** es un oligonucleótido de DNA o RNA complementario a una secuencia en un gen o un RNA diana; cuando la sonda y la diana coinciden, se hibridan (↻ Sección 11.2). Se pueden obtener sondas de ácidos nucleicos fluorescentes uniéndoles tintes fluorescentes. Con frecuencia las sondas de ácidos nucleicos se pueden usar para identificar organismos que contengan una secuencia de ácido nucleico complementaria a la sonda. Esta técnica se llama **hibridación fluorescente *in situ* (FISH)**, y a continuación describiremos diferentes aplicaciones, como métodos destinados a la filogenia (**Figura 18.10**) o a la expresión génica (Figura 18.12).

Tinción filogenética mediante FISH

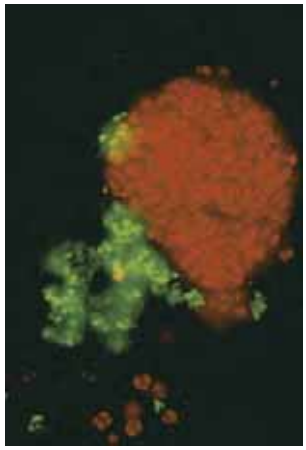
Los colorantes FISH filogenéticos son oligonucleótidos fluorescentes cuya secuencia de bases es complementaria a secuencias de RNA ribosómico (rRNA 16S o 23S en procariotas o rRNA 18S o 28S en eucariotas, ↻ Sección 12.4). Los colorantes filogenéticos penetran en las células sin lisarlas e hibridan con el rRNA directamente en los ribosomas. El número de sondas fluorescentes unidas a una célula refleja el número de los ribosomas de esta. Como las células microbianas pueden contener decenas de miles de ribosomas, la señal que se obtiene puede ser muy fuerte. Y puesto que los ribosomas se encuentran dispersos por toda la célula en la mayoría de los procariotas, la célula entera emite fluorescencia (Figuras 18.9*b* y 18.10).

Se pueden diseñar colorantes filogenéticos muy específicos y que reaccionen solo con una especie o con un grupo de especies microbianas relacionadas dirigiéndolos a sitios del rRNA que varían entre organismos diferentes. Si, por el contrario, dirigimos la sonda a fragmentos conservados del rRNA, el colorante puede ser mucho más general y reaccionar, por ejemplo, con todas las células de un determinado dominio filogenético. Usando la FISH, se puede identificar o rastrear un organismo o un dominio de interés en una muestra del medio natural. Por ejemplo, si se desea determinar el porcentaje de una población microbiana arqueana concreta, se puede usar un colorante filogenético específico de arqueas en combinación con DAPI (Sección 18.3) para evaluar las arqueas y la cantidad total, respectivamente, y mediante un cálculo obtener un porcentaje.

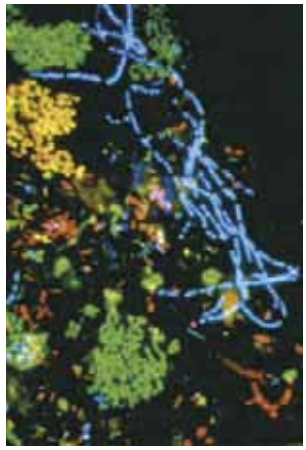
La tecnología FISH también puede hacer uso de múltiples sondas filogenéticas. Con un conjunto de sondas, cada una diseñada para reaccionar con un organismo concreto de un grupo y cada una con su propio colorante fluorescente, con la FISH se pueden obtener imágenes de muchos taxones en un hábitat, en un solo experimento (**Figura 18.11**). Si combinamos la FISH con la microscopía confocal (↻ Sección 2.3), es posible explorar poblaciones microbianas en profundidad como, por ejemplo, en una biopelícula (↻ Sección 19.4). Además de su uso en ecología microbiana, la FISH es una herramienta importante en la industria alimentaria y en el diagnóstico clínico para la detección microscópica de patógenos específicos en productos alimenticios o muestras clínicas.

CARD-FISH

Además de caracterizar la abundancia de diferentes taxones en un hábitat, la FISH sirve para medir la *expresión génica* en los organismos de una muestra del medio natural. En este caso no se pueden aplicar las técnicas FISH estándar, puesto que la diana es el RNA mensajero (mRNA), una forma de RNA mucho menos abundante en las células que el rRNA. Por ello, hay que



(a)



(b)

Figura 18.11 Análisis FISH del lodo activado de una planta de aguas residuales. *(a)* Bacterias nitrificantes. Rojo: bacterias oxidantes de amoniaco; verde: bacterias oxidantes de nitritos. *(b)* Micrografía confocal láser de barrido de una muestra de lodo de aguas residuales tratada con tres sondas filogenéticas de FISH, cada una con un colorante fluorescente (verde, rojo o azul) que identifica un grupo concreto de proteobacterias. Las células teñidas de verde, rojo o azul reaccionan solo con una sonda; otras células reaccionan con dos (turquesa, amarillo, púrpura) o con tres (blanco).

amplificar la señal fluorescente. El método FISH que amplifica la señal se llama *FISH con deposición catalizada del reportero (CARD-FISH)*.

En la CARD-FISH, la sonda del ácido nucleico específico contiene una molécula de la enzima peroxidasa conjugada a él en lugar de un colorante fluorescente. Tras dejar un tiempo para la hibridación, se trata la preparación con un compuesto soluble marcado con fluorescencia llamado *tiramida*, que es un sustrato de la peroxidasa. En las células que contienen la sonda del ácido nucleico, la peroxidasa convierte la tiramida en un intermediario muy reactivo que se une covalentemente a las proteínas adyacentes; esto amplifica la señal lo suficiente para que se pueda detectar por microscopía de fluorescencia (**Figura 18.12**). Cada molécula de peroxidasa activa muchas moléculas de tiramida, de manera que es posible visualizar incluso mRNA presente en cantidades muy pequeñas.

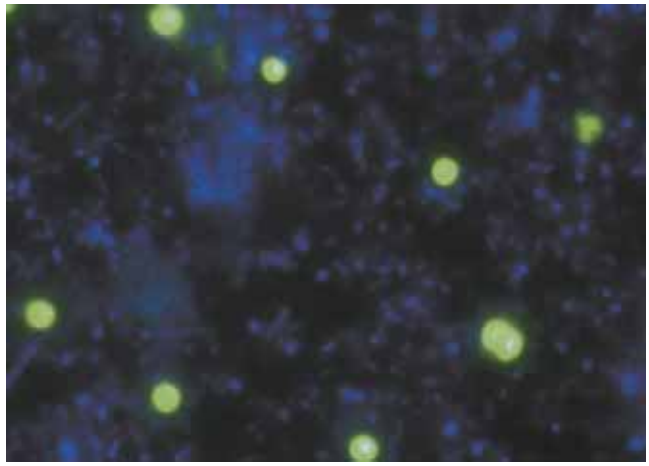


Figura 18.12 Marcaje de arqueas con FISH con deposición indicadora catalizada (CARD-FISH). Las células de arqueas en esta preparación emiten una fluorescencia intensa (verde) respecto a las células teñidas con DAPI (azul).

Además de detectar mRNA, la CARD-FISH también es útil en estudios filogenéticos de procariotas que pueden estar creciendo muy lentamente, por ejemplo, organismos que viven en mar abierto donde las frías temperaturas y la baja concentración de nutrientes limitan la velocidad de crecimiento (Figura 18.12). Como estas células poseen pocos ribosomas en comparación con células de crecimiento más activo, la FISH estándar suele dar una señal bastante débil.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué estructura celular es la diana de las sondas fluorescentes en la FISH filogenética?
- La FISH y la CARD-FISH se pueden usar para revelar diversos datos sobre las células en la naturaleza. Explique de qué datos se trata.

UNIDAD 4

III • Análisis genético de comunidades microbianas no basados en técnicas de cultivo

Muchas veces, los estudios de diversidad microbiana no necesitan aislar organismos, ni siquiera cuantificarlos o identificarlos microscópicamente mediante los colorantes descritos en las secciones precedentes. En cambio, se pueden usar *genes específicos* como medida de la biodiversidad y la capacidad metabólica. Algunos genes son exclusivos de organismos concretos. La detección de uno de estos genes en una muestra ambiental implica que el organismo está presente. Las principales técnicas empleadas en este tipo de análisis de las comunidades microbianas son la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), el análisis de fragmentos de DNA por electroforesis en gel (DGGE, T-RFLP, ARISA) o la clonación molecular, y la secuenciación y análisis del DNA. Además, como veremos en la Sección 18.7, también se pueden analizar genomas completos de las células presentes en una muestra ambiental para medir la biodiversidad de las comunidades microbianas.

18.5 Análisis de las comunidades microbianas mediante métodos basados en la PCR

PCR y análisis de comunidades microbianas

En la Sección 11.3 ya estudiamos el principio de la PCR. Recordemos los pasos principales: (1) se hibridan dos cebadores de

ácidos nucleicos a una secuencia complementaria en un gen diana; (2) la DNA-polimerasa copia el gen diana; y (3) se sintetizan muchas copias del gen diana mediante la fusión repetida de las cadenas complementarias, la hibridación de los cebadores y la nueva síntesis (↻ Figura 11.5). A partir de una sola copia del gen se pueden crear varios millones de copias.

¿Qué genes son adecuados como diana para los análisis de las comunidades microbianas? Como los genes que codifican los rRNA de las subunidades ribosómicas pequeñas (SSU) proporcionan información filogenética y las técnicas para su análisis están bien desarrolladas (↻ Secciones 12.4 y 12.5), son muy utilizados en los análisis de las comunidades. Además, como los genes del rRNA son universales y contienen varias regiones muy conservadas, es posible amplificarlos a partir de cualquier organismo usando solo unos pocos cebadores diferentes, aunque los organismos puedan estar lejanamente emparentados filogenéticamente. Además de los genes de rRNA, también pueden ser genes diana los que codifican enzimas para funciones metabólicas exclusivas de un organismo específico o de un grupo de organismos relacionados (**Tabla 18.3**).

Los genes cuya secuencia ha ido cambiando con el tiempo a medida que las especies divergían, como los que codifican los rRNA, reciben el nombre de *genes ortólogos* (↻ Secciones 6.11 y 12.5). Los organismos que comparten los mismos genes ortólogos, o muy similares, forman un **filotipo**. En ecología microbiana, el concepto de filotipo se usa principalmente para aportar un marco natural (filogenético) para describir la diversidad microbiana de un hábitat determinado, independientemente de si los filotipos identificados son organismos cultivados o no. Así, la palabra *filotipo* se usa mucho para describir la diversidad microbiana de un hábitat basándose únicamente en las secuencias de ácidos nucleicos. Solo cuando se dispone de información fisiológica y genética adicional, normalmente cuando se ha conseguido cultivar el organismo en el laboratorio, es posible proponer el nombre de género y especie para un filotipo.

Tabla 18.3 Genes de uso frecuente para evaluar procesos microbianos específicos en el medio usando PCR

Proceso metabólico[a]	*Gen diana*	*Enzima codificada*
Desnitrificación	*narG*	Nitrato-reductasa
	nirK, nirS	Nitrito-reductasa
	norB	Óxido nítrico-reductasa
	nosZ	Óxido nitroso-reductasa
Fijación de nitrógeno	*nifH*	Nitrogenasa
Nitrificación	*amoA*	Amoniaco-monooxigenasa
Oxidación de metano	*pmoA*	Metano-monooxigenasa
Reducción de sulfato	*apsA*	Fosfosulfato de adenosina-reductasa
	dsrAB	Sulfito-reductasa
Producción de metano	*mcrA*	Metilcoenzima M-reductasa
Degradación de compuestos de petróleo	*nahA*	Naftaleno-dioxigenasa
	alkB	Alcano-hidroxilasa
Fotosíntesis anoxigénica	*pufM*	Subunidad M del centro de reacción fotosintético

[a]Todos estos procesos metabólicos se tratan en el Capítulo 13 y en la Sección 3.17.

En un experimento de análisis de comunidad típico se aísla el DNA completo de un hábitat microbiano (**Figura 18.13**). Para ello existen kits comerciales que ofrecen la posibilidad de obtener DNA de gran pureza del suelo y otros hábitats complejos. El DNA obtenido es una mezcla de DNA genómico de todos los microorganismos presentes en la muestra (Figura 18.13). A partir de esta mezcla se usa la PCR para amplificar el gen diana y obtener muchas copias de cada variante (filotipo) de dicho gen. Si en lugar de DNA se aísla RNA (para detectar los genes que se están transcribiendo), el RNA se puede convertir en DNA complementario (cDNA) por acción de la enzima transcriptasa inversa (↻ Secciones 9.11 y 27.10), y el cDNA se somete a PCR al igual que se hace con el DNA aislado. No obstante, independientemente de si se aísla DNA o RNA, después de la PCR es necesario clasificar los diferentes filotipos antes de secuenciarlos. Esta clasificación se puede realizar usando cualquiera de estos tres métodos diferentes: (1) separación física por electroforesis en gel; (2) construcción de una genoteca, y (3) por tecnología de secuenciación de última generación. A continuación examinaremos estos métodos.

Electroforesis en gel en gradiente desnaturalizante: separación de genes muy similares

Un método para resolver filotipos es la **electroforesis en gel en gradiente desnaturalizante (DGGE**, del inglés *denaturing gradient gel electrophoresis*), que separa genes del mismo *tamaño* cuyo perfil de fusión (desnaturalización) varía por diferencias en su *secuencia de bases* (**Figura 18.14*a, b***). La DGGE utiliza un gradiente de una sustancia desnaturalizante de DNA, normalmente una mezcla de urea y formamida. Cuando un fragmento de DNA bicatenario que se está moviendo a través del gel llega a una región que contiene el suficiente agente desnaturalizante, las cadenas empiezan a «fundirse»; en este momento su migración se detiene (Figuras 18.13 y 18.14*b*). Las diferencias en la secuencia de bases provoca diferencias en las propiedades de fusión del DNA. Así, las distintas bandas observadas en un gel de DGGE son filotipos cuyas secuencias de bases pueden diferir significativamente o tan solo en una base.

Cuando se ha realizado la DGGE, las bandas se cortan y se secuencian de forma individual (Figura 18.13). Con el rRNA 16S como gen diana, por ejemplo, el patrón de DGGE revela inmediatamente el número de filotipos (genes de rRNA 16S distintos) presentes en un hábitat (Figura 18.14*c*). El método proporciona un mecanismo excelente para evaluar con rapidez cambios temporales y espaciales en la estructura de la comunidad microbiana (Figura 18.14*c*). Tras la secuenciación de cada banda de la DGGE se pueden determinar las especies presentes en la comunidad por análisis filogenético (↻ Secciones 12.4 y 12.5; Figura 18.13). Si se usan cebadores de PCR específicos para genes diferentes de los rRNA 16S, como algún gen metabólico (Tabla 18.3), se puede evaluar también las variantes de este gen específico que existen en la muestra. Así, aunque el número de bandas de un gel DGGE nos ofrece un panorama general de la biodiversidad en un hábitat (Figura 18.14*c*), sigue siendo necesario el análisis de las secuencias para la identificación y para inferir las relaciones filogenéticas.

T-RFLP y ARISA

Otro método rápido de análisis de las comunidades microbianas es el *polimorfismo en la longitud de los fragmentos de*

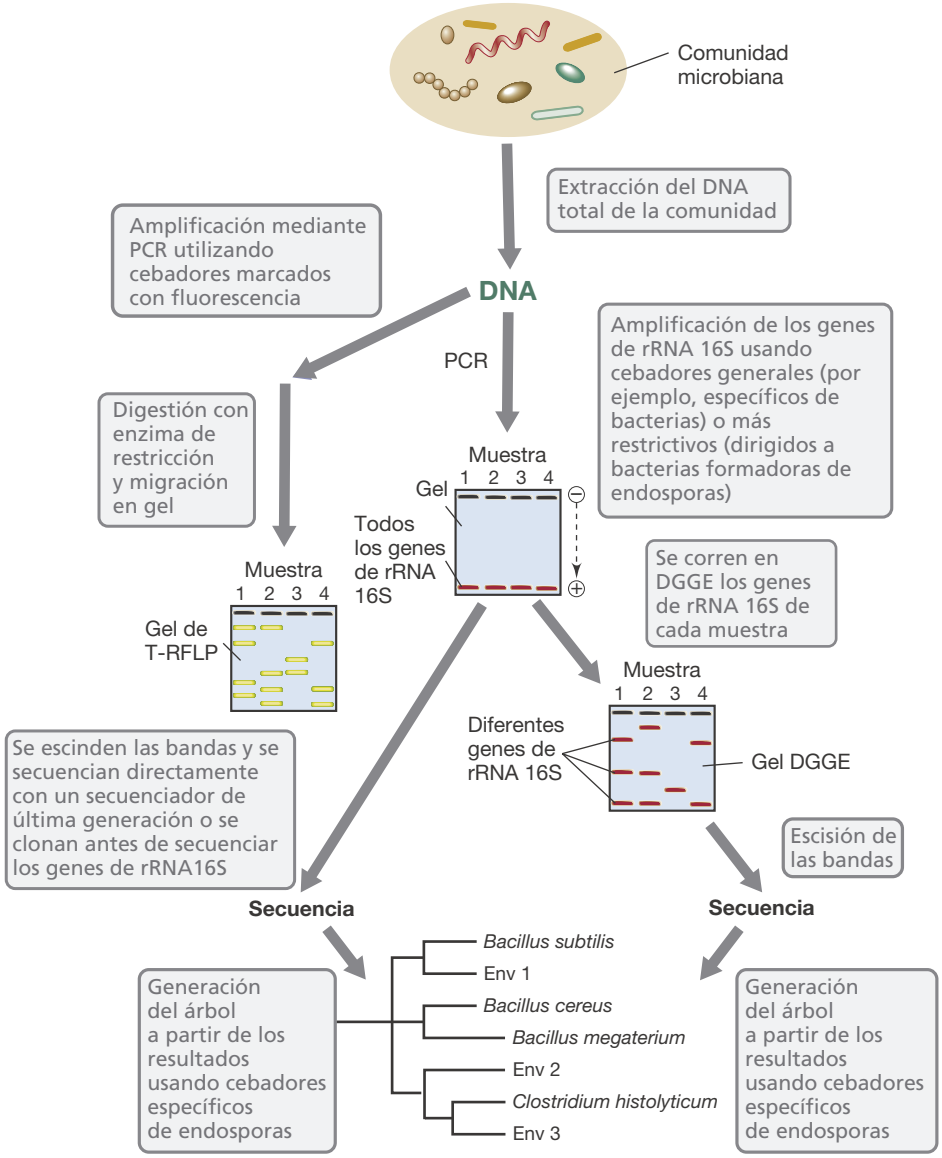
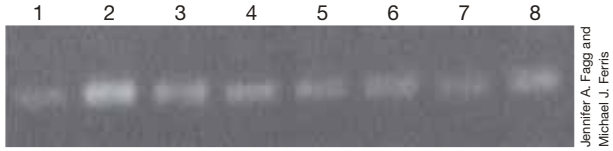


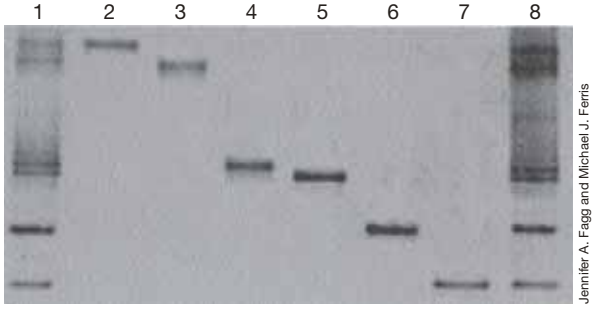
Figura 18.13 **Etapas en un análisis de biodiversidad de un único gen en una comunidad microbiana.** A partir del DNA total de la comunidad, se amplifican genes de rRNA 16S usando, en el ejemplo de la DGGE, cebadores específicos de *Firmicutes*, un grupo de bacterias grampositivas que incluye los géneros formadores de endosporas *Bacillus* y *Clostridium*. Las bandas de PCR se cortan y los diferentes genes de rRNA 16S se separan por clonación o por DGGE. Después de la secuenciación se genera un árbol filogenético. «Env» indica una secuencia medioambiental (filotipo). En los análisis de T-RFLP, el número de bandas indica el número de filotipos.

restricción terminales (*T-RFLP*, del inglés *terminal restriction fragment length polymorphism*). En este método se amplifica un gen diana (normalmente un gen de rRNA) por PCR a partir del DNA de la comunidad usando un conjunto de cebadores en el que uno de ellos está marcado en un extremo con un colorante fluorescente. Los productos de la PCR se tratan con una enzima de restricción (↔ Sección 11.1) que corta el DNA en secuencias específicas. Se suelen usar enzimas de restricción con sitios de reconocimiento de solo cuatro pares de bases porque cortan frecuentemente dentro de un producto de la PCR relativamente corto. Esto genera una serie de fragmentos de DNA de longitud variable cuya cantidad depende del número de sitios de restricción presentes en el DNA. A continuación, los fragmentos terminales marcados con fluorescencia se separan por electroforesis en gel y los productos de digestión se vuelven a separar y se miden en un secuenciador automatizado de DNA que detecta fragmentos fluorescentes. Por tanto, solo los fragmentos terminales marcados con fluorescencia son detectados. El patrón obtenido muestra la variación de secuencias de rRNA en la comunidad microbiana de la que se ha extraído la muestra (Figura 18.13).

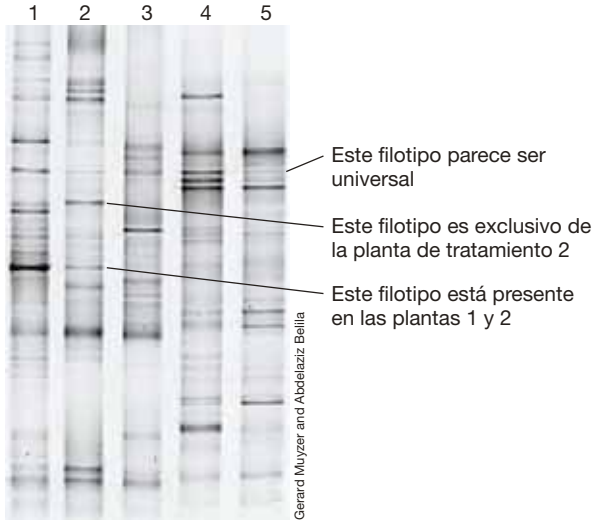
Tanto la DGGE como el T-RFLP miden la diversidad de genes individuales, pero de forma diferente. El patrón de bandas en un gel de DGGE refleja el número de variantes de secuencias de la misma longitud de un solo gen (Figura 18.14), mientras que el patrón de bandas de un gel de T-RFLP refleja las variantes que difieren en la secuencia del DNA según las diferencias en los sitios de corte de las enzimas de restricción. La información que se obtiene a partir de un análisis de T-RFLP, además de aportar datos sobre la diversidad y la abundancia de



(a) **Amplificación por PCR**



(b) **DGGE**



(c) **DGGE de plantas de tratamiento de aguas residuales**

Figura 18.14 **Geles de PCR y DGGE.** Se aisló el DNA total de una comunidad microbiana y se amplificó por PCR usando cebadores para los genes de rRNA 16S del dominio *Bacteria* (*a*, carreras 1-8). Se resolvieron seis bandas por DGGE (*b*, carreras 2-7), se cortaron y se volvieron a amplificar, y cada una dio una sola banda en la misma posición en el gel de PCR (*a*, carreras 2-7). No obstante, por análisis de DGGE cada banda migró a una posición distinta del gel (*b*, carreras 2-7). Obsérvese que todas las bandas migran a la misma posición en el gel de PCR no desnaturalizante porque son todas del mismo tamaño, pero a posiciones diferentes en el gel de DGGE porque tienen secuencias diferentes. *(c)* Perfiles de DGGE de comunidades microbianas de diferentes plantas de tratamiento de aguas residuales amplificadas con cebadores para los genes de rRNA 16S del dominio *Bacteria*.

las poblaciones en una comunidad microbiana, también puede servir para inferir la filogenia. La información diagnóstica de cada fragmento comprende las secuencias cerca de ambos extremos (la secuencia cebadora y el sitio de corte de la enzima de restricción), el conocimiento de que el fragmento no cuenta con un segundo sitio de restricción, y la longitud del fragmento. Mediante programas informáticos especializados se puede utilizar esta información para buscar en bases de datos públicas secuencias de rRNA 16S con las que se puedan emparejar. Aunque esto puede tener cierto valor predictivo, muchas secuencias que guardan una estrecha relación a menudo no se diferencian por estos criterios. Por tanto, generalmente los datos de diversidad dentro de una comunidad microbiana que se obtienen a partir del T-RFLP son más bajos que los datos reales.

Una técnica relacionada con el T-RFLP que proporciona un análisis más detallado de las comunidades microbianas es el *análisis automatizado del espacio intergénico ribosómico* (*ARISA*, del inglés *automated ribosomal intergenic spacer analysis*), que utiliza la proximidad de los genes de rRNA 16S y 23S en los procariotas. El DNA que separa estos dos genes, llamado región *espaciadora transcrita interna* (*ITS*, del inglés *internal transcribed spacer*), difiere en longitud entre especies, y a menudo también en longitud entre diversos operones de rRNA dentro de una misma especie (**Figura 18.5*a***). Los cebadores de PCR para ARISA son complementarios de las secuencias conservadas en los genes de rRNA 16S y 23S que flanquean la región espaciadora. La amplificación (Figura 18.5*b*) y el análisis (Figura 18.5*c*) se llevan a cabo del mismo modo que el T-RFLP, y se obtiene un patrón complejo de bandas que se pueden usar para el análisis de la comunidad. Sin embargo, el ARISA se diferencia del T-RFLP en que no requiere de la digestión con enzimas de restricción después de la amplificación con PCR. La palabra «automatizado» en el acrónimo ARISA se refiere al uso de un secuenciador de DNA que identifica y asigna tamaños de manera automática a cada fragmento marcado con colorante (Figura 18.5*c*), al igual que se puede hacer en los análisis de T-RFLP. La aplicación más importante del ARISA es el estudio de la dinámica de las comunidades microbianas mediante el seguimiento, entre otros, de los cambios en la presencia y abundancia relativa de un miembro específico de la comunidad en el tiempo y en el espacio.

Estudios de diversidad usando genotecas y nuevas técnicas de secuenciación

La mayor parte de los primeros trabajos de investigación sobre diversidad microbiana se basaban en la construcción de bibliotecas de clones (genotecas) para separar moléculas individuales de DNA amplificado (*amplicones*); cada clon de la genoteca contenía una secuencia única que luego se usaba como molde para la determinación de secuencias (↻ Sección 6.2). En la Figura 18.4*a* se muestra que una mezcla de amplicones del gen de rRNA 16S aparece como una sola banda cuando se selecciona en un gel no desnaturalizante. No obstante, como el gen diana amplificado procede de una mezcla de diferentes células, es necesario ordenar los filotipos antes de secuenciarlos. Esto se puede llevar a cabo mediante DGGE (Figura 18.14*b*, *c*), clonación molecular (Figura 18.13, ↻ Sección 11.4), o por sistemas de secuenciación de alto rendimiento (↻ Sección 6.2) que no precisan de clonación para la determinación de la secuencia.

La construcción de una genoteca y la secuenciación sigue siendo un método estándar para el análisis de la diversidad filogenética de las comunidades microbianas y para evaluar el

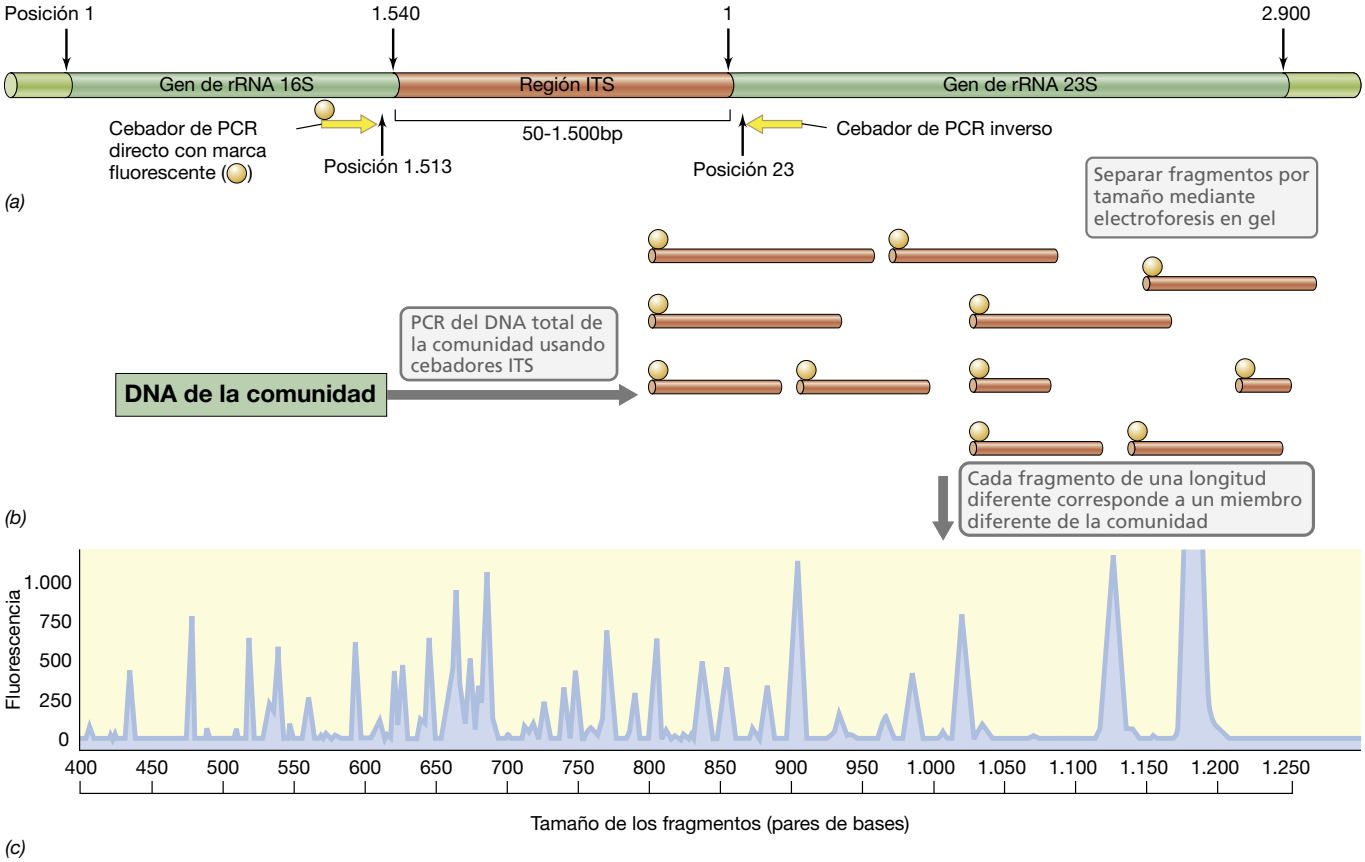


Figura 18.15 **Análisis automatizado del espacio intergénico ribosómico (ARISA).** *(a)* Estructura del operón de rRNA que abarca el gen de rRNA 16S (posiciones de 1 a 1.540), un espaciador transcrito (ITS) de longitud variable, y el gen de rRNA 23S (posiciones 1 a 2.900). Los cebadores de PCR, uno marcado con un colorante fluorescente, son complementarios a secuencias conservadas cerca de la región ITS. *(b)* Fragmentos de DNA amplificados de diferentes longitudes, cada uno de ellos correspondiente a un miembro de la comunidad. *(c)* Análisis de fragmentos determinado por un secuenciador automatizado de DNA. Los picos, que corresponden a distintas regiones ITS, se pueden identificar por clonación y secuenciación de los productos amplificados.

potencial funcional (Tabla 18.3). No obstante, los secuenciadores de última generación no requieren el paso de la clonación, de modo que los fragmentos individuales de DNA se separan y amplifican en el mismo dispositivo de secuenciación; así, los productos de la PCR se pueden usar directamente para la secuenciación. Puesto que en los secuenciadores de última generación se llevan a cabo cientos de miles de reacciones de amplificación de manera simultánea, el número total de lecturas de secuencias excede con creces las posibilidades de la secuenciación de clones individuales obtenidos en las genotecas y realizada uno por uno (Figura 18.16). El inmenso volumen de secuencias generadas por las nuevas tecnologías de secuenciación permite realizar *análisis de secuencia extremadamente profundos*, lo que significa que se pueden encontrar filotipos menores que posiblemente habrían pasado desapercibidos con el método más limitado de las genotecas (Figura 18.16*b*). Por ejemplo, imaginemos que un filotipo concreto está presente en una genoteca de secuencias clonadas en una proporción de tan solo 0,01 %. Sería necesario secuenciar más de mil clones, uno por uno, para tener una probabilidad razonable de encontrar este filotipo específico. En cambio, las nuevas tecnologías de secuenciación, más potentes, detectarían este filotipo poco abundante junto con sus vecinos más numerosos. El conjunto de filotipos con escasa presencia, que representan una fracción notable de la diversidad total, pero solo un componente minoritario de la abundancia total de organismos en la mayoría de los ambientes, recibe el nombre de *biosfera rara* (Figura 18.16).

Resultados de los análisis filogenéticos por PCR

Los análisis filogenéticos de las comunidades microbianas han dado resultados sorprendentes. Por ejemplo, usando como diana el gen que codifica el rRNA 16S, los análisis de las comunidades microbianas naturales muestran normalmente que existen muchos procariotas filogenéticamente distintos (filotipos) cuyas secuencias de los genes de rRNA se diferencian de las de todos los cultivos conocidos (Figura 18.13). Además, con métodos adicionales que permiten evaluar cuantitativamente cada filotipo, se ha descubierto que con pocas excepciones los filotipos más abundantes en una comunidad microbiana natural son los que hasta el momento se resisten a ser cultivados en el laboratorio. Estos sorprendentes resultados dejan claro que nuestro conocimiento de la diversidad microbiana a partir de los cultivos de enriquecimiento es muy incompleto y que el sesgo de enriquecimiento (Sección 18.1) es un problema grave en los estudios de biodiversidad basados en técnicas de cultivo. De hecho, los ecólogos microbianos estiman que menos del 0,1 % de los filotipos revelados en los análisis moleculares de las comunidades microbianas se han cultivado alguna vez. Es evidente que a los microbiólogos empeñados en entender la diversidad microbiana aún les queda mucho trabajo por hacer.

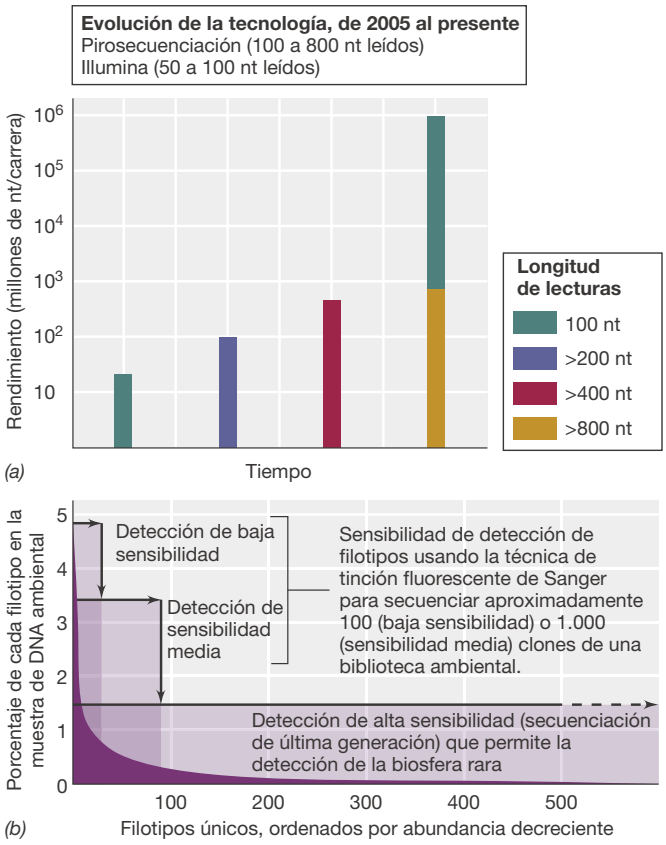


Figura 18.16 Análisis de diversidad de una comunidad usando técnicas de secuenciación de última generación. *(a)* Las plataformas actuales de secuenciación (↔ Sección 6.2) tienen la capacidad para generar 10^{12} nucleótidos de secuencia en una sola ronda de secuenciación (en un período de una semana o menos), y las longitudes de lectura individuales varían de 100 a 800 nucleótidos. *(b)* Esta enorme capacidad de secuenciación ha revelado muchos filotipos únicos que no se habían detectado usando DGGE o la secuenciación de genotecas. En una genoteca de amplicones de PCR de genes de rRNA 16S se detectarían menos de cien filotipos únicos por secuenciación de Sanger de mil clones. Agradecemos a Jed Fuhrman su aportación a la parte *b*.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué se puede concluir de un análisis por PCR/DGGE de una muestra que produce una banda por PCR y una banda por DGGE? ¿Y si produce una banda por PCR y cuatro bandas por DGGE?
- ¿Qué resultado sorprendente se desprende de muchos estudios moleculares de hábitats naturales usando el rRNA 16S como gen diana?

18.6 Micromatrices para el análisis de la diversidad filogenética y funcional de los microorganismos

Anteriormente hemos visto el uso de los chips de DNA, un tipo de *micromatriz*, para evaluar la expresión génica general de los microorganismos (↔ Sección 6.7). Para los análisis rápidos de biodiversidad y el potencial funcional de las comunidades microbianas se pueden construir micromatrices más generales. Se han desarrollado micromatrices diseñadas para estudios de biodiversidad, llamadas *filochips*, se han desarrollado para el cribado de comunidades microbianas en busca de grupos específicos de procariotas. También se ha diseñado otro tipo de micromatrices para detectar genes que codifiquen funciones de importancia biogeoquímica, tales como genes que codifiquen proteínas necesarias para la respiración con sulfato, la oxidación de amoniaco, la desnitrificación o la fijación de nitrógeno (Tabla 18.3). Como la secuencia primaria de los genes que codifican enzimas con funciones comparables puede variar de manera significativa, las matrices de genes específicos de función, que a veces reciben el nombre de *micromatrices génicas funcionales*, deben contener miles de sondas con el fin de obtener una cobertura razonable de la diversidad natural. Incluso así, estas matrices abarcan solo una pequeña fracción de la diversidad funcional natural.

Los filochips se construyen fijando sondas de rRNA o sondas de oligonucleótidos específicas de genes de rRNA a la superficie del chip en una distribución conocida. Los filochips pueden ser tan específicos o genéricos como sea necesario para el estudio ajustando la especificidad de las sondas, y se pueden añadir miles de sondas a un solo filochip. Considérese, por ejemplo, un filochip diseñado para evaluar la diversidad de las bacterias reductoras de sulfato (↔ Secciones 13.18 y 14.9) en un ambiente sulfuroso, como los sedimentos marinos. Se disponen sobre el filochip en una distribución conocida los oligonucleótidos complementarios de secuencias específicas de los genes de rRNA 16S de todas las bacterias reductoras de sulfato conocidas (unas cien especies). Después, tras aislar todo el DNA de la comunidad de los sedimentos, amplificarlo por PCR y marcar con fluorescencia los genes de rRNA 16S, se hibrida el DNA ambiental con las sondas del filochip. Se determina las especies que están presentes analizando qué sondas han hibridado con el DNA de la muestra (**Figura 18.17**). Como alternativa, se puede extraer el rRNA directamente de la comunidad microbiana, marcarlo con un colorante fluorescente e hibridarlo con el filochip sin mediar amplificación. También se han desarrollado filochips mucho más generales y con un espectro más amplio. Por ejemplo, uno de estos contiene 500.000 oligonucleótidos específicos de genes de rRNA con una cobertura de más de 8.000 taxones microbianos.

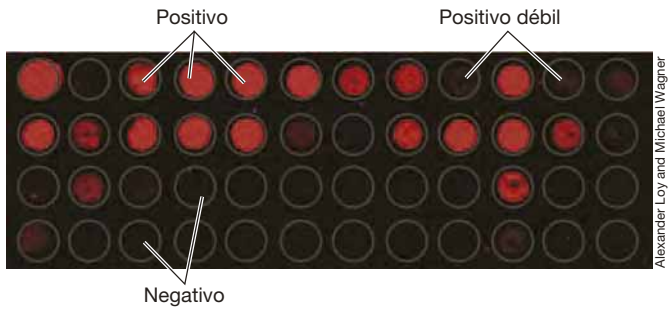


Figura 18.17 Análisis por filochip de la diversidad de las bacterias reductoras de sulfato. Cada mancha sobre la micromatriz tiene un oligonucleótido complementario a una secuencia en el rRNA 16S de una especie diferente de bacteria reductora de sulfato. La micromatriz se hibrida con genes de rRNA 16S amplificados por PCR a partir de una comunidad microbiana y marcados con fluorescencia; la presencia o ausencia de cada especie se señala mediante fluorescencia (positivo o positivo débil) o falta de fluorescencia (negativo), respectivamente.

Una micromatriz génica funcional llamada *GeoChip* contiene unas 50.000 secuencias génicas de más de 290 categorías génicas. Las categorías abarcan un rango muy amplio de capacidades metabólicas, entre ellas la producción y el consumo de metano, sistemas respiratorios alternativos (como la reducción desasimiladora con metales o la halorrespiración), la resistencia a metales pesados, la degradación de los contaminantes clorados persistentes y las etapas oxidativas y reductoras comunes en los ciclos del nitrógeno, el carbono y el azufre (Capítulo 20).

Los filochips y las micromatrices génicas funcionales como el GeoChip evitan muchos de los pasos más largos —PCR, DGGE, clonación y secuenciación— de los análisis de las comunidades microbianas que hemos analizado anteriormente (Figura 18.13). Una ventaja importante de estos métodos respecto del método de secuenciación es la reproducibilidad, especialmente en el caso de taxones poco abundantes. No obstante, un punto importante que hay que tener en cuenta a la hora de interpretar cualquier micromatriz génica es la posibilidad de que se produzcan hibridaciones inespecíficas; es decir, es posible que no se resuelvan variantes génicas con secuencias estrechamente relacionadas a causa del solapamiento de los patrones de hibridación. Además, genes no relacionados en absoluto pueden dar falsos resultados positivos si son suficientemente complementarios con la sonda como para producir hibridación. A pesar de todo, los filochips y las micromatrices génicas funcionales constituyen otra importante herramienta para la evaluación, no basada en técnicas de cultivo, de biodiversidad microbiana y actividades metabólicas potenciales.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué es un filochip y qué información puede ofrecernos?
- ¿Cuáles son las ventajas y desventajas de la tecnología de micromatrices respecto de la secuenciación de los productos de la PCR?
- ¿Por qué, en general, los análisis de T-RFLP no capturan completamente la diversidad de los filotipos en una muestra ambiental?

18.7 Genómica ambiental y métodos de estudio relacionados

Un enfoque más incluyente del estudio molecular de las comunidades microbianas es la **genómica ambiental**, también llamada **metagenómica**. Estos métodos utilizan la secuenciación y el análisis de todos los genomas microbianos de un ambiente concreto para caracterizar el contenido genético completo de dicho ambiente. Inicialmente la metagenómica tenía como objetivo la captura de fragmentos al azar de DNA ambiental en plásmidos pequeños o grandes, que eran usados para crear genotecas de DNA ambiental para secuenciación; también, las genotecas se podían usar para buscar nuevos genes, como los que codifican la producción de antibióticos. No obstante, la introducción de la tecnología de secuenciación de DNA de alto rendimiento (↻ Secciones 6.2 y 18.5) aceleraron esta técnica y eliminaron la necesidad de clonar el DNA. En su lugar, el DNA se podía secuenciar ahora directamente del DNA total.

Antes de la era de la metagenómica, los análisis de las comunidades microbianas se centraban normalmente en la diversidad de un gen *individual* en una muestra ambiental. Sin embargo, en la genómica ambiental se pueden muestrear *todos* los genes de una comunidad microbiana determinada, y si se hace con un diseño experimental adecuado, la información obtenida puede suponer una comprensión mucho más profunda de la estructura y el funcionamiento de la comunidad que la que aportan los análisis de genes individuales.

El objetivo inmediato de la genómica ambiental no es generar secuencias genómicas completas y acabadas, como se ha hecho con muchos microorganismos cultivados (Capítulo 6). Más bien, la idea es detectar el mayor número posible de genes que codifiquen proteínas reconocibles y después, si se puede, determinar la filogenia de los organismos a los que pertenecen dichos genes. No obstante, esta limitación se está reduciendo a causa del aumento en la cobertura gracias a la tecnología de secuenciación de DNA de alto rendimiento (Figura 18.16) y al uso de algoritmos mejorados para el ensamblaje de los datos metagenómicos de secuencia. Estos avances han permitido la reconstrucción rutinaria de genomas a partir de DNA de la comunidad (véase la página de introducción de este capítulo).

Sin embargo, un problema de los genomas ensamblados a partir de una mezcla de lecturas de secuencia de DNA ambiental es que no es probable que sean clonales, sino compuestos de fragmentos de DNA de cepas estrechamente relacionadas de una

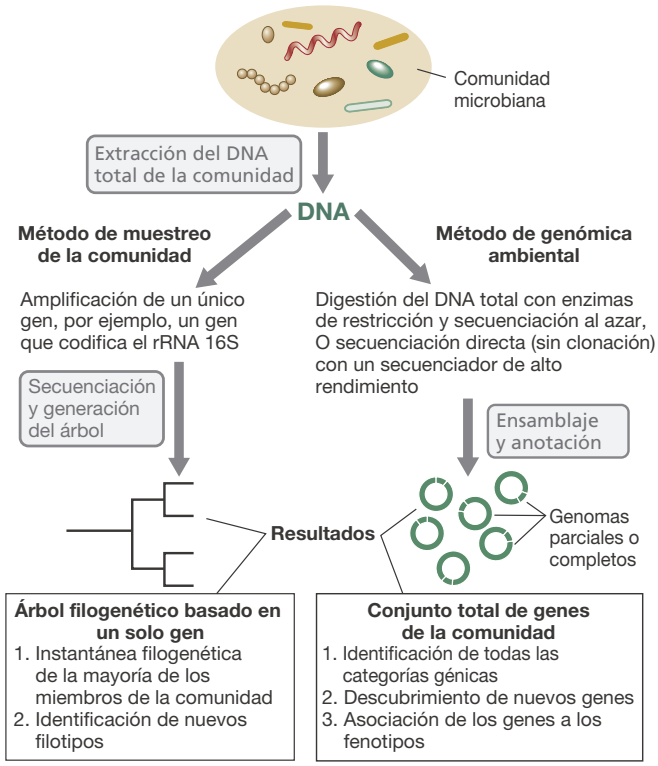


Figura 18.18 Método de un único gen frente a la genómica ambiental para analizar la comunidad microbiana. En la genómica ambiental se secuencia el DNA de toda la comunidad, pero es posible que los genomas ensamblados no estén completos. La recuperación de todos los genes es variable y depende, entre otros factores, de la complejidad del hábitat y de la cantidad de secuencias determinadas. La recuperación suele ser mejor cuando la diversidad es baja y la secuencia es muy redundante.

especie (**Figura 18.18**). Para «reensamblar» genomas o fragmentos genómicos prácticamente completos a partir de DNA metagenómico es importante evaluar si todos los genes necesarios para un organismo vivo están presentes (como todos los tRNA y rRNA estables necesarios) y por tanto podemos diagnosticar un genoma completo. Además, es igualmente importante una evaluación de la abundancia relativa de genes que codifican funciones específicas, pues los cambios de abundancia sugieren interacciones entre especies o una respuesta común a una variable ambiental concreta. Por ejemplo, si se recupera un gran número de genes de la ruta de fijación de nitrógeno, esto sugeriría que el ambiente muestreado tenía una limitación de NH_4^+, NO_3^- y otras formas de nitrógeno fijado, lo cual favorecería la selección de bacterias fijadoras de nitrógeno. En la Figura 18.18 se compara el método de genómica ambiental con el análisis de genes individuales de las comunidades microbianas.

Nuevas técnicas de metagenómica

En un estudio metagenómico con procariotas realizado en el mar de los Sargazos (una región pobre en nutrientes del océano Atlántico, cerca de las Bermudas), se descubrió una gran diversidad. Este estudio se basaba en el análisis de datos de casi mil millones de pares de bases procedentes de una biblioteca de DNA plasmídico de clonación al azar (↻ Sección 6.2) obtenida a partir de agua superficial. Los resultados sugerían que había presentes al menos 1.800 especies bacterianas y arqueanas, entre las que se contaban 148 filotipos desconocidos hasta el momento y muchos genes nuevos. Muchas de estas especies se habían pasado por alto previamente en los análisis de la comunidad basados en rRNA, ya que la baja sensibilidad de detección que se obtiene al secuenciar las genotecas a menudo pasa por alto especies minoritarias (Figura 18.16), y también porque no todos los genes de rRNA 16S que había en la comunidad microbiana del mar de los Sargazos se pudo amplificar con los cebadores usados para la amplificación por PCR. Obviamente, los genes que no se pueden amplificar no son detectados en los análisis de la comunidad. La metagenómica sortea este problema al secuenciar el DNA *sin amplificarlo previamente* mediante PCR de genes específicos (Tabla 18.3). De este modo, se secuencian los genes ya sean amplificados por PCR o no.

Aunque mil millones de pares de bases de secuencia es un conjunto enorme de datos individuales que costó más de un millón de dólares con la tecnología disponible en el momento, fue insuficiente para describir la totalidad de la diversidad de las especies microbianas en la muestra del mar de los Sargazos. De hecho, un mililitro de agua de mar contiene aproximadamente cinco billones (10^{12}) de pares de bases de DNA genómico bacteriano (suponiendo un tamaño medio de los genomas de cinco millones de pares de bases, y una densidad de un millón de células), y por tanto sería necesario un esfuerzo de secuenciación cinco mil veces mayor solamente para cubrir, de media, cada par de bases una vez. Aun con la tecnología actual, que nos permite generar unos ochocientos mil millones de pares de bases de secuencia en diez días (Figura 18.16), no se ha secuenciado completamente ningún ambiente. Además, esta increíble capacidad de secuenciación, que permite realizar análisis metagenómicos tanto de los componentes abundantes como de los minoritarios en un hábitat determinado, plantea también demandas sin precedentes sobre la capacidad computacional necesaria para llevar a cabo los análisis de las secuencias. De hecho, serán necesarios grandes avances en la eficiencia y la capacidad de almacenamiento de los ordenadores para seguir el ritmo del volumen de los datos metagenómicos en el futuro.

Algunos ejemplos de genómica ambiental

La genómica ambiental puede detectar genes nuevos en organismos conocidos y genes conocidos en organismos nuevos. Además, muchos de los fragmentos de las secuencias metagenómicas presentan motivos en el DNA que indican que codifican proteínas, pero estas proteínas no tienen homólogos conocidos en las bases de datos públicas existentes, y no tienen ninguna relación filogenética aparente con especies conocidas. Es lo que se conoce como genes «huérfanos» (en inglés hacen un juego de palabras con las siglas de pauta de lectura abierta, ORF, y les llaman «ORFan genes»). En el estudio del mar de los Sargazos mencionado antes, se encontraron genes que codifican proteínas que actúan en metabolismos conocidos, insertados ocasionalmente en genomas de organismos de los que previamente se desconocía que llevaran a cabo dichos metabolismos. Por ejemplo, el descubrimiento de genes relacionados con los que codifican la amoniaco-monooxigenasa, una enzima fundamental de las bacterias oxidantes del amoniaco (Tabla 18.3; ↻ Secciones 13.10, 14.13 y 16.6) en un fragmento de DNA que contenía también genes arqueanos sugería la posible existencia de arqueas oxidantes de amoniaco. Más tarde, los microbiólogos consiguieron aislar arqueas nitrificantes de un ambiente marino (*Nitrosopumilus maritimus*, ↻ Secciones 13.10 y 16.6).

En un segundo ejemplo del estudio del mar de los Sargazos, se encontraron genes que codifican la *proteorrodopsina*, la bomba protónica fotorregulada presente en algunas proteobacterias y relacionada con la bacteriorrodopsina de los halófilos extremos (↻ Sección 16.1), en varios linajes filogenéticos nuevos de *Bacteria*. El gen para la proteorrodopsina se había descubierto anteriormente en un grupo sin cultivar de *Gammaproteobacteria* marinas mediante la clonación y la secuenciación de grandes fragmentos de DNA aislados de agua del océano. Desde entonces, diversos análisis metagenómicos han puesto de manifiesto que la proteorrodopsina es una proteína ampliamente distribuida, y se encuentra tanto entre las arqueas marinas como entre las bacterias de agua dulce. Estos descubrimientos señalaron la importancia de la luz en la fisiología y ecología de estos organismos, y sugirieron nuevas estrategias para enriquecerlos y aislarlos en el laboratorio. En la actualidad, la proteorrodopsina se ha identificado en varios microorganismos cultivados (incluidas *Alfa-*, *Beta-* y *Gammaproteobacteria*, especies de *Bacteroidetes* y dinoflagelados marinos eucariotas) y está asociada principalmente con funciones bioenergéticas.

Los métodos genómicos también han revelado variaciones en genes asociados con un solo filotipo; es decir, en cepas que contienen genes de rRNA idénticos o casi idénticos. Por ejemplo, en estudios con *Prochlorococcus*, la cianobacteria (fotótrofo oxigénico) más abundante del océano (↻ Sección 14.3), en la comparación de las secuencias genómicas de cepas cultivadas con genes de *Prochlorococcus* obtenidos a partir de

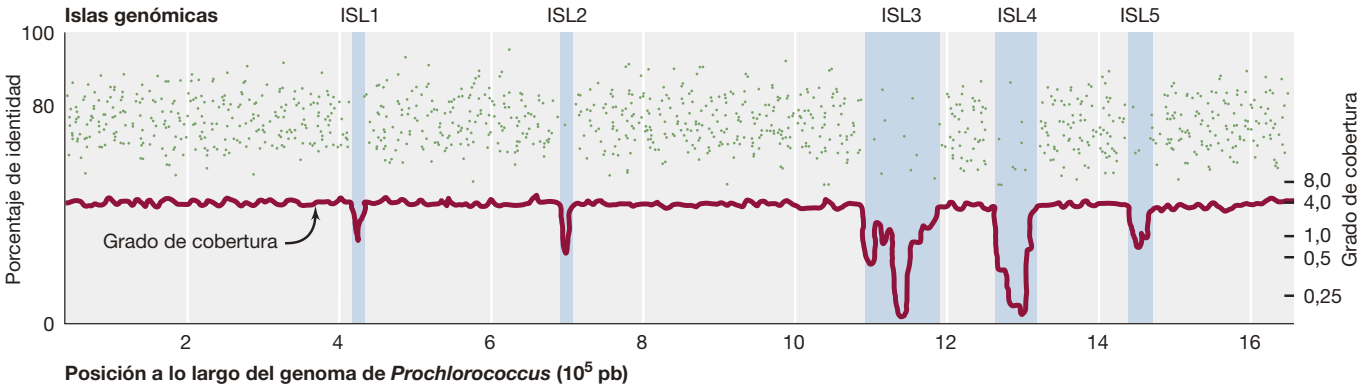


Figura 18.19 **Análisis metagenómico.** Secuencias (representadas como puntos verdes) del metagenoma del mar de los Sargazos que se alinean con la secuencia genómica de un *Prochlorococcus* cultivado; se observan regiones donde la cepa cultivada tiene genes de alta similitud (alto porcentaje de identidad) con secuencias del metagenoma y otras regiones (sombreadas) donde no hay genes en común (islas genómicas, ISL1 a ISL5). Se piensa que la secuencia del DNA contenida en las islas genómicas codifica funciones específicas de nicho, de modo que la cepa cultivada probablemente no presentará la misma distribución ambiental que las cepas que contiene todas los genes de las islas. El grado de cobertura da una idea de en qué medida están recogidas las diversas regiones del genoma de *Prochlorococcus* por secuencias similares en el metagenoma.

análisis metagenómicos de agua del océano se identificaron amplias regiones compartidas entre las poblaciones cultivadas y las oceánicas (Figura 18.19). Este alto grado de conservación génica confirma que los organismos cultivados son típicos de poblaciones naturales. No obstante, en estos análisis también se identificaron varias regiones con gran variabilidad en las que los genomas de las cepas cultivadas diferían significativamente de las poblaciones naturales. Estas regiones variables estaban agrupadas en el genoma formando *islas genómicas*, llamadas también *islas cromosómicas* (↻ Sección 6.13), y probablemente codifican funciones que controlan la respuesta del crecimiento de poblaciones concretas de *Prochlorococcus* a las variables ambientales como la temperatura, la calidad y la intensidad de la luz.

Metatranscriptómica y metaproteómica

La aplicación de métodos genómicos ha generado dos técnicas relacionadas, la *metatranscriptómica* y la *metaproteómica*. La **metatranscriptómica** es análoga a la metagenómica pero analiza secuencias de *RNA* de la comunidad, en lugar de secuencias de DNA. El RNA aislado se convierte en cDNA mediante transcripción inversa (↻ Secciones 9.11 y 27.10) antes de ser secuenciado. Mientras que la metagenómica describe la capacidad funcional de la comunidad (por ejemplo, la abundancia relativa de genes específicos), la metatranscriptómica revela qué genes de la comunidad se están expresando de manera efectiva, y el grado relativo de esa expresión en un momento y un lugar determinados. Como la expresión de la mayoría de los genes en los procariotas está controlada a nivel de la transcripción (↻ Sección 7.1), la abundancia de mRNA se puede considerar un sondeo de los niveles de expresión de genes individuales. Por tanto, se puede utilizar la abundancia de transcritos determinada para toda una comunidad para inferir el funcionamiento de los principales procesos metabólicos catalizados por esa comunidad en el momento de la recogida de la muestra (Figura 18.20).

La **metaproteómica**, que da cuenta de la diversidad y la abundancia de diferentes *proteínas* en una comunidad, es una medida de la actividad celular todavía más directa que la transcriptómica. Esto es así porque los diferentes mRNA tienen diferentes semividas y se traducen con eficiencias distintas, de modo que no todos producen el mismo número de copias proteicas. No obstante, la metaproteómica tiene que superar un desafío técnico mucho más grande que la metagenómica o la metatranscriptómica (↻ Sección 6.8). La identificación de proteínas, normalmente mediante caracterización por espectrometría de masas de péptidos liberados a partir de la digestión enzimática del conjunto total de proteínas usando una proteasa que corta en los residuos de arginina o lisina, depende del material disponible de manera natural, ya que no es posible amplificar secuencias proteicas como se amplifican ácidos nucleicos por PCR para su secuenciación. La identificación de proteínas también requiere la separación física, al menos parcial, de los péptidos individuales para reducir la complejidad de las muestras analizadas por espectrometría de masas. Una complicación final es la variabilidad en la recuperación de proteínas unidas a membrana y citoplasmáticas. En consecuencia, la metaproteómica ha quedado restringida hasta el momento, principalmente, a la caracterización cualitativa de comunidades microbianas bastante simples, como las que se encuentran en ambientes extremos, o a la caracterización de proteínas muy abundantes en comunidades más complejas. En la Sección 6.8 ya analizamos cómo se identifican las proteínas mediante análisis proteómicos y otros aspectos de la metaproteómica.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué es un metagenoma?
- ¿En qué se diferencian los métodos genómicos ambientales de los análisis ambientales de genes individuales, como los basados en análisis de genes de rRNA 16S para la caracterización de las comunidades microbianas?
- ¿Cómo se puede identificar las poblaciones celulares más activas metabólicamente usando métodos de genómica ambiental?

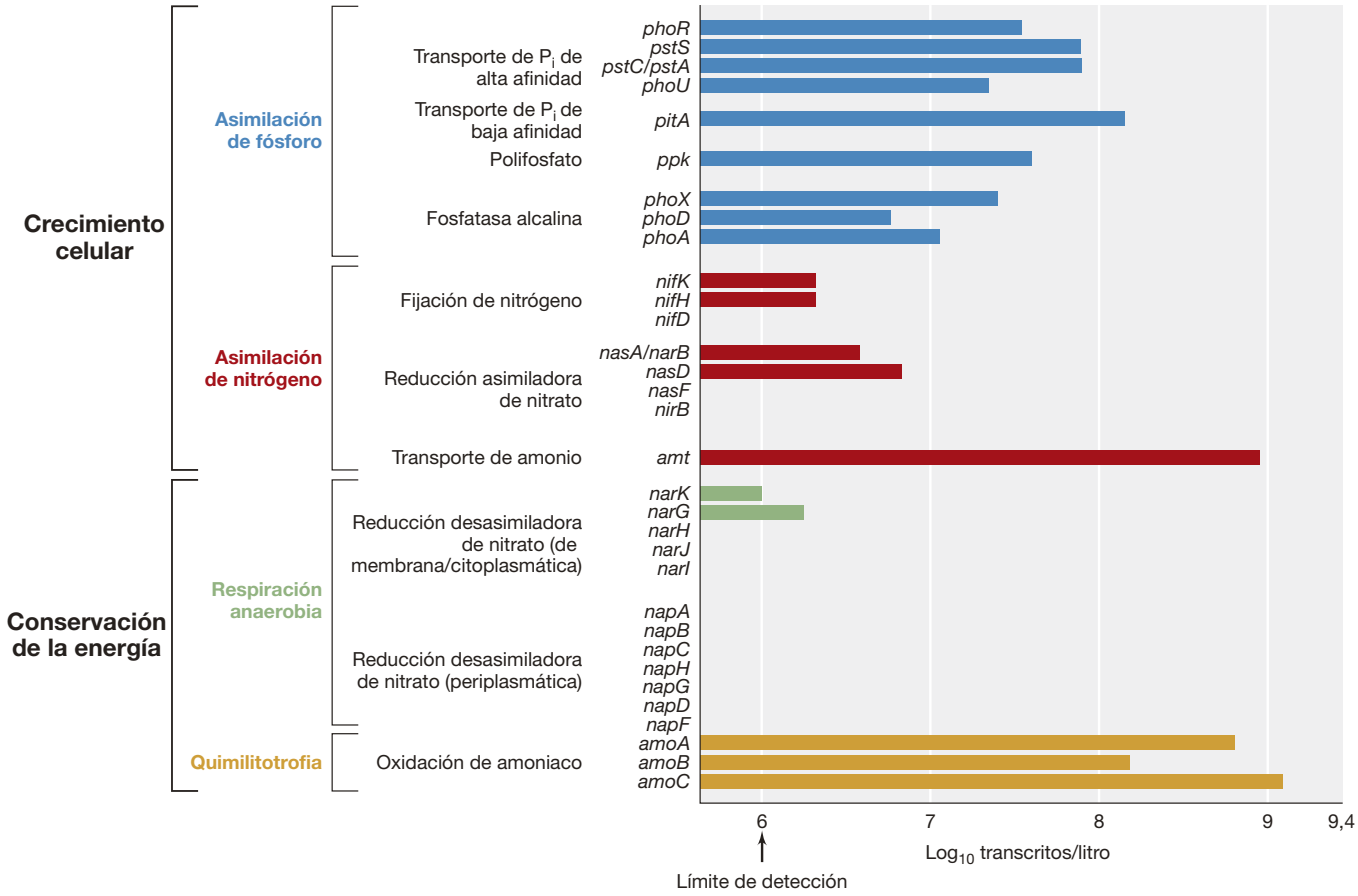


Figura 18.20 **Análisis metatranscriptómico de aguas superficiales marinas costeras.** Expresión de genes de etapas fundamentales de los ciclos del N y del P en una muestra de agua marina, determinada por secuenciación de mRNA ambiental. Estos datos muestran que la comunidad microbiana estaba usando formas de fosfato (PO_4^{3-}) tanto inorgánicas (alta expresión de los transportadores de P) como orgánicas (fosfatasa alcalina). El bajo nivel de transcritos de genes necesarios para la asimilación de NO_3^- contrasta con la alta expresión de genes para el transporte y la oxidación quimiolitótrofa de NH_3. También, como era de esperar para aguas superficiales óxicas marinas, hay poca expresión de genes para la respiración con NO_3^-. Datos gentileza de Mary Ann Moran.

IV • Medición de la actividad microbiana en la naturaleza

Hasta aquí, en este capítulo nos hemos centrado en la medición de la *diversidad* microbiana. Ahora pasaremos a estudiar cómo medir la *actividad* microbiana; es decir, qué *hacen* realmente los microorganismos en su entorno. Las técnicas que vamos a analizar incluyen el uso de radioisótopos, microsensores, isótopos estables y varios métodos genómicos.

Las mediciones de actividad en una muestra natural son estimaciones *colectivas* de las reacciones fisiológicas que ocurren en toda la comunidad microbiana, si bien diversas técnicas de las que hablaremos más adelante (véanse las Secciones 18.10 y 18.11) permiten una evaluación más dirigida de la actividad fisiológica. Las mediciones de la actividad ponen de manifiesto los tipos y las velocidades de las principales reacciones metabólicas en un hábitat, y las diversas técnicas se pueden usar por sí solas o en combinación para realizar los análisis de las comunidades microbianas. Junto con las estimaciones de biodiversidad y los análisis de expresión génica, estas ayudan a definir la estructura y el funcionamiento del ecosistema microbiano, el objetivo fundamental de la ecología microbiana. Las medidas de actividad también proporcionan información valiosa para el diseño de cultivos de enriquecimiento.

18.8 Ensayos químicos, métodos radioisotópicos y microelectrodos

En muchos estudios, las mediciones químicas directas de las reacciones microbianas bastan para evaluar la actividad microbiana en el medio. Por ejemplo, el destino de la oxidación del lactato por parte de las bacterias reductoras de sulfato en una muestra de sedimentos se puede rastrear fácilmente. Si en una muestra procedente de sedimentos existen y están activas bacterias reductoras de sulfato, el lactato que se añada al sedimento será consumido y el SO_4^{2-} será reducido a H_2S. Puesto que tanto el lactato como el SO_4^{2-} y el S^{2-} se pueden medir con bastante sensibilidad mediante ensayos químicos sencillos, las

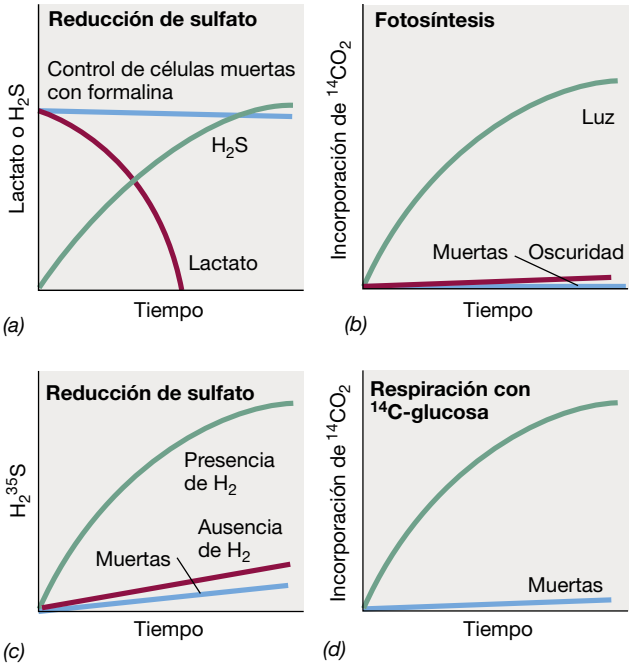


Figura 18.21 **Medidas de la actividad microbiana.** *(a)* Ensayo químico para las transformaciones de lactato y H_2S durante la reducción de sulfato. Determinaciones radioisotópicas de *(b)* fotosíntesis medida con $^{14}CO_2$; *(c)* reducción de sulfato medida con $^{35}SO_4{}^{2-}$; *(d)* producción de $^{14}CO_2$ a partir de ^{14}C-glucosa.

transformaciones de estas sustancias entre sí en una muestra se pueden seguir con facilidad (**Figura 18.21*a***).

Radioisótopos

Cuando es necesaria una sensibilidad muy alta, si hay que determinar las tasas de recambio o se tiene que seguir el destino de fragmentos de una molécula, los *radioisótopos* son más útiles que los ensayos estrictamente químicos. Por ejemplo, si el objetivo es medir la fotoautotrofia, se puede analizar la captación dependiente de la luz de dióxido de carbono radiactivo ($^{14}CO_2$) en las células microbianas (Figura 18.21*b*). Si lo que interesa es la reducción de sulfato, se puede evaluar la velocidad de conversión de $^{35}SO_4{}^{2-}$ a $H_2{}^{35}S$ (Figura 18.21*c*). Las actividades heterótrofas se pueden medir rastreando la liberación de $^{14}CO_2$ a partir de compuestos orgánicos marcados con ^{14}C (Figura 18.21*d*) y hay muchos más ejemplos.

Tanto los métodos isotópicos como los químicos están muy extendidos en ecología microbiana. No obstante, para que resulten válidos, estos métodos deben contar con controles adecuados, porque algunas transformaciones isotópicas pueden ser debidas a procesos abióticos. El *control con células muertas* es clave en estos experimentos, porque es esencial demostrar que la transformación que estamos midiendo se detiene cuando se aplican a la muestra el agente químico o los tratamientos con calor que matan los microorganismos. La formalina (disolución acuosa del formaldehído) a una concentración final del 4 % se usa normalmente como esterilizante químico en los estudios de ecología microbiana. La formalina mata todas las células, y las transformaciones de materiales marcados radiactivamente en presencia de formalina al 4 % pueden atribuirse a los procesos abióticos (Figura 18.21).

Microsensores

Los **microsensores** tienen la forma de agujas de vidrio con un mecanismo sensor en la punta y se han utilizado para estudiar la actividad de los microorganismos en la naturaleza. Existen microsensores para medir muchas especies químicas: pH, O_2, $NO_2{}^-$, $NO_3{}^-$, óxido nitroso (N_2O), CO_2, H_2 y H_2S. Como el mismo nombre indica, estos dispositivos son muy pequeños; la punta tiene entre 2 µm y 100 µm de diámetro (**Figura 18.22**). Los sensores se introducen cuidadosamente en el hábitat a pequeños intervalos para seguir la actividad microbiana a distancias muy cortas.

Los microsensores tienen muchas aplicaciones. Por ejemplo, la concentración de O_2 en los tapetes microbianos (↻ Figura 19.19*c*), los sedimentos acuáticos o las partículas del suelo (↻ Figura 19.3) se pueden medir con precisión en intervalos extremadamente pequeños gracias a los microsensores. Para introducir los sensores de manera gradual en la muestra se usa un micromanipulador, y las medidas se pueden tomar cada 50 µm o 100 µm (**Figura 18.23**). Con un banco de microsensores, cada uno sensible a una sustancia diferente, se pueden realizar mediciones simultáneas de diversas transformaciones en un hábitat.

Los procesos microbianos en el mar se han estudiado con mucho detalle porque tienen consecuencias profundas en los ciclos de nutrientes y en la salud global del planeta. Como es difícil reproducir las condiciones de las grandes profundidades en el laboratorio, resulta útil utilizar microsensores colocados sobre

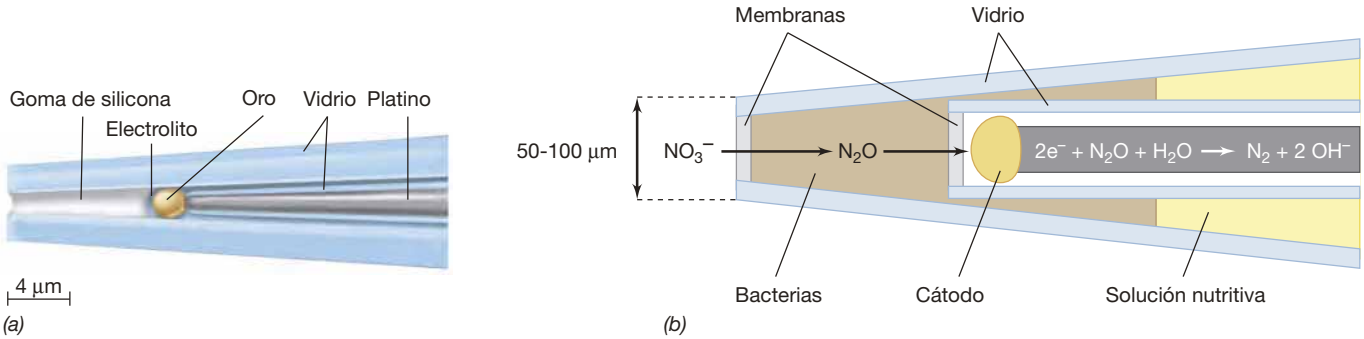


Figura 18.22 **Microsensores.** *(a)* Esquema de un microsensor de oxígeno (O_2). El oxígeno difunde a través de la membrana de silicona de la punta del sensor y reacciona con los electrones de la superficie de oro del cátodo para formar iones hidróxido (OH^-); estos generan una corriente proporcional a la concentración de O_2 en la muestra. Obsérvese la escala del electrodo. *(b)* Microsensor biológico para la detección de nitrato ($NO_3{}^-$). Las bacterias inmovilizadas en la punta del sensor desnitrifican el nitrato o el nitrito a óxido nítrico, que es detectado por reducción electroquímica a N_2 en el cátodo. Basado en esquemas de Niels Peter Revsbech.

UNIDAD 4

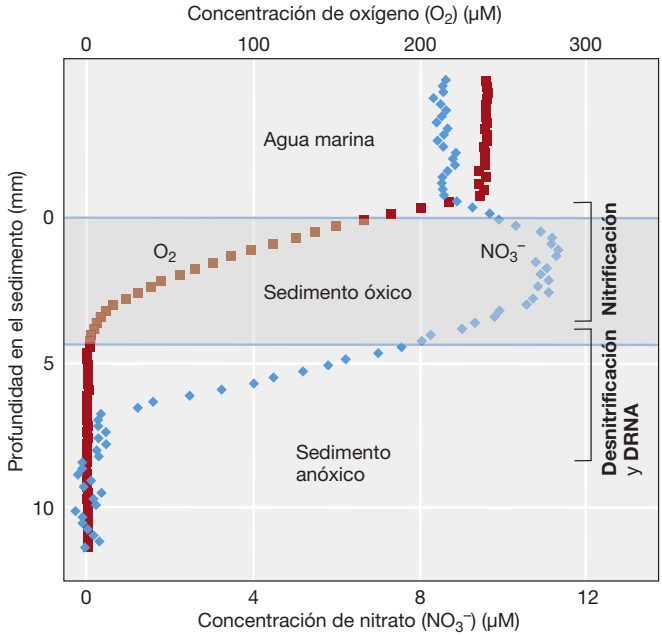


Figura 18.23 **Perfiles de profundidad de O_2 y NO_3^-.** Datos obtenidos usando el dispositivo de aterrizaje (véase la Figura 18.24) equipado con microelectrodos para la caracterización química remota de sedimentos de las profundidades marinas. Obsérvense las zonas de nitrificación y desnitrificación. DRNA, reducción desasimiladora de NO_3^- a NH_4^+. Basado en los datos y dibujos de Niels Peter Revsbech.

dispositivos robóticos para analizar las actividades microbianas en el lecho marino. En la **Figura 18.24** se muestra el uso de un instrumento de «aterrizaje» equipado con varios microsensores para poder analizar y comparar la distribución de los productos químicos en los sedimentos con los del agua oceánica suprayacente. Una de las sustancias químicas biológicamente más importantes en los océanos es el nitrato (NO_3^-), pero los sensores electroquímicos no pueden medir NO_3^- en el agua, porque la gran cantidad de sales disueltas interfiere con ellos. Para sortear este problema se ha diseñado un microsensor «vivo» que contiene bacterias en su punta que reducen NO_3^- (o NO_2^-) a óxido nitroso (N_2O). El N_2O producido por las bacterias es detectado tras su reducción abiótica a nitrógeno molecular en el cátodo del microsensor (Figura 18.22*b*); esto genera un impulso eléctrico que indica la presencia de nitratos. En la capa óxica de los sedimentos marinos el NO_3^- se produce por oxidación de NH_4^+ (nitrificación, ↻ Sección 13.10), de manera que en la capa superficial de los sedimentos se suele encontrar un pico de NO_3^- (Figura 18.23). En las capas más profundas de los sedimentos, anóxicas, el NO_3^- se consume por desnitrificación y reducción desasimiladora del nitrato a amoniaco (DRNA) (↻ Sección 13.17), de manera que unos pocos milímetros por debajo de la interfaz óxica-anóxica el NO_3^- desaparece (Figura 18.23).

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué los radioisótopos son tan útiles para medir la actividad microbiana?
- Si de pronto penetrara una gran cantidad de materia orgánica en los sedimentos, ¿cómo cambiaría esto los perfiles de nitrato y oxígeno en la Figura 18.23?


Niels Peter Revsbech

Figura 18.24 **Uso de un dispositivo de aterrizaje en el fondo del mar.** El dispositivo está equipado con un banco de microsensores (flecha) para medir la distribución de sustancias químicas en los sedimentos marinos.

18.9 Isótopos estables

Muchos elementos químicos tienen diferentes isótopos, que varían en el número de neutrones. Ciertos isótopos son inestables y se degradan como resultado de la desintegración radiactiva. Otros, llamados *isótopos estables*, no son radiactivos pero son metabolizados por microorganismos y se pueden utilizar para estudiar las transformaciones microbianas en la naturaleza. Existen dos métodos que usan isótopos estables para obtener información de la actividad microbiana. En esta sección describiremos el fraccionamiento isotópico, y en la Sección 18.11 hablaremos del sondeo con isótopos estables.

Fraccionamiento isotópico

Los dos elementos más útiles para los estudios de ecología microbiana con isótopos estables son el carbono (C) y el azufre (S), aunque el isótopo pesado del nitrógeno, ^{15}N también se usa mucho. El carbono existe en la naturaleza principalmente como ^{12}C, pero un 5 % existe como ^{13}C. Por otra parte, el S con sus cuatro isótopos estables existe principalmente como ^{32}S. Parte del azufre se encuentra como ^{34}S, y una cantidad muy pequeña es ^{33}S y ^{36}S. La abundancia relativa de estos isótopos cambia cuando el C o el S son metabolizados por los microorganismos,

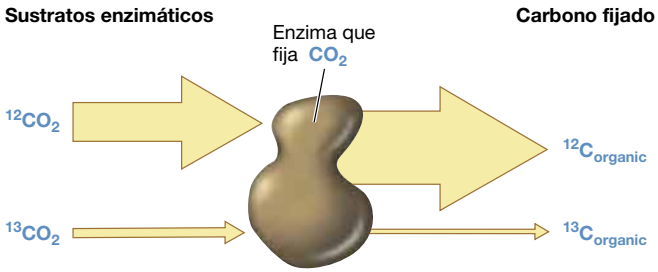


Figura 18.25 Mecanismo de fraccionamiento isotópico con carbono como ejemplo. Las enzimas fijadoras de CO_2 tienen preferencia por el isótopo ligero (^{12}C). Esto da lugar a que el carbono fijado esté enriquecido en ^{12}C y contenga poco ^{13}C en relación al CO_2 del sustrato. El tamaño de las flechas indica la abundancia relativa de cada isótopo de carbono.

porque las enzimas prefieren normalmente los isótopos *más ligeros*. Es decir, cuando ambos isótopos son metabolizados por una enzima, el más pesado es discriminado respecto al más ligero (Figura 18.25). Por ejemplo, cuando un organismo autótrofo fija CO_2 como material celular, el C celular *se enriquece* en ^{12}C y *se empobrece* en ^{13}C, respecto a un estándar de carbono inorgánico de composición isotópica conocida. De igual modo, el átomo de S en el H_2S producido por la reducción bacteriana del SO_4^{2-} es isotópicamente más ligero que el H_2S formado geoquímicamente. Esta discriminación recibe el nombre de **fraccionamiento isotópico** (Figura 18.25), y es el resultado de la actividad biológica. Por tanto, esta característica se puede usar para determinar si una transformación concreta ha sido catalizada por microorganismos o no.

El fraccionamiento isotópico del C en una muestra se calcula como el grado de empobrecimiento en ^{13}C respecto a un estándar con una composición isotópica de origen geológico. El estándar para el análisis isotópico de C son las rocas de una formación calcárea del Cretácico (con una antigüedad de entre 65 millones y 150 millones de años), el PDB (Pee Dee belemnite; el belemnite es un molusco fósil). Como la magnitud del fraccionamiento suele ser muy pequeña, el empobrecimiento se calcula como partes por mil (‰) y se escribe $\delta^{13}C$ (pronunciado delta C13) de una muestra, usando la fórmula siguiente:

$$\delta^{13}C = \frac{(^{13}C/^{12}C \text{ muestra}) - (^{13}C/^{12}C \text{ estándar})}{(^{13}C/^{12}C \text{ estándar})} \times 1.000\ ‰$$

La misma fórmula se emplea para calcular el fraccionamiento de los isótopos de S, en este caso usando el mineral sulfuro de hierro (FeS) del meteorito de CDM (Canyon Diablo meteorite; de origen claramente no biológico) como estándar:

$$\delta^{34}S = \frac{(^{34}S/^{32}S \text{ muestra}) - (^{34}S/^{32}S \text{ estándar})}{(^{34}S/^{32}S \text{ estándar})} \times 1.000\ ‰$$

Uso del fraccionamiento isotópico en ecología microbiana

La composición isotópica de un material puede revelar su pasado biológico o geológico. Por ejemplo, el material vegetal y el petróleo (que deriva también de material vegetal) tienen una composición isotópica similar (Figura 18.26). El carbono de las plantas y del petróleo es isotópicamente más ligero que el CO_2 del que se formó, porque la ruta bioquímica que se usó para fijar

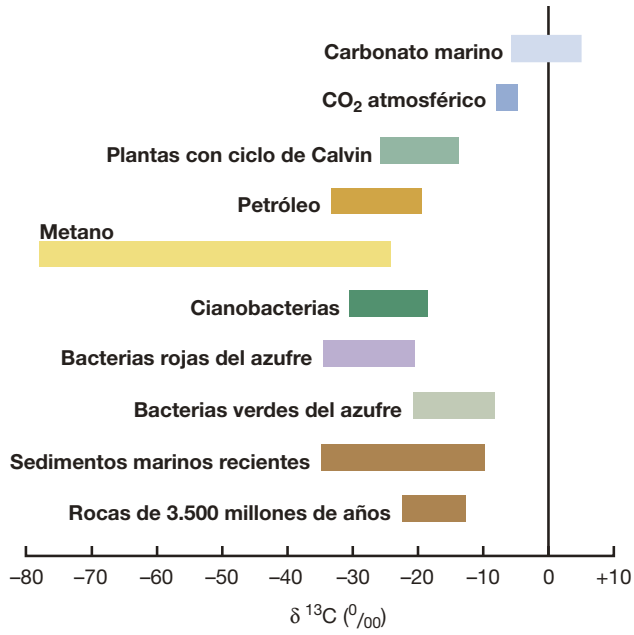


Figura 18.26 Geoquímica isotópica del ^{13}C y el ^{12}C. Obsérvese que el carbono fijado por los organismos autótrofos está enriquecido en ^{12}C y empobrecido en ^{13}C. El metano formado por reducción de CO_2 con H_2 por acción de las arqueas metanógenas presenta un fraccionamiento isotópico extremo.

el CO_2 discriminaba el ^{13}C (Figuras 18.25 y 18.26). Además, el metano (CH_4) producido por las arqueas metanógenas (↔ Sección 16.2) es isotópicamente ligerísimo, lo que indica que los metanógenos discriminan fuertemente el $^{13}CO_2$ cuando reducen el CO_2 a CH_4 (↔ Sección 13.20). Por el contrario, el carbono en los carbonatos marinos isotópicamente más pesados es claramente de origen geológico (Figura 18.26).

A causa de las diferencias en las proporciones de ^{12}C y ^{13}C entre el carbono de origen biológico y el geológico, se ha usado la relación $^{13}C/^{12}C$ de las rocas de edades diferentes como prueba a favor o en contra de la actividad biológica pasada en los ambientes ancestrales de la Tierra. En rocas de 3.500 millones de años, el carbono orgánico presenta pruebas de fraccionamiento isotópico (Figura 18.26), lo que apoya la idea de que en esa época existía la vida autótrofa. De hecho, en la actualidad se piensa que la primera vida en la Tierra apareció un poco antes, hace unos 3.800 millones o 3.900 millones de años (↔ Secciones 1.3 y 12.1).

La actividad de las bacterias reductoras de sulfato es fácil de reconocer a partir de su fraccionamiento de los isótopos estables de S en los sulfuros (Figura 18.27). Si lo comparamos con un sulfuro de hidrógeno estándar, el sulfuro de hidrógeno sedimentario está muy enriquecido con ^{32}S (y empobrecido en ^{34}S, Figura 18.27). El fraccionamiento durante la reducción del sulfato permite identificar el azufre producido biológicamente y se ha usado ampliamente para trazar las actividades de los procariotas del ciclo del azufre a lo largo del tiempo geológico. Los análisis de los isótopos del azufre también han servido como prueba de la ausencia de vida en la Luna. Por ejemplo, los datos de la Figura 18.27 muestran que la composición isotópica de los sulfuros en las rocas lunares se aproxima, en gran medida, a la del sulfuro de hidrógeno estándar, que representa la Tierra primordial, y difiere a la del sulfuro de hidrógeno microbiano.

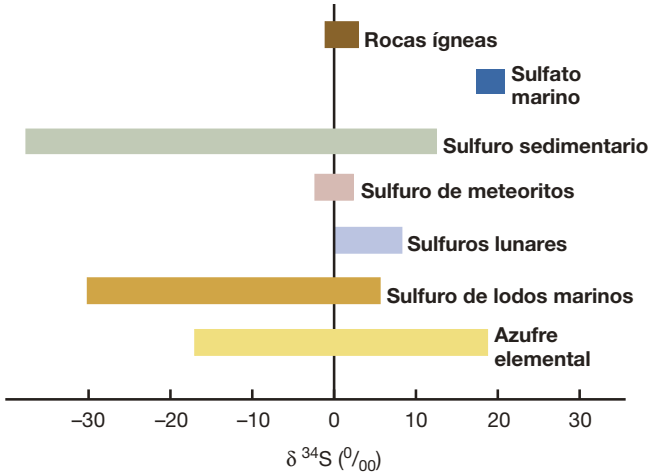


Figura 18.27 **Geoquímica isotópica del ^{34}S y el ^{32}S.** Obsérvese que el H_2S y el S^0 de origen biógeno están enriquecidos en ^{32}S y empobrecidos en ^{34}S.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cómo puede la composición $^{13}C/^{12}C$ de una sustancia revelar su origen biológico o geológico?
- ¿Cuál es la explicación más sencilla de que los sulfuros lunares sean isotópicamente similares a los de la Tierra primordial?
- ¿Qué composición isotópica de carbono se espera que tengan los metanótrofos (bacterias que consumen metano)?

18.10 Vínculo de genes y funciones con organismos específicos: SIMS, citometría de flujo y MAR-FISH

Los métodos isotópicos descritos hasta ahora emplean muestras que contienen gran cantidad de células para inferir que procesos específicos como la autotrofia o la reducción de sulfato ocurren en una comunidad. Estos métodos aportan una visión general de la actividad de la comunidad, pero no revelan la contribución de las células individuales. Para ello, se han desarrollado nuevos métodos isotópicos que pueden medir la actividad y la composición elemental e isotópica de las células individuales. Estas técnicas, acopladas con los métodos avanzados de secuenciación del DNA que pueden determinar una secuencia genómica a partir del DNA contenido en una sola célula (↻ Sección 6.10 y Explorando el mundo microbiano del Capítulo 6, «Genómica, una célula cada vez»), están actualmente a la vanguardia de la ecología microbiana.

Imágenes de la actividad metabólica de células individuales por espectrometría de masas de iones secundarios (SIMS)

La espectrometría de masas de iones secundarios (SIMS) se basa en la detección de iones liberados de una muestra situada en el blanco de un haz de iones primarios de alta energía, por ejemplo cesio (Cs^+); a partir de los datos generados se puede obtener la composición elemental e isotópica de los materiales liberados. Cuando el haz de iones primarios impacta con la muestra, la mayoría de los enlaces químicos se rompen y los átomos o fragmentos poliatómicos salen despedidos de una capa muy fina (de 1 a 2 nm) de la superficie ya sea como partículas neutras o cargadas (iones secundarios), en un proceso conocido como *desbastado*. Estos iones secundarios son dirigidos hacia un espectrómetro de masas, un instrumento que puede determinar su relación carga/masa.

Un instrumento nanoSIMS es un dispositivo SIMS diseñado para obtener información de células individuales. El instrumento está equipado con fuentes de haces primarios de Cs^+ y O_2 con una resolución de 50 nm para el haz del ion Cs^+, y de 200 nm para el haz de O_2. El haz de O_2 genera iones secundarios positivos y se usa para analizar metales (como Fe, Na, Mg), mientras que el haz de Cs^+ genera iones secundarios negativos para el análisis de elementos celulares mayoritarios (C, N, P, S, O, H) y halógenos. El instrumento nanoSIMS también registra en qué parte de la muestra incide el haz de iones, de manera que se obtiene una imagen bidimensional de la distribución de iones específicos en la superficie de la muestra. Además, enfocando el haz de iones al mismo punto durante ciclos repetidos de desbastado, el material puede ir quemándose lentamente para exponer regiones más profundas de la muestra. Este análisis con SIMS de alta resolución es el que da el nombre al término *NanoSIMS*. Los instrumentos nanoSIMS tienen varios detectores que ofrecen un análisis simultáneo de iones de relaciones masa/carga diferentes que se originan de la misma ubicación en la muestra (**Figura 18.28**).

Si se combina con FISH (Sección 18.4), la NanoSIMS se puede usar para rastrear la incorporación de diferentes elementos, isótopos naturales o sustratos marcados con isótopos en células individuales de poblaciones celulares específicas. Una aplicación inicial de la unión de estas dos tecnologías (FISH-SIMS) fue caracterizar la composición de isótopos de C en agregados estructurados de procariotas anaerobios oxidantes de metano. Una forma de oxidación anaerobia de metano extendida en los sedimentos marinos es el resultado de una asociación sintrófica entre *Bacteria* reductoras de sulfato y *Archaea* oxidadoras de metano (metanótrofas), que forman agregados en los que los reductores de sulfato acoplados metabólicamente rodean un interior de metanótrofos arqueanos (↻ Secciones 13.15, 13.24 y 20.1). Como el metano biógeno es muy pobre en ^{13}C, la tecnología NanoSIMS se puede usar para confirmar la incorporación del carbono más ligero (^{12}C) del metano en los metanótrofos arqueanos.

Una variante del método FISH-SIMS que simplifica en gran medida la identificación de las células escaneadas por NanoSIMS usa la deposición de un haluro (Br, F, I) a través de una sonda, ya sea por incorporación directa del haluro en una sonda oligonucleotídica (SIMS-hibridación *in situ* o SIMSISH) o usando un sustrato de tiramida que contenga un haluro (véase CARD-FISH, Sección 18.4). Este método se conoce como «FISH elemental» (EL-FISH) y también como «hibridación *in situ* con halógenos-SIMS» (HISH-SIMS). Los halógenos poseen un alto grado de ionización comparados con otros elementos, de modo que son fáciles de detectar, y son poco abundantes en la naturaleza. Por tanto, uno de los detectores NanoSIMS se ocupa de identificar células con las que haya hibridado la sonda

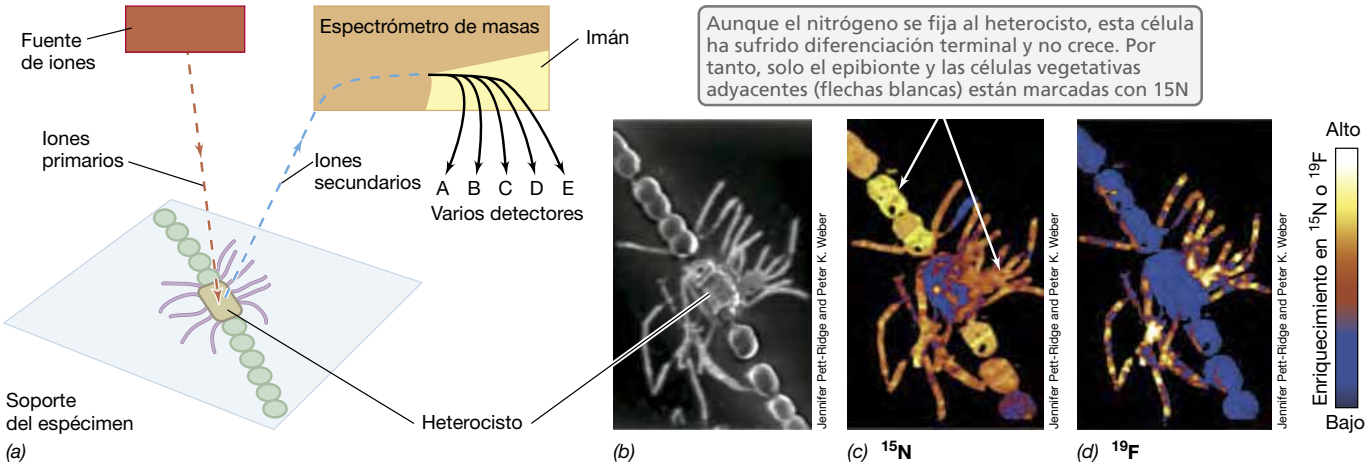


Figura 18.28 **Tecnología NanoSIMS.** *(a)* Esquema de un ensayo con NanoSIMS donde se muestran los haces de los iones primarios (rojo) y secundarios (azul) y cinco detectores diferentes, cada uno de los cuales identifica iones con una relación masa/carga diferente. *(b-d)* Demostración de la transferencia interespecífica de nutrientes entre una cianobacteria filamentosa (*Anabaena*) y una especie de *Rhizobium* unida al heterocisto cianobacteriano. El cocultivo se incubó con $^{15}N_2$ y la transferencia de compuestos marcados con ^{15}N de *Anabaena* a *Rhizobium* se captó en imágenes mediante la combinación de EL-FISH y NanoSIMS. *(b)* Abundancia de ^{12}C total. *(c)* Enriquecimiento en ^{15}N. *(d)* Abundancia de ^{19}F aportada por una sonda que hibrida solamente con las células de *Rhizobium* unidas (EL-FISH).

(Figura 18.28*d*) por ionización del halógeno, mientras que los detectores restantes se usan para determinar la composición elemental (Figura 18.28*c*).

La tecnología NanoSIMS tiene una resolución espacial excelente, razón por la cual se está usando cada vez más para examinar la transferencia de metabolitos entre células individuales de microorganismos que interaccionan entre sí. Por ejemplo, se utilizó el marcaje con $^{15}N_2$ seguido de NanoSIMS para demostrar la transferencia de N_2 fijado por arqueas metanótrofas a las bacterias reductoras de sulfato de alrededor en los agregados mencionados y para demostrar la transferencia de N_2 fijado por cianobacterias filamentosas a bacterias heterótrofas adheridas (Figura 18.28). También se ha usado el marcaje con $^{15}NH_4$ y CO_2 o sustratos orgánicos marcados con ^{13}C para explorar la asimilación de nutrientes fundamentales y la transferencia de metabolitos entre especies microbianas en ambientes tanto acuáticos como terrestres.

Citometría de flujo y análisis multiparamétricos

A causa del enorme tamaño de las poblaciones en las comunidades microbianas naturales, que normalmente superan con mucho las 10^6 células por mililitro de agua o por gramo de suelo, los métodos basados en la microscopía solo pueden abarcar una parte muy pequeña de la comunidad. Si bien los programas de análisis con técnicas de imagen pueden ayudar a automatizar el proceso, la mayor parte de los análisis microscópicos siguen realizándose a vista. Resulta especialmente difícil determinar cantidades de células contándolas bajo el microscopio, y este problema se agrava si las poblaciones son pequeñas. No obstante, una técnica llamada citometría de flujo nos ofrece una alternativa a los laboriosos métodos microscópicos. Los citómetros de flujo pueden examinar parámetros celulares específicos como el tamaño, la forma o las propiedades fluorescentes a medida que las células pasan a través de un detector a velocidades de muchos miles de células por segundo (**Figura 18.29**). La fluorescencia puede ser intrínseca (por ejemplo, fluorescencia

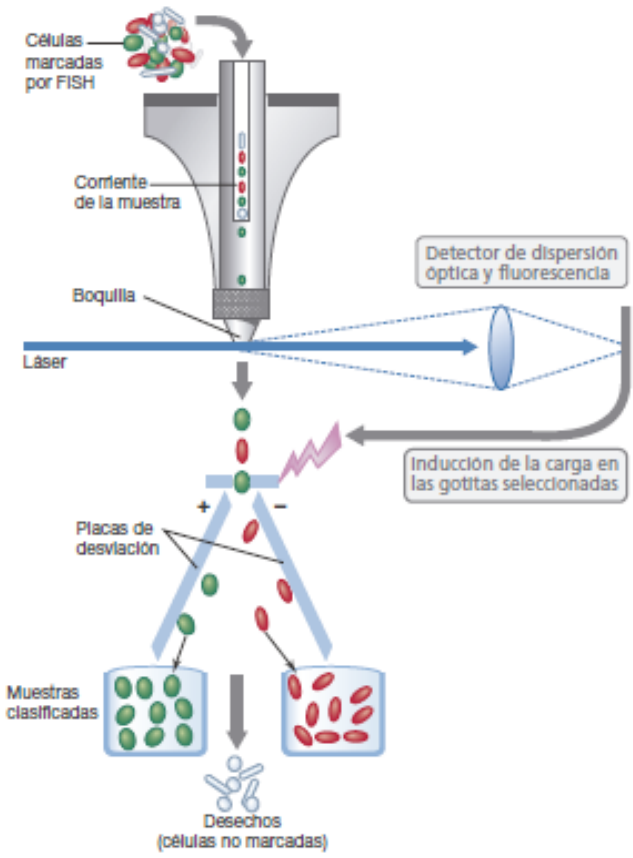


Figura 18.29 **Clasificación celular mediante citometría de flujo.** A medida que la corriente de fluido sale de la boquilla, se escinde en gotitas que contienen no más de una sola célula. Las gotitas que contienen los tipos de células de interés (detectados por fluorescencia o dispersión óptica) se cargan y recogen redirigiéndolas a tubos de muestra a través de placas de desviación cargadas positiva o negativamente.

UNIDAD 4

de la clorofila de microorganismos fotótrofos) o aportada por la tinción del DNA, por tinción diferencial de células vivas frente a células muertas (tinción de viables) o por sondas de DNA fluorescentes (FISH), todos ellos métodos analizados en este capítulo. Una gran ventaja de la citometría de flujo es la posibilidad de llevar a cabo *análisis multiparamétricos*, es decir, la capacidad para combinar varios parámetros en el análisis de una muestra biológica o para encontrar una población específica. Un ejemplo destacable de esto es el descubrimiento, a finales de los ochenta, de una comunidad nueva y abundante de cianobacterias marinas, todas ellas especies del género *Prochlorococcus*. Las células de *Prochlorococcus* son más pequeñas que las de *Synechococcus*, otra cianobacteria marina habitual, y tienen propiedades fluorescentes distintas. La citometría de flujo resolvió estas dos poblaciones por diferencias en el tamaño y en la fluorescencia, y seguidamente se observó que *Prochlorococcus* era el fotótrofo oxigénico predominante en las aguas oceánicas entre los 40 °S y los 40 °N de latitud, alcanzando concentraciones de más de 10^5 células/ml. Basándose en este descubrimiento podemos afirmar que *Prochlorococcus* es el organismo fotótrofo más abundante de la Tierra. Hablamos con más detalle de la biología de *Prochlorococcus* en la Sección 19.10 y en la Figura 18.19.

Radioisótopos en combinación con FISH: microautorradiografía-FISH

Los radioisótopos se usan para medir la actividad microbiana en una técnica microscópica llamada **microautorradiografía (MAR)**. En este método, las células de una comunidad microbiana se exponen a un sustrato que contiene un radioisótopo, como un compuesto orgánico o CO_2. Los heterótrofos captan los compuestos orgánicos radiactivos, y los autótrofos toman el CO_2 radiactivo. Tras la incubación en el sustrato, las células se fijan a un portaobjetos y este se sumerge en emulsión fotográfica. Después se deja en oscuridad durante un tiempo y la desintegración radiactiva procedente del sustrato incorporado induce la formación de granos de plata en la emulsión; estos granos se muestran como puntos negros por encima y alrededor de las células. En la **Figura 18.30*a*** se muestra un experimento de MAR en el que una célula autótrofa ha captado $^{14}CO_2$.

La microautorradiografía se puede realizar simultáneamente con FISH (Sección 18.4) en la técnica **MAR-FISH**, muy eficaz, que combina la identificación con la medición de actividad. La MAR-FISH permite a los ecólogos microbianos determinar (por MAR) qué organismos de una muestra natural están metabolizando una sustancia concreta marcada radiactivamente, al mismo tiempo que se identifican dichos organismos (por FISH) (Figura 18.30). De este modo, la MAR-FISH va un paso más allá en la identificación filogenética al revelar información fisiológica de los organismos, como también hace la NanoSIMS. Estos datos son útiles no solo para entender la actividad del ecosistema microbiano, sino también como orientación para preparar los cultivos de enriquecimiento. Por ejemplo, saber la filogenia y la morfología de un organismo que metaboliza un sustrato concreto en una muestra natural puede servir para diseñar un protocolo de enriquecimiento con el que aislar el organismo. Además, los resultados de MAR-FISH se pueden cuantificar contando los granos de plata como medida de la cantidad de sustrato consumido por las células individuales, lo que permite describir la distribución de la actividad en una comunidad. La única limitación de esta técnica es la disponibilidad de isótopos radiactivos adecuados. Por ejemplo, aunque los sustratos marcados en el carbono funcionan bien, no es posible rastrear la incorporación de nitrógeno usando MAR-FISH porque el isótopo radiactivo ^{13}N tiene una semivida muy corta. No obstante, se puede rastrear la incorporación de nitrógeno usando el ^{15}N no radiactivo con NanoSIMS, como ya hemos visto (Figura 18.28).

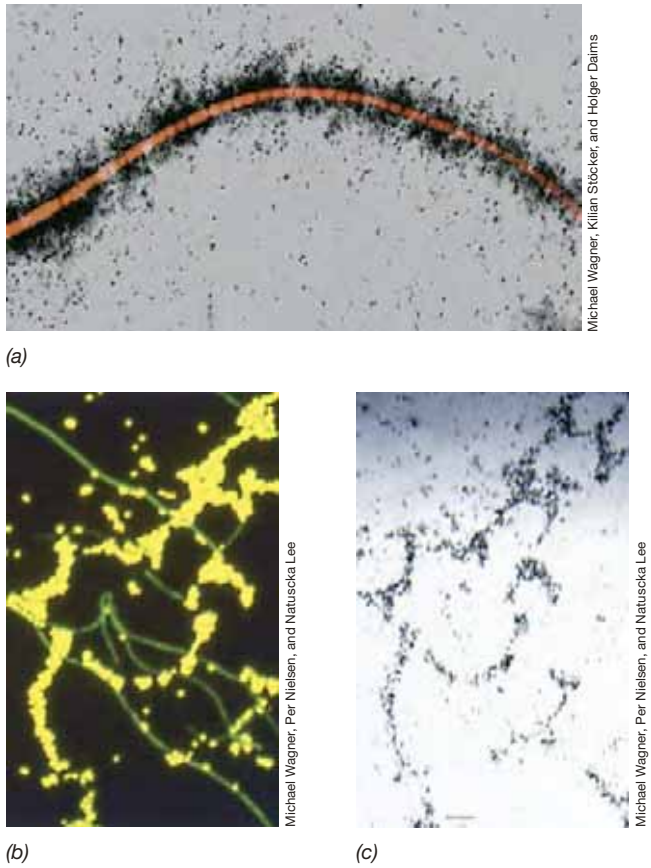


Figura 18.30 **MAR-FISH.** Hibridación fluorescente *in situ* (FISH) combinada con microautorradiografía (MAR). *(a)* Célula filamentosa sin cultivar perteneciente a las gammaproteobacterias (como indica la FISH) que resulta ser autótrofa (como indica la captación de $^{14}CO_2$ medida por MAR). *(b)* Captación de ^{14}C-glucosa por parte de un cultivo mixto de *Escherichia coli* (células amarillas) y *Herpetosiphon auranticus* (células verdes filamentosas). *(c)* MAR del mismo campo de células de la parte *b*. La radiactividad incorporada expone la película y muestra que la glucosa ha sido asimilada principalmente por las células de *E. coli*.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cómo se puede usar el NanoSIMS para identificar una bacteria fijadora de nitrógeno?
- ¿Cuáles son las ventajas y desventajas de la citometría de flujo respecto de la microscopía para caracterizar una comunidad microbiana?
- Cómo relaciona la MAR-FISH la diversidad microbiana y la actividad?

18.11 Vínculo de genes y funciones con organismos específicos: sondeo de isótopos estables y genómica de células individuales

En la sección anterior hemos visto que la combinación de FISH con MAR o de FISH con NanoSIMS permite realizar análisis combinados de diversidad y actividad microbiana. Se trata de métodos eficaces para conectar poblaciones microbianas específicas con una actividad o un nicho ecológico concreto, pero en ambos casos hay que conocer la filogenia de los organismos para poder desarrollar la sonda FISH (Sección 18.4). Un método alternativo de acoplar la diversidad a la actividad es el **sondeo con isótopos estables (SIP)**, un método que usa isótopos estables como ^{13}C o ^{15}N, o incluso ^{18}O para marcar el DNA de organismos en una comunidad. Además del SIP, las mejoras en la tecnología de secuenciación del DNA permiten aplicar la genómica a células individuales obtenidas del ambiente. A continuación analizaremos la eficacia de ambos métodos.

Sondeo con isótopos estables

¿En qué consiste un experimento de SIP? Supongamos que el objetivo de un proyecto de investigación es caracterizar organismos capaces de catabolizar compuestos aromáticos en los sedimentos de un lago. Con benzoato como compuesto aromático modelo, añadimos benzoato enriquecido con ^{13}C a una muestra de sedimento e incubamos durante el tiempo necesario; a continuación extraemos el DNA total de la muestra (**Figura 18.31**). Como se observa en la Figura 18.13, este DNA procede de *todos* los organismos de la comunidad microbiana. No obstante, los organismos que incorporen ^{13}C-benzoato sintetizarán DNA que contenga ^{13}C. El ^{13}C-DNA es más pesado que el ^{12}C-DNA, si bien solo ligeramente, pero la diferencia es suficiente para separarlos mediante una técnica especial de centrifugación (Figura 18.31). Una vez que se ha aislado el ^{13}C-DNA, se puede analizar usando diversas técnicas genómicas para los genes de interés.

Si el objetivo del estudio con benzoato fuera caracterizar la filogenia de los organismos que lo catabolizan, se podría utilizar la amplificación por PCR y el análisis de los genes de rRNA 16S en el ^{13}C-DNA (Figuras 18.13 y 18.14). No obstante, además de los análisis filogenéticos, una vez obtenido el ^{13}C-DNA se pueden buscar los genes funcionales. Así por ejemplo, se ha empleado el SIP en estudios de filogenia y metabolismo en metilótrofos, organismos especializados en el catabolismo de compuestos C_1 (↻ Sección 13.23) en entornos naturales. En estos estudios se usó metano ($^{13}CH_4$) o metanol ($^{13}CH_3OH$) marcado para marcar el DNA de los metilótrofos, seguido de amplificación por PCR de genes de rRNA 16S y genes que codifican funciones específicas de oxidación de metano (Tabla 18.3) a partir del ^{13}C-DNA. También es posible analizar el genoma completo usando el SIP. Por ejemplo, en un segundo estudio con metilótrofos se usó SIP combinado con análisis metagenómicos (Sección 18.7), y los resultados señalaban a un metilótrofo previamente desconocido como la especie fundamental para el catabolismo de compuestos C_1 en ese entorno concreto.

También se puede realizar SIP con N marcado. En este caso, el isótopo pesado de N, ^{15}N, compite con el isótopo más abundante y ligero, el ^{14}N. Para estudiar la fijación de nitrógeno, por ejemplo, se suministra $^{15}N_2$ a una muestra, y los organismos que pueden fijar N_2 (↻ Sección 3.17) incorporarán $^{15}N_2$. Parte del $^{15}N_2$ terminará en el DNA del organismo, que será entonces isotópicamente «pesado»; este DNA se puede separar del que es isotópicamente más ligero (^{14}N-DNA) por ultracentrifugación (Figura 18.31) y analizarse en busca de genes específicos.

Genómica de células individuales

Un gran escollo en el método de recuperación de genes basado en PCR es la necesidad de identificar antes del análisis un gen específico que reaccione con los cebadores usados en la amplificación. En la actualidad se están desarrollando métodos novedosos de amplificación de DNA que ofrecen una alternativa para asociar genes específicos con un organismo concreto sin los problemas y los errores asociados con la PCR. Estos métodos hacen uso de la *genómica de células individuales* (↻ Sección 6.10 y Explorando el mundo microbiano del Capítulo 6, «Genómica, una célula a la vez»), una de las herramientas más

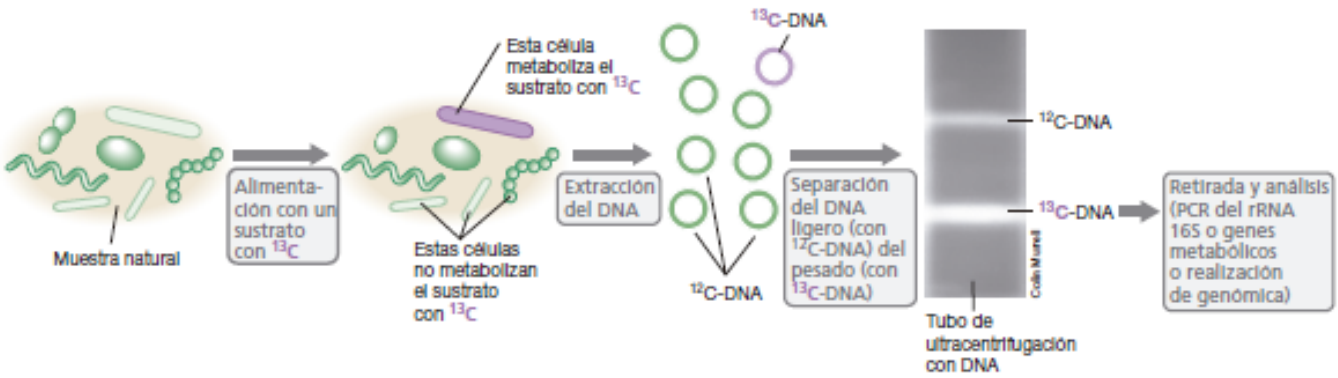


Figura 18.31 **Sondeo con isótopos estables.** La comunidad microbiana de una muestra natural se alimenta con un sustrato marcado con ^{13}C. Los organismos que lo metabolizan producirán un ^{13}C-DNA a medida que crecen y se dividen, que se puede separar del DNA más ligero (con ^{12}C) mediante centrifugación en gradiente de densidad (fotografía). Al DNA aislado se le analiza un gen concreto o todo el genoma.

UNIDAD 4

recientes del ecólogo microbiano. La **amplificación por desplazamiento múltiple (MDA)** (Figura 18.32) es fundamental para la genómica de células individuales, y se usa para amplificar DNA cromosómico a partir de una sola célula aislada de un entorno natural mediante una técnica de clasificación de células como la citometría de flujo (Figura 18.29).

La MDA utiliza una DNA-polimerasa de un bacteriófago específico para iniciar la replicación del DNA celular en puntos aleatorios del cromosoma, desplazando la cadena complementaria a medida que cada molécula de polimerasa sintetiza nuevo DNA. Esta polimerasa tiene una fuerte actividad de desplazamiento de cadena, lo que provoca la síntesis de numerosos productos de DNA de alto peso molecular. El número de copias del genoma por amplificación es suficiente para determinar la secuencia completa o casi completa del genoma mediante plataformas de secuenciación de última generación. De este modo se pueden inferir tanto la filogenética como las funciones metabólicas a partir de la secuencia genómica sin necesidad de PCR.

La MDA requiere un control estricto de la pureza para eliminar DNA contaminante, pero cuando se combina con métodos de secuenciación de DNA de alto rendimiento supone una herramienta muy eficaz para vincular funciones metabólicas específicas con células individuales que nunca se han cultivado en laboratorio. A continuación se puede usar la información sobre las capacidades metabólicas de estos organismos no cultivados para desarrollar estrategias con las que recuperarlos mediante cultivos de enriquecimiento y conseguir que crezcan en el laboratorio.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cómo se puede identificar un organismo que lleva a cabo un proceso concreto mediante el sondeo con isótopos estables?
- ¿Qué método fundamental es necesario para aplicar la genómica en células individuales?
- Si una bacteria fijadora de nitrógeno crece en presencia de $^{15}N_2$, ¿su DNA será más pesado o más ligero que el de una bacteria que no fije nitrógeno?

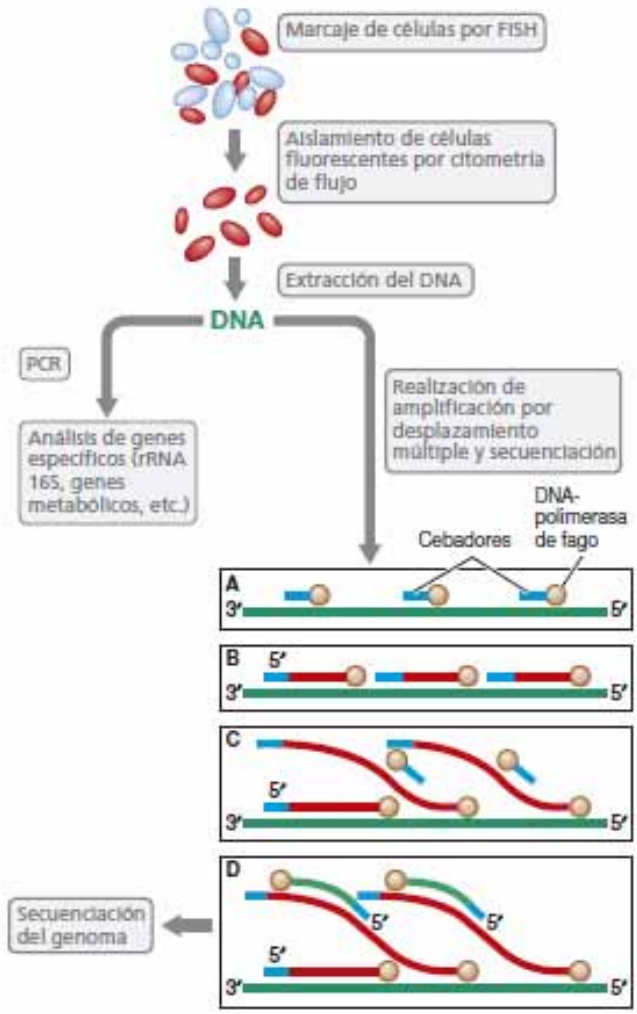


Figura 18.32 Análisis genético de células clasificadas. Se recupera el DNA de una población específica de células tras el marcaje por FISH y la clasificación por citometría de flujo (Figura 18.29). El DNA se caracteriza por amplificación por PCR y secuenciación de genes específicos, o por amplificación de todo el genoma por MDA seguida de secuenciación. Para la MDA se produce una cantidad de DNA suficiente para determinar la secuencia de todo el genoma usando DNA cortos de secuencia aleatoria como cebadores (A) para iniciar la replicación del genoma por acción de una DNA-polimerasa de bacteriófago. La polimerasa del bacteriófago copia el DNA desde diversos puntos del genoma y también desplaza el DNA recién sintetizado (B, C) liberando el DNA adicional para la hibridación de los cebadores y (D) el inicio de la polimerización.

IDEAS PRINCIPALES

18.1 • La técnica del cultivo de enriquecimiento es un medio para obtener microorganismos a partir de muestras naturales. El enriquecimiento y el aislamiento demuestran que un organismo de un tipo metabólico concreto estaba presente en la muestra, pero no indican su importancia o abundancia ecológica.

18.2 • Una vez que se ha establecido con éxito un cultivo de enriquecimiento, a menudo se pueden obtener cultivos axénicos por procedimientos microbiológicos convencionales, como la siembra por estrías, la dilución en agar y la dilución en líquido. Las pinzas láser y la citometría de flujo permiten aislar una célula del campo de un microscopio y separarla de los contaminantes.

18.3 • El DAPI, el naranja de acridina y el SYBR Verde son colorantes generales para cuantificar microorganismos en muestras naturales. Algunos colorantes permiten

diferenciar células vivas de células muertas. El GFP hace que las células sean autofluorescentes y permite rastrear células introducidas en el ambiente y determinar la expresión génica. En las muestras naturales, las células morfológicamente idénticas pueden ser genéticamente diferentes.

18.4 • Los métodos FISH combinan la eficacia de las sondas de ácidos nucleicos con los tintes fluorescentes, de manera que realizan tinciones muy específicas. Los métodos FISH incluyen tinciones filogenéticas y CARD-FISH.

18.5 • La PCR se puede usar para amplificar genes diana específicos como los genes de rRNA o genes metabólicos fundamentales. La DGGE puede identificar las diferentes variantes de estos genes presentes en diferentes especies de una comunidad.

18.6 • Los filochips combinan las micromatrices y las técnicas filogenéticas y se usan para buscar grupos específicos de procariotas en comunidades microbianas.

18.7 • La genómica ambiental (metagenómica) está basada en la clonación, la secuenciación y el análisis de genomas colectivos de los organismos presentes en una comunidad microbiana. La metatranscriptómica y la metaproteómica son derivaciones de la metagenómica centradas en el mRNA y las proteínas, respectivamente.

18.8 • La actividad de los microorganismos en las muestras naturales se puede determinar con mucha sensibilidad usando radioisótopos, microsensores o ambas cosas. Las medidas obtenidas nos dan la actividad neta de la comunidad microbiana.

18.9 • La composición isotópica nos puede revelar el origen biológico y los mecanismos bioquímicos implicados en la formación de diversas sustancias. El fraccionamiento isotópico es el resultado de la actividad de las enzimas que discriminan a favor de la forma más ligera de un elemento cuando se unen a sus sustratos.

18.10 • Diversas tecnologías avanzadas como la NanoSIMS y la MAR-FISH posibilitan el examen de la actividad metabólica, el contenido genético y la expresión génica en comunidades microbianas naturales. La NanoSIMS emplea la espectrometría de masas de iones secundarios mientras que la MAR-FISH combina la captación de sustancias marcadas radiactivamente (MAR) con la identificación filogenética (FISH).

18.11 • El SIP emplea sustratos marcados con isótopos pesados para generar DNA «pesado» que se puede separar del resto (DNA «ligero»). Los análisis genómicos del DNA pesado permiten vincular procesos con organismos específicos. La genómica de células individuales incorpora métodos para analizar el genoma de células individuales aislado de una comunidad microbiana natural.

MasteringMicrobiology®

Revise lo que sabe y descubra lo que ha aprendido con MasteringMicrobiology. Acceda a material de estudio, revisiones de los capítulos, animaciones y tutoriales de microbiología práctica en el Área de Estudio y asegúrese de que ha asimilado todo el contenido de este capítulo.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Amplificación por desplazamiento múltiple (MDA): método para generar varias copias de un DNA cromosómico a partir de un solo organismo.
Citometría de flujo: técnica para contar y examinar partículas microscópicas suspendiéndolas en una corriente de fluido y haciéndolas pasar por un dispositivo de detección electrónico.
Columna de Winogradsky: columna de vidrio compactada con lodo y cubierta con agua para imitar un medio acuático en el que se desarrollan diversas bacterias durante unos meses.
Cultivo de enriquecimiento: método de cultivo altamente selectivo para obtener microorganismos a partir de muestras naturales.
DAPI: colorante fluorescente inespecífico que tiñe el DNA de las células microbianas; se usa para obtener el número total de células en una muestra natural.
Ecología microbiana: estudio de la interacción de los microorganismos entre sí y con el entorno.
Electroforesis de gel en gradiente desnaturalizante (CGGE): técnica electroforética que separa fragmentos de ácidos nucleicos del mismo tamaño en función de su secuencia nucleotídica.
Filotipo: uno o más organismos con la misma secuencia o secuencias relacionadas de un gen marcador filogenético.
Fraccionamiento isotópico: discriminación por parte de las enzimas en contra de los más pesados de entre todos los isótopos del carbono o el azufre, y que conlleva el enriquecimiento de los isótopos más ligeros.
Genómica ambiental (metagenómica): uso de los métodos de la genómica (secuenciación y análisis de genomas) para caracterizar comunidades microbianas naturales.
Hibridación fluorescente *in situ* (FISH): método que emplea un colorante fluorescente unido covalentemente a una sonda específica de ácido nucleico para identificar o rastrear organismos en el ambiente.
MAR-FISH: técnica que combina la identificación de los microorganismos con la medición de la actividad metabólica.
Metaproteómica: medición de la expresión de proteínas de toda una comunidad usando la espectrometría

de masas para asignar péptidos a las secuencias de aminoácidos codificadas por genes concretos.

Metatranscriptómica: medición de la expresión génica de toda una comunidad usando la secuenciación de RNA.

Microautorradiografía (MAR): medición de la captación de sustratos radiactivos mediante la observación visual de las células en una emulsión fotográfica expuesta.

Microsensor: pequeño sensor o electrodo de vidrio para medir el pH o compuestos específicos como oxígeno, sulfuro de hidrógeno o nitrato introduciéndolo en un hábitat microbiano a intervalos en una escala micrométrica.

Naranja de acridina: colorante fluorescente inespecífico que se usa para teñir el DNA de las células microbianas en una muestra natural.

Nicho efectivo: variedad de entornos naturales que sustentan una especie cuando el organismo se enfrenta a factores como el límite de los recursos, la depredación y la competencia con otras especies.

Nicho fundamental: variedad de ambientes en los que una especie puede subsistir cuando no tiene los recursos limitados, como puede resultar de la competencia con otras especies.

Pinzas de láser: dispositivo para obtener cultivos axénicos atrapando ópticamente una célula individual con un haz de láser y separándola de las células circundantes hacia un medio de crecimiento estéril.

Proteína fluorescente: cualquiera de un gran grupo de proteínas que emiten fluorescencia de diferentes colores, incluida la proteína fluorescente verde, para rastrear organismos modificados genéticamente y determinar las condiciones que inducen la expresión de genes específicos.

Sesgo de enriquecimiento: problema de los cultivos de enriquecimiento en el que las especies no deseables tienden a dominar el enriquecimiento, a menudo con la consiguiente exclusión de los organismos más abundantes o ecológicamente significativos del inóculo.

Sonda de ácido nucleico: oligonucleótido, normalmente de entre diez y veinte pares de bases de longitud de secuencia complementaria con la secuencia de un ácido nucleico en un gen o un RNA diana.

Sondeo con isótopos estables (SIP): método de caracterización de un organismo que incorpora un sustrato concreto que consiste en suministrarle el sustrato marcado con ^{13}C o ^{15}N y aislar el DNA enriquecido con el isótopo pesado para analizar los genes.

Técnica del número más probable (NMP): dilución en serie de una muestra natural para determinar la mayor dilución que permite el crecimiento.

PREGUNTAS DE REPASO

1. ¿Cuál es la base de la técnica del cultivo de enriquecimiento? ¿Por qué un medio de enriquecimiento suele ser adecuado para el enriquecimiento de solo un grupo determinado de organismos? (Sección 18.1)
2. Explique el principio de la columna de Winogradsky y qué tipos de organismos se pueden enriquecer con ella. ¿Cómo se puede usar una columna de Winogradsky para enriquecer organismos presentes en un ambiente extremo, como un tapete microbiano de una fuente termal? (Sección 18.1)
3. Describa el principio del NMP para contar bacterias de una muestra natural. (Sección 18.2)
4. ¿Por qué las pinzas de láser son un método mejor que la dilución y el enriquecimiento en líquido para obtener un organismo presente en una muestra en baja concentración? (Sección 18.2)
5. ¿Qué es una GFP? ¿En qué se diferencia una célula fluorescente verde de una célula fluorescente por tinción filogenética, por ejemplo? (Secciones 18.3 y 18.4)
6. Compare el uso del FISH con el de los filochips para contar células microbianas en un medio natural. ¿Qué ventajas y limitaciones tiene cada uno de estos métodos? (Secciones 18.3 y 18.6)
7. En ecología microbiana, ¿pueden las sondas de ácidos nucleicos ser tan sensibles como los métodos de cultivo? ¿Qué ventajas tienen los métodos con ácidos nucleicos respecto de los métodos de cultivo? ¿Y qué desventajas? (Secciones 18.4 y 18.6)
8. ¿Cómo se puede obtener un retrato filogenético de una comunidad microbiana sin cultivar a sus habitantes? (Sección 18.5)
9. Después de la amplificación por PCR del DNA de toda una comunidad usando un conjunto de cebadores específicos, ¿por qué es necesario clonar o correr una DGGE de los productos antes de secuenciarlos? (Sección 18.5)
10. ¿Por qué una micromatriz no es adecuada para caracterizar la transcripción de toda una comunidad? (Secciones 18.6 y 18.7)
11. Dé un ejemplo del descubrimiento de un metabolismo conocido en un organismo nuevo gracias a la genómica ambiental. (Sección 18.7)
12. ¿Por qué la proteómica ambiental está limitada por la abundancia natural de las poblaciones microbianas, mientras que la genómica ambiental y la metatranscriptómica no lo están? (Sección 18.7)
13. ¿Cuáles son las ventajas principales de los métodos radioisotópicos en el estudio de la ecología microbiana? ¿Qué tipo de controles (discútanse al menos dos) se deberían incluir en un ensayo radioisotópico para demostrar la incorporación de $^{14}CO_2$ por parte de las bacterias fotótrofas, o la reducción de $^{35}SO_4^{2-}$ por las bacterias reductoras de sulfato? (Sección 18.8)
14. Los organismos autótrofos ¿contendrán más o menos ^{12}C en sus compuestos orgánicos que el que había en el CO_2 del que se alimentan? (Sección 18.9)
15. ¿Qué información puede darnos la MAR-FISH que la FISH por sí sola no nos da? (Sección 18.10)
16. ¿Cuál es la ventaja de tener varios detectores en un instrumento de NanoSIMS? (Sección 18.10)
17. ¿Cómo podemos combinar el SIP y la NanoSIMS para identificar un nuevo tipo de células consumidoras de metano en una comunidad natural? (Secciones 18.10 y 18.11)

EJERCICIOS PRÁCTICOS

1. Diseñe un experimento para medir la actividad de las bacterias oxidantes de azufre en el suelo. Si solo determinadas especies de los oxidantes de azufre presentes fueran metabólicamente activas, ¿cómo podríamos averiguarlo? ¿Cómo demostraría que las medidas de actividad se deben a la actividad biológica?
2. Desea saber si existen arqueas en una muestra de agua de un lago, pero no consigue cultivarlas. Con las técnicas descritas en este capítulo, ¿cómo podría determinar si hay arqueas en la muestra, y si es así, qué proporción de las células del lago son arqueas?
3. Diseñe un experimento para resolver el problema siguiente: determinar la tasa de metanogenia ($CO_2 + 4\ H_2 \rightarrow CH_4 + 2\ H_2O$) en los sedimentos de un lago anóxico y decir si existe o no limitación de H_2. Determinar también la morfología del metanógeno dominante (recuerde que son arqueas, Sección 16.2). Por último, calcular qué porcentaje del total de la población arqueana y del total de la población procariótica representa el metanógeno dominante en los sedimentos. Recuerde especificar los controles necesarios.
4. Diseñe un experimento de SIP en el que se determine qué organismos de una muestra de agua de un lago son capaces de oxidar hexano (C_6H_{14}). Suponga que cuatro especies diferentes pueden hacerlo. ¿Cómo combinaría el SIP con otros análisis moleculares para identificarlas?

CAPÍTULO

19 · Ecosistemas microbianos

microbiología **actual**

La vida en un mundo de limitaciones extremas de energía

Los sedimentos marinos anóxicos fríos son el mayor sumidero de carbono de la Tierra y uno de los principales hábitats microbianos, con una cantidad estimada de 3×10^{29} células, similar al número de células microbianas totales en el agua del mar.

La materia orgánica entra en los sedimentos cuando las células y las partículas orgánicas descienden por la columna de agua. Los componentes que se degradan fácilmente son eliminados en procesos microbianos en la columna de agua o en los sedimentos superficiales, y lo que queda es un conjunto diluido de materia orgánica profundamente sepultada que no es fácil de degradar. Debido a la mala calidad de los nutrientes, la mayor parte de la comunidad microbiana que vive en los sedimentos profundos existe en un estado de movimiento metabólico lento en el que las poblaciones se duplican de cada cien a cada mil años.

En *Archaea* son abundantes en este ambiente carente de energía, y se cree que están mejor adaptadas que *Bacteria* a la limitación de energía[1]. No obstante, como las principales poblaciones que viven en los sedimentos también representan linajes arqueanos nuevos que aún no han sido cultivados, solo recientemente se ha empezado a explorar su fisiología gracias a la aplicación de técnicas moleculares y analíticas adecuadas para el análisis de células individuales.

A partir de células individuales de *Archaea* obtenidas de los sedimentos recogidos de las capas profundas del lecho marino (foto) se han determinado algunas secuencias genómicas parciales. Los análisis genómicos han confirmado su filiación con los grupos arqueanos nuevos y han revelado su capacidad fisiológica para degradar y asimilar proteínas. Así, aparentemente estos organismos están especializados en la degradación y asimilación de proteínas enterradas por la sedimentación o liberadas cuando mueren otros microorganismos de los sedimentos.

Puesto que los microorganismos de los sedimentos controlan en gran medida el destino del carbono en este inmenso reservorio de materia orgánica del subsuelo, el descubrimiento de estos comedores arqueanos de proteínas que viven en el límite termodinámico de la vida abre ante los ecólogos microbianos nuevas perspectivas sobre el ciclo del carbono en los sedimentos marinos.

[1]Lloyd, K.G., *et al.* 2013. Predominant archaea in marine sediments degrade detrital proteins. *Nature 496*: 215-218.



I Ecología microbiana 644
II El ambiente microbiano 646
III Ambientes terrestres 654
IV Ambientes acuáticos 660

Los microorganismos no viven solos en la naturaleza, sino que interaccionan con otros organismos y con su ambiente. De esta manera, llevan a cabo muchas actividades esenciales que sustentan la vida en la Tierra. En este capítulo exploraremos algunos de los hábitats principales de los microorganismos: el suelo, el agua dulce y los océanos. Además, los microorganismos también han establecido asociaciones más específicas y a menudo íntimas con las plantas y los animales. Examinaremos algunos ejemplos de estas asociaciones y simbiosis microbianas en el Capítulo 22.

I • Ecología microbiana

Empezaremos con una amplia visión general de la ciencia de la ecología microbiana en la que estudiaremos, entre otros aspectos, las formas de interacción de los microorganismos entre sí y con su ambiente y la diferencia entre *diversidad* de especies y *abundancia* de especies. Estos conceptos ecológicos básicos estarán presentes en este capítulo y en los dos siguientes.

19.1 Conceptos generales de ecología

La distribución de los microorganismos en la naturaleza se parece a la de los macroorganismos en el sentido que una especie determinada reside en ciertos espacios, pero no en otros; es decir, no todo está en todos los sitios. Además, los ambientes difieren en su capacidad para sustentar poblaciones microbianas diversas. Examinaremos estos conceptos a continuación.

Ecosistemas y hábitats

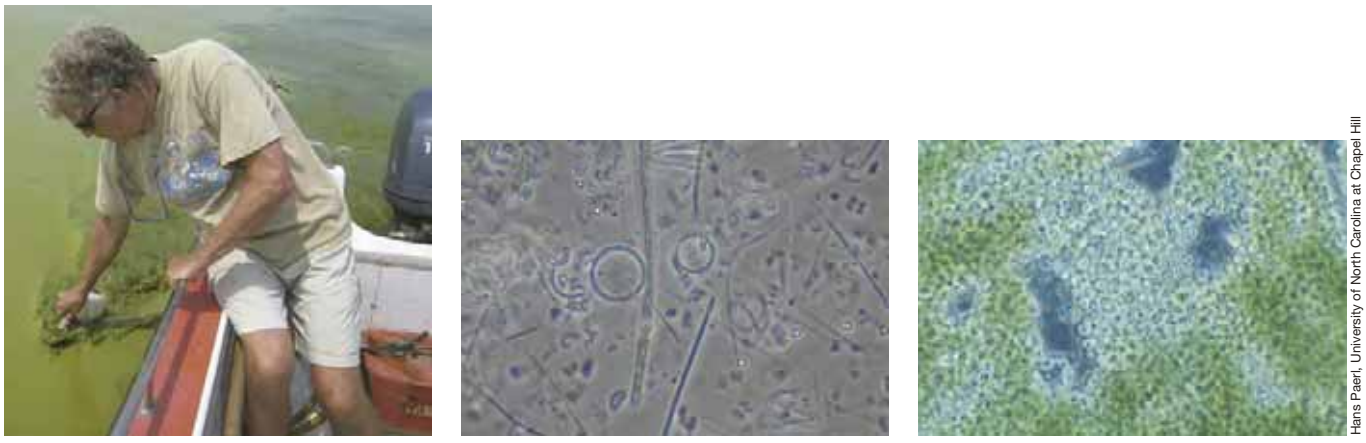
Un **ecosistema** es un complejo dinámico de comunidades vegetales, animales y microbianas y de su entorno abiótico, que interaccionan entre sí como una unidad funcional. Un ecosistema contiene muchos **hábitats** diferentes, que son partes del ecosistema mejor adaptadas a una o unas pocas poblaciones. Si bien los microorganismos están presentes en cualquier hábitat en el que existan plantas y animales, muchos hábitats microbianos son inadecuados para las plantas y los animales. Por ejemplo, los microorganismos son ubicuos en la superficie de la Tierra e incluso en sus profundidades; habitan en fuentes termales en ebullición y en el hielo sólido, en entornos con pH cercanos a cero, en salmueras saturadas, en ambientes contaminados con radionúclidos y metales pesados, y en el interior de rocas porosas que contengan solo trazas de agua. Por tanto, algunos ecosistemas son mayoritariamente o incluso exclusivamente microbianos.

En conjunto, los microorganismos presentan una gran diversidad metabólica y son los principales catalizadores de los ciclos de nutrientes en la naturaleza (Capítulo 20). Los *tipos* de actividades microbianas posibles en un ecosistema dependen de las especies presentes, del tamaño de sus poblaciones y del estado fisiológico de los microorganismos en cada hábitat. En cambio, la *velocidad* de las actividades microbianas en un ecosistema está controlada por los nutrientes y las condiciones de crecimiento que prevalecen en el ecosistema. Dependiendo de diversos factores, las actividades microbianas en un ecosistema pueden tener efectos mínimos o profundos y pueden reducir o fomentar la actividad de los propios microorganismos y de los macroorganismos con los que conviven.

Diversidad de especies en los hábitats microbianos

Un grupo de microorganismos de la misma especie que residen en el mismo lugar al mismo tiempo constituye una **población** microbiana, que puede haberse originado a partir de una única célula. Como hemos visto en capítulos anteriores, una **comunidad** microbiana está formada por poblaciones de una especie que viven en asociación con poblaciones de otra o más especies. Las diferentes especies que se encuentran juntas en un hábitat determinado son las más preparadas para crecer con los nutrientes y las condiciones que allí prevalecen.

La diversidad de especies microbianas en una comunidad se puede expresar de dos maneras (Figura 19.1). Una es la **riqueza**



(a) (b) (c)

Hans Paerl, University of North Carolina at Chapel Hill

Figura 19.1 Diversidad de especies microbianas: riqueza y abundancia. *(a)* Recolección de muestras en el lago Taihu (China), tras la floración de la cianobacteria *Microcystis*. *(b)* Gran riqueza de especies en el río Saint John (Florida, EE. UU.), observada por microscopía, de microorganismos planctónicos, entre los cuales se incluyen cianobacterias, diatomeas, algas verdes, flagelados y bacterias. *(c)* Transición de la comunidad del río Saint John a poca riqueza pero alta abundancia tras la floración de la cianobacteria *Microcystis*.

de especies, el *número* total de especies diferentes presentes. Por supuesto, identificar las células es fundamental para determinar la riqueza de especies microbianas, pero no es necesario aislarlas ni cultivarlas. La riqueza de especies también se puede expresar en términos moleculares mediante la diversidad de filotipos (por ejemplo, genes de RNA ribosómico, ↻ Sección 18.5) observados en una comunidad determinada. Por otra parte, la **abundancia de especies** es la *proporción* de cada especie en la comunidad. La riqueza y la abundancia de especies pueden cambiar rápidamente en un corto período de tiempo como se muestra en la Figura 19.1. Uno de los objetivos de la ecología microbiana es entender la riqueza y la abundancia de las especies en las comunidades microbianas junto con las actividades asociadas de la comunidad y el ambiente abiótico. Una vez que se conocen todos estos factores, se puede modelar el ecosistema alterándolo de algún modo y observando si los cambios predichos se ajustan a los resultados experimentales.

La riqueza y la abundancia de especies microbianas de una comunidad dependen de las condiciones que prevalecen y de la clase y la cantidad de nutrientes disponibles en el hábitat. En la Tabla 19.1 se indican los nutrientes y las condiciones habituales importantes para el crecimiento microbiano. En algunos hábitats microbianos, como los suelos inalterados ricos en materia orgánica, es habitual encontrar una gran riqueza de especies (véase la Figura 19.14), en la que la abundancia de la mayoría de ellas es moderada. En estos hábitats, los nutrientes son de muchas clases diferentes, lo cual ayuda a que exista una gran riqueza de especies. En otros hábitats, como algunos ambientes extremos, la riqueza de especies es normalmente muy baja y la abundancia de una o unas pocas especies es muy alta. Esto es debido a que las condiciones ambientales excluyen a la mayoría de las especies, y los nutrientes fundamentales están presentes en cantidades tan altas que las especies mejor adaptadas pueden crecer y alcanzar una gran densidad de células. Las bacterias que catalizan el drenaje ácido de las minas a partir de la oxidación del hierro son un buen ejemplo de ello. Estos organismos proliferan en aguas muy ácidas, ricas en hierro pero pobres en materia orgánica, donde las condiciones ácidas y la escasez de carbono orgánico limitan la riqueza de especies. No obstante, la gran cantidad de hierro ferroso (Fe^{2+}) presente, que se oxida a Fe^{3+} en reacciones muy energéticas (↻ Sección 13.9), impulsa la gran abundancia de especies. En las Secciones 20.5 y 21.1 examinaremos la actividad de los microorganismos acidófilos oxidadores de hierro.

Tabla 19.1 Recursos y condiciones que influyen en el crecimiento microbiano en la naturaleza

Recursos
Carbono (orgánico, CO_2)
Nitrógeno (orgánico, inorgánico)
Otros macronutrientes (S, P, K, Mg)
Micronutrientes (Fe, Mn, Co, Cu, Zn, Mn, Ni)
O_2 y otros aceptores de electrones (NO_3^-, SO_4^{2-}, Fe^{3+})
Donadores de electrones inorgánicos (H_2, H_2S, Fe^{2+}, NH_4^+, NO_2^-)
Condiciones
Temperatura: fría → templada → caliente
Potencial hídrico: seco → húmedo → mojado
pH: 0 → 7 → 14
O_2: óxico → microóxico → anóxico
Luz: luz clara → luz tenue → oscuridad
Condiciones osmóticas: agua dulce → marina → hipersalina

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué diferencia hay entre riqueza de especies y abundancia de especies?
- ¿En qué se diferencia un ecosistema de un hábitat?
- ¿Cuáles son las características de una población microbiana?

19.2 Aportes de un ecosistema: biogeoquímica y ciclos de nutrientes

En cualquier ecosistema cuyos recursos y condiciones de crecimiento sean adecuadas, los microorganismos crecerán y formarán poblaciones. Las poblaciones microbianas metabólicamente semejantes que explotan los mismos recursos de manera parecida reciben el nombre de **gremios** (en inglés, *guilds*). Un hábitat compartido por un gremio y que suministra los recursos y las condiciones que las células necesitan para crecer se llama **nicho**. Los conjuntos de gremios forman comunidades microbianas (Figura 19.2), que interaccionan con los macroorganismos y los factores abióticos del ecosistema de tal modo que definen el funcionamiento del ecosistema.

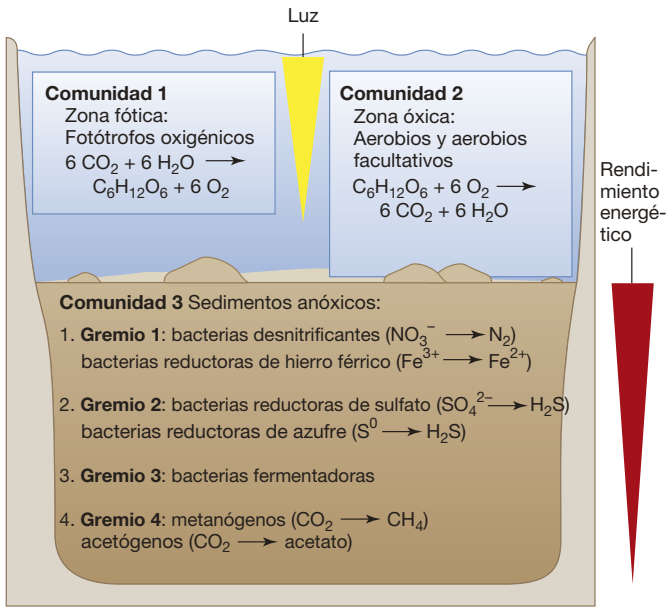


Figura 19.2 **Poblaciones, gremios y comunidades.** Las comunidades microbianas están formadas por células de diferentes especies. El ecosistema de un lago de agua dulce probablemente tendrá las comunidades que se muestran aquí. La reducción de NO_3^-, Fe^{3+}, SO_4^{2-}, S^0 y CO_2 son ejemplos de tipos de respiración anaeróbica. La región de mayor actividad para cada uno de los diferentes procesos respiratorios variará según la profundidad en el sedimento. Cuantos más aceptores de electrones favorables energéticamente se consuman debido a la actividad microbiana cerca de la superficie, menos reacciones favorables se producirán en los sedimentos más profundos.

Aportes de energía al ecosistema

La energía entra en el ecosistema en forma de luz solar, carbono orgánico y sustancias inorgánicas reducidas. La luz es utilizada por los fotótrofos para sintetizar ATP y nueva materia orgánica (Figura 19.2). Además de carbono (C), la nueva materia orgánica contiene nitrógeno (N), azufre (S), fósforo (P), hierro (Fe) y otros elementos de la vida (↪ Sección 3.1). Este material orgánico recién sintetizado, junto con la materia orgánica que penetra en el ecosistema desde el exterior (llamada materia orgánica *alóctona*) alimenta la actividad catabólica de los organismos quimioorganótrofos. Estas actividades oxidan la materia orgánica a CO_2 mediante la respiración o la fermentación, que producen diversas sustancias reducidas. Si en el ecosistema existen quimiolitótrofos metabólicamente activos, pueden obtener energía de la oxidación de donadores electrónicos inorgánicos como H_2, Fe^{2+}, S^0 o NH_3 (Capítulos 13 y 14) y contribuir con materia orgánica nueva a través de su actividad autótrofa (Figura 19.2).

Ciclos biogeoquímicos

Los microorganismos desempeñan una función esencial en los ciclos de los elementos, especialmente C, N, S y Fe, entre sus diferentes formas químicas. El estudio de estas transformaciones forma parte de la **biogeoquímica**, una ciencia interdisciplinaria que incluye la biología, la geología y la química. En la Figura 19.2 se muestra cómo afecta la actividad de los distintos gremios de microorganismos a la química de un ambiente, en este caso un ecosistema lacustre. La secuencia de los cambios químicos a medida que nos adentramos en los sedimentos se corresponde con las capas de los diferentes gremios microbianos. La ubicación de cada gremio en el ecosistema está determinada principalmente por la disponibilidad de donadores y aceptores de electrones, que tienden a disminuir a medida que aumenta la profundidad de los sedimentos.

Un *ciclo biogeoquímico* define las transformaciones de un elemento que son catalizadas por medios biológicos o químicos (o ambos). Muchos microorganismos diferentes participan en las reacciones de los ciclos biogeoquímicos, y en muchos casos son ellos los *únicos* agentes biológicos capaces de regenerar formas de los elementos necesarias para otros organismos, especialmente para las plantas. Así, los ciclos biogeoquímicos son, con frecuencia, también *ciclos de nutrientes*, reacciones que generan nutrientes importantes para otros organismos.

La mayor parte de los ciclos biogeoquímicos se llevan a cabo mediante reacciones de oxidación-reducción, a medida que el elemento se mueve a través del ecosistema, y a menudo estas reacciones están fuertemente *acopladas*, ya que las transformaciones en un ciclo afectan a otro u otros ciclos. Por ejemplo, el sulfuro de hidrógeno (H_2S) es oxidado por microorganismos fotótrofos y quimiolitótrofos a azufre (S^0) y sulfato (SO_4^{2-}); este último es un nutriente esencial para las plantas. Los fotótrofos y los quimiolitótrofos son organismos autótrofos, y como tales afectan al ciclo del carbono produciendo nuevo carbono orgánico a partir de CO_2. No obstante, el sulfato se puede reducir a sulfuro de hidrógeno por la actividad de las bacterias reductoras de sulfato, organismos que consumen carbono orgánico, y esta reducción cierra el ciclo biogeoquímico del azufre a la vez que regenera el CO_2. El ciclo del nitrógeno también es un proceso microbiano, y resulta fundamental para la regeneración de formas de nitrógeno utilizables por las plantas y otros organismos. El ciclo del nitrógeno está impulsado por bacterias quimiolitótrofas y quimioorganótrofas, organismos que producen y consumen, respectivamente, carbono orgánico,. En los Capítulos 13, 14 y 20 se habla con más detalle de los ciclos biogeoquímicos y su naturaleza acoplada.

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué se diferencia un gremio microbiano de una comunidad microbiana?
- ¿Qué es un ciclo biogeoquímico? Dé un ejemplo basado en el azufre. ¿Por qué los ciclos biogeoquímicos se llaman también ciclos de nutrientes?

II • El ambiente microbiano

Los microorganismos definen los límites de la vida en los ambientes acuáticos y terrestres de nuestro planeta. Las condiciones específicas que necesitan un organismo o grupo de organismos concretos puede verse sometido a cambios rápidos a causa de aportes y salidas de su hábitat y a actividades microbianas o problemas físicos. Así, dentro de un mismo ambiente puede haber muchos hábitats, algunos de los cuales son relativamente estables y otros pueden cambiar rápidamente en el tiempo y el espacio.

19.3 Ambientes y microambientes

Además de vivir en los hábitats comunes del suelo y el agua, los microorganismos crecen muy bien en ambientes extremos y también residen sobre las células de otros organismos y en el interior de estas. Las asociaciones íntimas que se establecen entre los microorganismos y otros organismos se estudian en el Capítulo 22. Aquí nos centraremos en los hábitats microbianos terrestres y acuáticos.

Microorganismos, nichos y microambientes

El hábitat en el que reside una comunidad microbiana se rige por las condiciones físicas y químicas (fisicoquímicas), que a su vez están determinadas en parte por la actividad metabólica de la comunidad. Por ejemplo, el material orgánico empleado por una especie puede haber sido un producto metabólico secundario de otra. Otro ejemplo es el oxígeno (O_2), que puede convertirse en limitante si el consumo biológico excede la velocidad a la que se suministra.

Como los microorganismos son muy pequeños, de manera directa experimentan tan solo un ambiente local reducido; este pequeño espacio es su **microambiente**. Por ejemplo, para una bacteria con forma de bacilo típico de 3 µm, una distancia de 3 mm es equivalente a lo que un ser humano experimentaría en una distancia de 2 km. A consecuencia de la pequeñez de los microorganismos, de las actividades metabólicas variables de los microorganismos vecinos, y de los cambios en las condiciones fisicoquímicas en intervalos reducidos de espacio y de

tiempo, en un hábitat determinado pueden existir numerosos microambientes. Las condiciones que sustentan el crecimiento en un microambiente corresponden a los requisitos generales para el crecimiento que estudiamos en el Capítulo 5.

La teoría ecológica establece que para cada organismo existe al menos un nicho, el *nicho efectivo* (llamado también *nicho principal*), en el que tendrá el mayor éxito. El organismo domina el nicho efectivo, pero también puede habitar en otros nichos; en estos será ecológicamente menos competente que en su nicho efectivo, pero puede seguir siendo capaz de competir. El espectro total de condiciones ambientales en las que un organismo puede existir es su *nicho fundamental*. La palabra «nicho» no debe confundirse con «microambiente», ya que el microambiente describe condiciones en una ubicación específica y puede cambiar rápidamente. En otras palabras, las condiciones generales que describen un nicho específico pueden ser transitorias en muchos lugares de un microambiente.

Otra consecuencia importante para los microorganismos de su reducido tamaño es que la difusión suele determinar la disponibilidad de recursos. Consideremos, por ejemplo, la distribución de un importante nutriente microbiano como el oxígeno en una pequeña partícula de suelo. Se pueden usar microsensores (↻ Sección 18.8) para medir la concentración de oxígeno a través de pequeñas partículas de suelo. Como se observa en los datos de un experimento real con microsensores (**Figura 19.3**), las partículas de suelo no son homogéneas en términos de contenido de oxígeno, sino que contienen muchos microambientes adyacentes. La capa externa de la partícula de suelo puede ser completamente óxica (21 % de O_2), mientras que el centro, a muy poca distancia (en términos humanos, pero por supuesto a gran distancia desde el punto de vista microbiano), puede ser anóxico (sin oxígeno). Los microorganismos cerca de la capa superficial consumen todo el oxígeno antes de que este pueda difundirse hacia el centro de la partícula. Por tanto, los organismos anaerobios pueden vivir muy bien cerca del centro de la partícula, los microaerófilos (aerobios que requieren una concentración muy baja de oxígeno) un poco más alejados, y los organismos aerobios estrictos en la región más exterior de la partícula. Las bacterias aerobias facultativas (organismos que pueden crecer bien aeróbica o anaeróbicamente) pueden estar distribuidas por toda la partícula (↻ Sección 5.16). La transferencia de nutrientes es especialmente importante en las densas agrupaciones de células como las biopelículas y los tapetes microbianos, y la analizaremos en la siguiente sección.

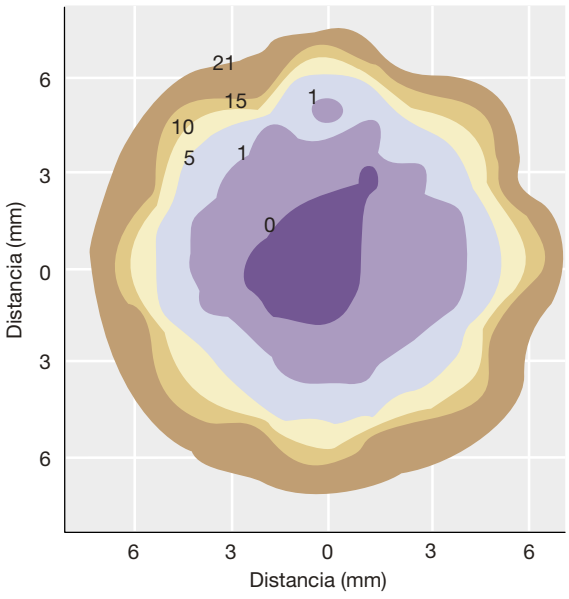


Figura 19.3 **Microambientes de oxígeno.** Mapa del perfil de las concentraciones de O_2 en una pequeña partícula de suelo, determinadas mediante un microsensor (↻ Sección 18.8). Los ejes muestran las dimensiones de la partícula. Los números sobre los perfiles son concentraciones de O_2 en forma de porcentajes (el aire contiene un 21 % de O_2). Cada zona se puede considerar un microambiente diferente.

Las condiciones fisicoquímicas en un microambiente están sometidas a cambios bruscos tanto en el espacio como en el tiempo. Por ejemplo, las concentraciones de oxígeno que se muestran en la partícula de suelo de la Figura 19.3 representan valores «instantáneos». Mediciones realizadas en la misma partícula tras un período de intensa respiración microbiana o alteración causada por viento, lluvia o por animales del suelo podrían diferir drásticamente de las que se muestran. Durante estos procesos, algunas poblaciones pueden dominar temporalmente la actividad en la partícula de suelo y crecer enormemente, mientras otras permanecen durmientes o casi. No obstante, si los microambientes de la Figura 19.3 se restablecen posteriormente, las diversas actividades microbianas características de las diferentes regiones de la partícula de suelo se restablecerán también.

Concentración de nutrientes y velocidad de crecimiento

Los recursos (Tabla 19.1) normalmente entran en un ecosistema de manera intermitente. Un gran aporte de nutrientes (por ejemplo la llegada de hojarasca o el cadáver de un animal) puede ir seguido de un período de escasez. A causa de esto, los microorganismos en la naturaleza suelen llevar una existencia que alterna entre el «festín y la hambruna». Por tanto, es habitual que produzcan polímeros de almacenamiento como material de reserva cuando los recursos son abundantes, y que recurran a ellos en períodos de escasez. Algunos ejemplos de material de reserva son los poli-β-hidroxialcanoatos, los polisacáridos y el polifosfato (↻ Sección 2.14).

Los períodos largos de crecimiento microbiano exponencial son probablemente raros en la naturaleza. Los microorganismos suelen crecer a brotes, estrechamente vinculados a la disponibilidad y la naturaleza de los recursos. Como rara vez todas las condiciones fisicoquímicas importantes en la naturaleza son óptimas para el crecimiento microbiano simultáneamente, la velocidad de crecimiento de los microorganismos en la naturaleza suele estar muy por debajo de la máxima registrada en el laboratorio. Por ejemplo, el tiempo de generación de *Escherichia coli* en el sistema digestivo de un adulto sano que come a intervalos regulares es de unas doce horas (se duplica dos veces al día), mientras que en un cultivo axénico puede crecer mucho más rápidamente, con un tiempo de generación mínimo de unos veinte minutos en condiciones óptimas. Además, estimaciones basadas en estudios científicos indican que la mayoría de las bacterias del suelo cultivadas crecen normalmente en la naturaleza a menos del uno por ciento de la velocidad de crecimiento máximo en el laboratorio.

Estas velocidades de crecimiento más lentas en la naturaleza que en el laboratorio reflejan que: 1) los recursos y las condiciones de crecimiento (Tabla 19.1) son con frecuencia subóptimos; 2) la distribución de los nutrientes en el hábitat microbiano no es uniforme; y 3) excepto en casos raros, los microorganismos en la naturaleza crecen en poblaciones mixtas y no en cultivos axénicos. Un organismo que crece rápidamente en un cultivo axénico puede hacerlo mucho más lentamente en un ambiente natural en el que debe competir con otros organismos que pueden estar mejor adaptados a los recursos y las condiciones de crecimiento disponibles.

Competencia y cooperación microbianas

La competencia entre microorganismos por los recursos en un hábitat puede ser intensa, y el resultado depende de diversos factores, como la tasa de captación de nutrientes, las tasas metabólicas inherentes y, en última instancia, la velocidad de crecimiento. Un hábitat típico contiene una mezcla de especies diferentes (Figuras 19.1 y 19.2), y la densidad de cada población depende de cuánto se parezca su nicho a su nicho efectivo.

Algunos microorganismos colaboran entre sí para llevar a cabo transformaciones que no podrían realizar solos (un proceso denominado *sintrofia*), y estas asociaciones microbianas son especialmente importantes en el ciclo anóxico del carbono (↪ Secciones 13.15 y 20.2). También observamos cooperación metabólica en las actividades de organismos que llevan a cabo metabolismos complementarios. Por ejemplo, anteriormente hemos estudiado las transformaciones metabólicas realizadas por dos grupos distintos de organismos, como los procariotas nitrificantes (↪ Secciones 13.10, 14.13 y 16.6). Asociados, los procariotas nitrificantes oxidan el amoniaco (NH_3) a nitrato (NO_3^-), aunque ni los oxidadores de amoniaco (con representantes tanto bacterianos como arqueanos) ni las bacterias oxidadoras de nitrito son capaces de hacerlo por sí solos. Puesto que el nitrito (NO_2^-), que es el producto de los microorganismos oxidadores del amoniaco, es el sustrato de las bacterias oxidadoras de nitrito, en el medio natural los dos grupos de organismos suelen vivir en estrecha asociación dentro de su hábitat (↪ Figura 18.11).

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué características definen el nicho efectivo de un microorganismo concreto?
- ¿Por qué muchos grupos de microorganismos fisiológicamente diferentes pueden vivir en un solo hábitat?

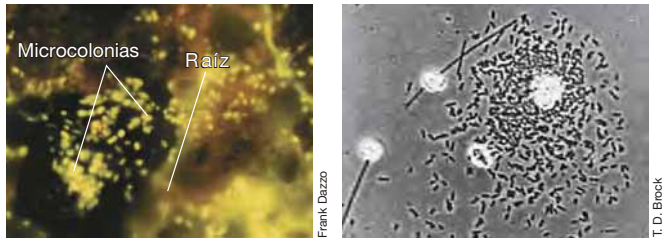
19.4 Superficies y biopelículas

Las superficies son hábitats microbianos importantes, porque normalmente ofrecen mayor acceso a los nutrientes, protección frente a los depredadores y las alteraciones fisicoquímicas, y un medio para que las células puedan permanecer en un hábitat favorable y no sean arrastradas por la corriente. Además, el flujo a través de una superficie colonizada aumenta el transporte de nutrientes a la superficie y aporta así más recursos que los que existen para las células planctónicas, que viven flotando en el mismo ambiente. Una superficie también puede ser otro organismo o un nutriente, como una partícula de materia orgánica. Por ejemplo, las raíces de las plantas están colonizadas intensamente por las bacterias del suelo que viven gracias a los exudados vegetales, como se pone de manifiesto cuando se utilizan colorantes fluorescentes (**Figura 19.4*a***).

Prácticamente cualquier superficie natural o artificial expuesta a microorganismos será colonizada. Por ejemplo, se han usado portaobjetos de microscopio como superficies experimentales a las que los microorganismos se pueden unir y crecer. Un portaobjetos se puede sumergir en un hábitat microbiano durante un período de tiempo y después retirarse y examinarse al microscopio (Figura 19.4*b*). En estas superficies se forman rápidamente agrupaciones de unas pocas células, llamadas *microcolonias*, que se desarrollan a partir de una sola célula colonizadora, de manera muy similar a como lo hacen sobre las superficies naturales en la naturaleza. De hecho, se ha utilizado el examen periódico al microscopio de los portaobjetos sumergidos para medir la velocidad de crecimiento de organismos que viven adheridos a superficies en la naturaleza. La colonización de una superficie puede ser escasa, formada solo por microcolonias e invisible a simple vista, o estar formada por tantas células que la acumulación microbiana se hace visible como, por ejemplo, en la taza de un inodoro estancado. El crecimiento sobre superficies puede ser especialmente problemático en el ámbito hospitalario, donde la colonización microbiana de dispositivos permanentes como catéteres o sondas intravenosas puede causar infecciones graves. En algunos ambientes extremos que carecen de pequeños animales que se alimentan de microorganismos fijados al sustrato (por ejemplo las fuentes hidrotermales), la acumulación microbiana en una superficie puede llegar a tener un espesor de muchos centímetros. Estas acumulaciones, llamadas **tapetes microbianos**, con frecuencia contienen grupos muy complejos, pero muy estables, de microorganismos fotótrofos, autótrofos y heterótrofos (Sección 19.5).

Biopelículas

A medida que las células bacterianas crecen sobre superficies, normalmente van formando **biopelículas**, agrupaciones de células bacterianas adheridas a una superficie y embebidas en una matriz adhesiva formada por excreciones celulares y restos de células muertas (**Figura 19.5**). La matriz es normalmente una mezcla de polisacáridos, proteínas y ácidos nucleicos que unen las células entre sí. Las biopelículas atrapan los nutrientes para



(a) (b)

Figura 19.4 Microorganismos sobre superficies. *(a)* Micrografía de fluorescencia de una comunidad microbiana natural que vive sobre las raíces de plantas en el suelo y teñida con naranja de acridina. Obsérvese el desarrollo de microcolonias. *(b)* Microcolonias bacterianas en desarrollo sobre un portaobjetos que se sumergió en un río. Las partículas brillantes son materia mineral. Las células, en forma de bacilos cortos, tienen unos 3 µm de largo.

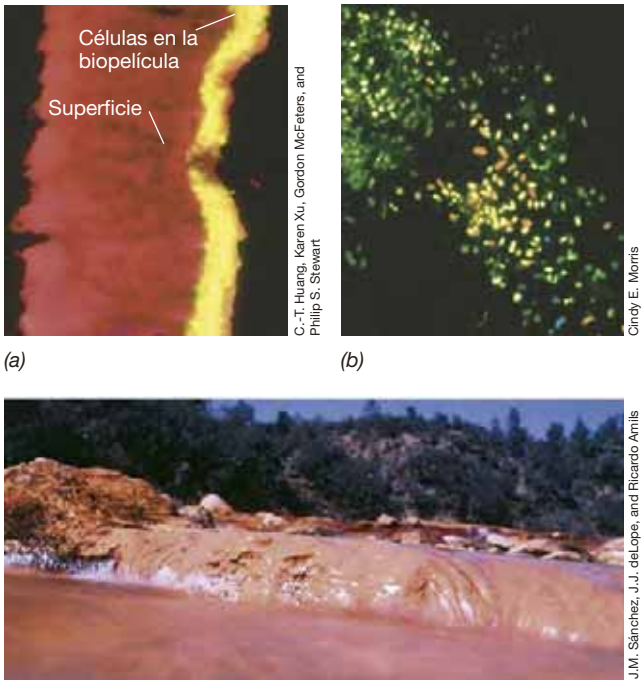


Figura 19.5 **Ejemplos de biopelículas microbianas.** *(a)* Sección transversal de una biopelícula experimental de células de *Pseudomonas aeruginosa*. La capa amarilla (con un grosor de unos 15 µm) contiene células y está teñida mediante una reacción que muestra la actividad de la fosfatasa alcalina. *(b)* Microscopía confocal láser de barrido de una biopelícula natural (vista superior) sobre la superficie de una hoja. El color de las células indica su profundidad en la biopelícula: rojo, superficie; verde, a 9 µm de profundidad; azul, a 18 µm de profundidad. *(c)* Biopelícula de bacterias oxidadoras del hierro adheridas a rocas en Río Tinto (España). Cuando el agua rica en Fe^{2+} pasa sobre la biopelícula o a través de ella, los organismos oxidan el Fe^{2+} a Fe^{3+}.

el crecimiento microbiano e impiden que las células se desprendan de las superficies dinámicas tales como las que se encuentra en sistemas que fluyen (Figura 19.5*c*). En la Sección 7.9 ya examinamos algunas de las características de la regulación genética de las comunidades microbianas de las biopelículas.

Normalmente, las biopelículas contienen muchas capas de células embebidas en el material poroso que constituye la matriz, y las células de cada capa se pueden analizar por microscopía confocal de láser de barrido (↻ Sección 2.3; Figura 19.5*b*). Las biopelículas pueden contener solo una o dos especies o, con más frecuencia, muchas especies de bacterias. Las que se forman sobre los dientes y las superficies blandas de la boca, por ejemplo, contienen entre cien y doscientos filotipos diferentes (↻ Sección 18.5) de especies tanto bacterianas como arqueanas; en total, la boca humana es un hábitat para aproximadamente setecientos filotipos. Las biopelículas son, por tanto, comunidades microbianas funcionales y en crecimiento, y no solo células atrapadas en una matriz pegajosa. En la sección Explorando el mundo microbiano, «Pegarse o nadar», del Capítulo 5 comparamos el crecimiento microbiano en las biopelículas con el crecimiento planctónico (suspendido).

Allá donde existan superficies sumergidas en ambientes naturales, el crecimiento en biopelículas es casi siempre más extenso y diverso que el crecimiento planctónico en el líquido que rodea la superficie. Las biopelículas se diferencian de las comunidades planctónicas en que favorecen los procesos críticos de transporte y transferencia, que generalmente controlan el crecimiento en el ambiente de la biopelícula. Por ejemplo, si el consumo de oxígeno por parte de las poblaciones que están cerca de la superficie supera la difusión hacia regiones más profundas de la biopelícula, estas regiones más profundas se harán anóxicas, lo que abrirá nuevos nichos para la colonización por parte de anaerobios estrictos o aerobios facultativos. Es algo parecido a lo que ocurre con el empobrecimiento de oxígeno en el interior de una partícula de suelo que se muestra en la Figura 19.3.

Una de las propiedades de mayor importancia clínica e industrial de las comunidades microbianas en las biopelículas es su tolerancia inherente a los antibióticos y a otros factores antimicrobianos. Una especie determinada que crezca en una biopelícula puede ser hasta mil veces más tolerante a una sustancia antimicrobiana que las células planctónicas de la misma especie. Algunas razones de esta mayor tolerancia son la menor velocidad de crecimiento de las biopelículas, la menor penetración de las sustancias antimicrobianas a través de la matriz extracelular y la expresión de genes que incrementan la tolerancia a las agresiones. Su tolerancia a las sustancias antimicrobianas puede explicar por qué las biopelículas son responsables de muchas infecciones crónicas intratables o difíciles de tratar y también son complicadas de erradicar en sistemas industriales en los que el crecimiento superficial (incrustaciones) de microorganismos puede dificultar procesos importantes.

Formación de biopelículas

¿Cómo se forman las biopelículas? La colisión al azar de células con una superficie explica la unión inicial, y la adhesión se fomenta por la interacción entre una o más estructuras celulares y la superficie. Las estructuras celulares que favorecen la fijación incluyen apéndices proteicos (pelos, flagelos) y proteínas de la superficie celular (por ejemplo, la gran proteína de superficie LapA es necesaria para la fijación y la formación de la biopelícula por parte de *Pseudomonas fluorescens*, como veremos más adelante en esta sección).

La unión de una célula a una superficie es una señal para la expresión de genes específicos de las biopelículas, entre ellos, genes que codifican proteínas que sintetizan moléculas señalizadoras intercelulares y de producción de polisacáridos extracelulares que inician la formación de la matriz (**Figura 19.6*a***). Una vez implicada en la formación de una biopelícula, una célula que previamente era planctónica pierde sus flagelos y se convierte en sésil. No obstante, las biopelículas no son entidades estáticas y las células también pueden liberarse de la matriz mediante un proceso activo de dispersión (Figura 19.6*a*).

Aunque el mecanismo todavía no se ha descubierto, de alguna manera las bacterias «perciben» una superficie adecuada y esto coordina los procesos que llevan al modo de crecimiento en biopelícula. La forma de percibir la existencia de la superficie es un campo de investigación activa, pero el cambio real de crecimiento planctónico a biopelícula es desencadenado por la producción de monofosfato cíclico de diguanosina (*c-di-GMP*, del inglés *cyclic di-guanosine monophosphate*) (**Figura 19.7**). En la Sección 7.9 ya examinamos la función de este segundo mensajero como regulador de la formación de biopelículas, y vimos

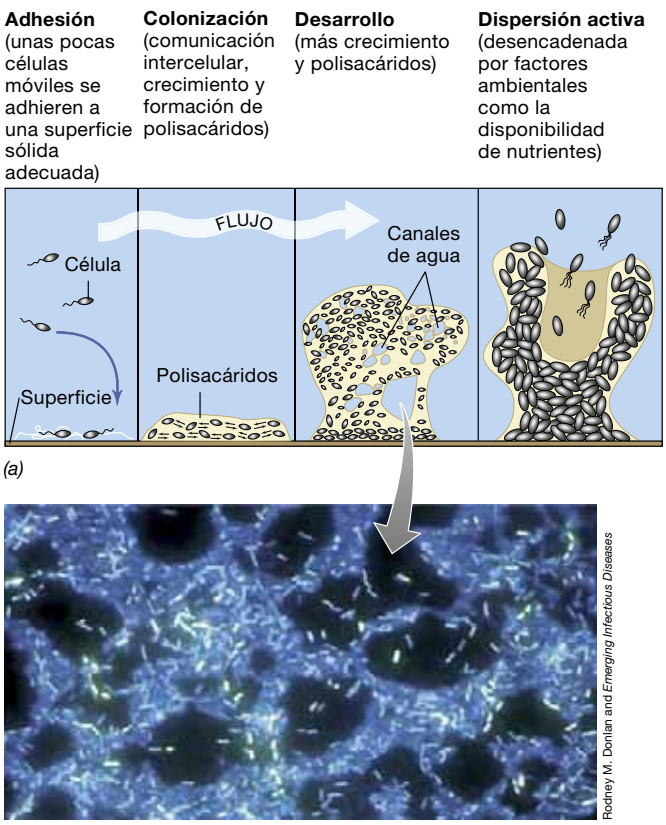


Figura 19.6 **Formación de biopelículas.** *(a)* Las biopelículas empiezan con la adhesión de unas pocas células que después crecen y se comunican con otras células. Se forma la matriz, que se va extendiendo a medida que crece la biopelícula hasta que con el tiempo se liberan algunas células. *(b)* Micrografía de una biopelícula teñida con DAPI que crece sobre una tubería de acero inoxidable. Obsérvense los canales de agua.

que la señalización con c-di-GMP opera en múltiples niveles para modular la expresión génica y la actividad enzimática, por ejemplo, uniéndose a reguladores transcripcionales, a mRNA (riboconmutadores, ↻ Sección 7.15), y a proteínas específicas para alterar la actividad enzimática. Por ejemplo, el c-di-GMP se une a las proteínas que reducen la actividad del motor flagelar, regula las proteínas superficiales necesarias para la fijación y media en la biosíntesis de los polisacáridos de la matriz extracelular de la biopelícula.

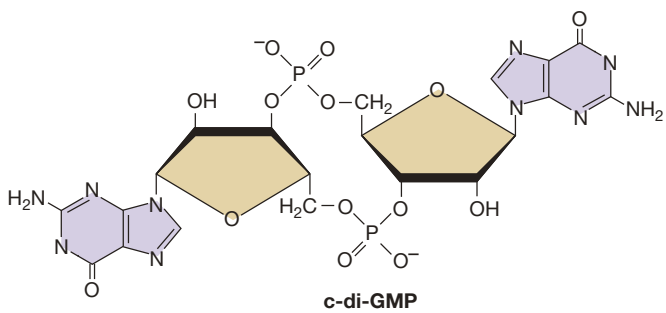


Figura 19.7 **Estructura molecular del segundo mensajero diguanilato cíclico.** Es utilizado como molécula señalizadora intracelular por muchas bacterias para controlar procesos fisiológicos específicos.

Pseudomonas aeruginosa y las biopelículas

Además de las actividades intracelulares desencadenadas por el c-di-GMP, para el desarrollo y el mantenimiento de las biopelículas bacterianas es necesario que haya comunicación intercelular. Por ejemplo, en *Pseudomonas aueruginosa*, un temible formador de biopelículas (**Figura 19.8**), las principales moléculas señalizadoras intercelulares son *homoserinolactonas aciladas*. A medida que estas moléculas se acumulan, indican a las células de *P. aeruginosa* adyacentes que la población de esta especie está creciendo (es decir, que son una señal para la percepción de quórum, ↻ Sección 7.9). Entonces las lactonas señalizadoras controlan la expresión de los genes que contribuyen a la formación de la biopelícula. Entre los genes activados se encuentran, en concreto, los que aumentan la concentración intracelular de c-di-GMP.

La concentración elevada de c-di-GMP inicia la producción de polisacáridos extracelulares y disminuye la función flagelar. Con el tiempo, si hay abundancia de nutrientes, las células de *P. aeruginosa* pueden desarrollar microcolonias en forma de seta que pueden tener una altura de más de 0,1 mm y contener millones de células imbricadas en una pegajosa matriz de polisacárido (Figura 19.8). La arquitectura final de la biopelícula está determinada por muchos factores además de las moléculas señalizadoras, como los factores nutricionales y el ambiente líquido local.

En los pulmones de personas con *fibrosis quística*, que es una enfermedad hereditaria, se forman biopelículas de *P. aeruginosa*. En el estado de biopelícula, *P. aeruginosa* es difícil de tratar con antibióticos, y esto parece ayudar a las bacterias a mantenerse en los individuos con esta enfermedad. Como la mayoría de las biopelículas, la que se desarrolla en los pulmones de los enfermos de fibrosis quística contiene más de una especie bacteriana (↻ Capítulo 5, Explorando el mundo microbiano, «Pegarse o nadar»). Por tanto, además de la señalización *intraespecífica*, probablemente también se produce una señalización *interespecífica* en los procesos de inicio y mantenimiento de las biopelículas que contienen más de una especie.

En *P. fluorescens*, un organismo relacionado con *P. aeruginosa* que también forma biopelículas, el aumento de la concentración de c-di-GMP también favorece dicha formación. No obstante, la maquinaria de las biopelículas regulada por c-di-GMP en esta especie es muy diferente a la de *P. aeruginosa*. En *P. fluorescens*, los cambios en la secreción de c-di-GMP afectan a la secreción y la localización en la superficie celular de una proteína de adhesión grande llamada LapA, que ayuda a las células a fijarse a las superficies. Por ejemplo, en respuesta a una baja concentración de fosfato extracelular, las células de *P. fluorescens* mantienen una concentración baja de c-di-GMP de manera que se impide la localización de LapA en la membrana externa y, por tanto, se inhabilita el mecanismo de fijación necesario para iniciar la formación de la biopelícula. Si la concentración de fosfato sigue bajando en la biopelícula, la disminución asociada de la concentración de c-di-GMP también provoca la activación de una proteasa que corta la LapA; esto libera las células ya adheridas y favorece su dispersión, con el fin de explorar hábitats cercanos en busca de nutrientes (Figura 19.6). Otras señales ambientales para la dispersión de *P. fluorescens* son la escasez de carbono o de oxígeno y los cambios de temperatura o de disponibilidad de hierro.



Figura 19.8 **Desarrollo de una biopelícula de *Pseudomonas aeruginosa*.** Micrografías obtenidas con un microscopio confocal láser de barrido del desarrollo de una biopelícula de *Pseudomonas aeruginosa* en una cubeta de flujo irrigada permanentemente con medio rico en nutrientes. En primer lugar, las células de *P. aeruginosa* se fijan a la superficie de vidrio (día 0), luego crecen rápidamente y se mueven sobre la superficie hasta cubrirla por completo (día 1); el día 4 se han desarrollado ya microcolonias en forma de hongo de cerca de 0,1 mm de altura.

Aunque la señalización basada en la percepción de quórum se ha asociado principalmente con la formación de biopelículas, el sistema de percepción de quórum de *Staphylococcus aureus* tiene una función en la dispersión. Por tanto, no hay un único programa de desarrollo para la formación de biopelículas común a todas las especies. Esta falta de unidad ha complicado mucho el desarrollo de estrategias de control de las biopelículas, como veremos al final de esta sección.

Por qué las bacterias forman biopelículas

Se han propuesto al menos cuatro razones para la formación de las biopelículas. En primer lugar, las biopelículas son un medio de autodefensa de los microorganismos, que aumenta su supervivencia. Las biopelículas resisten las presiones físicas que de otro modo eliminarían a las células unidas solo débilmente a una superficie. Las biopelículas también resisten la fagocitosis por protozoos y células del sistema inmunitario, y retrasan la penetración de moléculas tóxicas como los antibióticos. Estas ventajas mejoran las posibilidades de supervivencia de las células de la biopelícula. En segundo lugar, la formación de biopelículas permite a las células permanecer en un nicho favorable. Las biopelículas fijadas a superficies ricas en nutrientes como los tejidos animales, o a superficies en sistemas que fluyen (Figura 19.5*c*) fijan las células bacterianas a lugares en los que los nutrientes pueden ser más abundantes o se renuevan continuamente. En tercer lugar, las biopelículas se forman porque permiten a las células bacterianas vivir en estrecha asociación unas con otras. Como ya hemos visto para *P. aeruginosa* y la biopelícula que forma en los enfermos de fibrosis quística, esto facilita la comunicación intercelular y aumenta las posibilidades de supervivencia. Además, cuando las células están muy próximas entre sí, tienen más oportunidades para intercambiarse nutrientes y material genético. Por último, las biopelículas parecen ser la forma típica de crecer de las bacterias en la naturaleza. La biopelícula podría ser el modo de crecimiento «por defecto» para los procariotas en ambientes naturales, que difieren ostensiblemente en cuanto a concentración de nutrientes de los ricos medios de cultivo que se usan en el laboratorio. El crecimiento planctónico puede ser la norma únicamente para aquellas bacterias adaptadas a la vida en concentraciones de nutrientes extremadamente bajas (como se explica en las Secciones 19.9 y 19.11).

Control de las biopelículas

Las biopelículas tienen importantes implicaciones en la medicina y en el comercio. En el cuerpo, las células bacterianas en una biopelícula están protegidas del ataque del sistema inmunitario, y los antibióticos y otros agentes antimicrobianos a veces no pueden penetrar en la biopelícula. Además de su implicación en la fibrosis quística, las biopelículas están implicadas en diversas enfermedades y problemas dentales, como la enfermedad periodontal, las heridas crónicas, las piedras en el riñón, la tuberculosis, la legionelosis y las infecciones por *Staphylococcus*. Los implantes médicos son superficies ideales para el desarrollo de las biopelículas, ya se trate de dispositivos temporales, como un catéter urinario, o de implantes permanentes, como las articulaciones artificiales. Se estima que, cada año, diez millones de personas en los Estados Unidos sufren infecciones por causa de los implantes o de procedimientos médicos invasivos. Las biopelículas explican por qué es tan importante la higiene bucal para mantener una buena salud dental. La placa dental es una biopelícula típica y contiene bacterias productoras de ácido responsables de la caries dental (Sección 23.3).

En situaciones industriales, las biopelículas pueden frenar el flujo de agua, gasolina u otros líquidos por las tuberías, y acelerar la corrosión de estas. Las biopelículas también inician la degradación de los objetos sumergidos, como los componentes estructurales de las plataformas petrolíferas en alta mar, los barcos o las instalaciones costeras. La seguridad del agua para consumo humano se puede ver alterada por biopelículas que se desarrollan en las tuberías de distribución (Figura 19.6*b*), muchas de las cuales, en los Estados Unidos, tienen cerca de cien años (Sección 21.9). Las biopelículas de las tuberías de agua contienen principalmente microorganismos inocuos, pero si algún patógeno logra colonizar una biopelícula, las prácticas habituales de cloración pueden ser ineficaces para destruirlo. Las liberaciones periódicas de células patógenas pueden provocar entonces brotes de enfermedades. Por ejemplo, existe la preocupación de que *Vibrio cholerae*, el agente causal del cólera (Sección 31.3) se pueda propagar de este modo.

El control de las biopelículas es un gran negocio, y hasta ahora existen solo unas pocas herramientas para combatirlas. En conjunto, la industria destina recursos económicos ingentes al tratamiento de las conducciones y otras superficies con el fin de impedir que sean colonizadas por biopelículas. En la actualidad se están desarrollando nuevos agentes antimicrobianos que puedan penetrar en las biopelículas, así como fármacos que impidan la formación de biopelículas interfiriendo en la comunicación intercelular. Por ejemplo, un tipo de sustancias químicas llamadas *furanonas* parecen prometedoras para prevenir la formación de biopelículas en superficies abióticas.

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué una biopelícula es un buen hábitat para las células bacterianas que viven en un sistema fluido?
- Dé un ejemplo de biopelícula de importancia médica que se forma en prácticamente todos los humanos sanos.
- ¿Cómo modulan las diferentes moléculas señalizadoras intercelulares e intracelulares la formación y la dispersión de las biopelículas?

19.5 Tapetes microbianos

Los tapetes microbianos son una de las comunidades microbianas más evidentes a la vista, y se pueden considerar biopelículas extremadamente gruesas. Construidos por bacterias fotótrofas o quimiolitótrofas, están constituidos por comunidades estratificadas y pueden tener un grosor de varios centímetros (**Figura 19.9**). Las capas están compuestas por especies de diferentes gremios microbianos cuya actividad está gobernada por la disponibilidad de luz y otros recursos (Tabla 19.1). La combinación de metabolismo microbiano y transporte de nutrientes controlado por difusión ocasiona un acusado gradiente de concentraciones de los diferentes nutrientes y metabolitos microbianos, de manera que en el tapete se crean nichos especiales a diversos intervalos de profundidad. Los constructores de tapetes fotótrofos más abundantes y versátiles son cianobacterias filamentosas, fotótrofos oxigénicos, muchos de los cuales crecen en condiciones ambientales extremas. Por ejemplo, algunas especies de cianobacterias crecen en aguas con temperaturas de hasta 73 °C o de solo 0 °C, y otras toleran salinidades de más del 12 % y valores de pH de hasta 10.

Tapetes de cianobacterias

Los tapetes de cianobacterias son ecosistemas microbianos completos que contienen gran cantidad de **productores primarios** (cianobacterias y otras bacterias fotótrofas) que usan la energía lumínica para sintetizar materia orgánica nueva a partir de CO_2. Estos microorganismos, junto con las poblaciones de consumidores del tapete, median en todos los ciclos de nutrientes clave. Aunque los ecosistemas de los tapetes microbianos han existido desde hace más de 3.500 millones de años, la evolución de los metazoos depredadores y la competencia con los macrófitos (plantas acuáticas) provocó su declive hace unos 1.000 millones de años.

Hoy en día, los tapetes microbianos se desarrollan solamente en ambientes acuáticos en los que las agresiones ambientales específicas restringen la depredación y la competencia, condiciones que se encuentran sobre todo en hábitats hipersalinos o geotérmicos. Los tapetes microbianos mejor estudiados se encuentran en cubetas hipersalinas de evaporación solar, ya sean formadas de manera natural como el lago Solar (Sinaí, Egipto), o construidas para recuperar la sal marina (Figura 19.9*a*). Como la existencia de los tapetes microbianos está restringida a ambientes extremos, la mayoría se encuentran en sitios remotos y muchos no son fácilmente accesibles para su estudio. En cambio, los tapetes de cianobacterias que colonizan los canales de salida de las fuentes termales del parque nacional de Yellowstone (EE. UU.) y otras muchas regiones termales del mundo son fácilmente accesibles a la investigación científica (Figura 19.9*b*, *c*).

La estructura química y biológica de un tapete microbiano puede cambiar drásticamente en un período de veinticuatro horas (llamado *ciclo circadiano*) como consecuencia del cambio en la intensidad de la luz. Con microsensores (↔ Sección 18.8) es posible medir el pH, el sulfuro de hidrógeno y el oxígeno repetidamente a lo largo de un ciclo circadiano en zonas del tapete separadas verticalmente por solo unos micrómetros. Durante el día existe una intensa producción de oxígeno en la capa superficial fótica de los tapetes microbianos, y una activa reducción de sulfato en las regiones inferiores. Cerca de la zona en la que el oxígeno y el sulfuro de hidrógeno empiezan a mezclarse, la intensa actividad metabólica de las bacterias del azufre fotótrofas y quimiolitótrofas puede consumir estos sustratos rápidamente en distancias verticales muy cortas. La detección de la velocidad de estos cambios pone de manifiesto las zonas de mayor actividad microbiana (Figura 19.9*c*). Estos gradientes

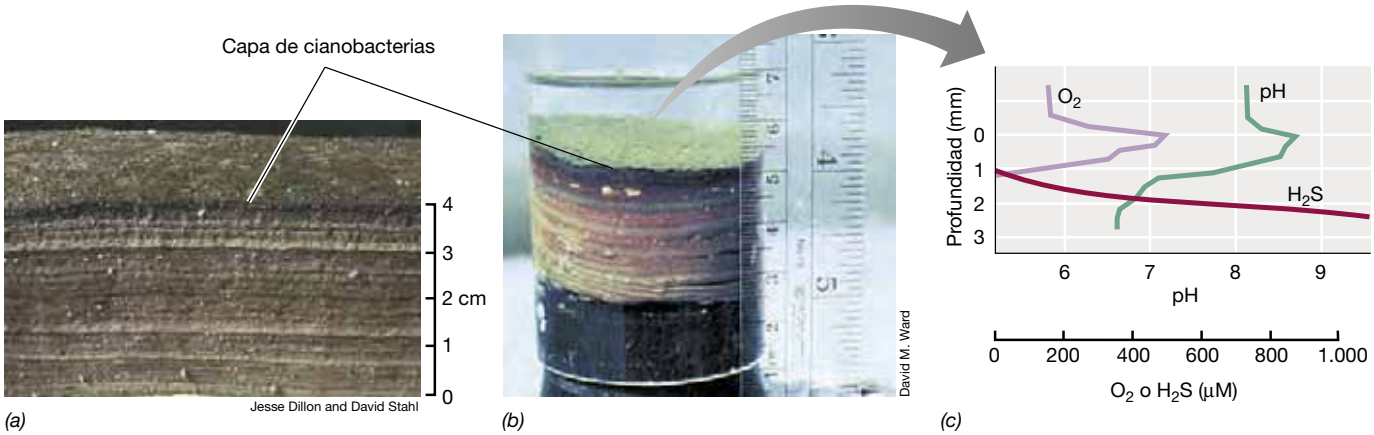


Figura 19.9 **Tapetes microbianos.** *(a)* Muestra de tapete recogida del fondo de un estanque hipersalino en Guerrero Negro (Baja California, México). La mayor parte del fondo de este estanque poco profundo está cubierto con tapetes formados por el principal productor primario, la cianobacteria filamentosa *Microcoleus chthonoplastes*. *(b)* Cilindro de muestreo de un tapete microbiano de una fuente termal alcalina del parque nacional de Yellowstone (EE. UU.). La capa superior (verde) contiene principalmente cianobacterias, mientras que las capas rojizas contienen bacterias fotótrofas anoxigénicas. *(c)* Perfiles de oxígeno, sulfuro de hidrógeno y pH a través de un tapete microbiano de una fuente termal como el que se muestra en *b*.

desaparecen por la noche, cuando todo el tapete se vuelve anóxico y se acumula el sulfuro de hidrógeno. Algunos organismos del tapete aprovechan su motilidad para seguir el desplazamiento de los gradientes químicos. Por ejemplo, las bacterias fotótrofas filamentosas oxidadoras de azufre como *Chloroflexus* y *Roseiflexus* (↔ Sección 14.7) siguen el movimiento arriba y abajo de la interfase O_2–H_2S siguiendo el ciclo circadiano.

Tapetes quimiolitótrofos

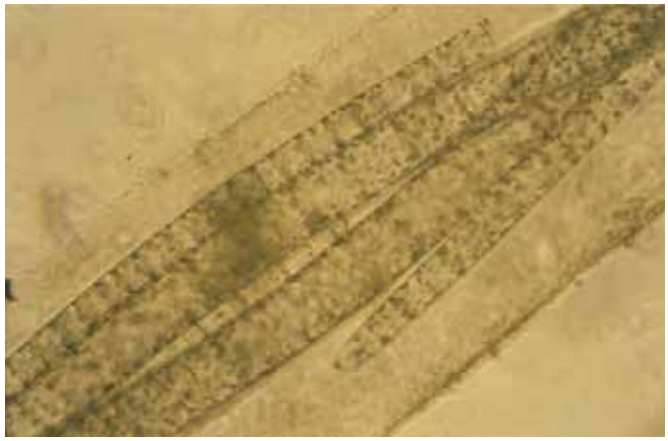
Los tipos más habituales de tapetes quimiolitótrofos están compuestos por bacterias filamentosas oxidadoras de azufre, como las especies de *Beggiatoa* y *Thioploca*, que crecen en la superficie de sedimentos marinos, en la interfase entre el oxígeno suministrado por el agua que hay por encima y el sulfuro de hidrógeno producido por las bacterias reductoras del sulfato que viven en los sedimentos. En estos hábitats, las bacterias oxidan el sulfuro de hidrógeno para facilitar la obtención de energía y las reacciones autótrofas (↔ Secciones 13.8 y 14.11).

Los tapetes quimiolitótrofos compuestos de especies de *Thioploca* oxidadoras de azufre en sedimentos de la plataforma continental chilena y peruana se consideran los tapetes microbianos más extensos de la Tierra (**Figura 19.10**). *Thioploca* ha desarrollado una importante estrategia para unir recursos espacialmente separados. Estos organismos de los tapetes quimiolitótrofos contienen grandes vacuolas internas que almacenan altas concentraciones de nitrato (NO_3^-) como aceptor de electrones para la respiración anaeróbica. De manera similar a un submarinista que llena los tanques con oxígeno para sumergirse en el agua, las células de *Thioploca* migran a la superficie del sedimento para cargar sus vacuolas internas con nitrato de la columna de agua (Figua 19.10*a*, *b*). A continuación regresan (se sumergen) a las profundidades anóxicas del sedimento (deslizándose a velocidades de entre 3 mm y 5 mm por hora) para usar su NO_3^- almacenado como aceptor de electrones para la oxidación del H_2S.

Las estructuras físicas y biológicas de las biopelículas y de los tapetes microbianos están determinadas por interacciones metabólicas entre los microorganismos y por la difusión de los nutrientes. Así, a medida que las biopelículas se forman en una superficie se van haciendo progresivamente más complejas, y



(a)



(b)



(c)

Andreas Teske and Markus Huettel

Figura 19.10 **Tapetes de *Thioploca*.** *(a, c)* Los filamentos de *Thioploca,* gran quimiolitótrofo oxidador de azufre, se extienden en el agua por encima del sedimento (a 87 m de profundidad) en la bahía de Concepción, frente a la costa chilena. *(b)* De 10 a 20 filamentos (tricomas) agrupados en un manojo envueltos por una vaina gelatinosa; cada manojo tiene aproximadamente 1,5 mm de diámetro y entre 10–15 cm de longitud. Normalmente dos especies de *Thioploca* conviven en la misma vaina: *T. chileae*, de unos 20 μm de diámetro, y *T. araucae*, de unos 40 μm de diámetro. Los tricomas individuales se deslizan independientemente por dentro de las vainas y se pueden extender hasta 3 cm en el agua. Véase en la página 679 otro ejemplo de bacterias filamentosas oxidadoras de sulfuro y su estrategia metabólica exclusiva.

de esta manera generan nuevos nichos para organismos con distinta fisiología. La diversidad alcanza su máximo en los tapetes microbianos maduros (Figura 19.9); estas estructuras han demostrado estar entre las comunidades microbianas más complejas caracterizadas hasta ahora mediante muestreo molecular de la comunidad (↬ Sección 18.5).

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué es un tapete microbiano?
- ¿Cómo responden las bacterias aerobias con motilidad de un tapete microbiano a los cambios en la concentración de oxígeno a lo largo de un ciclo circadiano?

III • Ambientes terrestres

En nuestro planeta hay extensos hábitats microbianos en dos ambientes terrestres que se parecen entre sí en la falta de luz solar, en que son periódica o permanentemente anóxicos y por compartir otras características fisicoquímicas. Estos dos ambientes terrestres son los suelos y el agua atrapada en los suelos y las rocas. En cada una de las dos secciones siguientes trataremos estos hábitats microbianos, y en cada caso empezaremos con la parte abiótica del ambiente y concluiremos con un análisis de las comunidades microbianas que lo habitan.

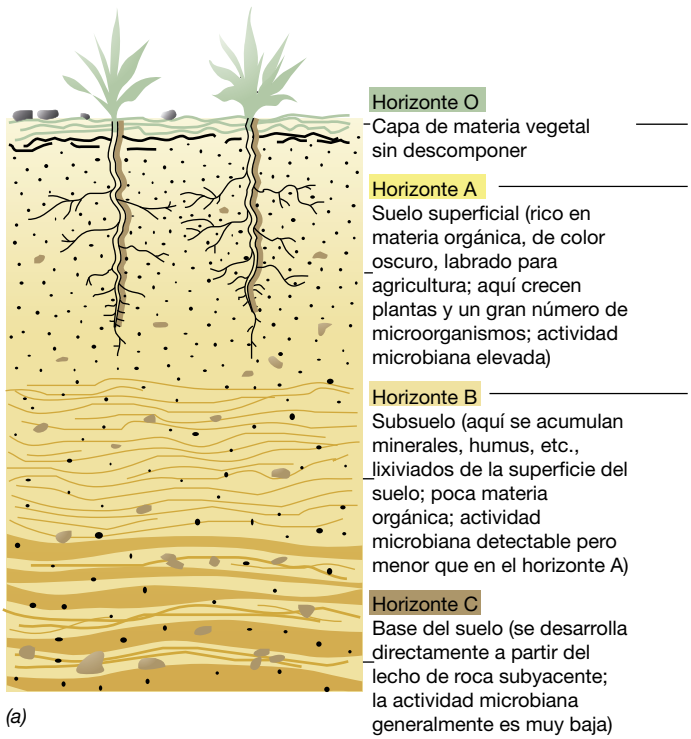
19.6 Suelos

La palabra *suelo* se refiere al material exterior suelto que hay en la superficie de la Tierra, una capa distinta de la roca madre subyacente (**Figura 19.11**). El suelo se desarrolla durante largos períodos de tiempo a través de interacciones complejas entre los materiales geológicos de origen (rocas, arena, material arrastrado por los glaciares, etcétera), la topografía, el clima y la presencia y actividad de los organismos vivos.

Los suelos se pueden dividir en dos grandes grupos: los *suelos minerales*, que derivan de la erosión de las rocas y otros materiales inorgánicos, y los *suelos orgánicos*, que proceden de la sedimentación en turberas y terrenos pantanosos. La mayoría de los suelos son una mezcla de estos dos tipos básicos. Si bien los suelos minerales, que son el tema principal de esta sección, predominan en la mayoría de los ambientes terrestres, existe un interés creciente en la función que los suelos orgánicos ejercen en el almacenamiento del carbono. Para la ciencia del cambio climático es imprescindible tener un conocimiento exhaustivo del almacenamiento (sumideros) y las fuentes (como la liberación de CO_2) de carbono. El ciclo del carbono se estudia en el Capítulo 20.

Composición y formación del suelo

Los suelos con vegetación tienen al menos cuatro componentes: 1) materia mineral inorgánica, normalmente cerca del 40 % del volumen del suelo; 2) materia orgánica, normalmente un 5 %; 3) aire y agua, prácticamente el 50 %, y 4) microorganismos y macroorganismos, alrededor del 5 %. En el suelo se encuentran partículas de diferentes tamaños. Para el estudio del suelo se clasifican las partículas según su tamaño: las que están en el rango de 0,1 mm a 2 mm de diámetro se llaman *arena*, las que miden entre 0,002 mm y 0,1 mm, *limo*, y las que tienen menos de 0,002 mm reciben el nombre de *arcilla*. Las diferentes texturas de suelo reciben nombres como «arcilla arenosa» o «arcilla limosa» según los porcentajes de arena, limo o arcilla



(a)



Michael T. Madigan

(b)

Figura 19.11 Suelo. *(a)* Perfil de un suelo maduro. Los horizontes del suelo son zonas definidas por la edafología. *(b)* Fotografía de un perfil de suelo que muestra los horizontes O, A y B. Este suelo de Carbondale (Illinois, EE. UU.) es rico en arcilla y muy compacto. Estos suelos no están tan bien drenados como los ricos en arena. Obsérvese la clara diferencia de colores entre el horizonte A, rico en materia orgánica, y el horizonte B, menos rico.

que contengan. Un suelo en el que ningún tamaño de partícula domina sobre otro se dice que es de *textura franca*.

Tanto los procesos físicos como los químicos y los biológicos contribuyen a la formación del suelo. Un examen de prácticamente cualquier roca expuesta revela la presencia de algas, líquenes o musgos. Estos organismos son fotótrofos y producen materia orgánica, que permite el crecimiento de bacterias quimioorganótrofas y hongos. Después, a medida que aumenta la cantidad de estos organismos colonizadores, se van desarrollando comunidades quimioorganótrofas más complejas de bacterias, arqueas y eucariotas. El dióxido de carbono que se produce durante la respiración se disuelve en el agua para formar ácido carbónico (H_2CO_3), que disuelve las rocas lentamente, especialmente las que contienen caliza ($CaCO_3$). Además, muchos quimioorganótrofos excretan ácidos orgánicos, que también ayudan a la disolución de las rocas en partículas más pequeñas.

La congelación, el deshielo y otros procesos físicos participan en la formación de suelo mediante la formación de grietas en las rocas. Cuando las partículas generadas se combinan con la materia orgánica se forma un suelo crudo en estas fisuras que proporciona el sitio necesario para que se establezcan las primeras plantas. Las raíces de las plantas penetran más profundamente en las fisuras y siguen fragmentando la roca; las excreciones de las raíces favorecen el desarrollo en la **rizosfera** (el suelo que rodea las raíces de las plantas y recibe las secreciones vegetales) de gran abundancia de células microbianas (Figura 19.4*a*). Al morir las plantas, sus restos se integran en el suelo y se convierten en nutrientes que favorecen el aumento del desarrollo microbiano. Los minerales se solubilizan, y a medida que el agua percola transporta parte de estas sustancias a zonas más profundas del suelo.

A medida que se produce la meteorización, el suelo aumenta en profundidad y se vuelve apto para el desarrollo de plantas más grandes y de pequeños árboles. Los animales del suelo como los gusanos colonizan el suelo y desempeñan una función importante en el mantenimiento de las capas superiores mezcladas y aireadas. Con el tiempo, el movimiento de materiales hacia el interior ocasiona la formación de capas de suelo, en lo que se llama un *perfil edáfico* (Figura 19.11). La velocidad de desarrollo de un perfil edáfico típico depende del clima y otros factores, pero puede llevar entre cientos y miles de años.

Disponibilidad de agua: suelos con vegetación y suelos áridos como hábitats microbianos

Los nutrientes limitantes de los suelos suelen ser nutrientes inorgánicos como el fósforo y el nitrógeno, que son componentes fundamentales de diversas clases de macromoléculas. Otro factor importante que afecta a la actividad microbiana en el suelo es la disponibilidad de agua; ya hemos subrayado anteriormente la importancia del agua para el crecimiento microbiano (↻ Sección 5.15).

El agua es un componente del suelo altamente variable, y el contenido de agua en el suelo depende de la composición de este, de la pluviosidad, del drenaje y de la cubierta vegetal. El agua se conserva en el suelo de dos maneras: por adsorción a las superficies o como agua libre en delgadas capas o películas entre las partículas de suelo (**Figura 19.12**). El agua presente en los suelos tiene material disuelto, y la mezcla recibe el nombre

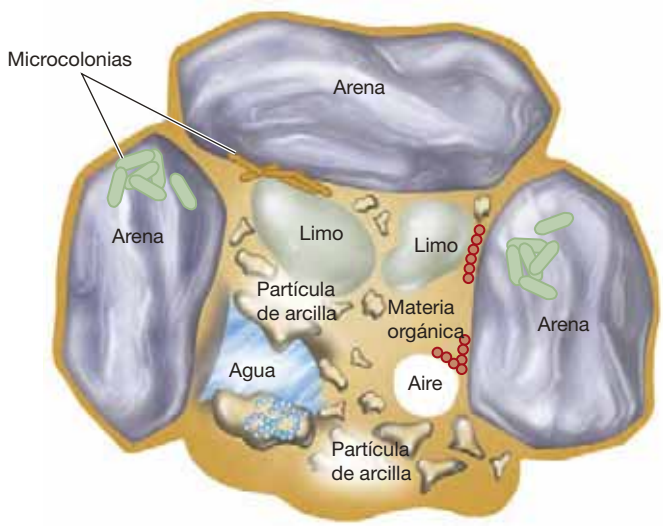


Figura 19.12 Un hábitat microbiano del suelo. Muy pocos microorganismos están libres en la disolución del suelo; la mayor parte de ellos residen en microcolonias adheridas a las partículas de suelo. Obsérvese la diferencia de tamaño relativo entre las partículas de arena, arcilla y limo.

de *solución edáfica* o *solución del suelo*. En suelos bien drenados, el aire penetra fácilmente y la concentración de oxígeno en la solución edáfica puede ser alta, parecida a la que existe en la superficie del suelo. En suelos encharcados, sin embargo, el único oxígeno presente es el que se encuentra disuelto en el agua, y es consumido rápidamente por la microbiota residente. Entonces, estos suelos se vuelven anóxicos y, como veremos para ambientes de agua dulce (Sección 19.8), presentan cambios profundos en su actividad biológica. El suelo también tiene agua en grandes canales, donde el flujo global es importante para el transporte rápido de los microorganismos, sus sustratos y sus productos.

Suelos áridos

La mayor parte de la actividad microbiana en el suelo se produce en las capas superficiales ricas en materia orgánica en el interior y alrededor de la rizosfera (Figura 19.4*a*). No obstante, algunos suelos son tan secos que la cubierta vegetal está muy limitada y solo pueden vivir bien allí algunas comunidades microbianas especiales. Se trata de los *suelos áridos*, y aproximadamente el 35 % de la masa continental de la Tierra es árida de manera permanente o estacional. La aridez se define mediante el *índice de aridez*, expresado como la relación entre la precipitación y la evapotranspiración potencial (P/PET). La evapotranspiración es la suma del agua que se pierde por evaporación y la que se pierde por transpiración de las plantas. Una región se clasifica como árida cuando tiene un P/PET menor de 1; es decir, la cantidad de agua que se adquiere por precipitación (y por la niebla y el rocío) es inferior a la que se pierde por evapotranspiración.

Los suelos áridos están entre los ambientes más extremos de la Tierra, con máximos de temperatura que superan los 60 °C y mínimos de −24 °C, alta insolación (exposición a los rayos solares) y baja actividad hídrica. Aunque las regiones áridas no suelen tener plantas con hojas, mantienen grandes comunidades microbianas que se agrupan cerca de la superficie y la estabilizan, y habitan dentro de las rocas y sobre ellas. Los

microorganismos dominantes en estos ambientes con limitación de carbono son cianobacterias, y en menor medida algas verdes, hongos, bacterias heterótrofas, líquenes y musgos.

Entre los hábitats microbianos de las tierras áridas se encuentran las *costras biológicas del suelo* (CBS) (**Figura 19.13**), las superficies ventrales de los minerales translúcidos (colonizadores *hipolíticos*), las superficies expuestas de las rocas (colonizadores *epilíticos*) y los espacios interiores de los poros, grietas y fisuras de las rocas (colonizadores *endolíticos*). Las costras del suelo están dominadas por especies de la cianobacteria *Microcoleus* (Figura 19.13*b*, *c*), mientras que las poblaciones endolíticas predominantes son especies cocoides de *Chroococcidiopsis*. Como se ha descrito más arriba, los colonizadores de rocas desempeñan una importante función en la meteorización y formación de suelos; aquí estudiaremos fundamentalmente las comunidades de las CBS.

Las CBS tienen una función fundamental en la estabilización del suelo en los ecosistemas desérticos. La estabilización es fundamental debido a la baja velocidad de formación del suelo desértico (menos de un centímetro cada mil años). Aquí, las cianobacterias filamentosas (*Microcoleus*) y los hongos proporcionan cohesión al suelo, que también es estabilizado en su parte superior por los líquenes y los musgos cuando están presentes. Cabe destacar que esta red microbiana elimina la erosión causada por el viento y el agua. Las CBS son determinantes en la infiltración del agua e influyen en los ciclos hidrológicos locales y en la disponibilidad de agua para la vegetación. Hay que destacar que, cuando las condiciones de humedad y temperatura son óptimas, las tasas fotosintéticas de las CBS son comparables a las de las hojas de las plantas vasculares. Las cianobacterias y otras bacterias fijadoras de nitrógeno (↻ Secciones 3.17, 7.13 y 14.3) aportan nitrógeno y gran parte del nitrógeno fijado es liberado inmediatamente y puesto a disposición del resto de biota del suelo.

La alteración de las CBS contribuye en gran medida a la *desertificación*, un proceso exacerbado por el cambio climático y la actividad humana. Las tormentas de polvo provocadas por la destrucción de las CBS reducen la fertilidad del suelo, y cuando las densas masas de polvo se depositan sobre nieves perpetuas cercanas, aceleran su fusión y la tasa de evapotranspiración, lo cual reduce la llegada de agua dulce a los ríos. Cuando se deterioran, las costras del suelo tienen un tiempo de recuperación de entre 15 y 50 años. Dada la amplia presencia terrestre de las CBS, su importancia para los humanos y para el ecosistema, y el aumento esperado de la aridez asociada al cambio climático, para la buena salud del planeta es importante comprender mejor la formación de las costras y la rehabilitación de las que se deterioran.

Instantánea filogenética de la diversidad procariótica del suelo

Como hemos visto en la Figura 19.3, una sola partícula de suelo puede contener muchos microambientes diferentes y, por tanto, sustentar el crecimiento de varios tipos fisiológicos de microorganismos. Para examinar las partículas de suelo directamente en busca de microorganismos se suelen emplear microscopios de fluorescencia, con los organismos del suelo previamente teñidos con un colorante fluorescente. Para visualizar un microorganismo específico en una partícula de suelo también se puede usar la tinción con anticuerpos o sondas génicas fluorescentes (↻ Secciones 18.3, 18.4). También se pueden observar microorganismos en la superficie del suelo directamente mediante microscopía electrónica de barrido (Figura 19.13*b*, *c*).

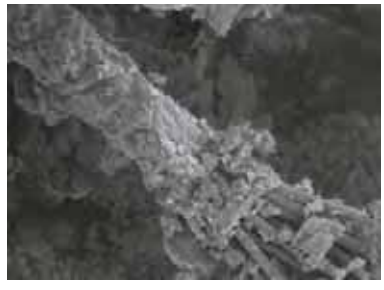
En el Capítulo 18 aprendimos que el análisis de las secuencias de los genes de RNA ribosómico 16S (rRNA) obtenidos del ambiente se pueden usar como medida de la diversidad procariótica (↻ Sección 18.5). Hasta el momento no se han



(a)



(b)



(c)

Figura 19.13 Costras biológicas del suelo (CBS). *(a)* CBS en la meseta del Colorado, adyacente a suelos ligeramente más alterados. *(b, c)* Micrografías electrónicas de barrido de cianobacterias filamentosas (especies de *Microcoleus*) que unen granos de arena con el material de su vaina. Los granos de arena de la parte *b* tienen un diámetro de unos 100 μm, y el diámetro de los filamentos de la parte *c* es de unos 5 μm.

caracterizado comunidades naturales con estas técnicas de manera tan extensiva como para identificar todas las especies residentes. No obstante, dentro de unos límites, este método se considera una medida muy válida de la diversidad microbiana y evita los graves problemas de sesgo de enriquecimiento que afectan a los estudios de diversidad basados en técnicas de cultivo (↔ Sección 18.1). En esta sección y en otras secciones de este capítulo presentamos una instantánea filogenética de los principales hábitats microbianos, con el objetivo no tanto de ofrecer datos absolutos como de destacar las tendencias y los patrones que se dan en ellos.

El muestreo molecular de la comunidad de una superficie típica con vegetación presenta *miles* de especies diferentes de bacterias y arqueas en un solo gramo de suelo, lo que refleja, probablemente, los numerosos microambientes que se pueden encontrar allí. Operativamente, una «especie» se define en este caso como una secuencia génica del rRNA 16S obtenida de una comunidad microbiana que se diferencia de las otras secuencias en más de un 3 % (↔ Sección 12.8). Este tipo de secuencias ambientales se llaman *filotipos*. Además de hacer patente que

el número de especies es muy grande, los estudios de diversidad microbiana en el suelo también nos muestran que la diversidad varía con el tipo de suelo y la localización geográfica. Por ejemplo, el análisis de un suelo boscoso en Alaska, un suelo de pradera en Oklahoma y un suelo de granja en Minnesota (todos ellos lugares de los EE. UU.) puso de manifiesto aproximadamente 5.000, 3.700 y 2.000 filotipos diferentes, respectivamente. Los suelos de Alaska y Minnesota presentaron distribuciones parecidas a nivel taxonómico de filo (por ejemplo, *Proteobacteria*, *Acidobacteria*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Verrucomicrobia* y *Planctomycetes*), pero solo compartían el 20 % de las especies. Esto indica que aunque las *proporciones* de los filos dominantes en diferentes suelos son relativamente constantes, las *especies reales presentes* de un filo pueden variar considerablemente entre suelos diferentes. Además, se observó menos diversidad bacteriana en el suelo de granja que en el suelo de Alaska, probablemente porque las modernas prácticas agrícolas intensivas se basan en gran medida en la fertilización, la baja diversidad vegetal y la eliminación con sustancias químicas de plantas y animales no deseados.

En la **Figura 19.14** se muestra la composición general de las comunidades procarióticas del suelo basada en los datos conjuntos de las secuencias del rRNA 16S tomadas de varios suelos. Como se puede ver, las proteobacterias (Capítulos 14 y 15) constituyen prácticamente la mitad del total de los filotipos recuperados, con representación de todos los grandes subgrupos excepto *Epsilonproteobacteria*. *Acidobacteria* y *Bacteroidetes* también son grupos abundantes; *Actinobacteria* y *Firmicutes* lo son menos. Además de estos, una proporción importante de filotipos del suelo son especies sin clasificar o miembros de grupos bacterianos minoritarios. Esto reafirma la gran diversidad bacteriana típica de los ecosistemas edáficos. A diferencia de lo que ocurre con las bacterias, la diversidad de las arqueas en el suelo es mínima, y hay representadas relativamente pocas secuencias dentro de cada gran filo (*Euryarchaeota*, *Thaumarchaeota* y *Crenarchaeota*). No obstante, es posible que la diversidad sea mayor que la observada hasta ahora, ya que ha habido pocos estudios selectivos de diversidad arqueana en suelos.

Un estudio semejante al que se muestra en la Figura 19.14 pero llevado a cabo en un suelo contaminado con hidrocarburos mostró que el panorama taxonómico general de los suelos contaminados y sin contaminar es parecido: el taxón *Proteobacteria* ocupa la mayor fracción en ambos tipos de suelos, seguido de una representación significativa de acidobacterias, *Bacteroidetes*, actinobacterias y *Firmicutes*. Sin embargo, se observó un desplazamiento significativo de la representación fraccionaria de estos taxones en los dos suelos. Los suelos contaminados están enriquecidos en actinobacterias y euriarqueotas, pero cuentan con menos *Bacteroidetes*, acidobacterias y bacterias sin clasificar respecto de los suelos no contaminados. Cabe destacar que el taxón *Crenarchaeota* está ausente de todos los estudios de suelos contaminados con hidrocarburos, lo que sugiere que los contaminantes hidrocarbonados impiden el crecimiento de crenarqueotas y de taumarqueotas, estas últimas oxidadoras de amoniaco (*Archaea*, ↔ Secciones 16.6, 16.9). El efecto de la contaminación con hidrocarburos en las bacterias se refleja en una mayor proporción de gammaproteobacterias y un solo filotipo dominante de *Bacteroidetes*. En cambio, los suelos no contaminados contienen varios filotipos de *Bacteroidetes* (Figura 19.14). La diversidad de las acidobacterias, uno de los principales grupos en los suelos no contaminados, también se ve reducida significativamente en los suelos contaminados (Figura 19.14).

Aunque se desconoce la importancia *funcional* de la diversidad observada en las comunidades microbianas de suelos contaminados en comparación con los no contaminados, las diferencias observadas indican que los dos suelos probablemente diferirán en su capacidad para procesar el carbono y el nitrógeno y para llevar a cabo otros procesos importantes de los ciclos de nutrientes. No obstante, a pesar de esta falta de conexión funcional, diversos análisis de genes del rRNA 16S de suelos coinciden en dos aspectos: 1) los suelos inalterados y no contaminados permiten una gran diversidad procariótica, y 2) las alteraciones en un suelo desencadenan cambios medibles en la composición de la comunidad, presumiblemente favoreciendo especies más competitivas en el ambiente del suelo alterado, y una reducción global de la diversidad procariótica.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué filo de *Bacteria* domina la diversidad bacteriana en los suelos con vegetación?
- ¿Qué factores rigen el grado y el tipo de actividad microbiana en los suelos?
- ¿Qué región del suelo es la más activa desde el punto de vista microbiano?

19.7 El subsuelo

En los suelos y las rocas del subsuelo de la Tierra hay agua. Esta *agua subterránea*, es un hábitat microbiano muy amplio pero poco explorado (véase Microbiología Actual, página 403). Hace tan solo tres décadas, la mayoría de los microbiólogos creían que las cantidades significativas de microorganismos se limitaban más o menos a los cien metros superiores de la corteza terrestre. Sin embargo, a partir de las investigaciones realizadas gracias al desarrollo de la tecnología mejorada de perforación

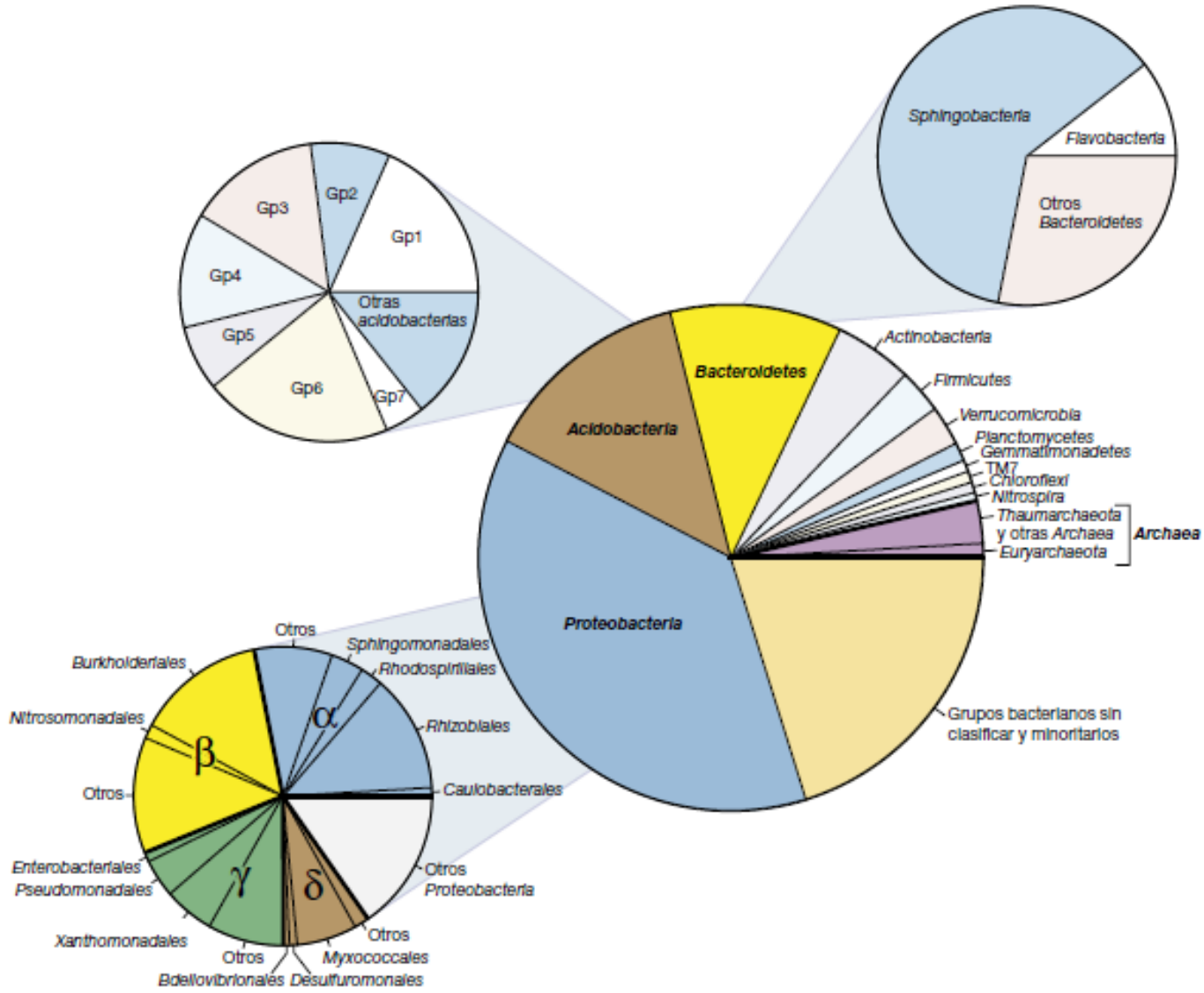


Figura 19.14 **Diversidad procariótica del suelo.** Los datos son los resultados de análisis conjuntos de 287.933 secuencias en varios estudios del contenido de genes del rRNA 16S de ambientes del suelo. Muchos de estos grupos se han tratado en los Capítulos 14 y 15 (*Bacteria*) o 16 (*Archaea*). Para *Proteobacteria*, *Acidobacteria* y *Bacteroidetes* se indican los subgrupos principales (Gp, grupo). Obsérvese la gran riqueza de especies indicada por la gran proporción del total de la comunidad compuesta por grupos bacterianos sin clasificar o por grupos bacterianos minoritarios. Obsérvese también la proporción relativamente baja de la comunidad procariótica total del suelo que está formada por *Archaea*, y que muchas de las arqueas del suelo no guardan ninguna relación cercana con *Euryarchaeota* ni *Crenarchaeota* conocidos. Los datos han sido agrupados y analizados por Nicolas Pinel.

y muestreo aséptico, en la actualidad se sabe que la vida microbiana se extiende hasta al menos *3 kilómetros* hacia el interior de la Tierra, en regiones que contienen agua atrapada. La microbiología del agua subterránea relativamente superficial es bastante similar a la microbiología del suelo. No obstante, en el agua del subsuelo profundo existen microorganismos a temperaturas que pueden superar los 50 °C y en entornos anóxicos y con pocos nutrientes. ¿Qué sabemos de estos organismos?

Microbiología del subsuelo profundo

Inicialmente, la microbiología del subsuelo se centró en los sistemas de acuíferos relativamente superficiales y de fácil acceso, y puso de manifiesto la existencia de poblaciones diversas de arqueas y bacterias y una presencia limitada de protozoos y hongos. Un *acuífero* es una capa subterránea de material permeable que contiene agua, como las rocas fracturadas o la grava. Los microorganismos de los acuíferos son metabólicamente activos y tienen una gran influencia en la química del agua subterránea. Por ejemplo, la presencia de hierro ferroso (Fe^{2+}) en el agua subterránea se puede atribuir, en gran medida, a la actividad de los microorganismos como *Geobacter*, que reducen el hierro férrico (Fe^{3+}) como aceptor de electrones (↷↷ Sección 13.21).

El tiempo que una masa de agua permanece en una región del subsuelo va de semanas a millones de años, dependiendo de su proximidad a la superficie y de la velocidad de recarga (desplazamiento del agua superficial al subsuelo). El aislamiento a largo plazo de microorganismos en el agua subterránea del subsuelo

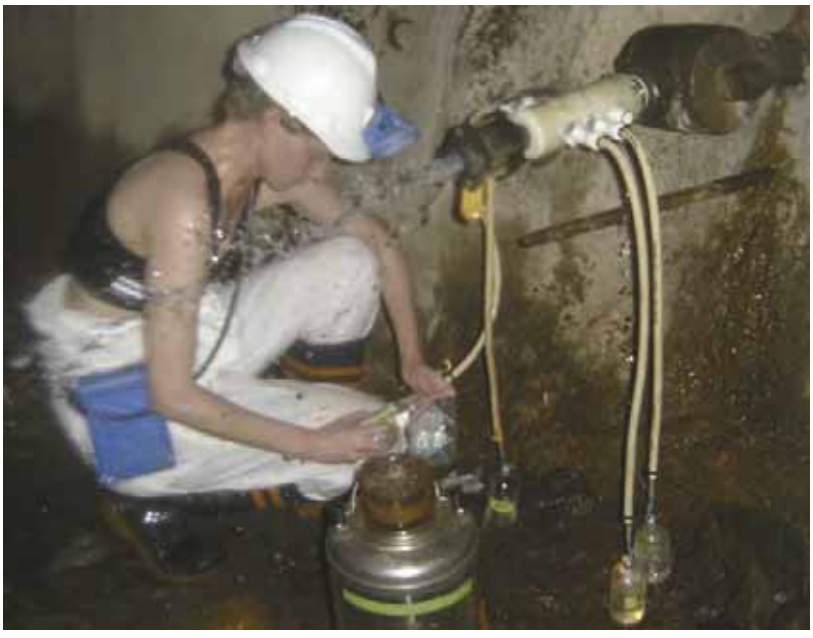
profundo que no ha experimentado recarga se ha sugerido como mecanismo para la especiación *alopátrica* (la emergencia de una nueva especie microbiana como consecuencia del aislamiento geográfico). No obstante, la diversidad microbiana descubierta en el subsuelo hasta ahora mediante técnicas que no están basadas en el cultivo (Capítulo 18) no ha sido, en su mayor parte, destacable; los organismos se parecen mucho a las especies de la superficie o de cerca de la superficie.

La investigación de la biosfera microbiana profunda ha estado facilitada por las operaciones de minería y perforación que ponen al descubierto el agua de las rocas fracturadas a grandes profundidades. Por ejemplo, las muestras recogidas en una mina de oro de casi 3 km de profundidad en Sudáfrica (**Figura 19.15**) revelaron la presencia de bacterias y arqueas quimiolitótrofas y autótrofas. El DNA extraído del agua de las fisuras mostró que prácticamente el único organismo presente era una bacteria reductora de sulfato y oxidadora de hidrógeno. El análisis genómico del organismo, hasta el momento sin cultivar pero al que se le ha dado el nombre provisional de *Desulforudis audaxviator*, indicó que debía de ser termófilo y capaz de crecer de manera autótrofa usando hidrógeno molecular como donador de electrones para la respiración y la fijación de dióxido de carbono. Además, el organismo contenía genes que codificaban proteínas para la fijación de nitrógeno (↻ Sección 3.17), lo que significa que podía vivir con una dieta de pocos minerales, CO_2, SO_4^{2-}, N_2 e H_2. Un organismo de estas características estaría bien adaptado al aislamiento a largo plazo en el subsuelo profundo y sería un modelo para los tipos de fisiología que esperaríamos encontrar en un ambiente con tal deficiencia de nutrientes.

Posibles fuentes de hidrógeno para los quimiolitótrofos del subsuelo profundo son la radiólisis de agua por el uranio, el torio y otros elementos radiactivos, y procesos geoquímicos como la liberación de hidrógeno a partir de la oxidación de minerales de silicato de hierro en los acuíferos. Como donador de electrones, el hidrógeno molecular puede cubrir las necesidades de las bacterias que llevan a cabo muchas respiraciones anaeróbicas diferentes, como la reducción de sulfato, la metanogénesis, la acetogénesis y la reducción de hierro férrico (Capítulo 13), y se han identificado ejemplos de todos estos tipos de fisiología en diversos proyectos de investigación de microbiología del subsuelo. Así pues, actualmente la opinión general es que estos tipos de quimiolitótrofos probablemente dominan el subsuelo profundo.

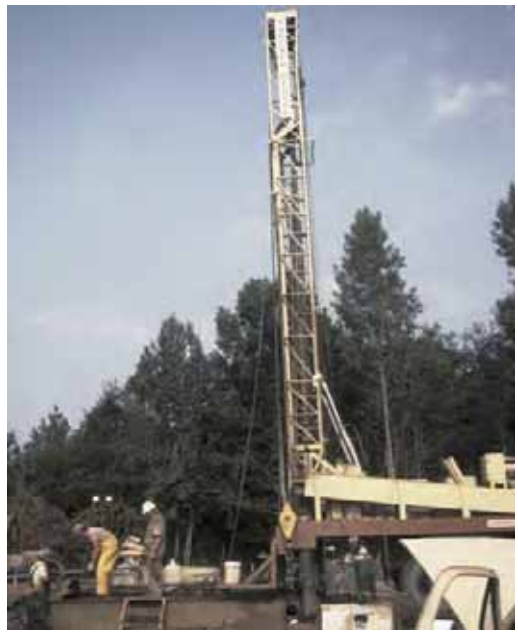
Velocidades de crecimiento y el futuro de la microbiología del subsuelo

Las cantidades de bacterias en aguas subterráneas sin contaminar varían en diversos órdenes de magnitud (de 10^2-10^8 por ml), lo cual refleja, principalmente la disponibilidad de nutrientes, sobre todo en forma de carbono orgánico disuelto. Los tiempos de generación medidos y estimados para las bacterias del subsuelo profundo varían en muchos órdenes de magnitud, de días a siglos, según el ambiente fisicoquímico, la fisiología de las poblaciones residentes y la disponibilidad de nutrientes. No obstante, los datos relevantes son escasos y nuestro conocimiento de la ecología microbiana del subsuelo avanzará de manera notable gracias a tecnologías emergentes como la genómica de células individuales, que las caracteriza en su ambiente natural (Capítulo 6, Explorando el mundo microbiano «Genómica, una célula a la vez» y ↻ Sección 18.11). Por ejemplo, en el subsuelo con escasez de nutrientes, los microorganismos parecen estar adheridos a superficies o formando biopelículas, pero se desconoce si son genética o fisiológicamente diferentes de los microorganismos de las poblaciones planctónicas.



Esta van Heerden

(a)



Terry Hazen

(b)

Figura 19.15 **Obtención de muestras del subsuelo profundo.** *(a)* Obtención de muestra de agua caliente (55 °C) procedente de una fisura a una profundidad de 3.000 m en la mina de oro sudafricana de Tau Tona. *(b)* Perforación a 600 m en Allendale (Carolina del Sur, EE. UU.) para el Programa de Microbiología del Subsuelo Profundo del Departamento de Energía de los EE. UU.

Todas estas preguntas sin respuesta en la microbiología del subsuelo han llevado a establecer laboratorios científicos permanentes a grandes profundidades de la Tierra. Por ejemplo, el Sanford Underground Research Facility en Lead (Dakota del Sur, EE. UU.), se está construyendo a una profundidad de 2.400 m en la antigua mina de oro Homestake, con fondos públicos y privados para la investigación física, geológica y microbiológica. El Integrated Ocean Drilling Program, un proyecto internacional, busca poblaciones microbianas a grandes profundidades por debajo del lecho marino. Hasta ahora los resultados muestran la presencia de arqueas y bacterias a profundidades de hasta 1.600 m por debajo del lecho marino, en rocas de más de 100 millones de años. Aunque pueden parecer muy viejas, estas edades son relativamente jóvenes comparadas con las bacterias viables que se han recuperado de cristales de sal con casi 500 millones de años. Obviamente, las células procariotas pueden seguir siendo viables durante períodos de tiempo enormemente largos.

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué es posible la especiación alopátrica en el subsuelo profundo?
- ¿Qué factores ambientales determinan la abundancia y el tipo de células en el subsuelo profundo?

IV • Ambientes acuáticos

Los ambientes de agua dulce y agua salada difieren en muchos aspectos, como la salinidad, la temperatura media, la profundidad y el contenido en nutrientes, pero ambos proporcionan muchos hábitats excelentes para los microorganismos. En esta unidad nos centraremos primero en los hábitats microbianos de agua dulce. A continuación estudiaremos dos ambientes marinos: 1) las aguas costeras y oceánicas, y 2) las profundidades marinas. A partir de los estudios realizados con técnicas moleculares de ecología microbiana, especialmente tinciones genéticas, muestreo de comunidades microbianas y metagenómica (Capítulo 18) se está obteniendo mucha información nueva sobre los microorganismos marinos.

19.8 Ambientes de agua dulce

Los ambientes de agua dulce son muy variables en cuanto a recursos y condiciones (Tabla 19.1) disponibles para el crecimiento microbiano. En los ambientes acuáticos encontramos tanto organismos productores de oxígeno como consumidores de oxígeno, y el equilibrio entre la fotosíntesis y la respiración (Figura 19.2) controla los ciclos naturales del oxígeno, del carbono y de otros nutrientes (nitrógeno, fósforo, metales).

Entre los microorganismos, los fotótrofos oxigénicos comprenden las algas y las cianobacterias y pueden ser *planctónicos* (flotadores) y distribuidos por la columna de agua de los lagos, a veces acumulándose en gran cantidad a una profundidad determinada, o *bentónicos*, es decir, fijados al fondo o a los lados de un lago o un curso de agua. Los fotótrofos oxigénicos, que obtienen su energía de la luz y usan el agua como donador de electrones para reducir el CO_2 a materia orgánica (Capítulo 13), son los principales productores primarios en los ecosistemas acuáticos de agua dulce.

La actividad y la diversidad de las comunidades microbianas acuáticas quimioorganótrofas dependen en gran medida de la producción primaria, en concreto de su proporción y distribución espacial y temporal. Los fotótrofos oxigénicos producen nueva materia orgánica, así como O_2. Si el índice de producción primaria es muy alto, la materia orgánica resultante en exceso puede llevar al agotamiento del oxígeno en el agua del fondo a causa de la respiración, y al desarrollo de condiciones anóxicas. Esto a su vez estimula los metabolismos anaeróbicos, como las respiraciones anaeróbicas y las fermentaciones (Capítulo 13). Al igual que los fotótrofos oxigénicos, los fotótrofos anoxigénicos también pueden fijar CO_2 a materia orgánica. Pero estos organismos usan, como donadores de electrones para la fotosíntesis, sustancias reducidas diferentes del agua, como el sulfuro de hidrógeno o el hidrógeno (↔ Sección 13.3). La materia orgánica producida por los fotótrofos anoxigénicos también puede sustentar y estimular la respiración y acelerar así la propagación de la anoxia.

Relación con el oxígeno en los ambientes de agua dulce

La estructura biológica y nutritiva de los lagos recibe una gran influencia de los cambios estacionales en los gradientes físicos de temperatura y salinidad. En muchos lagos de climas templados, la columna de agua se estratifica, es decir, se separa en capas de características químicas y físicas diferentes que constituyen una **columna de agua estratificada**. Durante el verano, las capas superficiales más calientes y menos densas, llamadas **epilimnion**, se separan de las capas del fondo, más frías y densas (el **hipolimnion**). La *termoclina* o *metalimnion* es la zona de transición entre el epilimnion y el hipolimnion (**Figura 19.16**).

A finales del otoño y principios del invierno, el agua superficial de los lagos se enfría y se hace más densa que las capas del fondo. Esto, combinado con el efecto de mezclado que realiza el viento, hace que las aguas superficiales más frías se hundan y el lago «se invierta», con la consiguiente mezcla de aguas y nutrientes. La separación de una capa superficial relativamente bien mezclada de una capa profunda relativamente estática limita la transferencia de nutrientes entre capas hasta que el recambio del otoño mezcla de nuevo la columna de agua.

Durante los períodos de estratificación, la transferencia entre las aguas de superficie y las del fondo está controlada, no por el proceso de mezclado, sino por el de difusión, mucho más lento. Por consiguiente, las aguas del fondo pueden experimentar períodos estacionales en los que hay poco oxígeno disuelto o ninguno. Aunque el oxígeno es uno de los gases más abundantes de la atmósfera (el 21 % del aire), su solubilidad en el agua es relativamente limitada, y en una gran masa acuosa su intercambio con la atmósfera es lento. El que una masa de aire se quede sin oxígeno depende de varios factores, como la cantidad de materia orgánica presente y el grado de mezclado de la columna

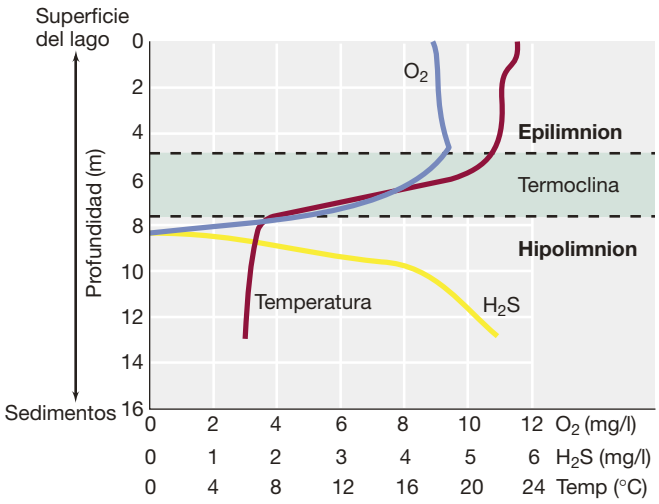


Figura 19.16 Desarrollo de condiciones anóxicas en un lago templado a causa de la estratificación estival. Las aguas más frías del fondo son más densas y contienen H_2S procedente de la reducción bacteriana de sulfato. La termoclina es la zona de cambio rápido de la temperatura. Cuando las aguas superficiales se enfrían en otoño y a principios de invierno, alcanzan la temperatura y densidad de las aguas del hipolimnion y se hunden, de manera que desplazan las aguas del fondo y se produce un recambio en el lago. Datos de un pequeño lago de agua dulce en el norte de Wisconsin (EE. UU.).

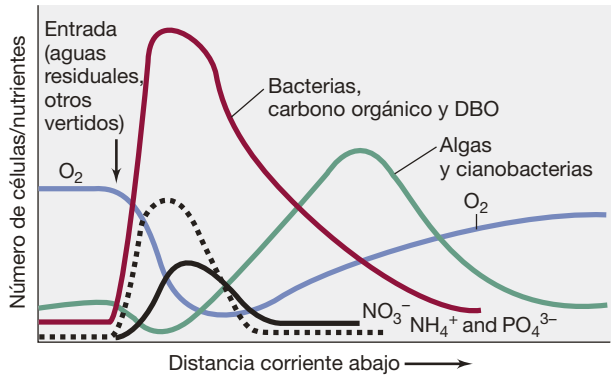
de agua. La materia orgánica que no se consume en las capas superficiales se hunde a las zonas más profundas y es descompuesta por los anaerobios (Figura 19.2). Los lagos pueden contener grandes cantidades de materia orgánica disuelta, ya que los nutrientes inorgánicos procedentes del agua de escorrentía de la zona circundante pueden desencadenar la proliferación de algas y cianobacterias; estos organismos normalmente excretan diversos compuestos orgánicos, y también liberan compuestos orgánicos al morir y descomponerse. La combinación de la estratificación de la masa de agua a principios de verano, la gran carga de materia orgánica y la limitada transferencia de oxígeno ocasiona el agotamiento del oxígeno en las aguas del fondo (Figura 19.16), lo que las convierte en inhabitables para los organismos aerobios como las plantas y los animales.

El ciclo de recambio anual permite que las aguas profundas de un lago pasen de óxicas a anóxicas, y que luego vuelvan a ser óxicas. Con estos cambios en el contenido de oxígeno se alteran la actividad microbiana y la composición de la comunidad, pero otros factores que acompañan el recambio otoñal de la columna de agua, especialmente los cambios de temperatura y concentración de nutrientes, determinan también la diversidad y la actividad microbiana. Si la materia orgánica escasea, como ocurre en los lagos cristalinos o en mar abierto, es posible que el sustrato disponible para que los quimioorganótrofos puedan consumir todo el oxígeno sea insuficiente. Los microorganismos que predominan en estos ambientes son normalmente **oligótrofos**, organismos adaptados a crecer en condiciones de gran dilución (Sección 19.11). Alternativamente, donde hay fuertes corrientes o hay turbulencias debidas a la mezcla provocada por el viento, la columna de agua puede estar bien mezclada y, en consecuencia, el oxígeno puede alcanzar las capas más profundas.

La concentración de oxígeno en los ríos y cursos de agua también es un dato interesante, especialmente en aquellos cursos que reciben aportes de materia orgánica procedente de la contaminación urbana, agrícola o industrial. Incluso en un río bien mezclado por causa del flujo rápido y las turbulencias, grandes aportes de materia orgánica pueden provocar un acusado déficit de oxígeno a causa de la respiración bacteriana (**Figura 19.17*a***). A medida que el agua se aleja de la fuente del aporte, por ejemplo en un aporte procedente de aguas residuales, la materia orgánica se consume gradualmente y el contenido de oxígeno vuelve a los niveles previos. Al igual que en los lagos, los aportes de nutrientes procedentes de aguas residuales y otros contaminantes a ríos y cursos de agua pueden provocar proliferaciones masivas de cianobacterias y algas (Figura 19.1) y plantas acuáticas (Figura 19.17*b*), lo cual disminuye la calidad general del agua y empeora las condiciones de crecimiento para los animales acuáticos.

Demanda bioquímica de oxígeno

La capacidad microbiana de consumir oxígeno que tiene una masa de agua es su **demanda bioquímica de oxígeno (DBO)**. Para determinar la DBO del agua se toma una muestra, se airea bien para saturar el agua con oxígeno disuelto, se introduce en una botella sellada, se incuba en oscuridad (normalmente 5 días



(a)



(b)

Figura 19.17 Efecto de la entrada de aguas residuales ricas en materia orgánica en los sistemas acuáticos. *(a)* En un río, cuando se produce un pico de materia orgánica aumenta el número de bacterias y disminuye la concentración de O_2. El aumento del número de algas y cianobacterias es una respuesta a los nutrientes inorgánicos, especialmente PO_4^{3-}. *(b)* Fotografía de un lago eutrófico (rico en nutrientes), el lago Mendota de Madison (Wisconsin, EE. UU.), que muestra la proliferación de algas, cianobacterias y plantas acuáticas en respuesta al aumento de nutrientes procedentes de vertidos agrícolas. (Véase también la Figura 19.1).

UNIDAD 4

a 20 °C) y se determina el oxígeno residual en el agua al final de la incubación. La determinación de la DBO nos da una medida de la cantidad de materia orgánica en el agua que puede ser oxidada por los microorganismos presentes. A medida que un lago o un río se recupera de un aporte de materia orgánica o de una producción primaria excesiva, la DBO inicialmente alta disminuye y esta disminución va acompañada por el aumento correspondiente en oxígeno disuelto en el ecosistema (Figura 19.17*a*). Otra medida relacionada de la materia orgánica en una masa de agua es la *demanda química de oxígeno* (*DQO*). Para determinarla se usa un agente oxidante fuerte, como el dicromato ácido de potasio, para oxidar la materia orgánica a CO_2; la cantidad de materia orgánica presente es proporcional a la cantidad de dicromato consumido. La DQO se suele usar como medida rápida de la calidad del agua y de su DBO potencial.

Vemos pues que en los ambientes de agua dulce los ciclos del oxígeno y del carbono están relacionados: la concentración de carbono orgánico y oxígeno son inversamente proporcionales. Aunque la fotosíntesis oxigénica produce oxígeno, la correspondiente producción de materia orgánica provoca la deficiencia de este. Los ambientes acuáticos anóxicos, en los que la materia orgánica suele ser abundante, son el resultado final de procesos respiratorios que eliminan del ecosistema el oxígeno disuelto, y dejan que el resto de la materia orgánica sea mineralizada por los organismos de metabolismos energéticos anaeróbicos que tratamos en el Capítulo 13. También es importante reconocer la relevancia de las tormentas, las inundaciones y las sequías para determinar la liberación, el transporte y el reciclaje de la materia orgánica y de los nutrientes inorgánicos en los sistemas de agua dulce como arroyos, ríos, lagos y embalses. Estos cambios menos predecibles también afectan a la productividad, la diversidad, la distribución y las interacciones microbianas en los sistemas de agua dulce.

Instantánea filogenética de la diversidad procariótica en los sistemas de agua dulce

Es bien conocida la importancia de los procariotas en lagos, arroyos y ríos para la producción, la regeneración y la movilización de los nutrientes. Sin embargo, solo recientemente se han utilizado métodos moleculares para identificar las poblaciones microbianas participantes, sus interacciones y los patrones estacionales. Como vimos en los estudios de diversidad del suelo (Sección 19.6), la secuenciación de los genes del rRNA 16S se usa como método que no está basado en técnicas de cultivo para identificar y cuantificar los filotipos microbianos (↻ Sección 18.5). Aquí examinaremos la imagen que se obtiene de la estructura de las comunidades lacustres, ya que la mayor parte de los estudios de sistemas de agua dulce se han llevado a cabo en lagos.

En la **Figura 19.18** se muestran los principales grupos de procariotas que habitan las muestras de la superficie de los lagos (el epilimnion). Normalmente se observan cinco grandes grupos bacterianos, o filos, en el siguiente orden decreciente aproximado de representación: *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Cyanobacteria* y *Verrucomicrobia*. También están presentes arqueas pertenecientes a los filos *Euryarchaeota*, *Crenarchaeota* y *Thaumarchaeota*. Esta composición a nivel de filo comparte características con el mar, donde *Proteobacteria* y *Bacteroidetes* también comprenden la mayor parte de la

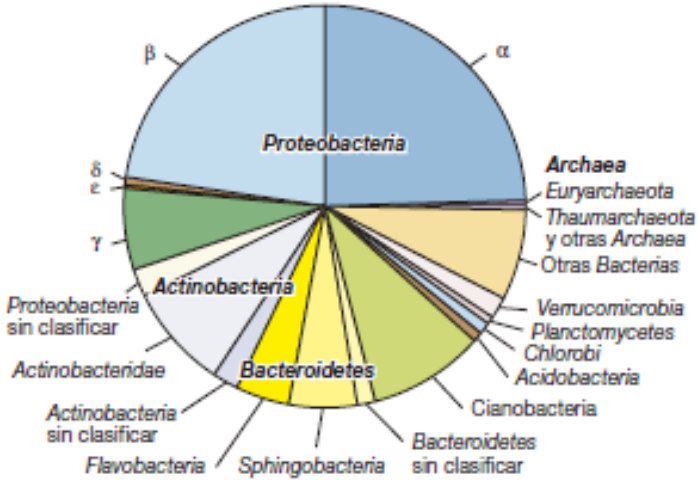


Figura 19.18 Diversidad procariótica en los lagos de agua dulce. Distribución de las secuencias génicas de rRNA 16S por filos determinada por análisis de un conjunto de datos de genes 16S detectados en el epilimnion de varios lagos de agua dulce. Datos recogidos y analizados por Nicolas Pinel.

diversidad (véase la Figura 19.27). No obstante, a diferencia de la gran diversidad de *Betaproteobacteria* en los lagos, en el mar los subgrupos de *Proteobacteria* con más diversidad son *Gammaproteobacteria* y *Alphaproteobacteria* (véase la Figura 19.27).

La interpretación funcional de la estructura de la comunidad procariota lacustre está restringida por la limitada disponibilidad de representantes cultivados. Las taumarqueotas de agua dulce pertenecen a especies conocidas de oxidadores de amoniaco, pero el metabolismo de las euriarqueotas de agua dulce todavía no se conoce. Las actinobacterias son bacterias quimioorganótrofas que en los lagos pueden ser las responsables de la degradación de los ácidos nucleicos y las proteínas. Además, análisis metagenómicos (↻ Sección 18.7) han demostrado que al menos algunas actinobacterias contienen genes relacionados con los que codifican la bacteriorrodopsina, una proteína integrada en la membrana que convierte la energía lumínica en ATP (Sección 19.11 y ↻ Sección 16.1) en arqueas extremadamente halófilas (el análogo en actinobacterias se llama *actinorrodopsina*). Por tanto, algunas actinobacterias podrían usar la luz como fuente de energía.

El filo *Bacteroidetes* está bien representado en los ecosistemas lacustres. Estos organismos son conocidos por su gran diversidad metabólica, y probablemente sean elementos importantes en la degradación de diversos biopolímeros y materiales húmicos. Las proteobacterias, que son abundantes, suelen ser especies de crecimiento rápido, que responden rápidamente a los pulsos de nutrientes orgánicos, mientras que las alfaproteobacterias son más competitivas en condiciones de poca disponibilidad de nutrientes orgánicos, lo cual probablemente explica su gran abundancia en el mar abierto, que es oligotrófico (Figura 19.27).

En conjunto, la gran diversidad procariótica en los lagos de agua dulce (Figura 19.18) refleja el carácter dinámico de estos hábitats. Normalmente, los aportes de nutrientes endógenos y exógenos que los lagos reciben varían según las estaciones siguiendo un patrón que favorece una comunidad procariótica compleja tanto filogenética como metabólicamente.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué es un productor primario? En un lago de agua dulce, ¿dónde es más probable que vivan los productores primarios, en el epilimnion o en el hipolimnion? ¿Por qué?
- La adición de materia orgánica a una muestra de agua, ¿aumentará o disminuirá su DBO?
- ¿Qué factores influyen en la diversidad procariótica de los lagos de agua dulce?

19.9 El ambiente marino: los fotótrofos y su relación con el oxígeno

A excepción del oxígeno, la concentración de nutrientes en mar abierto (la zona *pelágica*) suele ser muy baja comparada con la de muchos ambientes de agua dulce. Esto es especialmente cierto, para los nutrientes inorgánicos básicos para los organismos fotótrofos, como el nitrógeno, el fósforo y el hierro. Además, la temperatura del agua en el mar es más fría y con pocas variaciones a lo largo de las estaciones que la de la mayoría de los lagos de agua dulce. La actividad de los fotótrofos marinos está limitada por estos factores, de manera que la cantidad total de células microbianas suele ser unas diez veces menor en el mar que en los ambientes de agua dulce (~10^6 células/ml y 10^7 células/ml, respectivamente). En realidad estamos hablando de promedios, y los estudios de diversidad procariótica marina están empezando ahora a revelar patrones temporales recurrentes de diversidad y abundancia.

El estudio de series temporales en la zona atlántica de las Bermudas (Bermuda Atlantic Time-Series, BATS) tiene un historial de seguimiento biogeoquímico continuado de las aguas oceánicas desde mediados de la década de 1950, y actualmente está incorporando análisis moleculares de la estructura de las poblaciones microbianas. El BATS ha puesto de manifiesto tres comunidades microbianas estacionales en las aguas oceánicas: 1) la comunidad correspondiente a las floraciones en aguas superficiales en primavera (incluye pequeñas algas eucariotas, actinobacterias marinas y dos grupos de *Alfaproteobacteria*); 2) la comunidad de verano en la parte superior de la columna de agua, asociada con la estratificación de la columna de agua (incluye *Pelagibacter*, *Puniceispirillum*, y dos grupos de gammaproteobacterias); y 3) la comunidad más profunda y estable (incluye *Nitrosopumilus*, representantes del grupo SAR1 al que pertenece el género *Pelagibacter*, un grupo de deltaproteobacterias, y especies de otros dos grupos relacionados con *Chloroflexi* y *Fibrobacter*). Por tanto, una interrelación compleja y poco conocida de los cambios estacionales en las condiciones fisicoquímicas y bióticas controla la estructura de esta comunidad microbiana oceánica en los ciclos anuales recurrentes.

En el agua del mar viven muchos procariotas y eucariotas diferentes, pero la mayoría son células muy pequeñas, una característica típica de los organismos que viven en ambientes pobres en nutrientes. El tamaño reducido es un rasgo adaptativo de los microorganismos con limitación de nutrientes, ya que les exige menos gasto energético en el mantenimiento celular. La contrapartida es que los organismos que adquieren nutrientes de ambientes muy diluidos (oligotróficos) necesitan un número mayor de enzimas de transporte respecto al volumen celular que los organismos de ambientes acuáticos ricos en nutrientes (eutróficos). Por ejemplo, las arqueas oxidadoras de amoniaco (*Nitrosopumilus*, ↪ Sección 16.6) son los quimiolitótrofos dominantes en las aguas pelágicas, y tienen un sistema de transporte con un alto grado de afinidad para obtener el amoniaco que necesitan como donador de electrones en el metabolismo energético.

En las aguas pelágicas existe menos recambio de nutrientes de las aguas del fondo que en los lagos de agua dulce, lo cual implica una menor productividad primaria. No obstante, como los océanos son tan grandes, en conjunto, la captura y retención de dióxido de carbono y la producción de oxígeno a partir de la fotosíntesis oxigénica en los océanos son factores importantes en el equilibrio del carbono en la Tierra. La salinidad es más o menos constante en la zona pelágica, pero en las zonas costeras es más variable. Los aportes terrestres, la retención de nutrientes y el afloramiento de aguas ricas en nutrientes se combinan para permitir la existencia de poblaciones mayores de microorganismos fotótrofos en las aguas costeras que en las pelágicas (**Figura 19.19**); estas aguas costeras, más productivas, sustentan, a su vez, una mayor densidad de bacterias quimioorganótrofas y de animales acuáticos, como peces, crustáceos y moluscos.

En las aguas marinas poco profundas, como las de las bahías y ensenadas, en realidad los aportes de nutrientes pueden hacer que las aguas sean anóxicas de manera intermitente a causa de la eliminación de oxígeno por la respiración y de la producción de sulfuro de hidrógeno por las bacterias reductoras de sulfato. Una extensa región del golfo de México (de 15.500 a 18.000 km^2) con escasez de oxígeno está asociada con una gran



Figura 19.19 Distribución de la clorofila en la zona oeste del Atlántico Norte grabada vía satélite. La costa oriental de los Estados Unidos, desde Carolina del Sur hasta el norte de Maine, se muestra con una línea de puntos. Las zonas ricas en plancton fotótrofo se muestran en rojo (>1 mg de clorofila/m^3); las zonas en azul y violeta tienen menores concentraciones de clorofila (<0,01 mg/m^3). Obsérvese la elevada productividad primaria de las zonas costeras y los Grandes Lagos.

carga de nitrógeno y fósforo transportados hasta allí por el río Mississippi procedente de los vertidos agrícolas de la cuenca del Mississippi. Esta región, llamada *zona muerta del golfo de México*, contribuye a la pérdida y el deterioro de los peces y la vida bentónica que abastecen las grandes industrias marisqueras de la región. El golfo de México experimenta también otros problemas ecológicos que examinaremos a continuación.

La catástrofe del *Deepwater Horizon*

Además de la degradación crónica de la ecología del golfo de México a causa de los vertidos procedentes de la agricultura, el aumento de las prospecciones petrolíferas submarinas también supone un riesgo medioambiental significativo. En abril de 2010, la explosión y hundimiento de la plataforma petrolífera de alta mar *Deepwater Horizon* fue una terrible catástrofe para el golfo de México; la imposibilidad de controlar la presión del pozo ocasionó la ruptura de la boca del pozo a una profundidad de 1,5 km, y el vertido de más de cuatro millones de barriles de petróleo antes de que se consiguiera sellarlo tres meses más tarde (**Figura 19.20**). Se produjo el mayor vertido de petróleo al mar de la historia, y fue único en cuanto que la mayor parte de este petróleo se liberó como una pluma de contaminación a grandes profundidades en la columna de agua. Normalmente, los vertidos de petróleo al mar contaminan principalmente las aguas superficiales, lo que ocasiona una rápida volatilización y dispersión en la atmósfera de los componentes del crudo de bajo peso molecular (como naftaleno, etilbenceno, tolueno y xileno). En cambio, el vertido del *Deepwater Horizon* liberó *tanto* componentes de bajo peso molecular *como* gas natural (metano, etano, propano) en la zona profunda de la columna de agua. Estos componentes representaban cerca del 35 % de la pluma de hidrocarburos que se extendía a lo largo de muchos kilómetros en el golfo, desde la superficie hasta profundidades de más de 800 m (Figura 19.20*b*).

Durante varios meses se realizó un seguimiento de la respuesta microbiana a la contaminación por hidrocarburos usando métodos basados en cultivo y métodos moleculares, como la secuenciación de genes del rRNA 16S y la secuenciación metagenómica, así como los análisis con filochips (↔ Secciones 18.5 a 18.7). Estos métodos demostraron que la respuesta microbiana inicial al vertido (mayo y junio de 2010) fue una proliferación de especies de *Gammaproteobacteria* degradadoras de hidrocarburos relacionadas con géneros del grupo *Oceanospirillales*, y de los géneros *Colwellia* y *Cycloclasticus*. El aumento en el número de especies de *Colwellia* y *Oceanospirillales* se atribuyó a su consumo de hidrocarburos gaseosos, ya que ambos géneros crecían rápidamente cuando se añadía etano o propano a los cultivos de enriquecimiento (↔ Sección 18.1). Las especies de *Colwellia* contribuyeron también a la degradación de otros hidrocarburos, como pusieron de manifiesto su crecimiento en cultivos de enriquecimiento de crudo en ausencia de gas natural y experimentos de sondeo con isótopos estables (↔ Sección 18.11), que demostraron su captación de benceno enriquecido con ^{13}C. Si bien sigue existiendo una gran incertidumbre sobre el destino de todos los hidrocarburos liberados durante el vertido del *Deepwater Horizon*, parece ser que los componentes de bajo peso molecular, más solubles y fáciles de degradar estimularon desde el principio la proliferación de bacterias degradadoras de hidrocarburos, lo que ayudó a reducir el impacto ambiental de este inmenso vertido de crudo.

Zonas con mínimos de oxígeno

Otra característica de la columna de agua de mar es la existencia de **zonas con mínimos de oxígeno (ZMO)**, regiones de agua con muy poco oxígeno a profundidades medias, normalmente entre los 100 m y los 1.000 m, que se extienden a lo largo de grandes zonas de la costa y de mar abierto. Estas regiones casi sin oxígeno surgen cuando la demanda respiratoria de oxígeno supera la disponibilidad, y están asociadas a regiones ricas en nutrientes y muy productivas. En este sentido, lo que sucede es similar a la escasez de oxígeno causada por los vertidos procedentes de la agricultura en las zonas costeras, como ocurre en la zona muerta del golfo de México. No obstante, las ZMO son



(a)



NASA

(b)

Figura 19.20 Vertido de crudo del *Deepwater Horizon* en el golfo de México. *(a)* Gran incendio ocasionado por la explosión de la boca del pozo. *(b)* Imagen del satélite *Terra* de la NASA, tomada el 24 de mayo de 2010 en el golfo de México cerca de Nueva Orleans (Luisiana, EE. UU.). Se liberó una gran pluma de crudo a unos 1.500 m de profundidad que alcanzó en parte la superficie, donde la luz del sol se reflejó en la marea negra (flechas).

anteriores a la actividad humana y se originan de manera natural en regiones de gran producción en la superficie y poca mezcla con el agua rica en oxígeno.

Los valores de saturación de oxígeno de la mayor ZMO en el Pacífico oriental, frente a la costa de Perú, son inferiores al 10 % de los de la superficie. La concentración de oxígeno a ciertos intervalos de profundidad en las ZMO del golfo de Bengala y del mar de Arabia se aproxima a cero. Por ello, las ZMO han sido reconocidas como sumideros importantes para la pérdida del nitrógeno fijado a través de la desnitrificación (↻ Sección 13.17) y los procesos anammox (↻ Sección 13.10). Además de contribuir con una fracción notable del 50 % de la pérdida del nitrógeno fijado en los océanos, estas regiones también son una fuente de óxido nitroso (N_2O), un potente gas invernadero, un tercio del cual es emitido por los océanos.

Los estudios actuales de las ZMO han puesto de manifiesto que estas regiones de agotamiento de oxígeno se están expandiendo, y que su reciente expansión está asociada, de manera casi segura, al calentamiento global. A medida que los océanos absorben más calor, el calentamiento del agua superficial aumenta la estratificación de las aguas próximas a la superficie y reduce la transferencia de oxígeno mediante la mezcla con las regiones más profundas. La expansión de las ZMO favorecerá los procesos microbianos anaeróbicos a expensas de los procesos aeróbicos que mantienen las redes tróficas oceánicas críticas. Estos cambios pueden influir además a la química atmosférica al aumentar la liberación de óxido nitroso, y causarán un impacto negativo en las redes tróficas marinas al reducir la concentración de nitrógeno fijado. En última instancia, probablemente estos cambios afecten a la pesca comercial.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué nos ha enseñado el vertido del *Deepwater Horizon* acerca de cómo son degradadas las mezclas de hidrocarburos en la naturaleza?
- ¿Qué es una zona con mínimos de oxígeno? ¿Por qué la expansión de estas zonas es un problema para la ecología marina y para la ecología global?

19.10 Principales fotótrofos marinos

El mar contiene grandes cantidades de microorganismos fotótrofos, tanto fotótrofos oxigénicos procariotas como eucariotas, así como cantidades importantes de un grupo especial de fotótrofos rojos (anoxigénicos). Estudiaremos a continuación estos organismos como preludio para la exploración del mundo procariótico marino en general en la próxima sección.

Productividad primaria: *Prochlorococcus*

Gran parte de la productividad primaria en mar abierto, incluso a grandes profundidades, procede de la fotosíntesis de los proclorófitos, minúsculos procariotas fotótrofos relacionados filogenéticamente con las cianobacterias (↻ Sección 14.3); los **proclorófitos** contienen clorofila *a* y *b*, pero no ficobilinas. *Prochlorococcus* es un productor primario especialmente importante en el ambiente marino (**Figura 19.21**). Al carecer de ficobilinas, que son los pigmentos accesorios de las



Figura 19.21 ***Prochlorococcus*, el fotótrofo oxigénico más abundante en el mar.** Frasco de *Prochlorococcus* que muestra el color verde oliva de las células que poseen clorofila *a* y *b*. Recuadro: células de *Prochlorococcus* teñidas con FISH en una muestra de agua marina (↻ Sección 18.4 y Figura 18.19).

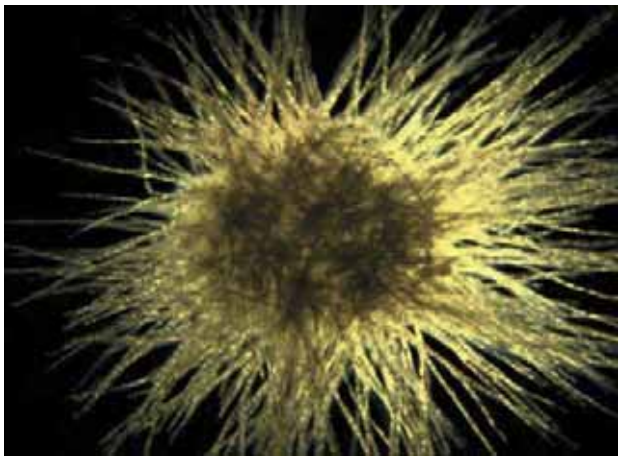
cianobacterias (↻ Sección 13.2), las densas suspensiones de células de *Prochlorococcus* son de color verde oliva (igual que las algas verdes) en lugar del color verde azulado de las cianobacterias (compárense las Figuras 19.1*c* y 19.21).

Prochlorococcus representa hasta la mitad de la biomasa fotosintética y la producción primaria en las regiones tropicales y subtropicales de los océanos de todo el mundo, y alcanza densidades de 10^5 células/ml. Se han identificado al menos cuatro cepas de *Prochlorococcus*, y cada una habita en su propio rango de profundidad en las aguas pelágicas. Las diferentes cepas de *Prochlorococcus* se consideran *ecotipos* distintos, variantes genéticas de una especie que difieren fisiológicamente y, por tanto, ocupan nichos ligeramente diferentes. Los diferentes ecotipos de *Prochlorococcus* fotosintetizan a distintas intensidades lumínicas y usan distintas fuentes orgánicas e inorgánicas de nitrógeno y fósforo. Así, *Prochlorococcus* se distribuye tanto por aguas superficiales como profundas, de hasta doscientos metros, y cuando encuentra una zona de mínimos de oxígeno (Sección 19.9) se extiende hacia regiones por encima de esta zona, que está cerca de la parte inferior de la zona fótica, donde la intensidad lumínica es muy baja (véase la Figura 19.24). Se han determinado las secuencias genómicas de cerca de una docena de ecotipos de *Prochlorococcus*, y su comparación ha puesto de manifiesto que, aunque cada ecotipo contiene unos 2.000 genes, solo unos 1.100 son compartidos por todos los ecotipos. Cada ecotipo contiene aproximadamente 200 genes exclusivos, que presumiblemente tienen una importancia adaptativa para el crecimiento en su nicho efectivo. Esto se ilustra en el Capítulo 18, donde se comparó el genoma de un solo ecotipo cultivado de *Prochlorococcus* con las secuencias metagenómicas obtenidas de aguas pelágicas (↻ Sección 18.7 y Figura 18.19).

Otros fotótrofos oxigénicos pelágicos

En los océanos tropicales y subtropicales, la cianobacteria filamentosa planctónica marina *Trichodesmium* (**Figura 19.22*a***) es un fotótrofo muy extendido y ocasionalmente abundante. Las células de *Trichodesmium* forman una especie de borlas (colonias) formadas por filamentos entremezclados. Cada borla puede contener muchos cientos de filamentos individuales, y cada filamento está compuesto por entre veinte y doscientas células. En el mar Caribe, las colonias de *Trichodesmium* pueden tener una densidad cercana a cien por m^3. *Trichodesmium* es una cianobacteria fijadora de nitrógeno, y se piensa que la producción de nitrógeno fijado por este organismo es un vínculo importante en el ciclo marino del nitrógeno. *Trichodesmium* posee ficobilinas, que están ausentes en los proclorófitos, y por tanto se diferencia de estos organismos en sus propiedades de absorción (↔ Sección 13.2).

Hay eucariotas fotótrofos muy pequeños que también habitan en las aguas costeras y pelágicas, y algunos de ellos están entre las células eucariotas más pequeñas conocidas. Tres géneros comunes, *Bathycoccus*, *Micromonas* y *Ostreococcus*, contienen solamente una mitocondria y un cloroplasto por célula. En la actualidad, estos géneros están asignados a las *Prasinophyceae*, una familia de algas verdes que se separaron pronto de otros linajes de algas verdes (↔ Sección 17.16). Las células de *Ostreococcus* son cocos que miden solo unos 0,7 µm de diámetro (Figura 19.22*b*), que es incluso menos de lo que mide una célula de *Escherichia coli*.



Hans W. Paerl, University of North Carolina at Chapel Hill

(a)



Alexandra Z. Worden and Brian P. Palenik

(b)

Figura 19.22 ***Trichodesmium* y *Ostreococcus*.** *(a)* Micrografía tomada con un microscopio óptico de una «borla» de células de *Trichodesmium*, cianobacteria fijadora de nitrógeno. Los filamentos de la borla son cadenas de células, cada una con un diámetro de unos 6 µm. *(b)* Micrografía electrónica de transmisión de una célula de *Ostreococcus*, alga (eucariota) verde pequeña que se encuentra principalmente en aguas marinas costeras. La flecha señala el cloroplasto. Cada célula de *Ostreococcus* tiene un diámetro de unos 0,7 µm.

Aunque las células de *Ostreococcus* y *Prochlorococcus* tienen prácticamente las mismas dimensiones y ambos son fotótrofos oxigénicos, sus genomas son diferentes. El genoma de *Ostreococcus* es de 12,6 Mbp (distribuidos en 20 cromosomas), que es más de siete veces el tamaño del genoma de *Prochlorococcus*. Aunque es un tamaño relativamente grande incluso para las cianobacterias, el genoma de *Ostreococcus* tiene una gran densidad génica, con unos 8.000 genes, y se considera que está cerca del tamaño mínimo del genoma de un eucariota fotosintético de vida libre. Como referencia, el genoma de una planta común, el arroz japónica (*Oryza sativa* subesp. *japonica*) tiene 420 Mbp y contiene unos 50.000 genes.

En muchas aguas marinas hay otros eucariotas pequeños presentes con una densidad de unas 10^4 células/ml. Aunque muchos de ellos son *Ostreococcus* o géneros relacionados, algunos son quimioorganótrofos y otros son fotótrofos sin ninguna relación con *Ostreococcus* que incorporan pequeñas cantidades de materia orgánica para complementar su estilo de vida principalmente fotótrofo.

Fotótrofos anoxigénicos aerobios

Además de los fotótrofos *oxigénicos*, los fotótrofos *anoxigénicos* también están presentes en las aguas marinas tanto costeras como pelágicas. Al igual que los fotótrofos anoxigénicos rojos, estos organismos poseen bacterioclorofila *a* (↔ Secciones 13.1, 13.3, 14.4 y 14.5). Sin embargo, a diferencia de las bacterias rojas clásicas, que llevan a cabo la fotosíntesis solo en condiciones *anóxicas*, estos fotótrofos anoxigénicos realizan las reacciones de la fase luminosa de la fotosíntesis solo en condiciones *óxicas*.

Entre los fotótrofos anoxigénicos aerobios se cuentan bacterias como *Erythrobacter*, *Roseobacter* y *Citromicrobium* (**Figura 19.23**), todos ellos géneros de *Alphaproteobacteria*. Los fotótrofos anoxigénicos aerobios sintetizan ATP por fotofosforilación en presencia de oxígeno (que en aguas pelágicas óxicas es siempre), pero son incapaces de crecer autótrofamente y, por tanto, usan el carbono orgánico como fuente de carbono (un estado nutricional llamado *fotoheterotrofia*). Así pues, estos organismos usan el ATP producido por fotofosforilación para complementar su metabolismo, por lo demás quimioorganótrofo.

Los estudios han demostrado que en el agua de mar existe una gran diversidad de fotótrofos anoxigénicos aerobios, especialmente cerca de las costas. Los lagos de agua dulce oligótrofos y muy óxicos también son hábitats para estas interesantes bacterias fotótrofas. Su fisiología es, pues, la ideal para sus hábitats iluminados y altamente óxicos.

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué se diferencia *Ostreococcus* de *Prochlorococcus*? ¿Qué tienen en común?
- ¿Cómo contribuye *Prochlorococcus* a los ciclos del carbono y del oxígeno en los océanos?
- ¿En qué se diferencia *Roseobacter* de *Prochlorococcus*?

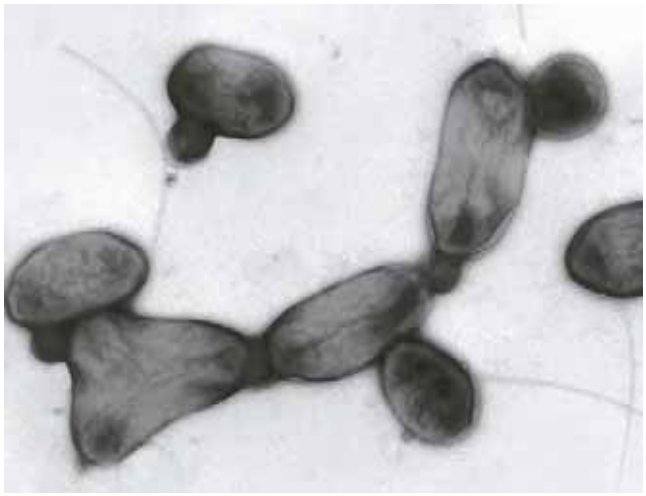


Figura 19.23 **Bacterias fotótrofas anoxigénicas aerobias.** Micrografía electrónica de transmisión de células de *Citromicrobium* teñidas negativamente. Las células de este fotótrofo marino, anoxigénico y aerobio, producen bacterioclorofila *a* únicamente en condiciones óxicas, y se dividen tanto por gemación como por fisión binaria, lo que produce células con formas inusuales e irregulares.

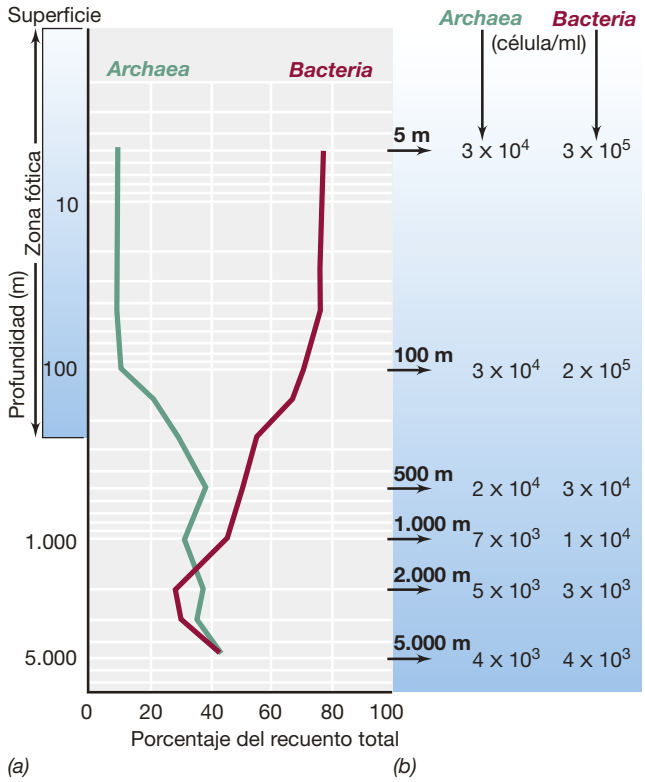


Figura 19.24 **Porcentaje de procariotas totales que pertenecen a los dominios *Archaea* y *Bacteria* en las aguas del Pacífico Norte.** *(a)* Distribución de arqueas y bacterias según la profundidad. *(b)* Número absoluto por mililitro de arqueas y bacterias con la profundidad en mar abierto.

19.11 *Bacteria, Archaea* y virus pelágicos

A pesar de las concentraciones casi nulas de nutrientes, grandes cantidades de procariotas viven una existencia planctónica en aguas pelágicas. Entre ellos encontramos especies de *Bacteria* y de *Archaea*, y un organismo en particular ha sido objeto de una gran atención, una bacteria llamada *Pelagibacter*.

Distribución y actividad de *Archaea* y *Bacteria* en aguas pelágicas

La abundancia de células procariotas en mar abierto disminuye con la profundidad. En aguas de superficie la media es de unas 10^6 células/ml; sin embargo, por debajo de los 1.000 m esta cantidad disminuye hasta valores entre 10^3 células/ml y 10^5 células/ml. La distribución de bacterias y arqueas con la profundidad en aguas pelágicas se ha estudiado mediante la técnica de hibridación fluorescente *in situ* (FISH) (↻ Sección 18.4).

En aguas por encima de los 1.000 m suelen predominar las especies de bacterias, pero a mayor profundidad se encuentran células de bacterias y de arqueas casi en la misma proporción (**Figura 19.24**). Las arqueas de aguas profundas son casi exclusivamente especies de *Thaumarchaeota* (↻ Sección 16.6) y muchas, o quizás incluso la mayoría, son quimiolitótrofos oxidantes de amoniaco (↻ Secciones 13.10 y 16.6); estos organismos desempeñan una función importante en el acoplamiento de los ciclo del carbono y del nitrógeno en el mar (Capítulo 20). Extrapolando los datos de la Figura 19.24, se estima que existen $1{,}3 \times 10^{28}$ y $3{,}1 \times 10^{28}$ células de arqueas y bacterias, respectivamente, en los océanos de todo el mundo. Esto significa que el mar contiene la mayor biomasa microbiana de la superficie de la Tierra.

Las bacterias y arqueas pelágicas son ecológicamente importantes, ya que consumen el carbono orgánico disuelto en los océanos, uno de los mayores depósitos de carbono orgánico utilizable en la Tierra. Estos pequeños procariotas planctónicos de vida libre consumen cerca de la mitad del carbono orgánico oceánico total producido en la fotosíntesis, y son responsables de casi la mitad de toda la respiración marina y la regeneración de nutrientes. Así pues, los procariotas marinos planctónicos devuelven a la red alimentaria marina la materia orgánica que, de otro modo, se perdería a causa de la incapacidad de los organismos marinos más grandes para captar estos nutrientes orgánicos diluidos. Esta llamada «producción secundaria» está equilibrada por la pérdida de células a causa de los protistas consumidores de bacterias y por los ataques de virus (véase la Figura 19.26), de manera que se crea un estado casi estacionario en el que la cantidad de bacterias en mar abierto se mantiene prácticamente constante con el tiempo. Pero es importante destacar que la producción secundaria recicla los nutrientes y permite que parte del carbono orgánico disuelto en el mar llegue a los organismos de mayor tamaño, como los peces, porque los protistas ascienden en la cadena alimentaria al servir de alimento a estos organismos.

Pelagibacter

Existen unas bacterias quimioorganótrofas muy pequeñas que habitan las aguas marinas pelágicas con una densidad de entre 10^5 células/ml y 10^6 células/ml. De entre ellas, las más abundantes son los miembros del grupo SAR11, perteneciente a *Alphaproteobacteria*, que incluye el género *Pelagibacter*. Los estudios metagenómicos ambientales (↻ Secciones 6.10 y 18.7) y los

recuentos de células mediante FISH (↔ Sección 18.4) han puesto de manifiesto una gran abundancia de organismos del grupo SAR11 en las aguas pelágicas. La población oceánica del grupo SAR11 se estima en $2{,}4 \times 10^{28}$ células, lo que las convierte en el grupo microbiano de más éxito del planeta. *Pelagibacter* es un oligótrofo, como la mayoría de los procariotas pelágicos. Un oligótrofo es un organismo que crece mejor a bajas concentraciones de nutrientes. *Pelagibacter* es un quimioorganótrofo y en laboratorio crece solo hasta las densidades a las que se encuentra en la naturaleza.

¿Qué es lo que hace que *Pelagibacter* tenga tanto éxito en mar abierto? En parte, su éxito se debe a su pequeño tamaño. Las células de *Pelagibacter* son pequeños bacilos con un diámetro de entre 0,2 µm y 0,5 µm solamente, cerca de los límites de resolución del microscopio óptico (**Figura 19.25**), y un volumen de 0,01 μm^3. La relación superficie/volumen resultante (↔ Sección 2.6) facilita el transporte de nutrientes y aumenta la concentración de sustrato y las velocidades de procesamiento en el interior de las células. Los análisis proteómicos (↔ Sección 6.8) también han revelado en *Pelagibacter* una gran abundancia de proteínas periplasmáticas de unión a sustrato para nutrientes solubles como el fosfato, los aminoácidos y los azúcares.

Otra característica de *Pelagibacter* es su pequeño genoma, de solo 1,3 Mbp. Se trata del genoma más pequeño conocido de una bacteria de vida libre (Capítulo 6). De acuerdo con el análisis proteómico, el genoma codifica un número inusualmente alto de sistemas de transporte del tipo ABC (transportadores que tienen una afinidad extremadamente alta por sus sustratos [↔ Sección 2.9]) y otras enzimas útiles para un organismo oligótrofo. Este reducido genoma también es muy «aerodinámico», ya que posee el menor espacio intergénico (una media de solo tres pares de bases) de todos los genomas secuenciados. La gran compactación y eficacia del genoma reduce el coste de replicación.

Además de su pequeño tamaño y de su genoma compacto, *Pelagibacter* tiene genes que codifican una forma del pigmento visual rodopsina que puede convertir la energía lumínica en ATP. En la Sección 16.1 ya hablamos de la *bacteriorrodopsina*, una molécula bien estudiada que forma un complejo proteico activado por la luz, que está presente en el halófilo extremo *Halobacterium* (*Archaea*); la bacteriorrodopsina actúa en la síntesis de ATP como una bomba de protones sencilla regulada por la luz (↔ Figura 16.4). La forma de rodopsina de *Pelagibacter* y otros procariotas pelágicos es estructuralmente semejante a la bacteriorrodopsina y recibe el nombre de **proteorrodopsina** (el prefijo «proteo» hace referencia a las proteobacterias). Si bien la proteorrodopsina se descubrió por primera vez en especies de proteobacterias, en realidad está muy distribuida en el dominio *Bacteria*, incluidas muchas *Gamma-* y *Alfaproteobacterias*, *Bacteroidetes* y *Actinobacteria*, y también se ha encontrado en especies no halófilas de *Archaea*, como algunas especies de *Euryarchaeota* marinas. Las distintas variantes de proteorrodopsina en los microorganismos marinos tienen propiedades de absorción que reflejan diferencias en las propiedades espectrales de la luz a medida que aumenta la profundidad en la columna de agua; las variantes más cercanas a la superficie absorben luz verde y las más profundas absorben luz azul.

Algunos estudios realizados con varias bacterias marinas que poseen proteorrodopsina han demostrado, de manera concluyente, que estos organismos sobreviven mejor a la falta de nutrientes en presencia de luz que en la oscuridad. Es decir, las células que carecen de energía usan la producción de ATP mediada por la luz para compensar la falta de disponibilidad de energía procedente de la respiración del carbono debida a la baja concentración de carbono orgánico presente. Es curioso que en algunas aguas se ha estimado que el 80 % de las bacterias marinas poseen proteorrodopsina. Así pues, la proteorrodopsina constituye una estrategia muy extendida para complementar el metabolismo energético de los procariotas marinos de manera que no tengan que depender exclusivamente del escaso carbono orgánico para sus necesidades energéticas.

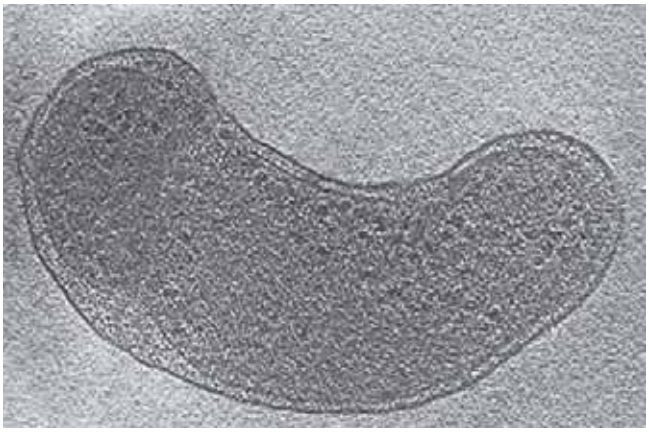

Daniela Nicastro

Figura 19.25 ***Pelagibacter*, el procariota más abundante en el mar.** Micrografía electrónica tomada mediante tomografía de electrones, una técnica que produce un efecto tridimensional. Cada célula de *Pelagibacter* tiene un diámetro de unos 0,2 µm.

Virus marinos

En el mar, los virus son más abundantes que los microorganismos celulares, a menudo con cantidades de 10^7 viriones/ml en el agua marina típica (↔ Sección 8.11). En las aguas costeras, donde las células bacterianas son más numerosas que en los océanos, la cantidad de virus también aumenta, hasta llegar a 10^8 viriones/ml. La mayoría de estos virus son bacteriófagos, que infectan especies de bacterias, y virus arqueanos, que infectan especies de arqueas. La cantidad de viriones en el agua de mar es unas diez veces mayor que la cantidad media de células procariotas, lo cual sugiere que los virus infectan de forma activa a sus hospedadores, se replican y son liberados en el mar (**Figura 19.26**). Solo una pequeña fracción de los virus liberados (una media de uno por brotación) consigue infectar un nuevo hospedador, mientras que la mayoría son inactivados o destruidos por la luz del sol o por las enzimas hidrolíticas. De esta manera, en períodos de solo unos días o unas semanas se produce un recambio completo de la población vírica. En el Capítulo 9 ya estudiamos la diversidad de los virus bacterianos y arqueanos.

Además de los protistas que se alimentan de procariotas, probablemente las infecciones víricas marinas contribuyen a mantener su número en los niveles que observamos, pero los virus pueden tener también otras importantes funciones en el ecosistema, como facilitar el intercambio genético entre células procariotas y permitir la lisogenia, ese estado en el que un genoma

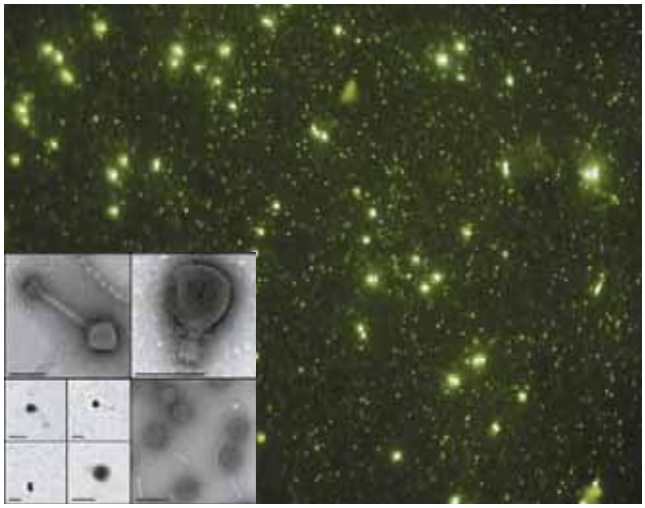


Figura 19.26 **Virus en el agua de mar.** Muestra de agua recogida con un filtro de 0,02 µm, teñida con SYBR verde y visualizada con microscopía de epifluorescencia. Los minúsculos puntos verdes son virus y los puntos más grandes y brillantes son procariotas de unos 0,5 µm de diámetro. Los virus suelen ser diez veces más abundantes que los procariotas en el agua de mar. Recuadro: micrografías electrónicas de transmisión que muestran diversos virus bacterianos marinos (barras de escala: 100 nm en todas las imágenes).

vírico se integra en el genoma celular. La lisogenia puede conferir nuevas propiedades genéticas a la célula (↻ Secciones 8.8 y 10.7); por ejemplo, el descubrimiento de que algunos de los virus que infectan a *Prochlorococcus*, el fotótrofo oxigénico más abundante en el mar (Figura 19.21 y Sección 19.10), contienen genes que codifican proteínas para la fotosíntesis indica que incluso algunas propiedades metabólicas fundamentales pueden estar codificadas por los genomas víricos. Aunque la diversidad genética de los virus marinos está empezando a reconocerse ahora, se piensa que podría superar incluso la de las células procariotas, todo lo cual convierte el mar en un hervidero de diversidad genética.

Instantánea filogenética de la diversidad procariótica marina

Varios estudios han tratado de caracterizar la diversidad de los procariotas marinos planctónicos mediante el análisis de los genes del rRNA 16S obtenidos del agua del mar. La existencia de abundantes poblaciones de alfaproteobacterias, a las que pertenece *Pelagibacter*, se observó por vez primera gracias a estos análisis de las secuencias del rRNA 16S. Las arqueas mesófilas relacionadas con *Nitrosopumilus maritimus* (↻ Sección 16.6) se descubrieron usando métodos parecidos.

Entre los principales grupos bacterianos reconocidos actualmente como abundantes en mar abierto están las alfaproteobacterias y gammaproteobacterias, las cianobacterias, los *Bacteroidetes* y, en menor grado, betaproteobacterias y actinobacterias; *Firmicutes* son solo un componente minoritario (**Figura 19.27**). Al igual que en el suelo, en el agua del mar existe una gran proporción de grupos bacterianos minoritarios sin clasificar. El «grupo SAR86», es un gran grupo de *Gammaproteobacteria* marinas que representa aproximadamente el 10 % de la comunidad procariótica total de la capa más superficial del océano. Por lo que respecta a las *Archaea* en las aguas pelágicas, la diversidad está restringida a *Euryarchaeota*, *Crenarchaeota* y *Thaumarchaeota*, la mayoría de las cuales todavía no se han cultivado en el laboratorio.

A excepción de las cianobacterias, se piensa que la mayoría de las bacterias marinas son quimioorganótrofas adaptadas a una disponibilidad extremadamente baja de nutrientes, algunas de las cuales aumentan su energía mediante la proteorrodopsina o la fototrofia anoxigénica aeróbica (Sección 19.10). El descubrimiento del quimiolitótrofo *Nitrosopumilus* sugirió la posibilidad de que muchas *Archaea* marinas estuvieran especializadas en la oxidación del amoniaco, si bien es probable que existan también especies heterótrofas. Con el método de «dilución de cultivos», en el que se utilizan medios de cultivo muy diluidos, se ha conseguido cultivar algunos procariotas pelágicos (↻ Sección 18.2). Parece ser que la mayor parte de estos organismos han evolucionado para crecer únicamente a concentraciones muy

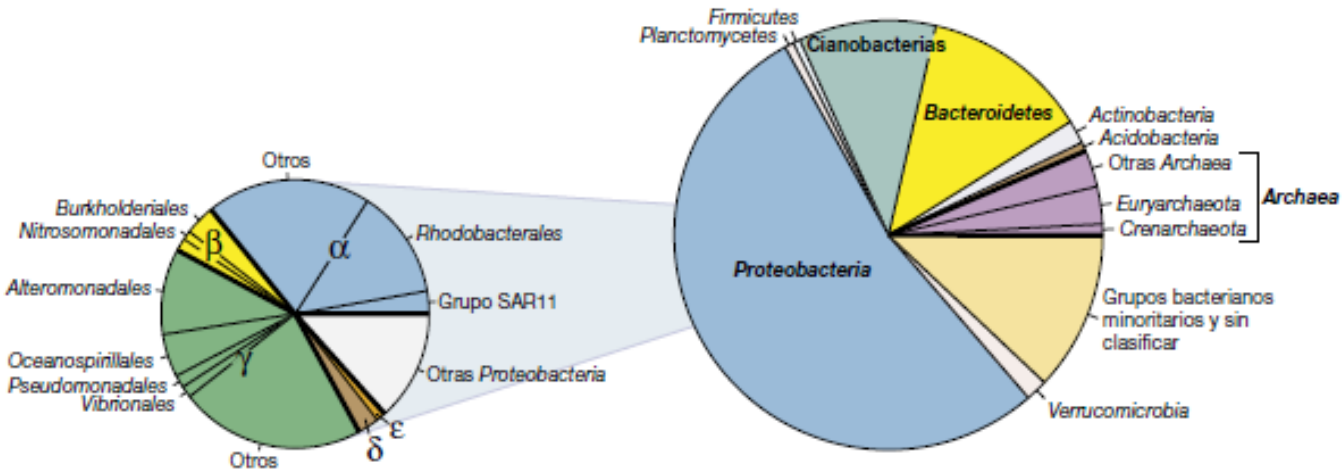


Figura 19.27 **Diversidad procariótica en los océanos.** Los datos son los resultados de análisis conjuntos de 25.975 secuencias de genes rRNA 16S de diversos estudios de aguas marinas pelágicas. Muchos de estos grupos se han tratado en los Capítulos 14 y 15 *(Bacteria)* o 16 *(Archaea)*. Para las *Proteobacteria* se indican los subgrupos principales. Obsérvese la gran proporción de secuencias de cianobacterias y *Gammaproteobacteria*. Datos recogidos y analizados por Nicolas Pinel. Compárese la diversidad procariótica del agua de mar con la del agua dulce que se muestra en la Figura 19.18.

bajas de nutrientes, de manera que es difícil o imposible cultivarlos a densidades celulares más altas. La densidad celular de los oligótrofos marinos en los cultivos de laboratorio es semejante a la que encontramos en sus ambientes naturales (entre 10^5 células/ml y 10^6 células/ml), lo que hace que muchos de los métodos habituales para medir el crecimiento celular (medida de la turbidez, recuento microscópico) no sirvan para las muestras que no se hayan concentrado previamente. No obstante, se han conseguido éxitos notables con los cultivos diluidos de las bacterias marinas, y *Pelagibacter* es un ejemplo de ello, como ya hemos mencionado (Capítulo 18, Explorando el mundo microbiano «Cultivando lo no cultivado»).

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué es la proteorrodopsina y por qué tiene ese nombre? ¿Cómo podría hacer la proteorrodopsina que una bacteria como *Pelagibacter* sea más competitiva en su hábitat?
- Compare las cantidades de procariotas y de virus pelágicos.
- ¿Qué filo y qué subgrupos de *Bacteria* predominan en las aguas marinas pelágicas?

19.12 Las profundidades marinas y los sedimentos de las profundidades marinas

La luz penetra como máximo unos 300 m en las aguas pelágicas; como ya hemos dicho, esta región iluminada se llama *zona fótica* (Figura 19.24). Por debajo de la zona fótica, hasta una profundidad de unos 1.000 m, sigue habiendo una considerable actividad biológica. No obstante, el agua a una profundidad de más de 1.000 m tiene, por comparación, mucha menos actividad biológica y se conoce como *profundidades marinas*. Más del 75 % del agua del mar corresponde a las profundidades marinas, principalmente a una profundidad de entre los 1.000 m y los 6.000 m. Las aguas más profundas en los océanos se encuentran a más de 10.000 m. Sin embargo, como las fosas de esta profundidad son muy raras, sus aguas solo suponen una pequeña proporción de todas las aguas pelágicas.

Condiciones de las profundidades marinas

Los organismos que habitan las profundidades marinas se enfrentan principalmente a tres condiciones ambientales extremas: 1) baja temperatura, 2) alta presión, y 3) baja concentración de nutrientes. Además, las aguas de las profundidades están completamente a oscuras, por lo que la fotosíntesis es imposible. Por tanto, los microorganismos que habitan en esas zonas deben ser quimiótrofos y capaces de crecer a altas presiones y en condiciones oligotróficas a bajas temperaturas.

A profundidades superiores a los 100 m, la temperatura de las aguas oceánicas permanece constante entre los 2-3 °C. En las Secciones 5.11 y 5.12 ya tratamos de la respuesta de los microorganismos a los cambios de temperatura. Como cabe esperar, las bacterias aisladas de aguas marinas de más de 100 m de profundidad son psicrófilas (amantes del frío) o, al menos, psicrotolerantes. Los microorganismos de las profundidades marinas también deben ser capaces de soportar las enormes presiones hidrostáticas asociadas a las grandes profundidades. En una columna de agua la presión aumenta 1 atm por cada 10 m de profundidad. Por tanto, un organismo que crezca a una profundidad de 5.000 m debe ser capaz de soportar una presión de 500 atm, y algunas especies pueden soportar mucho más.

Bacteria y *Archaea* barotolerantes y barófilas

En los diferentes microorganismos de las profundidades marinas se observan diferentes respuestas fisiológicas a la presión. Algunos organismos simplemente toleran la presión elevada, pero no crecen mejor bajo presión, y se denominan **barotolerantes** (Figura 19.28). En cambio, otros *crecen realmente mejor* a presión alta y se denominan **barófilos**. Los organismos aislados de las aguas que hay entre la superficie y unos 3.000 m son, normalmente, barotolerantes, y tienen tasas metabólicas más altas a 1 atm que a 300 atm, aunque la velocidad de crecimiento a las dos presiones puede ser similar (Figura 19.28). Sin embargo, los aislados barotolerantes no suelen crecer a presiones superiores a 500 atm.

En cambio, los cultivos obtenidos de muestras tomadas a profundidades mayores, de entre 4.000-6.000 m, son normalmente barófilos y crecen de manera óptima a presiones de entre 300-400 m. No obstante, aunque los barófilos crecen mejor a altas presiones, también pueden crecer a 1 atm (Figura 19.28). En aguas aún más profundas (por ejemplo, a 10.000 m) se han hallado **barófilos extremos**. Estos organismos requieren una presión muy elevada para crecer (Figura 19.29). Por ejemplo, el barófilo extremo *Moritella*, aislado de la fosa de las Marianas (en el océano Pacífico, >10.000 m de profundidad) (Figura 19.30), crece de manera óptima a una presión de entre 700-800 atm, y crece casi igual de bien a 1.035 atm, que es la presión existente en su hábitat natural.

Efectos moleculares de las altas presiones

Las altas presiones afectan de muchos modos a la fisiología y la bioquímica de las células. En general, la presión reduce la capacidad de interacción entre las subunidades de las proteínas que

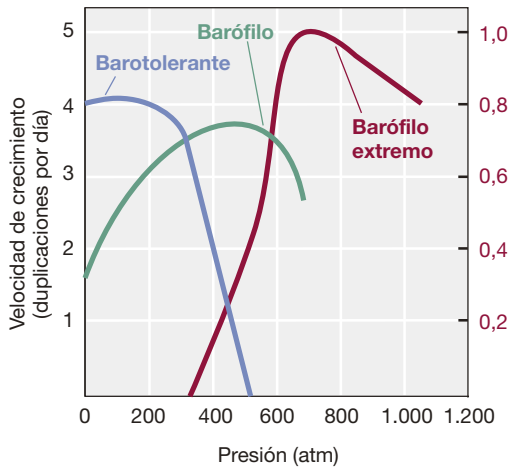


Figura 19.28 Crecimiento de bacterias barotolerantes, barófilas y barófilas extremas. El barófilo extremo (*Moritella*) se aisló de la fosa de las Marianas, cerca de Filipinas, en el océano Pacífico (Figura 19.30). Compárese la velocidad de crecimiento del barófilo extremo (ordenada derecha), muy lenta, con la de las bacterias barotolerantes y barófilas (ordenada izquierda), y obsérvese la incapacidad del barófilo extremo para crecer a bajas presiones.

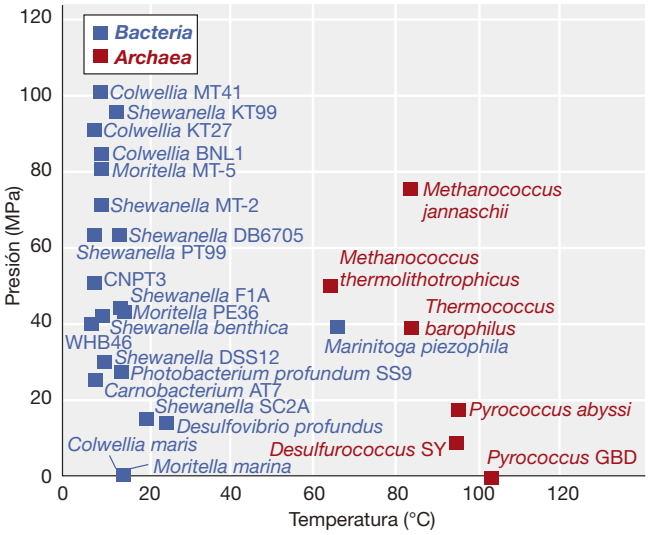


Figura 19.29 **Presión y temperatura óptimas de los barófilos bacterianos y arqueanos cultivados.** La presión se da en pascales (Pa), la unidad del SI para la presión. Un megapascal (MPa) corresponde aproximadamente a 10 atmósferas. Obsérvese que especies diferentes del mismo género pueden tener presiones óptimas enormemente diferentes. Datos recogidos por Doug Bartlett.

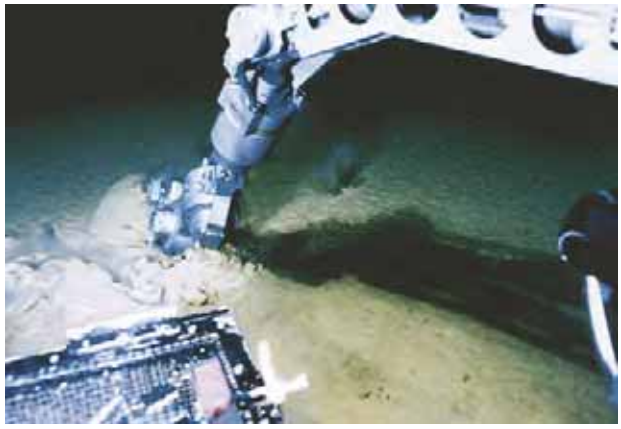


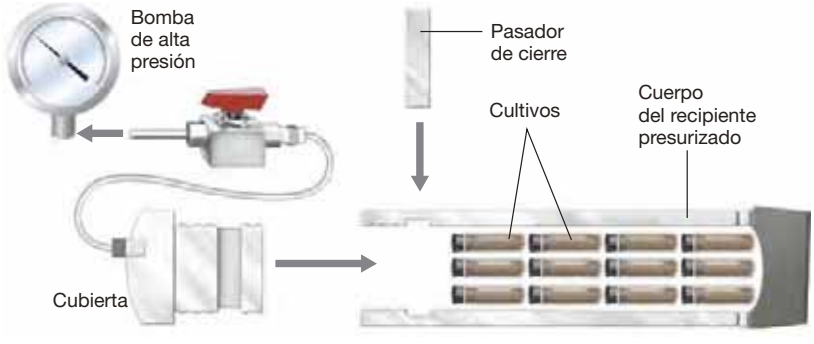
Figura 19.30 **Muestreo de las profundidades marinas.** El sumergible teledirigido *Kaiko* recogiendo una muestra de sedimento del lecho marino de la fosa de las Marianas, a una profundidad de 10.897 m. Los tubos de sedimento se utilizan para el enriquecimiento y el aislamiento de las bacterias barófilas.

tienen varias subunidades. Así, los grandes complejos proteicos de los barófilos extremos tienen que interaccionar de modo que se reduzcan al mínimo los efectos de la presión. Tanto la síntesis de proteínas como la síntesis de DNA y el transporte de nutrientes son sensibles a las altas presiones. Las bacterias barófilas que crecen a altas presiones tienen mayor proporción de ácidos grasos insaturados en la membrana citoplasmática que las que crecen a 1 atm. Los ácidos grasos insaturados permiten a las membranas seguir siendo funcionales y evitan que se gelifiquen a altas presiones o a bajas temperaturas. La velocidad de crecimiento relativamente lenta de los barófilos extremos como *Moritella* en comparación con otras bacterias marinas (Figura 19.28) probablemente se deba, a los efectos combinados de la presión y la baja temperatura; la baja temperatura disminuye las velocidades de reacción de las enzimas, lo cual afecta de manera directa al crecimiento celular (↻ Secciones 5.11 y 5.12).

Para poder estudiar la expresión génica y las características adaptativas que contribuyen al crecimiento a altas presiones ha sido necesario disponer de equipos especiales de incubación presurizados (**Figura 19.31**). Estos estudios han mostrado que cuando una bacteria barófila gramnegativa se cultiva a alta presión, sintetiza una proteína específica de la membrana externa llamada OmpH (por el nombre en inglés, o*uter* m*embrane* p*rotein* H, proteína H de la membrana externa) que es un tipo de porina y está ausente cuando las células se cultivan a 1 atm. Las porinas son proteínas que forman canales por los que las moléculas se difunden hacia el periplasma (↻ Sección 2.11). Según parece, las porinas sintetizadas por las células cultivadas a 1 atm no pueden funcionar correctamente a alta presión, de modo que tienen que sintetizar unas porinas diferentes. Curiosamente, la presión controla la transcripción de *ompH*, el gen que codifica la OmpH. Este barófilo dispone de un complejo proteico de membrana sensible a la presión que detecta los cambios en esta y desencadena la transcripción de *ompH* solo cuando las condiciones de presión lo justifican. Los análisis de transcriptómica (↻ Sección 6.7) indican que, en los barófilos, incluso cambios relativamente modestos en la presión hidrostática alteran la



(a)



(b)

Figura 19.31 **Células presurizadas para cultivar barófilos a alta presión.** *(a)* Foto de diversas células presurizadas en incubación en una sala fría (4 °C). *(b)* Diseño esquemático de una célula presurizada. Estos recipientes están diseñados para mantener presiones de 1.000 atm. Ilustración basada en un dibujo de Doug Bartlett.

UNIDAD 4

expresión de una gran cantidad de genes, así que es probable que en estos organismos existan otras muchas proteínas que detecten la presión.

Sedimentos de las profundidades marinas

Debajo del lecho marino existe otro vasto ecosistema microbiano casi inexplorado. Las expediciones de perforación para explorar las profundidades que hay debajo del lecho marino han revelado la existencia de poblaciones de arqueas y de bacterias nada menos que a 1.600 m (**Figura 19.32**). Hasta el momento, la mayoría de los estudios se han centrado en sedimentos del subsuelo profundo relativamente ricos en materia orgánica en los taludes continentales. Aquí, el número de células normalmente disminuye desde unas 10^9 células/g de sedimento superficial a unas 10^6 células/g en profundidades de hasta 1.000 m por debajo del lecho marino. El descenso en el número de células con la profundidad está relacionado con la cantidad de carbono orgánico que penetra en los sedimentos, principalmente mediante transporte de partículas procedentes de la producción en el agua de la superficie.

Los sedimentos de las plataformas y taludes continentales, aunque mejor estudiados, no son representativos de la mayor parte del suelo oceánico, el 90 % del cual está a más de 2.000 m de profundidad en aguas marinas de baja productividad y, por tanto, con un contenido en carbono significativamente menor. El número de células en estos sedimentos se reduce en varios órdenes de magnitud respecto a los sedimentos ricos en materia orgánica, desde unas 10^6 células/gramo en la superficie a menos de 10^3 células/gramo a unos cientos de metros de profundidad. A causa de la baja actividad microbiana, el oxígeno (O_2) penetra mucho más profundamente en estos sedimentos, hasta unos cuantos metros al contrario que en los sedimentos ricos en materia orgánica, donde penetra solo unos pocos centímetros.

Se estima que los ecosistemas del subsuelo marino contienen unos 4 petagramos (1 petagramo son 10^{15} gramos) de carbono celular microbiano, aproximadamente el 0,6 % de la biomasa viva total de la Tierra. La secuenciación de los genes del rRNA 16S amplificados selectivamente por PCR (↔ Sección 18.5) usando DNA extraído de testigos de perforación, así como estudios metagenómicos más limitados, han identificado relativamente pocas secuencias relacionadas con las bacterias reductoras de sulfato clásicas (↔ Sección 14.9) o con las arqueas metanógenas u oxidadoras de metano (↔ Secciones 13.20, 13.24 y 16.2) habituales en los sedimentos superficiales. La mayoría de las arqueas del subsuelo, identificadas solamente a partir de las secuencias del rRNA 16S, pertenecen a nuevos clados a nivel de filo que por el momento no tienen ningún representante cultivado. A su vez, en los sedimentos de los taludes costeros ricos en materia orgánica y en los que comprenden la mayor parte del lecho oceánico, que son pobres en materia orgánica, habitan preferentemente linajes distintos de arqueas nuevas, lo que refleja, posiblemente, la diferente disponibilidad de donadores y aceptores de electrones en estos dos tipos de sedimentos.

Instantánea filogenética de la diversidad procariótica de los sedimentos marinos

Las comunidades de los sedimentos marinos se han explorado solo en cierta medida, dada la gran dificultad y el coste de obtener testigos de perforación no contaminados de las grandes profundidades (Figura 19.32). Los análisis de secuencias de genes del rRNA 16S obtenidas de muestras de perforaciones profundas ponen de manifiesto que estas comunidades



(a)



(b)

Figura 19.32 **Perforación de los sedimentos de las profundidades marinas.** *(a)* Nave de perforación de las profundidades marinas JOIDES *Resolution*. Inserción: el punto rojo indica la ubicación del muestreo de sedimentos en la fosa frente a Perú. *(b)* Testigos de sedimentos recuperados de la fosa de Perú a 4.800 m de profundidad. Los testigos se cortaron longitudinalmente para obtener submuestras para su caracterización molecular. En la Sección 19.5 y la Figura 19.10 se analizan los tapetes microbianos oxidadores de sulfuro que crecen en la superficie de los sedimentos frente a las costas chilena y peruana.

son diferentes de las comunidades de mar abierto y de las del suelo. Particularmente, las arqueas de filiación desconocida constituyen una fracción importante de la diversidad (**Figura 19.33**). En cambio, en sedimentos marinos poco profundos dominan las proteobacterias, al igual que en el resto de hábitats explorados mediante técnicas que no están basadas en métodos de cultivo (Figuras 19.14, 19.18 y 19.27 y véase la Figura 19.38). Entre las proteobacterias de los sedimentos marinos, los filotipos asociados a las bacterias reductoras de sulfato como *Desulfobacterales* son bastante habituales (Figura 19.33); la reducción de sulfato es la forma principal de respiración anaeróbica en los sedimentos marinos (↻ Secciones 13.18 y 14.9). *Bacteroidetes* y los grupos minoritarios o sin clasificar también están bien representados en los sedimentos marinos poco profundos.

A pesar de ser mayoritarias en las aguas marinas, las cianobacterias constituyen solo una pequeña proporción de la población celular total en los sedimentos permanentemente oscuros y anóxicos, y probablemente representan células que han llegado a los sedimentos tras fijarse a una partícula o un animal muerto que acaba hundiéndose. No se sabe con exactitud cómo sobreviven los organismos de los sedimentos marinos profundos, lejos del fondo marino y prácticamente sin nutrientes, pero no sería extraño que utilizaran muchas de las estrategias que hemos visto en los procariotas pelágicos, como el tamaño reducido y los genomas pequeños y compactos.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cómo cambia la presión con la profundidad en la columna de agua?
- ¿Qué adaptaciones moleculares se han visto en los barófilos que les permiten crecer óptimamente a grandes presiones?
- ¿Por qué las bacterias reductoras de sulfato son habituales en los sedimentos marinos?

19.13 Las fumarolas hidrotermales

Aunque hasta el momento hemos descrito las profundidades marinas como un ambiente remoto, de bajas temperaturas y altas presiones, apto solo para microorganismos barotolerantes y barófilos de crecimiento lento, hay algunas excepciones sorprendentes. Agrupadas en el interior y alrededor de las fumarolas o fuentes hidrotermales de las aguas profundas de los océanos de todo el mundo se han encontrado prósperas comunidades animales y microbianas. Estas fuentes termales están ubicadas a profundidades que van desde menos de 1.000 m a más de 4.000 m de la superficie del océano, en regiones del lecho marino en las que el magma volcánico y las rocas calientes han provocado la formación de fosas tectónicas desde las que se propaga la corteza (**Figura 19.34**), o donde los minerales de hierro y magnesio asociados con las rocas antiguas reaccionan con el agua del mar y generan calor. El agua que se filtra en estas regiones dinámicas de fractura de la corteza reacciona con las rocas calientes y hace que las fuentes termales estén saturadas de sustancias inorgánicas y gases disueltos. En conjunto, estos tipos de fuentes termales submarinas se llaman **fumarolas hidrotermales** (o **fuentes hidrotermales**). En el Capítulo 22 hablaremos de diversas asociaciones simbióticas notables entre los animales asociados a las fumarolas hidrotermales y los microorganismos. Aquí vamos a estudiar el ambiente de las fumarolas como hábitat para microorganismos de vida libre.

Tipos de fumarolas

Los sistemas hidrotermales volcánicos son normalmente o fuentes templadas (~5 °C a >50 °C) y difusas, o fuentes muy calientes que emiten fluidos hidrotermales a una temperatura de entre 270 °C y >400 °C. Los fluidos templados, difusos que fluyen lentamente, salen por las grietas del lecho marino y las paredes exteriores de las chimeneas hidrotermales. Los fluidos se originan por la mezcla del agua de mar fría con los fluidos hidrotermales calientes en la región del subsuelo de los sedimentos. Las

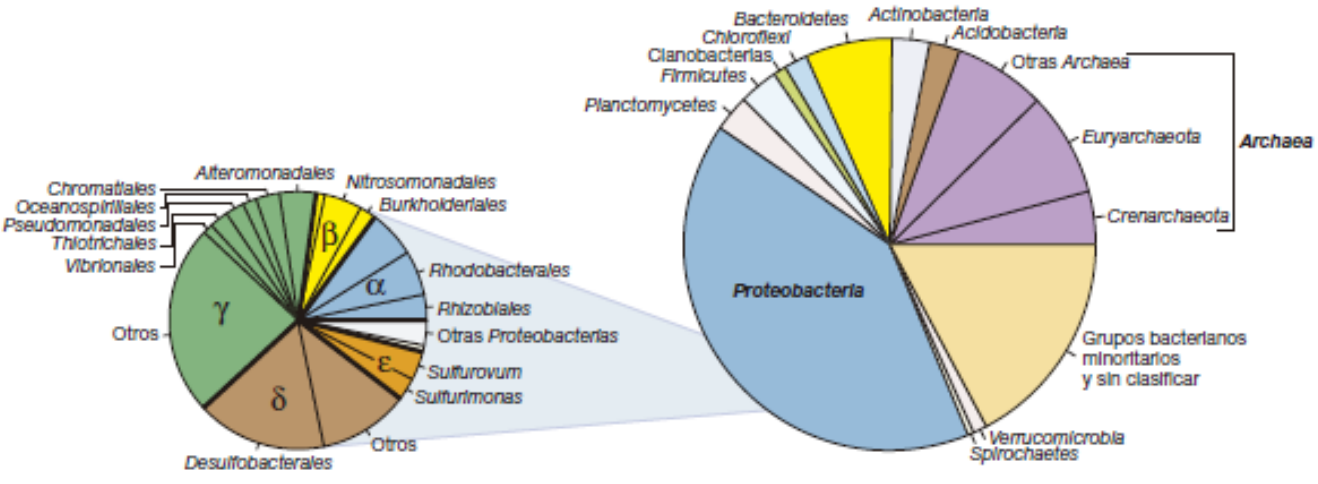


Figura 19.33 **Diversidad procariótica en los sedimentos marinos.** Los datos son los resultados de análisis conjuntos de 13.360 secuencias de genes rRNA 16S de diversos estudios de sedimentos marinos profundos y poco profundos. Muchos de los grupos indicados se han estudiado en los Capítulos 14 y 15 (*Bacteria*) o 16 (*Archaea*). Para las proteobacterias se indican los subgrupos principales. Obsérvese la alta proporción de secuencias arqueanas y de gamma-, delta- y epsilonproteobacterias. Datos recogidos y analizados por Nicolas Pinel. Compárese la diversidad procariótica de los sedimentos marinos con la de mar abierto que se muestra en la Figura 19.27.

UNIDAD 4

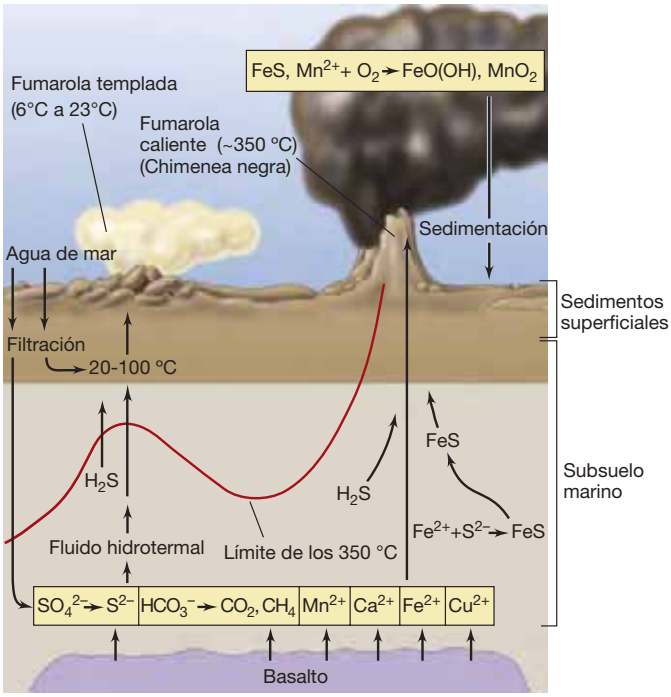


Figura 19.34 Fumarolas hidrotermales. Esquema de las formaciones geológicas y los principales compuestos químicos inorgánicos y minerales que emiten las fumarolas templadas y las chimeneas negras. En las fumarolas templadas, el fluido hidrotermal caliente se enfría con el agua del mar que se infiltra en los sedimentos, que está a 2-3 °C. En las chimeneas negras, el fluido hidrotermal caliente, próximo a los 350 °C, alcanza directamente el lecho marino.



Figura 19.35 Chimenea negra de una fumarola hidrotermal que libera agua rica en sulfuros y minerales a temperaturas de 350 °C. Las paredes de la chimenea negra presentan un gradiente brusco de temperaturas y contienen varios tipos de procariotas.

fumarolas calientes, llamadas *chimeneas negras*, forman estructuras verticales de sulfuro (las *chimeneas*) que pueden tener desde menos de 1 m hasta más de 30 m de altura. Se forman cuando los fluidos hidrotermales ácidos ricos en metales disueltos y gases magmáticos se mezclan de manera súbita con el agua del mar, fría y oxigenada. La rápida mezcla causa la precipitación de minerales de sulfuros metálicos de grano fino, como la pirita y la esfalerita, formándose plumas oscuras y flotantes que se elevan por encima del lecho marino (**Figura 19.35**).

Un ambiente de fumarola hidrotermal bastante diferente es la formación «Ciudad Perdida» (Lost City), situada en medio del océano Atlántico. La formación Ciudad Perdida se formó por la exposición de minerales asociados a la corteza oceánica de entre uno y dos millones de años de antigüedad, que antes estuvieron muy por debajo del lecho marino. Las fallas geológicas en estos sistemas en lenta expansión expusieron rocas ricas en magnesio y hierro llamadas *peridotitas* en el lecho marino. Las reacciones químicas entre el agua de mar y las recién expuestas peridotitas son muy exotérmicas, de manera que generan calor y aumentan el pH hasta valores de 11. En los fluidos hidrotermales calientes (200 °C) también hay cantidades extremadamente altas de hidrógeno y de metano y otros hidrocarburos de bajo peso molecular. A diferencia de los sistemas de las chimeneas negras volcánicas ácidas (Figura 19.34), que son relativamente temporales, la mezcla de estos fluidos alcalinos con el agua de mar ocasiona la formación de chimeneas de carbonato de calcio (caliza) que pueden alcanzar los 60 m de altura y estar activas durante 100.000 años o más (**Figura 19.36**).



Figura 19.36 Formación de una gran chimenea de carbonato en el sistema de fumarolas sobre peridotitas de Ciudad Perdida. La colonización microbiana de superficies minerales recién expuestas se estudió colocando fragmentos minerales estériles en el dispositivo con la tapa verde situado sobre una zona activa de la chimenea. El diámetro del dispositivo cilíndrico de recolección tiene unos 10 cm.

Procariotas en las fumarolas hidrotermales

Las bacterias con metabolismo quimiolitótrofo dominan los ecosistemas microbianos de las fumarolas hidrotermales. Las fumarolas sulfurosas permiten el crecimiento de las bacterias del azufre, mientras que las fumarolas que emiten otros donadores de electrones inorgánicos favorecen a las bacterias nitrificantes, a las oxidadoras de hidrógeno, de hierro y de manganeso o a las bacterias metilótrofas; estas últimas seguramente crecen gracias al metano y el monóxido de carbono emitidos por las fumarolas. En la **Tabla 19.2** se indican los donadores y aceptores de electrones inorgánicos de los que se piensa que tienen una función en los metabolismos quimiolitótrofos en las fumarolas hidrotermales. Todos estos tipos de metabolismo se han tratado en el Capítulo 13.

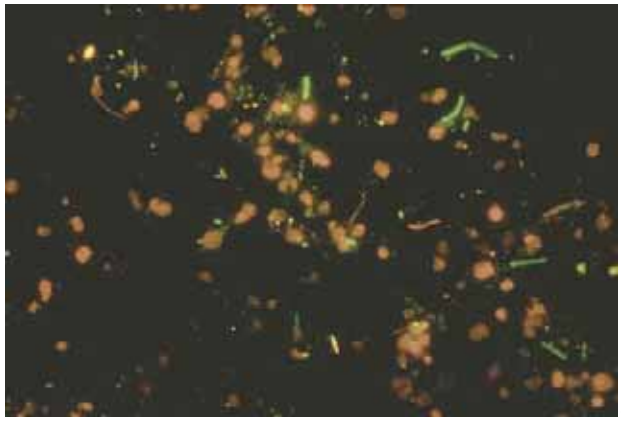
Aunque los procariotas no pueden sobrevivir en los fluidos hidrotermales supercalientes de las fumarolas negras, los organismos termófilos e hipertermófilos proliferan en los *gradientes* que se forman a medida que el agua supercaliente se mezcla con el agua fría del mar. Por ejemplo, las paredes de las chimeneas negras rebosan de hipertermófilos como *Methanopyrus*, una especie de *Archaea* que oxida hidrógeno molecular y genera metano (↻ Sección 16.4). La tinción FISH filogenética (↻ Sección 18.4) ha permitido detectar células de bacterias y de arqueas en las paredes de las chimeneas negras (**Figura 19.37**). Los procariotas reductores de azufre más termófilos conocidos, especies de *Pyrolobus* y *Pyrodictium* (Capítulo 16), se aislaron de las paredes de chimeneas negras. A diferencia de la significativa diversidad microbiana de las paredes de las chimeneas de las fumarolas volcánicas, las paredes de las chimeneas de carbonato de Ciudad Perdida contienen principalmente metanógenos del género *Methanosarcina*. Estos organismos se alimentan presumiblemente de los fluidos ricos en hidrógeno que permean las porosas paredes de las chimeneas.

Cuando las chimeneas se obturan con detritos minerales, los hipertermófilos probablemente se desplazan para colonizar chimeneas activas y, de alguna manera, quedan integrados en la pared de las chimeneas que se están formando. Sorprendentemente, aunque necesitan temperaturas muy altas para crecer, los hipertermófilos toleran muy bien las temperaturas frías y el oxígeno. Así, el transporte de células de un sitio de la fumarola a otro en el agua de mar, fría y óxica, no parece que sea un problema.

Tabla 19.2 Procariotas quimiolitótrofos presentes cerca de las fumarolas hidrotermales de las profundidades marinas[a]

Quimiolitótrofo	*Donador de electrones*	*Aceptor de electrones*	*Producto del donador*
Oxidador de azufre	HS^-, S^0, $S_2O_3^{2-}$	O_2, NO_3^-	S^0, SO_4^{2-}
Nitrificante	NH_4^+, NO_2^-	O_2	NO_2^-, NO_3^-
Reductor de sulfato	H_2	S^0, SO_4^{2-}	H_2S
Metanógeno	H_2	CO_2	CH_4
Oxidador de hidrógeno	H_2	O_2, NO_3^-	H_2O
Oxidador de hierro y manganeso	Fe^{2+}, Mn^{2+}	O_2	Fe^{3+}, Mn^{4+}
Metilótrofo	CH_4, CO	O_2	CO_2

[a]Véase, en el Capítulo 13, un análisis detallado de estos metabolismos, y en los Capítulos 14 a 16 el estudio completo de cada grupo de organismos.



Christian Jeanthon

Figura 19.37 Tinción filogenética FISH del material procedente de una chimenea negra. Tomado del campo de la fumarola Snake Pit en la dorsal mesoatlántica, a una profundidad de 3.500 m. Se conjugó un colorante fluorescente verde con una sonda que reacciona con el rRNA 16S de todas las bacterias, y un colorante rojo con una sonda de rRNA 16S para arqueas. El fluido hidrotermal que atravesaba la chimenea estaba a 300 °C.

Instantánea filogenética de la diversidad procariótica en las fumarolas hidrotermales

Gracias a las potentes herramientas desarrolladas para la obtención de muestras de la comunidad microbiana (↻ Sección 18.5), los estudios de diversidad procariótica cerca de las fumarolas hidrotermales volcánicas han revelado una enorme diversidad de bacterias. Estos estudios de secuenciación de genes del rRNA 16S incluyen fumarolas templadas y calientes. Las comunidades microbianas de las fumarolas hidrotermales están dominadas por *Proteobacteria*, en concreto por *Epsilonproteobacteria* (↻ Sección 15.5; **Figura 19.38**). *Alfa-*, *Delta-* y *Gammaproteobacteria* también son abundantes, mientras que *Betaproteobacteria* son mucho más escasas. Muchas *Epsilon-* y *Gammaproteobacteria* oxidan sulfuro y azufre como donadores de electrones, con oxígeno molecular o nitrato (NO_3^-) como aceptores.

Como se muestra en el diagrama ampliado de las proteobacterias en la Figura 19.38, los filotipos de las epsilonbacterias de las fumarolas son los que más se corresponden con las bacterias quimiolitótrofas del azufre como *Sulfurimonas*, *Arcobacter*, *Sulfurovum* y *Sulfurospirillum*. Estas bacterias oxidan compuestos reducidos de azufre como donadores de electrones (↻ Secciones 13.8 y 14.11), y este tipo de fisiología es coherente con su presencia cerca de los fluidos de las fumarolas cargados con azufre y sulfuro. Además, la mayor parte de las deltaproteobacterias están especializadas en metabolismos anaeróbicos que emplean compuestos oxidados de azufre como aceptores de electrones.

A diferencia de las bacterias, la diversidad de las arqueas en las fumarolas hidrotermales volcánicas es bastante limitada. Las estimaciones del número de filotipos exclusivos indican que la diversidad bacteriana cerca de las fumarolas hidrotermales es unas diez veces mayor que la de las arqueas. No obstante, las

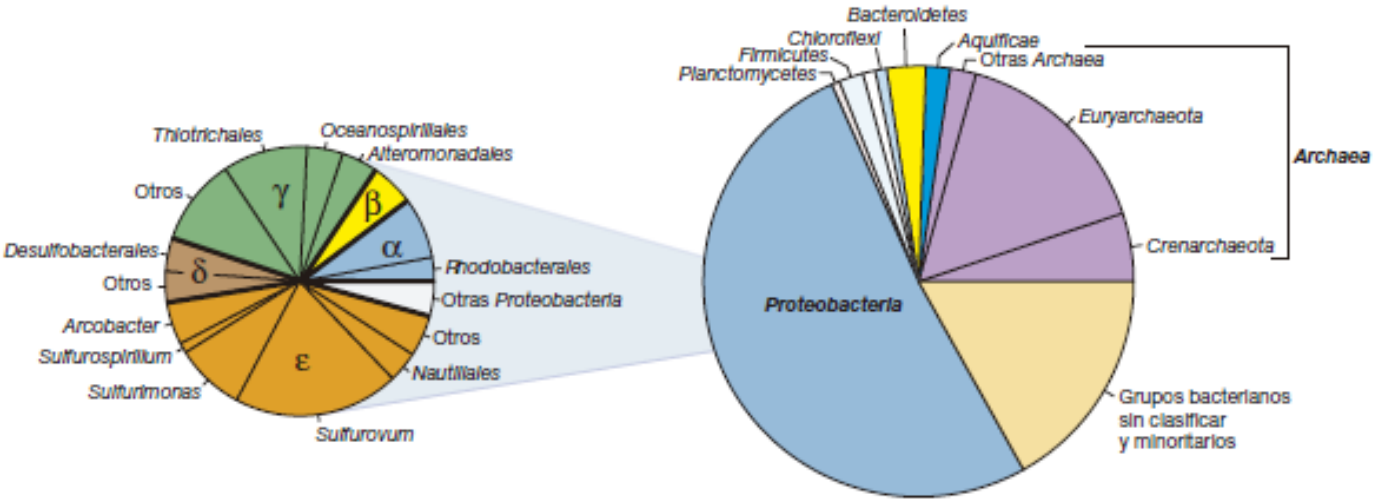


Figura 19.38 **Diversidad procariótica en las fumarolas hidrotermales.** Los datos son los resultados de análisis conjuntos de 14.293 secuencias de genes rRNA 16S de diversos estudios de fumarolas hidrotermales templadas y calientes. Muchos de los grupos indicados se han tratado en los Capítulos 14 y 15 *(Bacteria)* o 16 *(Archaea)*. Para las proteobacterias se indican los subgrupos principales. Obsérvese la alta proporción de arqueas y de epsilonproteobacterias. La fisiología de muchos de estos organismos está resumida en la Tabla 19.2. Datos recogidos y analizados por Nicolas Pinel.

arqueas prevalecen en las muestras recuperadas de las paredes de las chimeneas calientes (Figura 19.37). La mayoría de las arqueas detectadas cerca de las fumarolas hidrotermales son metanógenas (↻ Sección 16.2) o especies de *Crenarchaeota* y *Euryarchaeota* marinas (↻ Figura 16.1). A excepción de *Nitrosopumilus*, oxidador de amoniaco perteneciente a *Thaumarchaeota* (↻ Sección 16.6), los organismos de estos grupos todavía no se han cultivado y su fisiología es poco conocida.

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué se diferencia una fumarola hidrotermal templada de una chimenea negra, tanto física como químicamente?
- ¿Por qué no hierve el agua emitida por una fumarola negra a 350 °C?
- ¿Qué filo de *Bacteria* y qué subgrupos de este filum dominan los ecosistemas de las fumarolas hidrotermales? ¿Por qué?

IDEAS PRINCIPALES

19.1 • Los ecosistemas están formados por organismos, su ambiente y todas las interacciones entre los organismos y el ambiente. Los organismos son miembros de poblaciones y comunidades, y están adaptados a su hábitat. La riqueza y la abundancia de las especies son aspectos de la diversidad de una comunidad y de un ecosistema.

19.2 • Las comunidades microbianas están formadas por gremios de organismos semejantes metabólicamente. Los microorganismos desempeñan funciones importantes en la transformación de la energía y en los procesos biogeoquímicos que dan lugar al reciclado de elementos esenciales para los sistemas vivos.

19.3 • El nicho de un microorganismo consiste en un conjunto específico de factores bióticos y abióticos en un microambiente en el que el microorganismo puede ser competitivo. En la naturaleza, los microorganismos suelen vivir una existencia de todo o nada, de manera que solo las especies mejor adaptadas alcanzan una gran densidad de población en un nicho determinado. La cooperación entre microorganismos también es importante en muchas interrelaciones microbianas.

19.4 • Cuando hay superficies disponibles, las bacterias crecen en masas de células fijadas a la superficie llamadas biopelículas. La formación de biopelículas implica comunicación tanto intracelular como intercelular, y confiere ventajas a las células en lo que respecta a protección. Las biopelículas pueden tener efectos médicos y económicos importantes para los humanos cuando se desarrollan de manera no deseada en superficies vivas o inertes.

19.5 • Los tapetes microbianos son biopelículas muy gruesas formadas por células microbianas y material particulado atrapado. Los tapetes microbianos están muy extendidos en las aguas hipersalinas o termales donde los animales no pueden alimentarse con las células del tapete.

19.6 • Los suelos son hábitats microbianos complejos con numerosos microambientes y nichos. Los microorganismos

están presentes en el suelo principalmente adheridos a partículas. Los factores más importantes que influyen en la actividad microbiana en el suelo son la disponibilidad de agua y de nutrientes. No obstante, en suelos muy áridos los microorganismos desempeñan funciones importantes en la estabilización de la estructura edáfica.

19.7 • El subsuelo profundo es un hábitat microbiano importante, probablemente sustentando poblaciones de quimiolitótrofos que pueden vivir con una dieta de unos pocos minerales, dióxido de carbono, sulfato, nitrógeno molecular e hidrógeno. Se cree que el hidrógeno se produce de manera continuada por la interacción del agua con los minerales de hierro o por radiólisis del agua.

19.8 • En los ecosistemas de agua dulce, los microorganismos fotótrofos son los principales productores primarios. La mayor parte de la materia orgánica producida es consumida por las bacterias, que pueden causar el agotamiento de oxígeno en el ambiente. La DBO de una masa de agua indica el contenido relativo de materia orgánica que puede ser oxidado biológicamente.

19.9 • Las aguas marinas pelágicas tienen mayor deficiencia de nutrientes que la mayoría de las aguas dulces, si bien gran cantidad de procariotas habitan en los océanos. No obstante, en algunas regiones oceánicas altamente productivas y extensas, la concentración de oxígeno puede disminuir mucho a profundidades de entre 100 m y 1.000 m, en las llamadas zonas con mínimos de oxígeno.

19.10 • Los principales fotótrofos oxigénicos microbianos en mar abierto son los procariotas *Prochlorococcus* y los eucariotas *Ostreococcus*; ambos son microorganismos pequeños. Entre los fotótrofos anoxigénicos marinos están *Roseobacter* y sus parientes, las bacterias rojas fotótrofas aerobias.

19.11 • En las aguas superficiales marinas suelen predominar las especies bacterianas, mientras que en las aguas más profundas las arqueas comprenden la fracción más grande de la comunidad microbiana. Muchas bacterias pelágicas usan la luz para sintetizar ATP mediante bombas de protones impulsadas por la rodopsina. En el mar, los virus superan en número a los procariotas en varios órdenes de magnitud.

19.12 • Las profundidades marinas constituyen un hábitat frío y oscuro en el que la presión hidrostática es alta y la concentración de nutrientes es baja. Los barófilos crecen mejor sometidos a presión, pero no les es necesaria, mientras que los barófilos extremos para crecer requieren una presión muy alta, normalmente de varios cientos de atmósferas.

19.13 • Las fumarolas hidrotermales son fuentes termales de las profundidades marinas en las que la actividad volcánica o una química inusual genera fluidos que contienen grandes cantidades de donadores de electrones inorgánicos que pueden usar las bacterias quimiolitótrofas.

MasteringMicrobiology®

Revise lo que sabe y descubra lo que ha aprendido con MasteringMicrobiology. Acceda a material de estudio, revisiones de los capítulos, animaciones y tutoriales de microbiología práctica en el Área de Estudio y asegúrese de que ha asimilado todo el contenido de este capítulo.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Abundancia de especies: proporción de cada especie en una comunidad.
Barófilo: organismo que crece mejor a presión hidrostática de más de 1 atmósfera.
Barófilo extremo: organismo que requiere una presión de varios cientos de atmósferas para crecer.
Barotolerante: que puede crecer a presión hidrostática elevada pero crece mejor a 1 atmósfera.
Biogeoquímica: estudio de las transformaciones químicas del ambiente mediadas biológicamente.
Biopelícula: colonias de células microbianas embebidas en una matriz orgánica porosa y fijadas a una superficie.
Columna de agua estratificada: masa de agua separada en capas con características físicas y químicas diferentes.
Comunidad: dos o más poblaciones de células que coexisten en un área determinada en un momento dado.
Demanda bioquímica de oxígeno (DBO): propiedades de consumo de oxígeno microbiano de una muestra de agua.
Ecosistema: complejo dinámico de organismos y su ambiente físico que interaccionan como una unidad funcional.
Epilimnion: aguas superficiales, más templadas y menos densas, de un lago estratificado.
Fumarolas hidrotermales: fuentes de agua templada o caliente asociadas con centros de expansión de la corteza en el lecho marino.
Gremio: poblaciones microbianas metabólicamente semejantes que explotan los mismos recursos de manera parecida.
Hábitat: ambiente dentro de un ecosistema en el que puede residir una comunidad microbiana.
Hipolimnion: aguas del fondo de un lago estratificado, más frías y densas y a menudo anóxicas.
Microambiente: espacio de escala micrométrica que rodea a una célula o un grupo de células microbianas.
Nicho: en la teoría ecológica, características bióticas y abióticas del microambiente que contribuyen al éxito competitivo de un organismo.

Oligótrofo: organismo que crece solo o que crece mejor con concentraciones muy bajas de nutrientes.
Población: grupo de organismos de la misma especie en el mismo lugar y en el mismo tiempo.
Proclorófito: procariota fotótrofo oxigénico que tiene clorofila *a* y *b* y carece de ficobiliproteínas.
Productor primario: organismo que sintetiza material orgánico nuevo a partir de CO_2 y obtiene energía de la luz o de la oxidación de compuestos inorgánicos.
Proteorrodopsina: proteína sensible a la luz presente en algunas bacterias pelágicas que impulsa una bomba de protones que produce ATP.
Riqueza de especies: número total de especies diferentes presentes en una comunidad.
Rizosfera: región inmediatamente adyacente a las raíces de las plantas.
Tapete microbiano: comunidad densa, estratificada y variada que se nutre de luz en un ambiente acuático hipersalino o extremadamente caliente, donde las cianobacterias son esenciales, o bien está formada por quimiolitótrofos que crecen en la superficie de sedimentos marinos ricos en sulfuro.
Zona con mínimos de oxígeno (ZMO): región con escasez de oxígeno a profundidad media en la columna de agua marina.

PREGUNTAS DE REPASO

1. Cite algunos de los recursos y condiciones fundamentales que necesitan los microorganismos para proliferar en sus hábitats. (Sección 19.1)
2. ¿En qué formas entra la energía potencial en un ecosistema microbiano? ¿Qué clases de microorganismos, atendiendo a la energía, pueden explotar cada una de ellas? (Sección 19.2)
3. Explique por qué se pueden aislar tanto bacterias anaerobias estrictas como aerobias estrictas de una misma muestra de suelo. (Sección 19.3)
4. La superficie de una roca en un curso de agua suele contener una biopelícula. ¿Qué ventajas tiene para las bacterias crecer en una biopelícula respecto a crecer dentro de la corriente? (Sección 19.4)
5. ¿Cómo pueden las biopelículas complicar el tratamiento de las enfermedades infecciosas? (Sección 19.4)
6. Compare los tapetes microbianos con las biopelículas en términos de tamaño y diversidad microbiana. (Sección 19.5)
7. ¿En qué horizonte del suelo hay mayor cantidad de microorganismos y mayor actividad? ¿Por qué? (Sección 19.6)
8. ¿Qué son las costras biológicas del suelo y qué función cumplen en las regiones áridas? (Sección 19.6)
9. ¿Cómo se reponen los nutrientes para el crecimiento microbiano en el subsuelo profundo, a diferencia de lo que ocurre en el subsuelo cercano? (Sección 19.7)
10. ¿De qué manera afecta el aporte de materia orgánica, como las aguas residuales, al contenido de oxígeno de un río o un curso de agua? (Sección 19.8)
11. ¿Por qué las ZMO son perjudiciales para la vida marina macrobiológica? (Sección 19.9)
12. ¿Qué microorganismos son los principales fotótrofos del mar? (Sección 19.10)
13. Muchos procariotas pelágicos pueden usar la energía lumínica pero no son considerados «fotótrofos» en el mismo sentido que las cianobacterias o las bacterias rojas. Explique por qué. (Sección 19.11)
14. ¿Qué diferencia hay entre bacterias barotolerantes y bacterias barófilas? ¿Y entre estos dos grupos y los barófilos extremos? ¿Qué propiedades tienen en común los microorganismos barotolerantes, barófilos y barófilos extremos? (Sección 19.12)
15. ¿Por qué predominan tanto las bacterias quimiolitótrofas en las fumarolas hidrotermales? (Sección 19.13)

EJERCICIOS PRÁCTICOS

1. Considere una planta que libera aguas residuales que contienen una concentración elevada de amoniaco y fosfato y una concentración muy baja de carbono orgánico. ¿Qué tipos de microorganismos proliferarán en estas aguas residuales? ¿En qué variará el perfil del oxígeno cerca y lejos del punto de vertido respecto al gráfico de la Figura 19.17*a*?
2. Teniendo en cuenta que las aguas de mar abierto son muy óxicas, prediga los posibles estilos metabólicos de vida de *Archaea* y *Bacteria* de mar abierto. ¿Por qué los pigmentos de tipo rodopsina podrían ser más abundantes en un grupo de organismos que en el otro?
3. Se ha sugerido que el calentamiento global causa una disminución de la transferencia de oxígeno a las aguas profundas del mar (Sección 19.9). ¿Cómo podría el calentamiento global causar también una disminución de la disponibilidad de nutrientes para las especies planctónicas de las aguas marinas superficiales?

CAPÍTULO

20 · Ciclos de los nutrientes

microbiología **actual**

Cables eléctricos microbianos

Un área interesante y novedosa de investigación microbiológica se centra en el modo en que se reducen en ausencia de oxígeno los aceptores insolubles de electrones, como los óxidos de hierro o manganeso. Aunque se pensaba que en la superficie de las células bacterianas existen estructuras conductoras de electricidad que envían los electrones a los aceptores insolubles, se desconocían los detalles moleculares del proceso. Sin embargo, un descubrimiento reciente con un sistema aceptor de electrones soluble puede arrojar luz sobre este misterio.

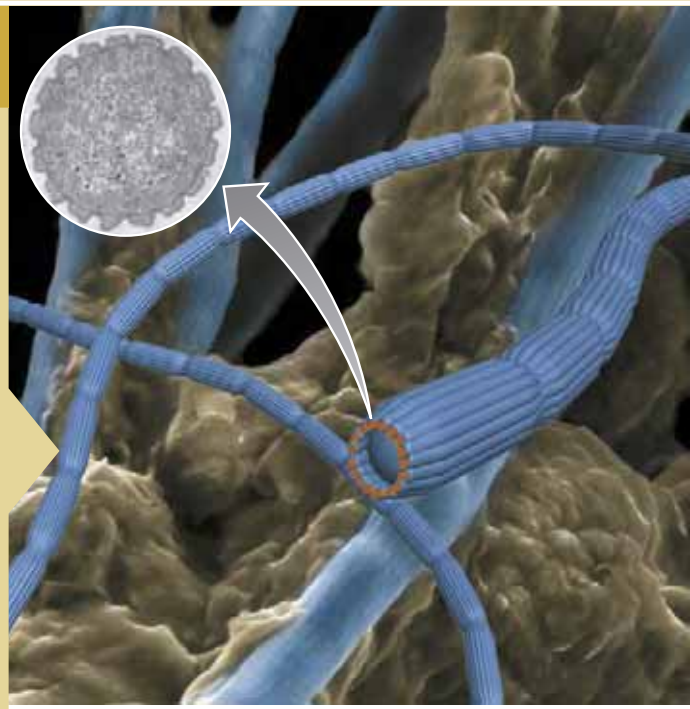
Se describió que una bacteria filamentosa de morfología singular, relacionada con las bacterias reductoras de sulfato, podía oxidar sulfuro de hidrógeno (H_2S) en sedimentos marinos usando oxígeno (O_2) como aceptor de electrones[1]. Sin embargo, el sulfuro y el oxígeno se mantenían separados entre sí por más de un centímetro, lo que obviamente planteaba la cuestión de cómo podían acoplarse las reacciones de transferencia entre el donador y el aceptor.

Los análisis microscópicos y otros realizados con microsensores revelaron que las bacterias filamentosas se extendían verticalmente como filamentos individuales para conectar la superficie óxica con la zona anóxica rica en sulfuro. La capacidad de estos filamentos para acoplar la transferencia de electrones en distancias largas se demostró utilizando un cable ultrafino que se interpuso entre la zona óxica y la anóxica; esto causó un cortocircuito en los filamentos y detuvo la oxidación del sulfuro.

Este notable sistema de transferencia de electrones se relacionó con estructuras semejantes a cables que formaban un anillo alrededor de cada filamento bacteriano y que ocupaban toda su longitud (fotos). Se interpreta que estas estructuras funcionan como «cables eléctricos vivos» acoplando la transferencia de los electrones que proceden de la oxidación del sulfuro que ocurre en un extremo del filamento con la reducción del oxígeno en el otro extremo.

El mecanismo exacto de esta notable característica metabólica y su relación con los sistemas que las bacterias usan para reducir óxidos metálicos están aún por determinar. No obstante, parece claro que la transferencia de electrones mediada por bacterias puede darse a distancias relativamente grandes para acoplar los procesos de oxidación y reducción por pérdida y ganancia de electrones.

[1]Pfeffer, C., *et al.* 2012. Filamentous bacteria transport electrons over centimetre distances. *Nature 491*: 218-221.



I Los ciclos del carbono, del nitrógeno y del azufre 680

II Otros ciclos de nutrientes 688

III Los seres humanos y los ciclos de los nutrientes 694

En el capítulo anterior examinamos la variedad de hábitats microbianos para sentar las bases para analizar en este capítulo algunas de las principales actividades microbianas. Aquí presentaremos el concepto de *ciclos de nutrientes* y el impacto que la actividad humana tiene sobre ellos. En particular, nos centraremos en las actividades biogeoquímicas de los microorganismos y veremos cómo se interrelacionan tales actividades.

I • Los ciclos del carbono, del nitrógeno y del azufre

Los nutrientes fundamentales para la vida son reciclados por los microorganismos y por los macroorganismos, pero para cada nutriente concreto, dominan las actividades de origen microbiano. Comprender cómo funcionan los ciclos microbianos de los nutrientes es importante porque estos ciclos y sus circuitos de retroalimentación son esenciales para la agricultura y para la salud global de la vida vegetal sostenible.

Comenzamos la presentación de los ciclos de los nutrientes con el ciclo del carbono. Las principales áreas de interés de este ciclo son la magnitud de los depósitos de carbono en la Tierra, la velocidad del reciclado del carbono dentro de los reservorios y entre reservorios distintos, y cómo se acopla el ciclo del carbono a los ciclos de otros elementos nutritivos. Hay que destacar que dos gases, el *dióxido de carbono* (CO_2) y el *metano* (CH_4), se encuentran entre los principales componentes del ciclo del carbono y entre los de mayor impacto de la actividad humana en el ecosistema global.

20.1 El ciclo del carbono

Considerado de forma global, el carbono recircula como CO_2 por todos los reservorios principales de carbono de la Tierra: la atmósfera, el medio terrestre, el mar, los ambientes de agua dulce, los sedimentos y las rocas, y la biomasa (**Figura 20.1**). Tal y como ya hemos visto para los ambientes de agua dulce, los ciclos del carbono y del oxígeno están estrechamente relacionados (↻ Sección 19.8). Todos los ciclos de nutrientes enlazan de alguna manera con el ciclo del carbono, pero el del nitrógeno lo hace de modo especial porque, además del agua, el C y el N constituyen la mayor parte de la masa de los organismos vivos (↻ Sección 3.1 y Figura 20.4).

Reservorios de carbono

Con mucho, el mayor reservorio de carbono en la Tierra lo constituyen los sedimentos y rocas de la corteza terrestre (Figura 20.1), pero la velocidad a la que se descomponen las rocas y el carbono es eliminado como CO_2 es tan lenta que el flujo de salida de este reservorio es insignificante en la escala humana del tiempo. En las plantas terrestres se encuentra una gran cantidad de carbono orgánico, que corresponde al carbono de los bosques, praderas y cultivos agrícolas, que constituyen los principales lugares de fijación fotosintética de CO_2. Sin embargo, la materia orgánica muerta, denominada **humus** o **mantillo**, contiene más cantidad de carbono que los seres vivos. El humus es una mezcla compleja de materia orgánica que ha resistido la descomposición rápida y procede principalmente de plantas y microorganismos muertos. Algunas sustancias húmicas son muy estables, con un tiempo de descomposición de décadas, pero otras se descomponen mucho más rápidamente.

La manera más rápida de transferencia del carbono es mediante el CO_2 de la atmósfera: se retira de la atmósfera principalmente por la fotosíntesis de las plantas terrestres y de organismos marinos y vuelve a la atmósfera por la respiración de los animales y de microorganismos quimioorganótrofos (Figura 20.1). El aporte más importante de CO_2 a la atmósfera procede de la descomposición microbiana de la materia orgánica muerta. Desde la Revolución Industrial, sin embargo, la actividad

Principales reservorios de carbono en la Tierra

Reservorio	% del total[a]
Rocas y sedimentos	99,5[b]
Mar	0,05
Hidratos de metano	0,014
Combustibles fósiles	0,006
Biosfera terrestre	0,003
Biosfera acuática	0,000002

[a]Carbono total, 76×10^{15} toneladas
[b]80 % inorgánico

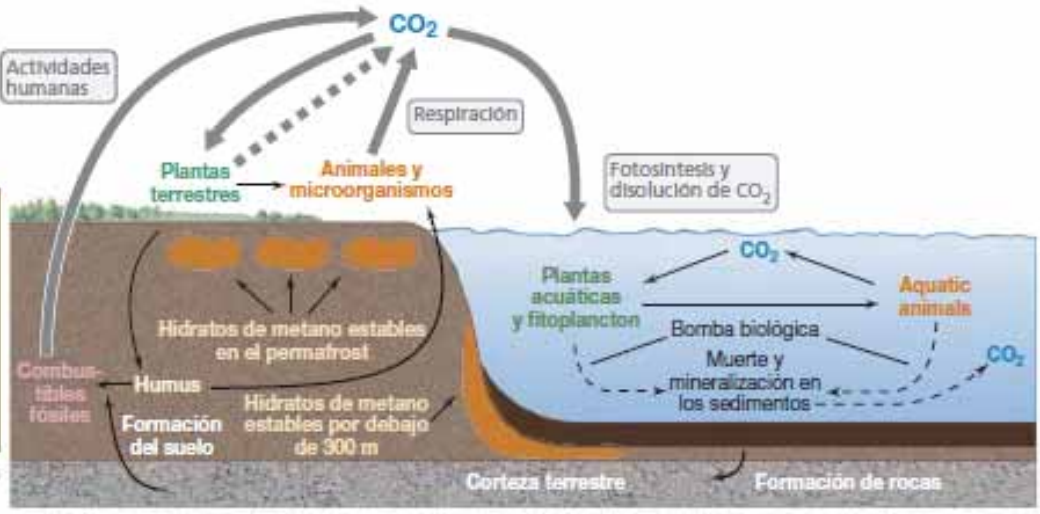


Figura 20.1 **El ciclo del carbono.** Los ciclos del carbono y del oxígeno están estrechamente conectados, ya que la fotosíntesis oxigénica retira el CO_2 y produce O_2, mientras que los procesos respiratorios producen CO_2 y retiran O_2. Como muestra la tabla adjunta, el mayor reservorio de carbono de la Tierra lo constituyen, con mucha diferencia, las rocas y sedimentos, y en su mayor parte se trata de carbono inorgánico en forma de carbonatos.

humana ha aumentado la cantidad de CO_2 en la atmósfera en casi un 40 % debido principalmente a la combustión de combustibles fósiles. Este aumento de CO_2, que es uno de los principales *gases con efecto invernadero*, ha hecho que estemos en un período en el que la temperatura global está aumentando continuamente, lo que se denomina **calentamiento global** (véase la Figura 20.18). Aunque las consecuencias del calentamiento global sobre el reciclaje microbiano de los nutrientes no pueden predecirse en la actualidad, todo lo que sabemos sobre la biología de los microorganismos sugiere que la actividad microbiana en la naturaleza cambiará como respuesta a temperaturas más elevadas. Saber si estas respuestas serán favorables o desfavorables para los organismos superiores, incluidos los humanos, es un importante tema de investigación hoy en día (Sección 20.8).

Fotosíntesis y descomposición

En la Tierra, los nuevos compuestos orgánicos sintetizados biológicamente proceden solo de la fijación de CO_2 por los organismos fotótrofos y quimiolitótrofos. La mayor parte de los compuestos orgánicos derivan de la fotosíntesis; por tanto, los organismos fotótrofos se encuentran en la base del ciclo del carbono (Figura 20.1). Sin embargo estos organismos abundan en la naturaleza solo en los hábitats donde hay luz disponible. De ahí que en las profundidades marinas, en el subsuelo profundo y en otros hábitats permanentemente oscuros no haya fotótrofos autóctonos. Hay dos grupos de organismos fotótrofos oxigénicos: las *plantas* y los *microorganismos*. Las plantas son los organismos fotótrofos que predominan en los ambientes terrestres, mientras que los microorganismos fotótrofos predominan en los ambientes acuáticos.

El ciclo redox del carbono (Figura 20.2) comienza con la fijación fotosintética del CO_2, dirigida por la energía de la luz:

$$CO_2 + H_2O \rightarrow (CH_2O) + O_2$$

donde CH_2O representa la materia orgánica en el nivel de oxidación-reducción del material celular. Los organismos fotótrofos también llevan a cabo la respiración, tanto en presencia de luz como en la oscuridad. La ecuación general de la respiración es la inversa a la de la fotosíntesis oxigénica:

$$(CH_2O) + O_2 \rightarrow CO_2 + H_2O$$

Para que se acumulen compuestos orgánicos, la velocidad de la fotosíntesis debe superar a la de la respiración. De este modo, los organismos autótrofos fabrican biomasa a partir del CO_2, y luego esta biomasa proporciona a los organismos heterótrofos el carbono que necesitan. Los fotótrofos anoxigénicos y los quimiolitótrofos también producen compuestos orgánicos en exceso, pero en la mayoría de los ambientes la contribución de estos organismos a la acumulación de materia orgánica es menor que la contribución de los fotótrofos oxigénicos. Esto se debe a que el reductor usado por los fotótrofos oxigénicos, el H_2O, es prácticamente una fuente ilimitada.

Los compuestos orgánicos se degradan biológicamente a CH_4 y CO_2 (Figura 20.2). El dióxido de carbono, en su mayor parte de origen microbiano, se produce mediante respiración aeróbica o anaeróbica (↬ Sección 13.16). El metano se produce en ambientes anóxicos por los *metanógenos* mediante la reducción de CO_2 con hidrógeno (H_2) o por la descomposición de acetato en CH_4 y CO_2. Sin embargo, cualquier compuesto orgánico

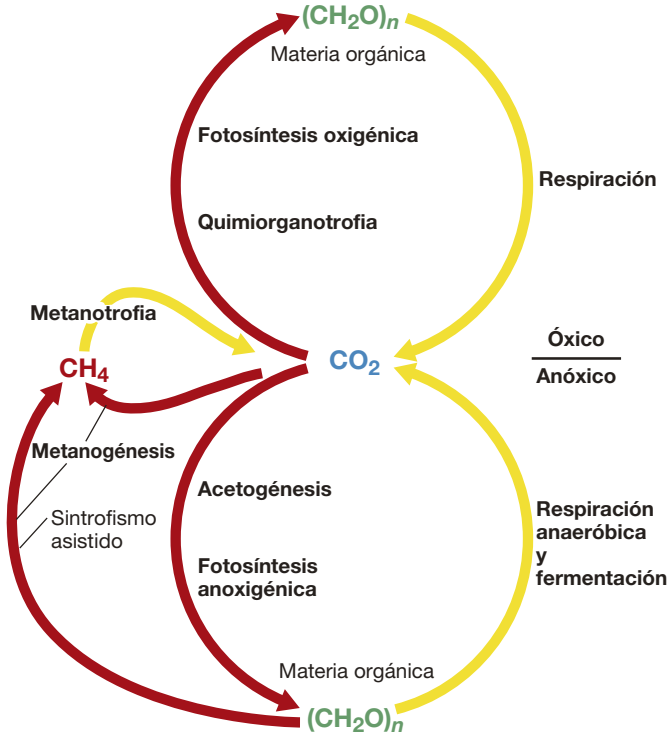


Figura 20.2 Ciclo redox del carbono. La figura compara los procesos autótrofos (CO_2 → compuestos orgánicos) y los heterótrofos (compuestos orgánicos → CO_2). Las flechas amarillas indican oxidaciones y las rojas reducciones.

natural puede llegar a convertirse en metano por la actividad cooperativa de metanógenos y diversas bacterias fermentadoras, como veremos en la sección siguiente. El metano producido en hábitats anóxicos es insoluble y se difunde a los ambientes óxicos, donde se libera a la atmósfera o es oxidado a CO_2 por los *metanótrofos* (Figura 20.2). Por consiguiente, casi todo el carbono de los compuestos orgánicos termina convertiéndose de nuevo en CO_2, con lo que se completa el ciclo.

Hidratos de metano

El CH_4, aunque está presente en la atmósfera con una concentración menor que el CO_2, es un potente gas con efecto invernadero cuya eficacia en la retención del calor es más de veinte veces superior a la del CO_2. Parte del CH_4 producido por los metanógenos pasa a la atmósfera, pero no todo el CH_4 producido biológicamente se consume inmediatamente o escapa a la atmósfera. Grandes cantidades de CH_4 procedentes principalmente de actividades microbianas quedan atrapadas bajo tierra o en los sedimentos marinos como *hidratos de metano*, que son moléculas de metano congelado. Estos hidratos de metano se forman cuando hay grandes cantidades de metano en ambientes con alta presión y baja temperatura, como ocurre bajo el permafrost del Ártico y en sedimentos marinos (Figura 20.1). Estos depósitos pueden alcanzar varios centenares de metros de espesor y se ha estimado que contienen de 700 a 10.000 petagramos (1 petagramo = 10^{15} g) de CH_4. Esto supera otras reservas terrestres conocidas de CH_4 en varios órdenes de magnitud.

Los hidratos de metano son muy dinámicos y adsorben y liberan CH_4 en respuesta a cambios de presión, de temperatura


Evan Solomon

Figura 20.3 Combustión de hidrato de metano. El metano congelado procedente de sedimentos marinos se somete a ignición.

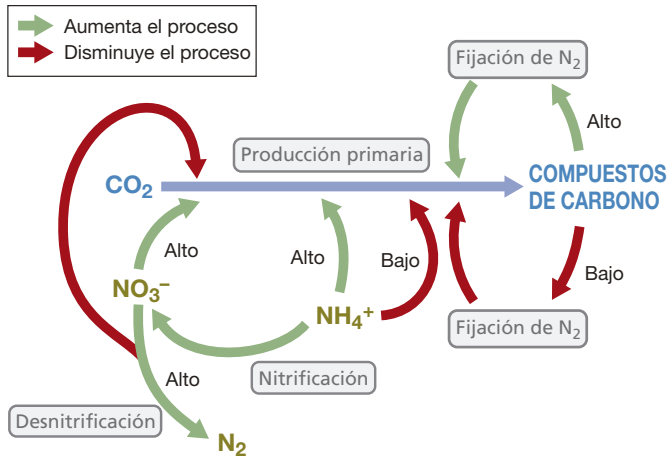


Figura 20.4 Ciclos acoplados. Todos los ciclos de nutrientes están interconectados, pero el del carbono y el del nitrógeno están íntimamente relacionados. En el ciclo del carbono, el CO_2 aporta el C para los compuestos carbonados. El ciclo del nitrógeno, que se muestra en más detalle en la Figura 20.7, aporta el N a muchos compuestos de carbono.

(**Figura 20.3**) y al movimiento de los fluidos. También alimentan ecosistemas de aguas profundas llamados *emanaciones frías*. Allí, la lenta liberación de CH_4 de los hidratos del lecho marino abastece no solo a arqueas anaerobias oxidadoras de metano (↻ Sección 13.24), sino también a comunidades animales que contienen endosimbiontes aerobios oxidadores de metano y liberan materia orgánica a los animales (↻ Sección 22.12). La oxidación anaeróbica de CH_4 está acoplada a la reducción de sulfato (SO_4^{2}), nitrato (NO_3^-) y óxidos de hierro y manganeso (como FeO[OH]) y los estudiosos del clima temen que el calentamiento global pueda catalizar una liberación catastrófica de CH_4 a partir de sus hidratos, algo que afectaría rápidamente al clima del planeta. De hecho, la liberación súbita de grandes cantidades de CH_4 a partir de su hidratos pudo haber originado las extinciones del Pérmico–Triásico hace unos 250 millones de años. Aquellas extinciones, las peores de toda la historia de la Tierra, aniquilaron prácticamente todos los animales marinos y más del 70 % de las especies de plantas y animales terrestres. Además de la liberación de hidratos de metano, si el permafrost se funde, sus grandes reservas de materia orgánica podrían desencadenar la formación de más metano (ver Arqueas y calentamiento global, página 553).

Equilibrios del carbono y ciclos acoplados

Aunque resulta práctico considerar el ciclo del carbono como una serie de reacciones independientes a las de otros ciclos de nutrientes, es muy importante conocer cómo se retroalimentan entre sí y están interconectados los diferentes ciclos. En realidad todos los ciclos de nutrientes son *ciclos acoplados* y los principales cambios en un ciclo afectan el funcionamiento de otros. Pero algunos, como el del carbono y el del nitrógeno (**Figura 20.4**) están interconectados muy fuertemente y sufren graves impactos de la actividad humana con consecuencias imprevistas para la salud del planeta (véase la Sección 20.8). La tasa de producción primaria (fijación de CO_2) está controlada por varios factores, particularmente por la magnitud de la biomasa fotosintética y por la disponibilidad de N, que es con frecuencia un factor limitante. Por tanto, la reducción a gran escala de la biomasa, por ejemplo mediante la deforestación, reduce la productividad primaria y aumenta la concentración de CO_2. Concentraciones elevadas de C orgánico estimulan la fijación de nitrógeno ($N_2 \rightarrow NH_3$) y esto a su vez añade más N fijado al reservorio de productores primarios mientras que concentraciones bajas de C orgánico tienen el efecto opuesto (Figura 20.4). Concentraciones altas de amoniaco (NH_3) estimulan la producción primaria y la nitrificación, pero inhiben la fijación de nitrógeno. Por otra parte, concentraciones altas de nitrato (NO_3^-), que es una excelente fuente de nitrógeno para las plantas y para los fotótrofos acuáticos, estimulan la producción primaria pero también aumentan la desnitrificación; este último proceso elimina del medio formas de N fijado y retroalimentan negativamente la producción primaria (Figura 20.4).

Este sencillo ejemplo ilustra que los ciclos de los nutrientes no son entidades aisladas, sino sistemas acoplados que mantienen un frágil equilibrio entre las incorporaciones y las salidas. Por tanto, podría esperarse que los ciclos respondan a grandes incorporaciones en puntos específicos (por ejemplo mediante incorporaciones de CO_2 o de fertilizantes nitrogenados) de manera tal que la respuesta no siempre es beneficiosa para la biosfera (Sección 20.8). Esto es cierto sobre todo en el caso de los ciclos del C y del N porque, después del agua, estos elementos son los más abundantes en los seres vivos y sus ciclos interaccionan de modo importante.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cómo se produce materia orgánica nueva en la naturaleza?
- ¿Cómo se relacionan la fotosíntesis oxigénica y la respiración?
- ¿Qué es un hidrato de metano?

20.2 Sintrofismo y metanogénesis

La mayoría de los compuestos orgánicos se oxidan en la naturaleza por procesos microbianos *aerobios*. Sin embargo, como el O_2 es un gas poco soluble y se consume pronto cuando está disponible, una gran cantidad de carbono orgánico acaba en

ambientes anóxicos. La metanogénesis, o producción biológica de CH_4, es un proceso importante en hábitats anóxicos llevado a cabo por un extenso grupos de arqueas, los *metanógenos*, que son aerobios estrictos. Ya tratamos la bioquímica de la metanogénesis en la Sección 13.20 y otros aspectos de los metanógenos en la Sección 16.2.

La mayoría de los metanógenos pueden usar CO_2 como aceptor terminal de electrones en la respiración anaeróbica, reduciéndolo a CH_4 con H_2 como donador de electrones. Solo unos cuantos sustratos más, especialmente el acetato, son convertidos directamente en CH_4 por los metanógenos. Para la conversión de la mayor parte de compuestos orgánicos a CH_4, los metanógenos deben asociarse con otros organismos llamados *síntróficos* que actúan suministrando precursores para la metanogénesis.

Descomposición anóxica y sintrofismo

En la Sección 13.15 explicamos la bioquímica del **sintrofismo**, un proceso en el que dos o más organismos cooperan en la degradación anaeróbica de compuestos orgánicos. Ahora trataremos las interacciones de las bacterias sintróficas con su organismo asociado y su importancia en el ciclo del carbono. Nos centraremos en los sedimentos anóxicos del agua dulce y en la depuración anóxica de aguas residuales, que son dos importantes fuentes de CH_4.

Los polisacáridos, las proteínas, los lípidos y los ácidos nucleicos de los organismos muertos van a parar a los hábitats anóxicos, donde son catabolizados. Los monómeros liberados por la hidrólisis de estos polímeros son unos donadores de electrones excelentes para el metabolismo energético. Para degradar un polisacárido típico como la celulosa, el proceso comienza con las bacterias *celulolíticas* (**Figura 20.5**). Estos organismos hidrolizan la celulosa a glucosa, que es catabolizada por organismos fermentadores para formar ácidos grasos de cadena corta (acetato, propionato y butirato), alcoholes como el etanol y el butanol, y los gases H_2 y CO_2. El H_2 y el acetato son consumidos rápidamente por los metanógenos, pero la mayor parte del carbono permanece en forma de ácidos grasos y alcoholes que los metanógenos no pueden catabolizar directamente. El catabolismo de estos compuestos requiere la actividad de bacterias sintróficas (↻ Sección 13.15; Figura 20.5).

Las bacterias sintróficas son fermentadores *secundarios* porque fermentan los productos sintetizados por los fermentadores primarios y producen H_2, CO_2 y acetato. Por ejemplo, *Syntrophomonas wolfei* oxida ácidos grasos de C_4 a C_8 y produce acetato, CO_2 (si el ácido graso contiene un número impar de átomos de carbono) y H_2 (**Tabla 20.1** y Figura 20.5). Otras especies de *Syntrophomonas* utilizan ácidos grasos de hasta C_{18}, como algunos ácidos grasos insaturados. *Syntrophobacter wolinii* está especializado en la fermentación del propionato (C_3) y genera acetato, CO_2 y H_2, y *Syntrophus gentianae* degrada compuestos aromáticos, como el benzoato, a acetato, CO_2 y H_2 (Tabla 20.1). A pesar de su diversidad metabólica, bastante extensa, los organismos sintróficos no pueden llevar a cabo ninguna de estas reacciones en un cultivo axénico porque, debido a la energética particular del proceso sintrófico, dependen de un organismo asociado que sea consumidor de H_2.

Como se ha descrito en la Sección 13.15, el consumo del H_2 por el organismo asociado es crucial para el crecimiento de las

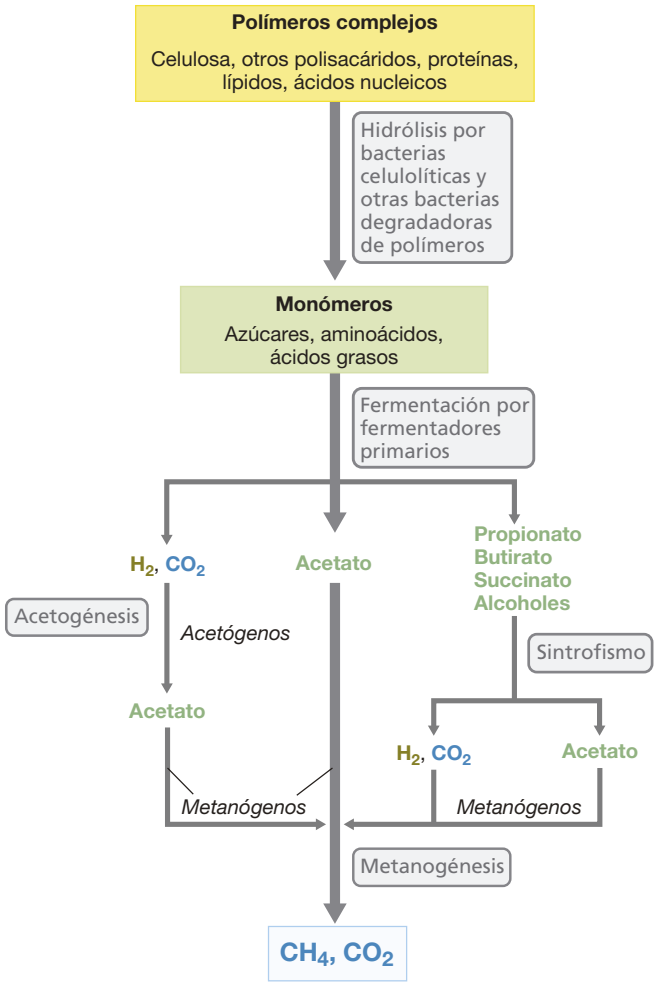


Figure 20.5 **Descomposición anóxica.** En la descomposición anóxica, varios grupos de anaerobios fermentadores cooperan en la conversión de materiales orgánicos complejos en metano (CH_4) y CO_2. El modelo es válido para los ambientes en los que las bacterias reductoras de sulfato son poco importantes, por ejemplo, en los sedimentos lacustres, en los biorreactores de aguas residuales o en el rumen.

bacterias sintróficas (en ausencia de otros aceptores de electrones) y la asociación entre el productor y el consumidor de H_2 puede ser muy estrecha. Se piensa que la transferencia de H_2 en algunas asociaciones sintróficas puede realizarse a través de una *conducción directa* mediante transferencia de electrones entre especies, usando estructuras conductoras semejantes a cables (véase más adelante en este capítulo, Explorarando el Mundo Microbiano). Pero independientemente de cómo se produzca esta transferencia, es el propio intercambio de H_2 lo que permite que la asociación sintrófica funcione. ¿Cómo sucede esto?

Cuando las reacciones que se indican en la Tabla 20.1 para la fermentación de burirato, propionato, etanol o benzoato se escriben con todos los reactantes en condiciones estándar (solutos a 1 M, gases a 1 atm y 25 °C), las reacciones producen cambios de energía libre ($\Delta G^{0\prime}$; ↻ Sección 3.4) que son positivos, lo que indica que las reacciones *requieren* energía en vez de *liberarla*. Pero el consumo de H_2 cambia drásticamente el estado energético al convertir la reacción en exergónica y permitir que

Tabla 20.1 Principales reacciones durante la conversión anóxica de compuestos orgánicos en metano[a]

		Incremento de energía libre (kJ/reacción)	
Tipo de reacción	*Reacción*	$\Delta G^{0\prime}$ [b]	ΔG[c]
Fermentación de glucosa a acetato, H_2, y CO_2	Glucosa + $4H_2O \rightarrow 2$ Acetato$^-$ + $2HCO_3^-$ + $4H^+$ + $4H_2$	–207	–319
Fermentación de glucosa a butirato, CO_2, y H_2	Glucosa + $2H_2O \rightarrow$ Butirato$^-$ + $2HCO_3^-$ + $2H_2$ + $3H^+$	–135	–284
Fermentación de butirato a acetato y H_2	Butirato$^-$ + $2H_2O \rightarrow 2$ Acetato$^-$ + H^+ + $2H_2$	+48,2	–17,6
Fermentación de propionato a acetato, CO_2, y H_2	Propionate$^-$ + $3H_2O \rightarrow$ Acetato$^-$ + HCO_3^- + H^+ + H_2	+76,2	–5,5
Fermentación de etanol a acetato y H_2	2 Etanol + $2H_2O \rightarrow 2$ Acetato$^-$ + $4H_2$ + $2H^+$	+19,4	–37
Fermentación de benzoato a acetato,CO_2, y H_2	Benzoato$^-$ + $7H_2O \rightarrow 3$ Acetato$^-$ + $3H^+$ + HCO_3^- + $3H_2$	+70,1	–18
Metanogenia a partir de H_2 + CO_2	$4H_2$ + HCO_3^- + $H^+ \rightarrow CH_4$ + $3H_2O$	–136	–3.2
Metanogénesis a partir de acetato	Acetato$^-$ + $H_2O \rightarrow CH_4$ + HCO_3^-	–31	–24,7
Acetogénesis a partir de H_2 + CO_2	$4H_2$ + $2HCO_3^-$ + $H^+ \rightarrow$ Acetato$^-$ + $4H_2O$	–105	–7,1

[a]Datos adaptados de Zinder, S. 1984. «Microbiology of anaerobic conversion of organic wastes to methane: Recent developments», *Am. Soc. Microbiol. 50:* 294-298.
[b]Condiciones estándar: solutos a 1 M, gases a 1 atm y 25 °C.
[c]Concentración de los reactantes en un ecosistema anóxico de agua dulce: ácidos grasos a 1 mM; HCO_3^- a 20 mM; glucosa a 10 µM; CH_4 a 0,6 atm; H_2 a 10^{-4} atm. Para calcular el ΔG a partir de $\Delta G^{0\prime}$, véase el Apéndice 1.

se produzca energía. Esto se puede ver en la Tabla 20.1, en la que los valores de ΔG (aumento de energía libre medida en las condiciones reales del hábitat) son negativos, si la concentración de H_2 se mantiene cercana a cero porque lo consume el organismo asociado. Esto permite a la bacteria sintrófica producir una pequeña cantidad de energía que se emplea para sintetizar ATP.

Los productos finales de la asociación sintrófica son CO_2 y CH_4 (Figura 20.5) y cualquier compuesto orgánico producido de manera natural que entre en un hábitat metanógeno acabará convertido en estos productos. Esto incluye también los compuestos aromáticos complejos y los hidrocarburos alifáticos. Otros organismos, además de los mostrados en la Figura 20.5, pueden participar en tales degradaciones, pero a la larga se acaban generando ácidos grasos y alcoholes que los organismos sintróficos convertirán en sustratos para los metanógenos. El acetato producido por los organismos sintróficos (así como el producido por la actividad de bacterias acetogénicas, ↻ Sección 13.19) es un sustrato metanogénico directo que es convertido a CO_2 y CH_4 por varios metanógenos.

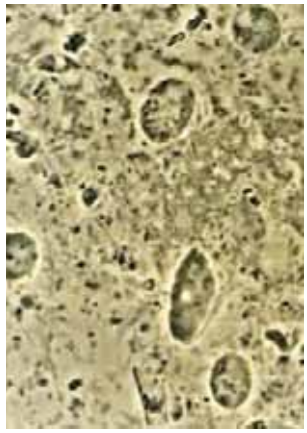
Simbiontes metanogénicos y acetogénicos en las termitas

Protistas anaerobios diversos que viven en condiciones anóxicas estrictas, como los ciliados y los flagelados, desempeñan un papel importante en el ciclo del carbono. Hay arqueas metanógenas que viven dentro de algunos de estos protistas como endosimbiontes consumidores de H_2. En los termes, por ejemplo, los metanógenos están presentes *dentro* de las células de tricomonas que se encuentran en su intestino (**Figura 20.6**), donde la metanogénesis y la acetogénesis son importantes procesos metabólicos. Los simbiontes metanógenos de los protistas son especies de los géneros *Methanobacterium* o *Methanobrevibacter* (↻ Sección 16.2).

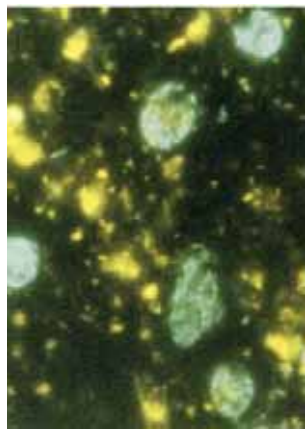
Se piensa que los metanógenos endosimbiónticos del intestino de los termes, junto con bacterias acetógenas, benefician a sus protistas hospedadores al consumir el H_2 generado por



(a)



(b)



(c)

Figura 20.6 Los termes y su metabolismo del carbono. *(a)* Larva de un termes obrero subterráneo, y al lado un intestino extraído de otro obrero diferente. El animal mide unos 0,5 cm de largo. Dos vistas del mismo campo microscópico muestran los protistas del intestino del termes fotografiados mediante *(b)* contraste de fases y *(c)* epifluorescencia. Los metanógenos endosimbiontes de las células del protista muestran fluorescencia de color verde-azulado debido a la coenzima fluorescente F_{420} (compárese con la Figura 13.48). El diámetro medio de una célula del protista es de 15 a 20 µm.

la fermentación de la glucosa en los protistas celulolíticos. Los acetógenos no son endosimbiontes, sino residentes del intestino que consumen H_2 producido por los fermentadores primarios y reducen el CO_2 para sintetizar acetato. A diferencia de los metanógenos, los acetógenos pueden fermentar la glucosa directamente a acetato. También pueden fermentar compuestos aromáticos metoxilados hasta acetato, lo que es especialmente importante en el intestino del terme porque estos insectos se nutren de madera, que contiene lignina, un polímero complejo de compuestos aromáticos metoxilados. El acetato producido por los acetógenos en el intestino de los termes es consumido por los insectos como fuente principal de energía. Las simbiosis microbianas de los termes se exponen con más detalle en la Sección 22.10.

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué necesita *Syntrophomonas* estar asociado a otro organismo para fermentar ácidos grasos o alcoholes?
- ¿Qué clase de organismos se emplean en cocultivo con *Syntrophomonas*?
- ¿Cuál es el producto final de la acetogénesis?

20.3 El ciclo del nitrógeno

El nitrógeno es un elemento esencial para la vida (↻ Sección 3.1) y se puede encontrar en varios estados de oxidación. Hasta ahora hemos tratado cuatro importantes transformaciones microbianas del nitrógeno: la nitrificación, la desnitrificación, el proceso de anammox y la fijación del nitrógeno (Capítulo 13). Estas y otras transformaciones fundamentales del nitrógeno se resumen en el ciclo redox mostrado en la **Figura 20.7**.

Fijación de nitrógeno y desnitrificación

El nitrógeno gaseoso (N_2) es la forma más estable de este elemento y el principal reservorio de nitrógeno en la Tierra. Sin embargo, solo un pequeño número de procariotas puede utilizarlo como fuente de nitrógeno para la célula mediante el proceso de *fijación de nitrógeno* ($N_2 + 8H \rightarrow 2NH_3 + H_2$) (↻ Sección 3.17). El nitrógeno de la Tierra que se recicla es, en su mayor parte, en forma de «nitrógeno fijado», es decir, nitrógeno en combinación con otros elementos como en el amoniaco (NH_3) o en los nitratos (NO_3^-). Sin embargo, en muchos ambientes, el escaso aporte de oxígeno fijado hace que la fijación biológica del nitrógeno tenga más importancia y en esos hábitats proliferan las bacterias fijadoras de nitrógeno.

En la Sección 13.17 expusimos la función del nitrato como aceptor de electrones alternativo en la respiración anaeróbica. En la mayoría de condiciones, el producto final de la reducción de nitrato son los compuestos gaseosos N_2, óxido nítrico (NO) u óxido nitroso (N_2O). Este proceso de reducción, que se denomina **desnitrificación** (Figura 20.7), es la principal forma biológica de producción de N_2 y N_2O. Por un lado, la desnitrificación es un proceso perjudicial. Por ejemplo, si se abonan los campos cultivados con nitrato, cuando se producen lluvias fuertes el abono queda atrapado en el agua, de manera que se presentan condiciones anóxicas y puede producirse una gran desnitrificación, con lo que se elimina del suelo el nitrógeno fijado. Por otro lado, la desnitrificación puede ayudar a la depuración de aguas residuales (↻ Secciones 21.6 y 21.7). Al convertir el nitrato en formas volátiles de N, la desnitrificación minimiza el nitrógeno fijado y, por tanto, el crecimiento de algas cuando las aguas residuales depuradas se vierten en lagos y cursos de agua.

La producción de óxido nitroso (N_2O) y óxido nítrico (NO) mediante desnitrificación puede tener otras consecuencias ambientales. El óxido nitroso se puede oxidar

Procesos clave y procariotas del ciclo del nitrógeno

Procesos	Organismos
Nitrificación ($NH_4^+ \rightarrow NO_3^-$)	
$NH_4^+ \rightarrow NO_2^-$	*Nitrosomonas, Nitrosopumilus* (*Archaea*)
$NO_2^- \rightarrow NO_3^-$	*Nitrobacter*
Desnitrificación ($NO_3^- \rightarrow N_2$)	*Bacillus, Paracoccus, Pseudomonas*
Fijación de N_2 ($N_2 + 8\,H \rightarrow NH_3 + H_2$)	
De vida libre	
Aerobios	*Azotobacter*
	Cyanobacteria
Anaerobios	*Clostridium*, purple and
	verdes y púrpuras
	Methanobacterium (Archaea)
Simbióticos	*Rhizobium*
	Bradyrhizobium
	Frankia
Amonificación (N orgánico $\rightarrow NH_4^+$)	
	Pueden hacerla muchos
Anamox ($NO_2^- + NH_3 \rightarrow 2\,N_2$)	*Brocadia*

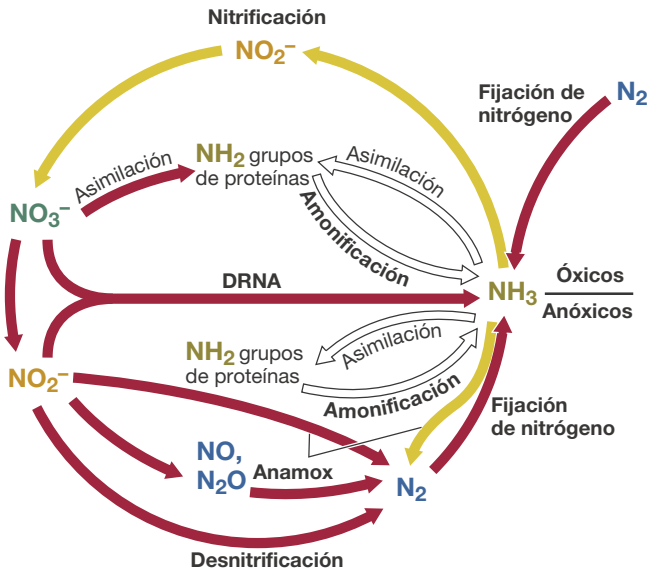


Figura 20.7 Ciclo redox del nitrógeno. Las reacciones de oxidación se muestran con flechas amarillas y las de reducción con flechas rojas. Las reacciones sin cambio redox aparecen en blanco. La reacción anammox es: $NH_4^+ + NO_2^- \rightarrow N_2 + 2H_2O$ (↻ Figura 13.28). DRNA significa reducción desasimiladora de nitrato a amoniaco.

UNIDAD 4

fotoquímicamente hasta NO en la atmósfera. El óxido nítrico reacciona con el ozono (O_3) en las capas superiores de la atmósfera para formar nitrito (NO_2^-), que vuelve a la Tierra como ácido nitroso (HNO_2). Además, el N_2O es un gas con un fuerte efecto invernadero; y aunque sus moléculas tienen una vida media solo unos cien años debido a su reactividad, su contribución al calentamiento global es, teniendo en cuenta su peso, unas trescientas veces la del CO_2. Por tanto, la desnitrificación contribuye al calentamiento global, a la destrucción del ozono, lo que hace que llegue más radiación ultravioleta a la superficie de la Tierra, y a la lluvia ácida, que aumenta la acidez de los suelos. El aumento de la acidez del suelo puede cambiar la estructura y funcionamiento de las comunidades microbianas y, a la larga, la fertilidad del suelo, lo que tiene repercusiones tanto sobre la diversidad vegetal como sobre la producción agrícola.

Amonificación y flujos de amoniaco

El amoniaco se libera durante la descomposición de los compuestos orgánicos nitrogenados tales como aminoácidos y nucleótidos, en un proceso denominado *amonificación* (Figura 20.7). Otro proceso que contribuye a la generación de NH_3 es la reducción respiratoria de NO_3^- a NH_3, que se conoce como *reducción desasimiladora de nitrato a amoniaco* (DRNA, del inglés *dissimilative reduction of nitrate to ammonia*, en la Figura 20.7). El proceso de DNRA domina la reducción de nitrato (NO_3^-) y nitrito (NO_2^-) en ambientes anóxicos reductores tales como los sedimentos orgánicos marinos y el tubo digestivo humano. Se piensa que las bacterias reductoras de nitrato usan, fundamentalmente, esta vía cuando el NO_3^- es limitante porque la DRNA consume ocho electrones en vez de los cuatro o cinco que se consumen cuando el NO_3^- se reduce a NO_2 o N_2, respectivamente.

A pH neutro, el amoniaco se encuentra en forma de ion amonio (NH_4^+). La mayor parte del amonio liberado por la descomposición aeróbica del suelo se recicla rápidamente y se convierte en los aminoácidos de las plantas y microorganismos. Sin embargo, dado que el amoniaco es volátil, una parte se pierde de los suelos alcalinos por vaporización, y las mayores pérdidas de amoniaco a la atmósfera se producen en los lugares con una densa población animal (por ejemplo, en corrales o establos donde se confina el ganado vacuno). A escala global, sin embargo, el amoniaco constituye solo el 15 % del nitrógeno liberado a la atmósfera, puesto que la mayor parte lo forman el N_2 y el N_2O procedentes de la desnitrificación.

Nitrificación y anammox

La *nitrificación*, que es la oxidación del NH_3 a NO_3^-, es un proceso importante en suelos óxicos bien drenados a pH neutro y la llevan a cabo los procariotas nitrificantes (Figura 20.7). Mientras que la desnitrificación *consume* nitrato, la nitrificación lo *produce*. Si se añade a los suelos materia orgánica con un alto contenido de NH_3, como estiércol o aguas residuales, aumenta la tasa de nitrificación.

La nitrificación es un proceso de dos pasos en el que algunas especies oxidan NH_3 a NO_2^- y otras oxidan NO_2^- a NO_3^-. Muchas especies de arqueas y de bacterias pueden oxidar NH_3 (↻ Secciones 13.10, 14.13, 16.6), mientras que hasta ahora solo se conocen especies de bacterias que oxiden el NO_2^-. Las arqueas nitrificantes suelen superar en gran número a sus equivalentes bacterianas en los sistemas marinos y terrestres y es probable que controlen la velocidad de oxidación del NH_3 en la naturaleza.

Aunque las plantas asimilan con facilidad el nitrato, este compuesto es muy hidrosoluble y se escurre o se desnitrifica de los suelos encharcados. Por consiguiente, la nitrificación no es beneficiosa para la agricultura. Por otra parte, el amoniaco está cargado positivamente y se adsorbe con fuerza en los suelos cargados negativamente. Por eso el amoniaco anhidro es muy utilizado como abono en agricultura, pero para impedir su conversión a NO_3^- se le añaden productos químicos para inhibir la nitrificación. Uno de los inhibidores habituales es un compuesto de la piridina, la *nitrapirina* (2-cloro-6-triclorometilpiridina), que inhibe específicamente la *primera* etapa de la nitrificación, que es la oxidación del NH_3 a NO_2^-, lo que en definitiva bloquea las dos etapas de la nitrificación, porque la segunda, $NO_2^- \rightarrow NO_3^-$, depende de la primera (↻ Sección 13.10). La adición de nitrapirina al amonio anhidro ha aumentado enormemente la eficacia de la fertilización de los cultivos y ha ayudado a prevenir la contaminación de los cursos de agua con el nitrato lixiviado desde suelos fertilizados.

El amoniaco puede ser oxidado en condiciones anóxicas por *Brocadia* en el proceso denominado *anamox*. En esta reacción, el amoniaco se oxida anaeróbicamente con nitrito (NO_2^-) como aceptor de electrones y como producto final libera N_2 que pasa a la atmósfera (Figura 20.7). Aunque se trata de un proceso importante en las aguas residuales, y en las fosas y sedimentos marinos, el proceso de anamox no es significativo en los suelos bien drenados (óxicos). La microbiología y la bioquímica del anammox se trató en la Sección 13.10.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué es la fijación del nitrógeno y por qué es importante en el ciclo de este elemento?
- ¿En qué se diferencian los procesos de nitrificación y desnitrificacion? ¿En qué se diferencian la nitrificación y el proceso de anammox?
- ¿Cómo beneficia la nitrapirina a la agricultura y al ambiente?

20.4 El ciclo del azufre

Las transformaciones del azufre (S) por los microorganismos son aún más complejas que las del nitrógeno debido al gran número de estados de oxidación del azufre y a que algunas de sus transformaciones se producen también de manera espontánea (abiótica). La oxidación del azufre y la reducción del sulfato quimiolitotróficas se trataron en las Secciones 13.8, 13.18, 14.9, y 14.11. El ciclo redox de las transformaciones microbianas del azufre se muestra en la **Figura 20.8**.

Aunque el azufre se puede encontrar en varios estados de oxidación, solo tres tienen importancia en la naturaleza: −2 (sulfhidrilo, R—SH, y sulfuro, HS^-), 0 (azufre elemental, S^0) y +6 (sulfato, SO_4^{2-}). La mayor parte del azufre de nuestro planeta se encuentra en sedimentos y rocas en forma de minerales de sulfato, principalmente como yeso ($CaSO_4$) y minerales de sulfuro (pirita, FeS_2), aunque el mar constituye el principal reservorio de sulfato de la biosfera. Una parte significativa de S,

Procesos clave y procariotas del ciclo del azufre

Procesos	Organismos
Oxidación de sulfuro/azufre ($H_2S \rightarrow S^0 \rightarrow SO_4^{2-}$)	
Aerobia	Quimiolitótrofos del azufre (*Thiobacillus*, *Beggiatoa*, otros)
Anaerobia	Bacteria fotótrofas verdes y púrpuras, algunos quimiolitótrofos
Reducción de sulfato (anaerobia) ($SO_4^{2-} \rightarrow H_2S$)	*Desulfovibrio*, *Desulfobacter* *Archaeoglobus (Archaea)*
Reducción de azufre (anaerobia) ($S^0 \rightarrow H_2S$)	*Desulfuromonas*, muchas *Archaea* hipertermófilas
Disminución del azufre ($S_2O_3^{2-} \rightarrow H_2S + SO_4^{2-}$)	*Desulfovibrio*, y otros
Oxidación o reducción de compuestos orgánicos azufrados ($CH_3SH \rightarrow CO_2 + H_2S$) ($DMSO \rightarrow DMS$)	Muchos organismos pueden hacerlo
Desulfurilación (S orgánico $\rightarrow H_2S$)	Muchos organismos pueden hacerlo

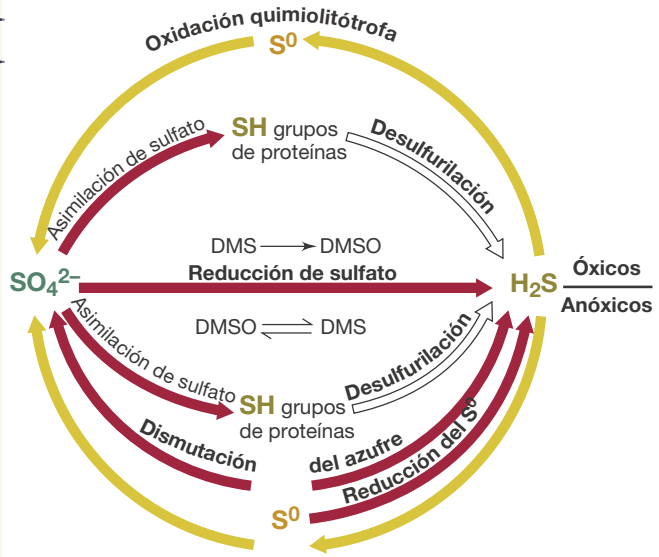


Figure 20.8 **Ciclo redox del azufre.** Las reacciones de oxidación se muestran con flechas amarillas y las de reducción con flechas rojas. Las reacciones sin cambio redox aparecen en blanco. DMS, sufuro de dimetilo; DMSO, sulfóxido de dimetilo.

particularmente el dióxido de azufre (SO_2, un gas), se incorpora al ciclo del S mediante la actividad humana, sobre todo por la combustión de combustibles fósiles.

Reducción de sulfato y sulfuro de hidrógeno

El sulfuro de hidrógeno (H_2S) es el principal gas volátil de azufre. El sulfuro se forma a partir de la reducción bacteriana del sulfato ($SO_4^{2-} + 4\,H_2 \rightarrow H_2S + 2\,H_2O + 2\,OH^-$) (Figura 20.8) o por las emisiones de solfataras y volcanes. Aunque el H_2S sea volátil, la forma de sulfuro presente en un ambiente depende del pH: por debajo de pH 7 predomina el H_2S y por encima predominan las formas no volátiles SH^- y el S^{2-}. En conjunto, H_2S, HS^-, y S^{2-} se designan como «sulfuros».

Las bacterias reductoras de sulfato forman un grupo grande y diverso (↻ Secciones 13.18 y 14.9), y están ampliamente distribuidas en la naturaleza. Sin embargo, en hábitats anóxicos, como los sedimentos de aguas dulces y muchos suelos, la reducción del sulfato se ve limitada por la disponibilidad de SO_4^{2-}. Además, debido a que, para mantener la reducción del sulfato se necesitan donadores orgánicos de electrones (o H_2, que es un producto de la fermentación de los compuestos orgánicos), solo se produce cuando hay cantidades significativas de materia orgánica.

En los sedimentos marinos, la tasa de reducción del sulfato está normalmente limitada por el carbono y se puede aumentar mucho con una entrada de materia orgánica. Eso es importante porque el vertido de aguas residuales o basuras en el mar o en las regiones costras puede desencadenar la reducción de sulfato. Como el H_2S es tóxico para muchas plantas y animales, su formación puede ser peligrosa (el sulfuro es tóxico porque se combina con el hierro de los citocromos y bloquea la respiración). El sulfuro se detoxifica habitualmente en la naturaleza al combinarse con el hierro y formar los minerales insolubles FeS (pirrotina) y FeS_2 (pirita). El color negro de los sedimentos sulfúricos o de los cultivos de bacterias reductoras de sulfato se debe a estos minerales de sulfuros metálicos (↻ Figura 14.23*g*).

Oxidación y reducción del sulfuro y el azufre elemental

En condiciones óxicas y a pH neutro, el sulfuro se oxida rápida y espontáneamente. Las bacterias quimiolitótrofas oxidadoras de azufre, que en su mayoría son aerobias (↻ Secciones 13.8 y 14.11), catalizan la oxidación del sulfuro. Sin embargo, debido a la rapidez con la que se produce la reacción química espontánea, la oxidación microbiana del sulfuro es significativa solo en las zonas en las que el H_2S procedente de las zonas anóxicas más profundas se encuentra con el aire. Además, si hay luz, se puede producir la oxidación anóxica del sulfuro catalizada por bacterias fotótrofas rojas verdes del azufre (↻ Secciones 13.3, 14.4 y 14.6).

El azufre elemental (S^0) es químicamente estable, pero es oxidado fácilmente por bacterias quimiolitótrofas oxidadoras de azufre, como *Thiobacillus* y *Acidithiobacillus*. El azufre elemental es insoluble y por eso las bacterias que lo oxidan se adhieren fuertemente a los cristales de azufre para obtener su sustrato (↻ Figura 13.21). La oxidación del azufre elemental forma ácido sulfúrico (H_2SO_4) y ocasiona una disminución característica del pH del ambiente, a veces de manera muy acusada. Por este motivo, a veces se añade azufre elemental a los suelos alcalinos como un medio barato y natural para bajar el pH, confiando en que los ubicuos quimiolitótrofos del azufre se encarguen del proceso de la acidificación.

El azufre elemental puede ser tanto reducido como oxidado. La reducción de azufre elemental a sulfuro (una forma de respiración anaeróbica) es un proceso ecológico importante de algunas bacterias y arqueas hipertermófilas (↻ Sección 14.10 y Capítulo 16). Aunque las bacterias reductoras de sulfato también pueden reducir S^0, en los hábitats con sulfuro la mayor parte del azufre elemental es reducido por los reductores de azufre especializados fisiológicamente, que son organismos incapaces de reducir el sulfato (tanto Sección 14.10). Los hábitats de los reductores de azufre son, por lo general, los de los reductores de sulfato, de manera que, desde el punto de vista

ecológico, los dos grupos forman un gremio metabólico unificado por su producción de H_2S.

Compuestos orgánicos del azufre

Además de las formas *inorgánicas* del azufre, en la naturaleza también se reciclan otros varios compuestos *orgánicos* del azufre. Muchos de estos compuestos con olor a huevos podridos son muy volátiles, por lo que pasan a la atmósfera. El compuesto orgánico del azufre más abundante en la naturaleza es el *sufuro de dimetilo* ($CH_3—S—CH_3$), que se origina principalmente en los ambientes marinos como producto de degradación del propionato de dimetilsulfonio, un soluto osmorregulador importante en las algas marinas (↔ Sección 5.15). Los microorganismos pueden utilizar este compuesto como fuente de carbono y donador de electrones y lo catabolizan a sulfuro de dimetilo y acrilato ($CH_2{=}CHCOO^-$). El acrilato es un derivado del ácido graso propionato y se utiliza para el crecimiento microbiano.

El sulfuro de dimetilo liberado a la atmósfera se oxida fotoquímicamente a metanosulfonato ($CH_3SO_3^-$), SO_2 y SO_4^{2-}. Los microorganismos, en cambio, pueden transformar el sulfuro de dimetilo producido en los hábitats anóxicos al menos de tres maneras: 1) por metanogenesis (se produce CH_4 y H_2S), 2) como donador de electrones para la fijación fotosintética del CO_2 en las bacterias fotótrofas rojas (se produce sulfóxido de dimetilo, DMSO), y 3) como donador de electrones en el metabolismo energético de determinados quimioorganótrofos y quimiolitótrofos (también se produce DMSO). El DMSO puede actuar como aceptor de electrones en la respiración anaeróbica (↔ Sección 13.21) con producción de sulfuro de dimetilo. Otros muchos compuestos orgánicos del azufre afectan al ciclo global de este elemento, entre ellos el metanotiol (CH_3SH), el disulfuro de dimetilo ($H_3C—S—S—CH_3$) y el disulfuro de carbono (CS_2), pero, a escala global, el sulfuro de dimetilo es el más significativo.

MINIRREVISIÓN

- El H_2S ¿es un sustrato o un producto de las bacterias reductoras de sulfato? ¿Y de las bacterias quimiolitótrofas del azufre?
- ¿Por qué la oxidación bacteriana del azufre causa un descenso del pH?
- ¿Qué compuesto orgánico del azufre es el más abundante en la naturaleza?

II • Otros ciclos de nutrientes

En esta unidad exploraremos las interacciones de los microorganismos con los metales —en particular con el hierro y el manganeso— y con algunos elementos no metálicos cuyas transformaciones microbianas tienen una importancia global destacada.

20.5 Los ciclos del hierro y del manganeso

El hierro (Fe) es uno de los elementos más abundantes en la corteza terrestre. En la superficie de la Tierra, se presenta de manera natural en dos estados de oxidación: ferroso (Fe^{2+}, también Fe[II]) y férrico (Fe^{3+}, también Fe[III]). Un tercer estado de oxidación, el Fe^0, es abundante en el núcleo de la Tierra y también que solo se produce por la actividad humana por la fundición del mineral de hierro para obtener el hierro fundido.

En la naturaleza, el hierro se recicla principalmente entre las formas ferrosa y férrica, y estas transiciones redox son oxidaciones y reducciones de un solo electrón . El Fe^{3+} se reduce químicamente y mediante un tipo de respiración anaeróbica, y el Fe^{2+} se oxida químicamente y mediante un tipo de metabolismo quimiolitotrófico (**Figura 20.9**). El manganeso (Mn), aunque 5 o 10 veces menos abundante que el Fe en los ambientes cercanos a la superficie, es otro metal con actividad redox de importancia microbiológica, que existe principalmente en dos estados de oxidación (Mn^{2+} y Mn^{4+}, véase la Figura 20.10).

Una característica fundamental de los ciclos del hierro y del manganeso es la diferente solubilidad de estos metales en sus formas oxidada y reducida. El hierro y el manganeso como metales reducidos son solubles, mientras que los minerales oxidados del hierro (por ejemplo, los óxidos e hidróxidos $Fe[OH]_3$, FeOOH, y Fe_2O_3), y el óxido de manganeso (MnO_2) son insolubles y en los ambientes acuáticos suelen precipitar. Por consiguiente, estos oxidantes fuertes suponen un alto porcentaje en peso de los sedimentos marinos y de agua dulce y los convierte en los más abundantes aceptores potenciales de electrones en muchos sistemas anóxicos (Figura 20.10).

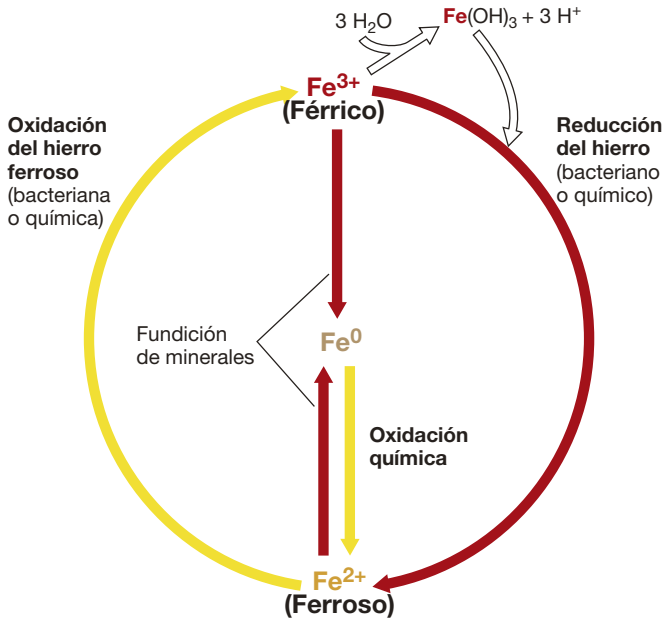


Figura 20.9 Ciclo redox del hierro. Las formas principales de hierro en la naturaleza son Fe^{2+} y Fe^{3+}. El Fe^0 es principalmente un producto de la fundición de mineral de hierro. Las oxidaciones corresponden a las flechas amarillas y las reducciones a las flechas rojas. El Fe^{3+} forma varios minerales como el hidróxido férrico, $Fe(OH)_3$.

Reducción bacteriana de óxidos de hierro y de manganeso

Algunas bacterias y arqueas utilizan el hierro férrico (Fe^{3+}) como aceptor de electrones en la respiración anaeróbica (↻ Sección 13.21). Tales organismos suelen tener también la capacidad de utilizar el Mn^{4+} como aceptor de electrones y algunos pueden reducir uranio oxidado (↻ Sección 21.3).

La reducción de óxidos de manganeso y de hierrro férrico es frecuente en suelos encharcados, turberas y sedimentos lacustres anóxicos (**Figura 20.10**). Cuando el hierro y el manganeso reducidos solubles alcanzan las regiones óxicas, por ejemplo, mediante difusión desde las regiones anóxicas de los sedimentos, se oxida químicamente [como, $Fe^{2+} + \frac{1}{4}\ O_2 + 2\ \frac{1}{2}\ H_2O \rightarrow Fe(OH)_3 + 2H^+$] (Figura 20.9). La oxidación química del Fe^{2+} es muy rápida a pH neutro. Aunque la oxidación química espontánea del Mn^{2+} es muy lenta a pH cercano a la neutralidad, la velocidad de oxidación puede aumentar hasta cinco órdenes de magnitud cuando la llevan a cabo diversas bacterias e incluso hongos oxidadores de manganeso. Entonces los óxidos e hidróxidos de los metales oxidados precipitan y los metales oxidados vuelven a los sedimentos, donde pueden volver a actuar como aceptores de electrones, completando así el ciclo.

El hierro (Fe^{3+}) y el manganeso (Mn^{4+}) oxidados son químicamente muy reactivos. El fosfato queda atrapado en precipitados insolubles de fosfato férrico. La oxidación química mediante Mn^{4+} de compuestos orgánicos persistentes puede suministrar más fuentes de carbono disponibles para el crecimiento microbiano. Otros metales, como el cobre (Cu), el cadmio (Cd), el cobalto (Co), el plomo (Pb), o el arsénico (As), forman complejos insolubles con óxidos de hierro y manganeso que, cuando luego son reducidos, se liberan junto con las formas solubles de esos metales.

Recientemente, se ha observado que la superficie y los pedúnculos de células bacterianas que interaccionan con óxidos de hierro y manganeso, como *Geobacter*, son conductores eléctricos y funcionan como «nanocables» para el desplazamiento de los electrones en los hábitats microbianos. Este movimiento de los electrones es una forma de electricidad y el proceso podría acabar teniendo una aplicación comercial en la generación de energía (véase Explorando el Mundo Microbiano «Cables microbianos». Las sustancias húmicas (Sección 20.1) también pueden facilitar la reducción microbiana de metales. Como algunos constituyentes del humus alternan entre formas oxidadas y reducidas, pueden actuar como lanzadoras que transportan electrones desde la bacteria hasta el lugar de reducción de los óxidos de hierro y manganeso (**Figura 20.11**).

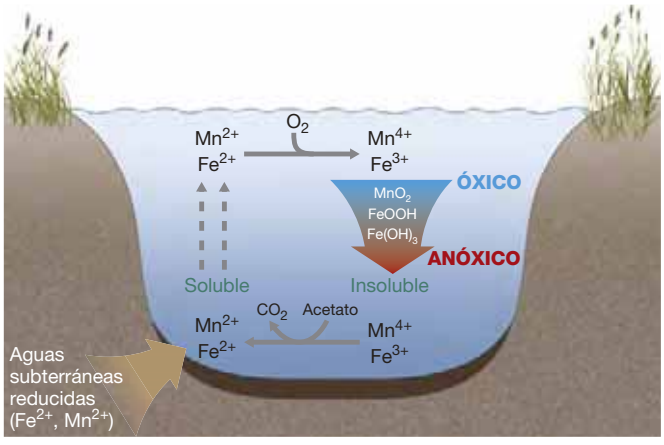


Figura 20.10 Reciclaje del hierro y manganeso en un sistema típico de agua dulce. Las bacterias reductoras de metales usan los óxidos de hierro y manganeso de los sedimentos, se usan como aceptores de electrones. Las formas reducidas resultantes son solubles y se difunden a las regiones óxicas del sedimento o de la columna de agua, donde se oxidan por la acción de microorganismos o químicamente. La precipitación de los metales oxidados insolubles devuelve estos metales a los sedimentos y completa el ciclo redox.

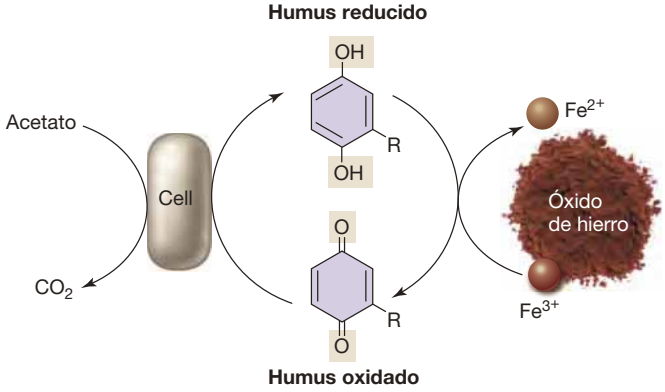


Figura 20.11 Papel de las sustancias húmicas del humus como transportadoras de electrones en la reducción microbiana de metales. En el humus, grupos funcionales del tipo de las quinonas son reducidos por bacterias oxidadoras de acetato. El humus reducido puede entonces donar los electrones a óxidos metálicos, originando hierro soluble reducido (Fe^{2+}) y humus oxidado. El ciclo continua a medida que el humus oxidado es reducido de nuevo por las bacterias.

Oxidación microbiana de hierro y manganeso reducidos

A pH neutro, el hierro ferroso (Fe^{2+}) se oxida rápidamente de modo abiótico en ambientes óxicos. En cambio, a pH *ácido* ($pH < 4$) el Fe^{2+} no se oxida espontáneamente. Por tanto, buena parte de la investigación sobre la oxidación microbiana del hierro se ha centrado en hábitats ácidos ricos en hierro, en los que los quimiolitótrofos acidófilos como *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Leptospirillum ferrooxidans* oxidan Fe^{2+} a Fe^{3+} (**Figura 20.12**).

La oxidación de Fe^{2+} a Fe^{3+} proporciona un solo electrón, por lo que se produce poca energía (↻ Secciones 13.9 y 14.15) y estas bacterias deben oxidar grandes cantidades de hierro para poder crecer. En esos ambientes, incluso una población relativamente pequeña de células puede precipitar una gran cantidad de minerales de hierro. Aunque el O_2 es el aceptor de electrones más importante desde el punto de vista ambiental, la oxidación del Fe^{2+} también puede acoplarse a la reducción del NO_3^- por parte de algunos organismos (↻ Secciones 13.9 y 14.15) y funciona como donador de electrones en la fotosíntesis de algunos fotótrofos anoxigénicos (↻ Secciones 13.9, 14.2, y 14.5). Incluso aunque la oxidación de Mn^{2+} a Mn^{4+} pueda ser favorable para el crecimiento desde el punto de vista energético, y aunque muchos microorganismos catalizan la oxidación del Mn^{2+}, hasta ahora no se ha demostrado de modo concluyente que ningún organismo obtenga energía de la oxidación del manganeso reducido.

EXPLORANDO EL MUNDO MICROBIANO

Cables microbianos

Cuando las bacterias respiran llevan a cabo oxidaciones y reducciones que generan electricidad, independientemente del tipo de aceptor de electrones que usen. Esto ocurre cuando oxidan un donador de electrones orgánico o inorgánico y separan los electrones de los protones durante el transporte de electrones. Finalmente, los electrones reducen algún aceptor y los protones generan la fuerza protonmotriz.

En cualquier forma de respiración, la eliminación de los electrones es necesaria para la generación de energía. Cuando el aceptor de electrones es el oxígeno (O_2), un nitrato (NO_3^-) o alguna de las muchas otras sustancias solubles (↻ Secciones 13.16-13.21), el producto final se difunde lejos de la célula. Muchas bacterias reducen el hierro férrico (Fe^{3+}), que actúa como aceptor de electrones en condiciones anóxicas, como el caso de *Geobacter sulfurreducens* (**Figura 1**). Sin embargo, a diferencia de los aceptores de electrones solubles, el Fe^{3+} se suele presentar en la naturaleza como un mineral insoluble del tipo del óxido de hierro (Figura 20.11) y por lo tanto la reducción del Fe^{3+} ocurre *fuera* de la célula. En tales condiciones, el hierro férrico actúa como un ánodo eléctrico y la célula bacteriana facilita la transferencia de electrones desde el donador al ánodo[1].

Una investigación ha demostrado que *Geobacter* forma conexiones eléctricas directas con materiales insolubles que pueden aceptar o donar electrones. En la transferencia de electrones intervienen citocromos localizados a lo largo de los pelos o fimbrias, que suelen tener una longitud de entre 10 y 20 μm (↻ Figura 14.35*c*). Estas estructuras conductoras de electricidad funcionan como nanocables eléctricos, de modo semejante a como lo hace un cable de cobre en cualquier circuito eléctrico doméstico. Como son estructuras conductoras, estos nanocables pueden formar conexiones eléctricas directas con materiales insolubles que acepten o donen electrones o, alternativamente, conexiones entre las células. De ese de modo, los electrones obtenidos por *Geobacter* en la oxidación de donadores orgánicos de electrones, o de H_2, se pueden enviar a un aceptor de electrones adecuado. Aunque para la reducción, por ejemplo, de óxido de hierro como aceptor, se necesitan citocromos en la transferencia de electrones, varios estudios del proceso sugieren que la materia orgánica que forma las fimbrias es por sí misma conductora de la electricidad.

Resulta sorprendente que el trasvase bacteriano de electrones puede ocurrir a distancias espaciales bastante grandes, mucho mayores que las de la propia célula. En estudios realizados en sedimentos anóxicos marinos sobre la oxidación del sulfuro de hidrógeno (HS_2) (el sulfuro es el producto de bacterias reductoras de sulfato), la oxidación del H_2S hundido en el sedimento liberaba electrones que reducían el O_2 en la interfase entre el agua y el sedimento, a una distancia de unos 20 cm (véase «Cables eléctricos microbianos» en la página 679)[2]. Los conductores eléctricos del sedimento son bacterias filamentosas relacionadas con la familia *Desulfobulbaceae* de bacterias reductoras de sulfato (↻ Sección 14.9). Aunque filogenéticamente están relacionadas con las bacterias *reductoras de sulfato*, estas bacterias filamentosas funcionan realmente como *oxidadoras de sulfuro*, empleando el O_2 como aceptor terminal de electrones.

La superficie de las células de las bacterias filamentosas tiene una especie de cordoncillos que recorren por completo su longitud. Observadas al microscopio, estos cordoncillos se parecen mucho a cables, y cada filamento microbiano está rodeado por 15-17 de estas estructuras de entre 400 nm y 700 nm de ancho que lo recorren continuamente a lo largo. Dichas estructuras intervienen en el transporte de electrones desde el sulfuro que se oxida en un extremo del filamento hasta el lugar de reducción del O_2, que ocurre en el otro extremo, cerca de la superficie del sedimento. Pese a que esto recuerda a los nanocables de *Geobacter*, se desconoce el mecanismo del transporte de electrones a lo largo de distancias tan grandes.

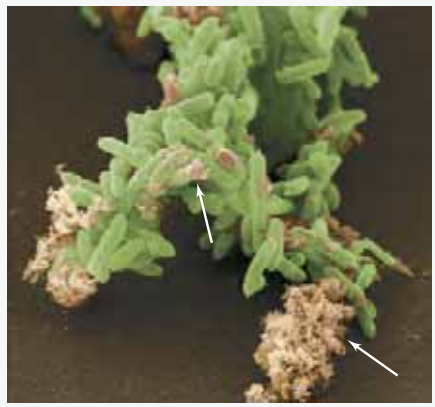


Figura 1 **Células de *Geobacter* fijadas a óxido férrico precipitado (flechas) que reduce el Fe^{3+} a Fe^{2+}.**

En la naturaleza, la comunicación eléctrica entre las células bacterianas puede ser un modo importante por el que los electrones generados por el metabolismo microbiano en hábitats anóxicos se desplazan hasta regiones óxicas. Además, estudios de la microbiología del proceso indican que esta electricidad microbiana podría ser empleada en forma de «celdas de combustible» microbianas que podrían oxidar compuestos de carbono tóxicos y de residuos en ambientes anóxicos, con el acoplamiento de los electrones resultantes para generar energía. En dicho esquema, las bacterias serían explotadas para que actuasen como catalizadores para encauzar los electrones desde los donadores directamente hasta ánodos artificiales, y la corriente eléctrica producida podría ser captada para el suministro de una parte de las necesidades humanas de energía.

[1]Lovley, D.R. 2006. Bug juice: Harvesting electricity with microorganisms. *Nat. Rev. Microbiol. 4:* 497-508.
[2]Pfeffer, C., S. Larsen, J. Song, M.D. Dong, F. Besenbacher, R.L. Meyer, K.U. Kjeldsen, L. Schreiber, Y.A. Gorby, M.Y. El-Naggar, K.M. Leung, A. Schramm, N. Risgaard-Petersen, and L.P. Nielsen. 2012. Filamentous bacteria transport electrons over centimetre distances. *Nature 491:* 218-221.

Como la oxidación abiótica del hierro reducido es rápida a pH cercano a la neutralidad, las bacterias oxidadoras de hierro que viven en ambientes que no son ácidos están limitadas a una región redox muy pequeña en la que el agua rica en hierro ferroso no se mezcla con el agua que tiene mucho oxígeno (Figura 20.10). Entre estos hábitats microóxicos se encuentran sedimentos de agua dulce y sedimentos marinos costeros, corrientes lentas de agua, aguas de manantial ricas en hierro ferroso o las fumarolas hidrotermales (**Figura 20.13**). Por ejemplo, cuando las aguas subterráneas ricas en hierro ferroso se exponen al aire, el Fe^{2+} es oxidado en la interfase de estas dos zonas por bacterias oxidadoras del hierro como *Gallionella* y *Leptothrix* (Figura 20.13*b, c, d*; ↻ Secciones 13.9 y 14.15). Así, su fisiología impone que mantengan una posición en el pequeño hábitat con bajos niveles de O_2 y altos niveles de metales reducidos. No se sabe cómo estos organismos mantienen su posición


Ricardo Amils

Figura 20.12 Oxidación del hierro ferroso (Fe^{2+}). Tapete microbiano en el río Tinto (España), formado por algas verdes acidófilas (eucariotas) y varios procariotas quimiolitótrofos oxidadores de hierro. El del río Tinto tiene un pH de 2 y contiene elevados niveles de metales disueltos, en particular Fe^{2+}. Los precipitados color teja contienen $Fe(OH)_3$ y otros minerales férricos.

en un margen tan reducido de condiciones abióticas, pero el desarrollo de vainas y pedúnculos habituales en los oxidadores de hierro parece ayudarles a su adecuado posicionamiento (Figura 20.13*b, d, f*; ↻ Figuras 14.36 y 14.60).

Como hemos visto, los organismos que reducen óxidos insolubles de metales pueden usar conductores extracelulares para la transferencia de electrones, del tipo de fimbrias o mediante citocromos asociados a la superficie celular. No obstante, un problema similar existe para los organismos que oxidan metales: los óxidos metálicos insolubles son el producto de


David Emerson

(a)


David Emerson

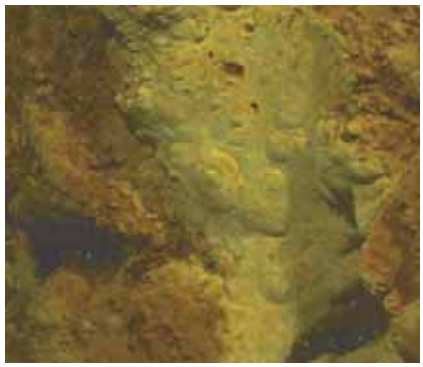
(b)


David Emerson

(c)


David Emerson

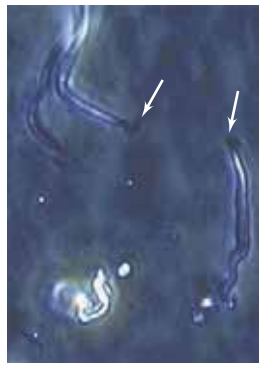
(d)


Woods Hole Oceanographic Institution

(e)


Clara Chan

(f)


David Emerson

(g)

Figura 20.13 Tapetes microbianos oxidadores de Fe. *(a)* Tapete microbiano en una corriente lenta de agua dulce donde el agua de fondo, enriquecida en Fe^{2+}, se mezcla con el agua de superficie, oxigenada, favoreciendo el crecimiento de bacterias oxidoras de Fe^{2+} y la precipitación de óxidos de hierro. *(b)* y *(c)* Micrografías de contraste de fases y de epifluorescencia de la bacteria *Leptothrix ochracea*, formadora de vainas y oxidadora de hierro (la vaina tiene aproximadamente 2 μm de ancho). *(d) Gallionella ferruginea*, bacteria pedunculada y oxidadora de Fe^{2+} mostrando células en forma de alubia en proceso de división al extremo del pedúnculo con incrustaciones de óxidos de hierro (cada célula tiene unos 2 μm de longitud). *(e)* Tapete oxidador de hierro en una fuente hidrotermal profunda (a 1.000 metros de profundidad) en el volcán submarino Lō'ihi. *(f)* Micrografía electrónica de transmisión de óxidos biogénicos producidos en Lō'ihi. Obsérvese la variedad de pedúnculos helicoidales y de filamentos tubulares en forma de vaina (los filamentos tienen de 2 a 4 μm de ancho). *(g)* Micrografía de contraste de fases de oxidadores de Fe^{2+} marinos creciendo en el extremo de filamentos (las células se indican con flechas), como resultado de una incubación experimental en Lō'ihi (los filamentos tienen aproximadamente 2 μm de ancho).

la oxidación del metal y el organismo debe asegurarse de que tales óxidos se depositan fuera de la célula. Por ello, los organismos que oxidan Fe^{2+} o Mn^{2+} emplean proteínas de transferencia de electrones asociadas a la superficie para asegurarse de que los metales se oxidan *fuera* del citoplasma. Los citocromos participan tanto en la reducción como en la oxidación del hierro, y los genomas de especies de *Gallionella* y de *Sideroxydans*, que oxidan metales, contienen genes que codifican citocromos asociados a la superficie (como MtrA), que se parecen a los que codifican las proteínas que sabe que reducen óxidos metálicos en *Shewanella*, lo que sugiere que es probable que existan mecanismos funcionalmente análogos de transferencia de electrones que operen tanto para la reducción como para la oxidación de metales extracelulares.

Aunque posiblemente compartan mecanismos semejantes de transporte de electrones, las bacterias oxidadoras de metales han de afrontar otro problema: que su metabolismo podría encapsularlas en una coraza de hierro. Para impedirlo, los oxidadores de metal producen material orgánico extracelular que captura los óxidos metálicos y los deposita a cierta distancia de la célula. Algunos de estos oxidadores, como *Galionella*, originan unos largos pedúnculos orgánicos que se incrustan de óxidos metálicos fuera de la célula (Figura 20.13*d* y ↻ Figura 14.36). Una estrategia alternativa es la de especies de *Leptothrix*, que producen una vaina orgánica qe rodea la célula en la que se incrustan óxidos metálicos (Figura 20.13*b* y ↻ Figura 14.60). En este caso, las células pueden abandonar la vaina, dejando atrás la envoltura con los óxidos metálicos.

Aunque no todos los oxidadores de metales producen esas estructuras morfológicas tan vistosas, se cree que la mayoría, si no todos, están forzados a producir alguna forma de material orgánico extracelular para atrapar el producto insoluble de su metabolismo energético. Además, la incorporación de materia orgánica a estos óxidos metálicos probablemente altera las propiedades fisicoquímicas de los propios minerales.

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué estado se encuentra el hierro en el $Fe(OH)_3$? ¿Y en el FeS? ¿Cómo se forma el $Fe(OH)_3$?
- ¿Por qué la oxidación biológica del Fe^{2+} en condiciones óxicas ocurre principalmente a pH ácido?
- ¿Por qué la excrección de materia orgánica es importante para muchos oxidadores de hierro?

20.6 Los ciclos del fósforo, el calcio y el silicio

Muchos otros elementos químicos están sujetos a reciclaje por microorganismos y nos centraremos aquí en tres muy importantes, el fósforo (P), el calcio (Ca) y el silicio (Si). El reciclaje de estos elementos es importante en los ambientes acuáticos, particularmente en el mar, que es el reservorio principal de Ca y Si, ya que en el mar enormes cantidades de estos dos elementos se incorporan a los exoesqueletos de determinados microorganismos. Sin embargo, a diferencia de lo que ocurre en los ciclos del C, el N y el S, en los del P, del Ca y del Si no hay cambios redox ni existen formas gaseosas que puedan escaparse y alterar la composición química de la atmósfera terrestre. No obstante, como veremos, mantener en equilibrio estos ciclos, sobre todo el del Ca, es importante para el mantenimiento sostenible de la vida en la Tierra.

Fósforo

En la naturaleza el fósforo se presenta principalmente como fosfato orgánico e inorgánico. Entre los reservorios de fósforo se encuentran las rocas que contienen minerales con fosfatos, los fosfatos disueltos en agua dulce y en agua de mar, y los ácidos nucleicos y los fosfolípidos de los organismos vivos. Aunque el P tiene múltiples estados de oxidación, la mayor parte de los fosfatos presentes en el ambiente se encuentran en un estado de oxidación de +5 (por ejemplo, el fosfato inorgánico HPO_4^{2-}). En la naturaleza, el P se recicla a través de los organismos vivos (como P celular), del agua y los suelos (como P orgánico e inorgánico), y de la corteza terrestre (como P inorgánico). El fósforo es normalmente el factor nutritivo limitante para la fotosíntesis en los ambientes de agua dulce, que lo reciben de la meteorización de las rocas.

En el mar, una parte del P disuelto es orgánico, en forma de ésteres de fosfatos y *fosfonatos*. Los fosfonatos son compuestos organofosforados que contienen un enlace directo entre los átomos de P y de C. Los producen algunos microorganismos y representan cerca de la cuarta parte de todo el P orgánico en la naturaleza; sin embargo, para muchos organismos los fosfonatos son una fuente de P menos utilizable que el HPO_4^{2-} debido a las enzimas que se necesitan para degradarlos. Los organismos que carecen de estas enzimas pueden estar limitados por el P incluso cuando hay suficiente cantidad de este elemento bajo forma de fosfonato. Además, la degradación de metilfosfonato (CH_5O_3P) por algunos microorganismos marinos, que es un proceso que libera CH_4, puede explicar la desconcertante observación que se había hecho de la presencia de concentraciones de CH_4 relativamente altas en las aguas de superficie, oxigenadas, en el mar (las arqueas metanógenas son anaerobios estrictos; ↻ Sección 16.2).

Calcio

Los principales reservorios de Ca son las rocas calcáreas y el mar. En el mar, donde el calcio disuelto existe como Ca^{+2}, su reciclaje es un proceso muy dinámico pese a que la concentración de Ca^{+2} en el agua de mar permanece de forma constante alrededor de 10 mM. Varios microorganismos eucariotas marinos fotótrofos incorporan Ca^{2+} para formar sus exoesqueletos calcáreos, sobre todo los *cocolitóforos* y los *foraminíferos* (**Figura 20.14**; ↻ Sección 17.7). Las actividades recicladoras de estos fotótrofos planctónicos están también acopladas estrechamente a los componentes inorgánicos del ciclo del carbono.

La precipitación del carbonato cálcico ($CaCO_3$) para formar las cubiertas calcáreas del fitoplancton controla tanto el flujo del CO_2 en el agua de la superficie del mar como el transporte del C inorgánico hacia las aguas profundas y los sedimentos. Además, la formación de $CaCO_3$ consume el bicarbonato superficial disuelto (HCO_3^-) y aumenta la concentración de CO_2 disuelto (Figura 20.14*c*), lo que reduce la entrada de CO_2 en las aguas de superficie y ayuda a mantener el pH ligeramente alcalino del mar. Cuando estos organismos calcáreos mueren, se hunden y van a parar al sedimento, de modo que el C y el Ca^{2+} orgánicos e inorgánicos son transportados hacia el fondo de donde solo se liberan lentamente en largos períodos de tiempo.

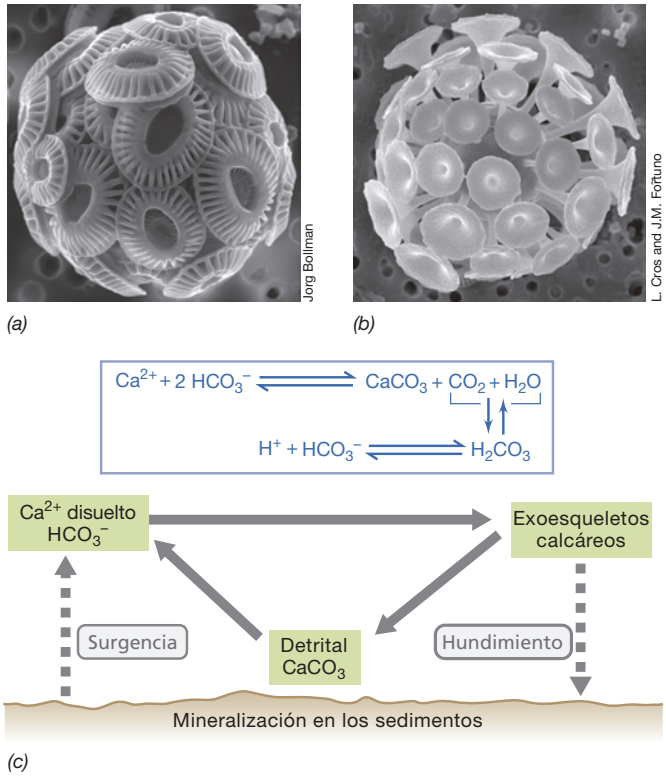


Figura 20.14 El ciclo marino del calcio. Micrografías electrónicas de barrido de células del fitoplancton calcáreo *(a) Emiliania huxleyi* y *(b) Discosphaera tubifera*. El exoesqueleto de estos cocolitóforos está hecho de carbonato cálcico ($CaCO_3$). Una célula de *Emiliania* tiene unos 8 µm de ancho y una célula de *Discosphaera*, unos 12 µm. *(c)* El ciclo marino del calcio; los depósitos dinámicos de Ca^{2+} están sombreados en verde. El carbonato cálcico detrítico corresponde al que se encuentra en el material fecal y otros tipos de materia orgánica procedente de organismos muertos. Obsérvese que la formación de H_2CO_3 hace descender el pH del mar cuando se disuelve para formar H^+ y HCO_3^-.

La formación de exoesqueletos de $CaCO_3$ plantea un delicado equilibrio entre Ca^{2+} y C y es un proceso sensible a los cambios de concentración de CO_2 en la atmósfera. Esto se debe a que al aumentar el CO_2 atmosférico se forma más ácido carbónico (H_2CO_3), y cuando este compuesto se disocia para formar HCO_3^- y H^+, el $CaCO_3$ se disuelve y el pH del agua de mar desciende (Figura 20.14*c*). Como consecuencia del aumento del CO_2 atmosférico el mar será más ácido y se prevé una reducción de la velocidad de formación de las cubiertas calcáreas, lo que probablemente tendrá efectos sobre otros ciclos de nutrientes microbianos y sobre las comunidades vegetales y animales (Sección 20.8).

Silicio

El ciclo marino del Si está controlado sobre todo por eucariotas unicelulares (diatomeas, silicoflagelados y radiolarios) que construyen adornados esqueletos celulares externos llamados *frústulas* (**Figura 20.15*a***) (↔ Secciones 17.6 y 17.7). Estas estructuras no están construidas de $CaCO_3$ como en los cocolitóforos, sino de sílice (SiO_2), cuya formación se inicia con la captación por la célula de ácido silícico disuelto (Figura 20.15*b*).

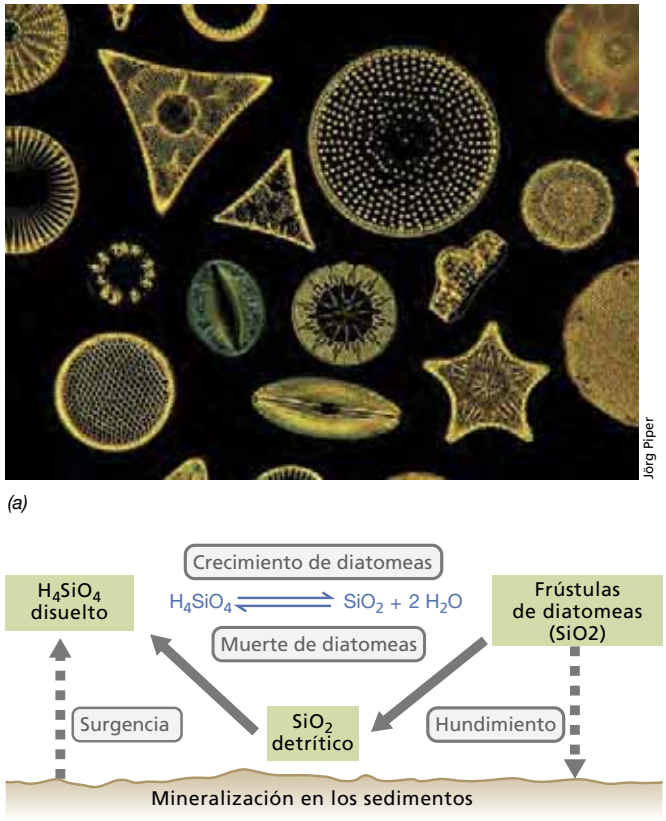


Figura 20.15 El ciclo marino del silicio. *(a)* Micrografía de campo oscuro de una colección de caparazones de diatomeas (frústulas). Las frústulas son de SiO_2. *(b)* El ciclo marino del silicio; los depósitos dinámicos de Si están sombreados en verde.

Las diatomeas son eucariotas fotótrofos de crecimiento rápido que a menudo dominan las floraciones de fitoplancton en aguas costeras y en mar abierto. Sin embargo, a diferencia de otros grupos importantes de fitoplancton, las diatomeas requieren Si y esto puede ser un factor limitante en la aparición de las floraciones. Además, debido a su gran tamaño, las células de diatomeas suelen hundirse más deprisa que otras partículas orgánicas, contribuyendo así al retorno de cantidades significativas de C y Si a las aguas oceánicas profundas. El material orgánico producido en aguas cercanas a la superficie por productores primarios es transportado hacia las aguas profundas por las partículas que se hunden. Dicho transporte se denomina *bomba biológica* y es un aspecto importante del ciclo del carbono en lo que se refiere al secuestro y mineralización del carbono en ambientes marinos (Figura 20.1).

Además de las exigencias nutritivas principales de cualquier organismo fotótrofo (CO_2, N, P, Fe), las diatomeas necesitan suficiente Si disuelto, que en la naturaleza se origina principalmente del Si liberado de los esqueletos de las diatomeas muertas (Figura 20.15*b*). Pese a que el silicio se libera bastante rápidamente de las células muertas, durante los períodos de elevada producción de diatomeas en aguas relativamente poco profundas, una importante fracción del Si disuelto puede quedar secuestrado en los sedimentos y permanecer allí durante millones de años. Estos tienen consecuencias en

el crecimiento continuado de las diatomeas y su consumo fototrófico del CO_2 disuelto en las aguas. El flujo del CO_2 que entra y sale del agua del mar afecta a su pH (Figura 20.14*c*), y a través de este vínculo, los ciclos del C y del Si están acoplados de modo semejante a lo que hemos visto en los ciclos del Ca y del C.

MINIRREVISIÓN

- ¿La formación de esqueletos de $CaCO_3$ en el fitoplancton calcáreo cómo retrasa la incorporación de CO_2 y ayuda a mantener el pH del agua del mar?
- ¿Cómo podría el agotamiento de Si en la zona fótica influenciar la denominada bomba biológica?

III • Los seres humanos y los ciclos de los nutrientes

Los seres humanos ejercen un profundo impacto en los ciclos de los nutrientes, al añadir o eliminar grandes cantidades de componentes de los ciclos. Aquí consideraremos el aporte humano de tres especies importantes: el mercurio (Hg), el CO_2 y otros gases atmosféricos, y varios compuestos de N fijado. Estos compuestos o bien causan problemas de toxicidad (Hg) o bien afectan a nuestro planeta de un modo globalmente significativo (gases y compuestos de N). Comenzaremos con el metal Hg, que es muy tóxico y es transformado por bacterias de muchas maneras diferentes

20.7 Transformaciones del mercurio

El mercurio no es un nutriente biológico pero las transformaciones microbianas de varios compuestos de este elemento ayudan a detoxificar algunas de sus formas más tóxicas. El mercurio es muy usado en la industria, especialmente en industria electrónica. Es también un ingrediente activo de muchos plaguicidas, un contaminante procedente de la industria química y minera y de la combustión de combustibles fósiles y residuos urbanos, y un contaminante habitual de los ecosistemas acuáticos y humedales. Debido a su tendencia a acumularse en los tejidos vivos, el mercurio es de una enorme importancia ambiental. La principal forma de mercurio en la atmósfera es el mercurio elemental (Hg^0), que es volátil y se oxida fotoquímicamente a ion mercúrico (Hg^{2+}). Por tanto, la mayor parte del mercurio penetra en los ambientes acuáticos en forma de Hg^{2+} (**Figura 20.16**).

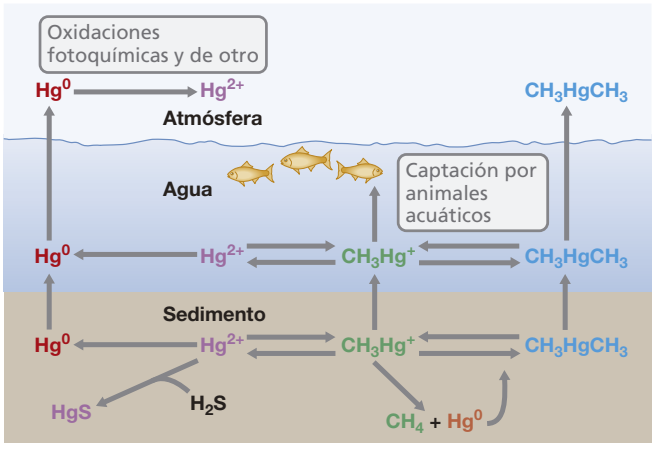


Figura 20.16 Ciclo biogeoquímico del mercurio. Los principales reservorios de mercurio son el agua y los sedimentos. El mercurio del agua puede concentrarse en los tejidos animales; el de los sedimentos puede precipitar como HgS. Las formas de mercurio más frecuentes en los ambientes acuáticos se indican en diferentes colores.

Ciclo redox microbiano del mercurio

El ion Hg^{2+} se adsorbe fácilmente a la materia particulada, a partir de la cual puede ser metabolizado por microorganismos. La actividad microbiana da lugar a la metilación del mercurio, que produce *metilmercurio* (CH_3Hg^+) (Figura 20.16). El metilmercurio es muy tóxico para los animales porque se absorbe por la piel y es una potente neurotoxina. Pero, además, es soluble y se puede concentrar en la cadena alimentaria, principalmente en los peces, o puede ser metilado de nuevo por microorganismos para producir el compuesto volátil *dimetilmercurio*: $CH_3—Hg—CH_3$. Tanto el metilmercurio como el dimetilmercurio se acumulan en los animales, especialmente en el tejido muscular. El metilmercurio es unas cien veces más tóxico que el Hg^0 o el Hg^{2+}, y su acumulación en la cadena alimentaria acuática parece ser especialmente problemática en los lagos de agua dulce y las aguas marinas costeras donde se han detectado concentraciones elevadas de este compuesto en los últimos años en los peces capturados para el consumo humano. Los compuestos de mercurio pueden dañar el riñón y el hígado a los humanos y a otros animales.

Se producen algunas otras transformaciones microbianas del mercurio como las reacciones en las que intervienen bacterias reductoras de sulfato ($H_2S + Hg^{2+} \rightarrow HgS$) y metanógenas ($CH_3Hg^+ \rightarrow CH_4 + Hg^0$) (Figura 20.16). La solubilidad del sulfuro de mercurio (HgS) es muy baja, por lo que, en los sedimentos, la mayor parte del mercurio se presenta en forma de HgS. Pero, cuando se airea, puede ser oxidado a Hg^{2+} y SO_4^{2-} por bacterias oxidadoras de metales (Sección 20.5) y el Hg^{2+} es convertido finalmente a metilmercurio. Sin embargo, obsérvese que en este caso no es el Hg del HgS el que se oxida, sino el *sulfuro*, probablemente por organismos relacionados con *Acidithiobacillus* (↻ Sección 14.11).

Resistencia al mercurio

A concentraciones suficientemente altas, el Hg^{2+} y el CH_3Hg^+ son tóxicos no solo para los macroorganismos, sino también para los microorganismos. No obstante, algunas bacterias grampositivas y otras gramnegativas convierten las formas tóxicas de mercurio en formas no tóxicas o menos tóxicas. Estas bacterias resistentes al mercurio emplean la enzima *organomercurio liasa* para degradar el muy tóxico CH_3Hg^+ hasta Hg^{2+} y metano (CH_4) y la enzima *mercurico reductasa* (ligada al NADPH o al NADH) para reducir el Hg^{2+} a Hg^0, que es volátil y por lo tanto desplazable (**Figura 20.17**).

En muchas bacterias resistentes al mercurio, los genes que codifican la resistencia residen en plásmidos o transposones (↻ Secciones 4.3 y 10.11). Estos genes *mer* están dispuestos en un operón bajo el control de la proteína reguladora MerR, que puede funcionar como represora o activadora de la transcripción

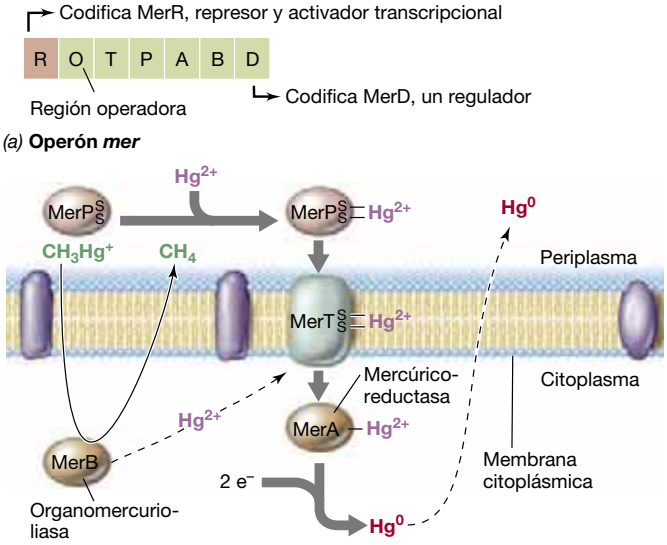


Figure 20.17 Mecanismos de transformación del mercurio y de resistencia. *(a)* Operón *mer*. MerR actúa como represor (en ausencia de Hg^{2+}) o como activador de la transcripción (en presencia de Hg^{2+}). *(b)* Transporte y reducción de Hg^{2+} y de CH_3Hg^+. El Hg^{2+} se une a los restos de cisteína en las proteínas MerR y MerT. MerA es la enzima mercúrico-reductasa y MerB es la organomercurio-liasa.

(↔ Secciones 7.3 y 7.4) dependiendo de la disponibilidad de Hg. En ausencia de Hg^{2+}, MerR funciona como un *represor* y se une a la región del operador del operón *mer* impidiendo así la transcripción de los genes estructurales *merTPABD*. Sin embargo, cuando hay Hg^{2+}, forma un complejo con MerR que se une luego al operón *mer* y actúa como *activador* de la transcripción de los genes estructurales *mer* (Figura 20.17).

La proteína MerP es una proteína periplasmática de unión a Hg^{2+}. MerP se une al Hg^{2+} y lo transfiere a la proteína de transporte de membrana MerT, que interacciona con el mercúrico reductasa (MerA) para que reduzca el Hg^{2+} a Hg^0 (Figura 20.17*b*). Por tanto el Hg^{2+} no se libera en el citoplasma y el resultado final es la liberación de Hg^0 fuera de la célula. El ion mercúrico producido por la actividad de MerB es atrapado por MerT y reducido por MerA, liberando de nuevo Hg^0 (Figura 20.17*b*). De este modo, Hg^{2+} y CH_3Hg^+ se convierten a Hg^0 que es relativamente no tóxico.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué formas del mercurio son las más tóxicas para los organismos?
- ¿Cómo detoxifican las bacterias el mercurio?

20.8 Impacto de la actividad humana en los ciclos del carbono y del nitrógeno

La actividad humana está causando un gran impacto en los ciclos del carbono y del nitrógeno, y sus consecuencias son importantes para la salud general de nuestro planeta. El período de marcada influencia humana en los ciclos de estos nutrientes comenzó con la Revolución Industrial y se denomina de manera informal el *Antropoceno*, una nueva época geológica. Aunque el mayor impacto causado por los humanos se deben a la liberación de CO_2 por el consumo de combustibles fósiles (gasolina, gas y carbón) y a la continua deforestación, la actividad humana también está afectando profundamente al ciclo del nitrógeno. Hemos tratado ya el estrecho acoplamiento existente entre los ciclos del carbono y del nitrógeno (Sección 20.1) y aquí consideraremos algunas de las consecuencias biogeoquímicas previsibles debidas a la alteración humana de estos dos ciclos fundamentales de nutrientes

CO_2 y calentamiento global

Los niveles de CO_2 atmosférico han aumentado aproximadamente un 40 % desde el comienzo de la Revolución Industrial en el siglo XIX, y son en la actualidad los niveles más altos en los últimos 800.000 años. El dióxido de carbono es uno de los *gases traza* (principalmente el vapor de agua, CO_2, CH_4 y NO_2) que comprenden menos del 0,5 % de la atmósfera pero que contribuyen de modo significativo al calentamiento atmosférico y terrestre debido al *efecto invernadero*, es decir, la capacidad de estos gases para atrapar la radiación infrarroja que emite la Tierra. El aumento actual en la concentración de CO_2 atmosférico, medido globalmente en una red de estaciones de muestreo (**Figura 20.18**), es de 2 partes por millón cada año. Este aumento sería mucho más rápido si no fuera por la alta solubilidad del CO_2 en el agua, que produce ácido carbónico; así, mucha parte del CO_2 antropogénico está disuelto en el mar (Figuras 20.1 y 20.14).

Se estima que las aguas superficiales de los océanos han incorporado unos 500 mil millones de toneladas de CO_2 de la atmósfera de un total de 1,3 billones de toneladas de emisiones antropogénicas, modulando así el efecto invernadero. El aumento medio de la temperatura del aire de la Tierra (que se

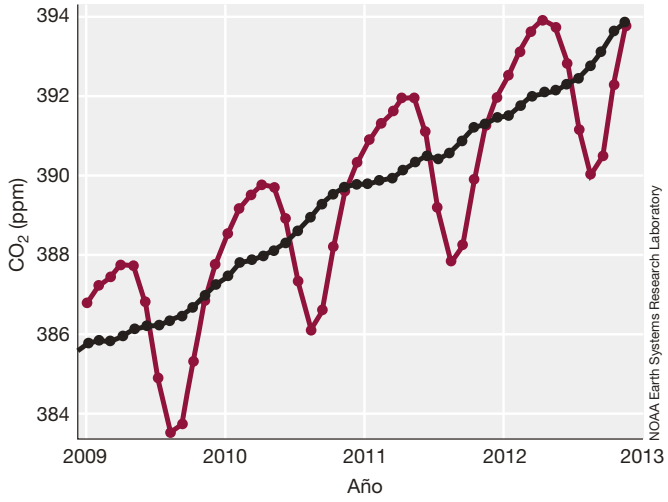


Figure 20.18 Media mensual global de la concentración en el aire de dióxido de carbono (CO_2) sobre áreas superficiales marinas. Estos datos se toman de modo continuo por estaciones del Earth System Research Laboratory. La curva en rojo muestra variaciones en los valores mensuales medios asociados con fluctuaciones anuales de temperatura y precipitación que afectan a la fotosíntesis y a la respiración. La curva en negro muestra el incremento mensual medio en CO_2 tras corregir la influencia del ciclo estacional.

estima que ha aumentado 0,75 °C en el siglo xx y se prevé que aumentará entre 1,1 y 6,4 °C en el siglo xxi) también habría sido más rápido sin el efecto amortiguador de los océanos. Como, en términos de energía, para elevar la temperatura de 1 m^3 de agua se requieren tres órdenes más de magnitud que causar el mismo efecto en 1 m^3 de aire, más del 80 % del calor retenido en la Tierra debido al efecto invernadero en realidad está entrado en el mar.

Aunque existe una gran incertidumbre sobre las consecuencias del calentamiento de los océanos y sobre el consumo de CO_2 por los sistemas biológicos del planeta, existe un acuerdo unánime en el modo en el que estos cambios afectarán a la biogeoquímica. Las aguas superficiales oceánicas más cálidas tienen menos densidad que las aguas profundas. Por tanto, como ocurre estacionalmente en los lagos (↻ Sección 19.8), los mares serán más estratificados con el futuro calentamiento global. La estratificación suele ralentizar la transferencia de nutrientes desde las aguas profundas, que es una transferencia necesaria para nutrir la producción de fitoplánctón que se encuentra en la base de la red trófica de las aguas superficiales. Esto a su vez reduce la productividad marina y una porción de dicha productividad pasa a las profundidades mediante la sedimentación (la bomba biológica, Figura 20.1). La bomba biológica es importante para la eliminación a largo plazo del carbono de la atmósfera. No obstante, la fusión de los hielos polares por el calentamiento global podría mitigar algo este efecto abriendo nuevas aguas para la producción de fitoplánctón.

El calentamiento del mar también contribuye a la expansión de las zonas con mínimos de oxígeno (ZMO), que son regiones donde de manera natural hay una baja concentración de O_2 bajo la superficie, a profundidades entre los 100 m y 1.000 m (↻ Sección 19.9). Las ZMO se deben tanto a la solubilidad reducida del O_2 en las aguas más calientes como al aumento de la estratificación asociado al calentamiento de la superficie, que reduce la mezcla entre el agua de la superficie y la que hay por debajo. Los animales desaparecerán de las ZMO en expansión mientras que aumentarán los procesos microbianos anaerobios, como la desnitrificación y el proceso de anammox, que influencian directamente el ciclo del nitrógeno y la producción de NO_2 como gas de efecto invernadero.

Desde el comienzo de la Revolución Industrial, la acidificación del mar ha disminuido el pH en 0,1 unidades a consecuencia de la continua acumulación del CO_2 de origen antropogénico y puede descender en otras 0,3-0,4 unidades hacia el año 2100. El descenso continuado en la concentración de carbonato (CO_3^{2-}), como consecuencia de la acidificación en aumento, se supone que será perjudicial para los organismos marinos que calcifican (organismos que sintetizan caparazones o esqueletos de $CaCO_3$, Figura 20.14). Como la concentración de Ca en el agua de mar es relativamente constante, la reducción continuada de carbonato acabará por alcanzar un punto en el que se favorezca la disolución del $CaCO_3$ existente, lo que llevará a la liberación de más CO_2 (Figura 20.14), y la consiguiente reducción de la capacidad del mar de absorber más CO_2 atmosférico.

Aunque se desconoce la respuesta biológica a la acidificación del mar, es probable que los ecosistemas de los arrecifes de coral, que son un componente importante de la biosfera marina (↻ Sección 22.14) desaparezcan de la Tierra si las emisiones de CO_2 continúan al ritmo actual (Figura 20.18). La calcificación de los foraminíferos (↻ Sección 17.7) se verá probablemente dificultada por la acidificación, y lo mismo ocurrirá con los cocolitóforos (Figura 20.14). En un período de aproximadamente un siglo, la invasión de las profundidades marinas por el CO_2 de origen antropogénico ocasionará una reducción significativa de los niveles de $CaCO_3$ depositados allí, lo que se supone que perturbará el ciclo del carbono de modo notable.

Efectos antropogénicos en el ciclo del nitrógeno

El impacto de la actividada humana en el ciclo del nitrógeno es tan profundo como el que produce en el ciclo del carbono (Figura 20.1). La producción industrial anual de fertilizantes nitrogenados por el método de Haber-Bosch, que combina $N_2 + H_2$ para formar NH_3 a altas temperaturas y presión también elevada, es actualmente comparable a la cantidad de nitrógeno que entra en la biosfera mediante la fijación biológica del nitrógeno, que es un proceso clave en el ciclo del nitrógeno (Sección 20.3). Esto incluye la fijación de nitrógeno por microorganismos de vida libres y por los que viven en asociación simbiótica con plantas o algas. La mayor parte del nitrógeno producido industrialmente se aplica a las tierras cultivadas, pero una fracción importante se escapa hacia el mar y contribuye a la eutrofización de las costas (↻ Sección 19.9). Además, se pierden también cantidades notables en forma de compuestos nitrogenados gaseosos (N_2, N_2O y NO) a partir de la nitrificación del NH_3 y la desnitrificación del NO_3^- (Sección 20.3).

El transporte de N desde centros industriales y agrícolas a través de la atmósfera fertiliza los sistemas terrestres y marinos. La deposición a través de la atmósfera de N_2 fijado al mar equivale a la que entra mediante la fijación biológica del nitrógeno y las consecuencias ecológicas de esta fertilización son una gran incógnita. Por un lado, si la deposición suprime la fijación microbiana, esto mitigaría de algún modo el efecto de fertilización. Por otro lado, una mayor disponibilidad de CO_2 y de hierro (causada por una mayor precipitación de polvo procedente de zonas en progresiva desertización, ↻ Sección 19.6) junto con un aumento de deposiciones de N podría aumentar la producción primaria, ya que el hierro es a menudo un factor limitante. De uno u otro modo, la intervención humana en el ciclo del nitrógeno tendrá efectos importantes en el ciclo del carbono.

Aunque es seguro que la intervención humana en los ciclos microbianos de los nutrientes provocará cambios en la biosfera de la Tierra, la naturaleza exacta de estos futuros cambios no está clara. Sin embargo, como los principales ciclos están muy acoplados (Sección 20.1 y Figura 20.4), parece probable que cualquier cambio significativo en los ciclos del carbono y del nitrógeno cause también un efecto de retroalimentación en los otros ciclos. En conjunto, estos acontecimientos podrían alterar las interrelaciones de los ciclos de los nutrientes que hemos examinado en este capítulo, y tener consecuencias significativas (probablemente negativas) para los organismos superiores del planeta.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué es el efecto invernadero y cuál es su causa?
- ¿Cuál es el destino de la mayor parte del nitrógeno utilizado con fines agrícolas?
- ¿Por qué se están ampliando las zonas ZMO (zonas con mínimos de oxígeno) y cuáles son sus probables efectos en el ciclo de los nutrientes?

IDEAS PRINCIPALES

20.1 • Los ciclos del oxígeno y del carbono están interconectados por las actividades complementarias de los organismos autótrofos y heterótrofos. La descomposición microbiana es la fuente más importante de liberación de CO_2 a la atmósfera.

20.2 • En condiciones anóxicas, la materia orgánica se degrada hasta CH_4 y CO_2. El metano se forma principalmente a partir de la reducción del CO_2 por el H_2 y a partir de acetato, que en ambos casos suministran las bacterias sintróficas; estos organismos dependen del consumo de H_2 para su energética. A escala global, el metano biogénico representa un reservorio mucho mayor que el abiogénico.

20.3 • La forma principal del nitrógeno en la Tierra es el N_2, que solo puede ser usado como fuente de nitrógeno solo por las bacterias fijadoras del nitrógeno. El amoniaco producido en la fijación del nitrógeno o por amonificación puede incorporarse a la materia orgánica u oxidarse a NO_3^-. La desnitrificación y el proceso de anammox originan importantes pérdidas del nitrógeno fijado en la biosfera.

20.4 • Las bacterias desempeñan funciones relevantes en las etapas oxidativas y reductoras del ciclo del azufre. Las bacterias que oxidan el azufre y el sulfuro producen SO_4^{2-} mientras que las reductoras de sulfato consumen SO_4^{2-} y producen H_2S. Como el sulfuro es tóxico y reacciona con varios metales, la reducción del SO_4^{2-} es un importante proceso biogeoquímico. El sulfuro de dimetilo es un compuesto de azufre de importante significación en la naturaleza.

20.5 • El hierro y el manganeso existen en dos estados naturales de oxidación, como Fe^{2+}/Fe^{3+} y como Mn^{2+}/Mn^{4+}. Las bacterias reducen los metales oxidados en ambientes anóxicos y oxidan las formas reducidas principalmente en ambientes óxicos. A pH neutro, las bacterias compiten con la oxidación abiótica en presencia de O_2. La oxidación del hierro ferroso es común en regiones mineras, donde origina un tipo de contaminación llamado drenaje ácido de las minas.

20.6 • El P, el Ca y el Si son elementos reciclados por actividades microbianas, principalmente en ambientes acuáticos. El calcio y el silicio tienen papeles importantes en la biogeoquímica del mar como componentes de los exoesqueletos de los cocolitóforos y las diatomeas, respectivamente.

20.7 • Una importante forma tóxica del Hg en la naturaleza es el CH_3Hg^+, que puede producir Hg^{2+}, el cual es reducido por bacterias a Hg^0. Los genes que confieren resistencia a la toxicidad del Hg, como los que codifican enzimas que detoxifican o bombean el metal fuera de la célula, se encuentran con frecuencia en plásmidos o en transposones.

20.8 • Las aportaciones humanas de CO_2 y de nitrógeno reactivo están impactando en los principales ciclos de nutrientes. Aunque algunas consecuencias son razonablemente predecibles, como la expansión de las zonas con mínimos de oxígeno y el crecimiento inferior de los organismos calcáreos, otros cambios a largo plazo en los ciclos de nutrientes que sostienen la biosfera terrestre no son bien conocidos.

MasteringMicrobiology®

Revise lo que sabe y descubra lo que ha aprendido con MasteringMicrobiology. Acceda a material de estudio, revisiones de los capítulos, animaciones y tutoriales de microbiología práctica en el Área de Estudio y asegúrese de que ha asimilado todo el contenido de este capítulo.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Calentamiento global: calentamiento predecible y continuado de la atmósfera y el mar que se atribuye a la liberación antropogénica de gases con efecto invernadero, sobre todo CO_2, que atrapan la radiación infrarroja emitida por la Tierra.

Desnitrificación: reducción biológica del nitrato (NO_3^-) a compuestos nitrogenados gaseosos.

Humus: materia orgánica muerta que actúa en parte transportando electrones para la reducción microbiana de óxidos metálicos.

Sintrofismo: cooperación de dos o más microorganismos para degradar anaeróbicamente una sustancia que ninguno de ellos puede degradar aisladamente.

PREGUNTAS DE REPASO

1. ¿Por qué se dice que el ciclo del carbono y el del nitrógeno están «acoplados»? (Sección 20.1)

2. ¿Cómo pueden crecer algunos organismos como *Syntrophobacter* y *Syntrophomonas* cuando su metabolismo

está basado en reacciones que son termodinámicamente desfavorables? ¿Cómo permite su crecimiento el cocultivo de estas bacterias sintróficas con otras bacterias concretas? (Sección 20.2)

3. Compare los procesos de nitrificación y desnitrificación respecto a los organismos que intervienen en ellos, las condiciones ambientales que favorecen cada proceso, y los cambios en la disponibilidad de nutrientes que acompañan a cada caso (Sección 20.3)
4. ¿Qué grupo de bacterias recicla compuestos de azufre en condiciones anóxicas? Si los quimiolitótrofos del azufre no hubieran aparecido en la evolución, ¿habria algún problema en el reciclaje microbiano de los compuestos del azufre? ¿Qué compuestos orgánicos del azufre son los más abundantes en la naturaleza? (Sección 20.4)
5. ¿Por qué la mayoría de los quimiolitótrofos oxidadores de hierro son aerobios estrictos y los oxidadores de hierro mejor conocidos son acidófilos? (Sección 20.5)
6. ¿En qué se parecen el reciclaje del Ca y el del Si en el agua de mar y en qué se diferencian? ¿Cómo se acoplan los ciclos del calcio y del silicio con el ciclo del carbono? (Sección 20.6)
7. ¿Cómo detoxifica Hg^{2+} y CH_3Hg^+ el sistema *mer*? (Sección 20.7)
8. ¿Qué efectos negativos en el mar tiene el aumento de los niveles de CO_2? (Sección 20.8)

EJERCICIOS PRÁCTICOS

1. Compare los ciclos del carbono, del azufre y del nitrógeno en relación a la fisiología de los organismos que participan en el ciclo. ¿Qué tipos fisiológicos forman parte de un ciclo pero no de otro?
2. A un vial que contiene sedimentos anóxicos de un lago de agua dulce se añade celulosa marcada con ^{14}C y el vial se cierra en condiciones anóxicas. Unas cuantas horas después, aparece metano marcado con $^{14}CH_4$ en el vial. ¿Qué ha sucedido para llegar a ese resultado?
3. El carbono puede ser secuestrado en el mar de diferentes formas. Comente las diferentes formas, su origen biológico y cómo son influenciadas por el calentamiento global.

CAPÍTULO

21 · Microbiología del ambiente antropizado

microbiología **actual**

La red de transporte metropolitano: el aire que se respira

¿Influye la concentración de personas en edificios y medios de transporte en la microbiota de estos «espacios antropizados»? Un estudio reciente de la calidad del aire en una red de metro, y de su posible impacto en la salud pública, se planteó esta misma pregunta, empleando métodos independientes de cultivo para caracterizar la diversidad y la cantidad de la microbiota del aire interior[1].

El sistema público de metro de la Ciudad de Nueva York, transportó un total de 1.600 millones de pasajeros en 2011 y allí se realizó el primer estudio molecular detallado de la microbiología de los aerosoles en estructuras cerradas con tráfico intenso. Se colocaron colectores automáticos de aire diseñados para retener eficientemente partículas del tamaño de bacterias, distribuidos en los andenes (véanse las fotos). Después de recoger la microbiota de varios metros cúbicos de aire, se extrajo el DNA para análisis filogenéticos de los genes de RNA ribosómico, como medida de la diversidad microbiana.

Sorprendentemente, los análisis filogenéticos no encontraron patógenos. En cambio, la microbiota estaba compuesta principalmente de organismos asociados con el aire exterior, junto con una cantidad muy pequeña de microorganismos típicos de los humanos. Por ejemplo, un 5 % de la microbiota del aire del metro eran organismos que se encuentran en la piel. Dado que la microbiota de la piel humana ha sido bien caracterizada y varía dependiendo de las partes del cuerpo, los investigadores pudieron concluir que los microorganismos derivados de la piel en el aire del metro de Nueva York provenían principalmente de los pies, manos, brazos y cabezas de los pasajeros —las áreas más expuestas del cuerpo humano.

Estos resultados fueron tranquilizadores, al descubrirse que no hay patógenos microbianos flotando en el aire del metro. El estudio también sirvió como prototipo sobre cómo la composición microbiana de un espacio urbano puede ser monitorizada de manera científicamente objetiva y segura.

[1]Robertson, C. E., *et al.* 2012. Culture-independent analysis of aerosol microbiology in a metropolitan subway system. *Appl. Environ. Microbiol. 79:* 3485-3493.





I Recuperación de minerales y drenaje ácido de minas 700

II Biorremediación 703

III Tratamiento de aguas residuales y el agua para consumo humano 708

IV Corrosión relacionada con los microorganismos 716

Este capítulo trata de la microbiología de los sistemas antropizados. Se incluyen las infraestructuras para el tratamiento y distribución de aguas potables y aguas residuales, transporte de petróleo y gas, materiales de construcción y entornos alterados por la extracción de minerales o la limpieza de contaminantes. Estos sistemas antropizados crean nuevos hábitats microbianos, que favorecen actividades microbianas tanto beneficiosas como indeseables. Ejemplos de sistemas diseñados para seleccionar actividades beneficiosas son la construcción de reactores biológicos para el tratamiento de aguas residuales y la estimulación de la actividad microbiana en acuíferos para eliminar contaminantes ambientales.

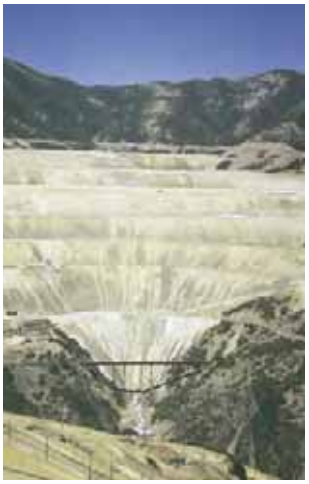
Un ejemplo de actividad microbiana indeseable es la corrosión de origen microbiano de las redes de tuberías empleadas para el transporte de aguas, potables y residuales, y petróleo. Son procesos naturales en los que los microorganismos simplemente aprovechan los recursos proporcionados por las infraestructuras. Todos los años se pierden infraestructuras esenciales valoradas en varios miles de millones de dólares, debido a la corrosión microbiana. Por ejemplo, la American Association of Civil Engineers calcula que en los próximos 30 años, el 30 % de los sistemas de distribución de agua potable de los Estados Unidos deberá ser reemplazado, con un coste anual de 11.000 millones de dólares.

I • Recuperación de minerales y drenaje ácido de minas

La capacidad bioquímica de los microorganismos parece casi ilimitada, y a menudo se dice que son los «mejores químicos del planeta». La actividad de estos grandes pequeños químicos ha sido aprovechada de muchas maneras. Aquí trataremos de cómo la actividad microbiana ayuda a extraer metales valiosos de menas de baja ley.

21.1 Uso de los microorganismos en la minería

Una de las formas del hierro más comunes en la naturaleza es la **pirita** (FeS_2), que se presenta a menudo en carbones bituminosos y en menas metálicas. El sulfuro (HS^-) también forma minerales insolubles con muchos metales y muchos de los yacimientos de estos metales son menas sulfurosas. Si la concentración del metal en la mena es baja, puede ser económicamente rentable extraer la mena solo si los metales de interés se concentran antes mediante **lixiviadores microbianos** (Figura 21.1). La producción de ácido y la disolución del FeS_2 por bacterias acidófilas tales como *Acidithiobacillus ferrooxidans* se utiliza para la lixiviación de menas metálicas en la minería a gran escala. La lixiviación es especialmente útil para las menas de cobre, porque el sulfato de cobre ($CuSO_4$), formado durante la oxidación de las menas de sulfuro de cobre, es muy soluble en agua. Por tanto, aproximadamente la cuarta parte del cobre extraído en todo el mundo se obtiene por lixiviación microbiana.


T. D. Brock

(a)


T. D. Brock

(b)


T. D. Brock

(c)


T. D. Brock

(d)

Figura 21.1 Lixiviación de las menas de cobre de baja ley mediante bacterias oxidantes de hierro. *(a)* Apilamiento de lixiviación típico. La mena de baja ley se ha machacado y amontonado en una gran pila a fin de que la superficie expuesta sea la mayor posible. Las tuberías distribuyen el agua ácida de lixiviación sobre la superficie de la pila. El agua ácida percola lentamente por la pila y sale por debajo. *(b)* Efluente de un apilamiento de lixiviación de cobre. El agua ácida es muy rica en Cu^{2+}. *(c)* Recuperación del cobre en forma de cobre metálico (Cu^0) pasando agua enriquecida en Cu^{2+} sobre hierro metálico en un canal largo. *(d)* Una pequeña pila de cobre metálico retirada del canal, lista para su purificación posterior.

El proceso de lixiviación

La susceptibilidad a la oxidación varía según los tipos de minerales, y aquellos que se oxidan más fácilmente pueden ser lixiviados por los microorganismos con mayor facilidad. Por ello, las menas de hierro y de sulfuro de cobre en forma de pirrotita (o pirrotina) (FeS) y covelita (o covelina) (CuS) son fácilmente lixiviados, mientras que las menas de plomo y de molibdeno lo son en menor grado. En el caso de la lixiviación microbiana, la mena de baja ley es machacada y amontonada en una gran pila denominada apilamiento de lixiviación y a través de ella se rocía una solución diluida de ácido sulfúrico a pH 2 (Figura 21.1). El líquido que sale del fondo de la pila (Figura 21.1*b*) es rico en metales disueltos y se transporta a una planta de precipitación (Figura 21.1*c*), donde el metal deseado se precipita y se purifica (Figura 21.1*d*). Después el líquido se bombea nuevamente hacia la parte superior de la pila y se repite el ciclo. Si es necesario, se añade ácido para mantener el pH ácido.

A continuación se ilustra la lixiviación microbiana del cobre con la mena más común de cobre CuS, en la que el cobre está presente en forma de Cu^{2+}. Como se muestra en la **Figura 21.2**, *A. ferrooxidans* oxida el sulfuro del CuS a SO_4^{2-}, liberando Cu^{2+}. No obstante, esta reacción también puede ocurrir espontáneamente. De hecho, la reacción clave en la lixiviación del cobre no es realmente la oxidación bacteriana del sulfuro en el CuS, sino la oxidación espontánea del sulfuro por el ion férrico (Fe^{3+}) generado por la oxidación bacteriana del ion ferroso (Fe^{2+}) (Figura 21.2). En cualquier mena de cobre, también está presente el FeS_2, y su oxidación por las bacterias conduce a la formación de Fe^{3+} (Figura 21.2). La reacción espontánea del CuS con el Fe^{3+} tienen lugar en ausencia de O_2 y se forma Cu^{2+} más Fe^{2+}; lo que es muy importante para la eficacia del proceso de lixiviación, esta reacción puede tener lugar en el interior del apilamiento de lixiviación donde las condiciones son anóxicas.

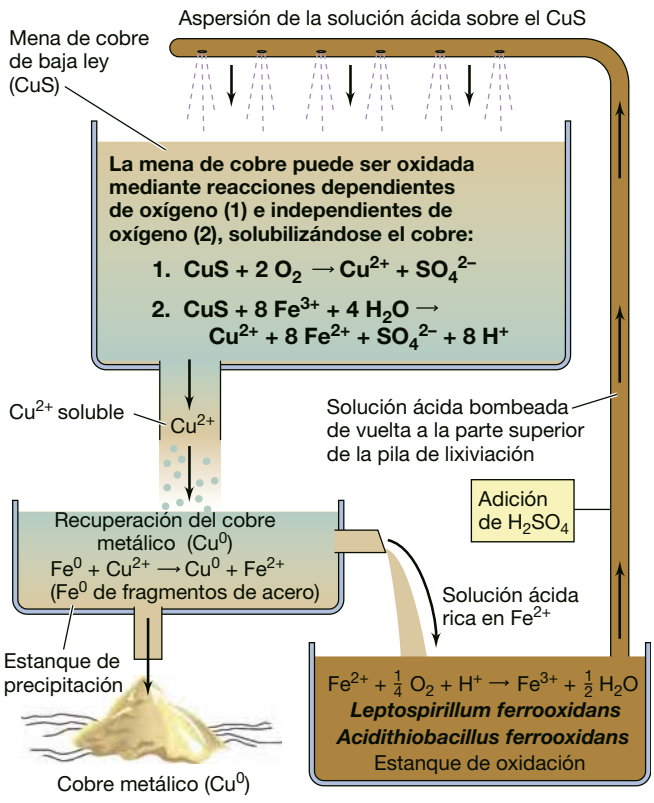


Figura 21.2 Disposición de luna pila de lixiviación y las reacciones que intervienen en la lixiviación microbiana de los minerales de sulfuro de cobre para producir cobre metálico. La reacción 1 se produce tanto biológica como químicamente. La reacción 2 es estrictamente química y es la reacción más importante del proceso de lixiviación del cobre. Para que la reacción 2 tenga lugar, es imprescindible que el Fe^{2+} generado en la oxidación del sulfuro del CuS a sulfato vuelva a ser oxidado a Fe^{3+} por los quimiolitótrofos del hierro (véase la reacción química en el estanque de oxidación).

Recuperación del metal

La planta de precipitación es donde se recupera el Cu^{2+} de la solución de lixiviación (Figura 21.1*c*, *d*). Se añaden limaduras de hierro (una fuente de hierro elemental, Fe^0) al estanque de precipitación para recuperar el cobre del líquido de lixiviación mediante reacción química, como se muestra en la parte inferior de la Figura 21.2. Esto da como resultado un líquido rico en Fe^{2+} que se transfiere a un estanque de oxidación donde los quimiolitótrofos oxidantes de hierro oxidan el Fe^{2+} a Fe^{3+}. Ahora este líquido rico en el ion férrico se bombea hacia la parte superior de la pila y el Fe^{3+} se utiliza para oxidar más CuS (Figura 21.1). Toda la operación de lixiviación del CuS se mantiene gracias a la oxidación del Fe^{2+} a Fe^{3+} por bacterias oxidantes de hierro.

En un apilamiento de lixiviación las temperaturas se elevan y esto conduce a cambios en la comunidad microbiana oxidante de hierro. *A. ferrooxidans* es un mesófilo, y cuando el calor generado por la actividad microbiana hace que se eleve la temperatura en el interior del apilamiento por encima de 30 °C, el crecimiento de esta bacteria es sobrepasado por *Bacteria* quimiolitótrofas oxidantes de hierro ligeramente termófilas, tales como *Leptopspirillum ferrooxidans* y *Sulfobacillus*. A temperaturas superiores (60-80 °C), *Archaea* hipertermófilas como *Sulfolobus* (↔ Sección 16.10) predominan en el apilamiento de lixiviación.

Otros procesos de lixiviación microbiana: uranio y oro

Las bacterias también se utilizan en la lixiviación de menas de uranio (U) y de oro (Au). En la lixiviación del uranio, *A. ferrooxidans* oxida el U^{4+} a U^{6+} con el O_2 como aceptor de electrones. Sin embargo, la lixiviación del uranio depende más de la oxidación abiótica del U^{4+} por el Fe^{3+} con *A. ferrooxidans* contribuyendo al proceso principalmente a través de la reoxidación del Fe^{2+} a Fe^{3+}, como ocurre en la lixiviación del cobre (Figura 21.2). La reacción que se produce es como sigue:

$$UO_2 + Fe_2(SO_4)_3 \rightarrow UO_2SO_4 + 2\ FeSO_4$$
$$(U^{4+})\ (Fe^{3+}) \qquad (U^{6+}) \qquad (Fe^{2+})$$

A diferencia del UO_2, el sulfato de uranilo (UO_2SO_4) formado es muy soluble y se concentra por otros procesos.

El oro se presenta habitualmente en la naturaleza en depósitos asociados a minerales que contienen arsénico (As) y pirita (FeS_2). *A. ferrooxidans* y las bacterias relacionadas pueden lixiviar los minerales de arsenopirita, liberando el oro (Au) atrapado:

$$2\ FeAsS[Au] + 7\ O_2 + 2\ H_2O + H_2SO_4 \rightarrow Fe_2(SO_4)_3 + 2\ H_3AsO_4 + [Au]$$

UNIDAD 4

El oro (Au) forma después un complejo con cianuro (CN^-) mediante métodos tradicionales de minería del oro. A diferencia de la lixiviación del cobre, que se realiza en una pila enorme (Figura 21.1*a*), la lixiviación del oro se realiza en tanques biorreactores pequeños (**Figura 21.3**), donde se libera más del 95 % del oro retenido. Además, los residuos potencialmente tóxicos de arsénico (As) y cianuro (CN^-) del proceso minero se retiran del biorreactor de lixiviación del oro. El arsénico se elimina como un precipitado férrico, y el cianuro se elimina mediante oxidación bacteriana a CO_2 más urea, en etapas posteriores del proceso de recuperación del oro. Así, la lixiviación microbiana en biorreactores a pequeña escala se ha hecho popular como una alternativa a las devastadoras técnicas de la minería del oro que dejan un residuo tóxico de arsénico y cianuro en el lugar de la extracción. También se están desarrollando procesos piloto para la biolixiviación en biorreactores de menas de zinc, plomo y níquel.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cómo se puede oxidar el CuS en condiciones anaerobias?
- ¿Qué función clave desempeña *Acidithiobacillus ferrooxidans* en los procesos de lixiviación del cobre?

21.2 Drenaje ácido de minas

Aunque la lixiviación microbiana tiene un valor extraordinario en minería, el mismo proceso ha contribuido a la destrucción ambiental masiva allí donde la minería trata o desecha, de manera inadecuada, el carbón con contenido en pirita y los depósitos minerales. La oxidación bacteriana y espontánea de los minerales sulfurosos es la principal causa del **drenaje ácido de las minas**, un problema medioambiental mundial producido por la minería a cielo abierto. Como ya se ha descrito para la oxidación de los sulfuros de cobre producida por la minería microbiana (Sección 21.1), la oxidación del FeS_2 es una combinación de reacciones catalizadas química y bacteriológicamente, y dos aceptores de electrones participan en el proceso: O_2 y Fe^{3+}. Cuando inicialmente el FeS_2 se somete a las operaciones de la minería (**Figura 21.4*b***), comienza una reacción lenta con el O_2 (Figura 21.4*c*). Esta reacción, llamada la *reacción iniciadora*, conduce a la oxidación del HS^- a SO_4^{2-} y a la aparición de las condiciones ácidas a medida que se libera el Fe^{2+}. *A. ferrooxidans* y *L. ferrooxidans* oxidan el Fe^{2+} a Fe^{3+}, y el Fe^{3+} formado en estas condiciones ácidas, siendo soluble, reacciona espontáneamente con más FeS_2 y oxida el HS^- a ácido sulfúrico (H_2SO_4), que inmediatamente se disocia en SO_4^{2-} y H^+:

$$FeS_2 + 14\ Fe^{3+} + 8\ H_2O \rightarrow 15\ Fe^{2+} + 2\ SO_4^{2-} + 16\ H^+$$

Nuevamente, las bacterias oxidan el Fe^{2+} a Fe^{3+}, y este Fe^{3+} reacciona con más FeS_2. Por tanto, existe una tasa progresiva, que aumenta rápidamente, en la que se oxida el FeS_2, llamada *ciclo de propagación* (Figura 21.4*c*). En condiciones naturales algo del Fe^{2+} generado por las bacterias es lixiviado y posteriormente transportado por las aguas subterráneas anóxicas hasta arroyos próximos. Sin embargo, la oxidación bacteriana o espontánea del Fe^{2+} tiene lugar en las corrientes gaseosas, y debido a que está presente el O_2 se forma el $Fe(OH)_3$ insoluble.

Como ya hemos visto (Figura 21.4*c*), la ruptura del FeS_2 finalmente conduce a la formación de H_2SO_4 y Fe^{2+}; en aquellas aguas en las que estos productos se han formado, los valores del pH pueden ser inferiores a 1. La mezcla de las aguas de las minas ácidas en los ríos (**Figura 21.5**) y lagos degrada gravemente la calidad del agua, debido a que el ácido y los metales disueltos (además de hierro, hay aluminio y metales pesados, tales como cadmio y plomo) son tóxicos para los organismos acuáticos.



Figura 21.3 Biolixiviación del oro. Tanques de lixiviación del oro en Ghana (África). Dentro de los tanques, una mezcla de *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidithiobacillus thiooxidans* y *Leptospirillum ferrooxidans* solubilizan el mineral de pirita/arsénico que contiene atrapado el oro, liberándolo.

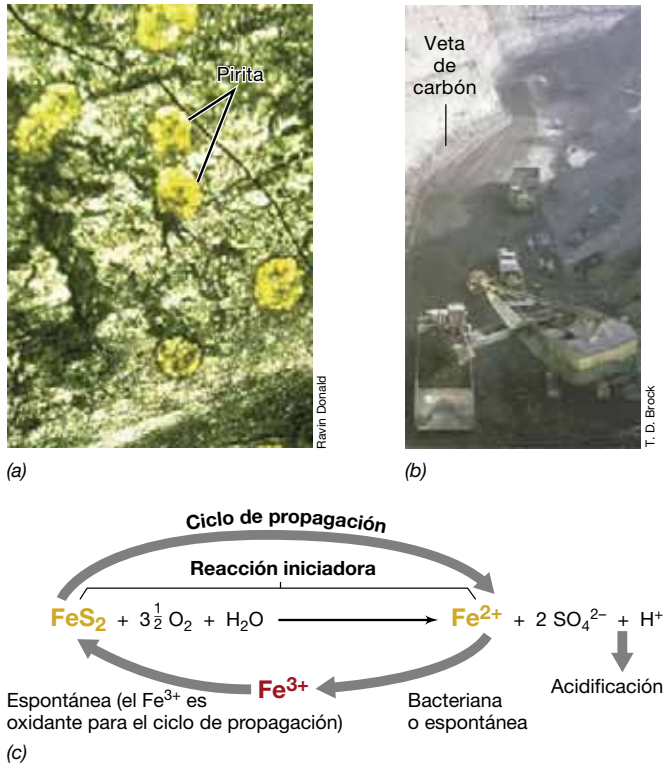


Figura 21.4 Pirita y carbón. *(a)* Carbón de la formación Black Mesa en el norte de Arizona (EE.UU.); los discos esféricos dorados (de aproximadamente 1 mm de diámetro) son partículas de pirita (FeS_2). *(b)* Veta de carbón en la minería a cielo abierto. La exposición del carbón al oxígeno y a la humedad estimula la actividad de las bacterias oxidantes del hierro que crecen en la superficie de la pirita en el carbón. *(c)* Reacciones en la degradación de la pirita. La reacción iniciadora principalmente abiótica prepara las condiciones para la oxidación principalmente bacteriana del Fe^{2+} a Fe^{3+}. El Fe^{3+} ataca y oxida abióticamente el FeS_2 en el ciclo de propagación.


T. D. Brock

Figura 21.5 Drenaje ácido de una mina en una operación de minería a cielo abierto. El color rojo amarillento se debe a la precipitación de óxidos de hierro (véase Figura 21.4*c* para la reacciones que tienen lugar en el drenaje ácido de las minas).

La necesidad de O_2 para la oxidación del Fe^{2+} a Fe^{3+} explica cómo se desarrolla el drenaje ácido de las minas. Hasta que el material pirítico no es extraído, el FeS_2 no puede oxidarse porque el O_2, el agua y las bacterias no llegan hasta él. Sin embargo, cuando una veta mineral o de carbón queda expuesta (Figura 21.4*b*), el O_2 y el agua se introducen, haciendo que sean posibles la oxidación bacteriana y la oxidación espontánea del FeS_2. El ácido formado puede entonces disolverse en los sistemas acuáticos de los alrededores (Figura 21.5).

Donde el drenaje ácido de las minas es extenso y los niveles de Fe^{2+} son elevados, a menudo aparece la especie de *Archaea* fuertemente acidófila *Ferroplasma*. Este organismo aerobio oxidante de hierro es capaz de crecer a pH 0 y a temperaturas de 50 °C. Las células de *Ferroplasma* carecen de pared celular y están filogenéticamente relacionadas a *Thermoplasma*, que también carece de pared celular y es una *Archaea* fuertemente acidófila (pero quimioorganótrofa) (↔ Sección 16.3).

MINIRREVISIÓN

- ¿Cuál es el estado de oxidación del hierro en el mineral $Fe(OH)_3$? ¿Y en el FeS? ¿Cómo se forma el $Fe(OH)_3$?
- Los depósitos naturales de pirita, como las vetas de carbón subterráneas, no contribuyen al drenaje ácido de las minas; ¿por qué?

UNIDAD 4

II • Biorremediación

El término **biorremediación** se refiere a la eliminación microbiana del petróleo, compuestos químicos tóxicos y otros contaminantes ambientales, habitualmente estimulando las actividades de los microorganismos autóctonos. Estos contaminantes incluyen tanto materiales naturales, tales como los productos del petróleo, como químicos **xenobióticos**, químicos sintéticos no producidos por los organismos en la naturaleza.

Aunque se ha propuesto la biorremediación de muchas sustancias tóxicas, los mayores éxitos se han obtenido en la eliminación de los vertidos de petróleo o en las fugas de los grandes tanques de almacenamiento de hidrocarburos. Recientemente, la destrucción programada de los contaminantes ambientales clorados, como disolventes y plaguicidas comúnmente utilizados, ha sido más fácil de llevar a cabo por biorremediación debido al mejor conocimiento de la microbiología asociada. Así mismo, ha habido un creciente éxito en la biorremediación de los ambientes contaminados con uranio, muchos de los cuales son el legado de actividades de extracción del uranio, para armamento y combustible nuclear, insuficientemente reguladas en el pasado. Empezaremos aquí con un análisis de este contaminante tan tóxico.

21.3 Biorremediación de ambientes contaminados con uranio

Los principales contaminantes inorgánicos son metales y radionucleidos que no pueden ser destruidos, solo puede ser alterada su forma química. A menudo la extensión de la contaminación ambiental es tan grande, que la eliminación física del material contaminado es imposible. Por tanto, la única opción real es la *contención*, y un objetivo común en la biorremediación de los contaminantes inorgánicos es cambiar su movilidad, haciendo menos probable que se muevan con las aguas subterráneas y que contaminen los ambientes circundantes. Aquí consideramos cómo el uranio radiactivo puede ser contenido por la actividad de las bacterias.

Biorremediación del uranio

La contaminación por uranio de las aguas subterráneas tiene lugar en cualquier parte del mundo donde el mineral de uranio haya sido procesado o almacenado (**Figura 21.6**). El movimiento de los materiales radiactivos a través de las aguas subterráneas, es un peligro para la salud humana y medioambiental. Dado que a menudo la contaminación se disemina ampliamente, haciendo que los métodos mecánicos de recuperación sean muy caros, los microbiólogos se han asociado con los ingenieros a fin de desarrollar tratamientos biológicos que aprovechan la capacidad de las bacterias para reducir el U^{6+} a U^{4+}. El uranio en forma de U^{6+} es soluble, mientras que el U^{4+} forma un mineral de uranio insoluble llamado *uraninita*, lo que limita la movilidad del uranio en las aguas y el contacto potencial con los humanos y otros animales.

Transformaciones bacterianas del uranio

La principal estrategia para inmovilizar el uranio ha sido la utilización de bacterias para cambiar el estado de oxidación del uranio, en los principales contaminantes, a una forma que estabilice este elemento. Las *Bacteria*, como las especies de *Schewanella* y *Geobacter* reductoras de metales (↔ Sección 14.14) y las especies de *Desulfovibrio* sulfato-reductoras (↔ Sección 14.9), acoplan la reducción de la materia orgánica e hidrógeno (H_2) a la reducción del uranio U^{6+} a U^{4+}.



Ken Williams

Figura 21.6 Biorremediación del uranio. Una zona contaminada con uranio en una parcela experimental del Departamento de Energía de los Estados Unidos. Se inyecta carbono orgánico (acetato) en el sitio contaminado (véase detalle de la fotografía) y se desplaza por las aguas subterráneas en la dirección de la flecha que se muestra en la fotografía principal. El acetato es un donador de electrones para la reducción del U^{6+} a U^{4+}, que inmoviliza el uranio.

Estudios de campo en los que donadores orgánicos de electrones se han inyectado en acuíferos contaminados con uranio para estimular la reducción del U^{6+}, han demostrado que esta estrategia reduce los niveles de uranio por debajo del nivel de 0,126 µM, máximo admitido para el agua apta para el consumo humano por la *U.S. Environmental Protection Agency*. Sin embargo, aunque la uraninita es estable en condiciones reductoras, si las condiciones son ricas en oxígeno, se reoxida. Por tanto, la mayor parte de la investigación en curso sobre la biorremediación del uranio se centra en averiguar si el uranio reducido microbiológicamente es estable: si la composición de la comunidad microbiana cambia o si se introducen oxidantes, tales como el O_2, el NO_3^- y el Fe^{3+}, en las aguas subterráneas. Obviamente es una cuestión importante ya que la estabilidad de la uraninita debe asegurarse a largo plazo, teniendo en cuenta el largo período de semidesintegración nuclear del uranio.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué reacción, oxidación o reducción, es clave para la biorremediación del uranio?
- ¿Por qué la inmovilización es una buena estrategia para tratar la contaminación por uranio?

21.4 Biorremediación de contaminantes orgánicos: hidrocarburos

A diferencia de los contaminantes inorgánicos, los orgánicos pueden ser degradados completamente por los microorganismos, para dar finalmente CO_2. Así ocurre con los vertidos de petróleo en las fugas de crudo (**Figura 21.7**), ya que este puede ser degradado por muchos microorganismos diferentes. Estos organismos han estado expuestos a mezclas complejas de hidrocarburos en depósitos naturales de petróleo durante milenios, por lo que han desarrollado los mecanismos necesarios para degradar este contaminante natural. Por el contrario, los contaminantes xenobióticos son más persistentes y son degradados por grupos de microorganismos más especializados. En esta sección nos centraremos en los hidrocarburos y en la siguiente sección en los xenobióticos.

Biorremediación del petróleo y de hidrocarburos

El petróleo es una fuente rica de materia orgánica y, por esta razón, los microorganismos degradan rápidamente los hidrocarburos cuando el petróleo es bombeado a la superficie de la Tierra y entra en contacto con el aire y la humedad. En algunas circunstancias, como ocurre en los tanques de almacenamiento masivo de petróleo, no se desea que los microorganismos crezcan. Sin embargo, en vertidos de crudo, la biorremediación no solo es deseable, sino que se estimula mediante la adición de nutrientes inorgánicos para equilibrar el enorme aporte de carbono orgánico por parte del crudo (Figura 21.7).

La bioquímica del catabolismo de los hidrocarburos ya ha sido tratada en las Secciones 13.22-13.24. Se pueden llevar a cabo tanto la biodegradación aerobia como la anaerobia. En condiciones óxicas, insistimos en la importancia de las oxigenasas para introducir átomos de oxígeno en los hidrocarburos. Aquí nos centraremos en los procesos *aeróbicos*, porque solo cuando el O_2 está presente las oxigenasas pueden funcionar y la biorremediación de los hidrocarburos puede ser eficaz en relativamente poco tiempo.

Diversas bacterias, hongos y algunas algas verdes pueden oxidar aerobiamente los derivados del petróleo. Es muy frecuente



Figura 21.7 Consecuencias medioambientales de grandes vertidos de petróleo y efecto de la biorremediación. *(a)* Una playa contaminada a lo largo de la costa de Alaska por el vertido del *Exxon Valdez* en 1989. *(b)* La zona rectangular (flecha) se trató con nutrientes inorgánicos para estimular la biorremediación microbiana del petróleo vertido, mientras que las zonas superior e izquierda no se trataron. *(c)* Vertidos de petróleo en el mar Mediterráneo desde la central eléctrica de Jiyeh (Líbano), que fluyeron hasta el puerto de Biblos durante la guerra del Líbano (2006).

la contaminación a pequeña escala por petróleo de los ecosistemas acuáticos y terrestres debido tanto a la actividad humana como a causas naturales. Los microorganismos que oxidan el petróleo crecen con rapidez sobre las películas de petróleo, y la oxidación de los hidrocarburos es más intensa si la temperatura es bastante cálida y el aporte de nutrientes inorgánicos (básicamente N y P) es suficiente.

Debido a que el petróleo es insoluble en agua y es menos denso, flota en la superficie y forma capas finas. Ahí, las bacterias que degradan hidrocarburos se adhieren a las gotículas de petróleo (**Figura 21.8**) y finalmente descomponen el petróleo y dispersan la película. Algunas especies bacterianas están especializadas en la degradación del petróleo; por ejemplo, la bacteria *Alcanivorax borkumensis* crece únicamente en hidrocarburos, en ácidos grasos o en piruvato. Este organismo produce compuestos químicos tensoactivos que ayudan a romper el petróleo y a solubilizarlo. Una vez solubilizado, el petróleo puede ser incorporado más fácilmente y ser catabolizado como donador de electrones y fuente de carbono.

En los grandes vertidos de petróleo, como los que se muestran en la Figura 21.7, los hidrocarburos volátiles, alifáticos y aromáticos, se evaporan rápidamente sin biorremediación, dejando los componentes no volátiles para que sean tratados por los equipos de limpieza y los microorganismos. Los microorganismos consumen el petróleo oxidándolo hasta CO_2. Cuando se promueven actividades biorremediadoras con la utilización de nutrientes inorgánicos, las bacterias que degradan el petróleo crecen rápidamente después de un vertido de petróleo (Figura 21.7*b*); y, en condiciones ideales, se puede oxidar el 80 % o más de los componentes no volátiles del petróleo en un año. Sin embargo, ciertas fracciones del petróleo, como las que contienen hidrocarburos policíclicos y con cadenas ramificadas, no son los sustratos microbianos preferidos y permanecen en el ambiente mucho más tiempo. El petróleo derramado que alcanza los sedimentos es degradado aún más lentamente y puede tener un impacto significativo a largo plazo sobre el rendimiento de la pesca y otras actividades de acuicultura relacionadas que dependen de las aguas no contaminadas.

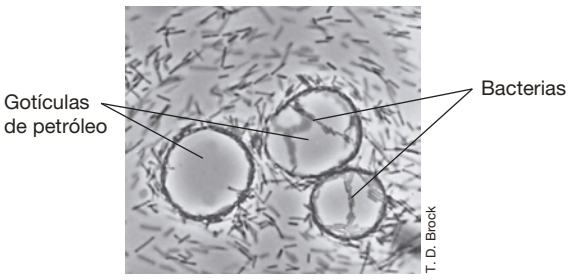


Figura 21.8 Bacterias oxidantes de hidrocarburos asociadas a gotículas de petróleo. Las bacterias se concentran en grandes cantidades en la interfase petróleo-agua, pero nunca en el interior de las gotículas.

Una notable excepción a los vertidos en superficie más habituales fue el hundimiento en 2010 de la plataforma de perforación Deepwater Horizon en el Golfo de México, lo que provocó la rotura de la broca a una profundidad de 1,5 km y la liberación de unos 4 millones de barriles de crudo en la profundidad del océano (↻ Sección 19.9 y Figura 19.20). Alrededor del 35 % de la columna de hidrocarburos estaba compuesta por componentes de bajo peso molecular y gas natural (metano, etano, propano). Se piensa que la disponibilidad de estos componentes del petróleo más fácilmente degradables aceleró el proceso natural de degradación, estimulando el crecimiento masivo de bacterias capaces de oxidar tanto los componentes de los hidrocarburos fácilmente degradables como aquellos más recalcitrantes. Aún no está claro si la decisión de la industria de dispersar el crudo (con lo que se pretendía incrementar el área de superficie del petróleo y su biodisponibilidad) inyectando miles de litros de dispersantes químicos directamente en la columna, realmente aceleró la degradación microbiana. Independientemente de esto, y aunque aún nos queda alguna herencia de este importante vertido de crudo, la mayoría del petróleo desapareció gracias a la combinación de procesos de volatilización y de la actividad microbiana.

Degradación de hidrocarburos almacenados

Las interfases entre el agua y el petróleo a menudo son extensas. Además del agua que se separa del crudo del petróleo durante el almacenamiento y el transporte, la humedad puede condensarse en el interior de los tanques de almacenamiento masivo de combustible (**Figura 21.9**), donde hay fugas. Finalmente, esta agua se acumula por debajo del petróleo. Los tanques de

UNIDAD 4



Figura 21.9 Tanques de almacenamiento de petróleo bruto. En los tanques de combustible se favorece el crecimiento microbiano en las interfases petróleo-agua.

almacenamiento de gasolina y de crudo son, por tanto, hábitats potenciales para microorganismos oxidantes de hidrocarburos. Si en el petróleo hay suficiente sulfato (SO_4^{2-}), como ocurre habitualmente en el crudo, las bacterias sulfato-reductoras pueden crecer en los tanques, consumiendo los hidrocarburos en condiciones anóxicas (↬ Secciones 13.24 y 14.9). El sulfuro de hidrógeno (H_2S) producido es muy corrosivo y causa perforaciones, con la consiguiente fuga de los tanques y la sulfuración del carburante. La degradación aerobia de los componentes del carburante almacenado es menos problemático porque los tanques de almacenamiento están sellados y el combustible contiene poco O_2 disuelto.

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué es necesario que las bacterias que degradan el petróleo se adhieran a la *superficie* de las gotículas de petróleo?
- ¿Qué es singular en la fisiología de la bacteria *Alcanivorax*?

21.5 Biorremediación de contaminantes orgánicos: plaguicidas y plásticos

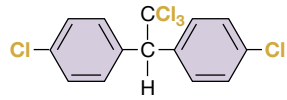
A diferencia de los hidrocarburos, muchos de los compuestos químicos que los seres humanos arrojan al ambiente nunca antes habían estado ahí. Se trata de los xenobióticos, y aquí consideraremos su degradación por los microorganismos.

Catabolismo de los plaguicidas

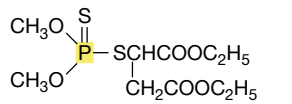
Los xenobióticos incluyen plaguicidas, bifenilos policlorados (PCBs), municiones, colorantes, y disolventes clorados, entre otros muchos compuestos químicos. Algunos xenobióticos tienen una estructura química tan diferente a la de cualquier compuesto natural con el que un microorganismo haya estado en contacto, que su degradación es extremadamente lenta, si es que se produce. En cambio, otros xenobióticos están relacionados estructuralmente con uno o más compuestos naturales, y pueden ser degradados lentamente por las enzimas que degradan compuestos naturales. Nos centraremos en la biorremediación de los plaguicidas.

En todo el mundo se han vendido unos 1.000 plaguicidas para el control de plagas. Los plaguicidas incluyen *herbicidas*, *insecticidas* y *fungicidas*. Los plaguicidas muestran una gran variedad química, incluyen compuestos clorados, aromáticos, nitrogenados y fosforados (**Figura 21.10**). Algunos de estos compuestos sirven como fuente de carbono y energía para los microorganismos, mientras que otros son muy poco o nada utilizados. Generalmente los plaguicidas son compuestos muy clorados y más resistentes al ataque microbiano. Sin embargo, compuestos relacionados pueden diferir notablemente en cuanto a su facilidad para ser degradados. Por ejemplo, los compuestos clorados, como el DDT, persisten relativamente inalterados durante años en el suelo; mientras que otros compuestos clorados como el 2,4-D, son degradados significativamente en unas pocas semanas.

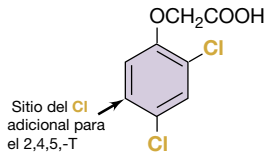
Factores ambientales como la temperatura, el pH, la aireación y el contenido en cloro del suelo, influyen en la tasa de descomposición de los plaguicidas; y algunos de ellos pueden desaparecer de los suelos de forma no biológica por volatilización, lixiviación o descomposición química espontánea. Además, algunos plaguicidas son degradados solo cuando está presente otro material orgánico que actúa como fuente de



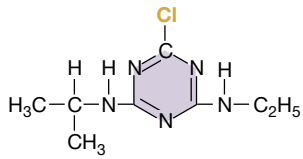
DDT, diclorodifeniltricloroetano (organoclorado)



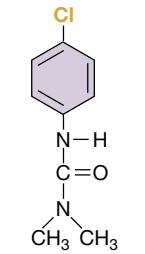
Malatión, mercaptosuccinato de dietilo (organofosforado)



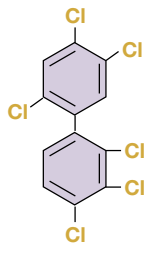
2,4-D, ácido 2,4-diclorofenoxiacético



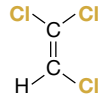
Arazina, 2-cloro-4-etilamino-6-isopropillaminotriazina



Monurón, 3-(4-clorofenil)-1,1-dimetilurea (urea sustituida)



Bifenilo clorado (PCB), se muestra el 2,3,4,2′,4′,5′-hexaclorobifenilo



Tricloroetileno

Figura 21.10 Ejemplos de compuestos xenobióticos. Aunque ninguno de estos compuestos existe en la naturaleza, hay microorganismos que son capaces de degradarlos.

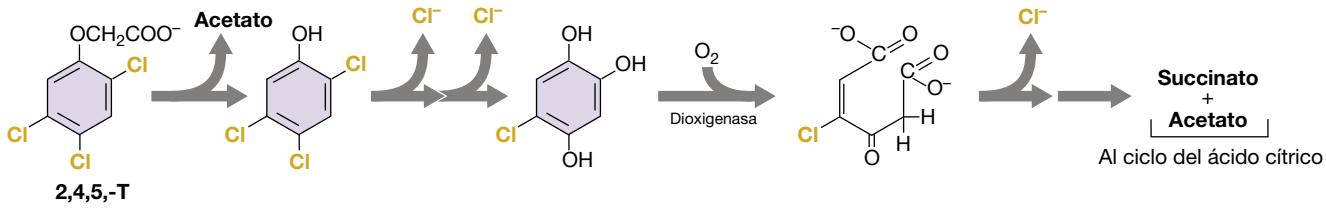


Figura 21.11 **Biodegradación del herbicida 2,4,5-T.** Ruta de la biodegradación aerobia del 2,4,5-T; observe la importancia de la dioxigenasa (véase Sección 13.22) en el proceso de biodegradación.

energía primaria, lo que se conoce como *cometabolismo*. En la mayoría de los casos, los plaguicidas que son cometabolizados se degradan solo parcialmente, dando lugar a nuevos compuestos xenobióticos incluso más tóxicos o más difícilmente degradables que el compuesto original. Por tanto, desde un punto de vista medioambiental, el cometabolismo de un pesticida no siempre es beneficioso.

Decloración

Muchos xenobióticos son compuestos clorados y su degradación se realiza mediante *decloración*. Por ejemplo, la bacteria *Burkholderia* declora el pesticida 2,4,5-T aerobiamente, liberando ion cloruro (Cl^-) en el proceso (**Figura 21.11**); esta reacción es catalizada por oxigenasas (↻ Sección 13.22). Después de la decloración, una dioxigenasa rompe el anillo aromático para dar compuestos que pueden entrar en el ciclo del ácido cítrico produciendo energía.

Aunque la degradación aerobia de los xenobióticos tiene una importancia ecológica indudable, la **decloración reductora** puede serlo aún más debido a la rapidez con la que aparecen las condiciones anóxicas en los hábitats microbianos contaminados. Previamente se ha descrito la decloración reductora como una forma de respiración anaerobia en la que los compuestos orgánicos clorados, tales como el clorobenzoato ($C_7H_4O_2Cl^-$), son aceptores terminales de electrones y, una vez reducidos, liberan cloruro (Cl^-), una sustancia no tóxica (↻ Sección 13.21).

Muchos compuestos pueden ser declorados reductoramente, como el dicloro-, el tricloro- y el tetracloro- (percloro-) etileno, el cloroformo, el diclorometano y los bifenilos policlorados (Figura 21.10). Además, muchos compuestos orgánicos bromados y fluorados pueden ser deshalogenados de forma análoga. Muchos de estos compuestos clorados o halogenados son muy tóxicos y algunos incluso han sido relacionados con el cáncer (particularmente el tricloroetileno). Algunos de estos compuestos, tales como los PCBs, han sido ampliamente utilizados como aislantes en transformadores eléctricos y alcanzan ambientes anóxicos a partir de las pequeñas pérdidas de los transformadores o de los depósitos. Finalmente estos compuestos acaban en las aguas subterráneas o en los sedimentos, siendo unos de los contaminantes más habitualmente detectados en los Estados Unidos. Por tanto, existe un gran interés en la decloración reductora como estrategia de biorremediación por su eliminación de los ambientes anóxicos.

Plásticos

Los plásticos constituyen un ejemplo clásico de xenobióticos, y la industria mundial del plástico produce unos 40 millones de toneladas anuales, de las que casi la mitad son desechadas y no recicladas. Los plásticos son polímeros con diversas estructuras químicas (**Figura 21.12*a***). Muchos plásticos permanecen esencialmente inalterados durante mucho tiempo entre materiales de terraplenado, vertederos y como basura en el medio ambiente. Este problema ha incentivado la investigación de alternativas biodegradables denominadas **plásticos microbianos** para reemplazar algunos plásticos sintéticos.

Los polihidroxialcanoatos (PHAs) son polímeros de reserva bacterianos comunes (↻ Sección 2.14), y estos polímeros fácilmente biodegradables tienen muchas de las propiedades deseables de los plásticos xenobióticos. Los PHAs pueden sintetizarse en varias formas químicas, cada una con sus propiedades físicas específicas (rigidez, resistencia al impacto y al corte, y otras similares). Un *copolímero* de PHA formado por poli-β-hidroxibutirato y poli-β-hidroxivalerato en la misma cantidad (Figura 21.12*b*) ha sido comercializado en Europa como recipiente para productos de aseo personal, y hasta ahora ha tenido un gran éxito como sustituto del plástico (Figura 21.12*c*).

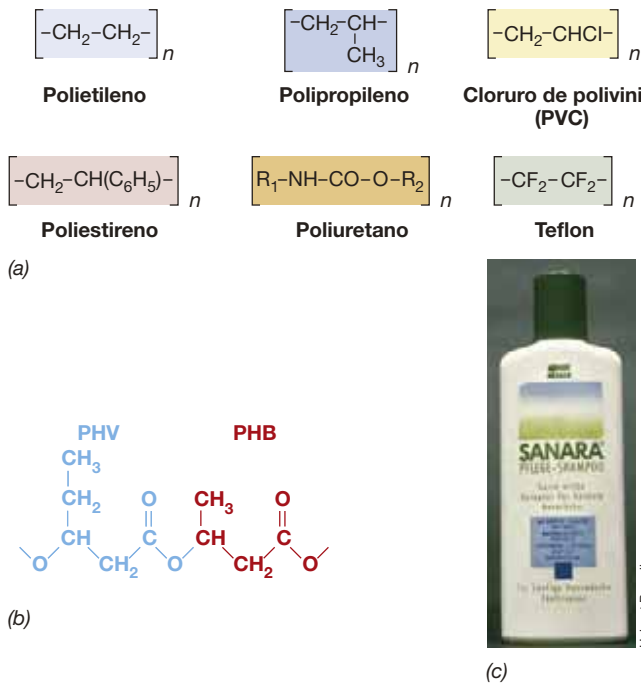


Figura 21.12 **Plásticos sintéticos y bacterianos.** *(a)* La estructura monomérica de varios plásticos sintéticos. *(b)* Estructura del copolímero de poli-β-hidroxibutirato (PHB) y poli-β-hidroxivalerato (PHV). *(c)* Una marca de champú que antes se comercializaba en Alemania y se envasaba en una botella hecha con el copolímero PHB/PHV.

UNIDAD 4

Sin embargo, debido a que los plásticos sintéticos actualmente son más baratos que los plásticos microbianos, los plásticos sintéticos derivados del petróleo dominan casi por completo el mercado actual de los plásticos.

La bacteria *Ralstonia eutropha* se ha utilizado como organismo modelo para la producción comercial de PHAs. Esta bacteria, genéticamente manipulable y metabólicamente diversa, produce PHA con un rendimiento elevado, y pueden obtenerse copolímeros específicos mediante modificaciones nutricionales simples. No obstante, la industria de los plásticos microbianos está lastrada por el hecho de que los mejores sustratos para la biosíntesis del PHA son glucosa y compuestos orgánicos relacionados, sustancias que se obtienen a partir del maíz y otros cultivos. E incluso a los precios actuales del petróleo, los productos vegetales no pueden competir con los derivados del petróleo, como materias primas para la industria del plástico.

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué la adición de nutrientes inorgánicos podría activar la degradación del petróleo, mientras que la adición de glucosa no lo haría?
- ¿Qué es la decloración reductora y en qué se diferencia de las reacciones que se muestran en la Figura 21.11?
- ¿Cuál es la principal ventaja que tienen los plásticos microbianos frente a los plásticos sintéticos?

III • Tratamiento de aguas residuales y del agua para consumo humano

El agua es la fuente más importante de transmisión de enfermedades infecciosas y una fuente potencial de intoxicaciones químicas. Esto se debe a que, con frecuencia, el agua que abastece a grandes cantidades de gente, por ejemplo en las grandes ciudades, proviene del mismo suministro Al ser así, el agua contaminada puede propagar la enfermedad a todos los individuos expuestos. Por otra parte, es esencial tratar adecuadamente las aguas residuales a fin de mantener la calidad del medio ambiente y reducir la transmisión de enfermedades.

El brote de cólera ocurrido en Haití como consecuencia del terremoto en 2010, es un recordatorio de la importancia del correcto mantenimiento de los sistemas de tratamiento de aguas residuales y de potabilización del agua, en beneficio de la salud pública. Trataremos a continuación de los sistemas construidos para el tratamiento químico y biológico del agua, y de los sistemas de distribución del agua tratada a los consumidores. Asimismo, analizamos la importancia que tiene para la salud humana, la ecología microbiana que se desarrolla en el interior de las tuberías de los sistemas públicos de distribución de agua y de las tuberías de los edificios e instalaciones.

21.6 Tratamiento primario y secundario de aguas residuales

Las **aguas residuales** son las aguas negras domésticas y los residuos líquidos industriales que no pueden ser eliminados, sin tratamiento previo, en lagos o ríos por razones de salud pública, económicas, medioambientales y estéticas. El tratamiento de las aguas residuales emplea tanto métodos físicos y químicos como microorganismos a escala industrial. Las aguas residuales entran en la planta de tratamiento y, después del tratamiento, el **agua efluente** —agua residual tratada descargada de las instalaciones de tratamiento— puede ser vertida en las aguas superficiales como lagos y ríos, o llevadas a las instalaciones de potabilización (Figura 21.13).

Aguas residuales y aguas negras

Las aguas residuales con desechos domésticos o industriales no pueden ser vertidas sin un tratamiento previo en lagos o ríos.



Figura 21.13 Tratamiento de aguas residuales. Las plantas de tratamiento eficaces emplean los métodos de tratamiento primario y secundario que se indican. El tratamiento terciario también puede utilizarse para reducir los niveles de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO) en el agua efluente hasta niveles indetectables.

Las **aguas negras** son los líquidos efluentes contaminados con material fecal humano o animal. Las aguas residuales suelen contener compuestos orgánicos e inorgánicos potencialmente peligrosos, así como microorganismos patógenos. En el tratamiento de dichas aguas residuales se pueden utilizar procesos físicos, químicos y biológicos (microbiológicos) para eliminar o neutralizar los contaminantes.

Por término medio, cada estadounidense emplea 400-800 litros de agua diariamente para lavar, cocinar, beber, higiene personal y saneamiento. Las aguas residuales que derivan de estas actividades, deben someterse a tratamiento para eliminar los contaminantes antes de su vertido a las aguas superficiales. En Estados Unidos funcionan alrededor de 16.000 plantas de tratamiento públicas, o EDAR (de *Estación Depuradora de Aguas Residuales*; en inglés, POTW, de *Publicly Owned Treatment*

Works). La mayoría de las EDAR son relativamente pequeñas, y tratan aproximadamente 3,8 millones de litros de aguas residuales al día. En conjunto estas plantas tratan diariamente más de 120.000 millones de litros de aguas residuales. Normalmente estas plantas se construyen para tratar tanto aguas residuales domésticas como industriales. Las aguas residuales domésticas están constituidas por las aguas negras, «aguas grises» (las aguas procedentes del lavado, aseo personal y cocinado), y las derivadas del procesamiento de los alimentos en casas y restaurantes, a pequeña escala.

Las aguas residuales industriales incluyen los líquidos de descarga liberados de la industria petroquímica, en la producción de plaguicidas, alimentos y derivados lácteos, de plásticos, de la industria farmacéutica y de la metalurgia. Las aguas residuales industriales pueden contener sustancias tóxicas; en este sentido, la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos, EPA (del inglés U.S. *Environmental Protection Agency*), exige a algunas plantas de procesamiento y fabricación que los líquidos descargados tóxicos contaminados o muy contaminados sufran un tratamiento previo, antes de entrar en las EDAR. El pretratamiento puede implicar procesos mecánicos en los que se extraen los residuos de gran tamaño. Algunas aguas residuales son pretratradas biológicamente o químicamente para eliminar sustancias tóxicas como el cianuro, metales pesados como el arsénico, el plomo y el mercurio; o materiales orgánicos como la acrilamida, el herbicida atrazina y el benceno. Estas sustancias se convierten en formas menos tóxicas mediante el tratamiento con productos químicos o con microorganismos capaces de neutralizar, oxidar, precipitar o volatilizar dichos residuos. Las aguas residuales una vez pretratadas, pueden ser liberadas a una EDAR.

Tratamiento de aguas residuales y demanda bioquímica de oxígeno

La finalidad de una instalación de tratamiento de aguas residuales es reducir los materiales orgánicos e inorgánicos del agua hasta niveles que no permitan el crecimiento microbiano, y eliminar otros materiales potencialmente tóxicos. La eficacia del tratamiento se expresa en términos de una reducción en la **demanda bioquímica de oxígeno (DBO)**, la cantidad relativa de oxígeno disuelto que los microorganismos consumen para oxidar por completo toda la materia orgánica e inorgánica en una muestra de agua (Sección 19.8). Niveles elevados de materia orgánica e inorgánica en aguas residuales determinan una elevada DBO.

Los valores típicos de DBO para las aguas residuales domésticas, incluyendo las aguas negras, son de 200 unidades de DBO aproximadamente. Para las aguas residuales industriales, como por ejemplo las procedentes de industrias lácteas, los valores pueden ser tan elevados como 1.500 unidades de DBO. Una planta eficaz de tratamiento de aguas residuales reduce los niveles de DBO a menos de 5 unidades en el agua tratada final. Las instalaciones de tratamiento están diseñadas para tratar tanto aguas residuales industriales con baja DBO como con alta DBO.

Este tratamiento es una operación con múltiples pasos que emplea varios procesos físicos y biológicos de modo independiente (Figura 21.13). Para reducir la contaminación biológica y la contaminación química en aguas residuales, se aplican tratamientos *primarios*, *secundarios* y, a veces, otros tratamientos adicionales, y cada tratamiento de nivel superior requiere tecnologías cada vez más complejas.

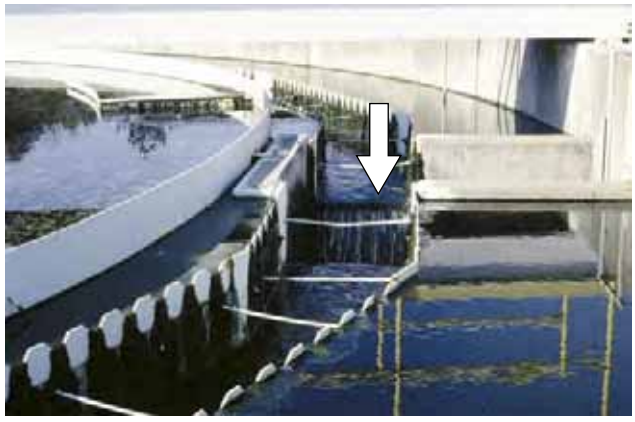
Tratamiento primario de aguas residuales

El **tratamiento primario de aguas residuales** utiliza solo métodos de separación física para separar materiales sólidos y partículas orgánicas e inorgánicas. Las aguas residuales que entran en una planta de tratamiento pasan a través de una serie de rejillas y cribas que eliminan los objetos de gran tamaño. El efluente se deja reposar durante varias horas. Los sólidos sedimentan en el fondo de los depósitos o estanques de separación y el efluente se retira para ser descartado o para su tratamiento posterior (**Figura 21.14**).

Los municipios que solo proporcionan tratamiento primario, vierten aguas extremadamente contaminadas con una DBO alta ya que, tras dicho tratamiento, el agua contiene niveles elevados de materia orgánica soluble o suspendida junto a otros nutrientes. Estos nutrientes pueden favorecer el crecimiento indeseado de microorganismos, además de reducir la calidad del agua. La mayoría de las plantas emplean tratamientos secundarios, e incluso *terciarios*, para reducir el contenido orgánico de las aguas residuales, antes de su vertido a cauces naturales. Los procesos de tratamiento secundario utilizan tanto digestiones microbianas aerobias como anaerobias, a fin de reducir aún más el contenido en nutrientes orgánicos de las aguas residuales.

Tratamiento secundario anaerobio de aguas residuales

En el **tratamiento secundario anaerobio de aguas residuales** interviene una serie de reacciones de degradación y de fermentación, que son realizadas por varios procariotas en condiciones anóxicas. El tratamiento anaerobio se utiliza habitualmente para tratar aguas residuales que contienen grandes cantidades de materia orgánica insoluble (y por consiguiente con una DBO muy alta), tal como sucede con los residuos de fibras y celulosa procedentes de las industrias lácteas y alimentarias. El proceso de degradación anaerobia se lleva a cabo en grandes tanques cerrados llamados *digestores de fangos* o *biorreactores* (**Figura 21.15**). Este proceso requiere la actividad conjunta de muchos tipos de procariotas. Las principales reacciones se resumen en la Figura 21.15*c*.



John M. Martinko and Deborah O. Jung

Figura 21.14 Tratamiento primario de aguas residuales. Las aguas residuales se bombean al depósito (izquierda) donde los sólidos se sedimentan. A medida que sube el nivel del agua, esta se derrama a través de rejillas a niveles cada vez más bajos. El agua del nivel inferior, ahora casi por completo libre de sólidos, entra en el aliviadero (flecha) y se bombea a una instalación de tratamiento secundario.

UNIDAD 4

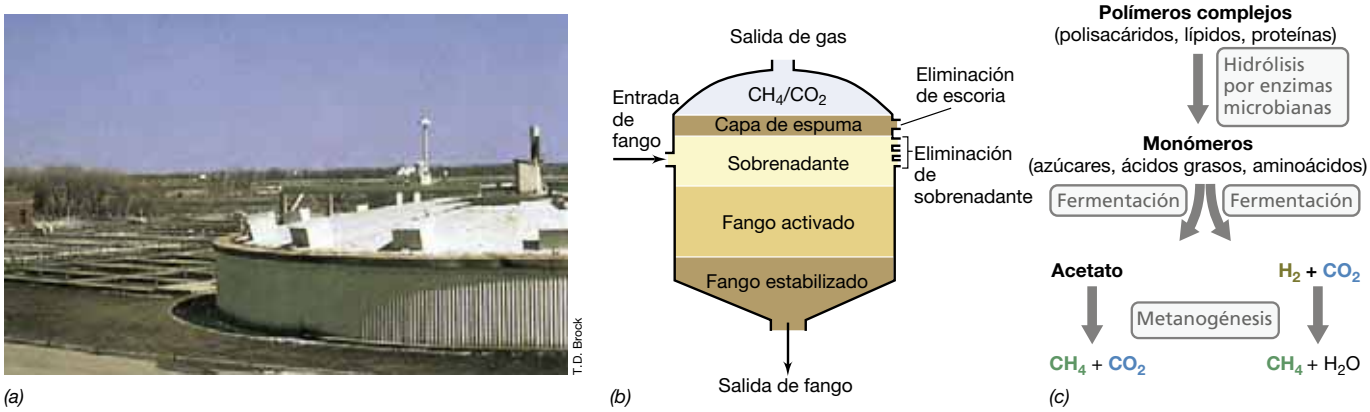


Figura 21.15 **Tratamiento secundario anaerobio de aguas residuales.** *(a)* Digestor anaerobio de fangos. Solo se muestra la parte superior del tanque; el resto está bajo tierra. *(b)* Procesos internos en un digestor de fangos. *(c)* Procesos microbianos más importantes en un digestor anaerobio de fangos. Los principales productos de la biodegradación anaerobia son metano (CH_4) y dióxido de carbono (CO_2).

Primero, los anaerobios utilizan polisacaridasas, proteasas y lipasas para digerir los sólidos en suspensión y las macromoléculas grandes dando lugar a compuestos solubles. Estos son fermentados después dando una mezcla de ácidos grasos, H_2 y CO_2; a continuación los ácidos grasos son fermentados de nuevo por la actividad cooperativa de bacterias sintróficas (↻ Sección 13.15) produciendo acetato, CO_2 e H_2. Estos productos son utilizados, seguidamente, como sustratos por *Archaea* metanógenas (↻ Sección 16.2), que fermentan acetato produciendo metano (CH_4) y dióxido de carbono CO_2, que son los productos mayoritarios del tratamiento anaerobio de las aguas residuales (Figura 21.15*c*). El CH_4 se quema o se usa como combustible para suministrar calor y energía a la planta de tratamiento de aguas residuales.

Tratamiento secundario aeróbico de aguas residuales

El **tratamiento secundario aeróbico de aguas residuales** emplea reacciones de degradación oxidativa que realizan algunos microorganismos en condiciones aerobias, para tratar aguas residuales que contienen bajos niveles de materia orgánica (**Figura 21.16*a*, *b***). En general, las aguas residuales que proceden de áreas residenciales pueden tratarse eficazmente mediante tratamiento aeróbico únicamente. Para tratar las aguas residuales pueden usarse varios procesos de degradación aerobia; si bien los más comunes son los métodos de *fangos activados* (Figura 21.16*a*, *b*). Aquí, las aguas residuales se mezclan y se airean continuamente en grandes tanques. Las bacterias aerobias formadoras de limo, como *Zoogloea ramigera* y otras, crecen y forman masas de agregados llamadas flóculos (**Figura 21.17**). La biología de *Zoogloea* ya se ha visto en la Sección 15.2. Los protistas, los animales pequeños, las bacterias filamentosas y los hongos se adhieren a los flóculos. La oxidación de la materia orgánica en el flóculo tiene lugar a medida que este se agita y se airea. El efluente aireado que contiene los flóculos se bombea a un tanque de retención o clarificador, donde los flóculos sedimentan. Parte de este material floculado (llamado fango o lodo activado) se devuelve al aireador como inóculo para nuevas aguas residuales, y el resto se bombea al digestor anaerobio de fangos (Figura 21.15), o se extrae, se seca y se quema, o bien se utiliza como fertilizante.

Normalmente las aguas residuales permanecen en un tanque de fangos activados durante 5-10 horas, que es un tiempo demasiado corto para la oxidación completa de toda la materia orgánica. Sin embargo, durante este tiempo gran parte de la materia orgánica soluble se adsorbe a los flóculos y se incorpora en las células microbianas. La DBO del líquido efluente se reduce considerablemente (hasta el 95 %) en comparación con la de las aguas residuales entrantes; la mayoría del material con DBO alta se encuentra ahora en los flóculos sedimentados. Los flóculos pueden ahora ser transferidos desde el digestor anaerobio de fangos para su conversión en CO_2 y CH_4.

El método de *filtración por goteo o biofiltro* también se utiliza habitualmente como tratamiento secundario aeróbico (Figura 21.16*c*). Un filtro percolador o por goteo consiste en un lecho de rocas machacadas, de unos 2 m de espesor. Las aguas residuales se rocían sobre la superficie de las rocas y pasan lentamente a través del lecho. El material orgánico de las aguas residuales se adsorbe sobre las rocas, y los microorganismos crecen en la gran superficie expuesta de las rocas. En la extensa biopelícula microbiana que se desarrolla en las rocas tiene lugar la mineralización completa de la materia orgánica a CO_2, amoniaco, nitratos, sulfatos y fosfatos.

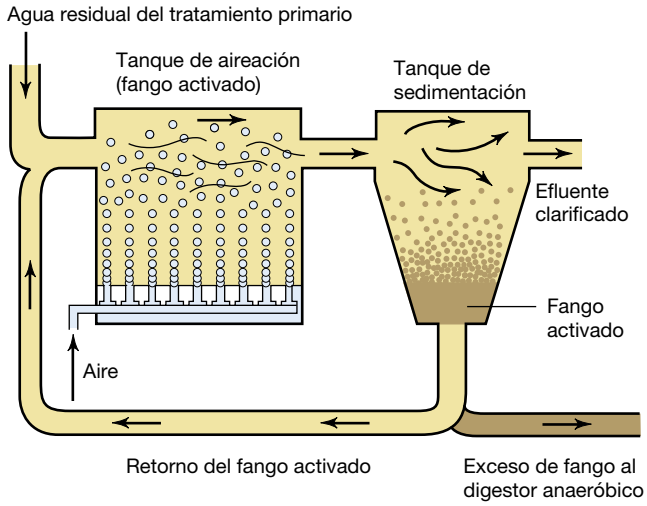
La mayoría de las instalaciones cloran el efluente después del tratamiento secundario, a fin de reducir la probabilidad de contaminación biológica posterior. El efluente así tratado ya puede ser vertido en ríos o en lagos. En el Este de los Estados Unidos, muchas instalaciones de tratamiento de aguas residuales utilizan la radiación UV para la desinfección de las aguas efluentes. Así mismo, algunas plantas en los Estados Unidos también utilizan ozono (O_3) para la desinfección de las aguas, ya que es un agente oxidante fuerte y un bactericida y virucida eficaz.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué es la demanda bioquímica de oxígeno (DBO) y por qué es importante su reducción en el tratamiento de aguas residuales?
- ¿En qué se diferencian los métodos tratamiento primario y secundario de aguas residuales?
- Además de las aguas tratadas ¿cuáles son los productos finales del tratamiento de aguas residuales? ¿Cómo podrían ser utilizados estos productos finales?



(a)



(b)



(c)

Figura 21.16 Tratamiento secundario aeróbico de aguas residuales. Las imágenes a y b ilustran el método de fangos activados. *(a)* Tanque de aireación del fango activado en una planta urbana de tratamiento de aguas residuales. El tanque mide 30 m de largo, 10 m de ancho y 5 m de profundidad. *(b)* Flujo de las aguas residuales en una instalación de fangos activados. La circulación del fango activado por el tanque de aireación introduce los microorganismos responsables de la degradación oxidativa de los compuestos orgánicos de las aguas residuales. *(c)* Método de filtración por goteo. Los aspersores de agua giran y distribuyen las aguas residuales lenta y uniformemente sobre el lecho de roca. Las rocas tienen 10-15 cm de diámetro y el lecho tiene 2 m de profundidad.

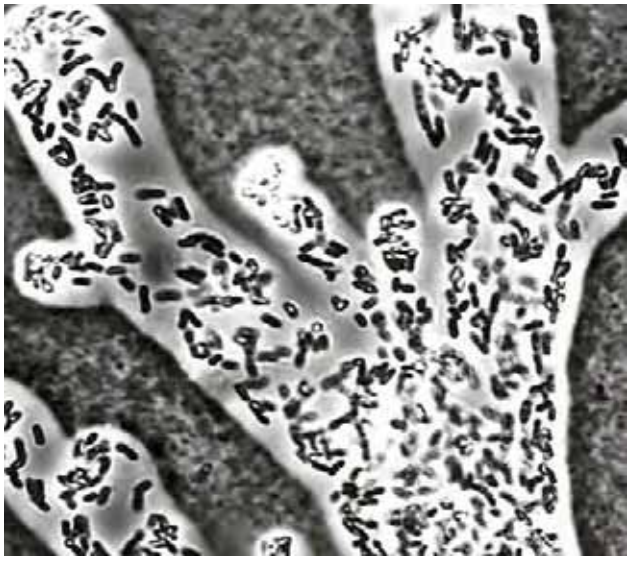


Figura 21.17 Flóculo formado por la bacteria *Zooglea ramigera* en aguas residuales. El flóculo formado en el proceso del fango activado está constituido por un gran número de células bacilares pequeñas de *Z. ramigera* rodeadas por una capa mucosa de polisacárido, en una disposición típica de proyecciones con forma de dedos. Tinción negativa con tinta china.

21.7 Tratamiento avanzado de aguas residuales

Se entiende por tratamiento avanzado de aguas residuales cualquier proceso diseñado para producir un efluente de calidad superior a la que normalmente se alcanza con un tratamiento secundario. Incluye el tratamiento terciario, el tratamiento fisicoquímico o el tratamiento combinado físico-biológico. El **tratamiento terciario** de aguas residuales se define como cualquier proceso en el que se añaden operaciones complementarias para el tratamiento adicional del efluente procedente del tratamiento secundario.

Los objetivos típicos del tratamiento avanzado incluyen la eliminación adicional de la materia orgánica y sólidos en suspensión, la eliminación de nutrientes inorgánicos claves para el crecimiento microbiano (como amoniaco, nitratos, nitritos, fósforo o carbono orgánico disuelto), y la degradación de cualquier material potencialmente tóxico. El tratamiento avanzado de aguas es el método más completo para el tratamiento de aguas negras, pero no ha sido ampliamente adoptado debido a los costos que conlleva la completa eliminación de nutrientes. Aquí comentamos la eliminación biológica del fósforo y de los contaminantes traza, dos áreas del tratamiento avanzado de creciente importancia en el tratamiento de aguas residuales.

Eliminación biológica del fósforo

El tratamiento biológico secundario convencional elimina tan solo el 20 % del fósforo de las aguas residuales, por lo que es necesario un tratamiento químico o biológico adicional. La precipitación química es el proceso más comúnmente utilizado, eliminándose hasta el 90 % del fósforo del influente (entrada del agua residual en una EDAR). La eliminación se realiza mediante la adición de hierro (Fe) o de aluminio (Al) en forma de sales, cloruros o fosfatos, siendo las sales ferrosas o férricas (Fe^{2+} o Fe^{3+}) las más utilizadas. A un pH próximo a la neutralidad, el Fe^{3+} forma fosfato férrico ($FePO_4$) o complejos fosfato-hidróxido férrico insolubles. Entonces estos precipitan y son eliminados como fangos o lodos.

El proceso de precipitación química origina hasta un 90 % más de fangos, lo que crea el problema adicional de su eliminación. Como alternativa, el tratamiento terciario que favorece el crecimiento de bacterias que acumulan fósforo, también puede eliminar hasta el 90 % del fósforo, proceso denominado *eliminación biológica mejorada del fósforo* (EBPR, del inglés *enhanced biological phosphorus removal*). En este proceso, la corriente de residuos es procesada mediante su paso sucesivo a través de biorreactores anaerobios y aeróbicos (**Figura 21.18**). En el reactor anaerobio, los *organismos que acumulan fósforo* (*PAOs*) utilizan la energía disponible del polifosfato almacenado para asimilar ácidos grasos de cadena corta y producen polihidroxialcanoatos intracelulares (PHAs) (Figura 21.18*a*, ↻ Sección 2.14); a medida que esto ocurre, se libera ortofosfato soluble (PO_4^{3-}). Durante la siguiente fase aerobia del tratamiento, el PHA almacenado es metabolizado, produciendo energía y carbono para un nuevo crecimiento celular. La energía se utiliza para formar polifosfato intracelular, eliminando así el ortofosfato de la solución (Figura 21.18*a*). La nueva biomasa (fangos) con elevado contenido en polifosfatos, se recoge para eliminar el fósforo (Figura 21.18*b*).

Algunas veces, el proceso EBPR falla debido al crecimiento excesivo de poblaciones microbianas competidoras, generalmente microorganismos que acumulan glucógeno en vez de fósforo, haciendo que el proceso sea menos eficiente. Por tanto, para controlar mejor el proceso será necesario un mayor conocimiento de la ecología y la fisiología de los PAOs. Recientemente se han logrado avances en esta área con la identificación de uno de los principales PAOs, *Accumulibacter phosphatis*. Esta bacteria forma parte de un clado relacionado de *Betaproteobacteria* que acumulan fósforo (↻ Sección 15.2), que ha sido identificado en diferentes sistemas de EBPR. Aunque aún no se dispone de cultivos axénicos, sistemas de reactores de laboratorio enriquecidos en estos organismos, actualmente permiten un cierto conocimiento de las condiciones necesarias para la operación estable de la EBPR.

Contaminantes emergentes

Hasta ahora, los estudios sobre el impacto medioambiental de los productos químicos se centró principalmente en los contaminantes prioritarios, como son los productos que se usan de manera intensiva en la agricultura y aquellos compuestos químicos que poseen una toxicidad aguda o carcinogenicidad demostradas. Sin embargo, ahora es evidente que nuevos contaminantes bioactivos están llegando al medio ambiente, lo que

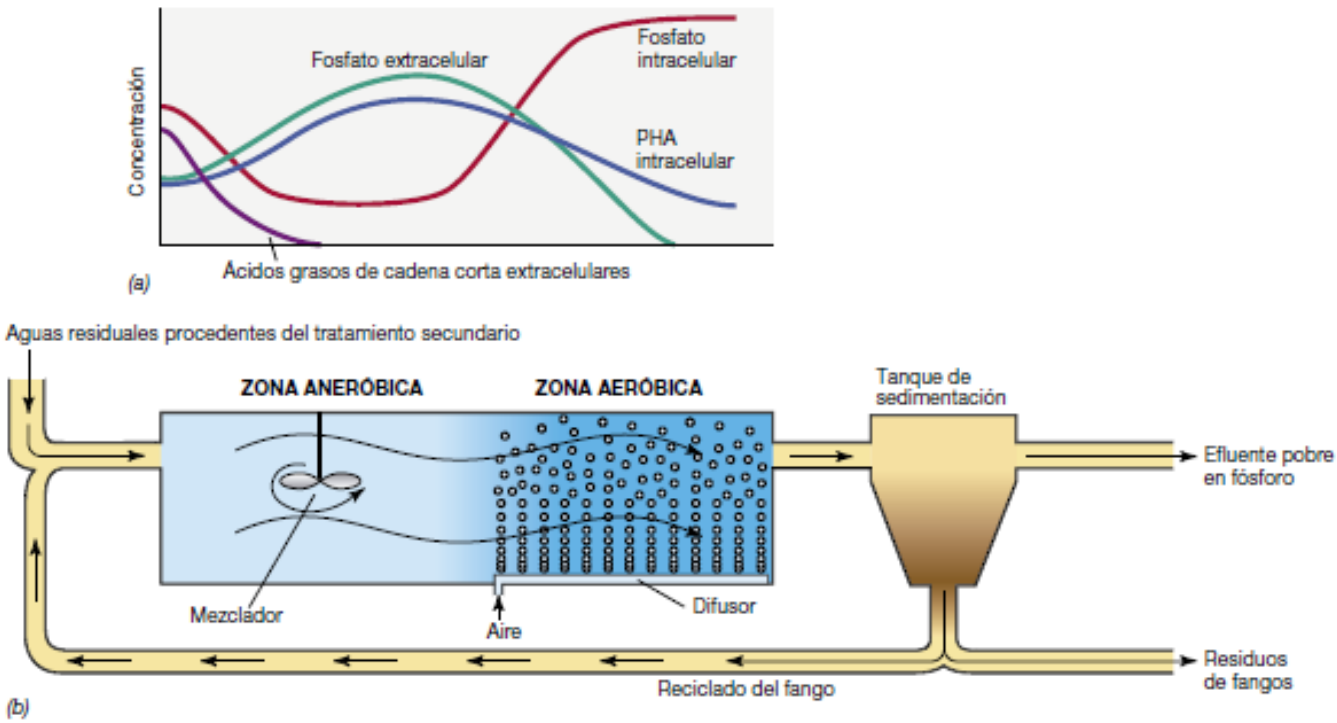


Figura 21.18 **Tecnología mejorada de eliminación biológica del fósforo.** Durante la circulación a través del sistema reactor, la comunidad microbiana pasa de un crecimiento anaerobio a uno aeróbico. En la zona anaerobia, se asimilan ácidos grasos de cadena corta y el polifosfato (poliP) intracelular almacenado se libera como ortofosfato extracelular. En la zona aerobia, el fosfato extracelular es reasimilado como poliP y se metabolizan los polihidroxialcanoatos (PHAs) intracelulares.

sin duda alguna supondrán nuevos retos para la biorremediación microbiana. Dichos contaminantes incluyen productos farmacéuticos, perfumes, productos de limpieza, protectores solares, y otras muchas moléculas xenobióticas o infrecuentes.

A diferencia de los plaguicidas, estos «nuevos» contaminantes son vertidos al medio ambiente más o menos de forma continua, principalmente a través de las aguas negras ya sean tratadas o no, y por esta razón, no necesitan permanecer para tener efectos medio ambientales. Por ejemplo, se sabe que los estrógenos sintéticos, que se excretan en la orina de las mujeres que toman anticonceptivos orales, y que finalmente se eliminan de las instalaciones de tratamiento de aguas residuales, pueden activar genes de respuesta a estrógenos en animales acuáticos, como en el caso de los peces, y contribuir a la feminización de los machos.

Inicialmente, las plantas de tratamiento de aguas residuales se diseñaron para manipular materias naturales, fundamentalmente residuos de origen humano e industrial, pero ahora existe un creciente interés en diseñar cuidadosamente las futuras instalaciones de tratamiento para incentivar la biorremediación de estos contaminantes emergentes. Debido a que estos contaminantes se encuentran con frecuencia en concentraciones muy bajas, y que a menudo pertenecen a nuevas clases de xenobióticos químicos, es posible que no permitan el crecimiento microbiano pero que puedan ser degradados por cometabolismo, o por especies muy especializadas. Por tanto, puede esperarse que la biorremediación de los contaminantes emergentes sea una de las áreas de investigación microbiológica más activas y favorecidas por las políticas públicas en los próximos años.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cuáles son las ventajas de la eliminación biológica mejorada del fósforo frente a la eliminación tradicional del fósforo? ¿Tiene desventajas?
- Ponga un ejemplo de un contaminante «emergente».

21.8 Purificación y estabilización del agua para consumo humano

Las aguas residuales sometidas a tratamientos secundarios pueden ser vertidas normalmente a ríos y cauces de agua superficiales. Sin embargo, ese agua no es **potable** (apta para el consumo humano). La producción de agua potable requiere un tratamiento posterior que elimine los patógenos potenciales, olores y sabores desagradables, reduzca los elementos químicos molestos como el hierro y el manganeso, y disminuya la **turbidez**, que es una medida de los sólidos en suspensión. Los **sólidos en suspensión** son pequeñas partículas de contaminantes sólidos que no se separan por métodos físicos ordinarios.

Las infecciones gastrointestinales producidas por patógenos que se transmiten por el agua aún son muy comunes, incluso en países desarrollados (↻ Sección 31.1), y algunas estimaciones indican que las enfermedades transmitidas por el agua, solo en los Estados Unidos, afectan a la salud de varios millones de personas anualmente. No obstante, la práctica del tratamiento del agua, desde los proyectos de obras públicas a la aplicación y desarrollo de la microbiología del agua a principios del siglo veinte, ha mejorado significativamente el acceso al agua potable.

Hace cien años, la potabilización del agua en Estados Unidos se limitaba a la *filtración* para reducir la turbidez, y esto se tradujo en elevadas tasas de enfermedades transmitidas por el agua. Aunque la filtración disminuye de forma significativa la carga microbiana del agua, muchos microorganismos aún son capaces de atravesar los filtros. Sin embargo, alrededor de 1913, empezó a difundirse la **cloración** con Cl_2 para la desinfección de los grandes suministros de agua. El cloro gas pasó a ser un desinfectante de uso generalizado, eficaz y barato, para el agua de consumo humano, y su utilización redujo rápidamente la incidencia de las enfermedades transmitidas por el agua (↻ Sección 28.5). Las principales mejoras en la salud pública, en los Estados Unidos, fueron debidas en su mayoría a la implantación de procedimientos de filtración y desinfección del agua. Trabajando en colaboración la ingeniería de obras públicas y la microbiología, han contribuido a los grandes avances experimentados por la salud pública en Estado Unidos y otros países desarrollados, en el siglo veinte.

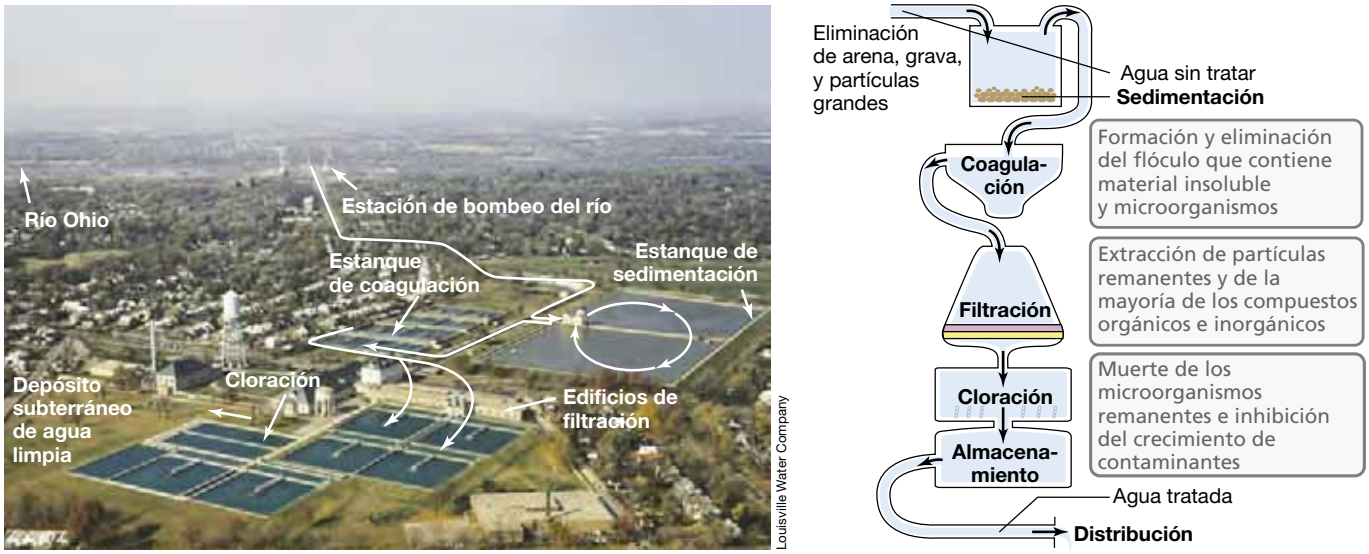
Depuración física y química

En la **Figura 21.19*a*** se muestra una instalación urbana típica para la depuración del agua potable. La Figura 21.19*b* muestra el proceso de depuración del **agua cruda** (también llamada **agua sin tratar**) que pasa a través de la planta depuradora. El agua sin tratar o cruda se bombea primero desde la fuente de origen, en este caso un río, hasta un depósito, piscina o estanque de sedimentación al que se añaden polímeros aniónicos, aluminio (sulfato de aluminio) y cloro. Se deposita entonces el **sedimento**, que incluye suelo, arena, partículas minerales y otras partículas grandes. El agua libre de sedimentos se bombea después a un **clarificador** o estanque de coagulación, que es un gran depósito de almacenamiento donde tiene lugar la **coagulación**. Los polímeros aniónicos y de aluminio forman partículas grandes a partir de los sólidos en suspensión mucho más pequeños. Después de mezclarse, las partículas siguen interaccionando y forman grandes masas agregadas, proceso que se denomina **floculación**. Las partículas grandes agregadas (flóculos) se depositan por gravedad, atrapando microorganismos y adsorbiendo la materia orgánica en suspensión, y finalmente sedimentan.

Tras la coagulación, la floculación y la sedimentación, el agua clarificada se somete a **filtración** a través de una serie de filtros diseñados para eliminar solutos orgánicos e inorgánicos, así como partículas remanentes en suspensión y microorganismos. Normalmente los filtros consisten en gruesas capas de arena, carbón activado e intercambiadores iónicos. En combinación con los pasos de depuración previos, el agua filtrada está libre de partículas, de la mayoría de los compuestos químicos orgánicos e inorgánicos y de casi todos los microorganismos.

Desinfección

El agua clarificada y filtrada, debe ser desinfectada antes de ser liberada en el sistema de distribución y abastecimiento como agua potable, apta para el consumo humano (**agua terminada**). La **desinfección primaria** consiste en la introducción de suficiente desinfectante, en el agua clarificada y filtrada, para matar los microorganismos presentes e inhibir el crecimiento microbiano posterior. La cloración es el método más común de desinfección primaria. En dosis suficiente, el cloro mata la mayoría de los microorganismos en 30 minutos. No obstante, algunos protistas patógenos, como *Cryptosporidium*, no se destruyen



(a) *(b)*

Figura 21.19 **Planta depuradora de aguas.** *(a)* Vista aérea de una planta de tratamiento de aguas en Louisville, Kentucky (EE.UU.). Las flechas indican la dirección de la circulación del agua por la planta. *(b)* Esquema de un sistema típico de depuración de aguas.

fácilmente por el tratamiento con cloro (↻ Secciones 28.7 y 32.4). Además de matar los microorganismos, el cloro oxida y neutraliza eficazmente muchos compuestos orgánicos. Puesto que la mayoría de los productos químicos productores de sabor y olor son compuestos orgánicos, la cloración mejora el sabor y el olor del agua. El cloro se añade al agua bien a partir de una solución concentrada de hipoclorito sódico o hipoclorito cálcico, o como cloro gas desde tanques a presión. El cloro gas se usa normalmente en grandes plantas de tratamiento de agua porque es más fácil de controlar automáticamente. Cuando se disuelve en el agua, el cloro gas es extremadamente volátil y se disipa del agua tratada en cuestión de horas. Para mantener los niveles adecuados de cloro en la desinfección primaria, muchas plantas de tratamiento de aguas introducen amoniaco gas con el cloro para formar **cloramina**, un compuesto más estable, no volátil, que contiene cloro: $HOCl + NH_3 \rightarrow NH_2Cl + H_2O$.

El cloro se consume cuando reacciona con materia orgánica. Por tanto, deben añadirse cantidades suficientes de cloro al agua terminada que contenga materia orgánica, para que permanezca un pequeño nivel de cloro, llamado *cloro residual*. El cloro residual reacciona y mata cualquier microorganismo restante. El operario de las instalaciones realiza análisis del cloro del agua tratada para determinar el nivel de cloro que debe añadirse en la **desinfección secundaria**, para mantener suficiente cloro residual u otro desinfectante residual en el sistema de distribución, para inhibir el crecimiento microbiano. Un nivel de cloro residual de 0,2-0,6 mg/litro es adecuado para la mayoría de los sistemas de distribución. Tras la cloración, el agua que ahora es potable, es bombeada hacia tanques de almacenamiento desde los que fluye por gravedad, o es bombeada a través de un **sistema de distribución** formada por tanques de almacenamiento y líneas de distribución hasta el consumidor. Los niveles del cloro residual inhiben el crecimiento de las bacterias en el agua terminada antes de llegar al consumidor. Pero no protege frente a fallos catastróficos del sistema, como una tubería rota en el sistema de distribución.

La radiación ultravioleta (UV) también se utiliza como medio de desinfección eficaz. Como ya se comentó en la Sección 5.18, la radiación UV se usa para tratar secundariamente el efluente tratado de las plantas de tratamiento de aguas. En Europa, se usa habitualmente la irradiación UV para aplicaciones relacionadas con el agua potable, y cada vez se usa más en los Estados Unidos. Para la desinfección, la luz UV es generada por lámparas de vapor de mercurio. La mayor energía asociada a las ondas generadas corresponde a 253,7 nm, una longitud de onda que es bactericida y también mata los cistos y los oocistos de protistas, tal como *Giardia* y *Cryptosporidium*, patógenos eucariotas importantes de las aguas (↻ Sección 32.4). No obstante, los virus son más resistentes.

La radiación UV tiene varias ventajas frente a otros procedimientos de desinfección química, como la cloración. Primero, la irradiación UV es un proceso físico que no introduce sustancias químicas en el agua. Segundo, los equipos que generan radiación UV pueden usarse en los sistemas de flujo existentes. Tercero, con la desinfección UV no se forman subproductos de la desinfección. La desinfección UV puede ser preferible para reducir la dependencia de la cloración, especialmente en los sistemas más pequeños en los que el agua *terminada* (apta para el consumo humano) no tiene que ser bombeada a largas distancias, ni almacenada durante largos períodos de tiempo (reduciéndose la necesidad del cloro residual).

MINIRREVISIÓN

- ¿Cuáles son los propósitos específicos de: sedimentación, coagulación, filtración y desinfección en los procesos de potabilización del agua?
- ¿Cuáles son los procedimientos generales que se utilizan para reducir el número de microorganismos (carga microbiana) en el suministro de agua?
- ¿Cuáles son las ventajas de la desinfección UV frente a desinfección química con cloro, o como su complemento?

21.9 Sistemas de distribución de agua municipales y privados

Una vez que el agua potable abandona la instalación de tratamiento, a menudo el agua viaja a través de muchos kilómetros de tuberías públicas e instalaciones interiores, desde las instalaciones hasta el consumidor (**Figura 21.20**). Además de los problemas del sabor y del olor, a menudo asociados con la fuente del agua, los tiempos largos de tránsito y de residencia también pueden contribuir a los sabores y olores indeseables debidos a procesos biológicos y químicos. Aunque sean desagradables el sabor y el olor por sí solos habitualmente no indican ningún peligro para la salud. Sin embargo, los sistemas de distribución también pueden estimular el crecimiento de patógenos oportunistas o estrictos, secuestrar o proteger patógenos, o seleccionar formas más patógenas y resistentes de microorganismos. Aun cuando las enfermedades transmitidas por el agua a menudo no se declaran, solo en los Estados Unidos, entre 2007-2008, 36 brotes de enfermedades asociadas al consumo de agua afectaron al menos a 4.000 personas y están relacionadas con tres muertes.

Microbiología de los sistemas públicos de distribución de agua

El crecimiento microbiano en los sistemas de distribución de agua para el consumo humano, solo puede ser suprimido mediante la eliminación completa de los nutrientes (sustratos necesarios para el crecimiento, que se originan en la fuente de procedencia del agua y a partir de los materiales estructurales de los sistemas de distribución). O bien manteniendo los niveles apropiados de cloro a lo largo de los sistemas de distribución. Pero ninguno de ellos es alcanzable. El crecimiento es inevitable, como consecuencia de la reducción de la concentración de cloro a medida que aumenta la distancia al punto de producción. Además está la tendencia de los microorganismos para formar biopelículas en las paredes de las tuberías. En las biopelículas, los microorganismos son más resistentes a la desinfección (↻ Sección 19.4), y se acumulan en todos los sistemas de distribución, en los que el 90 % están formando biopelículas recubriendo las paredes de las tuberías.

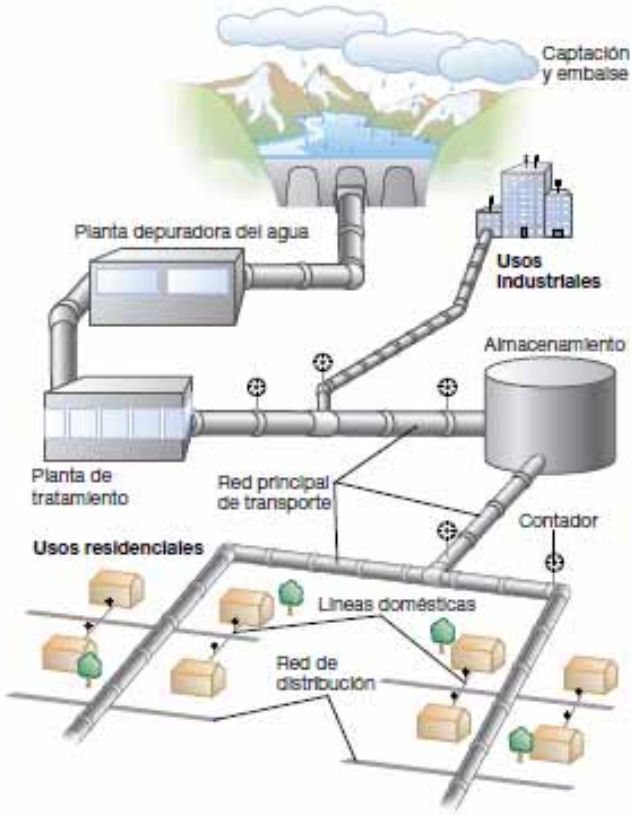


Figura 21.20 Sistema de distribución del agua potable. Un sistema público de distribución está integrado por la superficie de embalse, la planta depuradora, la red de distribución y las líneas domésticas, que en una comunidad típica suponen muchos kilómetros de tuberías.

Con la disponibilidad actual de técnicas moleculares independientes de cultivo, como el análisis de las secuencias del 16S rRNA (↻ Sección 18.5), empiezan a identificarse totalmente las especies que colonizan comúnmente las tuberías de distribución de agua. Aunque esos estudios muestran que las especies patógenas son raras, se encuentran algunos patógenos oportunistas (↻ Sección 23.6), y pueden infectar a las personas susceptibles, como niños, ancianos o personas inmunodeficientes. Los patógenos oportunistas que se han encontrado en los sistemas de distribución de agua incluyen (1) micobacterias no del grupo de la tuberculosis (como *Mycobacterium avium*, *M. intracellulare*, *M. kansasii*, y *M. fortuitum*) asociados con muchos miles de casos clínicos cada año en los Estados Unidos; (2) *Legionella pneumophila* (agente etiológico de la enfermedad de los Legionarios, ↻ Sección 31.4); (3) *Pseudomonas aeruginosa* (que puede infectar los ojos, los oídos, la piel y los pulmones); y (4) protozoos patógenos oportunistas, tal como *Naegleria y Acanthamoeba* (↻ Sección 32.3), que puede causar queratitis y encefalitis.

Dado que las infecciones causadas por estos y otros patógenos oportunistas a menudo no tienen un origen claro, y que la mayoría de las enfermedades transmitidas por el consumo de agua no se declaran, la importancia de los sistemas de distribución de agua como fuente (o reservorio) de microorganismos patógenos no es evidente. No obstante, debido al riesgo a gran escala para la salud, el tema de los patógenos en el agua para el consumo humano ha venido recibiendo muchísima atención en los últimos años, incluyendo la utilización de la ecología microbiana molecular (Capítulo 18) para investigar el problema.

Los sistemas de distribución de agua también favorecen a numerosos protistas que subsisten consumiendo bacterias. En algunos sistemas de distribución de agua se han observado hasta 300 amebas/cm^2. Las bacterias que sobreviven y se multiplican en el interior de estos protistas, tras su ingestión por los mismos, también son menos susceptibles de ser eliminados por el sistema inmunitario de los mamíferos. El mejor ejemplo de esto lo tenemos en *Legionella*, un patógeno oportunista emergente que se ha convertido en un nuevo riesgo para la salud pública, debido a su capacidad para residir y multiplicarse en los protistas que viven en los sistemas que emplean agua (**Figura 21.21**), como las tuberías de las instalaciones, el rociador de las duchas y los sistemas de aire acondicionado. Los mismos mecanismos celulares básicos que *Legionella* usa para lograr entrar y multiplicarse en una gran variedad de protistas (como *Acanthamoeba*, *Hartmannella*, *Naegleria* y *Tetrahymena*), también le permiten infectar



Figura 21.21 **Protistas y reservorios de *Legionella*.** Dos células del protista *Tetrahymena* albergan en su interior cadenas de bacilos del patógeno *Legionella pneumophila* (flechas). En las instalaciones de agua, los protistas pueden permanecer y ser reservorios de patógenos bacterianos.

las células humanas más fácilmente. Se ha sugerido que los protistas han sido la fuerza motriz de la evolución del patógeno *Legionella*. Los patógenos oportunistas que tienen la capacidad de sobrevivir y crecer en el interior de protistas son especies de *Legionella*, *Pseudomonas* y *Mycobacterium*.

Microbiología de los sistemas de distribución de agua de las instalaciones

Uno de los principales problemas microbiológicos en las instalaciones de agua es *Legionella pneumophila* (↻ Sección 31.4). Este patógeno se multiplica en las instalaciones de agua a temperaturas entre 20 y 46°C. Sobrevive durante meses en agua potable, y su supervivencia aumenta con la presencia de otras bacterias y protozoos —en los que puede crecer intracelularmente (Figura 21.21)— y también cuando forma parte de biopelículas. Temperaturas superiores a 50 °C disminuyen su número, y temperaturas superiores a 60 °C producen su rápida eliminación (muerte celular). Por consiguiente, para evitar el crecimiento de *L. pneumophila*, el agua de las instalaciones debe mantenerse por debajo de 20 °C o por encima de 50 °C desde los depósitos a los grifos.

Las micobacterias del grupo «no tuberculosos» (como *Mycobacterium avium*, *M. intracellulare*, *M. kansasii*, y *M. fortuitum*) también son más resistentes a la cloración y a los protozoos, y ahora se sabe incluso que se acumulan en los rociadores de las duchas que reciben agua en la que aún hay cloro residual. No obstante, la frecuencia cada vez mayor de ducharse en vez de bañarse, y la posible formación durante la ducha de aerosoles conteniendo patógenos oportunistas, han incentivado investigaciones adicionales en esta área. Esta situación pone de manifiesto que los cambios en los procesos de tratamiento y la arquitectura de los sistemas de distribución de agua, en combinación con el envejecimiento de algunos sistemas, puede poner en peligro la salud humana.

MINIRREVISIÓN

- Describa el tratamiento del agua en una planta de potabilización desde el punto de entrada hasta el punto de distribución (grifo).
- ¿Cuáles son las características de una instalación de agua que pueden favorecer el crecimiento de *Legionella*? ¿Cuáles impiden su crecimiento?

IV • Corrosión relacionada con los microorganismos

Todos los años se pierden muchos miles de millones de dólares por la corrosión de infraestructuras de metal, de piedra y de hormigón. La corrosión es un proceso complejo que puede verse acelerado por la actividad microbiana. Los microorganismos aceleran la corrosión alterando el pH o el potencial redox, la producción de metabolitos corrosivos, y la creación de microambientes corrosivos en las biopelículas. Sin embargo, dado que el equilibrio entre la química y la biología no está siempre bien resuelto, la corrosión en la que están implicados microorganismos se conoce como **corrosión microbiana** (**MIC**, del inglés *microbially influenced corrosion*).

En esta sección estudiaremos algunos casos en los que la contribución microbiana a la corrosión es relativamente bien conocida. Sin embargo, es probable que los modelos generales para MIC sean modificados a medida que aumente nuestro conocimiento sobre cómo los microorganismos modifican e interaccionan con los diferentes materiales estructurales.

21.10 Corrosión de metales relacionada con los microorganismos

El hierro es el metal más comúnmente utilizado en el entorno urbanizado. En todo el mundo, millones de kilómetros de tuberías de distribución de agua, gas y petróleo están hechas de metal, y su corrosión contribuye a la mayor pérdida en infraestructuras en el entorno urbanizado. Se piensa que la corrosión del hierro por el oxígeno del aire es debido únicamente a un proceso electroquímico. Sin embargo, una gran parte de las infraestructuras esenciales está enterrada o sumergida, y poco expuesta al oxígeno. A un pH próximo a la neutralidad, en ausencia de oxígeno, la corrosión del hierro y del acero se acelera significativamente por la actividad microbiana. Los grupos microbianos implicados en la corrosión microbiana incluyen reductores de sulfato (↻ Secciones 13.18 y 14.9), bacterias reductoras del ion férrico (↻ Secciones 14.14 y 20.5), bacterias oxidantes del ion ferroso (↻ Secciones 13.19, 14.15 y 20.5), y metanógenos (↻ Secciones 13.20, 16.2 y 20.2).

Corrosión de metales por bacterias reductoras del sulfato

Las estructuras sumergidas en el entorno marino y los oleoductos están sometidas especialmente a corrosión microbiana debida a la actividad de los microorganismos reductores de sulfato. La corrosión por bacterias sulfato-reductoras es parcialmente atribuible a la naturaleza químicamente corrosiva del sulfuro de hidrógeno (H_2S), que es producto de su metabolismo

(↻ Sección 14.9). Los crudos que contienen más de un 0,5 % en peso de azufre se denominan «crudos agrios» y pueden ser corrosivos de forma natural porque el H_2S está presente. En los campos petrolíferos próximos al océano, tales como los de Oriente Medio y Alaska, se inyecta agua marina para mantener la presión del reservorio y forzar a que el petróleo fluya por el pozo de extracción. Dado que el agua del mar contiene sulfato 30 mM aproximadamente, una consecuencia indeseable de dicha inyección es el agriado adicional por la estimulación del crecimiento de microorganismos sulfato-reductores.

Una estrategia aplicada actualmente por la industria petrolífera para el control del agriado, consiste en la inclusión de nitrato (NO_3^-) en el agua de inyección, lo que favorece el crecimiento de microorganismos reductores de nitrato. Debido a que la respiración de nitrato es energéticamente más favorable que la respiración de sulfato (↻ Secciones 13.17 y 19.2), los reductores de nitrato superan a los reductores de sulfato en la competición por los donadores orgánicos de electrones disponibles en el petróleo. El nitrato también favorece el crecimiento de los microorganismos oxidantes de sulfuro y reductores de nitrato (↻ Secciones 13.8 y 14.11), lo que revierte el agriado por eliminación del sulfuro.

Mecanismos de la corrosión de metales

Los mecanismos por los que los reductores de sulfato contribuyen directamente a la corrosión son más controvertidos, como actualmente muestran dos modelos antagonistas principales. Uno de los modelos se basa en la «teoría de la despolarización catódica», según la cual el consumo de hidrógeno por el reductor de sulfato acelera la corrosión electroquímica por picaduras de la superficie del hierro (**Figura 21.22*a***). Este modelo se basa en la capacidad de muchos reductores de sulfato de usar el hidrógeno (H_2) como donador de electrones, acelerando la producción de H_2; esta reacción es energéticamente favorable pero cinéticamente lenta, y se origina en la oxidación química del hierro ($Fe + 2\ H^- \rightarrow Fe^{2+} + H_2$), con la estequiometría general siguiente, cuya variación de la energía libre ($\Delta G^{0\prime}$) es muy favorable:

$$4\ Fe^0 + SO_4^{2-} + 3\ HCO_3^- + 5\ H^+ \rightarrow FeS + 3\ FeCO_3 + 4\ H_2O$$
$$(\Delta G^{0\prime} = -925\ kJ)$$

No obstante, este modelo ha sido cuestionado porque la formación de H_2 de la superficie del hierro a pH neutro es un cuello de botella intrínseco, controlado por la disponibilidad limitada de los protones que se requieren para las reacciones que generan H_2.

Desde entonces, estudios electroquímicos detallados han puesto de manifiesto que algunas bacterias sulfato-reductoras, tales como *Desulfopila corrodens*, tienen la capacidad de tomar los electrones directamente del metal (Fe^0, Figura 21.22*b*). En este modelo, los reductores de sulfato adheridos a la superficie del metal se encargan de la captura directa (catódica) de electrones del metal, a través de una capa conductora sulfurosa resultado de la corrosión (Figura 21.22*b*). Una capacidad similar para captar electrones directamente del Fe^0 ha sido observada en un metanógeno similar a *Methanobacterium*, que produce metano (CH_4) en lugar de sulfuro al crecer sobre hierro metálico. El modelo de captura directa de electrones también sugiere que asociadas a la superficie celular hay proteínas de óxido-reducción activas, u otras estructuras conductoras, que transfieren electrones desde la capa de corrosión hasta la célula. Este es uno más del número creciente de ejemplos del uso microbiano de estructuras celulares conductoras para oxidar o reducir aceptores o donadores de electrones insolubles, respectivamente (↻ Secciones 14.14 y 20.5).

MINIRREVISIÓN

- ¿Cómo impide la adición de nitrato el agriado sulfuroso del crudo de petróleo?
- ¿Por qué se piensa que la corrosión microbiana acelerada del hierro metálico requiere la interacción directa entre los reductores de sulfato y la superficie del metal?

21.11 Biodeterioro de la piedra y el hormigón

Al igual que los microorganismos contribuyen a la formación del suelo mediante la disolución de superficies minerales combinando actividades físicas y metabólicas (↻ Sección 19.6), los materiales de construcción compuestos de piedra natural u

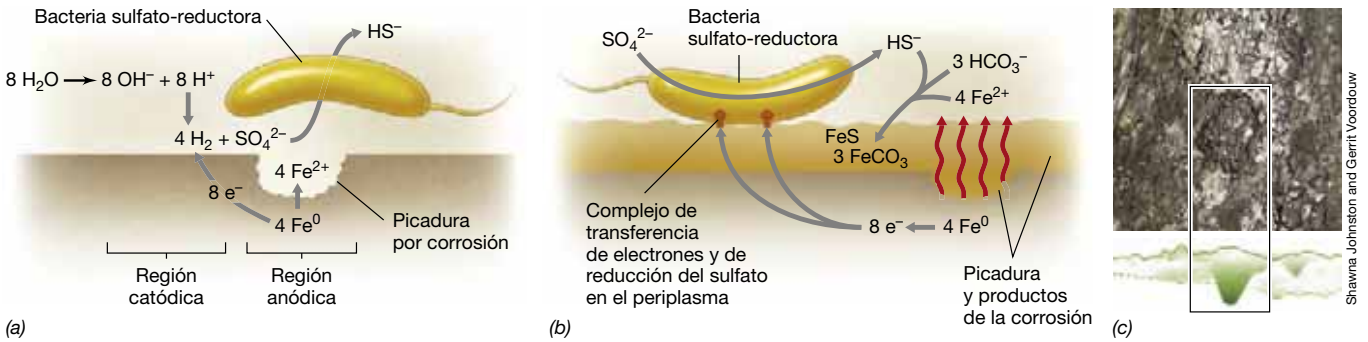


Figura 21.22 Corrosión del hierro por bacterias sulfato-reductoras. Dos modelos del mecanismo de acción de las bacterias sulfato-reductoras en la corrosión de los metales. *(a)* Oxidación acelerada del hierro metálico por consumo del H_2 producido abióticamente por reducción de los protones en la superficie del metal. *(b)* Captura directa de los electrones del metal utilizando estructuras conductoras de electrones de la pared celular externa que conectan con un sistema de transporte de electrones que atraviesa el periplasma. *(c)* Parte superior de la imagen: fotografía de una superficie de hierro sometida a corrosión sulfurosa. Parte inferior: corte lateral de la superficie metálica de la fotografía, mostrando las áreas de la superficie del metal donde ha habido corrosión y picaduras.

UNIDAD 4

hormigón, también están sujetos a la colonización microbiana, lo que puede contribuir a la pérdida paulatina de su integridad estructural como consecuencia de su actividad metabólica. Este proceso se conoce como *biodeterioro*.

Biodeterioro de materiales de construcción de piedra

La colonización microbiana de los materiales naturales y estructurales de construcción de piedra es ubicua. Los microorganismos pueden colonizar la superficie y penetran varios milímetros en el material rocoso dependiendo de sus características físicas (por ejemplo, la rugosidad superficial, la porosidad, la penetración de la luz). Los organismos también pueden crecer en la superficie y en el interior de las fachadas de los edificios construidos con caliza, arenisca, granito, basalto, y esteatita (saponita). Estas comunidades del «interior de la piedra» o *endolíticas* (↻ Sección 17.16) son filogenéticamente diversas, están compuestas de *Bacteria* quimioorganótrofas y quimiolitótrofas, *Archaea*, hongos, algas y cianobacterias. Las cianobacterias y las algas nutren fundamentalmente a la comunidad, viviendo en asociación estrecha o simbiótica con otros miembros microbianos. Por ejemplo, se han observado hongos endolíticos que rodean a fotótrofos en asociaciones parecidas a los líquenes.

Aunque en general no se incluyen bajo el epígrafe de «ambientes extremos», la vida en la superficie o en el interior de los materiales de construcción pétreos requiere la adaptación a múltiples condiciones extremas, como son la radiación solar intensa, la desecación, fluctuaciones de temperatura y humedad, y la falta de nutrientes. La protección de la radiación solar es conferida por la producción de pigmentos que absorben radiación UV (por ejemplo, melanina, micosporinas y carotenoides), por los hongos y otros miembros de la comunidad. Los hongos también desempeñan un papel central en el biodeterioro lento mediante la producción de ácido oxálico, que disuelve y moviliza los componentes minerales de la piedra. La disolución y la movilización de los minerales proporcionan nutrientes a las comunidades microbianas, y se piensa que aumentan la habitabilidad ensanchando los espacios y los poros en la piedra, lo que acelera el deterioro.

Corrosión en corona de los sistemas de distribución del agua

Una forma rápida de biodeterioro microbiano es la que se observa en la **corrosión en corona** de las tuberías de hormigón de aguas residuales, proceso que, finalmente, conduce al colapso de la tubería. La corrosión es consecuencia de una ecología compleja entre bacterias sulfato-reductoras (↻ Secciones 13.18 y 14.9) y bacterias quimiolitótrofas oxidantes del azufre (↻ Secciones 13.8 y 14.11), en estos sistemas de distribución subterráneas de aguas residuales (**Figura 21.23**).

El primer paso en la corrosión en corona es la reducción en las aguas residuales del sulfato a H_2S por las bacterias sulfato-reductoras, empleando fundamentalmente donadores orgánicos de electrones de las aguas residuales para la reducción del sulfato. Entonces el H_2S fluye en el espacio libre de la tubería donde las condiciones son aerobias. El sulfuro, o los intermediarios parcialmente oxidados, tales como el tiosulfato

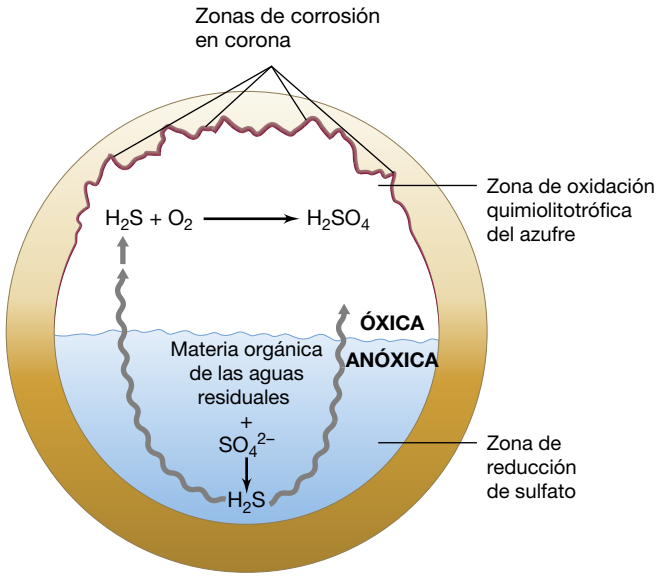


Figura 21.23 Corrosión en corona de las tuberías de hormigón de las aguas residuales. La corrosión es consecuencia del ciclo microbiano del azufre que tiene lugar en el interior de las tuberías. Las bacterias sulfato-reductoras consumen materia orgánica en las aguas residuales produciendo H_2S. Este es oxidado por bacterias quimiolitotróficas oxidantes del azufre que se adhieren a la superficie óxica superior de la tubería, lo que acelera la corrosión debido a la producción de ácido sulfúrico (H_2SO_4).

o el azufre, es oxidado por especies neutrófilas de tiobacilos tales como el *Thiobacillus thioparus* (↻ Sección 14.11). A medida que el pH baja a 4-5 con producción continua de ácido sulfúrico, especies acidófilas oxidantes del azufre, tales como *Acidithiobacillu thiooxidans*, desplazan a las especies neutrófilas. La destrucción y el fallo estructural final del hormigón se deben a la reacción del ácido sulfúrico con la cal libre en el hormigón, produciendo $CaSO_4$—$2H_2O$ (yeso) que penetra en el hormigón. Entonces el yeso reacciona con el aluminato cálcico en el hormigón, lo que lleva a la producción de $(CaO)_3 \cdot (Al_2O_3) \cdot (CaSO_4)_3 \cdot 32H_2O$ (etringita), que por incremento de la presión interna contribuye al agrietamiento y posterior aceleración del proceso de corrosión,

Una serie de procesos y una ecología microbiana similares a la de la corrosión en corona contribuyen a la corrosión de los depósitos de hormigón y de las torres de refrigeración, especialmente aquellos que están en entornos marinos. Solo en los Estados Unidos, dicha corrosión supone un coste de muchos miles de millones de dólares anuales para reemplazar las estructuras y controlar el avance de la corrosión.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cómo contribuye la producción de ácido oxálico por los hongos al deterioro de los materiales de construcción de piedra?
- Antes de que mejorara el control reglamentario de la liberación de metales en las aguas residuales domésticas, la corrosión en corona de las tuberías de aguas residuales no era un problema. ¿Por qué?

IDEAS PRINCIPALES

21.1 • La capacidad de las bacterias para oxidar aerobiamente el Fe^{2+} a pH ácido se usa para extraer metales, principalmente de menas de baja ley de cobre, uranio y oro, mediante un proceso denominado lixiviación microbiana. La oxidación bacteriana del Fe^{2+} a Fe^{3+} es la reacción clave en la mayoría de los procesos de lixiviación microbiana, porque el Fe^{3+} puede oxidar los metales extraíbles en las menas en condiciones aerobias o anaerobias.

21.2 • La oxidación microbiana espontánea del hierro ferroso en una mena de pirita o carbón que ha sido expuesta al aire y al agua, como ocurre en algunas operaciones en la minería del carbón, produce un tipo de contaminación llamado drenaje ácido de las minas.

21.3 • Aunque un contaminante inorgánico como el uranio no puede ser destruido, su contención es posible reduciendo su movilidad. Por ejemplo, en una zona contaminada con uranio, se puede hacer que los microorganismos reductores de metales reduzcan el U^{6+} a U^{4+}, para formar un mineral de uranio insoluble, la uraninita, que no pasa al agua subterránea.

21.4 • Los hidrocarburos son excelentes fuentes de carbono y donadores de electrones para las bacterias y son fácilmente oxidados cuando el O_2 está disponible. Las bacterias oxidantes de hidrocarburos biorremedian los vertidos de petróleo, y su actividad puede favorecerse mediante la adición de nutrientes inorgánicos.

21.5 • Algunos xenobióticos (compuestos químicos nuevos en la naturaleza) persisten, mientras que otros son fácilmente degradados, dependiendo de su naturaleza química. La decloración es uno de los principales métodos de detoxificación de xenobióticos que contaminan ambientes anaerobios. Con la excepción de los plásticos microbianos fácilmente degradables, los plásticos sintéticos constituyen uno de los problemas medioambientales más difíciles de afrontar.

21.6 • Los tratamientos de aguas residuales y aguas negras reducen la DBO en estas aguas. Los tratamientos primarios, secundarios y terciarios emplean procedimientos físicos, bilógicos y fisicoquímicos. Tras el tratamiento secundario o terciario, el agua efluente posee una DBO significativamente reducida y puede ser vertida en el medioambiente.

21.7 • El tratamiento avanzado de aguas residuales, como la eliminación biológica mejorada del fósforo, se usa para mejorar la calidad de las aguas residuales tratadas. Tienen especial interés los productos farmacéuticos y los componentes de los productos de higiene personal que no son degradados por los sistemas de tratamiento convencionales, ya que pueden ser nocivos para el medioambiente incluso a concentraciones muy bajas.

21.8 • Las plantas de potabilización del agua utilizan sistemas físicos y químicos a escala industrial para eliminar o neutralizar los contaminantes biológicos, inorgánicos u orgánicos, de fuentes naturales, comunitarias e industriales. Las plantas potabilizadoras emplean procesos de clarificación, filtración y cloración para producir agua apta para el consumo humano.

21.9 • Los muchos miles de kilómetros de tuberías de los sistemas municipales de distribución de agua potable y las tuberías de las instalaciones han creado nuevos hábitats microbianos. La mayoría de los microorganismos se asocian a las paredes de las tuberías como biopelículas, dando lugar a una comunidad que es más resistente al cloro y que mantienen confinadas bacterias patógenas oportunistas, tales como *Mycobacterium*, *Legionella* y *Pseudomonas*. La capacidad de algunas de estas para crecer en el interior de protistas puede incrementar su patogenicidad.

21.10 • La corrosión microbiana puede acelerar la corrosión de las estructuras metálicas expuestas al medioambiente. Las estructuras que se encuentran en el mar o las costeras son especialmente susceptibles de corrosión, como consecuencia de las actividades directa e indirecta de las bacterias sulfato-reductoras.

21.11 • La contribución microbiana a la degradación estructural de la piedra y del hormigón se denomina biodeterioro. Comunidades microbianas complejas colonizan la piedra y producen sustancias que disuelven y movilizan sus componentes minerales. La corrosión en corona de las tuberías de hormigón de aguas residuales procede de la actividad concertada de bacterias sulfato-reductoras y oxidantes del azufre que crecen en las aguas residuales y en el espacio libre de las tuberías de aguas residuales, respectivamente. El ácido sulfúrico es el principal responsable de la destrucción del hormigón.

MasteringMicrobiology®

Revise lo que sabe y descubra lo que ha aprendido con MasteringMicrobiology. Acceda a material de estudio, revisiones de los capítulos, animaciones y tutoriales de microbiología práctica en el Área de Estudio y asegúrese de que ha asimilado todo el contenido de este capítulo.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Agua cruda: agua superficial o agua subterránea que no ha sido tratada de ninguna forma (también llamada agua sin tratar).
Agua efluente: agua residual ya tratada que se descarga o libera de una planta o estación de tratamiento de aguas residuales
Agua influente: agua residual aún no tratada que entra en una instalación o estación de tratamiento de aguas residuales (EDAR).
Agua sin tratar: agua superficial o agua subterránea que no ha sido tratada de ninguna forma (también llamada agua cruda).
Agua terminada: agua vertida al sistema de distribución después del tratamiento.
Aguas residuales: líquido procedente de residuos domésticos o fuentes industriales, que no pueden ser vertidas en lagos o corrientes superficiales, sin tratamiento previo.
Biorremediación: limpieza del petróleo, compuestos químicos tóxicos y otros contaminantes mediante la utilización de microorganismos.
Clarificador: tanque en el que los sólidos suspendidos en las aguas residuales se coagulan y eliminan mediante precipitación.
Cloración: desinfección del agua con Cl_2 a una concentración suficientemente alta como para que el nivel residual se mantenga a lo largo del sistema de distribución.
Cloramina: desinfectante químico que se produce *in situ* por combinación de cloro y amoniaco en proporciones adecuadas.
Coagulación: formación de grandes partículas insolubles a partir de partículas coloidales mucho más pequeñas, mediante la adición de sulfato de aluminio y polímeros aniónicos.
Corrosión en corona: destrucción de la mitad superior, o corona, de las tuberías de hormigón de aguas residuales por el ácido sulfúrico que se produce mediante la actividad concertada de bacterias sulfato-reductoras y oxidantes de azufre.
Corrosión microbiana: actividad metabólica de los microorganismos que acelera la corrosión de las estructuras metálicas y de hormigón.
Decloración reductora: respiración anaerobia en la que un compuesto clorado es utilizado como aceptor de electrones, habitualmente con liberación de Cl^-.
Demanda bioquímica de oxígeno (DBO): la cantidad relativa de oxígeno disuelto consumida por los microorganismos para la oxidación completa de la materia orgánica e inorgánica en una muestra de agua.
Desinfección primaria: adición de suficiente cloro u otro desinfectante al agua clarificada y filtrada para matar los microorganismos existentes e inhibir el crecimiento microbiano posterior.
Desinfección secundaria: mantenimiento del suficiente cloro u otro desinfectante residual, en el sistema de distribución de agua, para inhibir el crecimiento microbiano.
Drenaje ácido de las minas: agua ácida que contiene H_2SO_4 procedente de la oxidación espontánea y microbiana de los minerales de sulfuro de hierro que se liberan en la minería del carbón.
EDAR: Estación Depuradora de Aguas Residuales.
Filtración: eliminación de las partículas en suspensión en el agua mediante su paso a través de una o más membranas permeables o medios (por ejemplo, arena, antracita o tierra de diatomeas).
Floculación: proceso de tratamiento del agua después de la coagulación que emplea agitación suave para hacer que las partículas suspendidas formen masas agregadas de mayor tamaño (flóculos).
Lixiviación microbiana: extracción de metales valiosos, como el cobre, de las menas de sulfuro, por la actividad de los microorganismos.
Plásticos microbianos: polímeros formados por compuestos producidos por los microorganismos (y por tanto biodegradables), como los polihidroxialcanoatos.
Pirita: mena común del hierro, FeS_2.
Potable: bebible, apta para el consumo humano.
Residual: líquido efluente contaminado con material fecal humano o animal.
Sedimento: suelo, arena, minerales y otras partículas grandes que se encuentran en el agua cruda (sin tratar).
Sistema de distribución: tuberías de agua, reservorios de almacenamiento, tanques y otros equipos que se utilizan en la distribución de agua potable a los consumidores o para su almacenamiento antes de su distribución.
Sólido suspendido: pequeña partícula de contaminante sólido que es difícilmente separable por métodos físicos comunes.
Tratamiento primario de aguas residuales: separación física de contaminantes de aguas residuales, generalmente por separación y sedimentación.
Tratamiento secundario aeróbico de aguas residuales: reacciones oxidativas realizadas por microorganismos en condiciones aerobias, para el tratamiento de aguas residuales con niveles bajos de materia orgánica.
Tratamiento secundario anaerobio de aguas residuales: reacciones de degradación y fermentación realizadas por microorganismos en condiciones anóxicas, para el tratamiento de aguas residuales con niveles elevados de materia orgánica insoluble.
Tratamiento terciario de aguas residuales: proceso fisicoquímico o biológico al que se someten las aguas residuales para reducir los niveles de los nutrientes inorgánicos.
Turbidez: medida de los sólidos en agua.
Xenobiótico: compuesto sintético que no es producido por los organismos en la naturaleza.

PREGUNTAS DE REPASO

1. ¿De qué manera es útil *Acidithiobacillus ferrooxidans* en la extracción de las menas de cobre? ¿Qué etapa crucial realiza *A. ferroxidans* en la oxidación indirecta de las menas de cobre? ¿Cómo se recupera el cobre de las disoluciones de cobre producidas por lixiviación? (Sección 21.1)
2. ¿Qué *Bacteria* y *Archaea* desempeñan un papel fundamental en el drenaje ácido de las minas? ¿Por qué realizan estas reacciones? ¿Por qué es necesario el aire para este proceso? (Sección 21.2)

3. ¿Por qué sería el «confinamiento» una medida apropiada contra la contaminación radiactiva? Indique algunas bacterias capaces de inmovilizar U^{6}. ¿Cómo lo harían? (Sección 21.3)
4. ¿Qué vertidos de petróleo fueron tratados por primera vez con técnicas de biorremediación? ¿Qué factores aceleran la degradación microbiana del petróleo en medios acuáticos? (Sección 21.4).
5. ¿Qué son los compuestos xenobióticos y por qué los microorganismos tienen dificultades para catabolizarlos? (Sección 21.5)
6. Describa el procesamiento de las aguas residuales en una planta de tratamiento típica, desde su entrada hasta su salida. ¿Cuál es la reducción global en la DBO para las aguas residuales domésticas? ¿Y para las aguas residuales industriales? (Sección 21.6)
7. ¿Por qué es deseable el tratamiento avanzado de las aguas residuales, desde un punto de vista medioambiental? (Sección 21.7).
8. Identifique los pasos del proceso de potabilización del agua. ¿Qué contaminantes importantes son eliminados en cada paso del proceso? (Sección 21.8)
9. Explique los hábitats microbianos que se desarrollan en los sistemas de distribución de agua potable y las tuberías de las instalaciones. ¿Cómo sobreviven los microorganismos en presencia del cloro? ¿Qué características del hábitat de un sistema de distribución podrían constituir un riesgo microbiano para la salud pública? (Sección 21.9)
10. ¿Por qué es tan importante la presencia o la ausencia de sulfato (SO_4^{2-}) en la extensión de la corrosión metálica? (Sección 21.10)
11. ¿Qué tipos de estructuras pueden ser atacadas por la corrosión en corona? ¿Por qué es importante el sulfato tanto en este caso como en la corrosión metálica? (Sección 21.11)

EJERCICIOS PRÁCTICOS

1. El drenaje ácido de las minas es en parte un proceso químico y en parte biológico. Explique las bases químicas y microbiológicas que lo producen e indique las reacciones clave de origen biológico. ¿Cómo se puede evitar el drenaje ácido de las minas?
2. ¿Por qué la reducción de la DBO es uno de los principales objetivos del tratamiento de aguas residuales? ¿Cuáles son las consecuencias de verter aguas residuales en los suministros locales de agua como lagos o arroyos?
3. Explique la ecología microbiana que contribuye a la corrosión en corona de las tuberías de hormigón de aguas residuales. Teniendo en cuenta esta ecología, ¿qué estrategias podrían ser útiles para reducir o eliminar la corrosión?

CAPÍTULO

22 · Simbiosis microbianas

microbiología **actual**

Un trío simbiótico mantiene los ecosistemas de las praderas marinas

Las praderas marinas son los hábitats fundamentales para varias especies animales que viven en las áreas costeras, incluyendo peces, corales, aves acuáticas y tortugas. Además, la vegetación marina (véase foto superior) protege la línea costera de la erosión y actúa como un importante sumidero de carbono y nutrientes. Sin embargo, el notable éxito de la vegetación marina, tanto en aguas templadas como en tropicales, es un enigma; ¿cómo evitan estas plantas ser envenenadas por el sulfuro de hidrógeno altamente tóxico producido por las bacterias reductoras de sulfatos, que son especialmente activas en los sedimentos costeros? Un estudio reciente ha resuelto el misterio.

El éxito de los ecosistemas vegetales marinos está relacionado con la actividad de una pequeña almeja (ver fotos inferiores), una de las especies de bivalvos lucínidos que viven cerca de los sistemas de raíces de la vegetación marina[1]. La almeja actúa como un sumidero de sulfuro, al que oxida empleando el oxígeno liberado por las raíces de la vegetación marina.

La capacidad de la almeja para oxidar el sulfuro es, a su vez, el resultado de su asociación simbiótica con las bacterias oxidantes de sulfuro que residen en el tejido de sus branquias. Estas bacterias quimiolitótrofas sintetizan azúcares tanto para su sostenimiento como para el de las almejas. Experimentos en los que la vegetación marina se ha cultivado tanto aisladamente como en asociación con las almejas, han confirmado el papel esencial de las almejas en la eliminación del sulfuro, favoreciendo así el crecimiento de las plantas.

Investigaciones realizadas en los lechos marinos confirman la asociación global entre las plantas marinas y los lucínidos, y los registros fósiles demuestran que esta asociación ha existido desde que las plantas marinas evolucionaron, hace unos 100 millones de años. El éxito ecológico de las plantas marinas puede atribuirse a la larga y realmente exitosa asociación entre la planta, el animal y la bacteria —un trío simbiótico. La comprensión de la importancia de esta insólita asociación es esencial para la regeneración de las praderas marinas de las áreas costeras, allí donde estos hábitats esenciales están en declive debido a la contaminación.

[1]van der Heide, T., *et al.* 2012. A three-stage symbiosis forms the foundation of seagrass ecosystems. *Science 336:* 1432-1434.



I Simbiosis entre microorganismos 724

II Las plantas como hábitats microbianos 727

III Los mamíferos como hábitats microbianos 736

IV Los insectos como hábitats microbianos 746

V Los invertebrados acuáticos como hábitats microbianos 752

En este capítulo se analizan las relaciones de los microorganismos con otros microorganismos o con macroorganismos —relaciones estrechas y prolongadas del tipo llamado **simbiosis**, palabra que significa «vida juntos». Los microorganismos que viven sobre las plantas y animales, o en su interior, pueden agruparse según la forma en que afectan a sus hospedadores. Los *parásitos* son microorganismos que se benefician a expensas del hospedador, los *patógenos* causan realmente enfermedades en el hospedador, los *comensales* no afectan apreciablemente a sus hospedadores, y los *mutualistas* son beneficiosos para el hospedador. De una forma u otra, todas las simbiosis microbianas benefician al microorganismo.

Las asociaciones patógenas y parasitarias serán tratadas en el Capítulo 23 y siguientes, analizándose específicamente algunas enfermedades infecciosas. En este capítulo nos dedicaremos a los **mutualismos** —relaciones en las que ambos socios se benefician. Consideramos los microorganismos como socios evolutivos esenciales que afectan tanto a la evolución como a la fisiología de sus hospedadores. Muchas simbiosis mutualistas de microorganismos con plantas y animales se originaron hace muchos millones de años. Un mutualismo que perdura a pesar de que la evolución modifica beneficiosamente la fisiología de ambos socios. Este proceso de afección recíproca entre un microorganismo y su hospedador es llamado **coevolución** y, con el tiempo, los cambios pueden ser tan profundos que la simbiosis se convierte en estricta —o el microorganismo, o el hospedador (o ambos) no pueden sobrevivir independientemente uno del otro.

I • Simbiosis entre microorganismos

Muchas especies microbianas —tanto procariotas como eucariotas— mantienen asociaciones estrechas y beneficiosas con otras especies microbianas. La observación directa al microscopio de muestras naturales revela que muchos microorganismos no son entidades individuales, sino que se asocian con otros microorganismos sobre superficies o como agregados de células en suspensión. En la mayoría de los casos, las ventajas proporcionadas por una asociación son desconocidas. Debido a que los ecólogos microbianos reconocen que son las *comunidades* de poblaciones microbianas que interaccionan —y no los organismos individuales— las que controlan procesos esenciales para el medio ambiente, cada vez hay más estudios que tratan de descubrir las ventajas de las simbiosis microbianas estrictas. En la Parte I presentamos dos tipos de mutualismos microbianos, en los que las ventajas para ambos socios son evidentes.

22.1 Líquenes

Los **líquenes** son simbiosis microbianas fácilmente visibles en forma de costras o foliaciones, que crecen a menudo sobre rocas desnudas, troncos de árboles, tejados de casas y suelos desnudos —superficies sobre las que otros organismos no suelen crecer (**Figura 22.1**). Un liquen es una asociación mutualista entre dos microorganismos, un hongo y, o bien un alga, o una cianobacteria. El alga, o la cianobacteria, es el socio fotótrofo y produce materia orgánica, de la que se alimenta el hongo. El hongo, incapaz de llevar a cabo la fotosíntesis, proporciona un firme anclaje dentro del cual el socio fotótrofo puede crecer, protegido de la erosión del viento o la lluvia. Las células del fotótrofo están embebidas en capas definidas o aglomeraciones entre las células del hongo (**Figura 22.2**). La morfología de un liquen está determinada fundamentalmente por el hongo, y un gran número de hongos son capaces de formar líquenes. La diversidad entre los fotótrofos es mucho menor y muchas clases de líquenes diferentes pueden tener el mismo socio fotótrofo. Muchas cianobacterias asociadas en líquenes son especies fijadoras del nitrógeno, organismos como *Anabaena* o *Nostoc* (↻ Secciones 3.17 y 14.3).

El hongo se beneficia claramente de la asociación con el fotótrofo en la simbiosis del liquen, pero ¿cómo se beneficia el fotótrofo? Los *ácidos liquénicos* son compuestos orgánicos



T. D. Brock

(a)



M. T. Madigan

(b)

Figura 22.1 **Líquenes.** *(a)* Liquen creciendo sobre una rama de un árbol muerto. *(b)* Líquenes cubriendo la superficie de una gran roca.

complejos secretados por los hongos, que favorecen la disolución y la quelación de los nutrientes inorgánicos, provenientes de la roca u otra superficie, que el fotótrofo necesita. Otra función del hongo es proteger al fotótrofo de la deshidratación; la mayoría de los hábitats en los que viven los líquenes son secos, y los hongos, por lo general, toleran mejor la falta de humedad que los fotótrofos. El hongo facilita realmente la captación de agua y retiene parte de ella para el fotótrofo.

Los líquenes crecen habitualmente muy despacio. Por ejemplo, un liquen de 2 cm de diámetro que crece sobre la superficie de una roca puede tener varios años de edad. El crecimiento de los líquenes varía desde 1 mm o menos por año hasta más de 3 cm por año, dependiendo de los organismos que componen la simbiosis, de la cantidad de agua de lluvia caída y de la insolación.

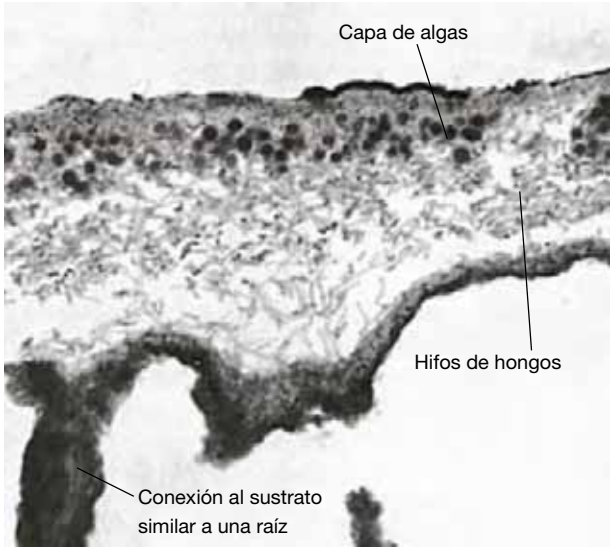


Figura 22.2 Estructura de un liquen. Fotografía al microscopio de una sección transversal de un liquen. La capa de algas está situada en el interior de la estructura del liquen, cerca de la parte superior, para recibir la mayor parte de la luz solar.

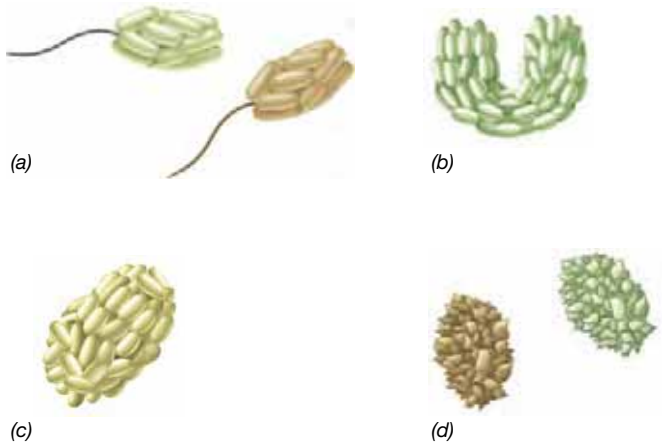


Figura 22.3 Dibujos de algunos consorcios fotótrofos móviles encontrados en lagos de agua dulce. Epibiontes verdes: *(a)* «*Chlorochromatium aggregatum*,» *(b)* «*C. glebulum*,» *(c)* «*C. magnum*,» *(d)* «*C. lunatum*.» Epibiontes marrones: *(a)* «*Pelochromatium roseum*,» *(d)* «*P. selenoides*.» Los epibiontes tienen un diámetro de 0,5-0,6 µm. Adaptados de Overmann, J., y H. van Gemerden. 2000. *FEMS Microbiol. Rev. 24*: 591-599.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cuáles son los beneficios para ambos socios en el mutualismo del liquen?
- Además de los compuestos orgánicos, ¿en qué beneficia al hongo el mutualismo con *Anabaena*?

22.2 «*Chlorochromatium aggregatum*»

En los ambientes de agua dulce hay mutualismos microbianos llamados **consorcios**. Un consorcio muy común tiene lugar entre bacterias verdes del azufre, fotótrofas e inmóviles, que pueden tener color verde o pardo (↻ Sección 14.6), y bacterias no fotótrofas y móviles. Estos consorcios se encuentran por todo el mundo, en lagos estratificados de aguas dulces y sulfurosas, y pueden suponer hasta el 90 % de las bacterias verdes del azufre y aproximadamente el 70 % de la biomasa bacteriana de estos lagos. La base del mutualismo de estos consorcios está en la producción fototrófica de materia orgánica por la bacteria verde del azufre y la movilidad del organismo asociado. A cada consorcio se le ha asignado un nombre con género y especie, pero puesto que estos nombres no designan verdaderas especies (debido a que no son organismos individuales), los nombres se escriben entrecomillados. Ya estudiamos la biología general de estos consorcios en la Sección 14.6.

Naturaleza del consorcio

La morfología de un consorcio con una bacteria verde del azufre depende de las especies que lo componen. El consorcio consiste generalmente en 13-69 bacterias verdes del azufre, llamadas *epibiontes*, que rodean y se fijan a una bacteria central con forma de bacilo, flagelada e incolora (**Figura 22.3**). Se han clasificado varios consorcios fotótrofos móviles diferentes, basándose en el color, la morfología y la presencia o ausencia de vesículas de gas (↻ Sección 2.15) de los epibiontes. Por ejemplo, en «*Chlorochromatium aggregatum*» la bacteria central está rodeada por bacterias verdes con forma de bacilo. En «*Pelochromatium roseum*», el epibionte es pardo. El consorcio «*Chlorochromatium glebulum*» tiene forma arqueada y contiene epibiontes verdes con vesículas de gas (Figura 22.3).

Las bacterias verdes del azufre son fotótrofos anaerobios estrictos que forman un filo propio (*Chlorobi*, ↻ Sección 14.6). Las especies verdes y pardas difieren en los tipos de bacterioclorofila y de carotenoides que contienen. Tanto las especies verdes como las pardas se encuentran en lagos estratificados en los que la luz penetra hasta las profundidades a las que el agua contiene sulfuro de hidrógeno (H_2S). En los lagos estratificados, los consorcios móviles se reubican rápidamente en los gradientes constantemente variables de luz, oxígeno y sulfuro, para permanecer donde las condiciones son favorables para la fotosíntesis. Las muestras de agua extraídas de las profundidades en las que estas condiciones son favorables son ricas en estos consorcios morfológicamente llamativos (**Figura 22.4**). Los consorcios tienen aversión a la oscuridad (escotofobotaxis, ↻ Sección 2.19) y quimiotaxis positiva hacia el sulfuro. Algunas bacterias verdes del azufre que se encuentran en forma libre, como *Pelodictyon phaeoclathratiforme*, tienen vesículas de gas que regulan la flotabilidad y la posición vertical en la columna de agua. Sin embargo, el tiempo que necesitan para reubicarse es de uno o varios días, que no es lo suficientemente corto para adaptarse a los gradientes, que varían más rápidamente. Por el contrario, los consorcios móviles, se mueven arriba y abajo en la columna de agua con la rapidez necesaria para adaptarse a los gradientes de luz y sulfuros, que cambian diariamente.

Aunque los consorcios de bacterias verdes fueron descubiertos hace casi un siglo, solo con la implantación de las técnicas moleculares y los métodos de cultivo más recientes ha sido posible estudiar ciertos aspectos de estas interesantes asociaciones. La secuenciación de los genes 16S RNA ribosómicos (rRNA) ha revelado una significativa biogeografía de epibiontes en lagos de Europa y Estados Unidos. La *Biogeografía* es el estudio de



J. Overmann and H. van Gemerden

Figura 22.4 Fotografía al microscopio de contraste de fase de «*Pelochromatium roseum*» del Lago Dagow (Brandenburgo, Alemania). La muestra se aplastó entre portaobjetos y cubreobjetos para mostrar la bacteria con forma de bacilo (en el centro, flecha). Un consorcio simple tiene un diámetro de aproximadamente 3,5 µm. Con permiso de J. Overmann y H. van Gemerden. 2000. *FEMS Microbiol. Rev. 24*: 591-599.

la distribución geográfica de los organismos, en este caso, de los consorcios fotótrofos diferentes genéticamente, en distintos lagos. Los epibiontes de lagos próximos presentan idénticas secuencias del gen 16S rRNA, mientras que las secuencias de epibiontes morfológicamente parecidos en lagos muy alejados, son diferentes. El análisis filogenético ha mostrado que los mecanismos de reconocimiento entre células, que permiten una morfología estable, han evolucionado entre epibiontes particulares y sus bacterias centrales.

Filogenia y metabolismo de un consorcio

El epibionte de «*Chlorochromatium aggregatum*» ha sido aislado y cultivado en cultivo puro. Aunque esta bacteria verde del azufre, llamada *Chlorobium chlorochromatii*, puede ser cultivada en cultivo puro, no se ha observado ninguna variante en forma libre en la naturaleza, lo que apoya la idea de que el estilo de vida simbiótico es imprescindible para los epibiontes. La bacteria central de «*Chlorochromatium aggregatum*» pertenece a las *Betaproteobacteria* (↻ Sección 15.2). Es interesante que esta bacteria necesite α-cetoglutarato, un compuesto intermedio del ciclo del ácido cítrico (↻ Sección 3.12), que parece ser suministrado por el epibionte. Sin embargo, la célula central solo puede asimilar el carbono fijado en presencia de luz y sulfuro —condiciones en las que los epibiontes son activos y pueden transferir nutrientes a la bacteria central.

Estudios recientes que comparan el transcriptoma y el proteoma (↻ Secciones 6.7 y 6.8) de *C. chlorochromatii,* creciendo individualmente o en asociación con el bacilo central, han permitido identificar algunas características específicamente relacionadas con la simbiosis. Unas 50 proteínas son específicas del estado simbiótico. La mayoría de los aproximadamente 350 genes regulados diferencialmente están reprimidos cuando el organismo está asociado simbióticamente, mientras que solo 19 genes están expresados en niveles considerablemente más elevados. Muchos de estos genes cuya transcripción está incrementa (regulación transcripcional positiva) codifican proteínas para la regulación del metabolismo de los aminoácidos y del nitrógeno. Entre ellos se encuentra la enzima glutamato sintasa y un transportador de tipo ABC de aminoácidos ramificados (↻ Sección 2.9), lo que sugiere que el acoplamiento metabólico entre el epibionte y el bacilo central implica el intercambio de aminoácidos. Aunque aún no se sabe si la bacteria central transfiere algún compuesto orgánico al epibionte, esta hipótesis puede ser comprobada ahora que se conoce la secuencia del genoma de la bacteria central.

La observación del consorcio con el microscopio electrónico de barrido (**Figura 22.5**) ha mostrado que extensiones tubulares del periplasma de la bacteria central (↻ Sección 2.11) cubren gran parte de su superficie y parecen fundirse con el periplasma del epibionte. Si los dos socios bacterianos comparten realmente un espacio periplásmico común, se facilitaría la transferencia de nutrientes del fotótrofo al quimiótrofo.

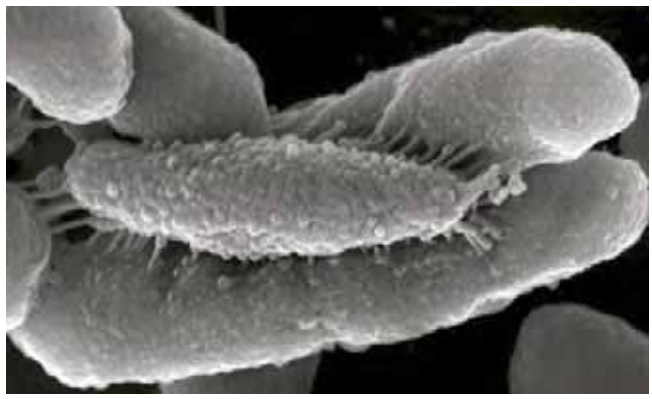
MINIRREVISIÓN

- ¿Cuál es la prueba de que el «*Chlorochromatium aggregatum*» es un producto estable de la evolución?
- ¿Qué ventaja supone la movilidad para un consorcio fotótrofo?
- ¿Cómo podrían transportarse los nutrientes entre el fotótrofo y el quimiótrofo en el consorcio?



J. Overmann, with permission from J. Bacteriol

(a)



J. Overmann, with permission from J. Bacteriol

(b)

Figura 22.5 Fotografías al microscopio electrónico de barrido de «*Chlorochromatium aggregatum*.» *(a)* Epibiontes *Chlorobium chlorochromatii* estrechamente arracimados alrededor de una bacteria central. *(b)* La bacteria central muestra numerosas protuberancias en su membrana externa, en íntimo contacto con los epibiontes, posiblemente con fusión de los periplasmas de los dos organismos gramnegativos. Las células del epibionte tienen un diámetro aproximado de 0,6 µm. Con permiso de G. Wanner *et al.* 2008. *J. Bacteriol. 190:* 3721-3730.

II • Las plantas como hábitats microbianos

Las plantas interaccionan estrechamente con los microorganismos a través de sus raíces y de las superficies hojas, e incluso más íntimamente en el interior de sus tejidos vasculares y células. La mayoría de los mutualismos entre plantas y microorganismos incrementan la disponibilidad de nutrientes para las plantas o las defienden de los patógenos. Vamos a considerar tres ejemplos en las siguientes secciones: (1) un mutualismo (nódulos de las raíces, Sección 22.3), (2) una simbiosis dañina para la planta (enfermedad de las agallas, Sección 22.4), y (3) un mutualismo en el que las plantas extienden e interconectan sus sistemas radiculares mediante la asociación con un hongo (micorrizas, Sección 22.5).

22.3 La simbiosis de los nódulos radicales de las leguminosas

Un mutualismo planta-bacteria de gran importancia para el hombre es el de las plantas leguminosas y las bacterias fijadoras de nitrógeno. Las *leguminosas* son plantas que guardan sus semillas en vainas. Esta familia, la tercera más extensa entre las plantas con flores, incluye plantas tan importantes para la agricultura como la soja, el trébol, la alfalfa, las judías y los guisantes. Estas plantas son productos esenciales para la industria agroalimentaria, y su capacidad de crecer sin fertilizantes nitrogenados supone el ahorro de millones de dólares anuales en fertilizantes y reduce los efectos contaminantes del arrastre de los fertilizantes por el agua de lluvia.

Los socios en una simbiosis se llaman *simbiontes*, y la mayoría de las bacterias fijadoras de nitrógeno simbiontes de plantas se conocen colectivamente como *rizobias*, término derivado del nombre del género principal, *Rhizobium*. Las rizobias son especies de *Alfa-* o *Betaproteobacteria* (↔ Secciones 15.1 y 15.2) (**Figura 22.6**) que pueden crecer en forma libre en el suelo o infectar las leguminosas y establecer una relación simbiótica. El mismo género (o incluso las mismas especies) pueden contener cepas rizobiales y no rizobiales. La infección de las raíces de leguminosas por rizobias causa la formación de *nódulos radicales* (**Figura 22.7**) en los que las bacterias fijan el nitrógeno gaseoso (N_2) (↔ Sección 3.17). La fijación del nitrógeno en los nódulos de las raíces supone la cuarta parte del N_2 fijado anualmente en el Planeta y tiene una importancia enorme para la agricultura, puesto que aumenta el contenido de nitrógeno fijado en el suelo. Las leguminosas noduladas pueden crecer bien en suelos desnudos no fertilizados y deficientes en nitrógeno, mientras que otras plantas se desarrollan muy pobremente en ellos (**Figura 22.8**).

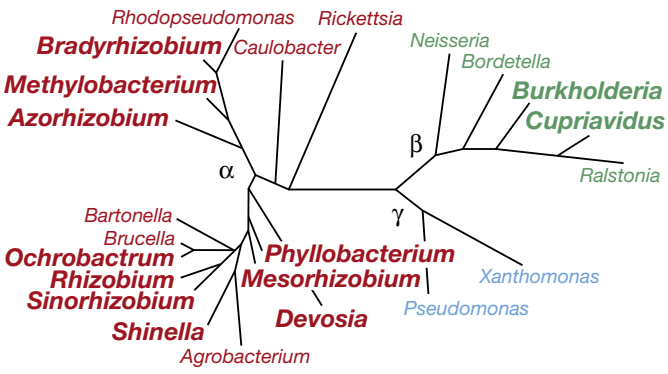


Figura 22.6 **Filogenia de las rizobias (nombres en negrita) y géneros relacionados, inferida del análisis de las secuencias del gen 16 S rRNA.** Hay rizobias pertenecientes a 12 géneros y más de 70 especies de *Alpha-* y *Betaproteobacteria*.



Joe Burton

Figura 22.7 **Nódulos radiculares de soja.** Los nódulos se desarrollaron por la infección de *Bradyrhizobium japonicum*. El tallo principal de esta planta de soja es de unos 0,5 cm de diámetro.



Ben B. Bohlool

Figura 22.8 **Efecto de la nodulación en el crecimiento de las plantas.** Plantación de soja sin nódulos (izquierda) y con nódulos (derecha), creciendo en un suelo pobre en nitrógeno. El color amarillo es típico de la clorosis, el resultado de la carencia de nitrógeno.

UNIDAD 4

Leghemoglobina y grupos de inoculación cruzados

En ausencia de su simbionte bacteriano, una leguminosa no puede fijar el N_2. Las rizobias, por otra parte, pueden fijar el N_2 cuando crecen en cultivo puro en condiciones de microaerofilia (se necesita un entorno pobre en oxígeno porque las nitrogenasas son inactivadas por niveles elevados de O_2, ↪ Sección 3.17). En los nódulos, los niveles de O_2 son controlados con precisión por la proteína **leghemoglobina**, que une el O_2. La producción de esta proteína que contiene hierro, en nódulos sanos que fijan el N_2 (**Figura 22.9**), se induce mediante la interacción de la planta y los socios bacterianos. La leghemoglobina actúa como un «tampón de oxígeno», que recircula entre las formas oxidada (Fe^{3+}) y reducida (Fe^{2+}) del hierro para mantener bajo el nivel de O_2 libre en el interior de los nódulos. La proporción entre la leghemoglobina-O_2 ligado y el O_2 libre en los nódulos de las raíces se mantiene así del orden de 10.000:1.

Existe una marcada especificidad entre las especies de leguminosas y de rizobias que pueden establecer una simbiosis. Una determinada especie de rizobia puede infectar algunas especies de leguminosas, pero no a otras. Un grupo de leguminosas relacionadas entre sí que pueden ser infectadas por una rizobia en particular es llamado un *grupo cruzado de inoculación* —hay, por ejemplo, un grupo de tréboles, un grupo de judías, un grupo de alfalfa, y otros similares (**Tabla 22.1**). Si las leguminosas son inoculadas con la cepa de rizobia adecuada, rica en leghemoglobina, los nódulos fijadores de N_2 se desarrollarán en sus raíces (Figuras 22.7-22.9).

Pasos en la formación de módulos en las raíces

Se conoce bien el proceso de formación de nódulos para la mayoría de las rizobias (**Figura 22.10**). Los pasos son los siguientes:

1. Reconocimiento mutuo de la planta y la bacteria como socios adecuados, y adhesión de la bacteria a los pelos radiculares.
2. Secreción de moléculas de oligosacáridos de señalización (factores Nod) por la bacteria.
3. Invasión bacteriana del pelo radicular.
4. Traslado de la bacteria al cuerpo de la raíz a través de los filamentos de infección.



Joe Burton

Figura 22.9 Estructura de un nódulo radicular. Secciones de nódulos radiculares de la leguminosa *Coronilla varia*, que muestran el pigmento rojizo leghemoglobina.

Tabla 22.1 Principales grupos de inoculación cruzada de las plantas leguminosas

Planta hospedadora	*Nódulos producidos por*
Guisante	*Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae*[a]
Judía	*Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli*[a]
Judía	*Rhizobium tropici*
Loto	*Mesorhizobium loti*
Trébol	*Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolii*[a]
Alfalfa	*Sinorhizobium meliloti*
Soja	*Bradyrhizobium japonicum*
Soja	*Bradyrhizobium elkanii*
Soja	*Sinorhizobium fredii*
Sesbania rostrate (leguminosa tropical)	*Azorhizobium caulinodans*

[a]Existen numerosas variedades (biovars) de *Rhizobium leguminosarum*, cada una capaz de inducir nodulación en una leguminosa diferente.

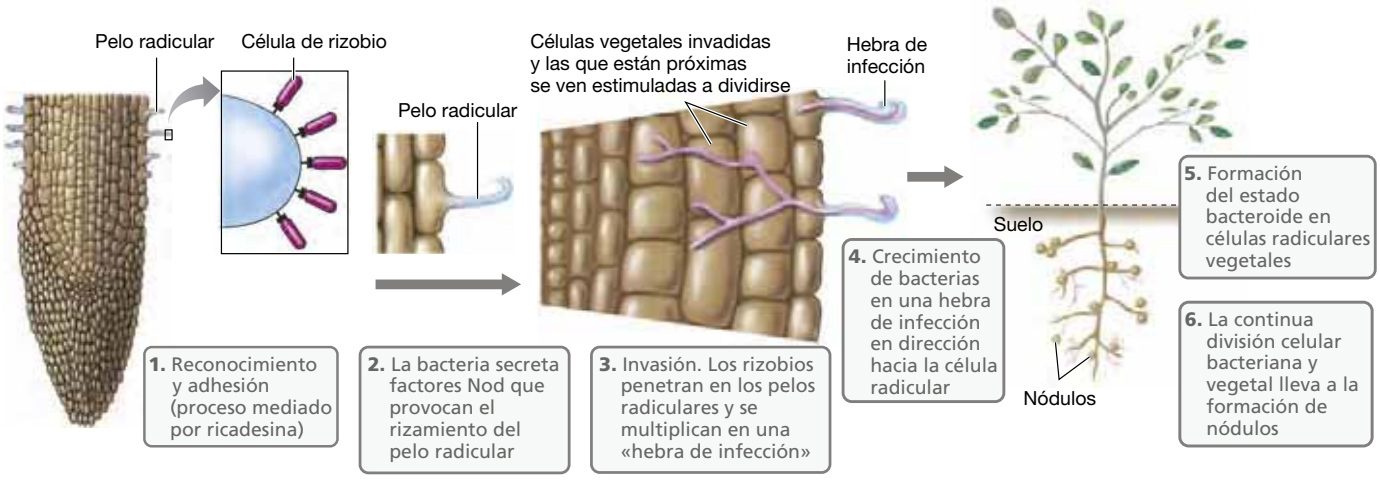


Figura 22.10 Etapas en la formación de un nódulo radicular en una leguminosa infectada por *Rhizobium*. La formación previa de los bacteroides es necesaria para la fijación del nitrógeno. Para las actividades fisiológicas en el nódulo, véase la Figura 22.15.

5. Formación de células bacterianas modificadas (bacteroides) en el interior de las células vegetales y desarrollo del estado fijador de N_2.
6. División celular continuada de la planta y las bacterias, con la formación de nódulos maduros en la raíz.

Otro mecanismo de formación de nódulos, que no necesita de factores Nod, es empleado por algunas especies de rizobias fototróficas. Este mecanismo aún no ha sido completamente esclarecido, pero parece ser que requiere de la producción bacteriana de citoquinas. Las citoquinas son hormonas vegetales, derivadas de la adenina o de la fenilurea, necesarias para el crecimiento y la diferenciación celular.

Adhesión e infección

Las raíces de las leguminosas secretan compuestos orgánicos que estimulan el crecimiento de una variada comunidad microbiana de rizobias. Si en el suelo hay rizobias del grupo cruzado de inoculación adecuado, formarán grandes poblaciones y finalmente se adherirán a los pelos radiculares que se extienden desde las raíces de la planta (Figura 22.10). En las superficies celulares de las rizobias se encuentra una proteína de adhesión llamada *ricadhesina*. También intervienen en la adhesión planta-bacteria otras substancias, como las *lectinas*, proteínas que contienen carbohidratos, y receptores específicos de las membranas citoplasmáticas de la planta.

Después de adherirse, una célula de rizobia penetra en el pelo radicular, que se riza en respuesta a las substancias secretadas por la bacteria. La bacteria induce entonces la formación, por la planta, de un tubo de celulosa llamado **filamento de infección** (**Figura 22.11*a***), que se extiende por el pelo de la raíz. A continuación, las células radiculares adyacentes a los pelos son infectadas por la rizobia, y las células vegetales se dividen. La continua división celular de la planta forma el nódulo, similar a un tumor (Figura 22.11*b-d*). Un mecanismo de infección diferente es empleado por algunas rizobias adaptadas a las leguminosas tropicales acuáticas o semiacuáticas (↻ Figura 22.16). Estas rizobias penetran en la planta por las uniones celulares débiles en los puntos en los que la raíz se ramifica (*raíces laterales*). Tras penetrar en la planta, algunas rizobias desarrollan filamentos de infección, mientras que otras no lo hacen.

Bacteroides

Las rizobias se multiplican rápidamente en el interior de las células vegetales y se transforman en unas células abultadas, deformes y ramificadas llamadas **bacteroides**. Una microcolonia de bacteroides queda rodeada por porciones de la membrana citoplasmática vegetal y forma entonces una estructura llamada el *simbiosoma* (Figura 22.11*d*), y solo tras formarse el simbiosoma comienza la fijación de N_2. Los nódulos fijadores de nitrógeno pueden detectarse experimentalmente mediante la reducción del acetileno a etileno (↻ Sección 3.17). Cuando la planta muere, el nódulo se deteriora, liberando bacteroides en el suelo. Aunque los bacteroides son incapaces de dividirse, un pequeño número de células de rizobias durmientes está siempre presente en el nódulo. Estas células pueden proliferar, empleando como nutrientes algunos de los productos del nódulo deteriorado. Las bacterias pueden entonces iniciar la infección en la siguiente estación de crecimiento, o bien mantener una existencia libre en el suelo.

Formación de nódulos: genes *nod*, proteínas Nod y factores Nod

Los genes de las rizobias que controlan los pasos de la nodulación de las leguminosas se llaman *genes nod*. Se cree que la capacidad para formar nódulos ha surgido multitud de veces de manera independiente, debido a la transferencia horizontal de estos genes, como los *nod* y *nif* que se encuentran en plásmidos o regiones transferibles del DNA cromosómico. En el *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae*, que nodula los guisantes, se han identificado diez genes *nod*. Los genes *nodABC* codifican las proteínas que producen los oligosacáridos llamados **factores Nod**; estos últimos inducen el rizado del pelo radicular e inician la división celular en la planta del guisante, lo que lleva, finalmente, a la formación del nódulo (↻ Figura 22.15 para una descripción de la bioquímica de un nódulo radicular).

Los factores Nod son lipoquitina-oligosacáridos a los que se unen diversos sustituyentes (**Figura 22.12**), que actúan como señales moleculares rizobiales primarias que activan el desarrollo de nuevos órganos en las leguminosas: nódulos radiculares que alojan bacterias como bacteroides fijadores del nitrógeno


Ben B. Bohlool

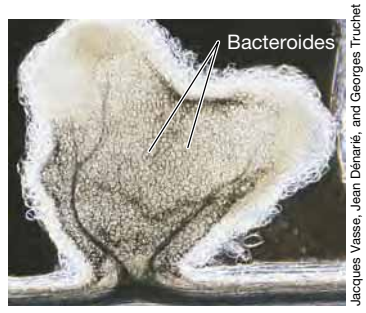
(a)


Jacques Vasse, Jean Dénarié, and Georges Truchet

(b)


Jacques Vasse, Jean Dénarié, and Georges Truchet

(c)

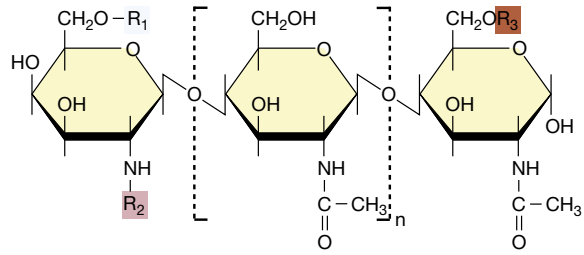


Jacques Vasse, Jean Dénarié, and Georges Truchet

(d)

Figura 22.11 El filamento de infección y la formación de nódulos radiculares. *(a)* Un filamento de infección producido por células de *Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolii* en el pelo de una raíz de trébol blanco (*Trifolium repens)*. El filamento de infección consiste en un tubo de celulosa por cuyo interior las bacterias se desplazan hacia las células de la raíz. *(b-d)* Nódulos en raíces de alfalfa infectadas con células de *Sinorhizobium meliloti* mostrados en diferentes etapas de desarrollo. Las células tanto de *R. leguminosarum* biovar *trifolii* como de *S. meliloti* son de unos 2 mm de longitud. El tiempo necesario para todo el proceso de nodulación, desde la infección hasta la formación de los nódulos, es de aproximadamente 1 mes para la alfalfa y la soja. Los bacteroides tienen unos 2 µm de longitud. Las fotos *b-d* se han reproducido con autorización, tomadas de *Nature 351:* 670-673 (1991), © Macmillan Magazines Ltd.

UNIDAD 4



(a)

Especies fúngicas AM o rizobios	R_1	R_2	R_3
Sinorhizobium meliloti (alfalfa)	Ac	C16:2 o C16:3	SO_3H
Rhizobium leguminosarum biovar *viciae* (guisante)	Ac	C18:1 o C18:4	H o Ac
Glomus intraradices (numerosos cultivos agrícolas)	H	C16 o C16:1 o C16:2 o C18 o C18:1Δ9Z	H o SO_3H

(b)

Figura 22.12 Factores Nod y Myc. *(a)* Estructura general de los factores Nod producidos por especies de rizobia (*Sinorhizobium meliloti* y *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae*) y de los factores Myc producidos por *Glomus intraradices*, un hongo micorriza arbuscular (Sección 22.5). *(b)* Tabla de las diferencias estructurales (R_1, R_2, R_3) que definen los factores de señalización precisos de cada especie. La unidad central de hexosa puede repetirse hasta tres veces para diferentes factores Nod, y repetirse dos o tres veces para diferentes factores Myc. C16:1, C16:2, y C16:3, ácido palmítico con uno, dos o tres dobles enlaces, respectivamente; C18:1, ácido oleico con un doble enlace; C18:1Δ9Z, el isómero *trans* del ácido oleico con un doble enlace en el 9° enlace C–C; C18:4, ácido oleico con cuatro enlaces dobles; Ac, acetil.

(Figura 22.13). Un área de investigación muy activa trata de aclarar los detalles de las rutas de señalización activadas por Nod que se unen a receptores de la superficie celular (NFR1 y NFR2) para inducir la organogénesis (formación de nódulos). Se ha demostrado recientemente que muchos elementos de la ruta de señalización que conduce a la nodulación son empleados también por el hongo de la micorriza para la infección de raíces vegetales (Figura 22.13 y Sección 22.5).

La estructura del factor Nod producido por una especie de rizobia concreta determina, en parte, qué plantas pueden ser infectadas por la especie de rizobia. Además de los genes *nodABC*, que son universales y cuyos productos sintetizan la estructura básica de los Nod, cada grupo cruzado de inoculación contiene genes *nod* que codifican proteínas que modifican químicamente la estructura del factor Nod para formar la molécula específica de su especie (Figura 22.12). En *R. leguminosarum* biotipo *viciae*, el *nodD* codifica la proteína reguladora NodD, que controla la transcripción de otros genes *nod*. Después de interaccionar con moléculas inductoras, NodD estimula la transcripción y es, por tanto, una proteína reguladora positiva (↔ Sección 7.4). Los inductores NodD son flavonoides de plantas, moléculas orgánicas ampliamente secretadas por las plantas. Algunos flavonoides, que están estrechamente relacionados estructuralmente con los inductores *nodD* de *R. leguminosarum* biotipo *viciae*, inhiben la expresión del gen *nod* en otras especies rizobiales (Figura 22.14). Esto indica que parte de la especificidad observada entre planta y bacteria en la simbiosis rizobia-leguminosa está basada en la química de los flavonoides secretados por cada especie de leguminosa.

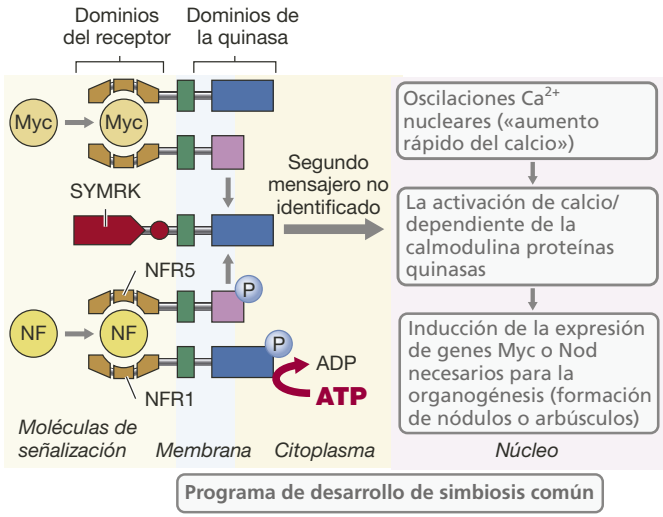
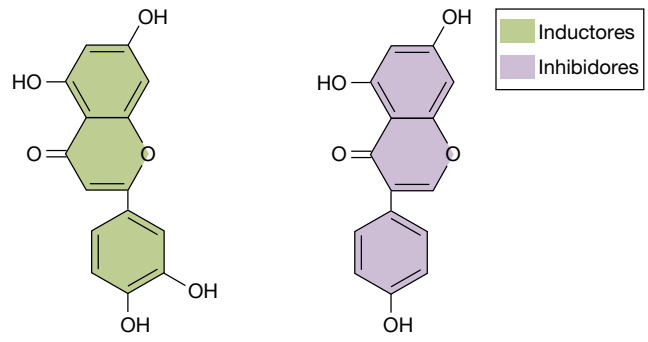


Figura 22.13 Rutas de señalización Nod y Myc en nódulos radiculares y formación arbuscular. El factor de señalización Nod (NF) incluye al menos tres receptores de membrana (NFR1, NFR5 y SYMRK) que inician conjuntamente el desarrollo de la nodulación mediante la fosforilación de proteínas. NFR1 y SYMRK tienen dominios activos quinasa (en azul), mientras que la quinasa NFR5 es inactiva. La unión directa de NF a un complejo de NFR1 y NFR5 en la membrana citoplasmática de la célula vegetal inicia una transducción de señales mediante la activación de la quinasa NFR1. La auto- o la trans-fosforilación resultante del dominio citoplasmático NFR desencadena los eventos que conducen a la formación del filamento de infección. La transducción de la señal hasta el SYMRK por el complejo NFR1-NFR5-factor Nod (o por un receptor no identificado por el factor Myc) forma parte de un programa de simbiosis conservado, en el que la inducción de la señalización del calcio en el nucleoplasma de la célula vegetal activa cambios en la expresión génica y producción de hormonas del crecimiento vegetal (citoquininas) requeridos para la formación de nódulos o arbúsculos. Aún no se han establecido ni la identidad del segundo mensajero ni la participación de los receptores similares a NFR en la ruta de señalización Myc. Véase la Sección 22.5 para la descripción de micorrizas.



5,7,3′,4′-Tetrahydroxyflavone (a)

5,7,4′-Trihydroxyisoflavone (b)

Figura 22.14 Flavonoides vegetales y nodulación. Estructuras de moléculas de flavonoides que son *(a)* inductores de la expresión de los genes *nod* y *(b)* inhibidores de la expresión de los genes *nod* en *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae*. Obsérvese la semejanza entre las estructuras de ambas moléculas. El nombre común de la estructura que se muestra en (a) es *luteolina*, un derivado flavonoide. La estructura en (b) se denomina *genisteína*, y es un derivado isoflavonoide.

Bioquímica de los nódulos radiculares

Como se estudió en la Sección 3.17, la fijación de N_2 precisa de la enzima *nitrogenasa*. La nitrogenasa procedente de los bacteroides presenta las mismas propiedades bioquímicas que la enzima procedente de las bacterias libres fijadoras de N_2, incluyendo la sensibilidad al O_2 y la capacidad para reducir tanto el acetileno como el N_2. Los bacteroides dependen de la planta para la donación de los electrones para la fijación de N_2. Los principales compuestos orgánicos transportados a través de la membrana del simbiosoma y al interior del propio bacteroide son intermediarios del ciclo del ácido cítrico —en particular, los ácidos orgánicos *succínico, málico* y *fumárico* (**Figura 22.15**). Estos ácidos son empleados como donadores de electrones para la producción de ATP y, tras su conversión a piruvato, como fuente final de electrones para la reducción del N_2.

El producto resultante de la fijación del N_2 es el amoniaco (NH_3), y la planta asimila la mayor parte de este NH_3 formando compuestos orgánicos nitrogenados. El citoplasma de la célula vegetal contiene altos niveles de la enzima asimiladora del NH_3 glutamina-sintasa y puede transformar glutamato y NH_3 en glutamina (↔ Sección 3.15). Esta y otros pocos compuestos orgánicos nitrogenados, transportan a través de la planta el nitrógeno fijado por las bacterias.

Rizobias que forman nódulos en los tallos

Aunque la mayoría de las leguminosas forman nódulos fijadores de N_2 en sus *raíces*, unas pocas especies de leguminosas pueden formar nódulos en sus *tallos*. Las leguminosas con nódulos en los tallos están extendidas por las regiones tropicales, donde los suelos son a menudo deficientes en nitrógeno, debido a la lixiviación y a su intensa actividad biológica. El sistema tropical más estudiado es el de la leguminosa acuática *Sesbania*, que es nodulada por la bacteria *Azorhizobium caulinodans* (**Figura 22.16**). Los nódulos en el tallo se forman habitualmente en la parte sumergida de los tallos, o inmediatamente sobre el nivel del agua. La secuencia general de los pasos de la formación de nódulos en *Sesbania* es similar a la de la formación de nódulos en las raíces: adhesión, formación de un filamento de infección y formación de bacteroides.

Algunas rizobias noduladoras de los tallos producen bacterioclorofila *a* y tienen, por tanto, la capacidad de llevar a cabo la fotosíntesis anoxigénica (↔ Sección 13.3). Las rizobias que contienen bacterioclorofila, denominadas *Bradyrhizobium* fotosintética, están muy extendidas en la naturaleza, particularmente en asociación con leguminosas tropicales. En estas especies, la energía lumínica convertida en energía química (ATP) mediante la fotosíntesis es, probablemente, al menos una de las fuentes de la energía que necesita la bacteria para llevar a cabo la fijación de N_2.

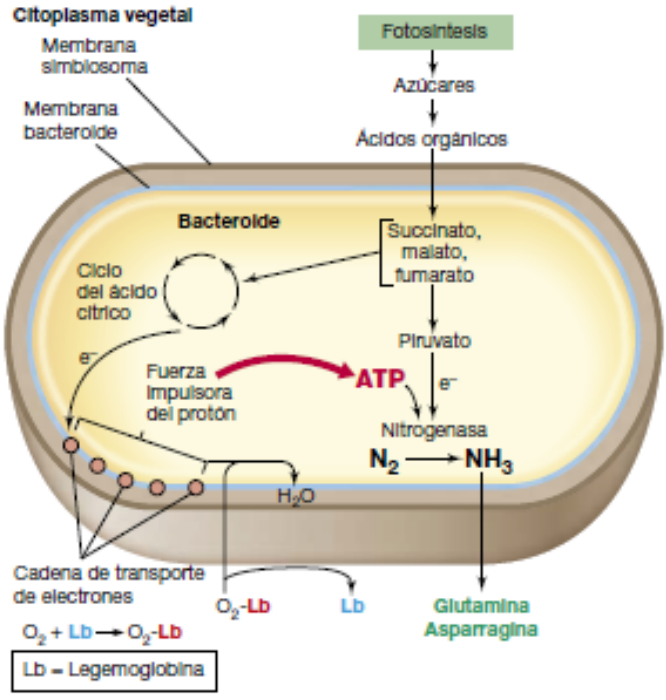


Figura 22.15 El bacteroide del nódulo radicular. Esquema de las principales reacciones metabólicas y del intercambio de nutrientes en el bacteroide. El simbiosoma consiste en un conjunto de bacteroides rodeados por una membrana de la planta.

Simbiosis para la fijación del N_2 en plantas no leguminosas: *Azolla-Anabaena* y *Alnus-Frankia*

Varias plantas no leguminosas forman simbiosis fijadoras de N_2 con bacterias distintas de las rizobias. Por ejemplo, el helecho acuático *Azolla* aloja en el interior de los pequeños poros de sus frondes una especie de heterocistos de una cianobacteria fijadora de N_2 (↔ Sección 14.3) llamada *Anabaena azollae* (**Figura 22.17**). La *Azolla* ha sido empleada durante siglos para enriquecer los arrozales con nitrógeno. Antes de plantar el arroz, los granjeros dejan que la superficie del arrozal sea densamente cubierta por *Azolla*. Al crecer el arroz, los granjeros finalmente comprimen la *Azolla* al retirarla, ocasionando su muerte y liberando su nitrógeno, que es asimilado por el arroz. El proceso se repite en cada estación de crecimiento, y así los cultivadores de arroz pueden obtener elevados rendimientos sin emplear fertilizantes nitrogenados.

Los alisos (género *Alnus*) tienen nódulos fijadores de N_2 (**Figura 22.18*a***) que albergan actinomicetos filamentosos fijadores de N_2 del género *Frankia*. Cuando se analiza en extractos

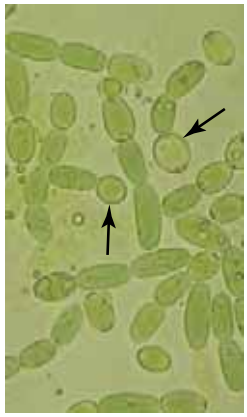


Figura 22.16 Nódulos del tallo producios por *Azorhizobium*. El lado derecho del tallo de la leguminosa tropical *Sesbania rostrate* fue inoculado con *Azorhizobium caulinodans*, mientras que el lado izquierdo no lo fue.

UNIDAD 4



(a)



(b)

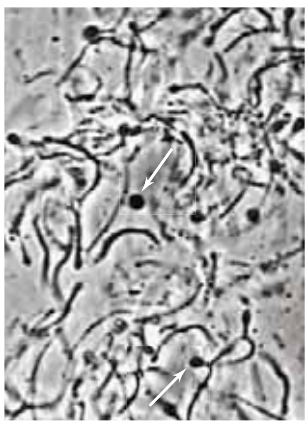
Figura 22.17 **Simbiosis *Azolla-Anabaena.*** *(a)* Asociación intacta que muestra una sola planta de *Azolla pinnata.* El diámetro de la planta es de aproximadamente 1 cm. *(b)* La cianobacteria simbionte *Anabaena azollae,* tal como se observa en hojas trituradas de *A. pinnata.* Las células individuales de *A. azollae* tienen un ancho de unos 5 µm. Las células vegetales son alargadas; los heterocistos esféricos (de color más claro, con flechas) se diferencian por la fijación del nitrógeno.

celulares, la nitrogenasa de *Frankia* es sensible al O_2, pero las células de *Frankia* fijan el N_2 a concentraciones máximas de oxígeno. Esto es debido a que *Frankia* protege su nitrogenasa del O_2 mediante la localización de la enzima en protuberancias terminales de las células denominadas *vesículas* (Figura 22.18*b*). Las vesículas tienen paredes gruesas que retardan la difusión del O_2, manteniendo así la concentración del O_2 en su interior a niveles compatibles con la actividad de la nitrogenasa. En este sentido, las vesículas de *Frankia* se parecen a los heterocistos producidos por algunas cianobacterias filamentosas como emplazamientos localizados para la fijación de N_2 (↻ Sección 14.3).

El aliso es un árbol pionero típico de la colonización de suelos pobres en nutrientes, probablemente a causa de su capacidad para establecer una relación fijadora de N_2 simbiótica con *Frankia*. Unas cuantas especies de pequeños arbustos leñosos son también nodulados por *Frankia*. Sin embargo, y a diferencia de las rizobias simbiontes de leguminosas, una única cepa de *Frankia* puede formar nódulos en varias especies de plantas diferentes, lo que sugiere que la simbiosis formadora de nódulos radiculares con *Frankia* es menos específica que la de las plantas leguminosas.



(a)



(b)

Figura 22.18 **Nódulos y células de *Frankia.*** *(a)* Nódulos radiculares del aliso común *Alnus glutinosa. (b)* Cultivo de *Frankia* purificado de nódulos de *Comptonia peregrina.* Obsérvense las vesículas (con flechas) en las puntas de los filamentos de hifas.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cómo se benefician las plantas de los nódulos de rizobias en sus raíces?
- ¿Qué son los factores Nod y cuál es su función?
- ¿Qué es un bacteroide y qué ocurre en su interior? ¿Cuál es la función de la leghemoglobina?
- ¿Cuáles son las diferencias y las semejanzas más importantes entre las rizobias y *Frankia*?

22.4 *Agrobacterium* y la agalla de corona

Algunos microorganismos desarrollan simbiosis parasitarias con las plantas. El género *Agrobacterium*, un pariente cercano de la bacteria de los nódulos de las raíces *Rhizobium* (Figura 22.6), es uno de estos organismos, y es el causante de la formación de tumores en diversas plantas. Las dos especies de *Agrobacterium* más intensamente estudiadas son *Agrobacterium tumefaciens* (también llamada *Rhizobium radiobacter*), que produce la *enfermedad de las agallas,* y *Agrobacterium rhizogenes*, causante de la *enfermedad de las raíces en cabellera.*

El plásmido Ti

Aunque las plantas heridas forman a menudo acumulaciones benignas de tejido, denominadas *callos*, el crecimiento causado por la enfermedad de las agallas (**Figura 22.19**) se distingue por ser un crecimiento incontrolado, parecido a un tumor animal. Las células de *A. tumefaciens* inducen la formación de tumores solo si contienen un plásmido de gran tamaño llamado **plásmido Ti** (Ti por t*umor i*nductor). En *A. rhizogenes*, un plásmido similar, llamado *plásmido Ri,* es necesario para inducir la enfermedad de las raíces en cabellera. Después de la infección, una parte del plásmido Ti, llamada *DNA transferido* (T-DNA), se integra en el genoma de la planta. El T-DNA porta los genes para la formación de tumores y también para la síntesis de varios aminoácidos llamados *opinas*. La *octopina* [N^2-(1,3-dicarboxiyetill)-L-arginina] y la *nopalina* [N^2-(1,3-dicarboxipropil)-L-arginina] son dos opinas comunes. Las opinas son producidas por células vegetales transformadas por el T-DNA y constituyen una fuente de carbono y nitrógeno, y a veces de fosfatos, para las células *A. tumefaciens* parasitarias. Estos nutrientes constituyen el beneficio para el simbionte bacteriano.

Reconocimiento y transferencia del T-DNA

Para iniciar el estado tumoral, las células de *A. tumefaciens* se adhieren a una herida de la planta. Después de la adhesión, las bacterias sintetizan microfibrillas de celulosa que les ayudan a anclarse a la zona herida, formándose agregados bacterianos sobre la superficie de las células de la planta. A partir de este momento comienza la etapa de transferencia del plásmido de la bacteria a la planta.



Figura 22.19 Agallas de corona. Fotografía de una agalla tumoral en corona (flecha) en una planta de tabaco producida por la bacteria *Agrobacterium tumefaciens*. La enfermedad normalmente no mata la planta, pero puede debilitarla y hacerla más susceptible a la sequía y otras enfermedades.

La estructura general del plásmido Ti se muestra en la Figura 22.20. Solo el T-DNA es realmente transferido a la planta. El T-DNA contiene genes que inducen la tumorigénesis. Los genes *vir* del plásmido Ti codifican proteínas esenciales para la transferencia del T-DNA. La transcripción de *vir* es inducida por metabolitos sintetizados por los tejidos heridos de la planta. Entre los ejemplos de inductores se incluyen los compuestos fenólicos acetosiringona y ferulato. La transmisibilidad de los genes en el plásmido Ti (Figura 22.20) permite la transferencia del plásmido por conjugación desde una célula bacteriana a otra.

Los genes *vir* son la clave de la transferencia del T-DNA. El gen *virA* codifica una proteína kinasa (VirA) que interacciona con moléculas inductoras, y entonces fosforila el producto del gen *virG* (Figura 22.21). VirG es activado por fosforilación y a su vez activa otros genes *vir*. El producto del gen *virD* (VirD)

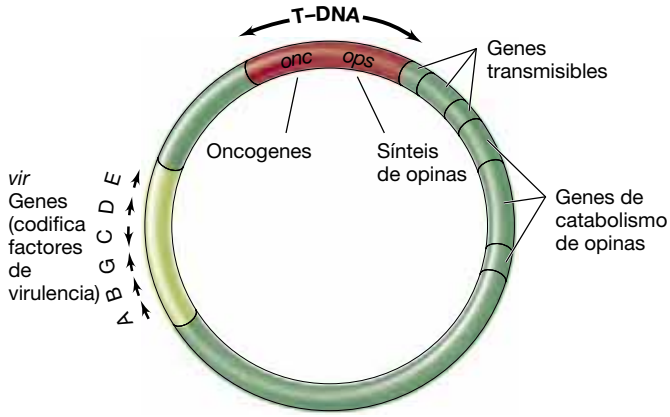


Figura 22.20 Estructura del plásmido Ti de *Agrobacterium tumefaciens*. T-DNA es la región que se transfiere a la planta. Las flechas indican la dirección de la transcripción de cada gen. El plásmido Ti completo tiene aproximadamente 200 kpb de DNA, y el T-DNA es de unos 20 quilobases.

presenta actividad endonucleasa y corta el DNA en el plásmido Ti en una región adyacente al T-DNA. El producto del gen *virE* es una proteína de unión a DNA, que une una cadena sencilla del T-DNA en la célula vegetal, para protegerla de ser destruida por nucleasas. El operón *virB* codifica 11 proteínas diferentes que forman un sistema de secreción de tipo IV (↔ Sección 4.14) para una cadena sencilla de T-DNA y transferir proteína entre la bacteria y la planta (Figura 22.21), lo que recuerda la conjugación bacteriana (↔ Sección 10.8). Estudios en laboratorio de *A. tumefaciens* han mostrado que puede transferir el T-DNA a muchos tipos de células eucarióticas, incluyendo hongos, algas, protistas e, incluso, a líneas celulares humanas.

Una vez en el interior de la célula vegetal, el T-DNA queda insertado en el genoma de la planta. Los genes oncogénicos (*onc*) del plásmido Ti (Figura 22.20) codifican enzimas para la producción de hormonas vegetales y al menos una enzima clave de la biosíntesis de opina. La expresión de estos genes conduce a la formación de tumores y a la producción de opina. El plásmido Ri responsable de la enfermedad de las raíces en cabellera también contiene genes *onc*. Sin embargo, en este caso los genes confieren a la planta una mayor capacidad de respuesta a la auxina, lo que estimula la sobreproducción de tejido radicular y los síntomas de la enfermedad. El plásmido Ri también codifica varias enzimas biosintéticas opinas.

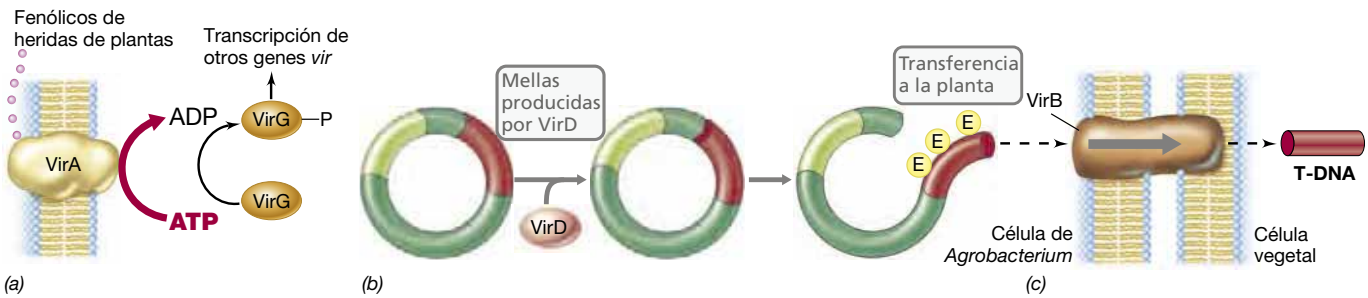


Figura 22.21 Mecanismo por el que *Agrobacterium tumefaciens* transfiere el T-DNA a la célula vegetal. *(a)* VirA activa a VirG por fosforilación y VirG activa la transcripción de otros genes *vir*. *(b)* VirD es una endonucleasa que corta el plásmido Ti, exponiendo el T-DNA. *(c)* VirB actúa como puente de conjugación entre la célula de *A. tumefaciens* y la célula vegetal, y VirE es una proteína de unión al DNA monocatenario que ayuda a transferir el T-DNA. La DNA-polimerasa de la planta produce la cadena complementaria de la molécula de T-DNA monocatenaria transferida.

UNIDAD 4

Ingeniería genética con el plásmido Ti

Desde el punto de vista de la microbiología y la patología vegetal, tanto la enfermedad de las agallas como la enfermedad de las raíces de cabellera requieren interacciones muy estrechas que llevan al intercambio genético entre la bacteria y la planta. En otras palabras, la inducción del tumor en estas enfermedades es el resultado de un sistema natural de transformación vegetal. Por tanto, en los últimos años el interés por el sistema Ti-agallas se ha reorientado de la enfermedad en sí misma hacia las aplicaciones para la biotecnología vegetal de este proceso natural de intercambio genético.

Se han desarrollado mediante ingeniería genética varios plásmidos Ti modificados que carecen de los genes patógenos, pero que aún pueden transferir DNA a las plantas. Estos plásmidos han sido empleados para la producción de plantas genéticamente modificadas (transgénicas). Muchas plantas transgénicas han sido producidas de esta forma, como plantas de maíz que incorporan genes resistentes a los herbicidas, al ataque de insectos y a la sequía. En la Sección 11.13 estudiaremos el uso del plásmido Ti como vector en la biotecnología vegetal.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué son las opinas y a quién benefician?
- ¿En qué forma los genes *vir* se diferencian del T-DNA en el plásmido Ti?
- ¿Cómo se ha beneficiado la agricultura de la comprensión de la enfermedad de las agallas?

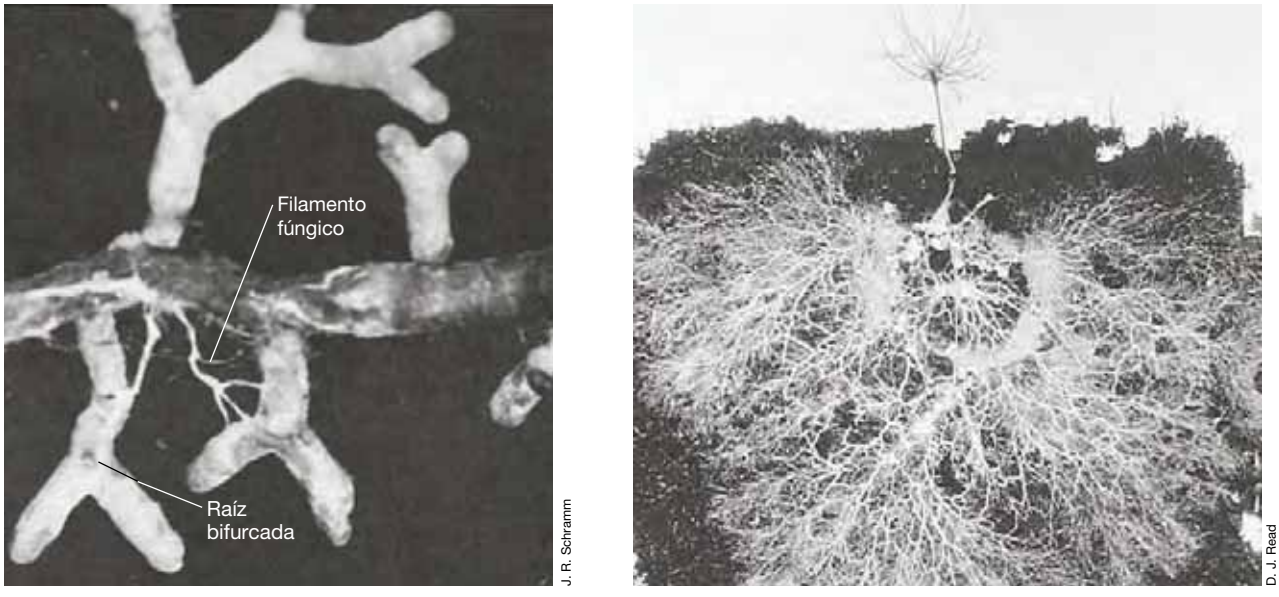
22.5 Micorrizas

Las **micorrizas** son mutualismos entre raíces vegetales y hongos en los que los nutrientes son transferidos en ambas direcciones. El hongo transfiere nutrientes —particularmente fósforo y nitrógeno— desde el suelo a la planta, y la planta a su vez transfiere carbohidratos al hongo. Estos mutualismos son aprovechados en aplicaciones para la agricultura. A partir de esporas de hongos cultivadas o de fragmentos de plantas infectadas, se producen inóculos para el suelo que favorecen el crecimiento vegetal.

Clases de micorrizas

Hay dos clases de micorrizas. En las *ectomicorrizas*, las células de los hongos forman un extensa cubierta alrededor del exterior de la raíz, que penetra solo ligeramente en el tejido mismo de la raíz (**Figura 22.22**). En las *endomicorrizas*, una parte del hongo queda profundamente embebido en el tejido radicular. Las ectomicorrizas se encuentran principalmente en las raíces de los árboles de los bosques, especialmente en coníferas, hayas y robles, y están mucho más desarrolladas en los bosques templados y boreales. En estos bosques, prácticamente todas las raíces de todos los árboles están micorrizadas. El sistema radicular de un árbol micorrizado, por ejemplo, de un pino (género *Pinus*) está compuesto de raíces cortas y raíces largas. Las raíces cortas, que están característicamente ramificadas dicotómicamente en *Pinus* (Figura 22.22*a*), muestran la típica colonización por hongos, y las raíces largas también están frecuentemente colonizadas. La mayoría de los hongos micorrizógenos no catabolizan la celulosa ni otros polímeros del humus vegetal. En cambio, catabolizan carbohidratos simples y típicamente requieren de una o más vitaminas. Obtienen el carbono de las secreciones de las raíces, y los minerales inorgánicos del suelo. Los hongos micorrizógenos raramente se encuentran en la naturaleza no asociados a las raíces, y muchos son, probablemente, necesariamente simbiontes estrictos.

A pesar de la estrecha asociación simbiótica entre hongos y raíces, una determinada especie de árbol puede formar numerosas asociaciones micorrizas. Una especie de pino puede



(a) (b)

Figura 22.22 **Micorrizas.** *(a)* Típica ectomicorriza de la raíz del pino *Pinus rigida* con filamentos del hongo *Thelephora terrestris*. *(b)* Plántula de *Pinus contorta*, que muestra un extenso desarrollo del micelio de absorción de su socio fúngico *Suillus bovinus*. Este crecimiento en forma de abanico a partir de las raíces con ectomicorrizas mejora la captación de nutrientes del suelo. La plántula tiene unos 12 cm de altura.

asociarse con más de 40 especies de hongos. Esta relativa ausencia de especificidad para el hospedador permite que los micelios de las ectomicorrizas interconecten los árboles, proporcionando uniones para transferir carbono y otros nutrientes entre árboles de la misma o de diferentes especies. Se cree que la transferencia de nutrientes desde los árboles bien iluminados que forman el dosel del bosque hacia los árboles en sombra ayuda a equilibrar la disponibilidad de recursos, lo que ayuda a los árboles jóvenes y aumenta la biodiversidad, permitiendo la coexistencia de diferentes especies.

Micorrizas arbusculares

Aunque los hongos ectomicorrizógenos desempeñan una función significativa en la ecología de los bosques, la diversidad de las endomicorrizas es aún mayor. La mayoría son *micorrizas arbusculares* (*AM*) que forman una división filogenéticamente específica de los hongos, los *Glomeromycota* (↻ Sección 17.12), de los que todas o casi todas las especies son mutualistas estrictos de plantas. Las AM colonizan el 70-90 % de todas las plantas terrestres, incluyendo la mayor parte de las hierbas y la mayoría de las especies cultivables. Se cree que la asociación entre las plantas y los *Glomeromycota* es el tipo ancestral de las micorrizas, establecida hace 400-460 millones de años, y que constituye un importante paso evolutivo en la exitosa invasión de la tierra firme por las plantas terrestres.

Ahora se sabe que los hongos AM producen factores de señalización lipoquitina-oligosacárido (**factores Myc**) relacionados muy estrechamente con los factores Nod (Sección 22.3), y que estos inician la formación del estado de micorriza (Figuras 22.12 y 22.13). La colonización de las raíces por los hongos AM comienza con la germinación de una espora en el suelo, que produce un micelio germinativo corto que reconoce a la planta hospedadora a través de una señalización química recíproca; el hongo forma entonces una estructura de contacto llamada *hifopodio* con células epidérmicas de la raíz (**Figura 22.23**). Las hifas penetrantes se extienden por el interior de la planta desde cada hifopodio, siguiendo normalmente un camino intracelular a través de las capas de células epidérmicas y de la corteza externa de la raíz, antes de formar las estructuras de hifas ramificadas dicotómicamente o arrolladas, llamadas **arbúsculos,** en el interior de las células de la corteza interna, cerca de los tejidos vasculares. Sin embargo, las hifas arbusculares permanecen separadas del protoplasma vegetal por una extensa membrana citoplasmática que forma una región llamada el *apoplasto* (**Figura 22.24**), cuya función es incrementar el área de la superficie de contacto entre la planta y el hongo. El nitrógeno inorgánico y el fósforo son extraídos del suelo por el hongo, convertidos en arginina y en polifosfatos, y luego transportados a través de la hifa hacia la planta (Figura 22.24).

Los factores Myc son muy parecidos a los factores Nod de las rizobias y se diferencian solo por modificaciones relativamente pequeñas en la estructura básica de la quitina (Figura 22.12).

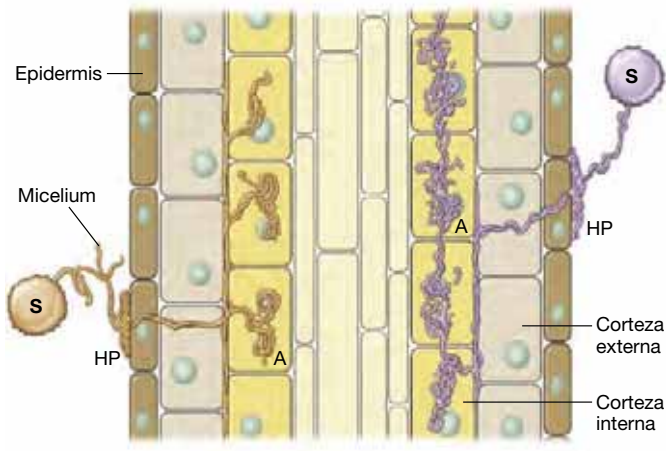


Figura 22.23 Colonización de las raíces por una micorriza arbuscular. Una espora (S) cercana a la raíz de un árbol genera un corto micelio que es atraído hacia la raíz por señalización química, para formar una estructura de contacto llamada hifopodio (HP). El micelio se introduce en la zona de la corteza interna de la raíz, penetrando a través de las células epidérmicas y de las células de la corteza externa. Los arbúsculos (invaginaciones ramificadas dicotómicamente, A) están formados por micelios que se extienden tanto intercelularmente (izquierda) como intracelularmente (derecha).

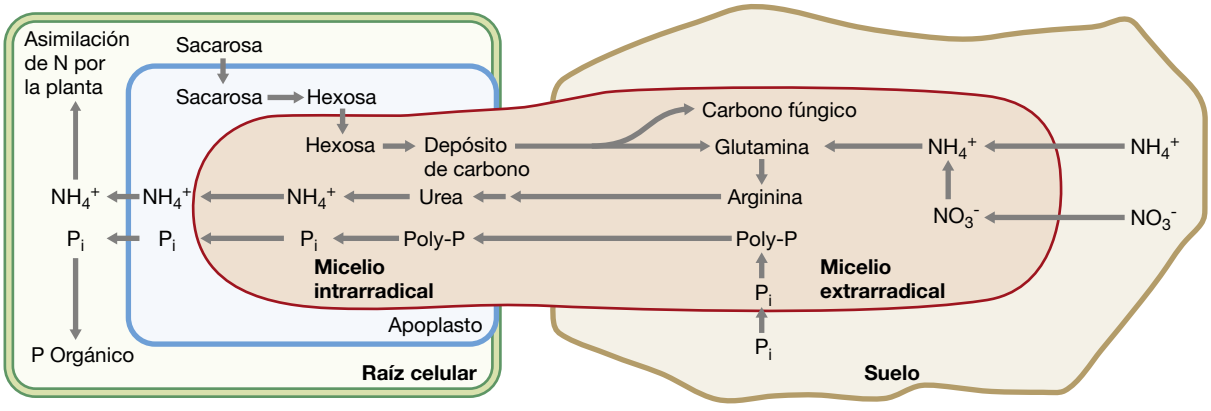


Figura 22.24 Rutas de intercambio N, P y C entre una planta y hongos AM. El nitrógeno inorgánico (NH_4^+ y NO_3^-) y el fósforo (Pi) extraídos del suelo por los micelios extra-radicales (asociados al suelo) son trasladados a la planta en forma de arginina y polifosfato (poli-P) a través de la red de micelios, y son suministrados a la planta por el micelio intra-radical (asociado a las células vegetales). El amonio y el fosfato se regeneran en el micelio intra-radical para ser transferidos a la célula vegetal. A cambio del N y P, la planta proporciona carbono orgánico al hongo.

UNIDAD 4

Actualmente se piensa que los sistemas básicos de señalización y desarrollo empleados por las leguminosas —simbiosis nodular de las raíces (Sección 22.3), que surgieron hace unos 60 millones de años, evolucionaron primero como la más antigua simbiosis planta-hongo AM. Aparentemente, el sistema fúngico AM fue captado y adaptado por la simbiosis de los nódulos radiculares de las leguminosas (Figura 22.13).

Aunque las micorrizas arbusculares son simbiosis microorganismo-planta mucho más antiguas y más ampliamente extendidas, el conocimiento de su programa de desarrollo y señalización ha sido mucho más lento, debido a que los hongos AM no pueden ser cultivados en cultivo puro. Los hongos AM son *biotrópicos* estrictos (es decir, obtienen sus nutrientes solo de células vivas de sus socios simbióticos), y no ha podido desarrollarse ningún sistema genético similar al empleado para desvelar los complejos pasos que llevan a la formación de los nódulos radiculares de las leguminosas.

Beneficios para las plantas

El efecto beneficioso de las micorrizas fúngicas en las plantas se observa más claramente en suelos pobres, donde las plantas que son micorrizadas prosperan, mientras que las que no lo han sido no lo hacen. Por ejemplo, si los árboles plantados en praderas, que habitualmente carecen de un inóculo fúngico adecuado, son inoculados artificialmente en el momento de plantarse, crecen mucho más rápidamente que los árboles no inoculados (**Figura 22.25**).

La planta micorrizada puede absorber nutrientes de su ambiente más eficientemente y tener, por tanto, una ventaja competitiva (Figura 22.24). Esta absorción de nutrientes mejorada se debe a la mayor área superficial proporcionada por el micelio fúngico. Por ejemplo, en el pino plantado en el semillero que se muestra en la Figura 22.22*b*, el micelio fúngico de la ectomicorriza constituye la inmensa mayoría de la capacidad de absorción del sistema radicular de la planta. La planta micorrizada es mucho más capaz de realizar sus funciones fisiológicas y competir con éxito en una comunidad vegetal rica en especies, y el hongo se beneficia de un aporte estable de nutrientes orgánicos.

Además de ayudar a las plantas a absorber nutrientes, las micorrizas también favorecen significativamente la diversidad vegetal. Experimentos en campo han mostrado claramente la correlación positiva que existe entre la abundancia y diversidad de las micorrizas en un suelo determinado y la diversidad vegetal que se desarrolla en él.

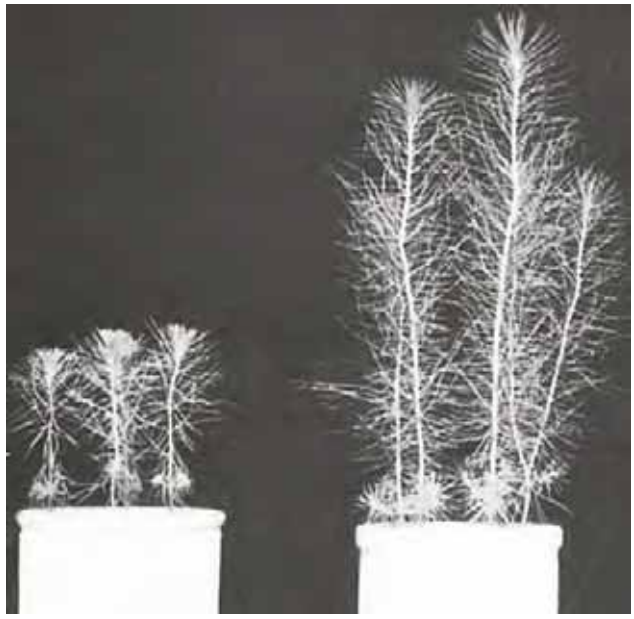

S. A. Wilde

Figura 22.25 Efecto de los hongos de las micorrizas sobre el crecimiento vegetal. Plántula de seis meses de pino de Monterrey (*Pinus radiata*) cultivadas en macetas con suelo de pradera: izquierda, sin micorrizas; derecha, con micorrizas.

Aunque la mayoría de las micorrizas son verdaderas simbiosis mutualistas, también hay micorrizas parásitas. En estas simbiosis menos frecuentes, puede ocurrir que la planta parasite al hongo o, en algunos casos, que el hongo parasite a la planta.

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué se diferencian las endomicorrizas y las ectomicorrizas?
- ¿Qué características de los hongos micorrizógenos han ayudado a las plantas a colonizar la tierra firme?
- ¿Cómo promueven las micorrizas la diversidad vegetal?

III • Los mamíferos como hábitats microbianos

La evolución de los animales ha sido moldeada en parte por una larga historia de asociaciones simbióticas con microrganismos. Para centrar y analizar en profundidad algunos detalles de estas simbiosis, vamos a considerar aquí únicamente a los mamíferos. Los microorganismos viven en todas las partes del cuerpo de los mamíferos, pero la mayor densidad y diversidad habita en su intestino, y es allí donde vamos a centrar nuestro examen. Y, finalmente, de todos los mamíferos del Planeta, vamos a limitar nuestra atención a los rumiantes y a los humanos, que son los animales mejor estudiados desde el punto de vista de su microbiota intestinal.

22.6 El intestino de los mamíferos

Algunos mamíferos son *herbívoros*, y consumen únicamente materia vegetal, mientras que otros son *carnívoros*, y comen principalmente la carne de otros animales. Los *omnívoros* comen tanto plantas como animales. Como se indica en la **Figura 22.26**, mamíferos estrechamente relacionados han desarrollado adaptaciones para dietas diferentes. Pero mamíferos de diferentes linajes han evolucionado independientemente hasta el estilo de vida herbívoro, principalmente durante el período Jurásico, una era en la historia de la Tierra de,

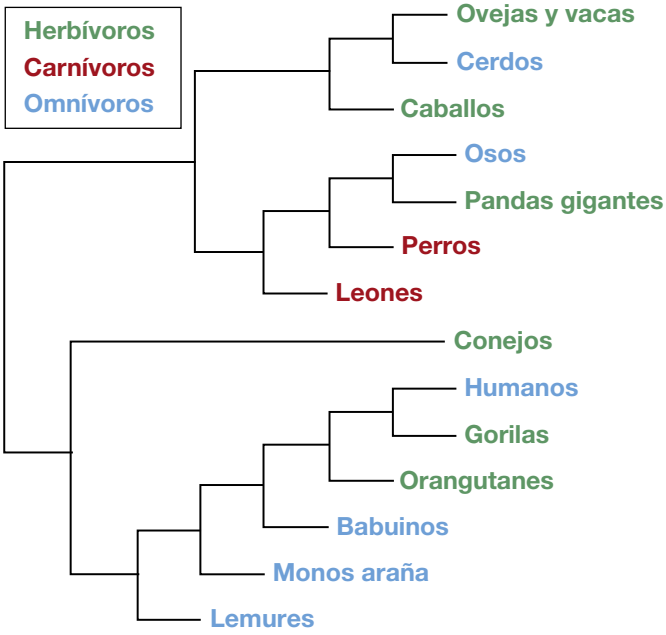


Figura 22.26 Árbol filogenético que muestra los orígenes diversos de los mamíferos herbívoros. Algunos de los herbívoros incluidos son fermentadores del intestino anterior, mientras que otros son fermentadores del intestino posterior (Figura 22.27). Algunos mamíferos carnívoros no comen carne animal, sino únicamente insectos (los insectívoros, como los murciélagos), o pescado (los piscívoros, como las nutrias de río).

aproximadamente, 60 millones de años, que comenzó hace unos 200 millones de años.

La masiva diferenciación evolutiva de los mamíferos durante el Jurásico condujo a la evolución de varias estrategias alimentarias. La mayor parte de las especies de mamíferos desarrollaron estructuras intestinales que favorecían las asociaciones mutualistas con microorganismos. Mientras que las diferencias anatómicas evolucionaban, la fermentación microbiana siguió siendo una característica importante o esencial de la digestión de los mamíferos. Los mamíferos *monogástricos*, como los humanos, tienen un único compartimento, el estómago, situado antes del intestino. Estos animales pueden conseguir una parte substancial de la energía que necesitan de la fermentación microbiana de alimentos de otra forma indigeribles, mientras que los herbívoros dependen completamente de estas fermentaciones.

Substratos vegetales

Las asociaciones microbianas con varias especies de mamíferos desarrollan la capacidad de catabolizar fibras vegetales, el componente estructural de las paredes celulares vegetales. La fibra está compuesta principalmente de polisacáridos insolubles, entre los que la celulosa es el más abundante. Los mamíferos —y por tanto casi todos los animales— carecen de las enzimas necesarias para digerir la celulosa y otros polisacáridos vegetales. Solamente los microorganismos tienen genes que codifican las glicosil-hidrolasas y las polisacaridasas necesarias para descomponer los polisacáridos.

Al ser el compuesto orgánico más abundante de la Tierra y estar compuesta exclusivamente de glucosa, la celulosa es una fuente rica en carbono y energía para los animales capaces de digerirla. Los dos rasgos principales que evolucionaron para permitir la alimentación herbívora son (1) una cámara alargada de fermentación anaeróbica para almacenar el material vegetal ingerido y (2) un dilatado tiempo de retención —el tiempo que los materiales ingeridos permanecen en el intestino. Un tiempo de retención mayor permite una asociación más prolongada de los microorganismos con la materia ingerida y, por tanto, una degradación más completa de los polímeros vegetales.

Fermentadores en el intestino interior o en el intestino posterior

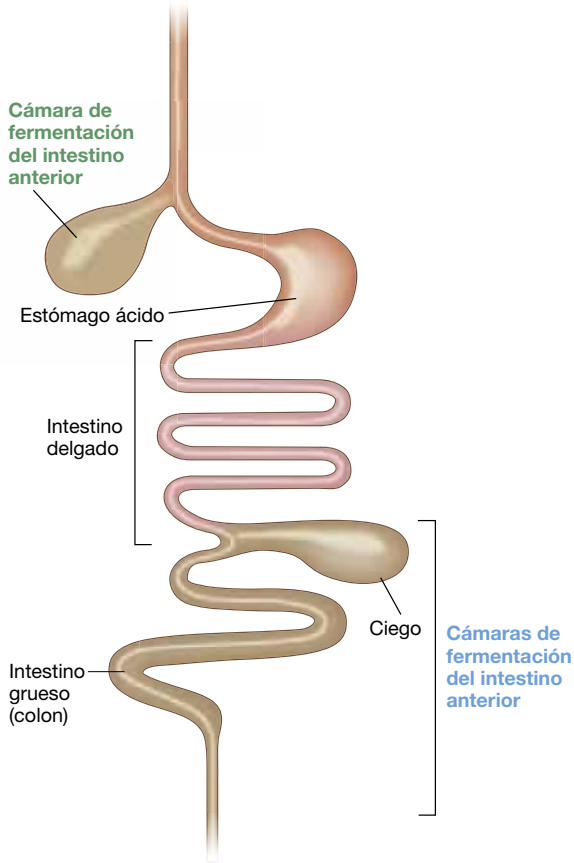
Los mamíferos herbívoros han desarrollado dos modelos digestivos. En los herbívoros con fermentación en el *intestino anterior*, la cámara de fermentación *precede* al intestino delgado. La arquitectura del intestino se originó independientemente en los rumiantes, los primates colobinos, los perezosos y los macropódidos marsupiales (Figura 22.27). Todos ellos tienen en común que los nutrientes ingeridos son degradados por la microbiota intestinal *antes* de que alcance el estómago ácido y el intestino delgado. En la próxima sección estudiaremos los procesos digestivos de los rumiantes, como ejemplo de los fermentadores en el intestino anterior.

Los caballos y los conejos son mamíferos herbívoros, pero no son fermentadores en el intestino anterior. En cambio, estos animales son fermentadores en el *intestino posterior.* Tienen un único estómago, pero emplean un órgano llamado *ciego*, un órgano digestivo situado entre el intestino grueso y el intestino delgado, como su cámara de fermentación. El ciego contiene microorganismos que digieren la fibra y la celulosa (celulolíticos). Los mamíferos, como el conejo, que dependen principalmente de la ruptura microbiana de la fibra vegetal en el ciego son llamados *fermentadores en el ciego*. En otros fermentadores en el intestino posterior, la ruptura de la fibra por microorganismos tiene lugar tanto en el ciego como el colon.

Las diferencias anatómicas entre los mamíferos monogástricos, fermentadores del intestino anterior y fermentadores del intestino posterior se resumen en la Figura 22.27. En el aspecto nutricional, los fermentadores del intestino anterior presentan una ventaja sobre los fermentadores del intestino posterior y es que la comunidad microbiana celulolítica del intestino anterior finalmente pasa a través de un estómago ácido. Mientras esto ocurre, la mayoría de las células microbianas mueren por efecto de la acidez y se convierten en una fuente de proteína para el animal. Por el contrario, en los animales como caballos y conejos, los restos de la comunidad celulolítica se expulsan en las heces, debido a su posición posterior al estómago ácido.

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué se diferencia la recuperación de nutrientes de las plantas en los animales con fermentación en el intestino anterior y en el posterior?
- ¿Cómo afecta el tiempo de retención a la digestión microbiana de la comida en un compartimento del intestino?



Ejemplos de **fermentadores del intestino anterior:** Rumiantes (foto 1), monos colombine, marsupiales macrópodos, hoatzines (foto 2)

1.



2.



Bernard Swain

Exemplos de **fermentadores del intestino posterior:** Animales con intestino ciego (fotos 3 y 4), primates, algunos roedores, algunos reptiles

3.



Nancy L. Spear

4.



Figura 22.27 **Variantes en la estructura del intestino de los vertebrados.** Todos los vertebrados tienen un intestino delgado, pero las demás estructuras intestinales presentan variantes. En la mayoría de los hospedadores, la absorción de los nutrientes de la dieta tiene lugar en el intestino delgado, mientras que la fermentación microbiana puede tener lugar en el estómago anterior, en el ciego, o en el intestino grueso (colon). La fermentación en el intestino anterior se encuentra en cuatro de los clados principales de mamíferos y en una especie de ave (el hoatzin). La fermentación en el intestino posterior, ya sea en el ciego o en el intestino grueso/colon, es común entre muchos clados de mamíferos (entre ellos, el hombre), pájaros y reptiles. Compárese con la Figura 22.26.

22.7 El rumen y los rumiantes

Un grupo realmente exitoso de fermentadores en el intestino anterior son los *rumiantes*, mamíferos herbívoros que poseen un órgano digestivo especial, el **rumen**, en cuyo interior la celulosa y otros polisacáridos vegetales son digeridos por microorganismos. Algunos de los principales animales domésticos —vacas, ovejas y cabras— son rumiantes. Los camellos, búfalos, ciervos, renos, caribús y alces son también rumiantes. Los rumiantes son los herbívoros dominantes en la Tierra. Puesto que la economía alimentaria del hombre depende en gran medida de los rumiantes, la microbiología del rumen tiene una importancia económica considerable.

Actividad y anatomía del rumen

Son características singulares del rumen como recinto para la digestión de la celulosa su relativamente gran capacidad (capaz de almacenar 100-150 litros en una vaca, 6 litros en una oveja) y su posición en el sistema gastrointestinal *antes* del estómago ácido. La temperatura cálida y constante del rumen (39 °C), el estrecho rango de pH (5,5-7, dependiendo de cuándo el animal fue alimentado por última vez), y el entorno anaerobio son también factores importantes para la actividad general del rumen.

La Figura 22.28*a* muestra la relación del rumen con otras partes del sistema digestivo del rumiante. El proceso digestivo y la microbiología del rumen han sido bien estudiados, en parte porque es posible implantar un captador de muestras, o *catéter*, en el interior del rumen de una vaca (Figura 22.28*b*) o de una oveja y tomar muestras para su análisis.

Después de que una vaca traga su comida, la comida entra en la primera cámara de un estómago de cuatro compartimentos, la redecilla. La materia vegetal parcialmente digerida fluye libremente entre el rumen y la redecilla (o retículo), a veces denominados conjuntamente como *redecilla-rumen*. La función principal de la redecilla es recoger las partículas de comida más pequeñas y llevarlas al omaso (o libro). Las partículas de comida de mayor tamaño (el llamado bolo) son regurgitadas, masticadas, mezcladas con saliva que contiene bicarbonato y devueltas al conjunto redecilla-rumen, donde son digeridas por las bacterias del rumen. Los sólidos pueden permanecer en el rumen para su digestión durante más de un día. Finalmente, las partículas pequeñas y más completamente digeridas pasan al omaso y de allí al abomaso (o cuajar), un órgano parecido a un verdadero estómago ácido. En el abomaso comienzan los procesos digestivos químicos que continúan en los intestinos delgado y grueso.

La fermentación microbiana en el rumen

La comida permanece en el rumen durante 20-50 h dependiendo del programa de alimentación y de otros factores. Durante este

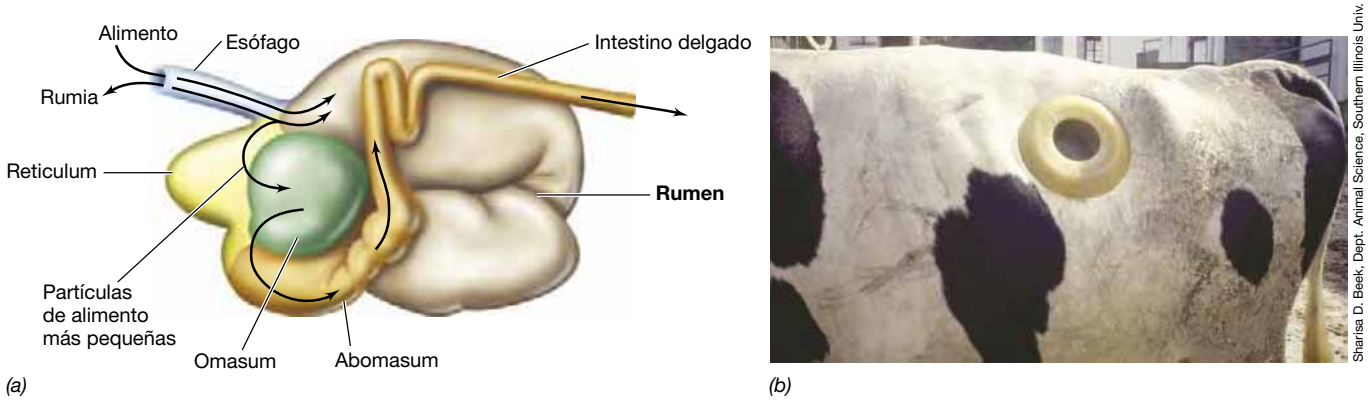


Figura 22.28 **El rumen.** *(a)* Diagrama del rumen y el aparato digestivo de una vaca. El alimento se desplaza desde el esófago hasta el conjunto retículo-rumen, compuesto por la redecilla y el rumen. El bolo alimenticio se regurgita, y se mastica hasta que las partículas de comida son lo suficientemente pequeñas para pasar, sucesivamente, de la redecilla al omaso (o libro), al abomaso (o cuajar) y, finalmente, al intestino. El abomaso es un depósito ácido, análogo al estómago de los animales monogástricos, como el cerdo o el hombre. *(b)* Foto de una vaca Holstein con una fístula. La fístula, que se muestra desconectada, es un dispositivo que permite tomar muestras directamente del rumen.

período de retención, relativamente largo, los microorganismos celulolíticos hidrolizan la celulosa, liberando glucosa. La glucosa experimenta entonces la fermentación bacteriana, con producción de ácidos grasos volátiles (**VFAs, del inglés *volatile fatty acids***), principalmente ácidos *acético, propiónico* y *butírico*, y los gases dióxido carbónico (CO_2) y metano (CH_4) (**Figura 22.29**). Los VFAs pasan a través de la pared del rumen a la corriente sanguínea y son oxidados por el animal, constituyendo su principal fuente de energía. Los productos gaseosos de la fermentación se liberan por eructación.

El rumen contiene una cantidad enorme de bacterias (10^{10}-10^{11} células/g de contenido del rumen). La mayor parte de las bacterias se adhieren firmemente a las partículas de comida. Estas partículas prosiguen a través del tracto intestinal del animal, donde experimentan procesos digestivos adicionales similares a los de los animales no rumiantes. Las células bacterianas que digieren la fibra vegetal en el rumen son, a su vez, digeridas en el abomaso ácido. Puesto que las bacterias que viven en el rumen biosintetizan aminoácidos y vitaminas, las células bacterianas digeridas son una de las principales fuentes de proteínas y vitaminas para el animal.

Las bacterias del rumen

Aunque en el rumen se encuentran algunos microbios eucariotas anaerobios, las bacterias anaerobias dominan en el rumen porque se trata de un compartimento estrictamente anóxico. La celulosa es convertida en ácidos grasos, CO_2, y CH_4, mediante una cadena alimenticia microbiana con muchos pasos, proceso en el que participan varios organismos anaerobios diferentes. Estimaciones recientes de la diversidad microbiana del rumen obtenidas a partir del análisis de las secuencias de los genes 16S rRNA sugieren que en un rumen típico hay 300-400 «especies» de bacterias (definidas como «unidades taxonómicas operativas» que comparten menos del 97 % de secuencias idénticas, ↬ Sección 12.8) (**Figura 22.30**). Esto es diez veces más que las estimaciones de diversidad basadas en cultivos. Las investigaciones moleculares muestran que las especies de *Firmicutes* y *Bacteroidetes* dominan las *Bacteria* en el rumen, mientras que los metanógenos constituyen prácticamente toda la población de arqueas (Figura 22.30).

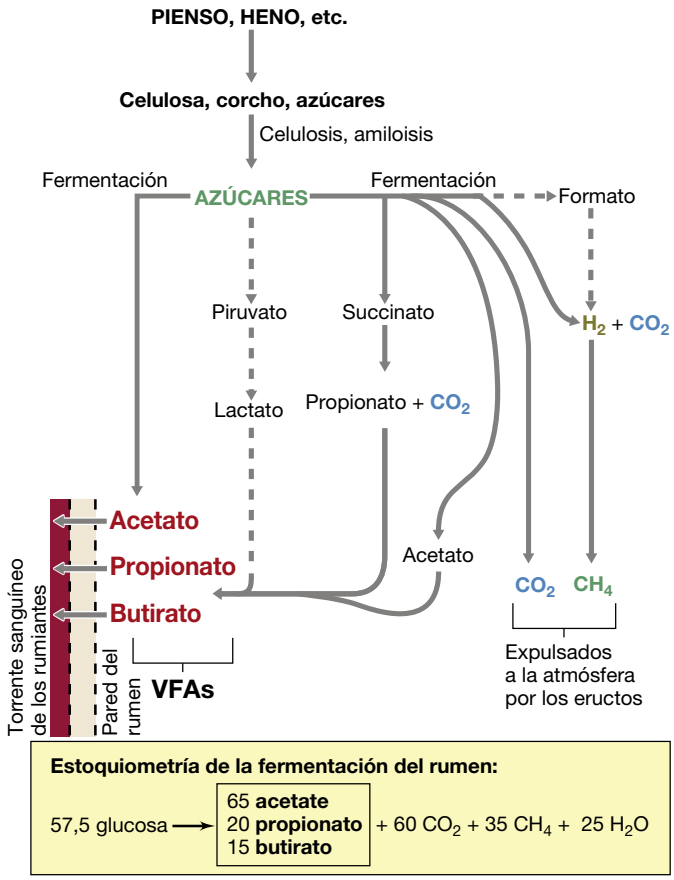


Figura 22.29 **Reacciones bioquímicas en el rumen.** Las rutas principales están indicadas mediante líneas llenas; las líneas discontinuas indican las rutas secundarias. Los niveles de ácidos grasos volátiles (VFAs) en el rumen en estado estable son, aproximadamente: acetato, 60 mM; propionato, 20 mM; butirato, 10 mM.

Varios organismos anaerobios del rumen han sido cultivados, y su fisiología caracterizada (**Tabla 22.2**). Diferentes bacterias del rumen hidrolizan la celulosa en azúcares y fermentan los azúcares en ácidos grasos volátiles. *Fibrobacter succinogenes*

UNIDAD 4

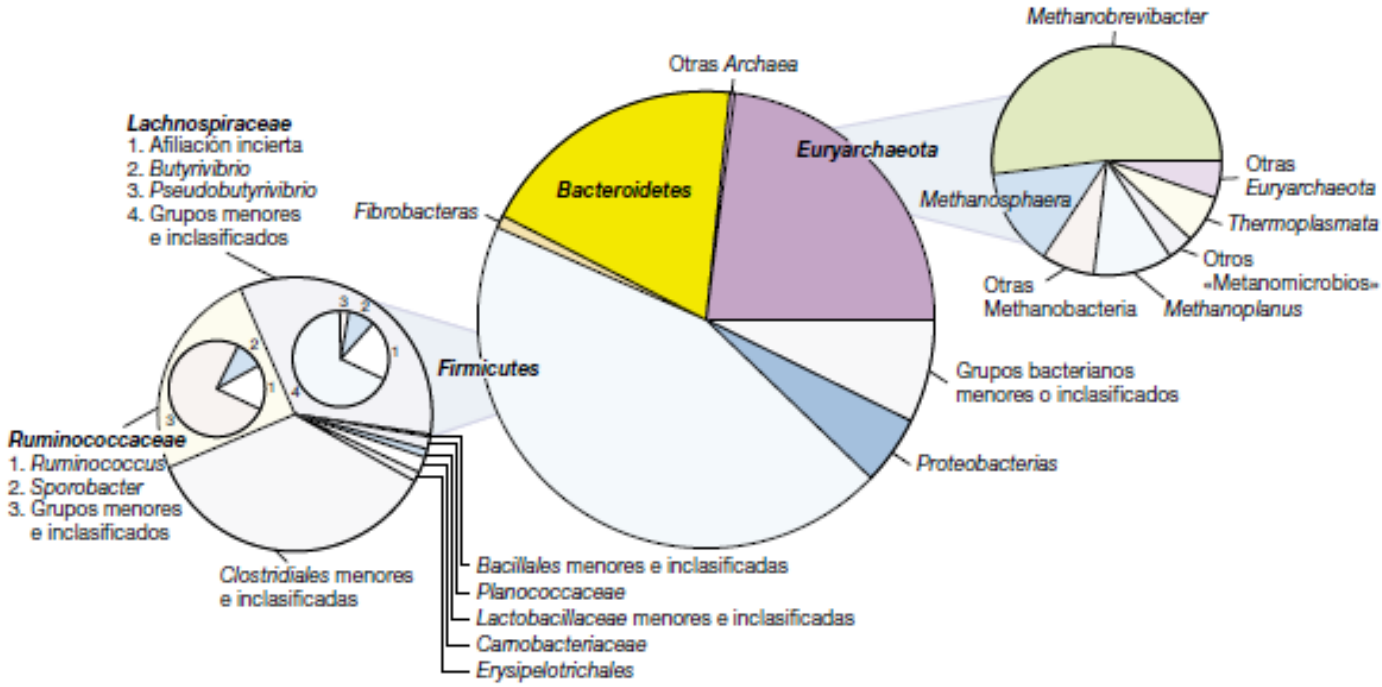


Figura 22.30 **Comunidad microbiana del rumen, inferida a partir de las secuencias del gen 16S rRNA.** Los resultados son análisis de un conjunto de 14.817 secuencias procedentes de varios estudios de rumiantes, incluyendo vacas, ovejas, cabras y ciervos. Se proporciona información relacionada, fundamentalmente, con la diversidad, no con las cuantías relativas. Los datos han sido reunidos y analizados por Nicolas Pinel.

y *Ruminococcus albus* son los dos anaerobios celulolíticos más abundantes en el rumen. Aunque ambos organismos producen celulasas, *Fibrobacter*, una bacteria gramnegativa produce enzimas localizadas en la membrana externa. *Ruminococcus*, una bacteria grampositiva, que por tanto carece de membrana externa, produce un complejo proteico que degrada la celulosa, estabilizado por proteínas de andamiaje y unido a la pared celular. Ambos organismos necesitan unirse a las partículas de celulosa para degradarlas.

Si a un rumiante se le cambia gradualmente de una dieta de celulosa a una dieta rica en almidón (de grano, por ejemplo), las bacterias que digieren el almidón *Ruminobacter amylophilus* y *Succinomonas amylolytica* crecen rápidamente hasta alcanzar grandes cantidades en el rumen. Estos organismos están escasamente presentes, cuando la dieta es baja en almidón. Si un animal es alimentado con heno de leguminosas, que es rico en pectina, un polisacárido complejo que contiene los azúcares pentosa y hexosa, entonces la bacteria *Lachnospira multipara* (Tabla 22.2), que digiere la pectina, se convierte en un miembro abundante de la comunidad microbiana del rumen. Algunos de los productos de fermentación de estas bacterias del rumen son utilizados como fuente de energía por fermentadores secundarios en el mismo rumen. Por ejemplo, el succinato es fermentado a propionato más CO_2 (Figura 22.29) por la bacteria *Schwartzia*, y el lactato es fermentado a acetato y otros ácidos grasos por *Selenomonas* y *Megasphaera* (Tabla 22.2). El hidrógeno (H_2) producido en el rumen por los procesos de fermentación no se acumula, porque es rápidamente consumido por metanógenos para la reducción del CO_2 a CH_4. La eliminación del H_2 facilita la gran actividad fermentativa, puesto que la acumulación del H_2 afecta negativamente al balance energético de las reacciones de fermentación que producen H_2 (↻ Sección 13.15).

Cambios peligrosos en la comunidad microbiana del rumen

Los cambios acusados en la composición microbiana del rumen pueden ser causa de enfermedades o incluso de la muerte del animal. Por ejemplo, si se cambia bruscamente la dieta de una vaca de forraje a grano, la bacteria grampositiva *Streptococcus bovis* se multiplica rápidamente en el rumen. El nivel habitual de *S. bovis*, aproximadamente 10^7 células/g, es una fracción insignificante de la cantidad total de bacterias en el rumen. Pero si el animal pasa a ser alimentado repentinamente con grandes cantidades de grano, la cuantía de *S. bovis* puede aumentar velozmente hasta superar las 10^{10} células/g, pasando a dominar la comunidad microbiana del rumen. Esto es debido a que las hierbas contienen principalmente celulosa, que no colabora al crecimiento de *S. bovis*, mientras que el grano contiene elevados niveles de almidón, en el que *S. bovis* crece rápidamente.

Puesto que *S. bovis* es una bacteria del ácido láctico (↻ Secciones 13.12 y 15.6), grandes poblaciones son capaces de producir grandes cantidades de ácido láctico. El ácido láctico es un ácido mucho más fuerte que los VFAs producidos por la actividad normal del rumen. La producción de lactato acidifica el rumen por debajo del límite mínimo aproximado de pH 5,5, interrumpiendo así la actividad de las bacterias comunes del rumen. La acidificación del rumen, una condición denominada *acidosis*, causa la inflamación del epitelio del rumen, y la acidosis severa puede causar hemorragias en el rumen, la acidificación de la sangre, y la muerte del animal.

A pesar de la actividad del *S. bovis*, el ganado rumiante, como el ganado vacuno, puede ser exclusivamente alimentado con una dieta de grano. Sin embargo, para evitar la acidosis, el cambio del forraje al grano debe producirse *gradualmente* a lo largo

de un período de muchos días. La introducción lenta del almidón selecciona bacterias que degradan almidón produciendo VFAs (Tabla 22.2) en lugar de *S. bovis*, y así la actividad normal del rumen prosigue y el animal continúa sano.

Tabla 22.2 Características de algunos procariotas del rumen

Organismo[a]	*Morfología*	*Productos de la fermentación*
Degradadores de celulosa *Gramnegativos*		
Fibrobacter succinogenes[b]	Bacilo	Succinato, acetato, formato
Butyrivibrio fibrisolvens[c]	Bacilo curvado	Acetato, formato, lactato, butirato, H_2, CO_2
Grampositivos		
Ruminococcus albus[c]	Coco	Acetato, formato, H_2, CO_2
«*Clostridium lochheadii*»	Bacilo (endosporas)	Acetato, formato, butirato, H_2, CO_2
Degradadores del almidón *Gramnegativos*		
Prevotella ruminicola[d]	Bacilo	Formato, acetato, succinato
Ruminobacter amylophilus	Bacilo	Formato, acetato, succinato
Selenomonas ruminantium	Bacilo curvado	Acetato, propionato, lactato
Succinomonas amylolytica	Ovalado	Acetato, propionato, succinato
Grampositivos		
Streptococcus bovis	Coco	Lactato
Degradadores de lactato *Gramnegativos*		
Selenomonas ruminantium subsp. *lactilytica*	Bacilo curvado	Acetato, succinato
Megasphaera elsdenii	Coco	Acetato, propionato, butirato, valerato, caproato, H_2, CO_2
Degradador de succinato *Gramnegativo*		
Schwartzia succinovorans	Bacilo	Propionato, CO_2
Degradador de pectina *Grampositivo*		
Lachnospira multipara	Bacilo curvado	Acetato, formato, lactato, H_2, CO_2
Metanógenos		
Methanobrevibacter ruminantium	Bacilo	CH_4 (de H_2 + CO_2 o formato)
Methanomicrobium mobile	Bacilo	CH4 (de H_2 + CO_2 o formato)

[a]Excepto los metanógenos, que son *Archaea,* todos los organismos listados son especies de Bacteria.
[b]Estas especies también degradan el xilano, el principal polisacárido de la pared celular vegetal.
[c]También degrada el almidón.
[d]También fermenta los aminoácidos, produciendo NH_3. Otras bacterias del rumen fermentan también aminoácidos, incluyendo *Peptostreptococcus anaerobius* y *Clostridium sticklandii.*

Cambios protectores en la comunidad microbiana del rumen

El crecimiento excepcional de *S. bovis* es un ejemplo de cómo una determinada especie microbiana puede causar un efecto dañino en la salud animal. También hay al menos un ejemplo bien estudiado de cómo una determinada especie bacteriana puede *mejorar* la salud de los rumiantes; en este caso, de los animales que se alimentan de la leguminosa *Leucaena leucocephala*. Esta planta tiene un elevado valor nutricional, pero contiene un compuesto parecido a los aminoácidos llamado *mimosina*, que es convertido en los tóxicos 3-hidroxi-4(1H)-piridona y 2,3-dihidroxipiridina (DHP) por los microorganismos del rumen (**Figura 22.31**). La observación de que los rumiantes en Hawai podían ser alimentados con *Leucaena* sin sufrir efectos tóxicos, pero los de Australia no, condujo a los investigadores a formular la hipótesis de que el metabolismo adicional del DHP por bacterias presentes en los rumiantes de Hawai disminuía la toxicidad del DHP. La hipótesis fue finalmente confirmada al aislarse la bacteria *Synergistes jonesii*, un anaerobio único relacionado con el grupo *Deferribacter* (↔ Sección 15.21) y que no está estrechamente relacionado con ninguna otra bacteria del rumen. La inoculación de rumiantes australianos con células de *S. jonesii* les confirió resistencia a los subproductos de la mimosina, permitiendo que los animales fueran alimentados con *Leucaena* sin efectos dañinos.

El éxito de esta modificación de la comunidad microbiana del rumen con un único organismo ha estimulado nuevos estudios, como la ingeniería genética de bacterias para mejorar su capacidad para emplear los nutrientes disponibles o eliminar la toxicidad de determinadas substancias. Un éxito notable ha sido la inoculación del rumen de las ovejas con células genéticamente modificadas de *Butyrivibrio fibrisolvens* (Tabla 22.2) que contienen un gen codificador de la enzima fluoroacetato deshalogenasa; de esta forma, se ha evitado con éxito el envenenamiento por fluoroacetato de ovejas alimentadas con plantas que contenían elevados niveles de este inhibidor del ciclo del ácido cítrico, altamente tóxico.

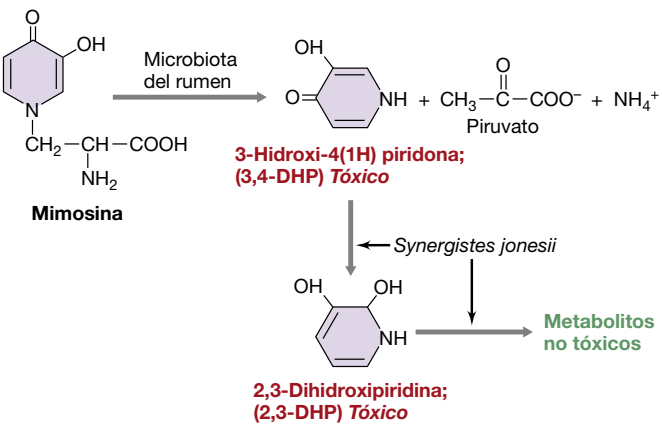


Figura 22.31 Transformación de la mimosina en metabolitos tóxicos de piridona y piridina por los microorganismos del rumen. La mimosina es transformada en 3,4-DHP tóxico por la microbiota normal del rumen. *Synergistes jonesii* transforma el 3,4 DHP en metabolitos no tóxicos a través del producto intermedio 2,3-DHP, evitando la formación de metabolitos tóxicos de mimosina.

UNIDAD 4

Protistas y hongos del rumen

Además de grandes poblaciones de procariotas, el rumen contiene poblaciones características de protistas ciliados (Capítulo 17), presentes con densidades de 10^6 células/ml. Muchos de estos protistas son anaerobios estrictos, una propiedad rara entre los eucariotas. Aunque estos protistas no son esenciales para la fermentación en el rumen, contribuyen al proceso en su conjunto. De hecho, algunos protistas son capaces de hidrolizar la celulosa y el almidón, y fermentan la glucosa produciendo los mismos VFAs que las bacterias que fermentan la celulosa (Figura 22.29 y Tabla 22.2). Los protistas del rumen también consumen bacterias del rumen y otros protistas más pequeños, y probablemente desempeñan la función de controlar las densidades bacterianas en el rumen. Ha sido observada una interacción comensal interesante entre protistas del rumen que producen VFAs y H_2 y bacterias metanógenas que consumen H_2 y producen CH_4. Gracias a la autofluorescencia de sus células (↻ Sección 13.20), los metanógenos son fácilmente observados en el fluido del rumen que rodea la superficie de los protistas que producen H_2.

También viven en el rumen hongos anaerobios, y tienen su función en los procesos digestivos. Los hongos del rumen son típicamente especies que alternan entre la forma flagelada y de talo, y los estudios en cultivo puro han mostrado que pueden fermentar la celulosa a VFAs. *Neocallimastix*, por ejemplo, es un hongo anaerobio estricto que fermenta la glucosa a formiato, acetato, lactato, etanol, CO_2 y H_2. Aunque es un eucariota, este hongo no tiene mitocondrias ni citocromos y esto le obliga a vivir una existencia fermentativa. Sin embargo, las células de *Neocallimastix* contienen un orgánulo redox llamado el *hidrogenosoma*; este análogo mitocondrial produce H_2 y no ha sido encontrado más que en algunos protistas anaerobios (↻ Sección 2.21).

Los hongos del rumen desempeñan un papel importante en la degradación de los polisacáridos diferentes de la celulosa, incluyendo la solubilización parcial de la lignina (el agente que refuerza las paredes celulares de las plantas leñosas), la hemicelulosa (un derivado de la celulosa que contiene pentosas y otros azúcares) y la pectina.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué condiciones físicas y químicas predominan en el rumen?
- ¿Qué son los VFAs y cuál es su valor para los rumiantes?
- ¿Por qué el metabolismo de *Streptococcus bovis* es un tema importante para la nutrición de los rumiantes?

22.8 El microbioma humano

El microbioma humano comprende todas las partes del cuerpo humano habitadas por microorganismos. Entre estas partes se incluyen la boca, las cavidades nasales, la garganta, el estómago, el intestino, el tracto urogenital y la piel (↻ Secciones 23.1-23.5). Se estima que el número de microorganismos en el microbioma humano es de, aproximadamente, 10^{14}, que es diez veces más que el número total de células humanas de una persona.

Importancia para la salud humana

En otros tiempos se pensaba que la comunidad microbiana intestinal del ser humano sano consistía en microorganismos que eran meros comensales, pero ahora sabemos que esta comunidad es importante en las primeras etapas del desarrollo, y para la salud general y la predisposición a enfermar.

El descubrimiento de que los componentes de la microbiota intestinal funcionan como mutualistas que desempeñan un papel esencial en la salud humana, ha impulsado dos grandes programas internacionales de investigación. Uno, establecido en los Estados Unidos, es el llamado *Proyecto del Microbioma Humano* (HMP, o *Human Microbiome Project*), y el segundo, financiado por la Comisión Europea, es llamado *Metagenómica del Tracto Intestinal Humano* (MetaHIT, o *Metagenomics of the Human Intestinal Tract*). Hasta la fecha, el HMP ha estudiado la diversidad microbiana en 250 voluntarios de dos ciudades americanas mediante la secuenciación de más de 5.000 muestras tomadas en cada sujeto de una a tres veces, y de 15 a 18 partes del cuerpo (nueve muestras orales, cuatro de la piel, una nasal, una en las heces, tres vaginales). Estos estudios del microbioma humano y otros en curso —acerca de su relación con la enfermedad, la etnia y la dieta— están coordinados por el Consorcio Internacional para el Genoma Humano (*International Human Genome Consortium*). Algunas de las principales cuestiones planteadas por estos proyectos son: (1) ¿Existe un núcleo central del microbioma humano que sea compartido por todos los individuos? (2) ¿Existe alguna correlación entre la estructura de la población microbiana y el genotipo del hospedador? (3) ¿Las diferencias en el microbioma humano están correlacionadas con diferencias en la salud humana? (4) ¿Son importantes las diferencias en la abundancia relativa de las diferentes bacterias?

Los estudios del microbioma humano basados en investigaciones de la microbiota intestinal que emplean el análisis metagenómico y la secuenciación de los genes 16S rRNA han demostrado que la diversidad entre personas distintas es tan grande que ninguna especie microbiana se encuentra en gran abundancia en todos los individuos. Los parecidos entre individuos son más evidentes en niveles taxonómicos bacterianos superiores (tales como filos) y en la distribución de genes con una función similar en la comunidad intestinal. Los posibles beneficios de estos análisis para la medicina clínica incluyen el desarrollo de biomarcadores para predecir la predisposición a enfermedades específicas, el diseño de medicamentos que tienen como objetivo miembros específicos de la comunidad microbiana intestinal, terapias personalizadas y probióticos a medida (↻ Sección 23.4).

La comunidad microbiana del intestino humano

Los humanos somos animales omnívoros y monogástricos (Figura 22.27). En el duodeno humano, la comida ingerida que baja del estómago es mezclada con bilis, bicarbonato y enzimas digestivas. De 1-4 h después de la ingestión, la comida alcanza el intestino grueso, y para entonces el pH es prácticamente neutro y la cantidad de bacterias ha aumentado de 10^4/g a 10^8/g (**Figura 22.32**). Tanto el hospedador como sus microorganismos intestinales comparten los nutrientes fácilmente digeribles. El intestino grueso es el área más intensamente colonizada del tracto gastrointestinal, y contiene 10^{11}-10^{12} células bacterianas por gramo.

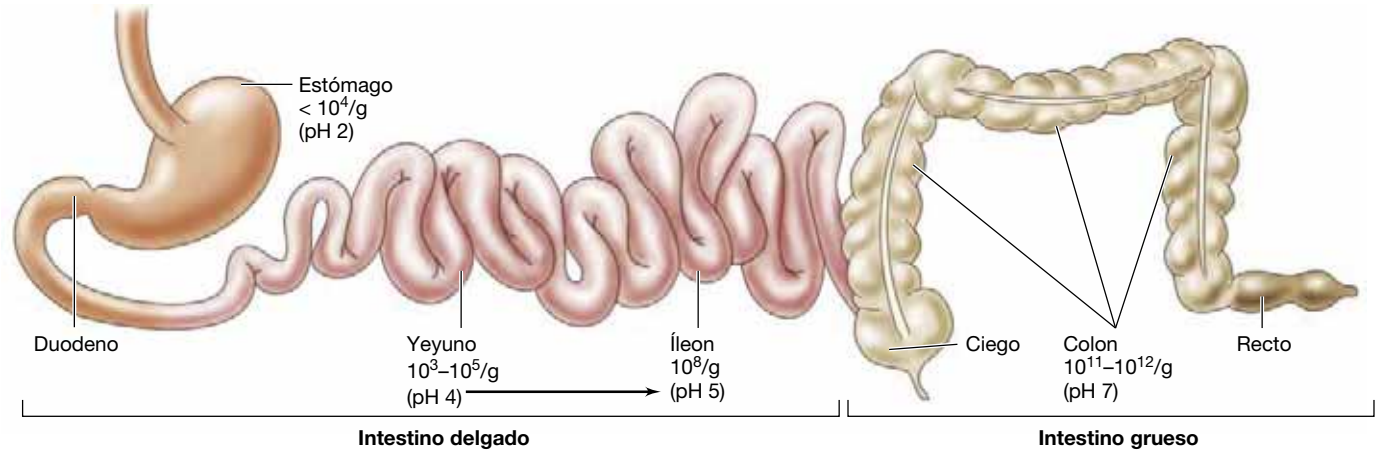


Figura 22.32 **Cantidad de bacterias en el tracto gastrointestinal del ser humano.** El intestino delgado está compuesto de duodeno, yeyuno e íleo. Las cuantías en cada sección individual son estimaciones del contenido en bacterias por gramo de contenido intestinal en individuos sanos.

La colonización de un intestino inicialmente estéril comienza inmediatamente después del nacimiento; una sucesión de poblaciones microbianas reemplaza una a la otra hasta que se establece una comunidad microbiana adulta y estable. La fuente de los primeros colonizadores no está clara, aunque algunas especies son claramente transmitidas de la madre al hijo. La comunidad intestinal del niño está dominada por bifidobacterias, que son especies fermentadoras de la clase *Actinobacteria* (↔ Sección 15.10), y no alcanza una composición similar a la del adulto hasta los 3 años de edad. Estudios recientes han correlacionado la fragilidad de la población anciana con dos factores principales: (1) una disminución general de la diversidad intestinal, y (2) niveles reducidos de *Firmicutes* y elevados de *Bacteroides*. Este segundo factor está también correlacionado con las menores cantidades de glutarato libre y del antiinflamatorio butirato, un ácido graso de cadena corta, presentes en los ancianos.

Ahora se reconoce que las primeras descripciones de la diversidad, basadas en el cultivo de microorganismos, infravaloraban la diversidad real. Por ejemplo, aunque pensamos que *Escherichia coli* es una bacteria intestinal significativa, todo el filo *Gammaproteobacteria* (al que pertenece *E. coli*; ↔ Sección 15.3) supone menos del 1 % de todas las bacterias intestinales. Simplemente, *E. coli* crece extremadamente bien en cultivos de laboratorio y puede ser fácilmente detectada incluso cuando está presente en pequeñas cantidades.

Sorprende un poco que las comunidades intestinales de los mamíferos estén compuestas de solo unos pocos filos principales, y muestren una composición de especies diferente de cualquier comunidad bacteriana de vida libre (Capítulo 19). La inmensa mayoría (~98 %) de todos los filotipos del intestino humano pertenecen a uno de los cuatro principales filos bacterianos: *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, y *Actinobacteria* (**Figura 22.33**). Los filos dominantes son *Bacteroidetes* y

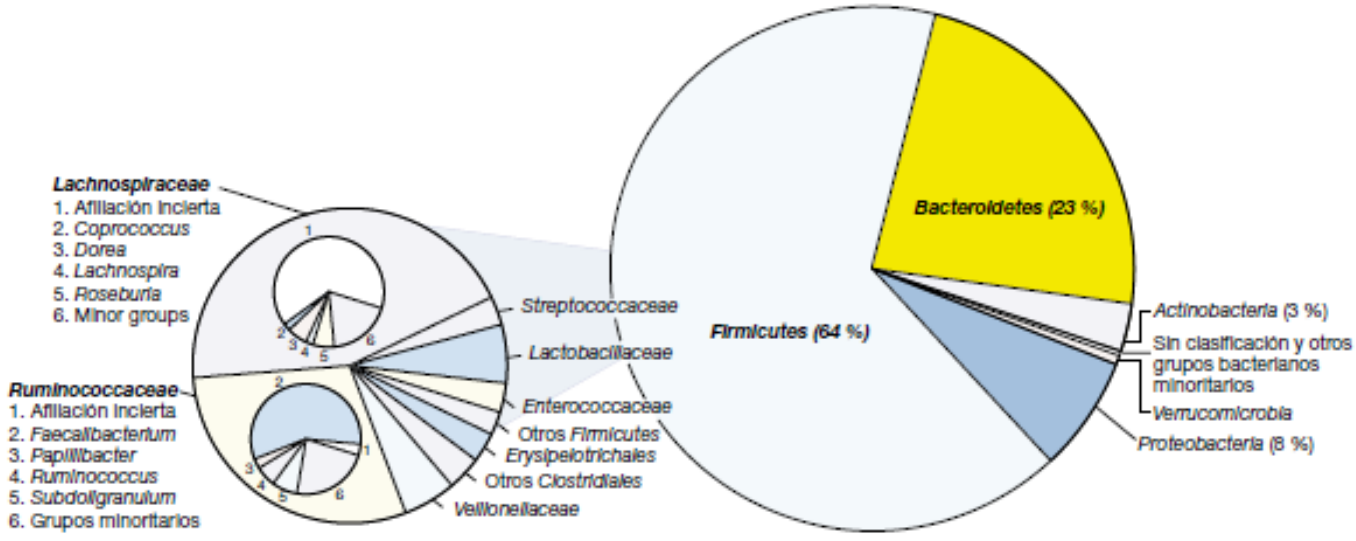


Figura 22.33 **Composición microbiana del colon humano inferida de las secuencias del gen 16S rRNA.** Los resultados son análisis de un conjunto de 17.242 secuencias, obtenidas principalmente del colon distal (muestras fecales) de varios individuos. Los datos proporcionan información relacionada, principalmente, con la diversidad, no con las cuantías relativas. Los estudios de patrones de abundancia han mostrado que la relación *Firmicutes*-*Bacteroidetes* es muy variable entre individuos diferentes. Los datos han sido reunidos y analizados por Nicolas Pinel.

UNIDAD 4

Firmicutes, pero su proporción varía enormemente de un individuo a otro —las diferencias en las proporciones en individuos van desde >90 % *Bacteroidetes* a >90 % *Firmicutes*. En contraste con la limitada diversidad en el nivel de filo, la diversidad de las especies en el intestino de los mamíferos es enorme. Los censos más recientes de la diversidad en muestras fecales humanas, basadas en millones de secuencias del 16S rRNA, han identificado entre 3.500 y 35.000 «especies.» Esta gran divergencia es debida principalmente a si el umbral de corte de la similitud del 16S rRNA para definir una especie (↬ Sección 12.8) es ajustado al 97 % de identidad de la secuencia o a un valor más restrictivo (~98-99 % de identidad). *Archaea* (representada por un filotipo estrechamente relacionado con el metanógeno *Methanobrevibacter smithii*), levaduras, hongos y protistas constituyen solo una pequeña parte de la comunidad intestinal humana (comparar con el rumen, Sección 22.7).

Estudios comparativos han mostrado también que los humanos comparten más géneros entre diferentes individuos que con otras especies de mamíferos. Esto sugiere que la microbiota intestinal de los mamíferos puede tener un «ajuste fino» para cada especie de mamífero. Curiosamente, aunque la composición de la comunidad intestinal presenta una gran variabilidad de una persona a otra, la comunidad de cada individuo es relativamente estable durante largos períodos de tiempo. Además, los estudios de secuenciación metagenómica en curso sugieren la existencia de un número limitado de distintas comunidades intestinales bien equilibradas. Se han propuesto tres de estas comunidades intestinales, llamadas *enterotipos*. La asociación de un individuo con uno de estos enterotipos trasciende las fronteras nacionales, los regímenes nutricionales y la etnicidad. Las reconstrucciones de las rutas metabólicas basadas en la anotación de secuencias metagenómicas sugieren que los enterotipos son funcionalmente distintos: por ejemplo, difieren en su capacidad para producir vitaminas. La existencia de estados simbióticos alternativos, reflejada por los enterotipos, sugiere que el enterotipo de un individuo podría influir en su respuesta a la dieta y a los medicamentos, y en su estado general de salud. Si esto es cierto, podría dar lugar a nuevos y excitantes conceptos y prácticas en el campo de la medicina clínica.

Contribución de los microorganismos intestinales al metabolismo humano

Los microorganismos intestinales humanos sintetizan una gran variedad de enzimas que permiten procesar los carbohidratos complejos en monosacáridos y la producción de VFAs. Los genomas de las especies de *Bacteroides* comunes en los adultos codifican enzimas que catabolizan los polisacáridos, lo que es coherente con que estas bacterias estén adaptadas a un ambiente intestinal rico en polisacáridos. Incluso si la proporción *Bacteroidetes-Firmicutes* varía enormemente de un individuo a otro, el metagenoma de la comunidad intestinal (↬ Sección 6.10) presenta un conjunto muy parecido de genes relacionados con la degradación de carbohidratos complejos. Los microorganismos intestinales también intervienen en el metabolismo del nitrógeno. De los 20 aminoácidos necesarios para los humanos, se dice que 10 de ellos son nutrientes esenciales porque no podemos sintetizarlos en cantidad suficiente. Aunque obtenemos los aminoácidos esenciales, tales como la lisina, de la comida, estos nutrientes pueden ser también producidos y secretados por ciertos microorganismos intestinales. Por ejemplo, el microbioma infantil tiene un mayor nivel de enzimas productoras de folato que el de los adultos, posiblemente debido a la capacidad de los adultos de obtener el folato (una vitamina esencial) de una dieta más compleja.

Se sabe también que los microrganismos intestinales contribuyen a la «maduración» del tracto gastrointestinal. Esto incluye activar la expresión de genes cuyos productos catalizan la incorporación de nutrientes y el metabolismo en las células epiteliales del intestino, preparando el sistema inmunitario en las primeras etapas de la vida para reconocer la microbiota intestinal normal como no foránea, y el desarrollo de una barrera de mucosa para evitar la colonización por bacterias foráneas. Estudios de colonización experimental de ratones libres de microorganismos con especies microbianas individuales o con comunidades microbianas, han demostrado que la colonización activa la expresión de genes para la incorporación de glucosa y la absorción de lípidos y su transporte en el íleo. Esto indica también que puede haber una relación entre la composición microbiana intestinal y la capacidad del hospedador para conseguir energía a partir de su dieta, contribuyendo a anormalidades nutricionales tales como la obesidad, en la que ahora nos vamos a centrar.

El papel de los microorganismos intestinales en la obesidad

La obesidad es un riesgo significativo para la salud que contribuye a la elevada presión arterial, enfermedades cardiovasculares y diabetes. Los microorganismos bacterianos desempeñan, probablemente, un papel en la obesidad humana, aunque los mecanismos son aún hipotéticos. La evidencia inicial que relaciona los microorganismos intestinales con la acumulación de grasa en el hospedador proviene de estudios con ratones libres de microorganismos. En estos experimentos, los ratones normales tenían un 40 % más de grasa corporal que los criados en condiciones libres de microorganismos, aunque ambas poblaciones de ratones fueron alimentadas con las mismas raciones. Después de que los ratones libres de microorganismos fueron inoculados con materia del ciego de un ratón normal, desarrollaron una microbiota intestinal y su grasa corporal aumentó, aunque no había habido cambios en la comida ingerida o en su gasto energético.

Los ratones genéticamente obesos tienen comunidades intestinales microbianas diferentes a las de los ratones normales, con un 50 % menos de *Bacteroidetes*, un aumento proporcional de *Firmicutes*, y una cantidad mayor de *Archaea* metanogénica (**Figura 22.34**). Se piensa que los metanógenos aumentan la eficiencia de la conversión microbiana de substratos fermentables, debido a la eliminación de hidrógeno (H_2), como se mencionó al tratar de la fermentación en el rumen (Sección 22.7). La eliminación de hidrógeno debería estimular la fermentación, haciendo que más nutrientes estén disponibles para su absorción por el hospedador, contribuyendo así a la obesidad.

Las inferencias en modelos animales han sido más difíciles de demostrar con sujetos humanos, debido a que no es factible un control estricto de la dieta y del genotipo del hospedador, y a que la microbiota intestinal es mucho más difícil de manipular. A pesar de todo, los estudios en humanos, aunque no confirman la relación *Bacteroidetes-Firmicutes* encontrada en los ratones, han mostrado que los individuos obesos tienen una

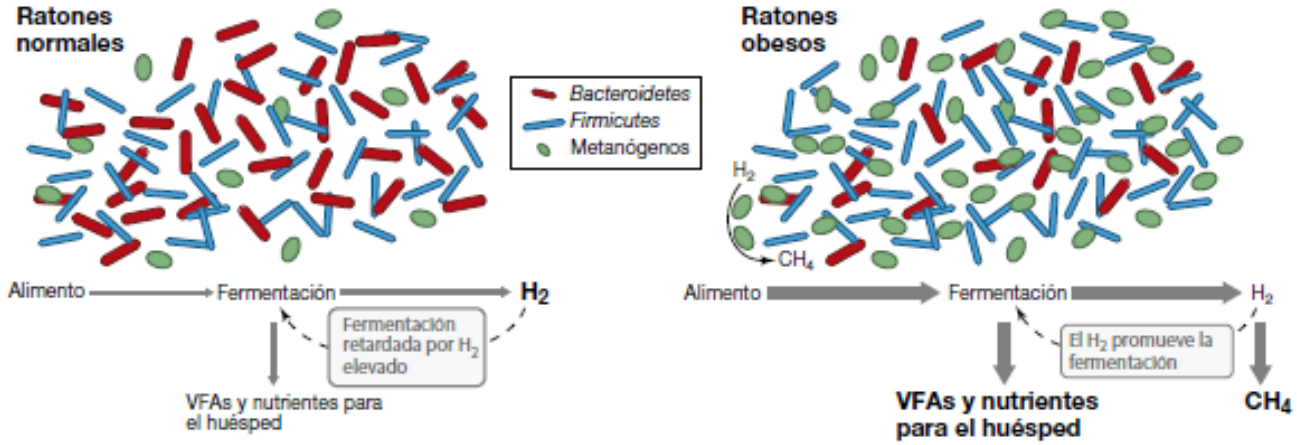


Figura 22.34 **Diferencias entre las comunidades microbianas del intestino de ratones delgados y obesos.** Los ratones obesos tienen más metanógenos, una disminución del 50 % en *Bacteroidetes,* y un aumento proporcional de todo el filo *Firmicutes.* La producción de nutrientes por fermentación es mayor en los ratones obesos, debido a la eliminación del H_2 por los metanógenos.

tendencia mayor a alojar especies de *Prevotella* (un género de *Bacteroidetes*) y de *Archaea* metanogénos. Por tanto, el modelo general en humanos parece ser el mismo que el de los ratones (Figura 22.34). Es decir, los metanógenos eliminan el H_2 producido por *Prevotella*, facilitando la fermentación por *Prevotella* y aumentando la disponibilidad de ácidos grasos de cadena corta para el hospedador. Este modelo general es también avalado por el estudio de ratones colonizados con *Bacteroides thetaiotaomicron* (que tienen un metabolismo similar al de *Prevotella*) y por el metanógeno *Methanobrevibacter smithii*. En cuanto a los controles monocolonizados, estos ratones tienen una mayor cantidad de bacterias intestinales, mayores niveles de acetato en el lumen intestinal y en la sangre y mayor cantidad de grasa corporal. El descubrimiento de que la microbiota intestinal puede afectar a la obesidad ofrece al menos una explicación no genética de la razón de que la obesidad a menudo es «un asunto de familia».

El aumento de grasa corporal asociado al período de gestación puede estar también influenciado por la microbiota intestinal. El período entre el primer y el tercer trimestre de la gestación está asociado con la disminución de la diversidad microbiana intestinal y con el enriquecimiento de las especies de *Proteobacteria* y *Actinobacteria* en la comunidad intestinal. Estos cambios están relacionados con el incremento de la grasa corporal y con la insensibilidad a la insulina que se desarrolla en etapas posteriores de la gestación. Una interpretación simple de estos hallazgos es que el cuerpo de la mujer embarazada modifica su microbioma intestinal como parte de su preparación para una mayor demanda de reservas de energía almacenadas.

Comunidades microbianas en la boca y la piel humanas

Además del intestino, la boca y la piel son también lugares fuertemente colonizados por los microorganismos. El microbioma bucal es, esencialmente, tan diverso como el intestinal, pero los individuos comparten una mayor proporción de taxa comunes en la boca que en el intestino. Entre los géneros más abundantes están *Streptococcus*, *Haemophilus*, *Veillonella*, *Actinomyces*, y *Fusobacterium*. Como en todos los casos de comunidades microbianas reexaminadas mediante métodos moleculares, los estudios de la cavidad bucal basados en la secuenciación del 16S rRNA han mostrado que los métodos basados en cultivos proporcionaban un censo muy incompleto de la diversidad. Se sabe que en la cavidad bucal residen al menos 750 especies de microorganismos aerobios y anaerobios, incluyendo una pequeña representación de metanógenos *Archaea* y de levaduras, distribuidas entre los dientes, las superficies de los tejidos, y la saliva. Debido a la gran diversidad de especies, la investigación actual está centrada en aquellos géneros con más presencia en los adultos sanos.

La cavidad bucal proporciona diferentes hábitats, cada uno de ellos colonizados por especies presentes, fundamentalmente, como biofilmes (↻ Sección 19.4). Los colonizadores primarios de las superficies de los dientes limpios son especies de *Streptococcus*; anaerobios estrictos tales como *Veillonella* y *Fusobacterium* colonizan hábitats bajo el borde de las encías. La mayoría de estos organismos contribuyen a la salud del hospedador poniendo a prueba las especies patógenas e impidiendo que se adhieran a las mucosas superficiales. El deterioro de los dientes, la inflamación de las encías y la enfermedad periodontal son algunas de las más destacadas manifestaciones de la ruptura de estos mutualismos, normalmente estables. Analizaremos la comunidad microbiana normal de la cavidad bucal en la Sección 23.3.

La piel es un órgano humano clave para evitar la pérdida de humedad y restringir la entrada de patógenos. La piel es también una parte del microbioma humano. Aunque las cantidades totales de microbios son, típicamente, relativamente bajas en comparación con las de las comunidades de la boca y el intestino, los análisis moleculares han demostrado que la piel aloja una rica y diversa comunidad microbiana de bacterias y hongos (principalmente levaduras) que varían significativamente dependiendo de la localización en el cuerpo. La comparación de veinte localizaciones en la piel, caracterizadas como húmedas, secas o grasas, mediante la secuenciación del 16S rRNA, ha revelado una gran diversidad y variabilidad entre las diferentes localizaciones y entre diferentes individuos, pero también ha mostrado algunos patrones comunes. En total, fueron

detectados 20 filos de bacterias, pero la mayoría de las secuencias pertenecían a cuatro grupos: *Actinobacteria* (52 %), *Firmicutes* (24 %), *Proteobacteria* (16 %), y *Bacteroidetes* (6 %). Se incluye más información acerca de la flora habitual de la piel humana en la Sección 23.2 y en la Figura 23.2.

Cambios en el microbioma humano asociados con enfermedades

Se han asociado durante mucho tiempo los cambios en el microbioma humano con el síndrome del «colon irritable» (en inglés, IBD, de *inflammatory bowel disease*), la inflamación crónica de parte o de todo el tracto digestivo. Es un hecho ampliamente aceptado que el IBD no es causado por ningún patógeno específico, sino por un cierto desequilibrio entre el sistema inmunitario y la microbiota habitual en el intestino. Este tipo de disfunción de la homeostasis entre la microbiota y el hospedador es llamada **disbiosis**.

Los modelos con ratones apuntan a una compleja pero transmisible etiología del IBD. Alimentar o enjaular ratones sanos en compañía de ratones predispuestos fue causa suficiente para el desarrollo de IBD en los ratones sanos, hecho correlacionado con la transmisión de las especies de *Enterobacteriaceae, Klebsiella pneumoniae* y *Proteus mirabilis* desde los ratones con IBD a los ratones sanos. Sin embargo, como también ocurría con la relación entre el microbioma intestinal y la obesidad, la causalidad del IBD en humanos es peor comprendida. Los análisis metagenómicos de individuos sanos y de pacientes con IBD mostraron que la microbiota de los enfermos de IBD tenía menos genes en común con la de los individuos sanos, en comparación con el número de genes compartidos por los individuos sanos entre sí. La comunidad microbiana de los enfermos de IBD tendía también a tener una capacidad funcional significativamente reducida, como reflejaba la reducción en el número de genes no redundantes en relación con los individuos sanos (**Figura 22.35**).

Se conocen otras condiciones asociadas con cambios en el microbioma humano, como la diabetes de tipo 2 (no dependiente de insulina), asma, dermatitis atópica, cáncer de colon y recto, piedras en los riñones, periodontitis y psoriasis. A medida que aprendemos más acerca de la relación entre el microbioma humano, la salud y las enfermedades, es mayor la posibilidad de intervenciones terapéuticas. Entre otras, se podría promover el crecimiento de bacterias simbióticas protectoras o la inhibición del crecimiento de microorganismos específicos (o de conjuntos de microorganismos) que comprometen la salud, y el trasplante de comunidades microbianas de individuos a sanos a individuos enfermos.

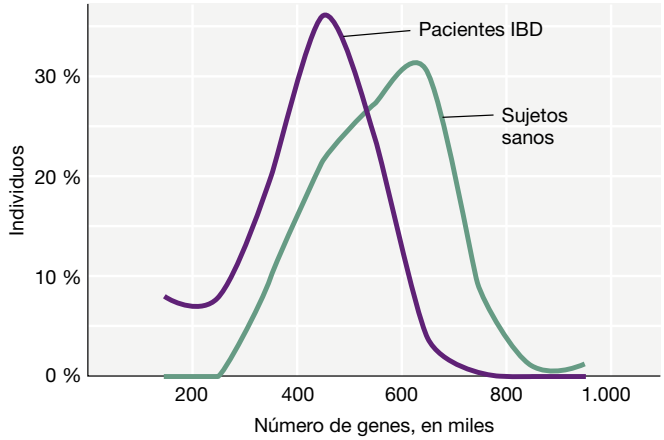


Figura 22.35 Capacidad funcional reducida del microbioma intestinal de pacientes con el síndrome del colon irritable. Los análisis metagenómicos de la microbiota intestinal en individuos sanos y en pacientes con el síndrome del colon irritable (*inflammatory bowel disease*, IBD) mostraron que los pacientes con IBD tendían a tener menor cantidad de genes bacterianos no redundantes.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cuáles son los principales filos de *Bacteria* predominantes en el intestino humano?
- ¿Cómo podría contribuir a la obesidad una mayor abundancia de metanógenos en el intestino?
- Indicar algunas consecuencias prácticas de la caracterización del microbioma humano.

IV • Los insectos como hábitats microbianos

Los insectos son la clase de animales más abundante entre las actualmente existentes. Se piensa que un 20 % de todos los insectos se asocian a microorganismos simbióticos de forma mutuamente beneficiosa. La simbiosis contribuye al éxito ecológico de los insectos proporcionándoles protección o ventajas nutricionales. Algunos simbiontes se encuentran en las superficies externas de los insectos o en sus tractos digestivos. Los *endosimbiontes* son bacterias intracelulares que se encuentran típicamente en órganos específicos en el interior de los insectos.

22.9 Simbiontes hereditarios de los insectos

La manera en que los simbiontes se transfieren de una generación a otra es determinante para establecer cómo funciona un mutualismo y hasta qué punto es estable. Los simbiontes microbianos pueden, o bien ser adquiridos por un hospedador de un reservorio ambiental (transmisión horizontal), o ser directamente transferidos por los padres a la generación siguiente (transmisión *hereditaria* o *vertical*). La modalidad de la transmisión del simbionte está relacionada con la especificidad y la persistencia de una asociación. En general, la menor especificidad está relacionada con la transmisión horizontal. En esta sección nos centramos solamente en aquellos mutualismos en los que el simbionte microbiano no presenta formas de vida libre; es decir, que el simbionte es transmitido verticalmente.

Tipos de simbiontes heredables

Todos los simbiontes heredables de insectos que conocemos carecen de una forma correspondiente de vida libre. Por tanto,

son simbiontes *estrictos*. Sin embargo, aunque estas bacterias requieren de un hospedador para su replicación, no todos los hospedadores son dependientes del simbionte. En relación con la dependencia del hospedador, los simbiontes hereditarios son *simbiontes primarios o simbiontes secundarios.* Los simbiontes primarios son necesarios para la reproducción del hospedador. Su presencia se restringe a una región especializada llamada **bacterioma**, que se encuentra en varios grupos de insectos; en el interior del bacterioma, las células bacterianas residen en células especializadas llamadas **bacteriocitos**. Los simbiontes secundarios no son necesarios para la reproducción de sus hospedadores. A diferencia de los simbiontes primarios, los simbiontes secundarios no se encuentran siembre en todos los individuos de una especie, y su presencia no está restringida a unos determinados tejidos hospedadores.

Los simbiontes secundarios están extensamente distribuidos entre distintos grupos de insectos. Como los patógenos, invaden células de tipos diferentes y pueden vivir extracelularmente en el interior de la *hemolinfa* de los insectos (el fluido que baña su cavidad corporal). En los insectos con bacteriomas, los simbiontes secundarios pueden invadir los bacteriocitos, residiendo junto a los simbiontes primarios o, en ocasiones, reemplazándolos (**Figura 22.36**). Sin embargo, con objeto de pervivir en el insecto hospedador, el simbionte secundario debe aportar alguna ventaja, como una ventaja nutricional o protección contra factores medioambientales, como el calor. Por ejemplo, las mosquitas blancas infectadas con la bacteria *Rickettsia* (↔ Sección 15.1) tienen descendencia con una tasa de aproximadamente el doble que las moscas no infectadas, y una mayor parte de su descendencia sobrevive hasta la edad adulta. Los simbiontes secundarios pueden también proporcionar protección contra la invasión por patógenos o predadores. Una bacteria *Spiroplasma* (↔ Sección 15.9), que fue observada por vez primera en la *Drosophila neotestacea* en los años ochenta, proporciona protección contra un gusano nematodo parásito. En la mayoría de los casos, la base de la protección o la aptitud mejorada es desconocida, pero se conoce un caso en el que

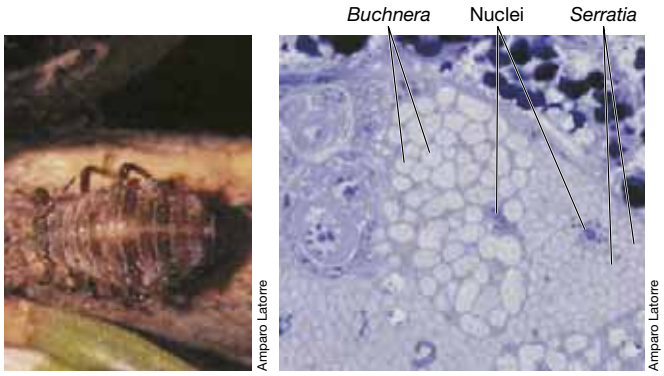


Figura 22.36 Simbiontes primarios y secundarios en un áfido. *(a)* El áfido del cedro *Cinara cedri*, un organismo modélico para el estudio de simbiosis. *(b)* Fotografía al microscopio electrónico de transmisión del bacterioma de *C. cedri*, mostrando dos bacteriocitos. En el interior de cada bacteriocito están empaquetadas células de *Buchnera aphidicola* (el simbionte primario) o de *Serratia symbiotica*, el simbionte secundario, más pequeño. Las flechas señalan el núcleo de cada bacteriocito. El bacteriocito que contiene células de *Buchnera* es de unos 40 µm de ancho.

una toxina codificada por un bacteriófago lisogénico (↔ Sección 8.8) transportado por el simbionte confiere al insecto protección contra la infección provocada por una avispa parásita.

Hay simbiontes parasitarios hereditarios que manipulan el sistema reproductivo del hospedador, incrementando la frecuencia de la progenie femenina (sesgo de la proporción entre sexos, ↔ Figura 15.27). Debido a que la mayoría de los simbiontes hereditarios se transmiten por vía materna, la supresión de progenie masculina sirve para aumentar el número de individuos infectados e incrementa la tasa de distribución entre una población de insectos. Puesto que las funciones conferidas por simbionte pueden extenderse rápidamente en una población, la adquisición de rasgos codificados en el simbionte proporciona un mecanismo de adaptación mucho más rápido que la mutación de los genes del insecto. La infección de la población de mosquita blanca por *Rickettsia* es un ejemplo de la rapidez con que los rasgos conferidos por el simbionte pueden extenderse en una población. En el año 2000 fue infectada con *Rickettsia* solo el 1 % de una población de mosquitas blancas. En 2006, el 97 % de las mosquitas estaban infectadas. En otro caso, una cepa de *Wolbachia* (↔ Sección 15.1) se propagó entre las poblaciones de *Drosophila simulans* de California en solo 3 años.

Un beneficio importante derivado de la mejora del conocimiento básico de los simbiontes de insectos es el uso creciente de simbiontes en el control de plagas y en el control de vectores de propagación de enfermedades, como la malaria y la filariasis en humanos (↔ Secciones 32.5 y 32.7). Por ejemplo, *Wolbachia* simbióticas, que son manipuladores reproductivos, están ampliamente distribuidas entre diferentes especies de insectos (posiblemente infectan el 60-70 % de todas las especies de insectos). El esperma de los machos infectados por *Wolbachia* puede esterilizar hembras no infectadas. Aunque el mecanismo de la esterilización no es completamente conocido, el fenómeno ha sido ensayado como un medio para suprimir la transmisión de enfermedades. La liberación de una gran cantidad de machos de mosquitos *Culex quinquefasciatus*, el vector del nematodo causante de la filariasis linfática o elefantiasis (↔ Sección 32.7), en Myanmar (Birmania) ha eliminado la población local del mosquito.

En algunos casos, la presencia del simbionte disminuye la transmisión de la enfermedad por el insecto. Los mosquitos *Aedes aegypti* infectados con *Wolbachia* son menos propensos a transmitir el virus causante del dengue (↔ Sección 30.5). Sin embargo, en algunos otros casos, la presencia del simbionte *incrementa* la propagación de enfermedad. Por ejemplo, las mosquitas blancas infectadas con la bacteria *Hamiltonella* (una *Enterobacteriaceae* simbionte) tienen más probabilidad de transmitir el virus de las hojas amarillas onduladas del tomate que las mosquitas no infectadas.

Significado nutricional de los simbiontes intracelulares estrictos de los insectos

La asociación de bacterias e insectos ha permitido a muchos insectos acceder a recursos alimenticios que son ricos en algunos nutrientes, pero pobres en otros. Para conseguir una nutrición adecuada, algunos insectos se aprovechan del potencial metabólico de sus simbiontes. Por ejemplo, los pulgones se alimentan de la savia que fluye en las plantas por los vasos del floema, rica en carbohidratos pero pobre en otros nutrientes.

Siempre se ha pensado que los simbiontes estrictos podrían beneficiar a los insectos proporcionándoles nutrientes que no estaban presentes en su dieta primaria, y ahora se sabe que es así.

El análisis molecular ha mostrado que la mayoría de las familias de pulgones albergan la bacteria *Buchnera* en sus bacteriomas (↻ Sección 6.5). La función de *Buchnera* en la nutrición del hospedador fue indicada en primer lugar por experimentos que empleaban dietas determinadas para examinar las necesidades de nutrientes de los pulgones. En comparación con controles infectados, los pulgones libres de simbiontes necesitaban una dieta que contuviera todos los aminoácidos que faltan, o son escasos, en la savia del floema. Posteriores estudios genómicos documentaron la presencia en *Buchnera* de los genes que codifican la biosíntesis de nueve aminoácidos que no están presentes en la savia. Hay también ejemplos de sinergia entre hospedador y simbionte en los que la síntesis de ciertos aminoácidos es una empresa conjunta. Por ejemplo, *Buchnera* carece de la enzima necesaria para el último paso de la biosíntesis de la leucina, pero el gen necesario está presente en el genoma de los pulgones. Probablemente, el pulgón elabora esta enzima, que participa en la ruta de la biosíntesis de la leucina junto con las enzimas bacterianas.

Un simbionte secundario puede contribuir también a una «empresa conjunta». Por ejemplo, el simbionte *Buchnera* del pulgón del cedro es incapaz de suministrar triptófano al pulgón. Dos genes de la ruta de biosíntesis del triptófano están presentes en *Buchnera*, pero los restantes genes para esta ruta están localizados en el cromosoma de un endosimbionte secundario (Figura 22.36). Así, diferentes partes de una ruta metabólica necesaria pueden ser codificadas por endosimbiontes diferentes presentes en el mismo insecto. Las hormigas cultivadoras de hongos proporcionan un ejemplo más de una simbiosis compleja, que se ha formado entre un insecto y múltiples microorganismos (véase Explorando el mundo microbiano, «Los múltiples simbiontes microbianos de las hormigas cultivadoras de hongos»).

Las cochinillas (*Planococcus citri*) constituyen uno de los más raros ejemplos de cooperación entre dos simbiontes que infectan al mismo insecto. Las cochinillas tienen dos simbiontes bacterianos estables, «*Candidatus* Tremblaya princeps» (una *Betaproteobacteria*) y «*Candidatus* Moranella endobia» (una *Gammaproteobacteria*) (el término «*Candidatus*» significa que estos organismos aún no han sido cultivados). Estos simbiontes cooperan para proporcionar aminoácidos esenciales de los que carece la dieta del hospedador, lo que ocurre con los simbiontes de muchos insectos que se alimentan de savia. Sin embargo, la bacteria Moranella ¡vive en el interior de la bacteria Tremblaya! Este es el único ejemplo conocido de una bacteria en el interior de una simbiosis bacteriana. El genoma, enormemente reducido, de Tremblaya, ha perdido todo los genes para tRNA sintetasas, una función esencial proporcionada o bien por el hospedador o por la Moranella que vive en el interior de su citoplasma.

Reducción del genoma y procesos de transferencia de genes

Las siguientes características son comunes a los simbiontes primarios: extrema reducción del genoma, (↻ Tabla 6.1), elevado contenido de adenina más timina, y tasas aceleradas de mutación. Los genomas de los simbiontes de insectos se encuentran en un rango entre 0,14 y 0,80 Mbp (millones de pares de bases, de «Mega bases pairs») y 16,5 a 33 % G+C (**Tabla 22.3**). Los 0,14 Mbp del genoma de «*Candidatus* Tremblaya princeps» constituyen el más pequeño de los genomas conocidos para cualquier célula. Por el contrario, los genomas de las bacterias de vida libre relacionadas están en el rango de 2 a 8 Mbp con una composición de bases cercana al 50 % G+C. Dos tipos habituales de mutación espontánea, la desaminación de la citosina y la oxidación de la guanosina, si no son reparadas, cambian un par GC a un par AT (↻ Sección 10.2). Los simbiontes con genomas reducidos tienen menos enzimas reparadoras del DNA (↻ Sección 10.4), lo que probablemente facilita con el tiempo un cambio a genomas con un menor contenido G+C.

Los genomas compactos de los simbiontes de insectos han perdido genes pertenecientes a la mayor parte de las categorías funcionales (Capítulo 6) y tienden a retener únicamente los genes necesarios para la supervivencia y reproducción del hospedador

Tabla 22.3 Características del genoma de algunos endosimbiontes de animales[a]

Hospedador	*Simbionte (genus)*	*Tamaño del genoma (Mbp)*	*G + C (%)*	*Genes*
Áfidos	Heterótrofo (*Buchnera*)	0,42-0,62	20-26	362-574
Mosca tsetse	Heterótrofo (*Wigglesworthia*)	0,70	22	617
Hormiga carpintera	Heterótrofo (*Blochmannia)*	0,71-0,79	27-30	583-610
Chicharrita de alas cristalinas	Heterótrofo (*Sulcia*)	0,25	22	227
Cochinilla blanca	Heterótrofo («*Candidatus* Moranella endobia» *Gammaproteobacteria*)	0,54	43,5	406
Cochinilla blanca	Heterótrofo («*Candidatus* Tremblaya prínceps» *Betaproteobacteria*)	0,14	58,8	121
Almeja (*Calyptogena okutanii*)	Oxidante del azufre (sin nombrar)	1,0	32	975
Almeja (*Calyptogena magnifica*)	Oxidante del azufre (*Ruthia*)	1,2	34	1.248
Gusano (*Riftia pachyptila*)	Oxidante del azufre (sin nombrar)	3,3[b]	NA	NA

[a]Todos los simbiontes de la lista están asociados estrictamente con sus hospedadores, con la excepción del simbionte de *Riftia*, que también tiene una etapa de vida libre.
[b] La bacteria oxidadora del azufre de vida libre *Thiomicrospira crunogena* tiene un genoma significativamente más pequeño (2,4 Mb) que este simbionte.

EXPLORANDO EL MUNDO MICROBIANO

Los múltiples simbiontes microbianos de las hormigas cultivadoras de hongos

Las hormigas attine, o cortadoras de hojas, son un buen ejemplo de una elaborada asociación simbiótica entre un insecto y múltiples especies microbianas. Estas hormigas han establecido un mutualismo estricto con hongos que cultivan como comida en jardines fúngicos de hongos, recubiertos de un mantillo formado con pequeños fragmentos de hojas. El descubrimiento de que cada linaje de hormigas cultivaba un hongo específico fue el primer indicador de lo estrecha que es esta relación simbiótica. Las hormigas y sus hongos mutualistas pueden ser clasificados en cinco sistemas agrarios, cada uno caracterizado por linajes distintivos de hormas y hongos. Las hormigas agrupadas en el sistema «agricultura inferior» forman asociaciones con grupos específicos de hongos que toman del ambiente. Por el contratio, el grupo «agricultura superior» cultiva hongos que, aparentemente, ya no son capaces de una vida libre, independiente del mutualismo con las hormigas.

Además de la estrecha relación mutualística entre las especies de hormigas y las de los hongos que cultivan, hoy sabemos que esta simbiosis incluye otros cuatro simbiontes microbianos: un pequeño hongo, que es un parásito en el jardín de hongos; una bacteria fijadora del nitrógeno (↻ Sección 3.17) asociada con los hongos del jardín; una actinobacteria antagonista del hongo parásito; y una levadura negra que interfiere con la antinobactira.

El hongo es transmitido verticalmente de generación en generación de hormigas por las reinas fundadoras de las colonias. La reina recoge una bolita de hongos antes de su vuelo nupcial, y la almacena en una bolsa de su cavidad bucal. Después del emparejamiento, emplea la bolita de hongos para establecer un nuevo nido y su jardín de hongos (**Figura 1*a***). Las especies fijadoras del nitrógeno *Klebsiella* y *Pantoea,* asociadas con el hongo, enriquecen la calidad nutricional del jardín, añadiendo nuevo nitrógeno al substrato de hojas, pobre en nitrógeno. Una sola colonia de hormigas cortadoras de hojas puede contribuir con hasta 1,8 kg de nitrógeno fijado al año. Este nitrógeno beneficia a la colonia de hormigas y también contribuye a una mayor diversidad vegetal en las proximidades de las colonias de hormigas cortadoras de hojas.



Michael Poulsen y Cameron Currie

(a)



Michael Poulsen y Cameron Currie

(b)

Figura 1 **Hormigas cortadoras de hojas.** *(a)* Hormigas reina y obrera en su jardines de hongos. *(b)* El mutualismo con *Actinobacteria* puede llegar a cubrir una gran parte del exoesqueleto de las obreras (áreas blancas).

Sin embargo, el jardín puede ser destruido por un hongo parásito del género *Escovopsis*. Para repeler el hongo microbiano parásito, la hormiga ha formado otra asociación simbiótica, con una actinobacteria (género *Pseudonocardia*) que aparece como un «brote ceroso» que crece sobre la cutícula de la hormiga (**Figura 1*b***). Estas bacterias, alojadas en modificaciones cuticulares especializadas sobre el cuerpo de las hormigas, secretan metabolitos secundarios que inhiben el crecimiento de *Escovopsis*. La *Pseudonocardia* recibe probablemente alimento desde la hormiga, de secreciones glandulares a través de poros localizados en las regiones con la cutícula modificada. La secuenciación comparativa del genoma ha revelado una buena congruencia entre las filogenias de las hormigas, los hongos cultivados, *Escovopsis* y *Pseudonocardia,* señalando interacciones muy específicas entre microorganismos y hormigas en esta compleja simbiosis.

El cuarto y último microorganismo identificado en esta simbiosis es una levadura que crece en las mismas regiones cuticulares colonizadas por la bacteria *Pseudonocardia*. Esta levadura, de color negro, interfiere con la protección química del jardín robando nutrientes a la *Pseudonocardia*, y reduciendo indirectamente su capacidad para suprimir el crecimiento de *Escovopsis*. La simbiosis hormiga-microbiana es, pues, un complejo laberinto de interacciones entre hormiga, hongos y bacterias. Otro ejemplo de un trío simbiótico —en este caso una planta, un animal y una bacteria— fue descrita en la página 723.

y para los procesos moleculares esenciales, como translación, replicación y transcripción. La reducción del genoma implica que los simbiontes dependen del hospedador para muchas funciones que ya no están codificadas en el genoma del simbionte (↻ Sección 6.5). Por ejemplo, en muchos casos los genes necesarios para la biosíntesis de los componentes de la pared celular, incluyendo el lípido A y el peptidoglicano, han desaparecido, lo que sugiere que el hospedador proporciona estas funciones o que estas estructuras no son necesarias para formar células estables en el interior del bacteriocito.

Hay un contraste interesante entre el genoma de los simbiontes primarios y el de las típicas bacterias causantes de enfermedades (patógenos). Mientras que los simbiontes primarios tienden a perder los genes que codifican las proteínas necesarias para las rutas *catabólicas,* las bacterias patógenas típicamente retienen estos genes, pero pierden los necesarios para las rutas *anabólicas*. Esto refleja la diferencia de sus relaciones con sus hospedadores; los simbiontes de los insectos proporcionan a sus hospedadores nutrientes esenciales biosintéticos, mientras que los patógenos obtienen importantes nutrientes biosintéticos del hospedador.

Debido a que las secuencias del genoma de un gran número de insectos y de sus simbiontes están ahora disponibles, los microbiólogos pueden empezar a evaluar la frecuencia de la transferencia de genes entre ellos. La transferencia horizontal de genes es el movimiento de información genética a través de las barreras normales para el emparejamiento (Capítulos 10 y 12). Aunque las primeras investigaciones demostraron que el DNA de la bacteria *Wolbachia* ha sido transferido a los genomas del núcleo de sus insectos y nematodos hospedadores, el análisis de otros mutualismos de insectos, de los que se dispone de las secuencias del genoma del hospedador y del simbionte (por ejemplo, pulgones y piojos), indica que la transferencia de DNA es muy rara. Esto sugiere que la transferencia horizontal es muy variable, por razones aún por descubrir.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué factores estabilizan la presencia de un simbionte secundario de un insecto?
- ¿Cuáles son las consecuencias de la reducción del genoma de un simbionte?
- ¿Cómo puede determinarse si un simbionte y su hospedador han experimentado un largo período de coevolución?

22.10 Los termes

Los microorganismos son los principales responsables de la degradación de la madera y la celulosa en el medio ambiente. Sin embargo, la actividad de las especies microbianas de vida libre ha sido aprovechada por algunos grupos de insectos, que han establecido asociaciones simbióticas con protistas y bacterias capaces de digerir los materiales lignocelulósicos. El intestino de los insectos proporciona un nicho protector para los simbiontes microbianos, similar al rumen de los herbívoros, y los insectos consiguen a cambio acceder a nutrientes derivados de fuentes de carbono que de otra forma serían indigeribles. Las termitas están entre los representantes más abundantes de este tipo de alianzas simbióticas.

La historia natural de las termitas y la bioquímica

Los simbiontes microbianos de las termitas descomponen la mayor parte de la celulosa (74-99 %) y de la hemicelulosa (65-87 %) del material vegetal que ingieren. A diferencia de los ejemplos de insectos estudiados en la sección precedente, la mayoría de las termitas no alojan bacterias *intracelulares.* En lugar de ello, las bacterias simbióticas se encuentran en órganos digestivos (intestinos), como en el caso de los mamíferos.

Las dietas de las termitas incluyen materiales vegetales lignocelulósicos (tanto materiales intactos o en varios estados de degradación), estiércol y materia orgánica del suelo (humus). Unos dos tercios de la superficie sólida del planeta albergan al menos una especie de termitas, con la mayor representación en las regiones tropicales y subtropicales, donde las termitas llegan a constituir el 10 % de toda la biomasa animal y un 95 % de la biomasa de insectos del suelo. En las sabanas, su cantidad excede a veces los 4.000 individuos por m^2, y la densidad de su biomasa (1-10 g/m^2) puede ser mayor que la de los mamíferos herbívoros.

Las termitas se clasifican en superiores e inferiores, a partir de su filogenia, y esta clasificación está correlacionada con diferentes estrategias simbióticas. La parte posterior del tracto digestivo de las termitas *superiores* (familia *Termitidae*, que comprende tres cuartas partes de las especies de termitas) contiene una densa y variada comunidad de bacterias, la mayoría anaerobias, incluyendo especies celulolíticas. Por el contrario, las termitas *inferiores* albergan poblaciones diversas de bacterias anaerobias y protistas celulolíticos. Las bacterias de las termitas inferiores participan poco o nada en la digestión de la celulosa; únicamente los protistas fagotizan y degradan las partículas de madera ingeridas por las termitas. Las propias termitas producen celulasas en sus glándulas salivares o en el epitelio del intestino medio, aunque no se conocen las contribuciones relativas de los microbios y de las enzimas de las termitas a la ruptura lignocelulósica.

El intestino de las termitas consta de un intestino anterior (que incluye el buche y la molleja musculada), un intestino medio tubular (lugar de la secreción de enzimas digestivas y de la absorción de los nutrientes solubles), y un intestino posterior, relativamente largo, cuyo volumen aproximado es de 1 microlitro (**Figura 22.37**). En las termitas inferiores, el intestino posterior consiste fundamentalmente en una cámara única, la *panza* (Figura 22.37*a*). El intestino posterior de la mayoría de las termitas superiores es más complejo, estando divido en siete compartimentos (Figura 22.37*b*). Tanto en las termitas superiores como en las inferiores, el intestino posterior alberga una densa y variada comunidad microbiana y es el órgano principal para la absorción de nutrientes. Durante la fermentación microbiana de carbohidratos en el intestino posterior, se produce ácido acético y otros ácidos orgánicos, y estos productos son la fuente fundamental de energía y carbono de la termita (Figura 22.37*c*). El elevado consumo de O_2 por las bacterias cerca de la pared del intestino mantiene el interior del intestino posterior anóxico. Sin embargo, medidas realizadas con microsensores (↻ Sección 18.8) han mostrado que el O_2 puede penetrar hasta 200 µm en el intestino antes de ser completamente eliminado por la actividad respiratoria microbiana. Por tanto, este delgado compartimento intestinal ofrece distintos nichos microbianos en relación con el O_2 y permite actividades microbianas diversas.

Diversidad bacteriana y digestión de la lignocelulosa en las termitas superiores

En termitas de géneros diferentes, las comunidades microbianas intestinales difieren significativamente. El análisis de las secuencias del gen 16S rRNA de los contenidos del intestino posterior de especies de termitas superiores del género *Nasutitermes,* revela una gran diversidad de especies microbianas pertenecientes a 12 filos de *Bacteria*, pero pocas *Archaea* (**Figura 22.38**). Dominan las espiroquetas del género *Treponema* (↻ Sección 14.20), con una menor contribución de organismos, hasta ahora no cultivados, relacionados lejanamente con el filo *Fibrobacteres* (↻ Sección 15.21), un grupo también presente en el rumen (Figura 22.30). El análisis metagenómico (↻ Sección 6.10) de la comunidad microbiana del intestino posterior del *Nasutitermes* ha encontrado genes bacterianos que codifican glicosil hidrolasas, que hidrolizan la celulosa y hemicelulosas. Estos datos metagenómicos implican claramente a las espiroquetas y *Fibrobacteres* en la digestión de la lignocelulosa, aunque la correspondiente bacteria celulolítica aún no ha sido aislada en las termitas superiores (Figura 22.38). En

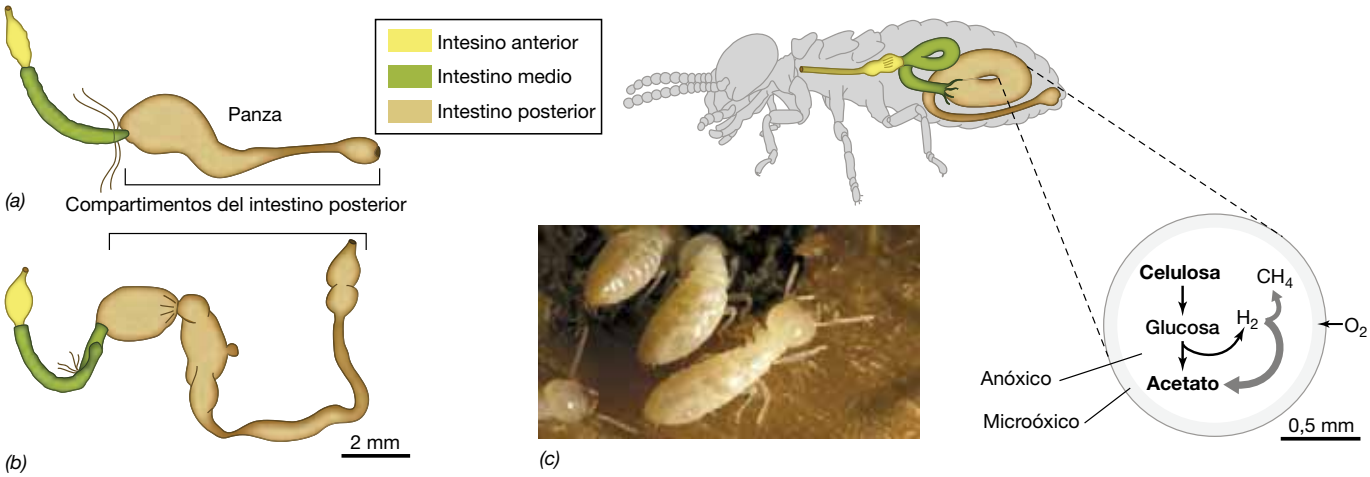


Figura 22.37 Anatomía y funcionamiento del intestino de la termita. Estructura del intestino de las termitas *(a)* inferiores y *(b)* superiores, mostrando el intestino anterior, el medio y la diferente complejidad de los compartimentos del intestino posterior. *(c)* Fotografía de termitas obreras, de la estructura del intestino, y de actividad bioquímica de la termita inferior *Coptotermes formosanus*. La termita asimila acetato y otros productos de la fermentación microbiana. El hidrógeno producido por la fermentación es consumido principalmente por acetógenos reductores del CO_2, mientras que una pequeña cantidad va a los metanógenos hidrogenotróficos. La metanogénesis y la acetogénesis son analizadas en las Secciones 13.20 y 13.19, respectivamente.

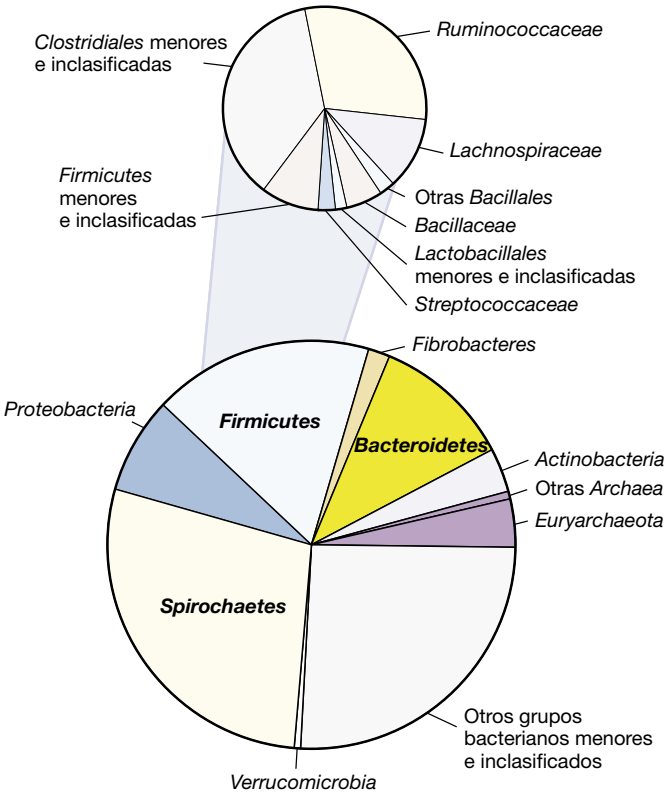


Figura 22.38 Composición microbiana del intestino posterior de las termitas, inferida de las secuencias del gen 16S rRNA. Los resultados son análisis en conjunto de 5.075 secuencias procedentes de DNAs amplificados o de secuenciación metagenómica de tres géneros de termitas superiores comedoras de madera, *Nasutitermes*, *Reticulitermes*, y *Microcerotermes*. Los datos proporcionan información relacionada, principalmente, con la diversidad, no con la abundancia relativa. Los datos han sido reunidos y analizados por Nicolas Pinel.

cada muda, los simbiontes intestinales de cada ejemplar de termita se pierden, aunque la comunidad intestinal de cada especie de termitas se conserva bien. La transmisión horizontal estable de los simbiontes intestinales se debe, probablemente, al comportamiento social y al estrecho contacto que son característicos de las termitas.

Acetogénesis y fijación del nitrógeno en el intestino de las termitas

Los genes que codifican las enzimas de la ruta acetil-CoA están altamente representados en las espiroquetas del intestino posterior del *Nasutitermes*, un hecho consistente con su función como los mayores acetógenos reductores del CO_2 (↔ Sección 13.19). Las comunidades microbianas del intestino de las termitas han sido reconocidas desde hace tiempo por su importancia al facilitar el metabolismo del nitrógeno, proporcionando nuevo nitrógeno fijado mediante el proceso de fijación del nitrógeno (↔ Sección 3.17) y ayudando a conservar el nitrógeno mediante el reciclado del nitrógeno excretado, que vuelve al insecto para la biosíntesis. En consonancia, el análisis metagenómico revela que muchas bacterias, incluyendo *Fibrobacteres* y espiroquetas *Treponema,* contienen genes que codifican nitrogenasa, la enzima requerida para fijar N_2.

Desde un punto de vista meramente energético, la metanogénesis a partir del H_2 y el CO_2 es más favorable que la acetogénesis a partir de los mismos substratos (−34 kJ/mol de H_2 contra −26 kJ/mol de H_2, respectivamente), y por tanto, la metanogénesis debería tener una ventaja competitiva en todos los hábitats en los que los dos procesos compiten (↔ Secciones 13.19-13.20).

Sin embargo, esto no es así en las termitas, y hay al menos dos razones para ello. La primera es que, a diferencia de los metanógenos, los acetógenos son capaces de emplear otros substratos, como azúcares o grupos metilo, procedentes de la degradación

de la lignina, como donadores de electrones para el metabolismo energético. La segunda es que los acetógenos de las termitas (que parecen ser en su mayoría espiroquetas) pueden, por alguna razón, colonizar mejor el centro del intestino de las termitas, rico en H_2, mientras que los metanógenos están en su mayor parte restringidos a la pared intestinal. Sobre la pared, los metanógenos están localizados aguas abajo del gradiente de H_2 y, por tanto, solo reciben una fracción del flujo de H_2. Además, es probable que la pared contenga mayores proporciones de O_2, lo que puede afectar negativamente a la fisiología de los metanógenos. Por tanto, y a pesar de que las termitas son metanógenas, y producen hasta 150 teragramos de CH_4 anualmente en todo el planeta (1 teragramo = 10^{12} gramos), el flujo de carbono y de electrones en el intestino de las termitas favorece la acetogénesis en este interesante hábitat microbiano anóxico.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cómo se mantienen las condiciones anóxicas en el intestino posterior de las termitas?
- ¿Por qué la acetogénesis reductora predomina sobre la metanogénesis en muchas termitas?
- ¿Qué grupo de bacterias, morfológicamente poco habitual, ausente de los análisis moleculares de procariotas en el rumen, parece dominar la actividad en el intestino posterior de las termitas?

V • Los invertebrados acuáticos como hábitats microbianos

Hasta este punto del capítulo hemos analizado cómo algunos macroorganismos que viven en ambientes terrestres proporcionan hábitats para los simbiontes microbianos. Los ambientes acuáticos —especialmente los ambientes marinos— imponen condiciones diferentes a la simbiosis y presentan diferentes oportunidades y desafíos para la evolución de las simbiosis entre macroorganismos y microorganismos. Sin embargo, las simbiosis microbianas con animales marinos, especialmente con invertebrados, son habituales. Al encontrar hábitats en los invertebrados marinos, los microorganismos pueden establecer una residencia segura en un entorno nutricionalmente rico. Y los invertebrados también se benefician, como veremos en dos ejemplos bien estudiados de simbiosis animal: el calamar y las fuentes hidrotermales. Estas, y las otras asociaciones microbio-animal examinadas en esta sección, son verdaderas simbiosis, en las que los dos socios se benefician de la relación.

22.11 Los sepiólidos

El calamar rabicorto hawaiano, *Euprymna scolopes*, es un pequeño invertebrado marino (**Figura 22.39*a***) que mantiene confinadas grandes poblaciones de la gammaproteobacteria bioluminiscente gramnegativa *Aliivibrio fischeri* (↷ Sección 15.4) en un órgano lumínico localizado en su zona ventral. El calamar y la bacteria son socios en un mutualismo. La bacteria emite una luz que parece la luz de la luna penetrando en las aguas marinas, y se piensa que este camuflaje oculta el calamar a los predadores que atacan desde abajo. Algunas otras especies de *Euprymna* viven en las aguas marinas cercanas a Japón y Australia, y en el Mediterráneo, aguas que también contienen simbiontes *Aliivibrio*.

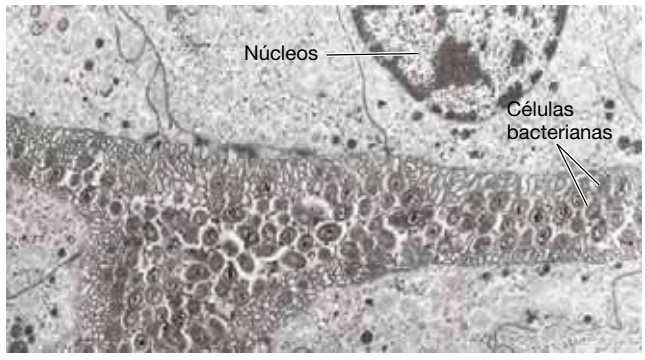
El sistema calamar-*Aliivibrio* como modelo de simbiosis

Muchas características de la simbiosis *E. scolopes-A. fischeri* han hecho de ella un modelo importante para los estudios de las simbiosis de animal y bacterias. Entre ellas, se incluye el hecho de que los animales se pueden criar en el laboratorio, y que hay una única especie bacteriana en la simbiosis, a diferencia del elevado número que se encuentra en otras simbiosis, como en las simbiosis del rumen (Figura 22.30) o en el intestino delgado de los mamíferos (Figura 22.33). Además, no se trata de una simbiosis estricta; tanto el calamar como su socio bacteriano pueden ser cultivados separadamente en el laboratorio. Esto permite criar calamares jóvenes sin simbiontes bacterianos y luego colonizarlos experimentalmente. Pueden realizarse experimentos para estudiar la especificidad en la simbiosis, el número de células bacterianas necesario para iniciar la infección, la capacidad de mutantes de *A. fischeri* genéticamente



Chris Frazee and Margaret J. McFall-Ngai, University of Wisconsin

(a)



Margaret J. McFall-Ngai, University of Wisconsin

(b)

Figura 22.39 Simbiosis calamar-*Aliivibrio*. *(a)* Un ejemplar adulto de calamar rabicorto hawaiano, *Euprymna scolopes*, de aproximadamente 4 cm de largo. *(b)* Fotografía al microscopio electrónico de transmisión de una sección delgada del órgano lumínico de *E. scolopes*, mostrando una densa población de células bioluminiscentes de *Aliivibrio fischeri*.

determinados para iniciar la infección del calamar, y muchos otros aspectos de la relación. Además, y puesto que el genoma de *A. fischeri* ha sido secuenciado, pueden emplearse las poderosas técnicas de genómica microbiana.

Cómo se establece la simbiosis calamar-*Aliivibrio*

Los calamares jóvenes recién salidos de los huevos no contienen células de *A. fischeri*. Por tanto, la transmisión de las células bacterianas a los calamares jóvenes es una transmisión horizontal (ambiental) y no vertical (de los padres a su descendencia). Casi inmediatamente después de la eclosión de los huevos, las células de *A fischeri* del agua circundante colonizan a los calamares jóvenes, entrando a través de conductos ciliados que terminan en el órgano lumínico, aún inmaduro. Sorprendentemente, el órgano lumínico es colonizado específicamente por *A. fischeri* y no por ninguna de las muchas otras especies de bacterias gramnegativas presentes en el agua marina. Incluso cuando se ofrece a los calamares jóvenes grandes cantidades de otras especies de bacterias bioluminiscentes junto con pequeñas cantidades de *A. fischeri*, solo *A. fischeri* se establecerá en el órgano lumínico. Esto significa que el animal, de alguna manera, reconoce y acepta las células de *A. fischeri* y excluye las de otras especies.

La simbiosis calamar-*Aliivibrio* se desarrolla en varias etapas. El contacto del calamar con cualquier célula bacteriana inicia el proceso general de reconocimiento. Al contacto con el peptidoglicano (un componente de la pared celular de *Bacteria*, ↻ Sección 2.10), el calamar joven secreta mucosidad desde su órgano lumínico en desarrollo. La mucosidad es la primera capa de especificidad en la simbiosis, pues forma agregados con bacterias gramnegativas, pero no con las grampositivas. En el interior de los agregados de células gramnegativas, que pueden contener solamente pequeñas cantidades de *A. fischeri,* esta bacteria de alguna forma se impone a las otras bacterias gramnegativas, para formar un monocultivo. El monocultivo se establece en las 2 h posteriores a la eclosión del huevo. Las células de *A. fischeri* presentes en el agregado, muy móviles, migran por el interior de los conductos y se introducen en los tejidos del órgano lumínico. Una vez allí, las bacterias pierden sus flagelos y, por tanto, su movilidad, y se dividen para formar densas poblaciones. (Figura 22.39*b*), e iniciar así los procesos de desarrollo que llevan a la maduración del órgano lumínico. El órgano lumínico de un *E. scolopes* maduro contiene entre 10^8 y 10^9 células de *A. fischeri.*

El óxido nítrico gaseoso (NO) ayuda a la colonización del calamar por *A. fischeri.* El óxido nítrico constituye una bien conocida respuesta defensiva de las células animales ante el ataque por patógenos bacterianos; este gas es un fuerte oxidante que causa a las células bacterianas suficientes daños por oxidación como para matarlas (↻ Sección 25.1). El óxido nítrico producido por el calamar se incorpora a los agregados mucosos y se encuentra en el órgano lumínico mismo. A medida que *A. fischeri* coloniza el órgano lumínico, los niveles de NO disminuyen rápidamente. Parece ser que las células de *A. fischeri* toleran la exposición al NO y lo consumen mediante la actividad de enzimas inactivadoras del NO. La incapacidad de otras bacterias gramnegativas de los agregados mucosos para reducir la toxicidad del NO, puede explicar el súbito enriquecimiento de *A. fischeri* en los conductos, incluso antes de que se verifique la colonización del órgano lumínico. Después de su colonización, la producción continuada de NO en el órgano lumínico evita el establecimiento de otras especies bacterianas.

La propagación de la simbiosis

El calamar llega a la edad adulta en unos dos meses, y a partir de ese momento lleva una existencia estrictamente nocturna, en la que se alimenta principalmente de pequeños crustáceos. Durante el día, el animal se entierra y permanece inmóvil en la arena. Cada mañana, el calamar vacía casi completamente de *A. fischeri* su órgano lumínico, y comienza a criar una nueva población de la bacteria. Las células bacterianas crecen rápidamente en el órgano lumínico; a media tarde, el órgano contiene ya las densas poblaciones de células de *A. fischeri* necesarias para la producción de luz visible. La emisión de luz suficiente requiere de una cierta densidad de células, que es controlada por el mecanismo regulador llamado *percepción de quórum* (*quorum sensing*) (↻ Sección 7.9). Se piensa que la expulsión diaria de las células bacterianas es un mecanismo de siembra de células del simbionte bacteriano en el ambiente. Evidentemente, esto aumenta la probabilidad de que la siguiente generación de jóvenes calamares sea colonizada.

A. fischeri crece mucho más rápidamente en el órgano lumínico que en aguas abiertas, presumiblemente porque el calamar le proporciona nutrientes. Por tanto, *A. fischeri* se beneficia de la simbiosis accediendo a un hábitat alternativo al agua marina en el cual es posible el crecimiento rápido de densas poblaciones. Los estudios de bacterias aisladas en agua mar han mostrado que *A. fischeri* no es una bacteria marina particularmente abundante. La expulsión diaria de las células de *A. fischeri* del órgano lumínico incrementa la cantidad de bacterias presente en la comunidad microbiana. Por tanto, la relación simbiótica entre la bacteria y el calamar ayuda, probablemente, a mantener poblaciones de *A. fischeri* mayores que las que existirían si todas las células fueran de vida libre. Puesto que el éxito competitivo de una especie microbiana es, hasta cierto punto, función del tamaño de su población (↻ Sección 19.1), este incremento adicional en la cantidad de células puede conferir a *A. fischeri* una importante ventaja competitiva en su hábito marino.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cuál es el valor de la simbiosis calamar-*Aliivibrio* para el calamar? ¿Y para la bacteria?
- ¿Qué características hacen de la simbiosis calamar-*Aliivibrio* un modelo ideal para el estudio de las simbiosis animal-bacteria?

22.12 Invertebrados marinos de las fumarolas hidrotermales y las emanaciones frías

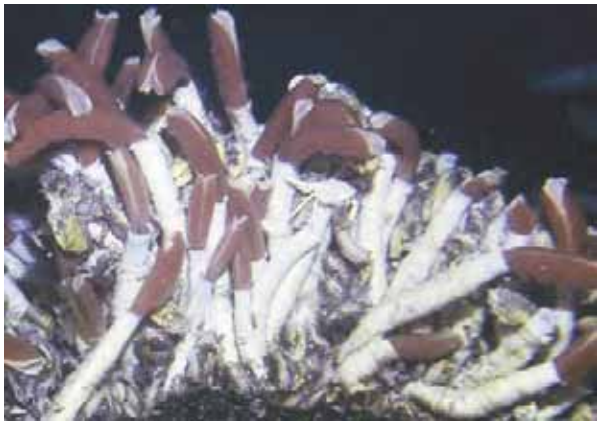
Alrededor de los manantiales calientes submarinos, o *fuentes hidrotermales*, se desarrollan diversas comunidades de invertebrados. La geoquímica y la microbiología de las fuentes hidrotermales fueron estudiadas en la Sección 19.13. Aquí nos centramos en los animales de las fuentes hidrotermales y en sus simbiontes bacterianos.

Los macroinvertebrados, incluyendo los gusanos gigantes de más de 2 m de longitud, y las grandes almejas y mejillones, se pueden encontrar cerca de estas fuentes (**Figura 22.40**). La fotosíntesis no puede sustentar estas comunidades de invertebrados porque viven por debajo de la zona fótica. Sin embargo, los fluidos hidrotermales contienen grandes cantidades de materia inorgánica reducida, incluyendo H_2S, Mn^{2+}, H_2, y CO (monóxido de carbono), y algunos manantiales contienen elevados niveles de amonio (NH_4^+), en lugar de H_2S. Todos ellos son buenos donadores de electrones para las *Bacteria* y *Archaea* quimilitotróficas que usan compuestos inorgánicos como donadores de electrones, y fijan el CO_2 como su fuente de carbono (Capítulo 13). Así, estos invertebrados de las fuentes hidrotermales pueden vivir en la oscuridad permanente, porque se alimentan a través de su asociación simbiótica con estas bacterias autotróficas.

Gusanos, mejillones, y almejas gigantes

Los animales asociados a las fuentes hidrotermales, o bien se alimentan directamente de quimilitótrofos de vida libre, o bien forman con ellos estrechas asociaciones simbióticas. Los quimiolitótrofos mutualistas pueden estar fuertemente adheridos a la superficie del animal (es decir, ser *epibiontes*), o vivir en el interior de los tejidos de los animales, a los que suministran compuestos orgánicos a cambio de una residencia segura y de un acceso fácil a los donadores de electrones necesarios para su metabolismo. Por ejemplo, los gusanos gigantes, de 2 m de longitud (Figura 22.40*a*) carecen de boca, intestino y ano, pero contienen un órgano que consiste, básicamente, en un tejido esponjoso llamado el *trofosoma*. Esta estructura, que constituye la mitad del peso del gusano, está llena de gránulos de azufre y de grandes poblaciones de bacterias esféricas oxidantes del azufre (**Figura 22.41**). Las células bacterianas tomadas del tejido del trofosoma muestran la actividad de las enzimas del ciclo de Calvin, una de los principales rutas autotróficas (↻ Sección 13.5), pero también contienen enzimas del ciclo inverso del ácido cítrico, una segunda ruta autotrófica (↻ Sección 13.5). Además, muestran un conjunto de enzimas oxidantes del azufre necesarias para obtener energía de los compuestos reducidos del azufre (↻ Secciones 13.8 y 14.11). Los gusanos gigantes se alimentan, pues, de compuestos orgánicos producidos a partir del CO_2 y secretados por los quimiolitótrofos del azufre.

Además de los gusanos gigantes, los mejillones y almejas gigantes (Figura 22.40*b*) son también habituales del entorno de las fuentes hidrotermales, y se han encontrado simbiontes bacterianos oxidantes del azufre en los tejidos de las branquias de estos animales. Los análisis filogenéticos han mostrado que cada individuo alberga una o más cepas diferentes de simbiontes bacterianos, y que varias especies de simbiontes bacterianos viven en especies diferentes de animales de los manantiales. Con la excepción del simbionte de *Riftia*, que también tiene una forma de vida libre (Tabla 22.3), ninguno de los simbiontes bacterianos de los animales de fuentes hidrotermales ha sido aún cultivado en laboratorio, a pesar de que están estrechamente relacionados con quimilitótrofos del azufre de vida libre (↻ Secciones 13.8, 14.11 y 15.5).



Dudley Foster, Woods Hole Oceanographic Institution

(a)



Carl Wirsen, Woods Hole Oceanographic Institution

(b)

Figura 22.40 Invertebrados que viven cerca de las fuentes hidrotermales submarinas. *(a)* Gusanos (filo Annelida), que muestran la cutícula (blanca) y el penacho (rojo), *(b)* Banco de mejillones en las cercanías de una fuente templada. Obsérvense los depósitos amarillos de azufre elemental procedente de la oxidación del H_2S emitido por las fuentes.



Colleen Cavanaugh

(a)



Colleen Cavanaugh

(b)

Figura 22.41 Bacterias quimiolitótrofas oxidantes del azufre asociadas con el tejido del trofosoma de los gusanos de las fuentes hidrotermales. *(a)* Fotografía al microscopio electrónico de barrido del tejido del trofosoma, en la que se observan bacterias quimiolitotróficas oxidantes del azufre, esféricas, de unos 3-5 µm de diámetro. *(b)* Fotografía al microscopio electrónico de transmisión de una sección del tejido del trofosoma. Se observa que las células bacterianas están frecuentemente por parejas, envueltas por una membrana de origen desconocido. Reproducidas con autorización de *Science 213*: 340-342 (1981), © AAAS.

El penacho branquial rojo del gusano (Figura 22.40*a*) es rico en vasos sanguíneos y se emplea para atrapar y transportar substratos inorgánicos para los simbiontes bacterianos. Los gusanos tienen unas hemoglobinas inusuales que pueden adherirse al H_2S y al O_2, que luego son transportados hasta el trofosoma, donde son liberados a los simbiontes bacterianos. El contenido en CO_2 de la sangre del gusano es también elevado, alrededor de 25 mM, y se supone que es también liberado en el trofosoma, como fuente de carbono para los simbiontes bacterianos. Además, análisis con isótopos estables (↔ Sección 18.9) del azufre elemental procedente del trofosoma han mostrado que su composición $^{34}S/^{32}S$ es la misma que la del sulfuro emanado por la fuente hidrotermal. Esta proporción es diferente a la del sulfato del agua marina, lo que constituye una prueba adicional de que el sulfuro geotermal penetra realmente en el gusano en grandes cantidades.

Otros invertebrados marinos han coevolucionado en simbiosis bacterianas que proveen también sus nutrientes (**Tabla 22.4**). Por ejemplo, en las almejas gigantes que viven cerca de las fumarolas (emanaciones espontáneas de gas natural) se han encontrado simbiontes metanótrofos (consumidores de CH_4) en aguas relativamente someras del Golfo de México. Aunque no son autótrofos (el CH_4 es un compuesto orgánico), los metanótrofos suministran nutrientes a las almejas; los metanotrofos emplean el CH_4 como fuente de carbono y como donador de electrones y secretan carbono orgánico para las almejas. Se ha descubierto recientemente que el hidrógeno molecular (H_2) es empleado como un donador de electrones por el mejillón *Bathymodiolus puteoserpentis*, que constituye la macrofauna más abundante asociada a sistemas hidrotermales alojados en períodotita, en los campos hidrotermales de la Dorsal Medio-Atlántica (↔ Sección 19.13). Estos sistemas liberan niveles extremadamente elevados de H_2 y CH_4, habiéndose medido concentraciones de H_2 hasta de 19 mM. Anteriormente se había mostrado que este mejillón vive en una simbiosis dual, con bacterias oxidantes del metano y con bacterias quimiolitótrofas oxidantes del azufre localizadas en el tejido branquial. Resulta interesante que el simbionte oxidante del azufre de *B. puteoserpentis* tiene también la capacidad de emplear el H_2 como fuente de energía, lo que hace de este mejillón uno de los componentes más versátiles de la macrofauna hidrotermal.

Genómica y simbiosis en las fuentes hidrotermales

La secuenciación del genoma está revelando nuevas características de la interacción metabólica y de la coevolución de los invertebrados marinos y de sus simbiontes bacterianos. La secuencia del genoma del endosimbionte de las branquias de la almeja gigante *Calyptogena magnifica* aporta evidencia directa de la fijación del carbono mediante el ciclo de Calvin; el genoma codifica las enzimas clave del ciclo de Calvin, ribulosa bifosfato carboxilasa (RubisCO) y fosforibuloquinasa (↔ Sección 13.5), y genes que codifican los procesos clave de oxidación del azufre. El genoma de este simbionte también codifica la biosíntesis de la mayoría de las vitaminas y los cofactores, y de los 20 aminoácidos necesarios para mantener al hospedador. Sin embargo, y debido a que en el genoma del simbionte están codificados pocos portadores de substratos específicos, se piensa que la almeja digiere células simbiontes para su nutrición, como hacen los mejillones (Tabla 22.4).

Al igual que los simbiontes estrictos de los insectos, la mayoría de los simbiontes de los invertebrados marinos tienen genomas pequeños (Tabla 22.3), lo que indica funciones reducidas y una asociación indispensable con su hospedador. El simbionte bacteriano del gusano gigante *Riftia pachyptila* es una excepción, y tiene un genoma mayor que el de algunos quimiolitótrofos de vida libre (Tabla 22.3). Los individuos jóvenes no infectados de *R. pachyptila* toman el simbionte del entorno (transmisión horizontal), y su mayor genoma es, probablemente, necesario para su supervivencia como bacteria de vida libre.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cómo adquieren su nutrición los gusanos gigantes?
- ¿Cuáles son las similitudes entre las simbiosis estrictas de los insectos y las de los invertebrados de las fuentes hidrotermales?
- ¿Qué factores determinan el tamaño del genoma de los simbiontes de los invertebrados marinos?

22.13 Las sanguijuelas

Las sanguijuelas son anélidos parásitos (gusanos segmentados). Las sanguijuelas están relacionadas con los gusanos terrestres y comparten con ellos varias propiedades. Algunas

Tabla 22.4 Animales marinos con bacterias endosimbióticas quimiolitótrofas o metanótrofas

Hospedador (género u orden)	*Nombre común*	*Hábitat*	*Tipo metabólico del simbionte*
Porifera (Demospongiae)	Esponja	Fumarolas negras	Metanotrofos
Platyhelminthes (Catenulida)	Platelminto	Aguas someras	Quimiolitótrofos del azufre
Nematoda (Monhysterida)	Nematodos «sin boca»	Aguas someras	Quimiolitótrofos del azufre
Mollusca (*Solemya, Lucina*)	Almeja	Fuentes hidrotermales, fumarolas negras, aguas someras	Quimiolitótrofos del azufre
Mollusca (*Calyptogena*)	Almeja	Fuentes hidrotermales, fumarolas negras, restos de ballenas[a]	Quimiolitótrofos del azufre
Mollusca (*Bathymodiolus*)	Mejillón	Fuentes hidrotermales, fumarolas negras, restos de ballenas y madera[a]	Quimiolitótrofos del azufre y H_2, metanotrofos
Mollusca (*Alviniconcha*)	Caracol	Fuentes hidrotermales	Quimiolitótrofos del azufre
Annelida (*Riftia*)	Gusano	Fuentes hidrotermales, fumarolas negras, restos de ballenas y madera[a]	Quimiolitótrofos del azufre

[a]Por restos de ballenas y madera se entienden esqueletos hundidos de ballena, y madera hundida, respectivamente.

sanguijuelas viven en entornos marinos, pero el ejemplo que vamos a estudiar, la sanguijuela medicinal *Hirudo verbana* (**Figura 22.42*a***), vive en aguas dulces.

El estilo de vida parasitario de las sanguijuelas

Como muchos animales dependientes de un socio microbiano, las sanguijuelas medicinales tienen una dieta restringida. Se alimentan exclusivamente de la sangre de vertebrados, y secretan poderosos anticoagulantes y vasodilatadores que estimulan el flujo de sangre. En una sola comida, *H. verbana* puede ingerir más de cinco veces su peso corporal en sangre. La sangre ingerida es almacenada en el *buche*, que es el mayor compartimento de su tracto digestivo (Figura 22.42*b*). Mientras se alimenta, agua y sales del contenido del buche van siendo absorbidas, hasta que la mayor parte del agua es eliminada y el fluido alcanza el equilibrio osmótico con la hemolinfa de la sanguijuela. El agua excedente y los desperdicios nitrogenados son secretados a través de varios pares de vejigas. Tanto el tracto digestivo como las vejigas alojan comunidades microbianas. Se piensa que una de las funciones de los simbiontes es proporcionar nutrientes esenciales, tales como la vitamina B_{12}, presente en bajas cantidades, o completamente ausente, de la sangre ingerida.

La sorprendente capacidad de las sanguijuelas medicinales para extraer sangre y secretar compuestos farmacológicamente activos ha sido aprovechada durante siglos para la práctica médica de la *sangría*, y de forma habitual en tiempos recientes, en la cirugía plástica y reconstructiva. La conexión de las venas es un auténtico desafío en la práctica médica de los implantes y trasplantes. Si, después de una cirugía de trasplante, el número de venas funcionales que salen del tejido introducido quirúrgicamente es insuficiente, el flujo de sangre fresca oxigenada hacia el tejido se detiene. La falta de oxígeno puede hacer fracasar el trasplante. Si se aplican sanguijuelas al área, estas extraen sangre, permitiendo que la sangre fresca penetre en el tejido, lo que aumenta la probabilidad de éxito del trasplante.

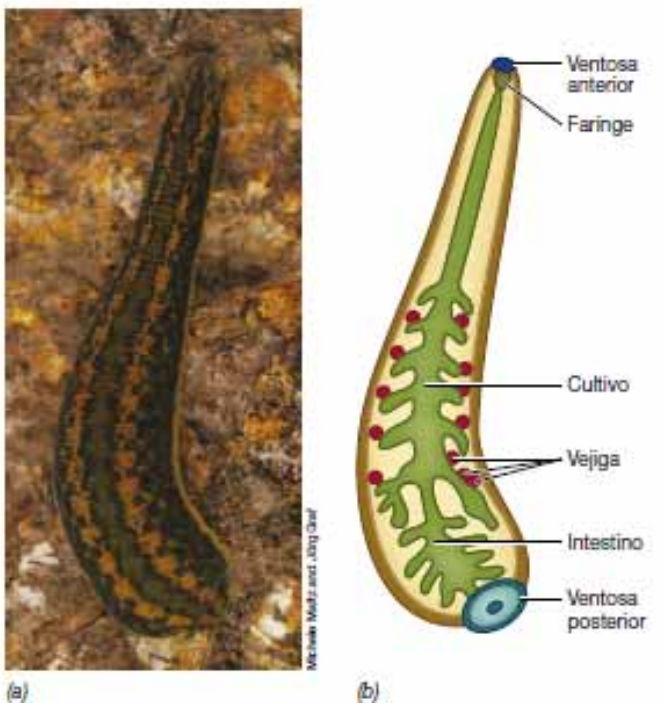


Figura 22.42 **Sanguijuela medicinal *Hirudo verbana*.** *(a)* Un ejemplar de unos 6 cm de longitud. *(b)* Anatomía de *H. verbana,* mostrando el buche, el intestino, y los pares de vejigas.

La comunidad microbiana de las sanguijuelas

El tracto digestivo de las sanguijuelas tiene dos compartimentos principales que alojan comunidades microbianas: el tracto digestivo propiamente dicho (el gran buche y un intestino más pequeño), donde se cree que tiene lugar la digestión de los eritrocitos y la absorción de nutrientes, y las vejigas (Figura 22.42*b*). La comunidad microbiana del buche es sorprendentemente simple. Estudios de cultivos independientes empleando una combinación del análisis del gen 16S rRNA e hibridación fluorescente in situ (FISH, de *fluorescence in situ hybridization*, ↻ Sección 18.4) han revelado que la comunidad microbiana en el interior del buche está dominada por dos especies, *Aeromonas veronii* (*Gammaproteobacteria*) y una bacteria similar a *Rikenella* (*Bacteroidetes*). La complejidad de la comunidad microbiana aumenta a lo largo del canal alimenticio que conduce al intestino (Figura 22.42*b*). En el intestino prevalecen varias *Alpha-* y *Gammaproteobacteria*, junto con *Bacteroidetes* y *Firmicutes*.

La funcionalidad de la comunidad microbiana simple del buche ha sido estudiada empleando una combinación de análisis metagenómico y metatranscriptómico (Capítulo 6), y ambos sugieren que el simbionte similar a *Rikenella* es capaz de extraer alimento de los sulfato- y sialato-mucopolisacáridos (glicanos) que tapizan la superficie del epitelio del buche. Las mucinas comprenden una familia de proteínas altamente glicosiladas que forman geles, que actúan como lubricantes o como barreras protectoras sobre la superficie de los tejidos epiteliales. El conocimiento basado en la secuenciación ha incentivado el desarrollo de un medio de cultivo basado en la mucina, posteriormente empleado con éxito para el aislamiento y enriquecimiento selectivo del simbionte similar a *Rikenella*, confirmando su capacidad para fermentar polisacáridos derivados del hospedador a acetato. Puesto que el acetato es empleado probablemente por *Aeromonas veronii*, este descubrimiento aportó también un posible enlace fisiológico entre los dos principales simbiontes del buche. Además, la capacidad del simbionte similar a *Rikenella* para emplear la mucina derivada de las sanguijuelas puede explicar la capacidad de los simbiontes para permanecer en el interior del intestino de las sanguijuelas hasta 6 meses entre dos ingestiones de sangre.

La comunidad microbiana inusualmente simple del interior del buche sugiere que hay mecanismos que evitan que otros microorganismos lo colonicen. La especificidad de las asociaciones simbióticas puede verse afectada por el modo de transmisión y por los mecanismos moleculares que interfieran con la colonización o el mantenimiento de los microorganismos que se introducen en el hábitat del intestino, como vimos en el caso de la colonización por *Aliivibrio* del órgano lumínico del calamar (Sección 22.11). Por ejemplo, los hemocitos de las sanguijuelas, células similares a los macrófagos de los invertebrados (↻ Sección 24.1), patrullan el intestino y fagocitan las bacterias. *A. veronii* es capaz de evitar la fagocitosis y colonizar el intestino de la sanguijuela inyectando toxinas directamente en

los hemocitos, mediante un sistema de secreción bacteriana que actúa como una jeringuilla molecular (↩ Sección 4.14).

Las vejigas de las sanguijuelas (Figura 22.42*b*) albergan un interesante conjunto de microorganismos. Las células epiteliales que tapizan el lumen de las vejigas están empaquetadas de manera compacta con una especie de *Ochrobactrum*. Estas bacterias están relacionadas con simbiontes alfaproteobacterianos, tanto beneficiosos como patógenos, tales como *Sinorhizobium meliloti* (Sección 22.3) y *Brucella abortus*. La comunidad microbiana del lumen de las vejigas presenta una estratificación peculiar. Dos especies de *Bacteroidetes* colonizan la zona epitelial y dos especies de *Betaproteobacteria* colonizan la zona luminal de la estructura de biofilme que cubre la pared vesicular (**Figura 22.43**).

Las relaciones simbióticas requieren la transmisión de los socios microbianos entre generaciones de hospedadores. Muchos simbiontes intestinales se transmiten horizontalmente (ambientalmente), pero parece ser que *A. veronii* se transmite verticalmente de los padres a su descendencia a través de los «capullos» en los que los embriones se desarrollan (las sanguijuelas jóvenes extraídas de sus capullos ya están infectadas con celdas de *A. veronii*). Igualmente, la mayoría de los simbiontes de las vejigas han sido también detectados en los individuos jóvenes extraídos de sus capullos. Esta transmisión vertical de los simbiontes asegura su transferencia segura a la siguiente generación de hospedadores.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cómo transmiten las sanguijuelas los simbiontes a su descendencia?
- ¿En qué sentido se parece el simbionte de las sanguijuelas *Aeromonas veronii* a una bacteria patógena?
- ¿Qué interacción metabólica se ha sugerido entre los simbiontes *veronii* y la bacteria similar a *Rikenella*?

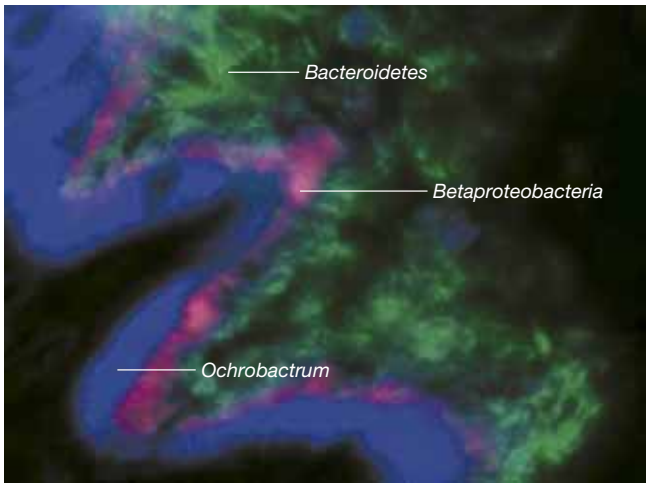


Figura 22.43 Fotografía de una comunidad microbiana con una tinción FISH en la vejiga de una *Hirudo verbana*. Una sonda (roja) dirigida al 16S rRNA de *Betaproteobacteria* y una sonda (verde) dirigida al 16S rRNA de *Bacteroidetes* muestran distintas capas de bacterias diferentes en el lumen de la vejiga. La tinción con DAPI (azul), que se une al DNA, muestra la alfaproteobacteria intracelular *Ochrobactrum* y los núcleos hospedador.

22.14 Los corales constructores de arrecifes

Los ecosistemas del arrecife de coral son producto de asociaciones mutualísticas entre algas y animales marinos simples. Los extensos ecosistemas asociados con la distribución global de estos mutualismos sustentan decenas de miles de especies.

Simbiosis fototróficas con animales

Al inicio de este capítulo vimos que un liquen es un mutualismo entre un hongo y un socio fotótrofo—un alga o una cianobacteria. Al igual que los hongos, algunos animales establecen asociaciones mutualistas con algas fotosintéticas o cianobacterias (**Tabla 22.5**). Los animales de la mayoría de estas asociaciones están en filos que presentan estructuras corporales muy simples; por ejemplo, Porifera (esponjas) y Cnidaria (corales, anémonas marinas y pólipos). Estas asociaciones mutualistas animal-bacteria viven en las aguas claras tropicales, donde los nutrientes para los animales son escasos, y los cuerpos de los animales tienen típicamente una superficie muy grande en relación a su volumen, lo que resulta apropiado para captar la luz.

El esqueleto del coral es una estructura captadora de la luz extremadamente eficiente que refuerza extraordinariamente su absorción. Hay solo unos pocos casos de algas que forman asociaciones con animales más complejos, tales como los de los filos Platyhelminthes (gusanos planos), Mollusca (caracoles y almejas), y Urochordata (ascidias marinas). En estos casos, o bien el animal tiene una adecuada relación superficie/volumen o ha desarrollado superficies específicas captadoras de la luz. Los simbiontes fotótrofos unicelulares presentan gran diversidad filogenética e incluyen cianobacterias (↩ Sección 14.3), algas verdes y rojas, diatomeas y dinoflagelados (Capítulo 17). Los más comunes son las algas verdes *Chlorella* (asociadas con esponjas e hidras de agua dulce), cianobacterias (asociadas con esponjas marinas), y especies de dinoflagelados del género *Symbiodinium*.

El más espectacular y ecológicamente significativo de estos mutualismos es el que se produce entre los cnidarios corales pétreos (del orden Scleractinia) y los dinoflagelados *Symbiodinium* (**Figura 22.44**). Juntos, los corales y los dinoflagelados forman la base trófica y estructural del ecosistema del arrecife de coral. Los cnidarios poseen una estructura corporal muy simple, formada por dos capas de tejido (ectodermo y gastrodermo) y albergan al simbionte dinoflagelado intracelularmente en vacuolas llamadas *simbiosomas*, en el interior de las celdas de la capa de tejido (gastrodermal) más interna (Figura 22.44*c*). Las algas reciben nutrientes inorgánicos clave del metabolismo

Tabla 22.5 Simbiosis entre animales y simbiontes fotótrofos

Hospedador	*Nombre común*	*Simbiontes*
Porifera	Esponja	Cyanobacteria, *Chlorella*, *Symbiodinium*
Cnidaria	Coral, anémona marina	*Symbiodinium*, *Chlorella*
Platyhelminthes	Platelminto	Diatomeas, clorofitas primitivas
Mollusca	Caracol, almeja	*Symbiodinium*, *Chlorella*
Ascidia	Ascidia	Cyanobacteria

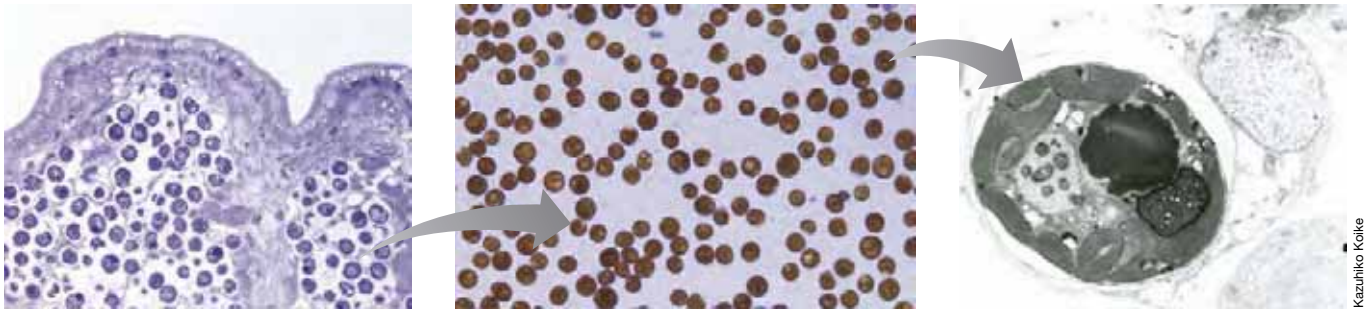


Figura 22.44 ***Symbiodinium*, simbionte de los invertebrados marinos.** *(a)* Fotografía al microscopio de una delgada sección de *Symbiodinium* del tejido del manto de una almeja gigante. *(b)* Células de *Symbiodinium* recubiertas de un coral suave. *(c)* Fotografía al microscopio electrónico de transmisión de una célula de *Symbiodinium* en el interior de una vacuola de una célula de coral pétreo *Ctenactis echinata*. La célula de *Symbiodinium* tiene unos 10 µm de diámetro.

hospedador y pasan compuestos orgánicos producidos fotosintéticamente a los corales. Este mutualismo ha permitido a los arrecifes coralinos desarrollarse en grandes extensiones de aguas oceánicas pobres en nutrientes. Los dinoflagelados y otros alveolados comprenden 8 géneros y alrededor de 2.000 especies actualmente existentes (↻ Sección 17.5). Aunque los mutualismos con dinoflagelados son comunes, la mayoría se produce entre especies de *Symbiodinium* y protistas o invertebrados marinos (Figura 22.44). Aquí nos centraremos en la asociación simbiótica entre *Symbiodinium* y los corales pétreos cnidarios.

Transmisión, especificidad, y beneficios de la asociación *Symbiodinium*-coral

Los corales constructores de arrecifes se reproducen sexualmente liberando gametos en el agua marina (desove por diseminación). Un gameto macho y un gameto hembra se funden para formar una larva nadadora libre que se establece posteriormente en la superficie, donde puede iniciar una nueva colonia de coral. Las algas simbiontes están presentes normalmente en los huevos antes de que sean liberados por los padres (transmisión vertical), aunque las células de *Symbiodinium* de vida libre pueden también ser ingeridas por los corales jóvenes (transmisión horizontal). Un coral en desarrollo que ingiere dinoflagelados los digiere a todos excepto al *Symbiodinium* particular de su mutualismo. Después de establecer una asociación, el coral controla el crecimiento del *Symbiodinium* mediante señalización química y, después de cada división celular, cada célula hija de *Symbiodinium* es alojada en un nuevo simbiosoma.

Ambos socios en el mutualismo cnidario-dinoflagelado han desarrollado adaptaciones de intercambio nutricional. Los dinoflagelados entregan la mayoría del carbono que han fijado fotosintéticamente (en forma de pequeñas moléculas, tales como azúcares, glicerol y aminoácidos) a los cnidarios a cambio de nitrógeno inorgánico, fósforo y carbono inorgánico del hospedador. Además de proporcionar protección y nutrientes inorgánicos, el esqueleto de carbonato cálcico de los corales es uno de los más eficientes colectores naturales de radiación solar, que amplía el campo de captación de luz incidente de los simbiontes por un factor de al menos cinco veces. Esto beneficia al simbionte, que puede llevar a cabo la fotosíntesis bajo una columna de agua que absorbe la luz.

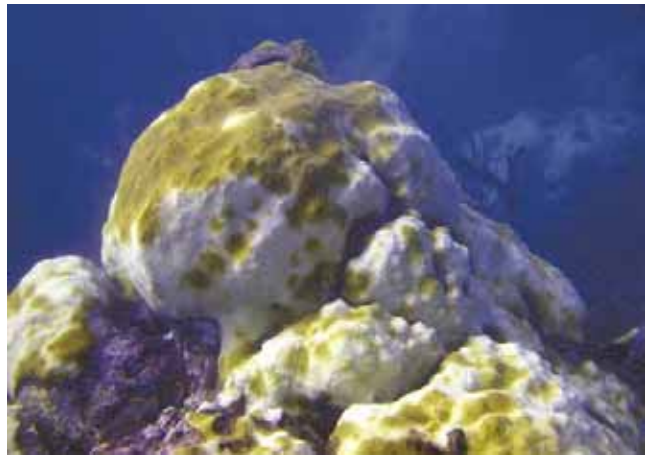
Decoloración del coral —los riesgos de albergar un simbionte fotótrofo en un mundo cambiante

Gran parte de los extensos sistemas de arrecifes coralinos en los océanos de todo el mundo están amenazados de extinción, fundamentalmente como consecuencia de la actividad humana. Las pérdidas que está sufriendo este hermoso y productivo ecosistema parecen ser el resultado de concentraciones elevadas de CO_2 atmosférico; y como consecuencia, mayores temperaturas en la superficie del mar, elevación del nivel de la superficie marina, y acidificación del océano (↻ Secciones 20.6 y 20.8). El desarrollo costero también amenaza los sistemas de arrecifes, contribuyendo a la polución mediante el vertido de aguas residuales, la eutrofización debida al vertido de nutrientes, y la sobrepesca. Estos cambios medioambientales están contribuyendo a una elevada mortalidad, por enfermedades, pérdida de estructura coralina por la calcificación reducida a causa de la acidificación, y el blanqueamiento o decoloración. Los corales sanos albergan millones de células de *Symbiodinium* por centímetro cuadrado de tejido. El blanqueamiento es la pérdida de color de los tejidos hospedadores causada por la lisis de los simbiontes, poniendo al descubierto el esqueleto calizo blanco subyacente (**Figura 22.45**).

Los arrecifes coralinos viven muy próximos a su temperatura óptima y es el efecto sinérgico de la mayor temperatura de la superficie marina y la irradiación lo que causa el blanqueamiento masivo. La elevada temperatura e irradiación dañan al aparato fotosintético de los dinoflagelados, lo que causa la producción de formas reactivas del oxígeno (por ejemplo, oxígeno singlete y superóxidos, ↻ Sección 5.16), dañinas tanto para el hospedador como para el simbionte. Se piensa que el blanqueamiento está causado por una respuesta protectora inmunitaria del hospedador que destruye a los simbiontes. Incrementos en la temperatura superficial marina tan pequeños como 0,5-1,5 °C por encima del máximo local, si se mantienen durante varias semanas, pueden inducir una rápida decoloración del coral. Un descenso significativo de la temperatura por debajo del rango óptimo para el crecimiento coralino puede producir un impacto similar. El estrés térmico, acentuado por los incrementos estacionales de la radiación electromagnética en el espectro ultravioleta y en algunas longitudes de onda visibles, ha ocasionado el blanqueamiento de grandes extensiones de arrecife coralino.



(a)



(b)

Figura 22.45 **Decoloración del coral.** *(a)* Dos colonias del coral «de cerebro» *Colpophyllia natans*. El coral de la izquierda presenta un saludable color castaño, mientras que el coral de la derecha está completamente blanqueado. *(b)* Una extensa colonia, parcialmente decolorada, de *Montastraea faveolata*.

Aunque los arrecifes de coral están claramente amenazados, hay mucha incertidumbre acerca de su futuro. Las predicciones más ominosas, basadas en los aumentos previstos en la temperatura marina, apuntan al colapso de los sistemas de arrecifes coralinos del Océano Índico en solo unos pocos años y a un posible colapso global de los arrecifes coralinos hacia la mitad de este siglo. Sin embargo, estas predicciones se han realizado cuando aún se carece de un conocimiento básico de la vulnerabilidad de las especies individuales de coral y de la capacidad adaptativa de cada uno de los mutualismos coral-simbionte. Por ejemplo, la tolerancia térmica está conferida en parte por especies o cepas de *Symbiodinium*, y después de un episodio de blanqueamiento el mutualismo puede cambiar hacia un simbionte más tolerante térmicamente (**Figura 22.46**).

Los resultados moleculares han indicado que hay más de 150 filotipos diferentes de *Symbiodinium*, y cada uno de ellos representa posiblemente a distintas especies con diferente tolerancia al estrés térmico. Tanto el cambio como la permuta de simbionte han sido propuestos como mecanismos subyacentes para la sustitución de simbiontes. En el cambio, el simbionte es tomado de la población de una columna de agua. En la permuta, el cambio es el resultado de un crecimiento diferencial de una variante genética ya asociada con el coral, pero en pequeñas cantidades, produciéndose un intercambio de nichos con el mutualismo previamente dominante, después del episodio de blanqueamiento. La mayoría de los estudios indican que la permuta es el mecanismo adaptativo más común, pero la incertidumbre permanece. Debido a este tipo de influencias del simbionte en la capacidad del coral para adaptarse al estrés asociado al cambio climático, para predecir el futuro estado de salud de los corales, de sus simbiontes y de los arrecifes construidos entre ambos, es necesario un conocimiento más completo de los mecanismos alternativos de respuesta adaptativa, incluyendo posibles cambios de simbionte.

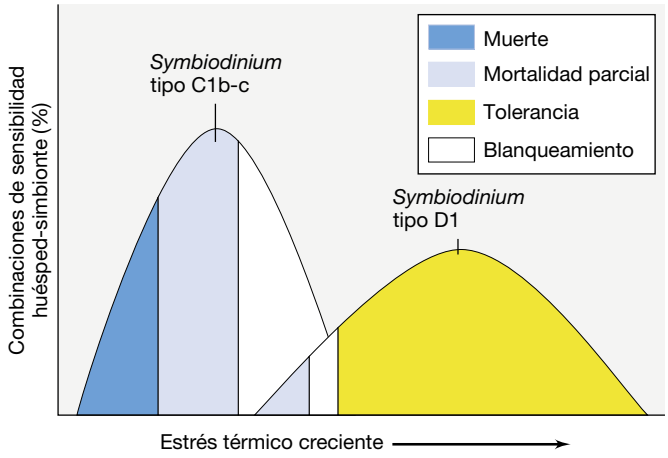


Figura 22.46 **Tolerancia diferencial al estrés de especies de coral asociadas con diferentes filotipos de *Symbiodinium*.** Los corales *Pocillopora* asociados simbióticamente con *Symbiodinium* tipo C1b-c resultaron mucho más sensibles a un ensayo de estrés térmico que la misma especie de coral asociada con *Symbiodinium* tipo D1. La asociación *Symbiodinium-Pocillopora* más tolerante sufrió una mortalidad muy baja. La respuesta observada sugería también la existencia de variaciones genéticas adicionales en cada tipo de *Symbiodinium*, puesto que los dos mutualismos presentaron rangos de sensibilidades al estrés térmico creciente.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué proporciona a los corales sus espectaculares colores?
- ¿Cuáles son los dos mecanismos de la transferencia de *Symbiodinium* a los corales en desarrollo?
- ¿Cuáles son los principales factores medioambientales que contribuyen al blanqueamiento de los corales?

IDEAS PRINCIPALES

22.1 • Los líquenes son asociaciones mutualistas entre un hongo y un fotótrofo oxigénico.

22.2 • El consorcio «*Chlorochromatium aggregatum*» es un mutualismo entre una bacteria verde del azufre fototrófica y heterótrofo móvil. El beneficio mutuo se basa en que el fotótrofo proporciona materia orgánica al heterótrofo a cambio de la movilidad, lo que permite un rápido reposicionamiento en los lagos estratificados para obtener un nivel óptimo de luz y nutrientes.

22.3 • Una de las simbiosis planta-microbio más beneficiosas para la agricultura es la que existe entre las leguminosas y las bacterias fijadoras del nitrógeno. Las bacterias inducen la formación de nódulos radiculares en cuyo interior tiene lugar la fijación del nitrógeno. La planta proporciona la energía necesaria a las bacterias de los nódulos radiculares, y las bacterias proporcionan nitrógeno fijado a la planta.

22.4 • La bacteria de la enfermedad de las agallas *Agrobacterium* establece una relación única con las plantas. Parte del plásmido Ti de la bacteria puede ser transferido al genoma de la planta, iniciando la enfermedad de las agallas. El plásmido Ti ha sido empleado para la ingeniería genética de cultivos vegetales.

22.5 • Las micorrizas son asociaciones mutualistas entre hongos y las raíces de plantas que permiten a la planta extender su sistema radicular por medio de la interacción íntima con una extensa red de micelios fúngicos. Se conocen ectomicorrizas y endomicorrizas. La red de micelios proporciona a la planta nutrientes inorgánicos esenciales, y la planta, a su vez, proporciona compuestos orgánicos a los hongos.

22.6 • La fermentación microbiana es importante para la digestión en todos los mamíferos. Varios mutualismos microbianos han evolucionado en diferentes mamíferos para permitir la digestión de diferentes tipos de comida. Los herbívoros consiguen casi todo su carbono y su energía de la fibra vegetal.

22.7 • El rumen, el órgano digestivo de los rumiantes, está especializado en la digestión de la celulosa, que se lleva a cabo mediante microorganismos. Bacterias, protistas y hongos producen en el interior del rumen ácidos grasos volátiles que proporcionan energía a los rumiantes. Los microorganismos del rumen sintetizan vitaminas y aminoácidos, y son también la principal fuente de proteínas —todo ello empleado por los rumiantes.

22.8 • El microbioma humano comprende todas las partes del cuerpo humano en las que viven los microorganismos. Los microorganismos son críticos para el desarrollo infantil, la salud, y la predisposición a la enfermedad. La comunidad microbiana del intestino humano es única, comparada con las de otros mamíferos. La microflora intestinal afecta a la energía recuperada de la comida, y un cambio en la estructura de la comunidad intestinal puede ser una de las principales causas de la obesidad.

22.9 • Una gran cantidad de insectos ha establecido mutualismos estrictos con bacterias, frecuentemente basados en la biosíntesis bacteriana de nutrientes tales como aminoácidos, de los que carece la comida de la que se alimenta el insecto. Los mutualismos estrictos establecidos hace mucho tiempo se caracterizan por una extrema reducción del genoma del simbionte, que retiene únicamente los genes esenciales para el mutualismo.

22.10 • Las termitas se asocian simbióticamente con bacterias y protistas capaces de digerir las paredes de las células vegetales. La singular configuración del intestino de las termitas y la comunidad microbiana del intestino posterior, compuesta en su mayor parte de bacterias celulolíticas, protistas y bacterias acetogénicas, produce elevados niveles de acetato, la fuente primaria de carbón y energía para las termitas.

22.11 • El órgano emisor de luz de la parte inferior del calamar rabicorto Hawaiano proporciona un hábitat para las células bioluminiscentes de *Aliivibrio fischeri.* Del mutualismo que tiene lugar en el órgano lumínico, el calamar consigue protección de los predadores, mientras que la bacteria se beneficia de un hábitat en el que puede crecer rápidamente, y contribuir con células a su población de vida libre.

22.12 • La mayoría de los invertebrados que viven en los fondos marinos, cerca de las regiones receptoras de fluidos hidrotermales, han establecido mutualismos estrictos con bacterias quimiolitótrofas. Estos mutualismos tienen carácter nutricional, permitiendo a los invertebrados prosperar en un ambiente enriquecido en materia inorgánica reducida, tal como H_2S, que es abundante en los fluidos termales. Los invertebrados, a cambio de nutrientes orgánicos, proporcionan a los simbiontes un ambiente nutricional ideal.

22.13 • Las sanguijuelas y determinadas especies bacterianas forman simbiosis en regiones del cuerpo del hospedador que son importantes para su nutrición y para la retención del nitrógeno. La existencia de mecanismos de transmisión vertical de los simbiontes indica que estos mutualismos están muy evolucionados y son funcionalmente esenciales.

22.14 • El mutualismo entre el dinoflagelado *Symbiodinium* y los corales pétreos produce los ecosistemas de arrecifes coralinos extendidos por todo el mundo. Estos ecosistemas mantienen una enorme diversidad de vida marina. El blanqueamiento del coral, debido al cambio climático, amenaza estos ecosistemas.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Ácidos grasos volátiles (VFAs, de *Volatile fatty acids*): los principales ácidos grasos (acetato, propionato y butirato) producidos durante la fermentación en el rumen.

Arbúsculo: estructura de hifas, ramificadas o arrolladas, en el interior de las células de la corteza interna de las plantas con una infección de micorrizas.

Bacteriocito: una célula especializada de un insecto en la que residen simbiontes bacterianos.

Bacterioma: región especializada de varios grupos de insectos que contiene bacteriocitos llenos de simbiontes bacterianos.

Bacteroide: célula deformada de rizobia en el interior de un nódulo radicular de leguminosa; puede fijar N_2.

Coevolución: evolución que progresa conjuntamente en un par de especies íntimamente asociadas, debido a los efectos que cada una produce en la otra.

Consorcio: un mutualismo entre bacterias, por ejemplo, una bacteria verde del azufre fototrófica y una bacteria móvil no fototrófica.

Disbiosis: una alteración o desequilibrio del microbioma de un individuo, en relación con su estado normal, sano, principalmente observada en la microbiota del tracto digestivo o de la piel.

Factores Myc: lipoquitina oligosacáridos producidos por hongos micorrizógenos para iniciar la simbiosis con una planta.

Factores Nod: lipoquitina oligosacáridos producidos por las bacterias de los nódulos radiculares que ayudan a iniciar la simbiosis planta-bacteria.

Filamento de infección: en la formación de nódulos radiculares, un tubo de celulosa a través del que las células de *Rhizobium* pueden viajar, para alcanzar e infectar las células de la raíz.

Leghemoglobina: proteína que une el O_2 que se encuentra en los nódulos radiculares.

Liquen: un hongo y un alga (o una cianobacteria) que viven en asociación simbiótica.

Mutualismo: una simbiosis en la que ambos socios se benefician.

Micorriza: asociación simbiótica entre un hongo y las raíces de una planta.

Nódulo radicular: un crecimiento, similar a un tumor animal, que se produce en las raíces vegetales que contienen bacterias simbióticas fijadoras del nitrógeno.

Plásmido Ti: un plásmido conjugativo de la bacteria *Agrobacterium tumefaciens* que puede transferir genes a las plantas.

Rumen: el primer recipiente del estómago con múltiples cámaras de los rumiantes, en el que tiene lugar la digestión de la celulosa.

Simbiosis: la íntima relación entre dos organismos, a menudo desarrollada a través de una prolongada asociación y coevolución.

MasteringMicrobiology®

Revise lo que sabe y descubra lo que ha aprendido con MasteringMicrobiology. Acceda a material de estudio, revisiones de los capítulos, animaciones y tutoriales de microbiología práctica en el Área de Estudio y asegúrese de que ha asimilado todo el contenido de este capítulo.

PREGUNTAS DE REPASO

1. Describa las similitudes y las diferencias entre las simbiosis del liquen y del coral. (Secciones 22.1, 22.14)
2. En la simbiosis del «*Chlorochromatium*», ¿cómo se beneficia cada uno de los socios? (Sección 22.2)
3. Describa las etapas de la formación de los nódulos radiculares en una leguminosa. ¿Cuál es la naturaleza del reconocimiento entre vegetal y bacteria, y cómo ayudan a controlar el proceso los factores Nod? ¿Cómo puede compararse este proceso con el reconocimiento en el sistema *Agrobacterium*-planta? (Secciones 22.3 y 22.4)
4. Indique las similitudes y diferencias entre la producción de un tumor vegetal por *Agrobacterium tumefaciens* y de un nódulo radicular por una especie de *Rhizobium.* ¿Cuál es la importancia de los plásmidos en el desarrollo de ambas estructuras? (Secciones 22.3 y 22.4)
5. ¿Cómo mejoran las micorrizas el crecimiento de los árboles? ¿Cuál es el parecido(s) entre los nódulos y las simbiosis micorrizas? (Sección 22.5)
6. ¿Qué es el rumen y cómo actúan los procesos digestivos en el tracto digestivo de los rumiantes? ¿Cuáles son los principales beneficios y las mayores desventajas del sistema del rumen? ¿Cómo pueden compararse un animal con ciego y un rumiante? (Secciones 22.6 y 22.7)
7. Cite un ejemplo de una especie microbiana singular que contribuya a la salud de los herbívoros. Cite un ejemplo de una especie microbiana singular que contribuya a la patología de un herbívoro. (Sección 22.7)
8. ¿Cuál puede ser el mecanismo por el que la comunidad microbiana del intestino humano incrementa la recuperación de energía, contribuyendo así a la obesidad? (Sección 22.8)
9. ¿Por qué se pensó durante mucho tiempo que *Escherichia coli* era el miembro dominante de la comunidad microbiana del intestino humano? (Sección 22.8)
10. ¿Cómo pueden los áfidos alimentarse únicamente de la savia de los vasos del floema de las plantas, rica en carbohidratos pero pobre en nutrientes? (Sección 22.9)

11. ¿Por qué en los simbiontes transmitidos horizontalmente se observa una reducción del genoma menor que la observada en los simbiontes heredables, muy significativa? (Sección 22.9)
12. ¿Cómo se diferencian las comunidades microbianas de los intestinos de las termitas superiores e inferiores, en su composición y en la forma en que realizan la degradación de la celulosa? (Sección 22.10)
13. ¿Cómo se selecciona el simbionte bacteriano correcto en la simbiosis calamar-*Aliivibrio*? (Sección 22.11)
14. ¿Cómo obtiene sus nutrientes un gusano si carece de boca, intestino y ano? (Sección 22.12)
15. Compare las comunidades microbianas del buche, el intestino y las vejigas de las sanguijuelas medicinales. (Sección 22.13)
16. ¿Cómo afecta la estructura corporal de los corales a su capacidad para asociarse simbióticamente con *Symbiodinium*? (Sección 22.14)

EJERCICIO PRÁCTICO

1. Imagine que ha descubierto un nuevo animal que únicamente consume hierba. Usted sospecha que es un rumiante y dispone de un espécimen para su inspección anatómica. Si el animal es un rumiante, describa la posición y los componentes básicos del tracto digestivo que esperaría encontrar, y los microorganismos y substancias clave que debería buscar. ¿Qué tipos metabólicos de microorganismos o genes específicos deberían estar presentes?

CAPÍTULO

23 · Interacciones de los microorganismos con la especie humana

microbiología actual

El microbioma fúngico de la piel

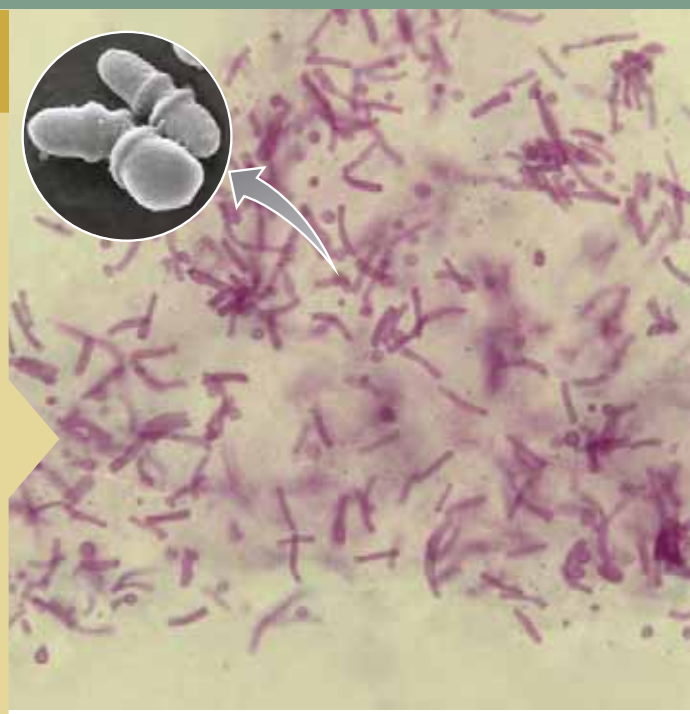
Un reto importante para obtener una imagen adecuada del microbioma humano es la increíble diversidad del mismo. Por ello, resulta difícil la adquisición de datos completos que la reflejen adecuadamente. Además de las bacterias, hay otros microorganismos que habitan el cuerpo humano, hongos en particular, y es importante incluirlos para obtener un censo fidedigno del microbioma humano. Una investigación reciente logra precisamente esto.[1]

En esta investigación, se tomaron muestras de 14 zonas diferentes del cuerpo de diez voluntarios humanos sanos, y las muestras se procesaron para analizar la diversidad bacteriana y fúngica. La aplicación de métodos genómicos a un gen filogenético clave de los hongos permitió a los investigadores generar más de cinco millones de secuencias que se compararon con las secuencias de genes del 16S rRNA bacteriano, también obtenidas de las mismas muestras. Mediante el análisis y la comparación de la diversidad presente en tales muestras, se obtuvo una lista completa del microbioma de la piel humana que incluye más de 200 géneros de hongos y otros tantos de bacterias.

Este estudio demostró que el hongo *Malassezia* (véanse las fotografías) estaba presente en todas las zonas del cuerpo y era el género predominante en todas, excepto en los pies. Esta última zona tenía una alta diversidad fúngica, pero una diversidad bacteriana relativamente baja. En general, la diversidad fúngica se correlacionaba con cada parte del cuerpo, siendo precisamente la zona de los pies la de mayor diversidad. La diversidad bacteriana, en cambio, dependía más de la fisiología de las zonas de la piel (húmeda, seca, u oleosa), como veremos más adelante en este capítulo.

Entender completamente la función de la piel en la salud y la enfermedad precisa de la comprensión de la biología de la microbiota de la piel normal, incluidos los hongos. El papel de la microbiota normal en la protección contra las enfermedades, y los mecanismos por los que el sistema inmunitario aprende a tolerarla son temas importantes en este campo, y deben seguir siendo investigados en el futuro.

[1]Findley, K., *et al.* 2013. Topographical diversity of fungal and bacterial communities in human skin. *Nature* doi:10.11038/nature12171.



I Interacciones normales entre humanos y microorganismos 764
II Patogenia 772
III Factores del hospedador en la infección y la enfermedad 784

Los seres humanos poseen una extensa población de microorganismos que incluyen grandes números de bacterias y hongos distribuidos en la piel y en las membranas mucosas que recubren la boca, el intestino y el aparato genitourinario. Aunque el cuerpo humano se compone de alrededor de 10^{13} células, este número es unas diez veces menor que el de los microorganismos que viven sobre él o en su interior, y que le resultan beneficiosos o incluso necesarios para mantener una buena salud.

Los microorganismos llamados *patógenos* pueden invadir, infectar y dañar el cuerpo humano empleando estructuras de fijación, factores de crecimiento, enzimas y toxinas para acceder y dañar los tejidos. Comenzaremos el estudio de estas interacciones por el de los microorganismos que se encuentran normalmente en el cuerpo humano. A continuación seleccionaremos algunos patógenos y revisaremos algunas de sus estrategias de patogenicidad. Finalmente, concluiremos con una introducción a los mecanismos de defensa inespecíficos que utiliza nuestro cuerpo para reducir o destruir la mayoría de los patógenos.

I • Interacciones normales entre humanos y microorganismos

Durante las actividades diarias habituales, el cuerpo humano se encuentra en constante exposición a los microorganismos del ambiente. Cientos de especies e innumerables células microbianas individuales crecen sobre el cuerpo humano sano o en su interior. En conjunto, la suma total de tales microorganismos es lo que denominamos *microbioma humano*.

23.1 Interacciones beneficiosas entre humanos y microorganismos

La microbiota normal ha desarrollado una relación simbiótica con los mamíferos. Los microorganismos contribuyen a la salud y bienestar de su hospedador tanto aportando productos microbianos beneficiosos como inhibiendo el crecimiento de microorganismos peligrosos. A su vez, el hospedador ofrece diferentes microambientes que sustentan el crecimiento microbiano. Esta microbiota normal comienza su existencia en el hospedador en el momento del nacimiento.

Colonización

Los mamíferos se desarrollan en el útero, un ambiente estéril, sin ninguna exposición a los microorganismos. La **colonización**, es decir, el crecimiento de un microorganismo después de alcanzar los tejidos del hospedador, comienza durante el parto, cuando el cuerpo del mamífero es expuesto por vez primera a los microorganismos. La superficie de la piel es colonizada rápidamente por muchas especies. Del mismo modo, las membranas mucosas de la cavidad bucal y del tubo digestivo adquieren rápidamente microorganismos a través de la alimentación y de la exposición al cuerpo de la madre, que, junto con otras fuentes ambientales, inicia la colonización de la piel, la cavidad bucal, las vías respiratorias altas y el tubo digestivo (**Figura 23.1**).

Diferentes poblaciones de microorganismos colonizan a los individuos de diferentes localidades y en tiempos diferentes. Además, la microbiota normal es muy diversa y puede diferir significativamente entre personas, incluso dentro de una misma población humana. A medida que avancemos, señalaremos los patrones de colonización de determinados grupos de microorganismos que habitan en nichos específicos, debido presumiblemente a su capacidad para acceder al soporte nutricional y metabólico en sitios concretos del cuerpo.

Los mamíferos son una buena fuente de nutrientes orgánicos y factores de crecimiento para las bacterias y, además, proporcionan condiciones de pH estable, así como una presión osmótica y temperatura favorables para el crecimiento de microorganismos. Sin embargo, el cuerpo de los mamíferos no ofrece un ambiente uniforme. Cada zona del cuerpo, como la piel, las vías respiratorias y el tubo digestivo, difiere química y físicamente de las demás, creando así ambientes selectivos que propician el crecimiento de ciertos microorganismos e impiden el de otros. Por tanto, cada uno de esos ambientes sustenta el crecimiento de una microbiota diversa y exclusiva de aquella zona. Por ejemplo, mientras que la piel es un ambiente relativamente seco que favorece el crecimiento de especies resistentes a la deshidratación, como estafilococos y estreptococos grampositivos (↻ Secciones 15.6 y 15.7), el ambiente anóxico del intestino grueso es propio de bacterias anaerobias estrictas, como los miembros del género *Bacteroides* (↻ Sección 15.13).

La **Tabla 23.1** muestra algunos de los principales tipos de microorganismos que se encuentran normalmente asociados con diversas superficies corporales en el ser humano. La microbiota normal no coloniza los órganos internos, la sangre, la linfa, o el sistema nervioso, por lo que el crecimiento de microorganismos en estos ambientes normalmente estériles es indicio de una enfermedad infecciosa grave.

Sitios de colonización

La colonización comienza normalmente en las **membranas mucosas** (Figura 23.1). Estas están formadas por *células epiteliales* muy apretadas que están en contacto con el medio externo. Se encuentran en todo el cuerpo, revistiendo el aparato genitourinario, las vías respiratorias y el tubo digestivo. Las células epiteliales de las membranas mucosas producen **moco** (o mucosidad), una secreción líquida espesa que

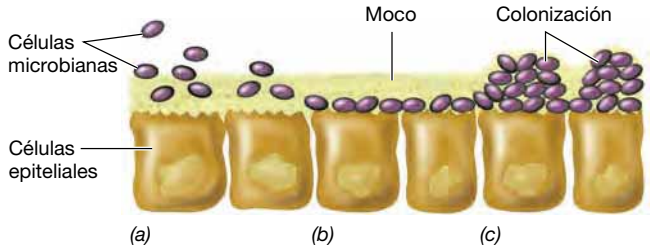


Figura 23.1 Interacciones bacterianas con membranas mucosas. *(a)* Asociación débil. *(b)* Adhesión. *(c)* Colonización.

Tabla 23.1 Géneros más representativos de la micobiota normal humana

Lugar anatómico	*Taxones más prevalentes*[a]
Piel	*Acinetobacter, Corynebacterium, Enterobacter, Klebsiella, Malassezia* (h), *Micrococcus, Propionibacterium, Proteus, Pseudomonas, Staphylococcus, Streptococcus*
Boca	*Streptococcus, Lactobacillus, Fusobacterium, Veillonella, Corynebacterium, Neisseria, Actinomyces, Geotrichum* (h), *Candida* (h), *Capnocytophaga, Eikenella, Prevotella, espiroquetas (varios géneros)*
Vías respiratorias	*Streptococcus, Staphylococcus, Corynebacterium, Neisseria, Haemophilus*
Tubo digestivo[b]	*Lactobacillus, Streptococcus, Bacteroides, Bifidobacterium, Eubacterium, Peptococcus, Peptostreptococcus, Ruminococcus, Clostridium, Escherichia, Klebsiella, Proteus, Enterococcus, Staphylococcus, Methanobrevibacter, bacterias grampositivas, Proteobacteria, Actinobacteria, Fusobacteria*
Aparato genitourinario	*Escherichia, Klebsiella, Proteus, Neisseria, Lactobacillus, Corynebacterium, Staphylococcus, Candida* (h), *Prevotella, Clostridium, Peptostreptococcus, Ureaplasma, Mycoplasma, Mycobacterium, Streptococcus, Torulopsis* (h)

[a]Esta lista no pretende ser exhaustiva y no todos los microorganismos mencionados se encuentran en cada persona. La distribución puede variar con la edad (individuos adultos o población infantil) o el sexo. Muchos de estos microorganismos son patógenos oportunistas en determinadas circunstancias. Algunos taxones se pueden encontrar en mas de una zona del cuerpo. (h), hongo
[b]Para un perfil molecular de la diversidad procariótica del intestino grueso humano, véase la ↻ Sección 22.8.

contiene proteínas y glicoproteínas solubles. El moco retiene la humedad e inhibe la fijación microbiana; los microorganismos invasores suelen ser dispersados y eliminados por procesos físicos como la deglución o el estornudo, pero algunos microorganismos se adhieren a la superficie epitelial y la colonizan.

Los microorganismos también se encuentran en superficies del cuerpo distintas de las membranas mucosas pero expuestas al ambiente, especialmente en la piel. Como veremos a continuación, la piel es en realidad un órgano complejo formado por distintos microambientes, cada uno con su propia microbiota característica.

MINIRREVISIÓN

- Identifique los factores necesarios para permitir la colonización de las superficies del cuerpo por la microbiota normal.
- ¿En qué zonas del cuerpo se encuentra la microbiota?

23.2 Microbiota de la piel

Un ser humano adulto tiene de media alrededor de dos metros cuadrados de superficie de piel, muy variable en composición química y humedad. La piel consta de distintos microambientes característicos, que incluyen zonas húmedas como el interior de las fosas nasales, las axilas o el ombligo, separadas solo por unos pocos centímetros de microambientes secos, como los antebrazos o las palmas de las manos. Un tercer microambiente se da en zonas con altas concentraciones de glándulas sebáceas, que producen una sustancia aceitosa llamada *sebo*. Estas zonas sebáceas se encuentran junto a la nariz, en la parte posterior del cuero cabelludo y en la parte superior del pecho y la espalda.

La microbiota de la piel ha sido examinada por métodos ecológicos moleculares basados en la comparación de secuencias de genes del rRNA (↻ Sección 18.5). En un estudio se detectaron diecinueve filos bacterianos diferentes, cuatro de los cuales predominaban: *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Proteobacteria* y *Bacteroidetes* (**Figura 23.2a**). Se identificaron más de doscientos

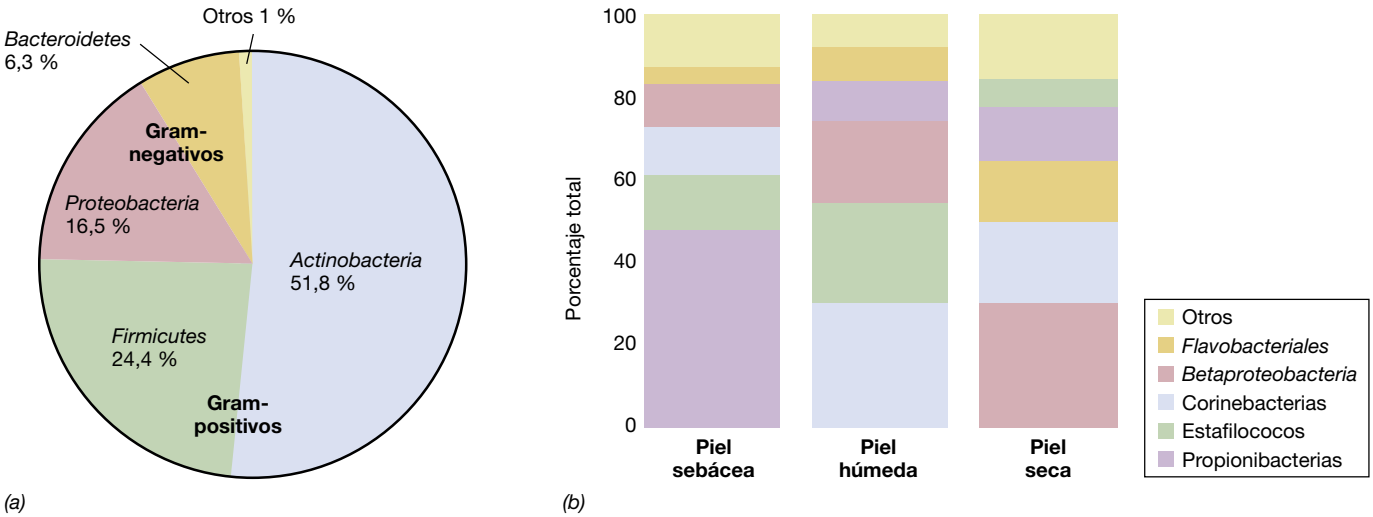


Figura 23.2 **Microbiota normal de la piel**. *(a)* El análisis del microbioma de la piel de 10 voluntarios humanos sanos detectó 19 filos bacterianos. Cuatro de ellos fueron predominantes. *(b)* Poblaciones compuestas de *Bacteria* de los mismos voluntarios divididas por microambientes sebáceo, húmedo y seco de la piel. Los datos se han adaptado de Grice *et al.,* 2009, *Science 324:*1190.

UNIDAD 5

géneros diferentes, pero más del 60 % de las secuencias pertenecían a las *Corynebacteria* (*Actinobacteria*), *Propionibacteria* (*Actinobacteria*) y al género *Staphylococcus* (*Firmicutes*) (Figura 23.2*b*). Cada microambiente mostró una microbiota exclusiva. Mientras que la mayoría de los sitios húmedos estaban dominados por corinebacterias y estafilococos, los sitios más secos lo estaban por una población mixta dominada por las *Betaproteobacteria*, corinebacterias y *Flavobacteriales*. En las zonas sebáceas predominaban las propionibacterias y los estafilococos (Figura 23.2*b*).

El análisis de estos datos proporciona una visión general de la microbiota humana normal, pero los individuos estudiados mostraron variaciones en los patrones de colonización, lo que significa que no hay un solo patrón de microbiota, aunque puede predecirse el grupo de microorganismos que es probable que constituya la microbiota normal de un individuo determinado. Además, como ocurre en el caso del microbioma del intestino (↔ Sección 22.8), los análisis metagenómicos no pueden definir el número total de microorganismos presentes, sino que solo pueden estimar el número de especies. Por tanto, este tipo de análisis ofrece estimaciones de la *diversidad*, pero no de la *abundancia*.

En la piel también hay microorganismos eucariotas. El artículo de apertura de este capítulo (página 763) destaca los estudios del microbioma que definieron los géneros y la ubicación de los hongos más habituales. Las especies de *Malassezia* son los hongos que más comúnmente se encuentran en la piel, y al menos cinco especies diferentes de esta levadura se encuentran normalmente en individuos sanos. En ausencia de resistencia por parte del hospedador, como ocurre en pacientes con VIH/sida o con los que tienen la microbiota normal alterada por un tratamiento, *Candida* y otros hongos también pueden colonizar la piel y causar infecciones graves.

Algunos factores ambientales, y también otros propios del hospedador, influyen en la composición de la microbiota normal de la piel. Por ejemplo, el *tiempo atmosférico* puede causar una subida de la temperatura de la piel y de su humedad, lo que aumenta la densidad de su microbiota. La *edad* del hospedador también influye: los niños pequeños presentan una microbiota más variada que los adultos y con un mayor número de bacterias gramnegativas potencialmente patógenas. Igualmente, la *higiene personal* influye sobre la microbiota residente: las personas con mala higiene suelen presentar una mayor densidad de poblaciones microbianas en la piel. Por último, muchos microorganismos que podrían colonizar la piel no sobreviven allí simplemente debido al bajo contenido de humedad y al pH ácido de la misma.

MINIRREVISIÓN

- Compare las poblaciones de microorganismos de los tres principales microambientes de la piel.
- Describa las propiedades de los microorganismos que crecen bien en la piel.

23.3 Microbiota de la cavidad bucal

La cavidad bucal es un hábitat microbiano complejo y heterogéneo. En ella existen varios microambientes diferentes que pueden sustentar una amplia diversidad microbiana.

Microambiente bucal

La saliva contiene nutrientes microbianos, pero no es por sí misma un buen medio de crecimiento debido a que los nutrientes están en baja concentración y a que contiene sutancias antebacterianas. Especialmente, contiene *lisozima*, una enzima que rompe los enlaces glicosídicos del peptidoglicano de la pared celular bacteriana, lo que la debilita y causa la lisis celular (↔ Sección 2.10). Otra enzima, la *lactoperoxidasa*, que se encuentra en la leche además de en la saliva, mata las bacterias mediante una reacción que genera oxígeno singlete (↔ Sección 5.16). A pesar de la actividad de estas sustancias antibacterianas, las partículas de alimentos y los residuos celulares proporcionan altas concentraciones de nutrientes cerca de la superficie de dientes y encías, creando unas condiciones que favorecen un intenso crecimiento microbiano local, el daño tisular, y el desarrollo de enfermedades.

El diente está compuesto por una matriz mineral de cristales de fosfato de calcio (el esmalte) que rodea el tejido vivo del diente (la dentina y la pulpa) (**Figura 23.3**). Las bacterias que se encuentran en la boca durante el primer año de vida (cuando aún no hay dientes) son predominantemente anaerobias aerotolerantes, como estreptococos y lactobacilos, además de algunos aerobios. Cuando aparecen los dientes, las superficies recién creadas son rápidamente colonizadas por anaerobios adaptados específicamente a la formación de biopelículas (o *biofilms*) en estas superficies y en las grietas gingivales (**Figura 23.4**).

Microbiota bucal

Los análisis metagenómicos de la microbiota bucal humana muestran una comunidad microbiana compleja. Las muestras de una serie de individuos que han sido estudiadas reflejan la presencia de más de 600 taxones (**Tabla 23.2**). La mayoría de estos microorganismos tienen algún tipo de metabolismo aeróbico facultativo, pero algunos, como los *Bacteroidetes*, son anaerobios estrictos y otros tienen algún tipo de metabolismo aeróbico, como los géneros *Neisseria*, *Acinetobacter* y *Moraxella*, del filo *Proteobacteria*.

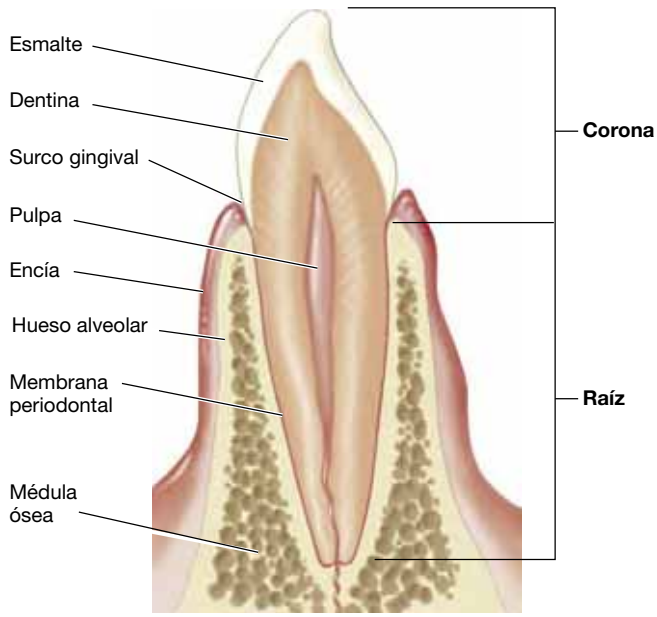
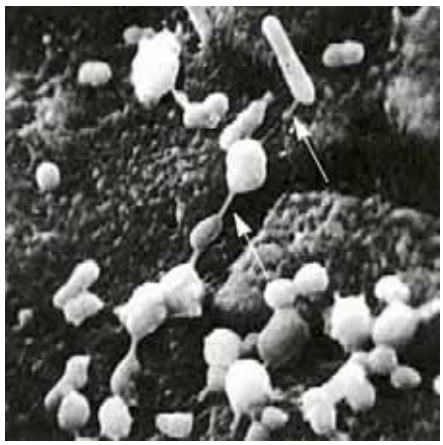


Figura 23.3 **Sección transversal de un diente**. El diagrama muestra la arquitectura del diente y los tejidos circundantes que lo anclan a la encía.



(a)



(b)

Figura 23.4 Colonización de las superficies dentales. *(a)* Colonias creciendo en un modelo de superficie de diente insertado en la boca durante 6 h. *(b)* Un mayor aumento de la preparación que se muestra en (a). Obsérvese la diversidad morfológica de los microorganismos y la capa mucosa (flechas) que los mantiene unidos.

Los géneros más abundantes pertenecen a los *Firmicutes*, siendo *Veillonella parvula*, un anaerobio estricto, la especie más abundante en la boca mientras que *Streptococcus* es el género más frecuente, que puede llegar a representar aproximadamente el 25 % de las bacterias presentes en algunos individuos. Los géneros *Abiotrophia, Gemella*, y *Granulicatella*, también pertenecientes al filo *Firmicutes*, son asimismo muy comunes: sus especies se encontraron entre los diez taxones detectados más frecuentemente. No obstante, la mayoría están presentes con menor frecuencia, y solo 17 taxones representan más del 1 % del microbioma bucal. Como en el microbioma de la piel (Sección 23.2), no todos los taxones están presentes ni distribuidos de forma semejante en todos los individuos.

MINIRREVISIÓN

- Compare los microambientes microbianos de la cavidad bucal de los recién nacidos y los adultos.
- Indique, según taxones y necesidades metabólicas, los microorganismos que predominan en la cavidad bucal de los adultos.

Tabla 23.2 Filos y taxones predominantes en la cavidad bucal[a]

Dominio y filo	*Número de taxones (porcentaje)*
Bacteria	
Firmicutes	227 (36,7)
Bacteroidetes	107 (17,3)
Proteobacteria	106 (17,1)
Actinobacteria	72 (11,6)
Spirochaetes	49 (7,9)
Fusobacteria	32 (5,2)
TM7	12 (1,9)
Synergistetes	10 (1,6)
Chlamydiae	1 (0,2)
Chloroflexi	1 (0,2)
SR1	1 (0,2)
Archaea	
Euryarchaeota	1 (0,2)
Total	**619 (100)**

[a]Adaptado de Dewhirst, F.E., *et al.,* 2010. *J. Bacteriol.* 192: 5002-5017. El dominio *Bacteria* se revisa en los Capítulos 14 y 15 y el dominio *Archaea* en el Capítulo 16.

23.4 Microbiota del tubo digestivo

El tubo digestivo (o tracto gastrointestinal) humano está formado por el estómago, el intestino delgado y el intestino grueso (**Figura 23.5**) y se ocupa de la digestión y la absorción de nutrientes, muchos de los cuales son producidos por la microbiota autóctona. A partir del estómago, el tubo digestivo equivale a una caravana de nutrientes mezclados con microorganismos, principalmente bacterias. Estos nutrientes se desplazan a lo largo del tubo y, conforme lo hacen, encuentran un cambio constante de comunidades microbianas. Aquí examinaremos los distintos microorganismos presentes a lo largo del tubo gastrointestinal, así como sus funciones y propiedades especiales. En la Sección 22.8 se analizó la diversidad microbiana del intestino grueso humano, haciendo hincapié en la naturaleza simbiótica de la comunidad microbiana y su hospedador.

El tubo digestivo tiene unos 400 m^2 de superficie y alberga cerca de 10^{14} células microbianas. Nuestra visión actual de la diversidad y el número de microorganismos que residen en él proviene de una combinación de métodos basado en técnicas de cultivo y de métodos moleculares, independientes del cultivo (Capítulo 18).

El estómago

Debido a que los fluidos de su contenido son muy ácidos (su pH es aproximadamente 2), el estómago es una barrera química frente a la entrada de microorganismos en el tubo gastrointestinal. Sin embargo, los microorganismos también colonizan este ambiente aparentemente hostil. La población microbiana del estómago está formada por varios taxones bacterianos diferentes. Cada persona tiene una población exclusiva, pero todos los individuos presentan varias especies de bacterias grampositivas, así como especies de *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*,

UNIDAD 5

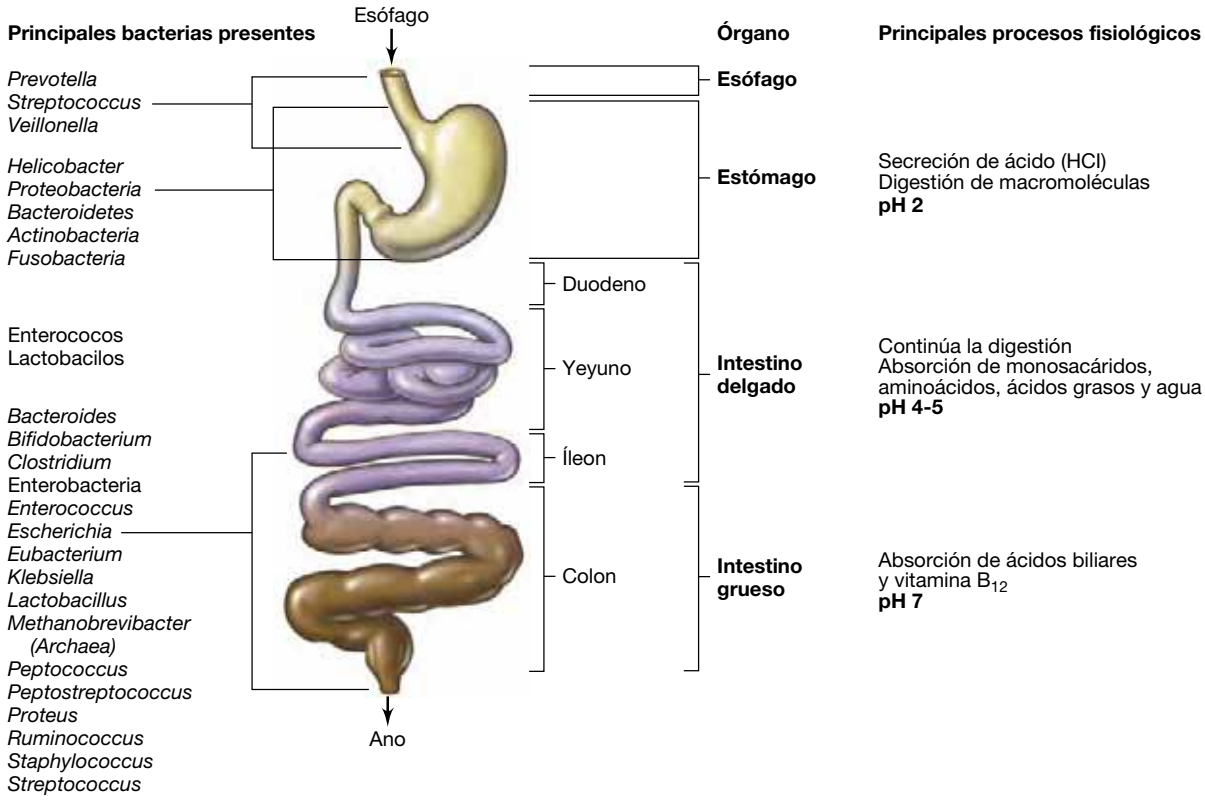


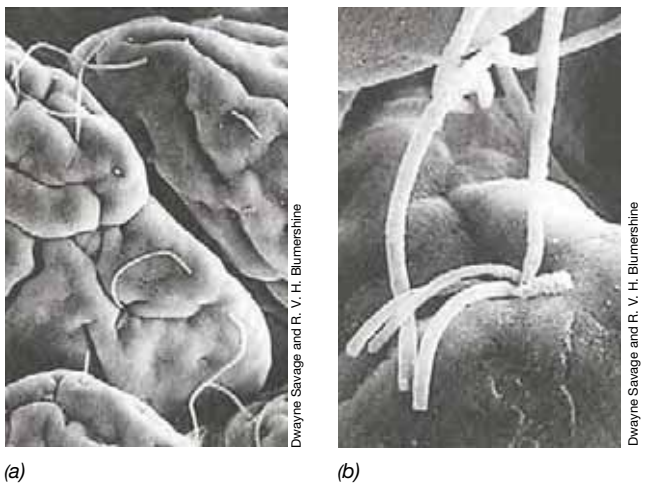
Figura 23.5 **Microbiota del tubo digestivo humano**. Taxones representativos de los microorganismos presentes en adultos sanos. No todas las personas presentan todos estos microorganismos.

Actinobacteria y *Fusobacteria* (Figura 23.5). *Helicobacter pylori*, la bacteria más frecuente, coloniza las paredes del estómago en muchos individuos, pero no en todos, y puede causar úlceras en hospedadores susceptibles (↻ Sección 29.10). Algunas de las bacterias presentes en el estómago son organismos que se encuentran en la cavidad bucal y que han sido introducidos hasta allí con los alimentos.

En posición distal al estómago, el tracto intestinal está formado por el intestino *delgado* y el intestino *grueso*, cada uno dividido en diferentes segmentos anatómicos. La composición de la microbiota intestinal en los seres humanos varía considerablemente y depende en cierta medida de la dieta. Por ejemplo, las personas que siguen una dieta basada en carne muestran un mayor número de *Bacteroides* y un menor número de coliformes y bacterias del ácido láctico que los individuos con una dieta vegetariana. La Figura 23.5 muestra los microorganismos más representativos del tubo digestivo.

El intestino delgado

El intestino delgado está formado por dos ambientes distintos, el *duodeno* y el *íleon*, conectados por el *yeyuno*. El duodeno, adyacente al estómago, es bastante ácido y su microbiota normal se asemeja a la del estómago. Desde el duodeno hasta el íleon, el pH se vuelve gradualmente menos ácido y aumenta el número de bacterias. En la porción terminal del íleon, el número de células se encuentra normalmente entre 10^5 y 10^7 por gramo de contenido intestinal, a pesar de que el ambiente se vuelve progresivamente más anóxico. Las bacterias fusiformes anaerobias están normalmente presentes en esa zona, adheridas por uno de sus extremos a la pared intestinal (**Figura 23.6** y ↻ Figura 1.10*b*).



(a) *(b)*

Figura 23.6 **Microbiota del intestino delgado**. Micrografías electrónicas de barrido de la comunidad microbiana en células epiteliales de íleon de ratón. *(a)* Una visión general a bajo aumento muestra bacterias fusiformes largas y filamentosos sobre las células epiteliales del íleon del ratón. *(b)* Un aumento mayor muestra varios filamentos fijados en una misma depresión. La fijación se produce al extremo de los filamentos. Las células individuales tienen 10-15 μm de longitud.

El intestino grueso

El íleon desemboca en el *ciego*, la conexión con el intestino grueso, y el *colon* constituye el resto del mismo. El colon, donde los procariotas están presentes en enormes cantidades, es esencialmente un recipiente fermentador vivo; muchas bacterias habitan aquí merced a los nutrientes derivados de la digestión de los alimentos (Figura 23.5). Bacterias aerobias facultativas como *Escherichia coli* están presentes en el colon, aunque en menor número que otras bacterias (el recuento total de aerobios facultativos es inferior a 10^7 por gramo de contenido intestinal). Estos aerobios facultativos agotan el oxígeno presente, haciendo del intestino grueso un ambiente estrictamente anóxico que favorece el crecimiento de anaerobios estrictos como especies de *Clostridium* y *Bacteroides*.

El número total de anaerobios estrictos en el colon es enorme. Al final del intestino distal y en el contenido fecal son normales recuentos de 10^{10} a 10^{11} células por gramo, con *Bacteroidetes* y especies grampositivas representando más del 99 % del total de las bacterias. La arqueobacteria metanógena *Methanobrevibacter smithii* (↻ Sección 16.2) también puede estar presente en cantidades significativas. No hay protistas en el tubo digestivo de los seres humanos sanos, aunque pueden causar infecciones gastrointestinales si son ingeridos con la comida o el agua contaminadas (Capítulo 31). La Sección 22.8 presenta una imagen de la diversidad molecular bacteriana en el intestino grueso humano.

Productos de la microbiota intestinal

Los microorganismos del intestino llevan a cabo una serie de reacciones metabólicas que producen importantes compuestos (**Tabla 23.3**). La dieta y la composición de la propia microbiota intestinal modulan el tipo y la cantidad de los compuestos producidos. Entre estos están las vitaminas B_{12} y K, ambas esenciales, que no pueden ser sintetizadas por los seres humanos (la vitamina B_{12}, además, no está presente en los vegetales), pero lo son por la microbiota intestinal y son absorbidas en el colon. Además, la microbiota del intestino modifica los esteroides producidos en el hígado y liberados por la vesícula biliar como ácidos biliares; los compuestos esteroides bioactivos modificados son entonces absorbidos por el intestino.

Otros productos generados por la actividad de bacterias fermentadoras y de metanógenos comprenden gases y sustancias odoríferas (Tabla 23.3). Un adulto normal expulsa diariamente varios cientos de mililitros de gases intestinales, de los cuales aproximadamente la mitad es nitrógeno (N_2) procedente del aire ingerido. Algunos alimentos metabolizados por las bacterias fermentadoras del intestino producen hidrógeno (H_2) y dióxido de carbono (CO_2). Las arqueobacterias metanógenas, que se encuentran en el intestino de muchos adultos, pero no de todos, convierten el H_2 y el CO_2 en metano (CH_4). En el rumen de los bovinos, las bacterias metanógenas (↻ Sección 22.7) generan enormes cantidades de metano, hasta un cuarto de la producción mundial de este gas.

Tabla 23.3 Contribuciones bioquímicas/metabólicas de los microorganismos intestinales

Proceso	*Producto*
Síntesis de vitaminas	Tiamina, riboflavina, piridoxina, B_{12}, K
Producción de gases	CO_2, CH_4, H_2
Producción de olores	H_2S, NH_3, aminas, indol, escatol, ácido butírico
Producción de ácidos orgánicos	Ácidos acético, propiónico, butírico
Reacciones de glicosidasa	β-Glucuronidasa, β-galactosidasa, β-glucosidasa, α-glucosidasa, α-galactosidasa
Metabolismo esteroideo (ácidos biliares)	Esteroides esterificados, deshidratados, oxidados o reducidos

Durante el paso de los alimentos a través del tubo digestivo, se va absorbiendo el agua que contienen, de modo que el material digerido se concentra gradualmente y se convierte en heces, en las que las bacterias representan alrededor de un tercio del peso. Los microorganismos que viven en la luz del intestino grueso son continuamente arrastrados por el flujo de material y las bacterias que se pierden son reemplazadas continuamente por el crecimiento de nuevas bacterias, de forma semejante a lo que ocurre en un sistema de cultivo continuo in vitro (↻ Sección 5.7). El tiempo necesario para el paso del material a través del tubo digestivo humano es de unas 24 horas y la velocidad de crecimiento de las bacterias en su lumen es de una o dos generaciones por día. Diariamente, un ser humano libera en las heces alrededor de 10^{13} células bacterianas.

Alteraciones de la microbiota normal

Un antibiótico tomado por vía oral inhibe el crecimiento de la microbiota normal además del patógeno o patógenos diana, lo que produce la pérdida de la fracción de bacterias del tracto intestinal susceptibles al antibiótico(s); esta alteración de la comunidad microbiana intestinal se manifiesta a menudo como una evacuación de heces sueltas o diarrea. En ausencia de una dotación completa de la microbiota normal, algunos patógenos oportunistas como *Clostridium difficile, Proteus, Staphylococcus* resistentes a los antibióticos o la levadura *Candida albicans,* pueden establecerse allí y afectar a las funciones digestivas o causar enfermedad. Por ejemplo, el tratamiento antibiótico permite que bacterias como *C. difficile*, que son menos susceptibles a los antibióticos, puedan crecer sin la competencia de la microbiota normal, causando infecciones y colitis.

Cuando termina la terapia antibiótica, la microbiota intestinal normal se restablece rápidamente en los adultos. Es posible acelerar el proceso de recolonización del intestino por las especies deseadas mediante la administración de **probióticos**, cultivos vivos de bacterias intestinales que administrados a un hospedador pueden conferir un beneficio para la salud. Una recolonización rápida del intestino que restablezca la microbiota local competitiva puede desplazar a los patógenos y producir metabólitos microbianos beneficiosos (véase Explorando el mundo microbiano, «Probióticos»).

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué el intestino delgado podría ser más adecuado para el crecimiento de aerobios facultativos que el intestino grueso?
- Cite varios compuestos esenciales producidos por los microorganismos de la microbiota intestinal normal.

UNIDAD 5

Los microorganismos que forman parte de la microbiota normal crecen sobre el cuerpo y en su interior y son esenciales para el bienestar de todos los organismos superiores. Los microorganismos que adquirimos y conservamos compiten con patógenos en diversos lugares del cuerpo, inhibiendo la colonización por parte de los patógenos. Los comensales que residen en el intestino participan activamente en la digestión de los alimentos y la producción de nutrientes esenciales.

De ello se desprende que los humanos podrían manipular sus bacterias comensales, tal vez modificando, regulando, o mejorando la microbiota normal para potenciar los beneficios positivos de ciertas bacterias elegidas. En teoría, la ingestión de determinados microorganismos podría ser usada para cambiar o restablecer nuestro microbiota gastrointestinal para promover la salud, especialmente en personas que experimentan grandes cambios en su microbiota normal debido a una enfermedad, algún tratamiento quirúrgico u otros tratamientos médicos, o en personas cuya microbiota normal se encuentra alterada por otras razones, como una mala alimentación. Los microorganismos que se ingieren intencionalmente con este propósito son llamados *probióticos* (**Figura 1**). Los probióticos son suspensiones de microorganismos vivos que, cuando se administran en la cantidad adecuada, aportan un beneficio evidente a la salud del hospedador.

¿Son realmente útiles los probióticos? Pocos estudios concluyentes han podido demostrar que la modificación de las poblaciones microbianas comensales en adultos sanos normales tenga efectos positivos importantes para la salud a largo plazo. La mayoría de los productos probióticos (Figura 1) tienen por objeto la sustitución o la reconstitución de la microbiota intestinal de los humanos mediante la ingestión directa de cultivos concentrados de microbios vivos; su finalidad es prevenir o corregir problemas digestivos. Los productos probióticos pueden proporcionar así beneficios a corto plazo, pero hay pocas pruebas del establecimiento o restablecimiento de la microbiota de forma duradera sin el consumo continuado del probiótico.

Los probióticos se utilizan habitualmente en animales de granjas comerciales como parte de su dieta normal para prevenir problemas digestivos. Estos mismos tratamientos probióticos también pueden ser beneficiosos para reducir el uso de antibióticos y prevenir el desarrollo de patógenos resistentes a antibióticos transmitidos por los alimentos. La clave es el carácter preventivo de los tratamientos; los probióticos en animales no se utilizan para tratar la enfermedad. Cepas de *Saccharomyces* (levaduras), *Lactobacillus, Bacillus* y *Propionibacterium* se han utilizado con estos fines. Posiblemente, tratamientos similares también serían beneficiosos para los humanos. Hay enfermedades humanas que responden positivamente a la administración de probióticos, aunque los mecanismos por los cuales ocurre esto no están claros. Por ejemplo, es posible cortar la diarrea acuosa infantil, causada por la infección por rotavirus, mediante la administración de varios preparados probióticos. *Saccharomyces* puede reducir la recurrencia de la diarrea y las infecciones por *Clostridium difficile*. También se han utilizado lactobacilos probióticos para tratar las infecciones urogenitales en los humanos.

La composición de la microbiota intestinal puede cambiar rápidamente cuando se administran probióticos. En muchos casos, los fabricantes de probióticos recomiendan que los complementos microbianos sean consumidos de forma regular durante un largo período de tiempo para lograr el resultado deseado; si se detiene su consumo, la microbiota intestinal vuelve a su estado original, lo que indica que el efecto de los probióticos son probablemente solo a corto plazo. Así, aunque los probióticos puedan ofrecer varias ventajas, especialmente para restablecer la microbiota normal del intestino tras una enfermedad diarreica grave, no hay pruebas suficientes de que aporten beneficios duraderos. Deben llevarse a cabo estudios diseñados cuidadosamente y controlados científicamente para documentar los resultados del tratamiento con probióticos. Los estudios deben utilizar preparaciones estandarizadas de probióticos que contengan organismos conocidos y administrados en dosis precisas para poner a prueba su eficacia.

Fuentes: Walker, R. y M. Buckley. 2006 *Probiotic Microbes*: *The Scientific Basis*. American Academy of Microbiology. Goldin, B. R. y Gorbach, S.L. 2008. *Clinical Indications for Probiotics: An Overview. Clinical Infectious Diseases* 46: S96-100.



Deborah O. Jung and John Martinko

Figura 1 **Probióticos. En los Estados Unidos hay una amplia oferta de alimentos y suplementos dietéticos probióticos.**

23.5 Microbiota de las mucosas

Las membranas mucosas permiten el crecimiento de una microbiota normal que previene la infección por microorganismos patógenos. En esta sección, describiremos dos ambientes de tejidos mucosos y los microorganismos que residen en ellos.

Vías respiratorias

La anatomía de las vías respiratorias se muestra en la **Figura 23.7**. En las **vías respiratorias altas** (nasofaringe, cavidad bucal, laringe y faringe), los microorganismos viven en zonas bañadas por las secreciones de las membranas mucosas. Las bacterias entran continuamente en las vías respiratorias altas durante la respiración, pero la mayoría quedan atrapadas en la mucosidad de los conductos nasales y bucal y son expulsadas con las secreciones nasales o ingeridas. Sin embargo, en todos los individuos, unos pocos microorganismos colonizan la superficies de las mucosas respiratorias. Los microorganismos más frecuentemente presentes en ellas son estafilococos, estreptococos, bacilos difteroides y cocos gramnegativos.

Ocasionalmente, algunos patógenos potenciales como *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pneumoniae* forman parte de la microbiota de la nasofaringe de individuos sanos (Tabla 23.1). Aunque estos individuos son *portadores* de estos patógenos, normalmente no desarrollan la enfermedad, presumiblemente en parte porque otros microorganismos residentes compiten con éxito por los recursos nutritivos y metabólicos y limitan la actividad de los patógenos. Además, el sistema inmunitario innato (↻ Sección 24.2) y algunos componentes del sistema inmunitario adaptativo, como ciertas clases de anticuerpos (↻ Sección 25.7), son particularmente activos en las mucosas e inhiben el crecimiento y la invasión de patógenos potenciales.

Los adultos sanos no presentan microbiota residente en las **vías respiratorias bajas** (tráquea, bronquios y pulmones), a pesar del gran número de microorganismos potencialmente capaces de alcanzar esta región durante la respiración normal. Las partículas de polvo, que son bastante grandes, se depositan en las vías respiratorias altas. A medida que el aire pasa hacia las vías respiratorias bajas, el la velocidad de entrada disminuye y los microorganismos se depositan sobre las paredes de las vías respiratorias. Dichas paredes están revestidas de células epiteliales dotadas de cilios y estos, que baten hacia arriba, empujan a las bacterias y a otras partículas hacia las vías altas, donde son expulsadas en la saliva y en las secreciones nasales, o ingeridas. Solo las partículas menores de unos 10 micrómetros (μm) de diámetro alcanzan los pulmones. No obstante, algunos patógenos alcanzan estos lugares más internos y causan enfermedades, sobre todo neumonías bacterianas y víricas (↻ Secciones 29.2 y 29.6).

Aparato genitourinario

En varones y mujeres sanos, el aparato genitourinario (**Figura 23.8**), los riñones y la vejiga urinaria son estériles. Sin embargo, las células epiteliales que recubren la uretra distal están colonizadas por bacterias gramnegativas aerobias facultativas (Tabla 23.1). Algunos patógenos potenciales, como *Escherichia coli* o *Proteus mirabilis*, que están presentes normalmente en el cuerpo, o en el ambiente local en pequeñas cantidades, pueden multiplicarse en la uretra y causar enfermedades si se dan ciertas condiciones, como cambios en el pH. Estos microorganismos son una causa común de infecciones urinarias, especialmente en mujeres.

La vagina de la mujer adulta es ligeramente ácida (pH <5) y contiene cantidades significativas de glicógeno. *Lactobacillus acidophilus*, una bacteria residente en la vagina, fermenta el glicógeno produciendo ácido láctico y este mantiene un ambiente ácido en la zona (Figura 23.8*b*). También puede haber allí otros microorganismos, como algunas especies de las levaduras *Candida* y *Torulopsis*, varios estreptococos y *E. coli*. Antes de la pubertad no hay allí *L. acidophilus* y la vagina tiene un pH neutro y no produce glicógeno y él, y la microbiota se compone fundamentalmente de estafilococos, estreptococos, difteroides, y *E. coli*. Después de la menopausia, la producción de glucógeno cesa, el pH se eleva, y la microbiota se asemeja de nuevo a la de antes de la pubertad.

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué los patógenos potenciales se encuentran a menudo en la microbiota normal de las vías respiratorias altas sin causar enfermedades en la mayoría de los casos?
- ¿Cuál es la importancia del *Lactobacillus* que se encuentra en el aparato genitourinario de las mujeres adultas sanas?

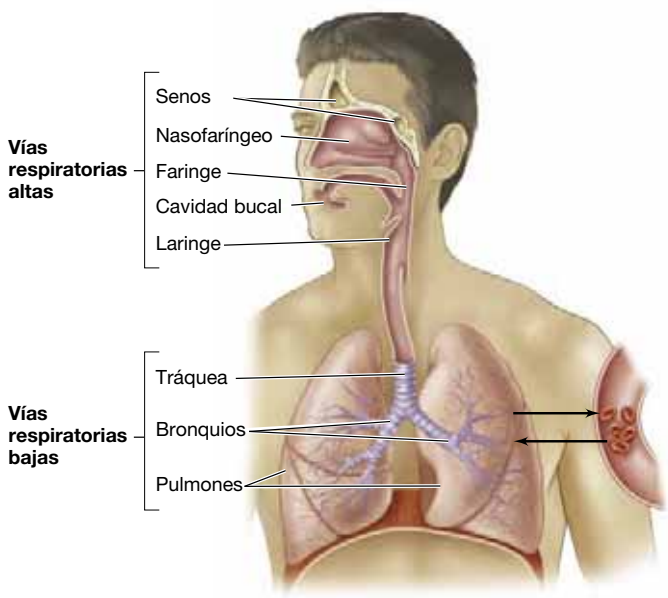
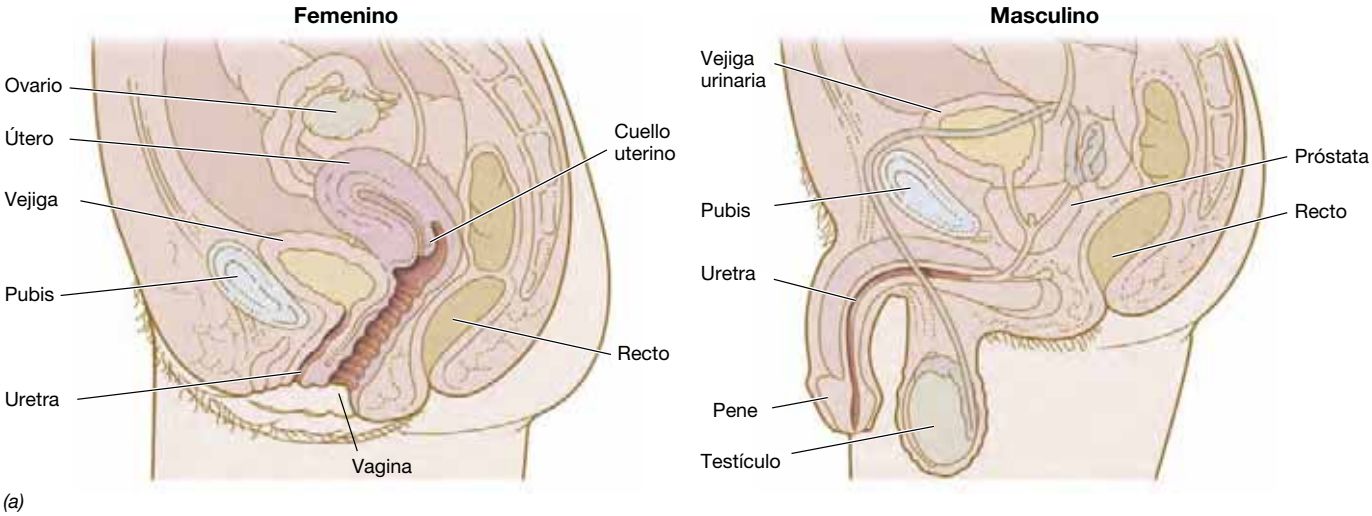
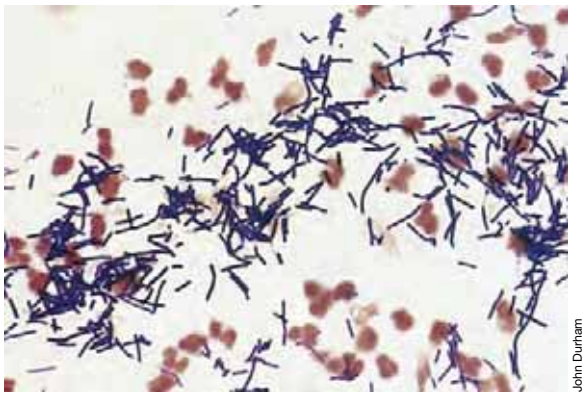


Figura 23.7 Vías respiratorias. En individuos sanos, las vías respiratorias altas presentan una gran variedad y un gran número de microorganismos. Por el contrario, las vías respiratorias bajas de una persona sana presentan pocos o ningún microorganismo.



(a)



John Durham

(b)

Figura 23.8 **Crecimiento microbiano en el aparato genitourinario.** *(a)* Aparato genitourinario de una mujer y de un varón en los que se ven, en rojo, las regiones en las que suelen crecer los microorganismos. En las personas sanas, las regiones superiores del aparato genitourinario son estériles tanto en el hombre como en la mujer. *(b)* Tinción de Gram que muestra *Lactobacillus acidophilus*, el microorganismo predominante en la vagina entre el inicio de la pubertad y el final de la menopausia. Los bacilos grampositivos individuales tiene 3-4 μm de longitud.

II • Patogenia

La *patogenia microbiana* es el proceso por el cual los microorganismos causan enfermedades. Comienza con la exposición y la adherencia de los microorganismos a las células hospedadoras (Figura 23.1), seguidas por la invasión, la infección, y en última instancia, por la enfermedad (**Figura 23.9**). Comenzaremos repasando algunos términos importantes utilizados en microbiología médica.

23.6 Patogenicidad y virulencia

La **infección** es el crecimiento en el hospedador de microorganismos que normalmente no están presentes en él. Un **hospedador** es un organismo que alberga a un **patógeno**, otro organismo que vive sobre o en el primero y causa una enfermedad. La **enfermedad** es un daño o lesión que afecta a las funciones del hospedador.

La capacidad de un microorganismo para causar enfermedad se denomina **patogenicidad** y depende de las características biológicas exclusivas de cada patógeno. Varía considerablemente de un patógeno a otro, del mismo modo que varían la resistencia o la susceptibilidad de un hospedador a un determinado patógeno. Un **patógeno oportunista** es aquel que causa enfermedad solo en ausencia de la resistencia normal del hospedador. Por ejemplo, incluso la microbiota normal puede causar infecciones y enfermedades si la resistencia del hospedador se ve alterada, como puede ocurrir en enfermedades tales como el cáncer y el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (sida) (↻ Sección 29.14).

Virulencia

El grado en el que se manifiesta la patogenicidad se llama virulencia, y refleja la capacidad relativa de un patógeno para causar una enfermedad. La virulencia es el resultado de las interacciones hospedador-patógeno, una relación dinámica entre los dos organismos, que está influida por las condiciones del patógeno, del hospedador y del ambiente, que cambian continuamente. Ni la virulencia del patógeno, ni la resistencia relativa del hospedador son un factor constante.

Mediante estudios experimentales, la virulencia se puede medir como la (dosis letal media (DL_{50}); es decir, como el número de células de un patógeno que mata al 50 % de los individuos de un grupo experimental. Los patógenos muy virulentos muestran frecuentemente poca diferencia entre el número de células necesarias para matar el 50 % y el 100 % de un grupo

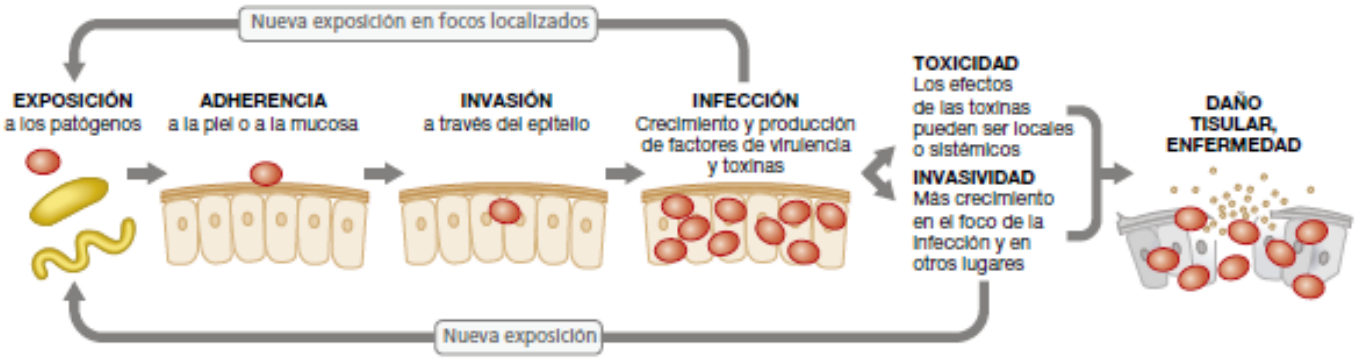


Figura 23.9 **Patogenia microbiana.** Tras la exposición a un microorganismo patógeno, los procesos controlados por el patógeno pueden ocasionar una enfermedad.

experimental. La Figura 23.10 ilustra este concepto para infecciones experimentales en ratones. Para establecer una infección mortal y matar a todos los ratones de una población experimental, se requieren solamente unas pocas células de una cepa virulenta de *Streptococcus pneumoniae*. Como consecuencia, la DL_{50} de *S. pneumoniae* en ratones no es proporcional al número de células administradas y es difícil determinarla con precisión. En cambio, el número de células de un patógeno menos virulento, *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, necesarias para matar a todos los ratones en la población experimental es aproximadamente 10.000 veces mayor que el de *S. pneumoniae* y su DL_{50} es proporcional al número de células patógenas inoculadas en los ratones de prueba.

Atenuación

La **atenuación** es la disminución parcial o total de virulencia de un patógeno. Cuando los patógenos se mantienen en cultivo en un laboratorio en vez de ser aislados de animales enfermos, a menudo su virulencia disminuye o incluso se pierde por completo. Las cepas que tienen una virulencia reducida o que la han perdido se denominan *atenuadas*. La atenuación se produce porque los mutantes no virulentos o débilmente virulentos crecen más rápidamente que las cepas virulentas en los medios de laboratorio, donde la virulencia no tiene ninguna ventaja selectiva. Después de una serie de pases in vitro, estos mutantes resultan, por tanto, favorecidos. Si un cultivo atenuado se inocula en un animal, el organismos puede recuperar la virulencia original, especialmente si los pases in vivo se repiten. Pero, en muchos casos, la pérdida de virulencia es irreversible. No obstante, las cepas atenuadas pueden ser muy valiosas, ya que se utilizan a menudo para la producción de vacunas, especialmente vacunas víricas. Por ejemplo, las vacunas humanas contra el sarampión, las paperas, la rubeola, o contra la rabia en el caso de animales no humanos, utilizan cepas atenuadas de los virus correspondientes.

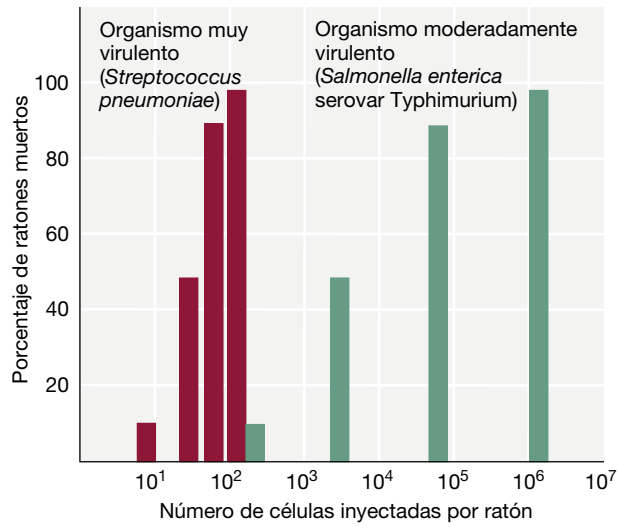


Figura 23.10 **Virulencia microbiana.** Las diferencias en virulencia quedan patentes cuando se compara el número de células de *Streptococcus pneumoniae* y *Salmonella* enterica serovar Typhimurium necesario para matar ratones.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cómo se puede utilizar la prueba de DL_{50} para definir la virulencia de un patógeno?
- ¿Qué circunstancias pueden contribuir a la atenuación de un patógeno?

23.7 Adherencia

Las bacterias o virus capaces de iniciar una infección se adhieren a menudo a las células epiteliales por interacciones específicas entre moléculas del patógeno y de los tejidos del hospedador. Además, los patógenos a menudo se adhieren entre sí, formando biopelículas (↻ Sección 19.4). En microbiología médica, la **adherencia** es la capacidad reforzada de un microorganismo de fijarse a una célula o superficie.

Factores de adherencia no covalentes

Algunas macromoléculas responsables de la adherencia bacteriana no se fijan a las bacterias de manera covalente. Son moléculas de superficie que se conocen de manera colectiva con el nombre de glicocálices. Un **glicocálix** es una estructura que recubre la superfice de una bacteria, que no está covalentemente unido a ella y que está formado por polímero secretado por ella. Comúnmente los glicocálices son polímeros polisacarídicos macromoleculares. Por ejemplo, en *Bacillus anthracis* (la bacteria que causa el carbunco) el glicocálix es una cápsula compuesta de

UNIDAD 5

un polímero de ácido D-glutámico. Esta cápsula se puede visualizar fácilmente y las cepas encapsuladas de *B. anthracis* normalmente forman colonias lisas viscosas (**Figura 23.11**).

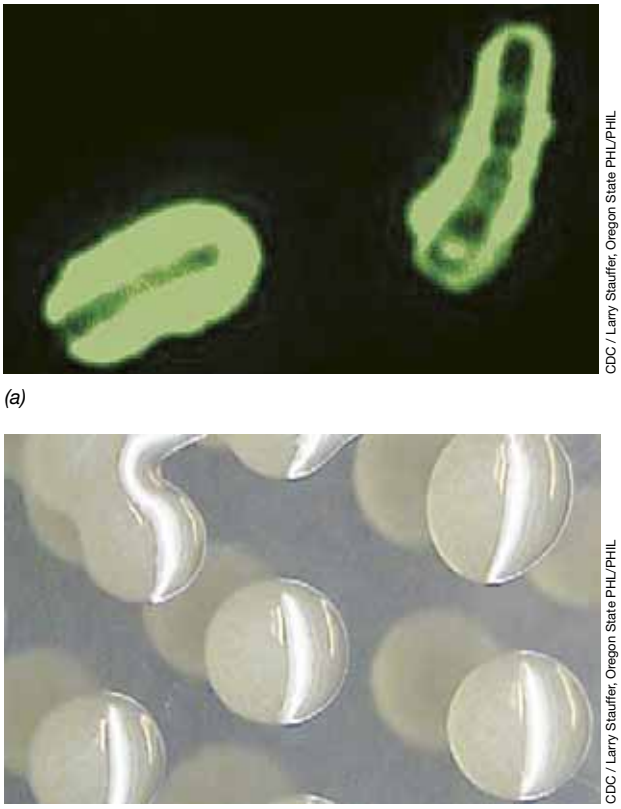
Las estructuras de la superficie celular se revisaron en la Sección 2.13. Una red flexible de polímeros que se extienden hacia fuera desde una célula se llama **capa mucosa** (Figura 23.4*b*). Una envoltura que rodea a la célula, formada por una capa de un polímero, densa y bien delimitada, se llama **cápsula** (**Figura 23.12*a***). Las capas mucosas y las cápsulas son importantes para la adherencia a otras bacterias, así como a los tejidos del hospedador. Sin embargo, muchos patógenos, por ejemplo *Vibrio cholerae*, el agente causal del cólera, no requieren capas mucosas ni cápsulas para su adherencia (Figura 23.12*b*).

Las cápsulas son particularmente importantes en la protección de las bacterias patógenas frente a los mecanismos de defensa del hospedador, si bien su efecto más comun es bloquear la adherencia por los fagocitos. Por ejemplo, el único factor de virulencia conocido de *Streptococcus pneumoniae* es su cápsula de polisacáridos (**Figura 23.13**). Las cepas encapsuladas de *S. pneumoniae* crecen abundantemente en los tejidos del pulmón, donde se inicia la respuesta inflamatoria del hospedador que causa la pneumonía, interfieren con la función pulmonar, y produce un daño grave e incluso la muerte (↔ Sección 29.2). En cambio, las cepas no encapsuladas son ingeridas y destruidas rápida y eficazmente por los fagocitos, los glóbulos blancos de la sangre que ingieren y destruyen las bacterias mediante un proceso llamado *fagocitosis*. Por tanto, las cápsulas de *S. pneumoniae* (Figura 23.13*b*) son esenciales para su patogenicidad, pues vencen un importante mecanismo de defensa que usa el hospedador para prevenir la invasión (↔ Sección 24.2).



(a) (b)

Figura 23.12 Adherencia de patógenos a tejidos. *(a) Escherichia coli* enteropatógena se fija al borde en cepillo de las microvellosidades intestinales a través de una cápsula bien patente. Las células de *E. coli* tienen unos 0,5 μm de diámetro. *(b)* Micrografía electrónica de trasmisión de una sección fina de tejido que muestra a *Vibrio cholerae* fijado al borde en cepillo de las microvellosidades intestinales. Este microorganismo no tiene cápsula.

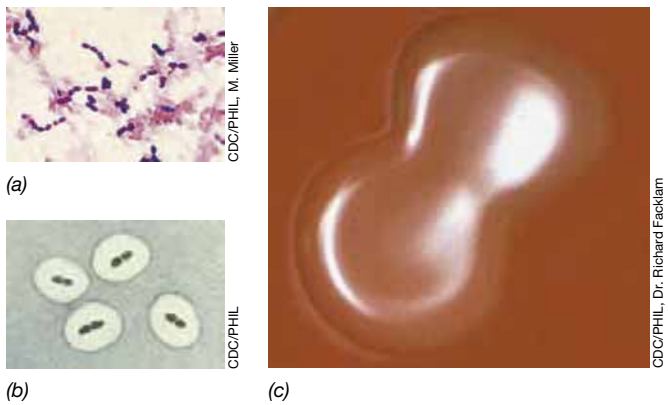


(a) (b)

Figura 23.11 *Bacillus anthracis* y cápsulas. *(a)* Tinción fluorescente de las cápsulas de *B. anthracis*. Los anticuerpos contra la cápsula se preparan con una tinción fluorescente que tiñe de verde la cápsula esta se extiende hasta una distancia de 1 μm desde la superficie de la bacteria. *(b) B. anthracis* creciendo en una placa de agar. Las colonias de células encapsuladas miden aproximadamente 0,5 cm de diámetro y son de aspecto mucoide.

Otros factores de adherencia: fimbrias, pelos y flagelos

Muchos patógenos se adhieren selectivamente a tipos particulares de células mediante estructuras de la superficie celular distintas de las cápsulas o las capas mucosas. Por ejemplo,



(a) (b) (c)

Figura 23.13 Cápsulas y colonias de *Streptococcus pneumoniae*. *(a)* Tinción de Gram de las células de *S. pneumoniae*; las cápsulas no son visibles. *(b)* Al tratar *S. pneumoniae* con anticuerpos anti-cápsula, esta se hincha (reacción de hinchazón o de Neufeld), lo que permiten visualizarla. *(c)* Las colonias de *S. pneumoniae* productoras de cápsula cultivadas en agar sangre muestran una morfología mucoide con una depresión en el centro. Las colonias tienen unos 2-3 mm de diámetro.

Neisseria gonorrhoeae, el patógeno que causa la gonorrea, una enfermedad de transmisión sexual, se adhiere específicamente a las células epiteliales de la mucosa del aparato genitourinario, del ojo, del recto o de la garganta, sin infectar otros tejidos. *Neisseria gonorrhoeae* tiene una proteína de superficie llamada Opa (del inglés *opacity-associated protein*) que se une específicamente a una proteína del hospedador llamada CD66, que se encuentra solo en la superficie de esas células, lo que permite la adherencia del patógeno (**Tabla 23.4**). Asimismo, las células de la mucosa del pulmón son dianas del virus de la gripe, que se fija específicamente a tales células por medio de una hemaglutinina, una proteína de la superficie del virus (↻ Sección 29.8).

Las fimbrias y los pelos son estructuras proteínicas de la superficie celular bacteriana (↻ Sección 2.13) que intervienen en el proceso de fijación. Por ejemplo, los pelos de *N. gonorrhoeae* desempeñan un papel fundamental en la fijación a los epitelios genitourinarios y la cepas de *E. coli* con fimbrias (**Figura 23.14**) causan infecciones de las vías genitourinarias más frecuentemente que las que carecen de ellas. Entre las fimbrias mejor caracterizadas están las *fimbrias de tipo I* de las bacterias entéricas (*Escherichia, Klebsiella, Salmonella* y *Shigella*). Estas fimbrias se encuentran distribuidas uniformemente sobre la superficie de la célula. Los pelos son normalmente más largos y menos numerosos que las fimbrias. Tanto los pelos como las fimbrias funcionan uniendo glicoproteínas de la superficie de las células del hospedador e iniciando de ese modo la fijación. Los flagelos también pueden aumentar la adherencia a las células del hospedador (véase la Figura 23.17).

Algunos estudios de diarreas causadas por cepas patógenas de *E. coli* revelan interacciones específicas entre los patógenos y el epitelio de la mucosa. La mayoría de las cepas de *E. coli* no son habitantes no patógenos del ciego y en el resto del colon (Figura 23.5). Es habitual que varias de estas cepas estén simultáneamente presentes en el cuerpo, de forma que un gran número de sus células pasa diariamente a través del cuerpo y se elimina con las heces. Sin embargo, algunas cepas patógenas enterotóxicas de *E. coli* contienen genes que codifican los llamados factores de colonización antigénicos, unas proteínas presentes en las fimbrias que se adhieren

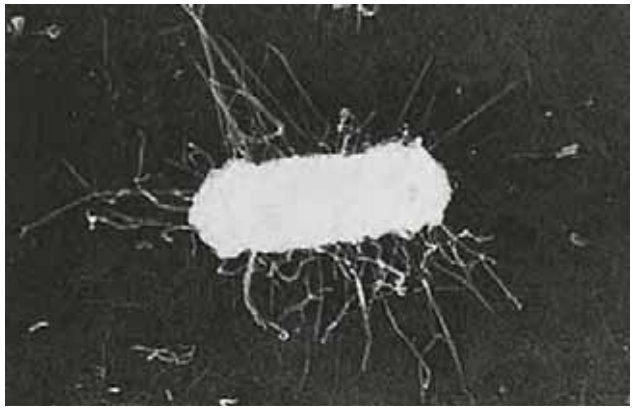

James A. Roberts

Figura 23.14 Fimbrias. Micrografía electrónica con sombreado metálico de la bacteria *Escherichia coli* que presenta fimbrias de tipo P; estas fimbrias se asemejan a las de tipo I, pero son un poco más largas. La célula tiene aproximadamente 0,5 µm de diámetro.

específicamente a las células del intestino delgado del hospedador. Desde allí, estas bacterias se multiplican y producen enterotoxinas que causan diarrea y otras enfermedades (↻ Sección 31.11).

Streptococcus pyogenes es un conocido patógeno que causa la faringitis estreptocócica, la escarlatina y fiebres reumáticas (↻ Sección 29.2). Esta bacteria utiliza el ácido lipoteicoico asociado a las fimbrias, junto con dos proteínas específicas, F y M, para facilitar su unión a las células de su hospedador (Tabla 23.4) La proteína M también es responsable de la resistencia a la fagocitosis por los neutrófilos, un tipo de célula inmunitaria importante en la resistencia antibacteriana (↻ Secciones 24.2 y 29.2).

MINIRREVISIÓN

- Describa glicocálix, capas mucosas y cápsulas.
- ¿Cómo influyen en la adhesión a las mucosas las proteínas Opa de *Neisseria gonorrhoeae* y los antígenos de factor de colonización fimbricos de *Escherichia coli* y *Salmonella*?

UNIDAD 5

Tabla 23.4 Principales factores de adherencia que facilitan la fijación de patógenos microbianos a los tejidos del hospedador[a]

Factor	*Ejemplo*
Cápsula/capa mucosa (Figuras 23.4, 23.11, 23.12, 23.13, 23.15)	Cepas patógenas de *Escherichia coli:* la cápsula estimula la adherencia al borde en cepillo de las microvellosidades intestinales
	Streptococcus mutans: la capa mucosa de dextrano estimula la unión a la superficie dental
Proteínas de adherencia	*Streptococcus pyogenes:* la proteína M de la superficie de la célula se une a los receptores de la mucosa respiratoria
	Neisseria gonorrhoeae: la proteína Opa de la superficie de la célula se une a los receptores del epitelio
Ácido lipoteicoico (↻ Figura 2.27)	*Streptococcus pyogenes:* El ácido lipteicoico, junto con la proteína M, facilita la unión al receptor de la mucosa respiratoria
Fimbrias (pelos) (Figura 23.14)	*Neisseria gonorrhoeae:* los pelos facilitan la unión al epitelio
	Especies de *Salmonella:* las fimbrias de tipo I facilitan la unión al epitelio del intestino delgado
	Cepas patógenas de *Escherichia coli:* los antígenos del factor de colonización (CFA) de las fimbrias facilitan la unión al epitelio del intestino delgado

[a]La mayoría de los receptores en los tejidos del hospedador son glicoproteínas o lípidos complejos, como los gangliósidos o los globósidos.

23.8 Invasión, infección y factores de virulencia

El inóculo inicial de un patógeno es generalmente insuficiente para dañar al hospedador, incluso cuando el patógeno accede a los tejidos. Para causar daño, el patógeno debe multiplicarse y colonizar el tejido (Figura 23.9) y, para ello, necesita encontrar los nutrientes apropiados y las condiciones ambientales que le permitan crecer y causar una infección en el hospedador.

Invasión

Después de la colonización, generalmente un patógeno debe invadir los tejidos para que se inicie la enfermedad. La **invasividad** es la capacidad que tiene un patógeno de entrar en las células o tejidos del hospedador, de propagarse y de causar una enfermedad. En la mayoría de los casos, las infecciones microbianas comienzan en fisuras o heridas de la piel o sobre las mucosas de los aparatos respiratorio, digestivo o genitourinario, unas superficies que son normalmente barreras eficaces frente a la penetración de los microorganismos. En algunos casos, el crecimiento también puede comenzar en superficies mucosas intactas, especialmente si la microbiota normal ha sido alterada o eliminada, como, por ejemplo, por una terapia antibiótica.

Algunos patógenos, después de su entrada inicial, permanecen localizados y se multiplican e invaden un único foco de infección, como ocurre en los forúnculos que pueden surgir en la piel por infecciones por *Staphylococcus* (↻ Sección 29.9). Si se produce crecimiento bacteriano, los microorganismos podrían causar **bacteriemia**, o presencia de bacterias en el torrente circulatorio, por el que pueden viajar a partes distantes del cuerpo. La diseminación del patógeno desde un foco a través de los sistemas sanguíneo y linfático puede ocasionar una infección generalizada o sistémica llamada **septicemia** y el patógeno puede difundirse a otros tejidos. Una septicemia puede conducir a una inflamación masiva y culminar en un choque séptico y una muerte rápida, como se describe en la Sección 24.5. Por lo general, las bacteriemias y las septicemias comienzan como una infección en un órgano determinado, como el intestino, el riñón o el pulmón.

Infección y enfermedad

Una infección es cualquier situación en la que un microorganismo ajeno a la microbiota local se establece y multiplica en un hospedador, con independencia de que el hospedador sufra daño o no. Infección no es sinónimo de enfermedad, pues el crecimiento de un microorganismo, incluso el de un patógeno, en un hospedador no siempre es dañino. La microbiota normal también crece en el hospedador y es generalmente inofensiva, pero en ocasiones puede multiplicarse incontroladamente, como ocurre con los patógenos oportunistas, y causar una enfermedad si la resistencia del hospedador está disminuida como, por ejemplo, a causa de un cáncer o del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (sida) (↻ Sección 29.14).

Tras la fijación de los microoganismos a una superficie, la infección requiere el crecimiento de los microorganismos, para lo que el ambiente del hospedador debe proporcionar los nutrientes adecuados. Sin embargo, no todos los factores de crecimiento, ya sean orgánicos o metales traza, están en la cantidad adecuada en todos los tejidos en todo momento, incluso en un vertebrado. Por ejemplo, aunque el hierro es un micronutriente importante que influye en el crecimiento microbiano, las proteínas *transferrina* y *lactoferrina* del hospedador tienen alta afinidad por él y lo inmovilizan, lo que puede limitar la infección. Para contrarrestar este efecto, muchos patógenos producen *sideróforos*, compuestos quelantes del hierro; algunos son tan eficaces que pueden llegar a eliminar el hierro de los tejidos del hospedador.

El proceso de adherencia e infección ha sido bien estudiado en la formación de *biopelículas* (↻ Sección 19.4) por la microbiota bucal en la superficie dental. Incluso en la superficie de un diente recién cepillado, las glicoproteínas ácidas de la saliva forman una delgada película orgánica de varios micrómetros de espesor que proporciona un lugar de fijación para las bacterias. Así, los estreptococos colonizan rápidamente esta película glicoproteica. En particular, lo hacen las dos especies implicadas en la caries dental, *Streptococcus sobrinus* y *S. mutans* (**Figura 23.15**). La primera tiene afinidad por las glicoproteínas salivares de las superficies dentales lisas (Figura 23.4). En cambio, *S. mutans* reside en grietas y fisuras pequeñas donde produce dextrano, un polisacárido muy adherente, que utiliza para colonizar las superficies de los dientes (Figura 23.16). Tanto *S. sobrinus* como *S. mutans* son bacterias del ácido láctico y fermentan la glucosa a ácido láctico, el agente que destruye el esmalte dental.

El crecimiento masivo de bacterias produce un gruesa *biopelícula* llamada **placa dental** (**Figura 23.16**). A medida que la placa se desarrolla, aparecen bacterias anaerobias filamentosas, como varias especies de *Fusobacterium.* Estas bacterias filamentosas se incrustan en la matriz formada por los estreptococos y se extienden perpendicularmente a la superficie del diente, construyendo una biopelícula cada vez más gruesa. Asociadas a las bacterias filamentosas aparecen espiroquetas como *Borrelia*, bacilos grampositivos, y cocos gramnegativos. Conforme la placa se hace más densa, pueden predominar microorganismos filamentosos anaerobios estrictos, como *Actinomyces*. La placa dental es, pues, una biopelícula mixta compuesta por especies de varios géneros y sus productos acumulados.

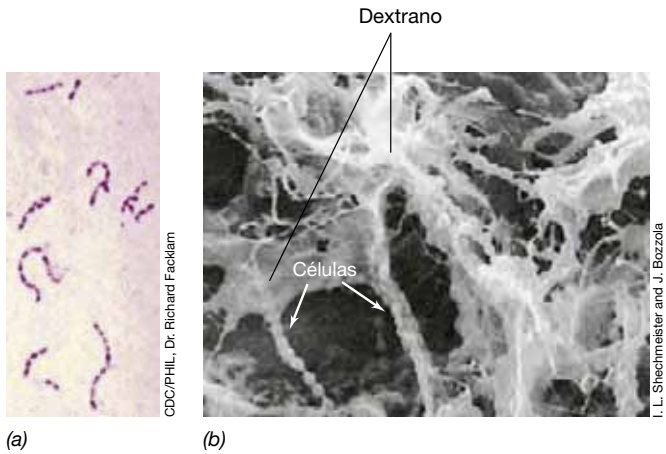
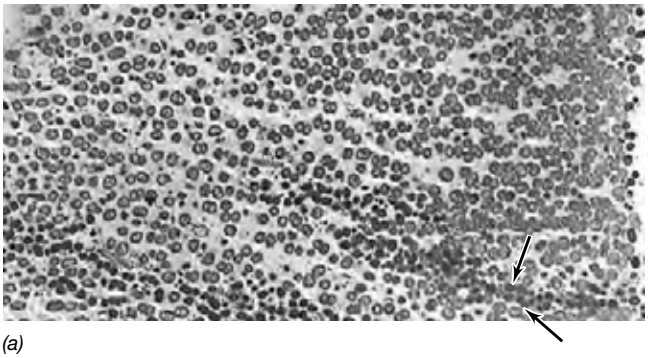
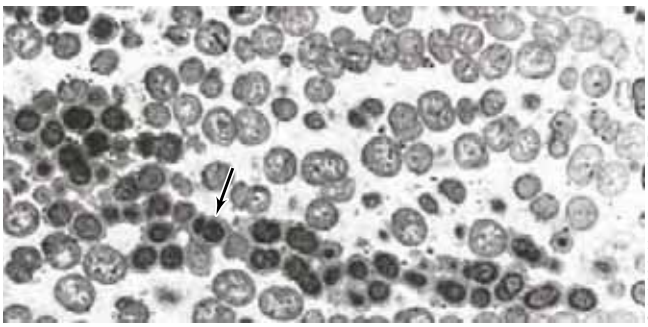


Figura 23.15 ***Streptococcus mutans* cariogénico**. *(a)* Células teñidas en una micrografía óptica muestran las cadenas celulares características de los estreptococos. *(b)* Micrografía electrónica de barrido del dextrano adherente que mantiene las bacterias unidas formando filamentos. Las células individuales de *S. mutans* tienen aproximadamente 1 μm de diámetro.



(a)



(b)

Figura 23.16 **Placa dental**. El lado izquierdo de la micrografía electrónica de transmisión muestra la base de la placa; El lado derecho es la región de la placa en contacto con la cavidad bucal *(a)* La micrografía de bajo aumento muestra predominantemente estreptococos. *Streptococcus sobrinus*, marcado mediante una técnica inmunocitoquímica, aparece más oscuro que el resto. Las células de *S. sobrinus* se observan como dos cadenas distintas (flechas). *(b)* Micrografía de mayor aumento que muestra la región con células de *S. sobrinus* (oscura, flecha). Obsérvese la extensa capa mucosa que rodea las células de *S. sobrinus*. Las células individuales tienen aproximadamente 1 µm de diámetro. El género *Streptococcus* pertenece a los *Firmicutes* y se describe en la Sección 15.6.

La distintas poblaciones microbianas de la placa dental crean y mantienen su propio microambiente, haciendo frente así a grandes variaciones en las condiciones macroambientales de la cavidad bucal. A medida que la placa dental se acumula, la microbiota produce localmente altas concentraciones de ácidos orgánicos, en particular de ácido láctico, que es el causante de la descalcificación del esmalte de los dientes y ocasiona la **caries dental**. El esmalte dental es un tejido calcificado, y la capacidad de los microorganismos para invadirlo desempeña un papel importante en el alcance de la caries. Por tanto, se trata de una enfermedad infecciosa.

Factores de virulencia

Muchos patógenos producen *factores de virulencia* que directa o indirectamente aumentan la invasividad lo que favorece la infección. Se trata en muchos casos de enzimas. Por ejemplo, los estreptococos, los estafilococos y algunos clostridios producen *hialuronidasa* (Tabla 23.5), una enzima que hidroliza el ácido hialurónico, un polisacárido que actúa como cemento intercelular en los animales. Así, su ruptura permite a estos patógenos propagarse desde el sitio inicial de la infección. De modo semejante, los clostridios que causan la gangrena gaseosa (↬ Sección 30.9) producen *colagenasa*, una enzima que destruye el colágeno y les permite diseminarse a través del cuerpo. Muchos estreptococos y estafilococos patógenos producen proteasas, nucleasas y lipasas que degradan respectivamente las proteínas, los ácidos nucleicos y los lípidos del hospedador (Tabla 23.5).

Existen dos factores de virulencia que son enzimas que afectan a la fibrina, una proteína insoluble de la sangre que forma coágulos. El mecanismo de la coagulación, activado por la lesión de un tejido, aísla los patógenos y limita la infección a una región local. No obstante, algunos patógenos contrarrestan este proceso mediante la producción de enzimas fibrinolíticas que disuelven los coágulos de fibrina y posibilitan que continúe la invasión. La enzima fibrinolítica producida por *Streptococcus pyogenes* se llama *estreptoquinasa* (Tabla 23.5).

A diferencia de la actividad destructiva de la estreptoquinasa, algunos patógenos producen enzimas que promueven la formación de coágulos de fibrina que protegen al patógeno de las respuestas del hospedador. Por ejemplo, la *coagulasa* (Tabla 23.5) de *Staphylococcus aureus* hace que la fibrina insoluble se deposite sobre las células de esta bacteria, protegiéndolas del ataque de las células del hospedador. La matriz de fibrina producida por la actividad de la coagulasa puede ser la causa de la naturaleza localizada de muchas infecciones estafilocócicas, como en los forúnculos y las espinillas (↬ Sección 29.9). Las cepas de *S. aureus* coagulasa positivo suelen ser más virulentas que las cepas coagulasa negativo.

Virulencia de *Salmonella:* islas de patogenicidad y plásmidos

Diferentes especies de *Salmonella* que infectan a los seres humanos dan lugar a diversas enfermedades gastrointestinales. Estas bacterias son portadoras de genes que codifican un gran número de factores de virulencia que son importantes en la adherencia y la infección (Figura 23.17). Varios de los genes que gobiernan la virulencia de *Salmonella,* y también de otros

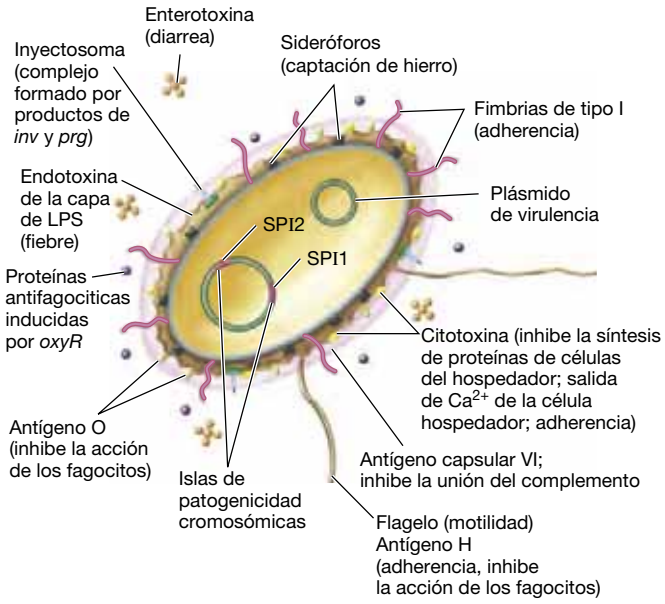


Figura 23.17 **Factores de virulencia de *Salmonella***. Se muestran factores importantes para la virulencia y la patogenia de esta bacteria entérica gramnegativa.

UNIDAD 5

Tabla 23.5 Exotoxinas y otros factores de virulencia extracelulares producidas por microorganismos patógenos humanos

Organismo	*Enfermedad*	*Toxina o factor*[a]	*Acción/Tipo de enzima*
Bacillus anthracis	Carbunco (ántrax)	Factor letal (FL)	AP es el componente B de unión a la célula, FE causa edema y FL causa muerte celular
		Factor de edema (FE)	
		Antígeno protector (AP) (AB)	
Bacillus cereus	Intoxicación alimentaria	Complejo de enterotoxinas	Induce pérdida de líquidos de las células intestinales
Bordetella pertussis	Tos ferina	Toxina pertussis (AB)	Bloquea la transducción de señal de de la proteína G, mata células
Clostridium botulinum	Botulismo	Neurotoxina (AB)	Parálisis flácida (Figura 23.21)
Clostridium tetani	Tétanos	Neurotoxina (AB)	Parálisis espástica (Figura 23.22)
Clostridium perfringens	Gangrena gaseosa, intoxicación alimentaria	α-Toxina (TC)	Hemolisis (lecitinasa, Figura 23.18*b*)
		β-Toxina (TC)	Hemolisis
		γ-Toxina (TC)	Hemolisis
		δ-Toxina (TC)	Hemolisis (cardiotoxina)
		κ-Toxina (E)	Colagenasa
		λ-Toxina (E)	Proteasa
		Enterotoxina (TC)	Altera la permeabilidad del epitelio intestinal
Corynebacterium diphtheriae	Difteria	Toxina diftérica (AB)	Inhibe la síntesis de proteínas en eucariotas (Figura 23.20)
Escherichia coli (solo cepas enterotoxigénicas)	Gastroenteritis	Enterotoxina (toxina tipo Shiga) (AB)	Inhibe la síntesis de proteínas, causa diarrea hemorrágica y síndrome urémico hemolítico
Haemophilus ducreyi	Chancro blando	Toxina de distensión citoletal[b] (AB)	Genotoxina (lesiones del DNA causan apoptosis en las células del hospedador)
Pseudomonas aeruginosa	Infecciones por *P. aeruginosa*	Exotoxina A (AB)	Inhibe las síntesis de proteínas
Salmonella spp.	Salmonelosis, fiebre tifoidea, fiebre paratifoidea	Enterotoxina (AB)	Inhibe las síntesis de proteínas, lisis de las células hospedador
		Citotoxina (TC)	Induce la perdida de líquidos de las células intestinales
		Inyectosoma	Secreción de toxinas al interior de las células hospedador (↻ Figure 4.43)
Shigella dysenteriae	Disentería bacteriana	Toxina Shiga (AB)	Inhibe la síntesis de proteínas, causa diarrea hemorrágica y síndrome urémico hemolítico
Staphylococcus aureus	Infecciones piógenas (formadoras de pus) como furúnculos, etc., infecciones respiratorias, intoxicaciones alimentarias, síndrome del choque tóxico, síndrome de piel escaldada	α-Toxina (TC)	Hemolisis
		Toxina del síndrome del choque tóxico (SA)	Choque sistémico
		Toxinas exfoliantes A y B (SA)	Descamación de la piel, choque
		Leucocidina (TC)	Destruye leucocitos
		β-Toxina (TC)	Hemolisis
		γ-Toxina (TC)	Mata células
		δ-Toxina (TC)	Hemolisis, leucolisis
		Enterotoxinas A, B, C, D y E (SA)	Induce vómitos, diarrea, choque
		Coagulasa (E)	Induce la coagulación de la fibrina
Streptococcus pyogenes	Infecciones piógenas, amigdalitis, escarlatina	Estreptolisina O (CC)	Hemolisis
		Estreptolisina S (TC)	Hemolisis (Figura 23.18*a*)
		Toxina eritrogénica (SA)	Causa escarlatina
		Estreptoquinasa (E)	Disuelve los coágulos de fibrina
		Hialuronidasa (E)	Disuelve el ácido hialurónico del tejido conectivo
Vibrio cholerae	Cólera	Enterotoxina (AB)	Induce la perdida de líquidos de las células intestinales (Figura 23.23)

[a] AB, toxina AB; TC, toxina citolítica; E, factor de virulencia enzimático; SA, toxina superantígeno, véase la Sección 24.9.
[b] La toxina de distensión citoletal se encuentra en otros patógenos gramnegativos como *Campylobacter jejuni, Escherichia coli, Helicobacter* spp., *Salmonella enterica* serovar Typhi y *Shigella dysenteriae.*

patógenos gramnegativos relacionados, se encuentran agrupados en el cromosoma formando *islas de patogenicidad* (↔ Sección 6.13). Por ejemplo, la isla de patogenicidad 1 de *Salmonella* (SPI1) es una colección de genes de virulencia que codifican al menos 10 proteínas diferentes que promueven la invasión. Uno de ellos es *invH*, que codifica una proteína de adhesión de superficie. Otros genes *inv* (de invasividad) codifican proteínas que son importantes para el tráfico de proteínas relacionadas con la virulencia. La proteína reguladora InvJ controla el ensamblaje de las proteínas estructurales InvG, PrgH, PrgI, PrgJ y PrgK, que forman un sistema de secreción de tipo III llamado el *inyectosoma*, un orgánulo de la envoltura bacteriana que permite la transferencia directa de proteínas de virulencia a las células del hospedador a través de una a modo de aguja de inyección (Figura 23.17, y ↔ Figura 4.43).

Otra isla de patogenicidad de *Salmonella*, la SPI2, contiene genes responsables de causar una enfermedad más sistémica y de la resistencia a las defensas de las células del hospedador. Además, varios factores de virulencia codificados en plásmidos, como los genes de resistencia a antibióticos codificados en los plásmidos R, pueden propagarse entre la mayoría de las especies de *Salmonella* y entre otras bacterias entéricas (↔ Sección 4.3). Las islas de patogenicidad y los plásmidos R permiten la transferencia fácil y rápida de factores de virulencia. Por tanto, no es raro que los genes que codifican estos factores en un patógeno sean muy parecidos, si no idénticos, a los de algún otro, debido a la transferencia entre especies de la totalidad o parte de las islas por transferencia horizontal de genes.

MINIRREVISIÓN

- Indique los factores del hospedador que limitan o aceleran la infección de un microorganismo en los sitios locales concretos.
- ¿Cómo promueven la infección y la invasión bacteriana la estreptoquinasa y la coagulasa?

23.9 Exotoxinas

La **toxicidad** es la capacidad de un microorganismo para causar una enfermedad por medio de una toxina preformada que inhibe la función de las células del hospedador o las mata. Las **exotoxinas** son proteínas tóxicas liberadas por el patógeno a medida que crece y que se dispersan desde el foco de la infección, por lo que pueden causar daño en sitios distantes. La Tabla 23.5 presenta un resumen de las propiedades y acciones de algunas exotoxinas bacterianas conocidas, así como de otros factores de virulencia extracelulares liberados por las bacterias durante su crecimiento.

Según sea su mecanismo de acción, las exotoxinas se dividen en tres categorías: las *toxinas citolíticas*, las *toxinas AB*, y los *superantígenos*. Las toxinas citolíticas destruyen la integridad de la membrana citoplasmática, provocando la lisis celular. Las toxinas AB están formadas por dos subunidades, A y B. La subunidad B se une a una molécula de la superficie de la célula hospedadora, permitiendo que la subunidad A traspase la membrana citoplasmática y dañe a la célula. Los superantígenos actúan estimulando un gran número de células inmunitarias, lo que ocasiona una intensa inflamación y daño tisular (↔ Sección 24.9).

Un subconjunto de exotoxinas son las **enterotoxinas**, cuya actividad afecta al intestino delgado, causando generalmente una salida de fluidos hacia la luz intestinal que provoca vómitos y diarrea. Suelen entrar en el organismo por la ingestión de agua o alimentos contaminados y son producidas por una variedad de bacterias, entre ellas microorganismos causantes de intoxicaciones alimentarias, como *Staphylococcus aureus, Clostridium perfringens, Bacillus cereus*, y los patógenos intestinales *Vibrio cholerae, Escherichia coli y Snella enterica* serovar Typhimurium (Capítulo 31). Las enterotoxinas, como el resto de las exotoxinas, pueden ser citolíticas, de tipo AB, o superantígenos.

Citotoxinas

Las citotoxinas o toxinas citolíticas, son proteínas extracelulares solubles producidas por diversos patógenos; actúan alterando la membrana citoplasmática de las células del hospedador, causando su lisis y muerte. Debido a que la actividad lítica de estas toxinas se observa más fácilmente en ensayos que utilizan eritrocitos, estas toxinas son llamadas a menudo *hemolisinas* (Tabla 23.5), aunque también lisan otras células. La producción de hemolisinas se puede probar en el laboratorio sembrando el patógeno sobre una placa de agar sangre (un medio rico que contiene un 5 % de sangre estéril). Durante el crecimiento de las colonias, se libera la hemolisina, que lisa los eritrocitos circundantes, que liberan la hemoglobina, por lo que alrededor de las colonias se crea una zona clara denominada halo de *hemolisis* (**Figura 23.18**).

Algunas hemolisinas atacan los fosfolípidos de la membrana citoplasmática de las células del hospedador. Debido a que la lecitina (o fosfatidilcolina, un fosfolípido) se utiliza a menudo como sustrato, estas enzimas se denominan *lecitinasas* o *fosfolipasas*. Un ejemplo es la α-toxina de *Clostridium perfringens*, una lecitinasa que disuelve los lípidos de la membrana, ocasionando la lisis celular (Tabla 23.5, Figura 23.18*b*). Debido a que las membranas citoplasmáticas de todos los organismos contienen fosfolípidos, las fosfolipasas destruyen tanto las membranas de las bacterias como las de de células animales.

No obstante, hay hemolisinas que no son fosfolipasas. La estreptolisina O, una hemolisina producida por estreptococos, afecta a los esteroles de la membrana citoplasmática del

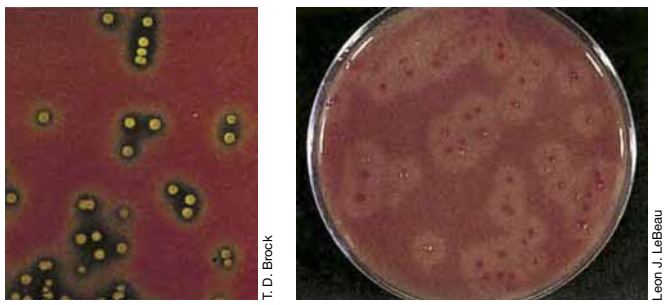


Figura 23.18 **Hemolisis**. *(a)* Zonas de hemolisis alrededor de colonias de *Streptococcus pyogenes* en una placa de agar sangre. *(b)* Acción de la lecitinasa, una fosfolipasa, alrededor de colonias de *Clostridium perfringens* que crecen en un medio de agar que contiene yema de huevo, una fuente de lecitina. La lecitinasa disuelve las membranas citoplasmáticas de los hematíes, produciendo halos blanquecinos de hemolisis alrededor de cada colonia.

UNIDAD 5

hospedador. Las *leucocidinas* (Tabla 23.5) lisan los leucocitos y pueden disminuir la respuesta inmunitaria del hospedador. La toxina α estafilocócica (**Figura 23.19** y Tabla 23.5) mata las células con nucleo y provoca la lisis de los eritrocitos. Las subunidades de esta última toxina se unen primero a la bicapa de fosfolípidos y, a continuación, se oligomerizan en heptámeros no líticos, que ahora están asociados a la membrana. Después, cada heptámero sufre cambios conformacionales que dan lugar a un poro en la membrana. Este poro permite la entrada de material extracelular y la liberación del contenido citoplasmático de la célula, lo que acaba matándola (Figura 23.19).

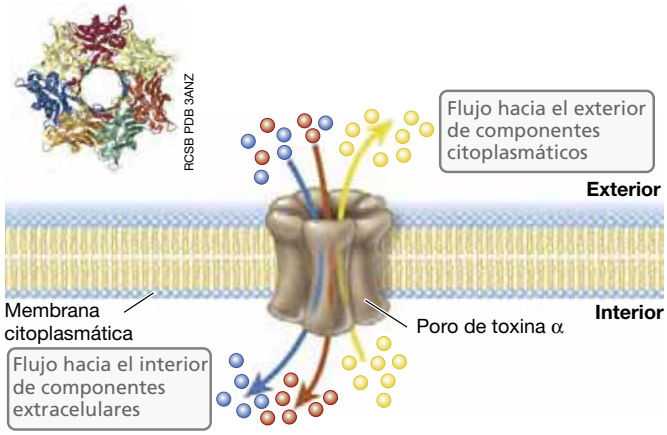


Figura 23.19 **Toxina *α* estafilocócica**. La toxina α estafilocócica es una citotoxina formadora de poros producida por las células de *Staphylococcus*. Esta toxina es liberada en forma de monómeros, siete subunidades idénticas de proteína, que se oligomerizan en la membrana citoplasmática de las células diana donde el oligómero forma un poro por donde se escapa el contenido celular. En los hematíes, la toxina produce hemolisis, lo que muestra claramente la lisis celular. La imagen en miniatura de la parte superior izquierda muestra la estructura de la toxina α mirando hacia abajo a través del poro. Cada una de las siete subunidades se muestra en un color diferente.

Toxina diftérica

La toxina de la difteria, producida por *Corynebacterium diphtheriae,* es una toxina AB y un importante factor de virulencia del patógeno (↪ Sección 29.3). Esta toxina inhibe la síntesis de proteínas en las células eucariotas. Aunque algunos animales, como las ratas y los ratones, son relativamente resistentes a la toxina diftérica, los humanos y muchos otros animales son muy susceptibles, hasta el punto de que una sola molécula de esta toxina es suficiente para matar una célula.

La toxina de la difteria es secretada por *C. diphtheriae* en forma de polipéptido. Uno de sus componentes, la subunidad B, se une específicamente a una proteína de las células eucariotas del hospedador, el llamado factor de crecimiento epidérmico de unión a heparina (**Figura 23.20**). Después de la unión, una escisión proteolítica separa la subunidad B del resto de la proteína, la subunidad A, permitiendo la entrada de la segunda a través de la membrana citoplasmática. Una vez dentro, la subunidad A detiene la síntesis de proteínas al bloquear la transferencia de un aminoácido desde el tRNA a las cadenas de polipéptido que se están formando. Específicamente, la toxina de la difteria inactiva el factor de elongación 2 (EF-2), una proteína que interviene en la formación de la cadena de polipéptido catalizando la unión del difosfato de adenosina (ADP) ribosa del NAD^+. Tras la ribosilación del ADP, la actividad del EF-2 disminuye drásticamente y la síntesis de proteínas se detiene.

La toxina de la difteria no está codificada por genes propios de la bacteria, sino por un gen vírico llamado *tox*, que se encuentra en el genoma del bacteriófago lisogénico *β*. (Los fagos lisogénicos son aquellos cuyo genoma se ha integrado en el cromosoma de su hospedador; ↪ Sección 8.8.) Las cepas

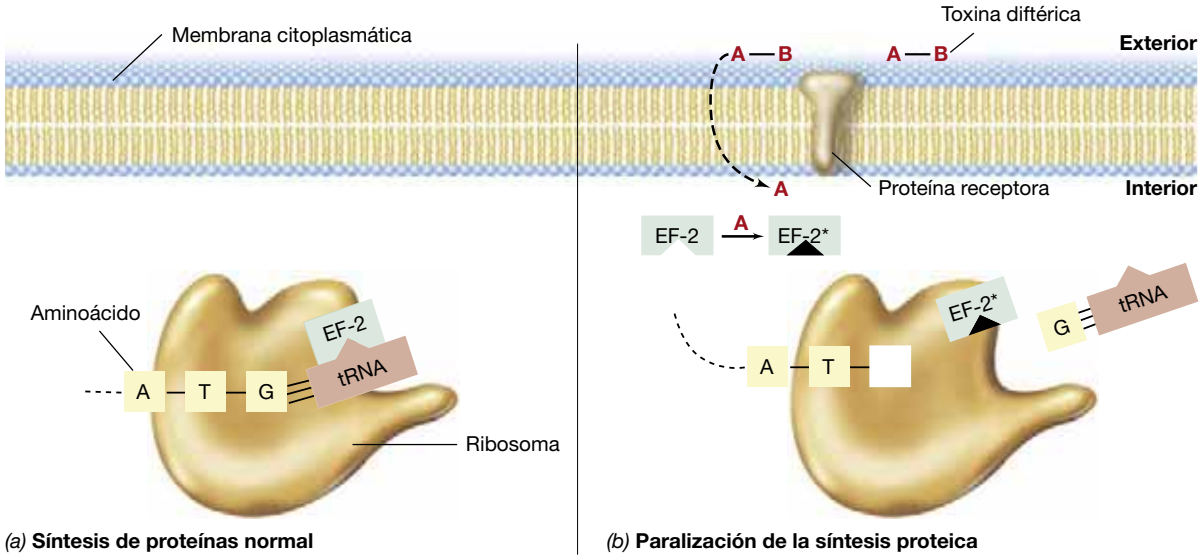


Figura 23.20 **Actividad de la toxina diftérica**. La toxina de la difteria es una toxina de tipo AB producida por *Corynebacterium diphtheriae*. *(a)* En las células eucariotas, el factor de elongación 2 (EF-2) se une al ribosoma y facilita la fijación del aminoacil- tRNA al ribosoma, ocasionando la elongación de la proteína. *(b)* La toxina de la difteria se une a la membrana citoplasmática por medio de su subunidad B. La escisión de la toxina permite a la subunidad A entrar en la célula, donde cataliza la ADP-ribosilación del factor de elongación 2 (EF-2 ⟶ EF-2*). El factor de elongación modificado ya no puede unirse al ribosoma, lo que detiene la síntesis de proteínas y causa la muerte celular.

toxigénicas (patógenas) de *C. diphtheriae* están infectadas por el fago β y, por tanto, pueden producir la toxina. Las cepas no toxigénicas (no patógenas) de esta bacteria se pueden convertir en cepas patógenas por infección con el fago β, un proceso que se denomina *conversión fágica* (↔ Sección 10.7).

La exotoxina A de *Pseudomonas aeruginosa* funciona de manera semejante a la toxina diftérica, pues también modifica el factor EF-2 mediante la ribosilación del ADP (Tabla 23.5). La enterotoxina producida por *Shigella dysenteriae*, llamada *toxina Shiga*, y la verotoxina, una toxina similar producida por la cepa enteropatógena de *E. coli* O157:H7 (↔ Sección 31.12), también son toxinas AB (Tabla 23.5). Las verotoxinas actúan sobre las células del intestino delgado cercanas al lugar colonizado por el patógeno bloqueando la síntesis de proteínas ocasionando diarreas hemorrágicas y el síndrome urémico hemolítico, una enfermedad del riñón que puede provocar insuficiencia renal, especialmente en los niños.

Toxinas tetánica y botulínica

Clostridium botulinum y *Clostridium tetani* son bacterias formadoras de endosporas que se encuentran comúnmente en el suelo. Estos microorganismos causan ocasionalmente enfermedades en los animales debido a la producción de exotoxinas AB muy nocivas que funcionan como *neurotoxinas* (↔ Secciones 30.9 y 31.9). Ni *C. botulinum* ni *C. tetani* son muy invasivas; por tanto, su patogenicidad se debe casi exclusivamente a la neurotoxicidad. Tanto la toxina botulínica como la toxina del tétanos bloquean la liberación de neurotransmisores que intervienen en el control muscular, pero el modo de acción y los síntomas de estas enfermedades son muy distintos (**Figura 23.21** y **Figura 23.22**).

En ocasiones, *C. botulinum* crece directamente en el cuerpo, causando botulismo infantil o botulismo por heridas. Sin embargo, con frecuencia *C. botulinum* crece y produce la toxina en alimentos mal conservados y la ingestión de toxina preformada es el modo más común de adquisición de botulismo, ya que la infección y el crecimiento de la bacteria en el propio cuerpo no son necesarios. Las toxinas botulínicas son las toxinas biológicas más potentes que se conocen, e incluyen siete toxinas AB. Un nanogramo (10^{-9} g) de toxina botulínica es suficiente para matar a un conejillo de indias. De las siete toxinas botulínicas conocidas, al menos dos están codificadas por bacteriófagos lisogénicos específicos de *C. botulinum*. El componente tóxico principal es una proteína que forma complejos con proteínas botulínicas no tóxicas para producir un complejo proteínico de actividad biológica. Dicho complejo se une a las membranas presinápticas del extremo terminal de las neuronas motoras de la unión neuromuscular, bloqueando la liberación de acetilcolina. La transmisión normal de un impulso nervioso a una célula muscular requiere la interacción de la acetilcolina con un receptor del músculo; la toxina botulínica impide que el músculo afectado por la toxina reciba la señal excitadora de la acetilcolina (Figura 23.21), lo que, a su vez, impide la contracción muscular y provoca una parálisis flácida y la muerte por asfixia, el desenlace mortal del botulismo.

A diferencia de *C. botulinum*, *C. tetani* crece en heridas profundas, tales como un pinchazo, que se convierten en regiones

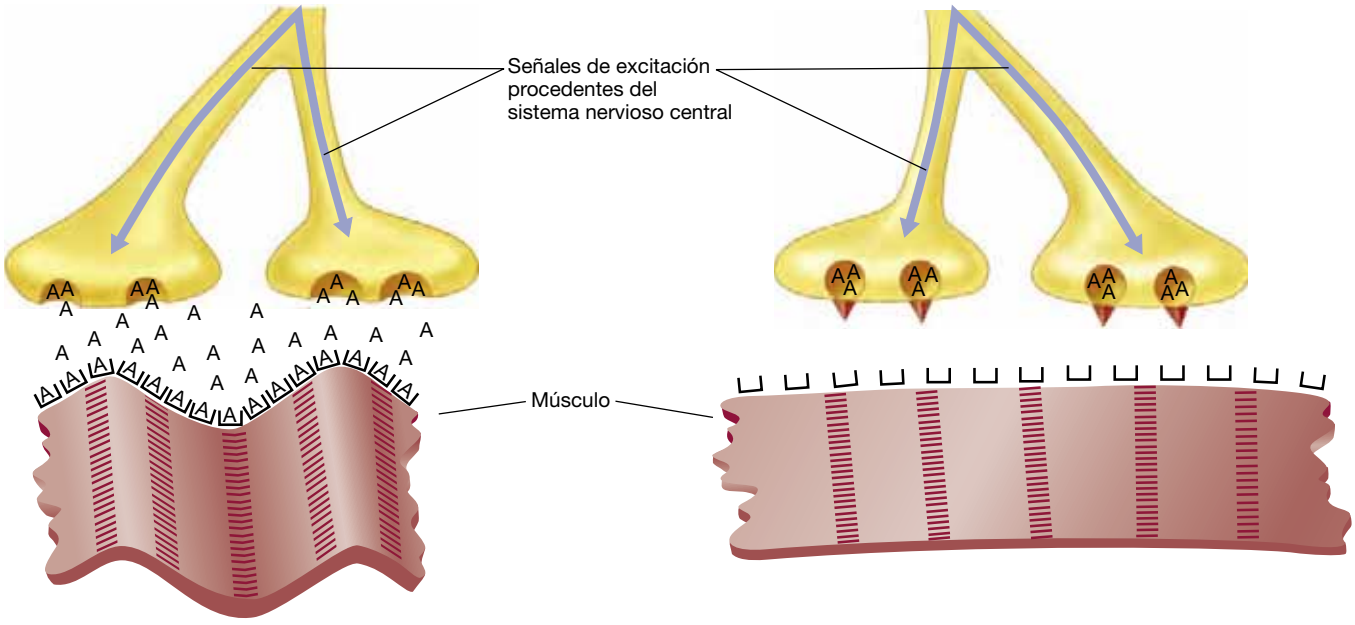


Figura 23.21 **Actividad de la toxina botulínica de *Clostridium botulinum*.** *(a)* Tras la estimulación de los nervios periféricos y craneales, la acetilcolina (A) es liberada normalmente por las vesículas del extremo neural de la placa motora y se une a los receptores específicos del músculo, induciendo su contracción. *(b)* La toxina botulínica actúa sobre la placa motora bloqueando la liberación de acetilcolina (A), lo que ocasiona una falta de estímulo a las fibras musculares, la relajación irreversible de los músculos y una parálisis flácida.

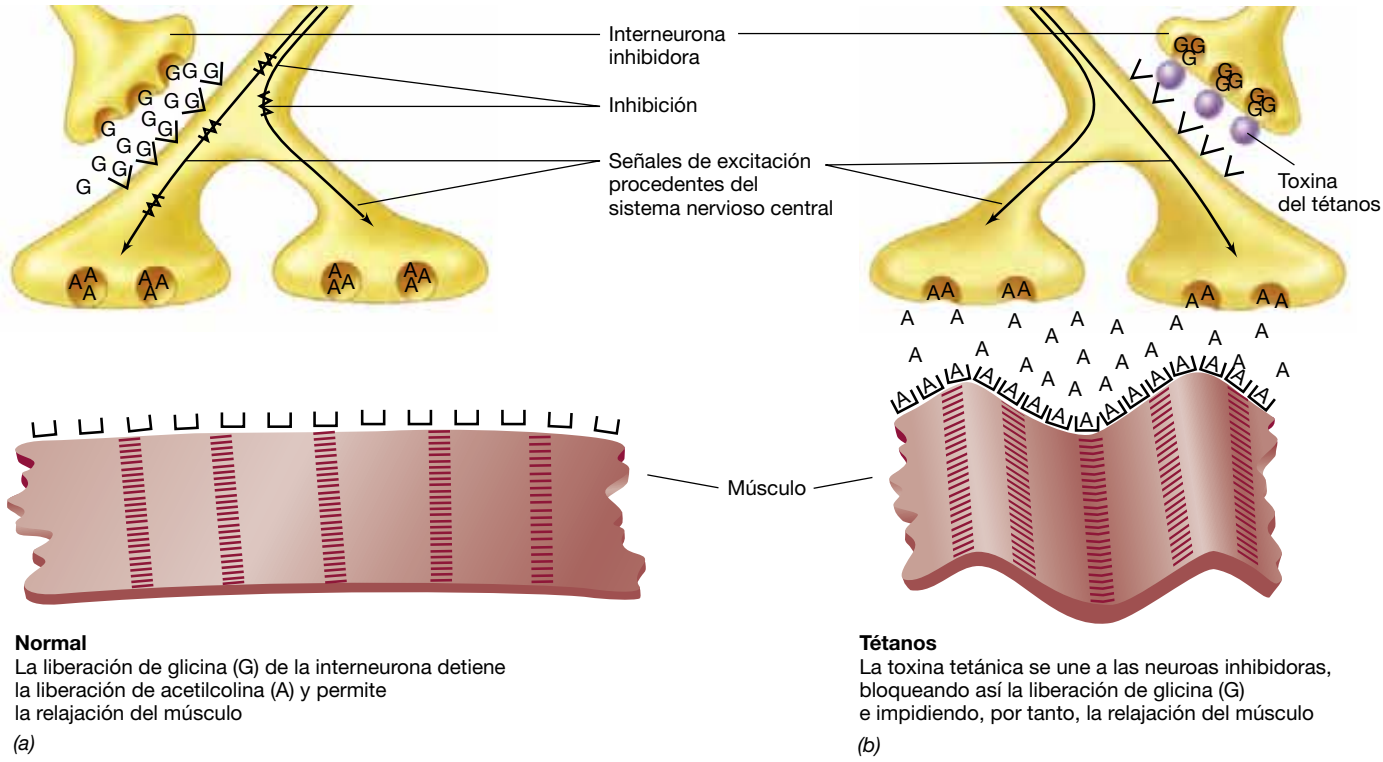


Figura 23.22 **Actividad de la toxina tetánica de *Clostridium tetani*.** *(a)* En condiciones normales, la relajación muscular es inducida por la liberación de glicina (G) de las interneuronas inhibitorias. La glicina actúa sobre las neuronas motoras bloqueando la excitación y liberando acetilcolina en la placa motora (A). *(b)* La toxina del tétanos se une a la interneurona y bloquea la liberación de glicina, lo que ocasiona una falta de señales inhibitorias a las neuronas motoras; como consecuencia, la acetilcolina se libera ininterrumpidamente a las fibras musculares, causando la contracción irreversible de los músculos y una parálisis espástica. Con fines ilustrativos, la interneurona inhibitoria se muestra cerca de la placa motora, aunque en realidad se encuentra en la médula espinal.

anóxicas. Las células de *C. tetani* rara vez salen del entorno de la herida donde se introdujeron y tienen un crecimiento relativamente lento en la zona. La toxina se disemina sistémicamente a través de las neuronas y causa una parálisis espástica, el sello distintivo del tétanos (↻ Sección 30.9 y Figura 30.22*b*). Al entrar en contacto con el sistema nervioso central, la toxina del tétanos es transportada a través de las neuronas motoras hasta la médula espinal, donde se une específicamente a los gangliósidos del extremo de las interneuronas inhibidoras. Estas actúan normalmente liberando un neurotransmisor inhibidor, normalmente glicina, que se une a los receptores de las neuronas motoras. La glicina de las interneuronas inhibidoras detiene entonces la liberación de acetilcolina por las neuronas motoras e inhibe la contracción muscular, lo que permite la relajación de las fibras musculares. Sin embargo, cuando la toxina del tétanos bloquea la liberación de glicina, las neuronas motoras no pueden ser inhibidas, lo que ocasiona la liberación continuada de acetilcolina y la contracción descontrolada de los músculos afectados (Figura 23.22). El resultado es una parálisis espástica convulsiva, ya que los músculos afectados se contraen permanentemente. Si los músculos de la cara están afectados, las contracciones prolongadas limitan el movimiento de la boca y puede llegarse al cierre permanente y contractural de la mandíbula, una condición conocida como *trismo* (*lockjaw*, en inglés). Si son los músculos respiratorios los que están afectados, su contracción prolongada puede causar la muerte por asfixia.

Toxina del cólera

La toxina del cólera es una enterotoxina de tipo AB producida por *V. cholerae*, y es la causa de esta enfermedad (↻ Sección 31.3). El cólera se caracteriza por la salida masiva de líquido a la luz intestinal, lo que provoca una grave diarrea, deshidratación potencialmente mortal y pérdida de electrólitos (**Figura 23.23**). La infección comienza por la ingestión de las células de *V. cholerae* presentes en alimentos o agua contaminados. El organismo llega al intestino, donde se produce la colonización y secreción subsiguiente de la toxina (Figura 23.23). En el intestino, la subunidad B de la toxina, que consta de cinco monómeros idénticos, se une específicamente al ganglíosido GM1, un complejo glicolipídico de la membrana citoplasmática de las células epiteliales intestinales.

La subunidad B dirige a la toxina específicamente al epitelio intestinal, pero no tiene toxicidad en sí misma; la actividad tóxica depende de la subunidad A, que atraviesa la membrana citoplasmática y activa la adenilato-ciclasa, la enzima que convierte el ATP en monofosfato de adenosina cíclico (cAMP). Esta última molécula es un nucleótido cíclico (↻ Figura 7.14) que actúa de intermediaria en varios sistemas de regulación celulares, como el equilibrio iónico. El aumento de cAMP inducido por la enterotoxina del cólera activa la secreción de cloruro (Cl^-) y de bicarbonato (HCO_3^-) por las células epiteliales del intestino delgado al lumen intestinal. Este cambio en las concentraciones de iones provoca la salida de grandes cantidades de agua, de forma que su pérdida en el intestino delgado es mayor que su posible reabsorción por el intestino grueso, lo que ocasiona una gran pérdida neta de fluido y una diarrea acuosa.

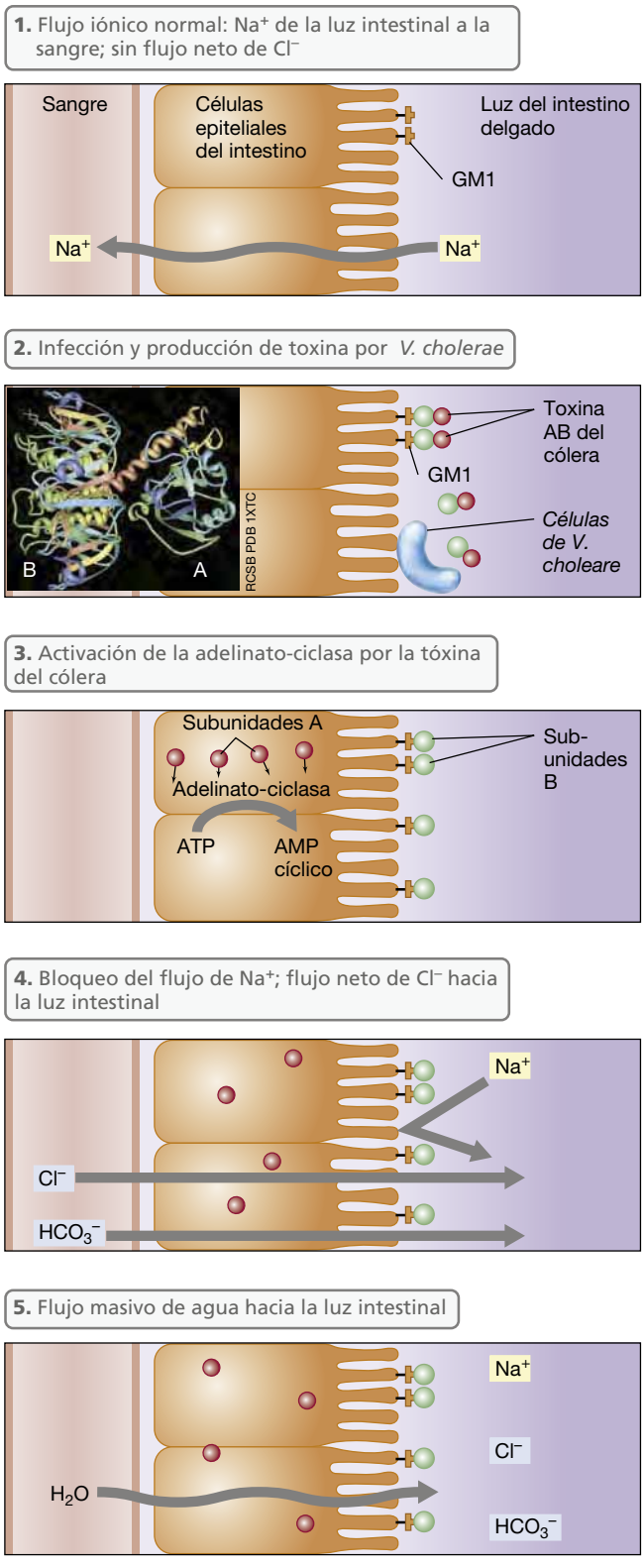


Figura 23.23 **Actividad de la enterotoxina del cólera**. La toxina del cólera es una enterotoxina de tipo AB termoestable que activa un segundo mensajero celular, alterando el flujo normal de iones en el intestino, lo que ocasiona una diarrea que puede ser mortal. La foto en miniatura muestra la estructura tridimensional de la toxina (vista lateral), con la subunidad B (la sección de unión a células) y la subunidad A (la sección enzimáticamente activa).

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué características principales comparten todas las exotoxinas AB?
- ¿Son necesarios el crecimiento bacteriano y la infección en el hospedador para la producción de toxinas? Explique e ilustre su respuesta con algunos ejemplos.

23.10 Endotoxinas

Las **endotoxinas** son los lipopolisacáridos tóxicos que se encuentran en la mayoría de las bacterias gramnegativas. Son componentes estructurales de la membrana externa gramnegativa (↪ Sección 2.11), por tanto, a diferencia de las exotoxinas, no son productos solubles de bacterias en crecimiento.

Estructura y biología de las endotoxinas

La estructura de los lipopolisacáridos (LPS) se ha mostrado en las Figuras 2.28 y 2.29. El LPS consta de tres subunidades unidas covalentemente: el polisacárido O específico, distal con respecto de la membrana, el lípido A y un núcleo de polisacárido proximal respecto a la membrana. El lípido A es responsable de la toxicidad, mientras que la fracción polisacarídica hacen que el conjunto sea soluble en agua e inmunógeno, pero tanto el lípido como las fracciones polisacarídicas deben formar una unidad para producir efectos tóxicos. A diferencia de las exotoxinas, que son secretadas por bacterias vivas, las endotoxinas se encuentran unidas a la célula y se liberan en cantidades tóxicas solo cuando las bacterias se lisan. Las endotoxinas se han estudiado en *Escherichia, Shigella* y especialmente en *Salmonella*, donde son uno entre los muchos factores de virulencia que contribuyen a la patogenia (Figura 23.17). Las propiedades de las exotoxinas y de las endotoxinas se comparan en la **Tabla 23.6**.

Las endotoxinas causan una variedad de efectos fisiológicos. La fiebre es un resultado casi universal de la exposición a las endotoxinas porque estas estimulan muchas células del hospedador a liberar citocinas, un tipo de proteínas solubles producidas por los fagocitos y otras células; dichas proteínas funcionan como *pirógenos endógenos* que actúan sobre el centro de control de temperatura del cerebro, causando fiebre. Las citocinas liberadas debido a la exposición a endotoxinas también pueden causar diarrea, una rápida disminución del número de linfocitos y plaquetas, e inflamación generalizada (↪ Sección 24.5). A dosis elevadas, las endotoxinas pueden causar la muerte por choque hemorrágico y necrosis de ciertos tejidos. Sin embargo, las endotoxinas son generalmente menos tóxicas que la mayoría de las exotoxinas. Por ejemplo, la DL_{50} de la endotoxina de *E. coli* en ratones es de 200-400 microgramos por animal, mientras que la DL_{50} de la toxina botulínica es de aproximadamente 25 picogramos, unos 10 millones de veces menos.

Prueba del lisado de amebocitos de *Limulus* para detectar endotoxinas

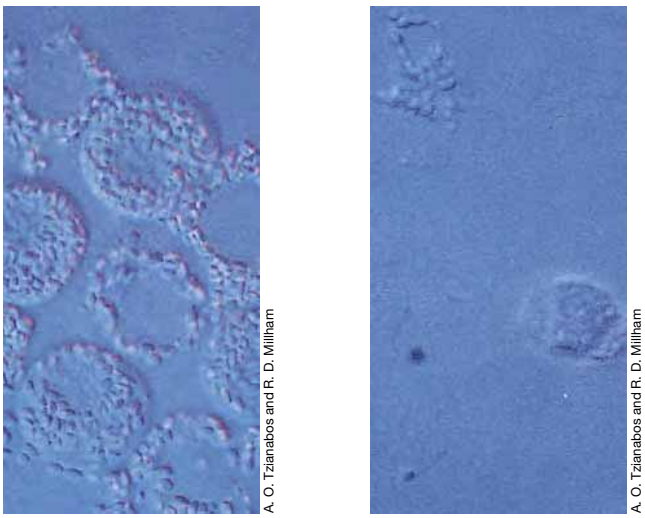
Debido a que las endotoxinas inducen la aparición de fiebre, los fármacos como los antibióticos o soluciones intravenosas deben estar libres de endotoxinas. Para confirmar su ausencia, se ha puesto a punto un ensayo de muy alta sensibilidad que emplea

Tabla 23.6 Propiedades de las exotoxinas y las endotoxinas

Propiedad	*Exotoxinas*	*Endotoxinas*
Propiedades químicas	Proteínas, excretadas por algunas bacterias grampositivas o gramnegativas; generalmente termolábiles	Complejos lipopolisacárido-lipoproteína, liberados tras la lisis celular como parte de la membrana externa de bacterias gramnegativas; extremadamente termoestables
Mecanismo de acción, síntomas	Especifico; generalmente se une a receptores celulares específicos o a estructuras de la célula; citotoxina, enterotoxina o neurotoxina con acción específica concreta sobre células o tejidos	General; fiebre, diarrea, vómitos
Toxicidad	Suelen ser muy tóxicas, en cantidades desde picogramos a microgramos; en ocasiones, letales	Débilmente tóxicas en cantidades de decenas a centenas de microgrames, raramente letales
Inmunogenicidad	Muy inmunógenas; estimulan la producción de anticuerpos neutralizantes (antitoxinas)	Relativamente poco inmunógenas; respuesta inmunitaria insuficiente para neutralizar la toxina
Potencial como toxoide	El calor o el tratamiento químico pueden destruir su toxicidad, pero la toxina tratada (toxoide) sigue siendo inmunógena	Ninguno
Potencial pirógeno	No causa fiebre al hospedador	Pirógenas, suelen causar fiebre al hospedador
Origen genético	A menudo codificada en elementos extracromosómicos	Genes cromosómicos

lisados de amebocitos de un crustáceo, la cacerola de las Molucas (*Limulus polyphemus*). Las endotoxinas causan específicamente la lisis de los amebocitos (**Figura 23.24**). En la prueba del lisado de amebocitos de *Limulus* (LAL), los extractos de amebocitos se mezclan con la solución que ensayar. Si hay endotoxinas, el extracto de amebocitos forma un gel y precipita, produciendo un cambio en la turbidez. Esta reacción se puede cuantificar, bien con un espectrofotómetro y se pueden detectar cantidades tan bajas como 10 pg/ml de LPS.

La prueba de LAL se utiliza para detectar endotoxinas en muestras clínicas como suero o líquido cefalorraquídeo, en las que un resultado positivo es presuntivo de infección por bacterias gramnegativas. El agua destinada al consumo humano o la utilizada para la elaboración de fármacos inyectables y las soluciones acuosas inyectables se analizan sistemáticamente usando la prueba de LAL para detectar y eliminar la contaminación por endotoxinas de organismos gramnegativos. Un ensayo disponible comercialmente utiliza el factor C de la cacerola de las Molucas obtenido mediante técnicas de DNA recombinante (el factor C es la proteína clave activada por la endotoxina en el ensayo LAL). Esto permite un protocolo de ensayo más estandarizado y tiene la ventaja de estar libre de productos de origen animal.



(a) (b)

Figura 23.24 **Amebocitos de *Limulus*.** *(a)* Amebocitos de la cacerola de las Molucas (*Limulus polyphemus*). *(b)* Los mismos amebocitos tras la exposición a un lipopolisacárido (LPS) bacteriano. El LPS induce la desgranulación y la lisis de las células.

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué las bacterias grampositivas no producen endotoxinas?
- ¿Por qué es necesario estudiar la presencia de endotoxinas en el agua utilizada para la preparación de medicamentos inyectables?

III • Factores del hospedador en la infección y la enfermedad

Los seres humanos poseen ciertos factores de resistencia innata que les protegen contra la mayoría de las enfermedades infecciosas; dichos factores comprenden una serie de barreras químicas y físicas frente a la infección. Además, el estado del hospedador puede ser determinante en el establecimiento de una enfermedad. Concluimos este capítulo con una revisión de estos factores, que son a menudo el punto de inflexión entre la salud y la enfermedad.

23.11 Resistencia innata a la infección

La presencia de la microbiota normal es un mecanismo de importancia crítica para resistir a la infección por patógenos, especialmente en la piel y en el intestino. Los patógenos no infectan fácilmente los tejidos sobre los que la microbiota normal ya está instalada porque esta limita los nutrientes microbianos disponibles y los sitios de infección. En esta sección veremos otros factores de resistencia que son comunes a los vertebrados y que actúan de forma general y no específicamente frente a un patógeno determinado (**Figura 23.25**).

Resistencia natural del hospedador

La capacidad de un patógeno concreto para causar una enfermedad varía mucho según la especie animal. Por ejemplo, ciertos animales son mucho más susceptibles que otros al virus de la rabia. Los mapaches y las mofetas son extremadamente susceptibles en comparación con las zarigüeyas, que rara vez desarrollan esta enfermedad. El bacilo del carbunco (*Bacillus anthracis*) infecta a muchas especies de animales, causando desde un envenenamiento mortal de la sangre en el carbunco de los bóvidos hasta pústulas relativamente leves (el llamado carbunco cutáneo) en los humanos (↻ Sección 30.8). Sin embargo, según la vía de entrada, un patógeno puede o no vencer la resistencia del hospedador. Por ejemplo, el mismo bacilo del carbunco transmitido por el aire, como cuando se utiliza como arma biológica en bioterrorismo (↻ Sección 28.8), genera una infección, el carbunco pulmonar, que suele ser mortal en los humanos. Así, mientras que *B. anthracis* causa solo una infección localizada cuando se adquiere a través de pequeñas heridas de la piel, resulta letal cuando infecta a través de la mucosa pulmonar.

Otro ejemplo de resistencia innata del hospedador lo vemos en las enfermedades de animales de sangre caliente que rara vez se transmiten a las especies de sangre fría, y viceversa. Presumiblemente, las características anatómicas y metabólicas de un grupo no sean compatibles con los agentes patógenos que infectan al otro.

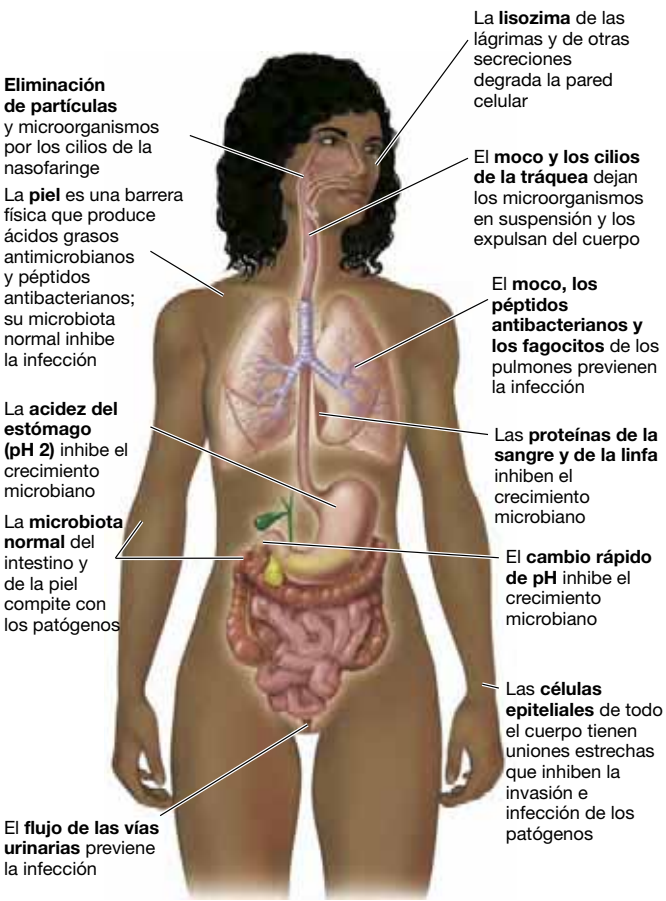


Figura 23.25 Barreras físicas, químicas y anatómicas contra la infección. Estas barreras proporcionan una resistencia natural a la colonización e infección por patógenos.

El sitio de infección y especificidad tisular

Para iniciar la infección, la mayoría de los patógenos deben adherirse al lugar donde ocurre la exposición, sino también por colonizarlo. Si los patógenos se adhieren, pero el ambiente local no es compatible con su necesidades nutricionales y metabólicas, los microorganismos no pueden infectar al hospedador. Por ejemplo, si se ingieren células de *Clostridium tetani*, normalmente no se desarrollará el tétanos debido a que la acidez del estómago es capaz de destruir al patógeno, o a que este no compite con éxito con la microbiota intestinal normal. Sin embargo, si se introdujesen en una herida profunda, las células o las endosporas de *C. tetani* podrían crecer y producir la toxina del tétanos en las zonas anóxicas creadas por la muerte del tejido local. En cambio, bacterias entéricas, como *Salmonella* y *Shigella*, normalmente no infectan las heridas, pero a menudo infectan el intestino y causan enfermedades.

En algunos casos, los patógenos interaccionan exclusivamente con los miembros de especies que guardan una estrecha relación porque estas comparten los receptores tisulares específicos. Por ejemplo, el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) solo infecta a los primates superiores, es decir, los grandes simios y los seres humanos. Esto se debe a que las proteínas CXCR4 y CCR5, que se encuentran, respectivamente, en los linfocitos T (células del sistema inmunitario) y en los macrófagos (fagocitos presentes en muchos tejidos) de los humanos y también se expresan en los grandes simios, son los únicos receptores específicos de la superficie celular para el VIH y se unen de manera específica a la proteína gp120 del virus (↻ Sección 29.14). Otros animales, incluso la mayoría de los primates, carecen de las proteínas CXCR4 y CCR5, por lo que no pueden unirse al VIH y no contraen la infección. Asimismo, los virus de la gripe son específicos para sus especies de origen y normalmente infectan solo a aves o a los humanos y ocasionalmente a los cerdos (↻ Sección 29.8). La **Tabla 23.7** presenta algunos ejemplos de especificidad de los patógenos.

Barreras físicas y químicas

La integridad estructural de las superficies de los tejidos representa una barrera a la penetración de los microorganismos. En todos los tejidos corporales, la fuerte unión entre las células epiteliales inhiben la invasión y la infección. En la piel y en las mucosas los patógenos deben adherirse primero a la superficie

Tabla 23.7 Especificidad tisular de enfermedades infecciosas

Enfermedad	*Tejido infectado*	*Organismo*
Síndrome de inmunodeficiencia adquirida (sida)	Linfocitos T colaboradores (T-*helper*)	Virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)
Botulismo	Placa motriz	*Clostridium botulinum*
Cólera	Epitelio del intestino delgado	*Vibrio cholerae*
Caries dental	Epitelio bucal	*Streptococcus mutans, S. sobrinus, S. mitis*
Difteria	Epitelio faríngeo	*Corynebacterium diphtheriae*
Gonorrea	Epitelio urogenital	*Neisseria gonorrhoeae*
Gripe	Epitelio respiratorio	Virus Influenza A y B
Malaria	Sangre (eritrocitos)	*Plasmodium* spp.
Pielonefritis	Médula renal	*Proteus* spp.
Aborto espontáneo (ganado vacuno)	Placenta	*Brucella abortus*
Tétanos	Inhibición interneuronal	*Clostridium tetani*

de los tejidos, y luego han de crecer en estos sitios antes de viajar a cualquier otro lugar del cuerpo. Sin embargo, las superficies mucosas están revestidas de moco y las células epiteliales tienen cilios que expulsan a los patógenos en suspensión y evitan que se adhieran a los tejidos. Además de la acción de la microbiota normal que vive en los posibles sitios de infección, la resistencia a la infección y la invasión se ve reforzada por péptidos antibacterianos llamados *defensinas*, producidos en la piel, los pulmones y el intestino.

Las glándulas sebáceas de la piel secretan ácidos grasos y ácido láctico, que disminuyen la acidez de la piel hasta un pH 5 e inhiben así la colonización por muchas bacterias patógenas (en cambio, la sangre y los órganos internos están aproximadamente a un pH 7,4). Los microorganismos inhalados a través de la nariz o de la boca son eliminados por las células epiteliales ciliadas de las superficies mucosas de la nasofaringe y de la tráquea. Los posibles patógenos ingeridos con la comida o el agua deben sobrevivir a la fuerte acidez (pH 2) y a las enzimas digestivas del estómago, como la pepsina. El pH cambia rápidamente en el intestino y, si los patógenos sobreviven, entonces deben competir con la abundante microbiota residente presente en el intestino delgado y grueso (Figura 23.5). El lumen tubular del riñón, el ojo, el sistema respiratorio y la mucosa del cuello uterino están constantemente bañados por secreciones como las lágrimas o mucosidad que contienen lisozima, una enzima que puede matar las bacterias mediante la digestión de la pared celular. En conjunto, el cuerpo está protegido por numerosas estructuras físicas, productos químicos, y secreciones, todos ello con la finalidad de suprimir la invasión por los patógenos y la infección.

MINIRREVISIÓN

- Describa en qué consiste la especificidad tisular de los patógenos.
- Indique las principales barreras físicas y químicas a los patógenos. ¿Cómo podrían debilitarse estas barreras?

23.12 Factores de riesgo para la infección

Además de las barreras frente a la infección descritas en la sección anterior, una serie de factores innatos contribuyen a la susceptibilidad del hospedador frente a la infección y la enfermedad. Concluimos nuestro estudio de las interacciones microbianas con el hospedador considerando cómo estos factores pueden facilitar la invasión de los patógenos y conducir a la enfermedad infecciosa.

Edad, estrés y dieta

La edad del hospedador es un factor importante para determinar la susceptibilidad a las enfermedades infecciosas. En general, estas enfermedades son más comunes en los individuos muy jóvenes y en los muy ancianos. En la primera infancia, por ejemplo, aunque una microbiota intestinal aparece rápidamente, no es igual que la de un adulto. Antes del desarrollo de la microbiota adulta, especialmente en los días inmediatamente posteriores al nacimiento, los patógenos tienen una mayor oportunidad de establecerse y producir la enfermedad. Por ello, los niños menores de un año a menudo sufren diarreas causadas por cepas enteropatógenas de *Escherichia coli* o por virus, como los rotavirus.

En los adultos de más de 65 años, las enfermedades infecciosas son mucho más frecuentes que en los jóvenes. Por ejemplo, las personas mayores son mucho más susceptibles a infecciones respiratorias como la gripe, probablemente debido a una disminución progresiva de la capacidad de generar una respuesta inmunitaria eficaz frente a patógenos respiratorios. Los cambios anatómicos asociados con la edad pueden también favorecer la infección. Así, la hipertrofia de la próstata, común en los hombres mayores de 50 años, normalmente disminuye la velocidad de flujo de la orina, lo que permite a los patógenos infectar el aparato genitourinario masculino más fácilmente (Figura 23.8).

El estrés puede predisponer a un individuo sano a la enfermedad. En estudios con animales, factores de estrés fisiológicos tales como la fatiga, el esfuerzo, la mala alimentación, la deshidratación o cambios climáticos muy acusados, aumentan la incidencia y la gravedad de las enfermedades infecciosas. Por ejemplo, las ratas sometidas a una intensa actividad física durante períodos largos muestran una mayor mortalidad por infecciones experimentales de *Salmonella* que los animales control no sometidos a estrés. Las hormonas que se producen bajo estrés inhiben la respuesta inmunitaria y pueden desempeñar un papel en la enfermedad mediada por el estrés. Así, el cortisol, una hormona que el cuerpo produce en mayor cantidad en momentos de estrés, es un agente antiinflamatorio que inhibe la activación de los fagocitos y de la respuesta inmunitaria.

La dieta también es importante en la susceptibilidad del hospedador a la infección. Dietas inadecuadas, bajas en proteínas

y calorías, alteran la microbiota normal, permitiendo que los patógenos oportunistas puedan multiplicarse y aumentando la susceptibilidad general frente a patógenos conocidos. Por ejemplo, el número de células de *V. cholerae* necesarias para producir el cólera en un individuo se reduce drásticamente si aquella persona está desnutrida. Por otra parte, el consumo de alimentos contaminados es una forma obvia de adquirir infecciones y la ingestión de patógenos con la comida a veces puede aumentar la capacidad del patógeno de causar la enfermedad. Así, en el caso de *V. cholerae*, el número de bacterias necesario para producir la enfermedad se reduce considerablemente cuando estas se ingieren con los alimentos, presumiblemente porque la comida neutraliza los ácidos del estómago que normalmente las destruirían al patógeno en su camino para colonizar el intestino delgado.

La presencia de una sustancia particular en la dieta también puede ser el desencadenante de la enfermedad. Quizás el factor más importante en el desarrollo de la caries dental (Sección 23.8) sea una dieta alta en sacarosa (azúcar de mesa). *Streptococcus mutans,* una bacteria del ácido láctico presente comúnmente en la placa bucal, produce dextrano mediante la actividad de la enzima dextransacarasa, pero solo en presencia de sacarosa, el sustrato para esta enzima:

$$n \text{ sacarosa} \xrightarrow{\text{dextransacarasa}} \text{dextrano } (n \text{ glucosa}) + n \text{ fructosa}$$

El dextrano es muy adherente y proporciona un asentamiento para el crecimiento de *S. mutans* sobre el esmalte dental y permite la coinfección por *S. sobrinus*, el organismo que junto con *S. mutans* causa la caries dental (Figuras 23.15 y 23.16). Sin sacarosa en la dieta, *S. mutans* es incapaz de sintetizar la capa de dextrano necesaria para mantener las células bacterianas unidas a los dientes.

El hospedador inmunodeprimido

Un *hospedador inmunodeprimido* es aquel en el que uno o más mecanismos de resistencia están inactivados y, por tanto, tiene una mayor probabilidad de ser infectado. Muchos pacientes hospitalizados con enfermedades no infecciosas (por ejemplo, cáncer o enfermedades del corazón) adquieren infecciones más fácilmente porque son hospedadores inmunodeprimidos (↔ Sección 27.2). Estas infecciones asociadas a la atención hospitalaria, denominadas *infecciones nosocomiales*, afectan a unos 2 millones de personas cada año en los Estados Unidos, causando hasta 100.000 muertes. Los procedimientos médicos invasivos, como cateterismos, inyecciones hipodérmicas, punciones lumbares, biopsias y la cirugía en general pueden introducir involuntariamente microorganismos en el paciente. El estrés quirúrgico y los fármacos antiinflamatorios administrados para reducir el dolor y la inflamación también pueden reducir la resistencia del hospedador. Por ejemplo, los pacientes de trasplante de órganos se tratan con medicamentos inmunosupresores para impedir el rechazo, pero la supresión de la inmunidad también reduce la capacidad del paciente para resistir la infección.

Algunos otros factores también pueden debilitar la resistencia del hospedador, incluso fuera del hospital. Fumar, un consumo excesivo de alcohol, el uso de drogas intravenosas, la falta de sueño, la desnutrición y la infección aguda o crónica con otro agente son condiciones que reducen la resistencia del hospedador. Por ejemplo, la infección con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) predispone a un paciente a infecciones por microorganismos que no son patógenos en individuos sanos. El VIH causa la inmunodeficiencia adquirida (sida) al destruir un tipo de célula inmunitaria, los linfocitos T CD4. La reducción de las células T CD4 disminuye la inmunidad y un patógeno oportunista, que no causa enfermedad en un hospedador sano, puede entonces producir enfermedades graves o incluso la muerte (↔ Secciónes 28.9 y 29.14).

Por último, existen enfermedades genéticas que disminuyen las defensas del hospedador. Por ejemplo, aquellas que eliminan partes importantes del sistema inmunitario predisponen a padecer infecciones. Las personas en esta situación suelen morir a una edad temprana y no a causa del defecto genético, sino por las infecciones microbianas.

MINIRREVISIÓN

- Indique algunos factores que influyen en la susceptibilidad a las enfermedades infecciosas en los niños, los adultos y los ancianos.
- Indique algunos factores que influyen en la susceptibilidad a la infección y pueden ser controlados por el hospedador.

UNIDAD 5

IDEAS PRINCIPALES

23.1 • El cuerpo de un animal es un ambiente favorable para el crecimiento de microorganismos, la mayoría de los cuales son beneficiosos. El número de microorganismos que hay sobre nuestro cuerpo y en su interior es mayor que el número de células del propio cuerpo.

23.2 • La piel tiene por lo menos tres microambientes diferentes, sebáceo, húmedo y seco, con poblaciones de microorganismos claramente diferentes. Los factores ambientales y del hospedador influyen en la cantidad y la composición de la microbiota normal de la piel.

23.3 • La microbiota de la cavidad bucal es extremadamente compleja, sin taxones predominantes. Esta microbiota se desarrolla en microambientes variables asociados con los dientes y las encías.

23.4 • El tubo digestivo acoge una población diversa de microorganismos de acuerdo con la variedad existente de condiciones ambientales y de nutritientes. Estas poblaciones de microorganismos están influenciadas por la dieta del individuo y por las condiciones físicas exclusivas de cada zona a lo largo del tubo digestivo.

23.5 • La presencia de una población bien implantada de microorganismos no patógenos en las vías respiratorias y en el aparato genitorurinario es esencial para la función óptima de los órganos anejos en individuos normales. La microbiota normal ayuda a prevenir la colonización por patógenos al competir con estos por los nutrientes y sitios de fijación.

23.6 • La virulencia es una medida cuantitativa de la patogenicidad. Los patógenos utilizan una gran variedad de mecanismos y factores de virulencia para establecer una infección.

23.7 • Los patógenos pueden tener acceso a los tejidos del hospedador por adherencia a las superficies mucosas por medio de interacciones entre las macromoléculas del patógeno y del hospedador en la superficie de los tejidos.

23.8 • La invasión por patógenos comienza en el sitio de adherencia y puede diseminarse por todo el hospedador a través de los sistemas circulatorio o linfático. Para poder infectar los tejidos del hospedador, un patógeno debe tener acceso a nutrientes y a unas condiciones de crecimiento apropiadas. Factores de virulencia tales como enzimas o cápsula celulares ayudan al establecimiento de la infección.

23.9 • Las exotoxinas contribuyen a la virulencia de los patógenos. Las citotoxinas como las hemolisinas, y las toxinas AB, como las de la difteria y del cólera, son potentes exotoxinas. Cada exotoxina afecta a una función celular específica del hospedador. Las enterotoxinas son exotoxinas que afectan al intestino delgado. Entre las exotoxinas bacterianas se encuentran algunas de las sustancias más tóxicas conocidas, como las toxinas botulínica y tetánica.

23.10 • Las endotoxinas son lipopolisacáridos derivados de la membrana externa de las bacterias gramnegativas, por ejemplo *Salmonella*. Tanto el componente lipídico como el polisacarídico son necesarios para que se produzca el efecto tóxico.

23.11 • Los factores innatos de resistencia, así como las barreras físicas, anatómicas y químicas, previenen la colonización del hospedador por la mayoría de los patógenos. El deterioro de estas defensas pasivas puede ocasionar la susceptibilidad a las infecciones y enfermedades.

23.12 • La edad, el estado general de salud, la composición genética, aspectos del estilo de vida, tales como el estrés y la dieta, y las enfermedades crónicas pueden contribuir a la susceptibilidad a las enfermedades infecciosas.

MasteringMicrobiology®

Revise lo que sabe y descubra lo que ha aprendido con MasteringMicrobiology. Acceda a material de estudio, revisiones de los capítulos, animaciones y tutoriales de microbiología práctica en el Área de Estudio y asegúrese de que ha asimilado todo el contenido de este capítulo.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Adherencia: capacidad de un microorganismo para fijarse sobre una célula o una superficie.
Atenuación: disminución o pérdida de virulencia.
Bacteriemia: presencia de microorganismos en la sangre.
Capa mucosa: zona difusa de fibras de polímeros, normalmente polisacáridos, que forma una capa superficial externa de la célula.
Cápsula: capa densa y bien definida de polisacáridos o proteínas, que rodea estrechamente una célula.
Caries dental: destrucción de un diente ocasionada por una infección bacteriana.
Colonización: crecimiento de un microorganismo después de haber alcanzado algún tejido del hospedador.
Endotoxina: porción lipopolisacarídica de la envoltura celular de la mayoría de las bacterias gramnegativas que al solubilizarse es tóxica.
Enfermedad: daño causado a un organismo por un patógeno u otro factor, que afecta la función del hospedador.
Enterotoxina: proteína liberada extracelularmente por un microorganismo a medida que se multiplica y que produce daño inmediato al intestino delgado del hospedador.
Exotoxina: proteína liberada extracelularmente por un microorganismo a medida que se multiplica y que produce daño celular inmediato a su hospedador.
Glicocálix: polímero secretado por un microorganismo y que recubre su superficie.
Hospedador: organismo que puede albergar un patógeno.
Infección: establecimiento y multiplicación en un hospedador de un microorganismo que no forma parte de su microbiota, independientemente de que cause o no daño al hospedador.
Invasión: capacidad de un patógeno de penetrar en las células o tejidos del hospedador, propagarse y causar infección.
Membrana mucosa: capa de células epiteliales recubiertas de mucosidad que interaccionan con el ambiente externo.
Microbiota normal: microorganismos que se encuentran normalmente asociados con los tejido corporales sanos.
Mucosidad (moco o **mucus):** secreción fluida que contiene glicoproteínas solubles en agua y proteínas que retienen la humedad y ayudan a resistir la invasión microbiana en las superficies mucosas.
Patogenicidad: capacidad de un patógeno de causar enfermedad.

Patógeno: organismo, por lo general un microorganismo, que crece en un hospedador o sobre él y causa enfermedad.
Patógeno oportunista: organismo que causa enfermedad cuando la resistencia normal del hospedador está disminuida.
Placa dental: células bacterianas que se encuentra sobre los dientes embebidas en una matriz de polímeros extracelulares y productos salivares.
Probiótico: microorganismo vivo que, administrado a un hospedador, puede proporcionarle un beneficio para la salud.
Septicemia: infección sistémica que se propaga por la sangre.
Toxicidad: capacidad de un organismo de causar una enfermedad por medio de una toxina preformada que inhibe la función de las células hospedadoras o las mata.
Vías respiratorias altas: la nasofaringe, la cavidad bucal y la garganta.
Vías respiratorias bajas: la tráquea, los bronquios y los pulmones.
Virulencia: capacidad relativa de un patógeno de causar enfermedad.

PREGUNTAS DE REPASO

1. Indique los órganos del cuerpo humano que normalmente están colonizados por microorganismos. ¿Qué órganos están normalmente desprovistos de microorganismos? ¿Qué tienen en común los órganos de cada grupo? (Sección 23.1)
2. Indique los microorganismos más comunes residentes en la piel. ¿Cómo fueron identificados experimentalmente estos microorganismos? (Sección 23.2)
3. Describa los microambientes de la cavidad bucal. ¿Cómo pueden las bacterias anaerobias sobrevivir en la boca? (Sección 23.3)
4. ¿Cómo afectan el pH y el oxígeno a las comunidades microbianas que crecen en cada zona del tubo digestivo? (Sección 23.4)
5. Describa la relación entre *Lactobacillus acidophilus* y el glucógeno en la vagina. ¿Qué factores influyen en las diferencias entre la microbiota vaginal normal de las mujeres adultas y la de las mujeres prepúberes? (Sección 23.5)
6. Defina la virulencia e indique qué factores permiten distinguir los patógenos muy virulentos de los moderadamente virulentos. (Sección 23.6).
7. Indique el papel de la cápsula y las fimbrias de las bacterias en la adherencia microbiana. (Sección 23.7)
8. Explique qué papel desempeña la disponibilidad de factores nutritivos en la infección del cuerpo por microorganismos. (Sección 23.8)
9. Indique las diferencias en el mecanismo de acción de las citotoxinas y el de las toxinas AB. Proporcione por lo menos un ejemplo de cada uno. (Sección 23.9).
10. Indique las características estructurales, el origen y los principales efectos de las endotoxinas. (Sección 23.10)
11. Indique al menos cuatro mecanismos por los que un hospedador sano resiste la infección. (Sección 23.11)
12. Indique los factores más comunes que pueden disminuir las defensas del hospedador. ¿Cuáles de ellos son controlables por hospedador? ¿Qué factores no lo son? (Sección 23.12).

EJERCICIOS PRÁCTICOS

1. Las membranas mucosas son barreras para la colonización y el crecimiento de los microorganismos. Sin embargo, algunas membranas mucosas, por ejemplo las de la boca y del intestino, son colonizadas por una variedad de microorganismos, algunos de los cuales son potencialmente patógenos. Explique cómo se controlan estos posibles patógenos en circunstancias normales y describa al menos un conjunto de circunstancias que podrían estimular la patogenicidad.
2. La coagulasa es un factor de virulencia de *Staphylococcus aureus* que actúa provocando la formación de coágulos en el sitio de crecimiento de esta bacteria. Por el contrario, la estreptoquinasa es un factor de virulencia de *Streptococcus pyogenes* que actúa disolviendo los coágulos en el lugar donde crece *S. pyogenes*. Explique cómo estas estrategias opuestas aumentan la patogenicidad.
3. Aunque es relativamente fácil obtener mutantes incapaces de producir exotoxinas, es mucho más difícil obtener mutantes que no produzcan endotoxinas. Basándose en lo que se sabe de la estructura y función de ambos tipos de toxinas, explique las diferencias en la recuperación de los mutantes.

CAPÍTULO

24 · Inmunología y defensa del hospedador

microbiología actual

¿Una cura para la alergia a los cacahuetes?

¿Se pueden curar las alergias? Algunas pueden curarse mediante un proceso denominado *desensibilización*, en el que se inyecta al paciente la sustancia extraña, el *alérgeno*. Esto funciona para algunos alérgenos, como el polen de la ambrosía, pero no para alérgenos de la alimentación como los cacahuetes. La alergia al cacahuete y a otros frutos secos es la causa más frecuente de reacciones alérgicas graves, a veces letales, inducidas por alimentos (véase la fotografía). Estas reacciones, llamadas *anafilácticas*, son cada vez más comunes, especialmente en los países desarrollados. No obstante, un equipo de investigación ha desarrollado un método para desensibilizar a los pacientes alérgicos al cacahuete.

Los investigadores pensaron que, si la desensibilización al cacahuete mediante la inyección de alérgenos no funcionaba en el caso de la alergia a los cacahuetes, quizás una rutas de desensibilización alternativas podría obtener otro resultado. Tal vez una pequeña dosis del alérgeno presentado a las células inmunitariases de la cavidad bucal podría inducir tolerancia (falta de respuesta) al alérgeno. Para examinar la validez de esta idea, administraron a los pacientes el alérgeno por vía *sublingual* (debajo de la lengua) y midieron la respuesta.

Los resultados fueron sorprendentes. Cuando se administraron dosis sublinguales muy pequeñas del alérgeno durante largos períodos de tiempo, casi todos los pacientes pudieron comer cacahuetes sin peligro. Y cuanto más tiempo tomaban la dosis de desensibilización sublingual, más cacahuetes podían comer sin padecer anafilaxis. La clave para este resultado fue administrar la dosis de desensibilización por *la misma ruta* por la que el alérgeno normalmente entraría en contacto con el sistema inmunitario, en este caso por la boca. Al administrarlos de esta manera, el sistema inmunitario se volvió tolerante a los alérgenos de cacahuete y ya no respondía a las altas dosis introducidas al comer cacahuetes.

Se espera que este enfoque funcione para alergias a otros alimentos, como a los mariscos y a algunas frutas. De ser así, representaría un gran beneficio para quienes padecen esta respuesta inmunitaria perjudicial.

Fleischer, D.M., et al. 2013. Sublingual immunotherapy for peanut allergy: A randomized, double-blind, placebo-controlled multicenter trial. *J. Allergy Clin. Immunol. 131*: 119-127.



I Inmunidad 792
II Defensas del hospedador 799
III Enfermedades inmunitarias 808

En el Capítulo 23 hemos revisado la protección pasiva frente a la invasión por patógenos, la infección y la enfermedad. En los tres capítulos siguientes, nos centraremos en los mecanismos activos desarrollados por los vertebrados para hacer frente a los patógenos y las enfermedades que estos causan. En este capítulo se presenta una visión general de la **inmunidad**, es decir, la capacidad activa para resistir una enfermedad. Los organismos multicelulares tienen sistema inmunitario constitutivo, o innato, cuya diana son los patógenos comunes, independientemente de su identidad. Un segundo nivel de inmunidad lo constituye el sistema inmunitario adaptativo, que actúa contra agentes patógenos específicos para reducir al mínimo sus efectos nocivos.

Consideraremos en primer lugar las características fundamentales de la respuesta inmunitaria a los patógenos. Luego trataremos de las vacunas, una herramienta práctica para aumentar la respuesta inmunitaria adaptativa y proteger a un organismo contra futuras exposiciones a patógenos concretos. Concluiremos con la descripción de las reacciones del sistema inmunitario que causan enfermedades, como es el caso de las alergias.

I • Inmunidad

La **inmunidad innata**, es decir la capacidad constitutiva del cuerpo para reconocer y destruir los patógenos o sus productos, está mediada en gran parte por los fagocitos, células que pueden ingerir, matar y digerir la mayoría de los patógenos microbianos. La respuesta inmunitaria innata se desarrolla pocas horas después del contacto y la infección con un patógeno. Algunas características estructurales compartidas por muchos patógenos, como ciertos componentes de la pared celular, interaccionan con receptores omnipresentes en los fagocitos. Tras esta interacción, los fagocitos activan una serie de genes que conducen a la destrucción del patógeno.

Sin embargo, algunos patógenos son tan virulentos que las respuestas innatas no son totalmente eficaces para combatirlos. Cuando ocurre esto, los fagocitos de la inmunidad innata activan la **inmunidad adaptativa** para actuar en ese tipo de infecciones. La inmunidad adaptativa es la capacidad adquirida de reconocer y destruir un patógeno específico o sus productos. Las respuestas adaptativas actúan contra moléculas específicas de los patógenos, denominadas **antígenos**. Los fagocitos presentan los antígenos a los linfocitos, células clave en la respuesta adaptativa. Los antígenos se unen a receptores específicos de los linfocitos y así activan ciertos genes que promueven la multiplicación de los linfocitos y la síntesis de proteínas que interaccionan específicamente con el patógeno, marcándolo para ser destruido. Una respuesta adaptativa protectora tarda normalmente varios días en desarrollarse; su intensidad aumenta a medida que aumenta el número de linfocitos reactivos frente al antígeno.

Comenzaremos con las células y órganos comunes a todo el sistema inmunitario y luego consideraremos las células y los mecanismos que actúan en la inmunidad innata y en la adaptativa.

24.1 Células y órganos del sistema inmunitario

Las células que intervienen en la inmunidad innata y adaptativa se desarrollan a partir de precursores comunes, las llamadas **células madre**. La inmunidad es fruto de la actividad de células que circulan por todo el cuerpo, principalmente a través de la sangre y de la **linfa**, un líquido parecido a la sangre que contiene células con núcleo y proteínas, pero que carece de hematíes. La sangre y la linfa interaccionan directa o indirectamente con cada uno de los principales órganos y sistemas.

Células madre, sangre y linfa

Las células madre pluripotentes son células precursoras que pueden diferenciarse en cualquier tipo de célula de la sangre (Figura 24.1). Crecen en la médula ósea, donde se diferencian en una variedad de células maduras bajo el control de **citocinas** y **quimiocinas**, proteínas solubles que influyen en muchos aspectos de la diferenciación de células inmunitarias. Las células diferenciadas viajan a otras partes del cuerpo a través de la sangre y la linfa.

La sangre está formada por componentes celulares y no celulares, entre los que hay un gran número de células y moléculas que intervienen en la respuesta inmunitaria. Las células más numerosas de la sangre humana son los *eritrocitos* (glóbulos rojos o hematíes), células sin núcleo que transportan oxígeno desde los pulmones a los tejidos (Tabla 24.1). Sin embargo, aproximadamente el 0,1 % de las células de la sangre son células con núcleo, los llamados **leucocitos** o *glóbulos blancos* de la sangre. Los leucocitos comprenden los fagocitos del sistema inmunitario innato y **linfocitos**, que son las células que intervienen en la respuesta adaptativa.

La sangre se compone de células en suspensión y de **plasma**, un líquido que contiene proteínas y otros solutos. Fuera del cuerpo, la sangre y el plasma forman rápidamente un coágulo de fibrina insoluble, que solo permanece líquido si previamente se añade un anticoagulante, como citrato de potasio o heparina. Cuando se forma el coágulo, las proteínas insolubles y las células quedan atrapadas en una masa grande e insoluble. La fracción líquida restante, denominada **suero**, que no contiene células ni proteínas de la coagulación. Sin embargo, el suero contiene aún una alta concentración de otras proteínas, entre las cuales se encuentran las proteínas solubles del sistema inmunitario llamadas *anticuerpos*, que se unen a los antígenos de los patógenos.

Circulación de la sangre y de la linfa

La sangre es bombeada por el corazón a través de las arterias y los capilares por todo el cuerpo y retorna por las venas (Figura 24.2*a*, *b*). En el lecho de los capilares, los leucocitos y los solutos pasan, en los dos sentidos, de la sangre al sistema linfático, un sistema circulatorio separado que contiene linfa (Figura 24.2*a-c*).

La linfa drena desde los tejidos extravasculares a los capilares linfáticos y por los conductos linfáticos alcanza los ganglios linfáticos (Figura 24.2*d*). Los **ganglios linfáticos** son órganos que contienen linfocitos y fagocitos preparados para encontrarse

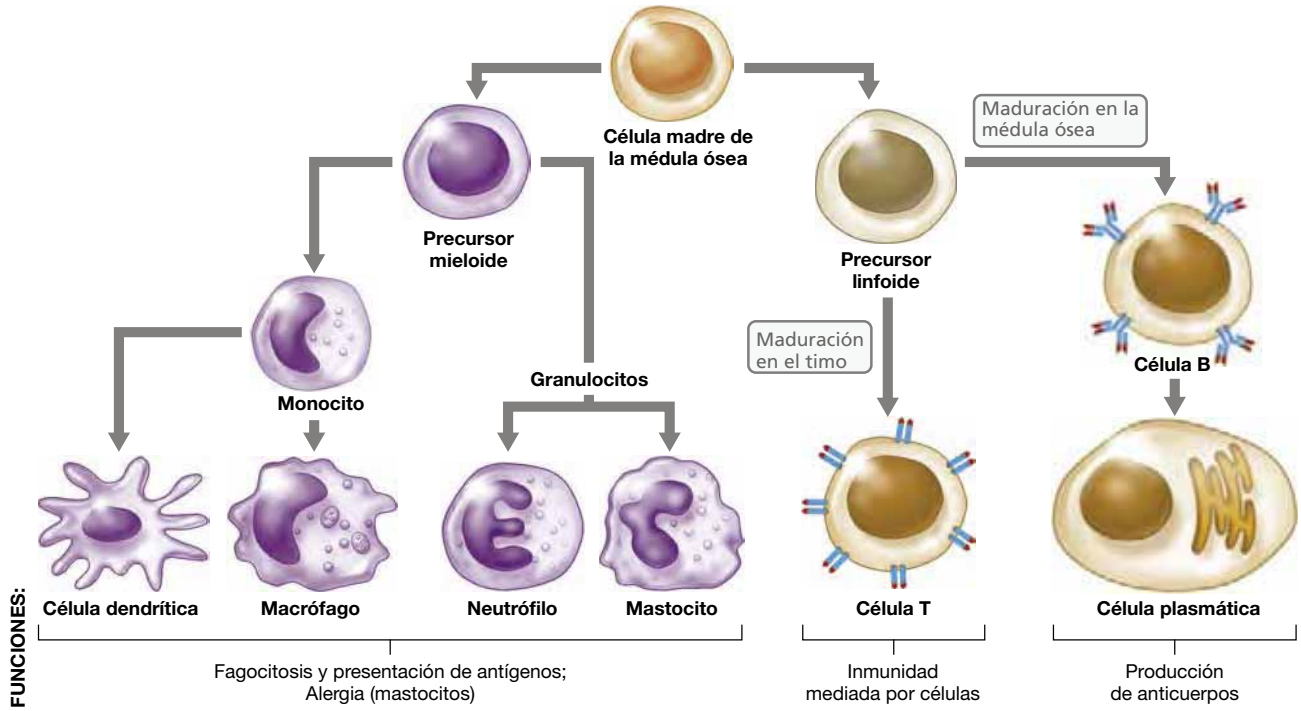
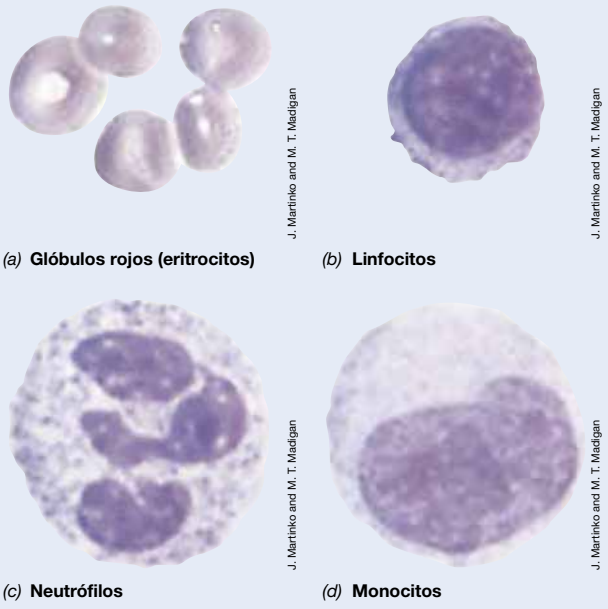


Figura 24.1 Células de la respuesta inmunitaria. Las células inmunitarias se desarrollan a partir de células madre multipotentes de la médula ósea, en cualquiera de los precursores mieloides o linfoides. Estos precursores, a su vez, se diferencian en distintos tipos celulares con diversas funciones inmunitarias.

Tabla 24.1 Principales tipos de células encontradas en la sangre humana normal

Tipo de célula	*Número de células por mililitro*
Eritrocitos	4,2-6,2 × 10^9
Leucocitos[a]	4,5-11 × 10^6
Linfocitos	1,0-4,8 × 10^6
Granulocitos y monocitos	Hasta 7,0 × 10^6



(a) **Glóbulos rojos (eritrocitos)** *(b)* **Linfocitos**

(c) **Neutrófilos** *(d)* **Monocitos**

[a] Los leucocitos comprenden todas las células de la sangre nucleadas: linfocitos y las células derivadas de células madre mieloides, monocitos y granulocitos, como los neutrófilos.

con microorganismos y antígenos a medida que estos se desplazan por la circulación linfática. El **tejido linfoide asociado a las mucosas** (MALT, del inglés *mucose-associated lymphoid tissue*), que es otra parte del sistema linfático, interacciona con antígenos y microorganismos que entran en el cuerpo a través de las membranas mucosas, como las del intestino, del aparato genitourinario y los tejidos bronquiales. El MALT también contiene fagocitos y linfocitos. El líquido linfático, con anticuerpos y células inmunitarias, desemboca en el sistema circulatorio de la sangre a través del conducto linfático torácico.

El bazo está formado por pulpa roja que contiene muchos eritrocitos, y pulpa blanca, que consta de linfocitos y fagocitos organizados y distribuidos para filtrar la sangre, de forma análoga a como lo hacen los ganglios linfáticos y el MALT en el sistema linfático. Los ganglios linfáticos, el MALT y el bazo se conocen como **órganos linfoides secundarios** y en ellos los antígenos interaccionan con los fagocitos presentadores de antígeno y con los linfocitos para generar una respuesta inmunitaria adaptativa (Figura 24.2*a*).

Leucocitos

Los leucocitos o glóbulos blancos son células con núcleo que se encuentran en la sangre y en la linfa. En la inmunidad innata y adaptativa participan distintos tipos de leucocitos (Tabla 24.1 y Figura 24.1).

Las células mieloides, que intervienen en la inmunidad innata, se derivan de las células precursoras del mismo nombre. Las células mieloides maduras se dividen en dos linajes: los monocitos y los granulocitos (Figura 24.1). El primero genera células fagocíticas especializadas, las **células presentadoras de antígeno** (**APC**, del inglés *antigen-presenting cells*). Estas células, junto con las células B que se describen a continuación, ingieren y procesan

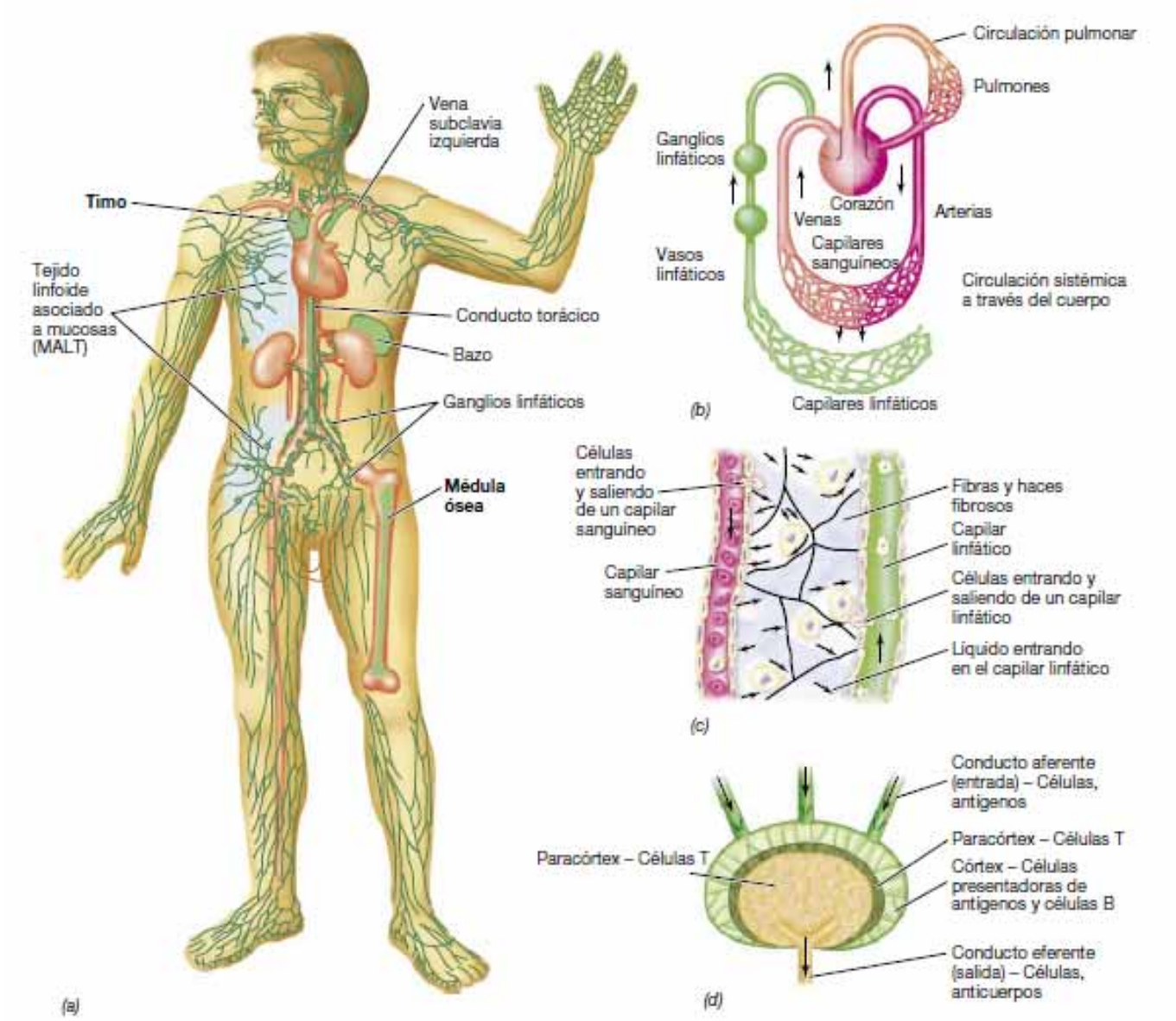


Figura 24.2 **Sistemas sanguíneo y linfático.** *(a)* Sistemas circulatorios sanguíneo y linfático. Los vasos sanguíneos principales y sus órganos asociados se muestran en rojo. Los principales órganos y vasos linfáticos se muestran en verde. Los órganos linfoides primarios son la médula ósea y el timo. Los órganos linfoides secundarios son los ganglios linfáticos, el bazo y el MALT. *(b)* Conexiones entre los sistemas linfático y sanguíneo. La sangre fluye desde las venas al corazón, a los pulmones y, luego, a través de las arterias, a los capilares de los tejidos. El intercambio de solutos y células se produce entre la sangre y los capilares linfáticos. La linfa drena desde el canal torácico hasta la vena subclavia izquierda del sistema circulatorio de la sangre. *(c)* Detalles del intercambio de células entre los sistemas sanguíneo y linfático. Los capilares sanguíneos y linfáticos son sistemas cerrados, pero las células pasan de los capilares sanguíneos a los capilares linfáticos y regresan por un proceso conocido como extravasación. *(d)* Un órgano linfoide secundario, el ganglio linfático. El diagrama muestra las principales zonas anatómicas y las células inmunitarias que se concentran en cada zona. La anatomía del MALT y la del bazo son análogas a la de los ganglios linfáticos

antígenos, y los presentan a los linfocitos. Las APC comprenden los *macrófagos* y las *células dendríticas*; ambos tipos derivados de los monocitos circulantes, que son sus células precursoras. Los **macrófagos** son generalmente las primeras células de defensa que interaccionan con el patógeno. Son abundantes en muchos tejidos, especialmente en bazo, en los ganglios linfáticos y en el MALT. Las **células dendríticas** son fagocitos que se especializan en la presentación de antígenos a los linfocitos.

Los granulocitos son el segundo linaje de células derivadas de los precursores mieloides y contienen inclusiones citoplasmáticas, o gránulos, que pueden visualizarse usando técnicas de tinción apropiadas. Estos gránulos contienen toxinas o enzimas que pueden ser liberadas para matar a las células diana. La actividad fagocítica de un tipo de granulocitos, los **neutrófilos**, también llamados *leucocitos polimorfonucleares* (PMN), es fundamental para la inmunidad innata. Otro tipo de granulocitos, los mastocitos, liberan el contenido de sus gránulos, proceso que en estos y otros granulocitos se denomina *desgranulación*. La desgranulación puede causar síntomas de alergia e inflamación.

Los linfocitos son leucocitos que intervienen exclusivamente en la respuesta inmunitaria adaptativa. Los linfocitos maduros circulan a través de la sangre y el sistema linfático, pero se concentran en los ganglios linfáticos y el bazo, donde interaccionan con los antígenos. Hay dos tipos de linfocitos, las células B (o linfocitos B) y las células T (o linfocitos T) (Figura 24.1). Las **células B** se originan y maduran en la **médula ósea**. Son APC especializados y además son precursores de las **células plasmáticas** productoras de anticuerpos. Los **anticuerpos**, también llamados **inmunoglobulinas (Ig)**, son proteínas solubles producidas por las células B y las células plasmáticas, que se unen a antígenos específicos. Las **células T**, que también interaccionan con el antígeno, comienzan su desarrollo en la médula ósea, pero se desplazan hasta el **timo** para madurar. La médula ósea y el timo de los mamíferos se llaman **órganos linfoides primarios,** pues son los lugares donde las células madre linfoides se convierten en linfocitos funcionales capaces de reaccionar con antígenos (Figura 24.2*a*).

Todos los leucocitos se mueven a través del cuerpo y pasan de la sangre a los espacios intersticiales, luego a los vasos linfáticos, y retornan al sistema circulatorio de la sangre, un proceso llamado *extravasación* (Figura 24.2*c*).

MINIRREVISIÓN

- Describa el desarrollo de las células B, células T y los macrófagos a partir de la célula madre común.
- Describa la circulación de un leucocito desde la sangre a la linfa y su retorno a la sangre.

24.2 Inmunidad innata

La inmunidad innata es la capacidad no inducible de reconocer y destruir un patógeno o sus productos y existe antes del contacto con este. La inmunidad innata no requiere la exposición previa al patógeno o sus productos y está mediada por los fagocitos. Los eucariotas, desde las plantas menos evolucionadas hasta los vertebrados más evolucionados, tienen mecanismos de reconocimiento fagocíticos parecidos funcionalmente que les permiten una defensa rápida y eficaz. Por ejemplo, sabemos que los receptores del sistema innato presentes en los vertebrados tienen homólogos estructurales y evolutivos en grupos filogenéticos tan distantes como *Drosophila*, la mosca del vinagre.

Patrones moleculares asociados a patógenos

Las macromoléculas presentes en el interior y en la superficie de muchos microorganismos y virus muestran **patrones moleculares asociados a patógenos** (**PAMP,** del inglés *pathogen-associated molecular patterns*) formados por unidades que se repiten. Un ejemplo es el lipopolisacárido (LPS) presente en todas las membranas externas de las bacterias gramnegativas (↻ Sección 2.11). Otros ejemplos son la flagelina bacteriana, el RNA de doble cadena (dsRNA) de algunos virus, y los ácidos lipoteicoicos de las bacterias grampositivas (↻ Sección 2.10). Todas estas macromoléculas están formadas por la repetición de elementos estructurales compartidos entre amplios grupos de microorganismos relacionados entre sí.

Receptores de reconocimiento de patrones

Fagocitos tales como los macrófagos y los neutrófilos son la primera línea de defensa contra patógenos a los que el cuerpo no se ha enfrentado antes. Los fagocitos pueden interaccionar con los patógenos de forma rápida y eficaz, ya que han desarrollado moléculas especializadas que reconocen los PAMP y que se denominan **receptores de reconocimiento de patrones** (**PRR**, del inglés *pattern recognition receptors*) (**Figura 24.3**). Cada PRR interacciona con un PAMP particular para activar el fagocito. Por ejemplo, un PRR presente en todos los fagocitos reconoce el LPS de las bacterias gramnegativas, entre ellas todas las cepas patógenas de *Salmonella* spp., *Escherichia coli* y *Shigella* spp. Otro PRR presente en los fagocitos interacciona con el peptidoglicano de las células grampositivas, otros con RNA de doble cadena, como el que se encuentran en algunos virus, y aún otros lo hacen con rasgos patogénicos conservados como el dsRNA de algunos virus o la flagelina de la mayoría de las bacterias móviles. La interacción de un PAMP con un PRR activa el fagocito para atrapar y destruir el patógeno por fagocitosis. Todos los fagocitos presentan PRR que están disponibles para actuar de forma inmediata ante la presencia de patógenos invasores.

MINIRREVISIÓN

- Describa un patrón molecular asociado a patógeno (PAMP) compartido por un grupo de microorganismos.
- ¿Qué tipos de células utilizan receptores de reconocimiento de patrones (PRR) para proporcionar inmunidad innata frente a los patógenos?

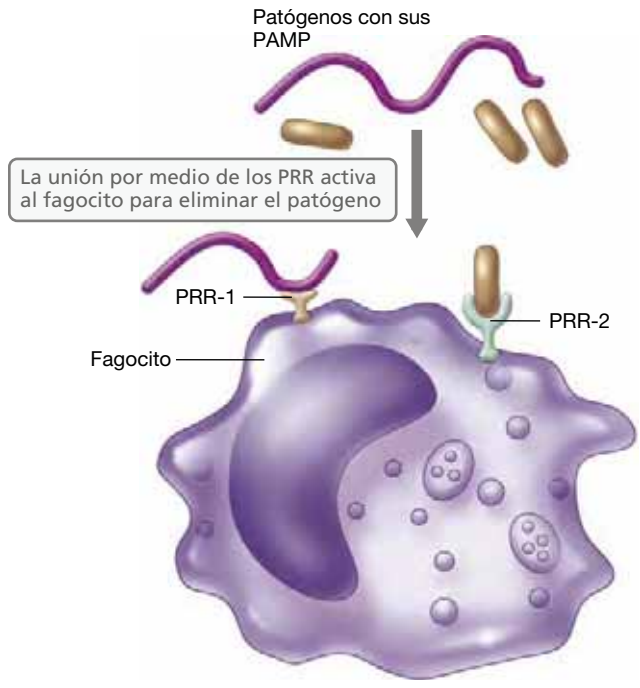


Figura 24.3 Inmunidad innata. Los fagocitos interaccionan con agentes patógenos mediante el reconocimiento de patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) por los receptores de reconocimiento de patrones (PRR) preexistentes. La unión de un PAMP a un PRR de un fagocito estimula la fagocitosis para destruir el patógeno y activar otros fagocitos.

24.3 Inmunidad adaptativa

En los vertebrados, los fagocitos responsables de la inmunidad innata desencadenan a menudo la activación de la *inmunidad adaptativa*. A diferencia de la inmunidad innata, la adaptativa se activa de forma específica para reconocer las características de ciertas moléculas del patógeno llamadas antígenos. En la inmunidad adaptativa, los receptores específicos de los patógenos se producen en grandes cantidades y solo después de la exposición al patógeno o a sus productos.

La primera exposición a un antígeno genera una **respuesta inmunitaria adaptativa primaria**: el contacto con el antígeno estimula el crecimiento y multiplicación de las células reactivas frente al antígeno, creando **clones**, grandes números de células idénticas, todas ellas reactivas frente a aquel antígeno. Estos clones persisten durante años y aporta inmunidad específica a largo plazo.

Los linfocitos reactivos frente al antígeno se dividen en células T y células B y cada tipo de célula, sea B o T, produce una proteína receptora exclusiva que interacciona con un solo antígeno. Por tanto, estas proteínas receptoras tienen **especificidad** para ese antígeno. Las de las células T que se unen al antígeno se denominan **receptores de células T (TCR**, del inglés *T cell receptor*); los anticuerpos de la superficie celular de las células B son los **receptores de las células B** (BCR, del inglés *B cell receptors*).

A diferencia de la inmunidad innata, la adaptativa se induce solo cuando es activada por un antígeno exclusivo de un patógeno. Por ejemplo, el antígeno polisacarídico del LPS de una bacteria gramnegativa determinada es exclusivo de ese género bacteriano y a veces incluso exclusivo de una especie dentro del género. Por ejemplo, un clon de un linfocito que interacciona con un polisacárido del LPS de *Salmonella* no interaccionará con los polisacáridos del LPS de otras bacterias. Los azúcares terminales que constituyen los polisacáridos del LPS de *Salmonella* spp. Son antígenos de identificación exclusiva y no se comparten con otras bacterias, ni tan solo con otras enterobacterias gramnegativas como *Escherichia coli* o *Shigella* spp.

Una segunda exposición al mismo antígeno activa los clones de células reactivas frente al antígeno y genera una respuesta inmunitaria más fuerte y rápida, denominada **respuesta inmunitaria adaptativa secundaria,** cuyo máximo se alcanza tras varios días (**Figura 24.4**) y cuyos productos atacan al patógeno rápidamente para destruirlo. Este aumento rápido de la inmunidad adaptativa tras una segunda exposición al antígeno se llama **memoria inmunitaria**. Por último, el sistema inmunitario adaptativo muestra **tolerancia**, la *incapacidad* adquirida para generar una respuesta inmunitaria contra antígenos propios. La tolerancia asegura que la inmunidad adaptativa esté dirigida a agentes externos que pueden suponer una amenaza auténtica para el huésped, y no a las propias proteínas del hospedador.

Presentación de antígenos y células T

La inmunidad adaptativa comienza con la interacción de las células T con antígenos peptídicos de células infectadas. Las células infectadas que son reconocidas por primera vez por las células T pueden ser los mismos fagocitos que participan en la respuesta inmunitaria innata. Por medio de su TCR, la célula T puede reconocer péptidos, pero solo si estos están asociados con ciertas proteínas de la propia célula infectada denominadas

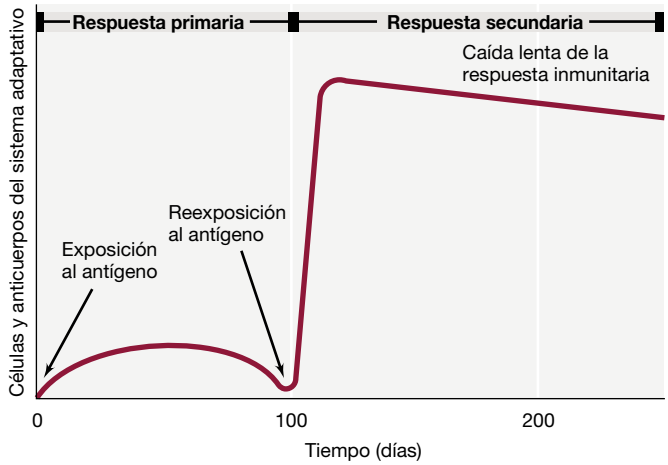


Figura 24.4 Respuesta inmunitaria adaptativa primaria y secundaria. La respuesta primaria induce células inmunitarias y anticuerpos. Los antígenos en el día 0 y en el día 100 deben ser idénticos para inducir una respuesta secundaria. La respuesta secundaria puede aumentar más de 10 veces el número de las células inmunitarias y la concentración de anticuerpos.

proteínas del **complejo principal de histocompatibilidad** (**MHC**, del inglés *major histocompatibility complex*). Las proteínas del MHC se encuentran en las superficies de las células huésped y las hay de dos tipos (**Figura 24.5**). Todas las células del huésped muestran proteínas MHC I cuya misión es presentar péptidos de virus y otros patógenos intracelulares para su reconocimiento inmunológico. Además, las APC (macrófagos,

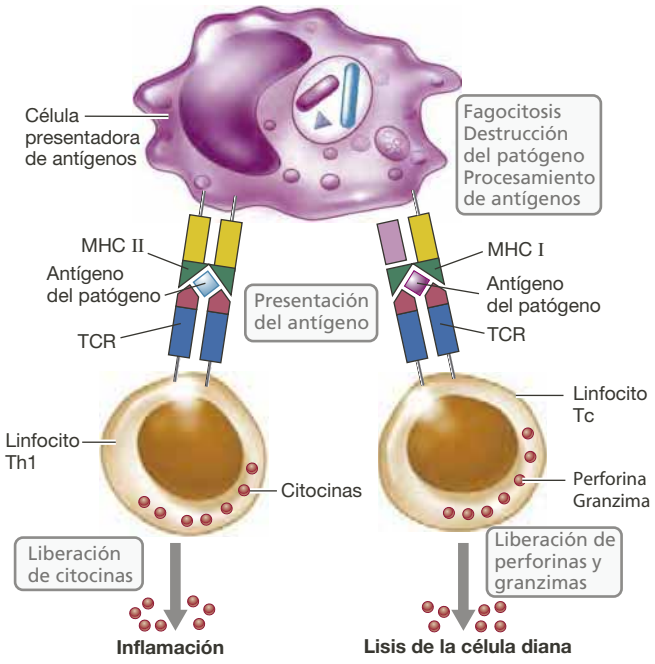


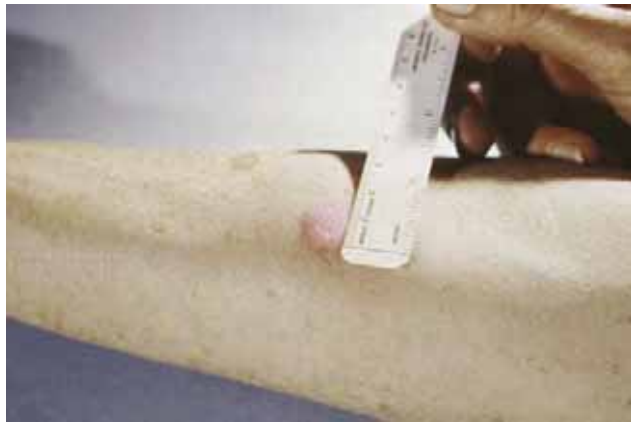
Figura 24.5 Inmunidad de células T. Las células presentadoras de antígeno, como algunos fagocitos de la inmunidad innata, ingieren, degradan y procesan los antígenos. Después presentan los antígenos a las células T, que secretan citocinas que activan la respuesta inmunitaria adaptativa. Entres células T que responden al antígeno están las células inflamatorias colaboradores (o T-helper) (Th1) y las células T-citotóxicos (Tc). Las Th1 producen perforinas y granzimas, unas proteínas que penetran en las células diana cercanas, lisándolas.

células dendríticas y células B) también muestran MHC II, que es otro tipo de proteína presentadora de antígenos. Los macrófagos se encuentran en todos los órganos del cuerpo, pero las otras APC se localizan en los órganos linfoides secundarios (bazo, ganglios linfáticos y MALT), donde se inicia la respuesta inmunitaria adaptativa. Las APC bien fagocitan bacterias, virus y otros materiales antigénicos, como hacen los macrófagos y las células dendríticas, o bien lo internalizan unido a un BCR, como hacen las células B. Después de la ingestión de los antígenos, las APC los degradan, produciendo pequeños péptidos, que se unen a las proteínas del MHC en el interior de la APC. A continuación, el complejo péptido-MHC se transporta hasta la superficie del fagocito, donde queda expuesto, proceso que se conoce como *presentación del antígeno*. Por ejemplo, un fagocito infectado con virus de la gripe presentará complejos MHC I y II con péptidos del virus. Estos complejos péptido de la gripe-MHC son dianas para las células T.

Células T

Las células T interaccionan con el complejo péptido-MHC mediante el TCR. Cada célula T expresa un TCR que es específico para un solo complejo péptido-MHC. Las células T específicas de antígeno se encuentran dispuestas en íntima conexión con las APC del bazo, de los ganglios linfáticos y del MALT, de forma que muestrean constantemente los complejos de péptido-MHC de las APC circundantes. Cuando los complejos de péptido-MHC interaccionan con el TCR, envían una señal a la célula T para que crezca y se divida, produciendo clones reactivos frente al antígeno que interaccionan directamente para matar a las células que presentan el mismo péptido extraño o que ayudan a otras células a eliminar a las que contienen el mismo péptido.

Según sus propiedades funcionales, las células T se dividen en tres subgrupos básicos que interaccionan con otras células para iniciar las reacciones inmunitarias. Las células *T-colaboradoras* o *Th* (del inglés *T-helper*) interaccionan con los complejos péptido-MHC II de la superficie de las APC. Esto hace que las células Th se diferencien en uno o dos subconjuntos que indirectamente median en las reacciones inmunitarias. Dichos subconjuntos, denominados Th1 y Th2, responden proliferando y produciendo citocinas solubles. Estas últimas interaccionan con receptores presentes en otras células, a las que activan para iniciar una respuesta inmunitaria. Así, la interacción de las células Th1 con complejos de péptido-MHC II presentados por macrófagos estimula en las células Th1 la producción de citocinas que activan a los propios macrófagos, aumentando la fagocitosis de las células que presentan el péptido diana y causando una reacción inflamatoria que limita la propagación de la infección (Figura 24.5 y **Figura 24.6**). Por ejemplo, *Mycobacterium tuberculosis* infecta a los macrófagos y otras células del pulmón, causando la tuberculosis. Los macrófagos activados matan a *M. tuberculosis* y detienen la propagación de la infección a otras células. Una reacción de este tipo causada por *M. tuberculosis*, la denominada *reacción a la tuberculina*, se utiliza como prueba diagnóstica de exposición a *M. tuberculosis*. Para esta prueba se usa *tuberculina*, que es un extracto de *M. tuberculosis,* para atraer a las células Th1 que entonces producen citocinas, lo que provoca la activa los macrófagos y causan la hinchazón y endurecimiento de una zona localizada, caliente y rojiza, características típicas



CDC-PHIL

Figura 24.6 Linfocitos Th1 y activación de macrófagos. Se observa un resultado positivo en esta prueba de la tuberculina realizada en el antebrazo. En el sitio de inyección, los macrófagos activados por células Th1 específicas produjeron una reacción localizada a un antígeno de la tuberculosis, la tuberculina. La zona inflamada tiene unos 1,5 cm de diámetro.

de la inflamación y la respuesta inmunitaria. El otro subconjunto de Th son las células Th2, que utilizan citocinas para estimular células B reactivas frente al antígeno y hacer que produzcan anticuerpos, como veremos a continuación. Finalmente, las *células T-citotóxicas (Tc)* reconocen complejos péptido-MHC I sobre células infectadas y secretan proteínas que las matan las células infectadas portadoras del péptido (Figura 24.5).

MINIRREVISIÓN

- Describa el proceso de presentación de antígenos a las células T.
- Describa el papel de las células Th1 y Tc en la inmunidad adaptativa.

24.4 Anticuerpos

Los anticuerpos son proteínas producidas por las células B y las células plasmáticas (Figura 24.1) como respuesta a la exposición a antígenos. Cada anticuerpo se une específicamente solo a un antígeno. La inmunidad mediada por anticuerpos controla la propagación de la infección mediante el reconocimiento de los patógenos y sus productos en ambientes extracelulares, como sangre y secreciones mucosas.

Funciones de las células B

Las células B son linfocitos especializados que tienen anticuerpos en su superficie; cada célula B muestra múltiples copias de un solo anticuerpo, que es específico para un único antígeno. Para producir anticuerpos, las células B deben unir primero antígenos a través del BCR (**Figura 24.7**). La interacción anticuerpo-antígeno de superficie induce a la célula B la ingestión por fagocitosis del patógeno que contiene el antígeno. La célula B destruye y digiere entonces el patógeno, y produce una batería de antígenos peptídicos derivados del patógeno. Luego los péptidos forman un complejo con la proteína MHC II que se presenta, en la superficie de la célula B, a una célula Th2 específica del antígeno.

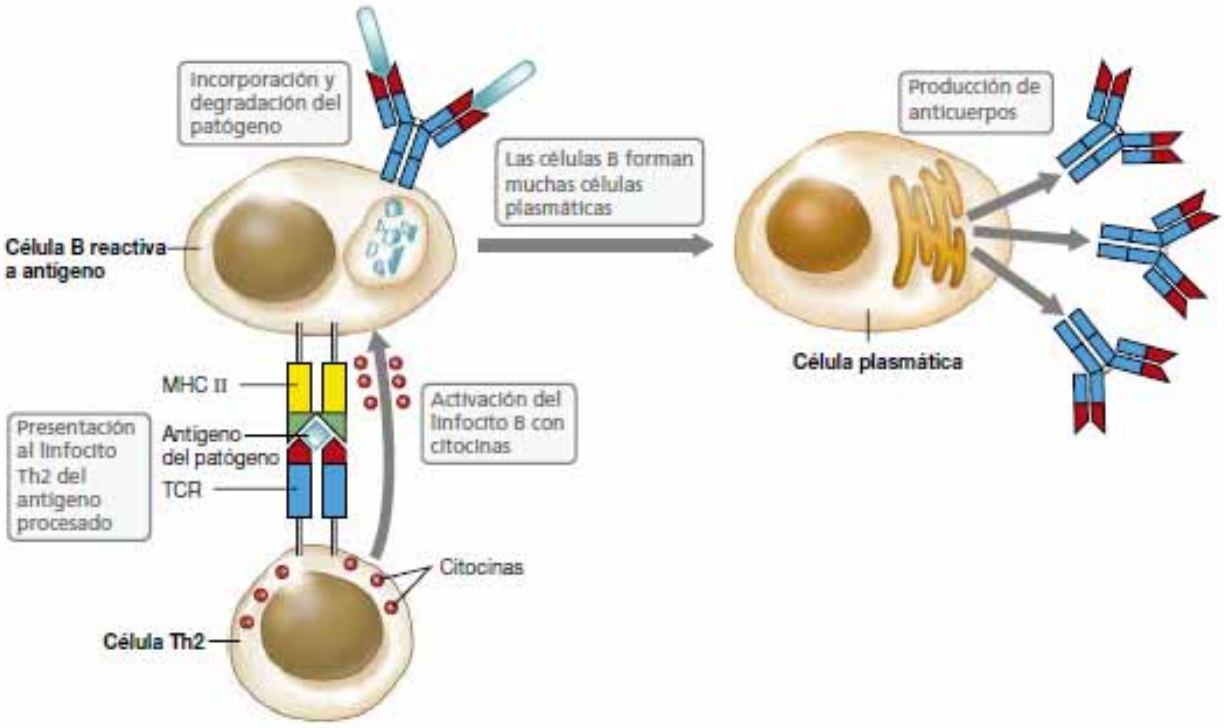


Figura 24.7 **Inmunidad mediada por anticuerpos.** El anticuerpo sobre un linfocito B une al antígeno y, a través de la colaboración de una célula Th2, la célula B forma clones que se diferencian luego en células plasmáticas productoras de anticuerpos.

La célula Th2, por tanto, no interacciona directamente con el patógeno, sino que estimula a otras células, en este caso, a la célula B presentadora de antígeno en la que ha reconocido el complejo péptido-MHC. Esta estimulación se lleva a cabo mediante la producción de citocinas que inducen el crecimiento y división de las células B, originando así clones de la célula B presentadora de antígeno original. A continuación, muchas de estas células B activadas se diferencian en células plasmáticas que producen anticuerpos solubles (Figura 24.7). Esta respuesta primaria de anticuerpos es detectable pasados unos cinco días desde la exposición al antígeno, alcanzando niveles máximos en varias semanas. Algunas células B activadas del clon permanecen en circulación como células B de memoria, de forma que una exposición posterior al mismo antígeno, por ejemplo por una reinfección con el mismo patógeno, las estimula, produciendo una respuesta secundaria, caracterizada por una mayor rapidez en la formación de anticuerpos, que se encuentran en mayor cantidad (Figura 24.4). La respuesta secundaria, también llamada *memoria inmunitaria*, es la base de la vacunación, como se discute más adelante. La respuesta de anticuerpos es muy específica para el antígeno que la desencadena y puede neutralizar o destruir a los patógenos o a sus productos a través de varios mecanismos (**Figuras 24.8** y **24.9**).

Clases de anticuerpos y sus funciones

Existen varias clases de anticuerpos que se distinguen entre sí por la secuencia de aminoácidos de los polipéptidos de sus cadenas pesadas. Cada clase de anticuerpo tiene una función definida (**Tabla 24.2**). Las clases IgM e IgG se encuentran en la sangre. La respuesta de anticuerpos primaria se compone principalmente de IgM, mientras que la respuesta secundaria se caracteriza por grandes cantidades de IgG (Figura 24.4). La IgA se encuentra en altas concentraciones en la sangre y en las secreciones de las membranas mucosas, como en los pulmones y el intestino. La IgE se encuentra unida a mastocitos, células que intervienen en la inmunidad frente a parásitos y en las alergias. La IgD se encuentra principalmente como inmunoglobulina de superficie de las células B.

Los anticuerpos liberados por las células plasmáticas interaccionan con los antígenos de los patógenos. Si bien los

Tabla 24.2 Principales clases de anticuerpos

Clase de anticuerpo	*Localización*	*Concentración en suero*	*Función*
IgA	Suero y secreciones mucosas	2,1 mg/ml en suero y altas concentraciones locales en la superficie de las mucosas	Respuesta secundaria e inmunidad mucosal frente a patógenos extracelulares.
IgE	Mastocitos	Bajas concentraciones en suero; todos unidos a mastocitos	Inmunidad frente a parásitos, alergias
IgG	Suero	13,5 mg/ml (la más alta en suero)	Respuesta secundaria frente a patógenos extracelulares
IgM	Suero	1,5 mg/ml	Respuesta primaria frente a patógenos extracelulares

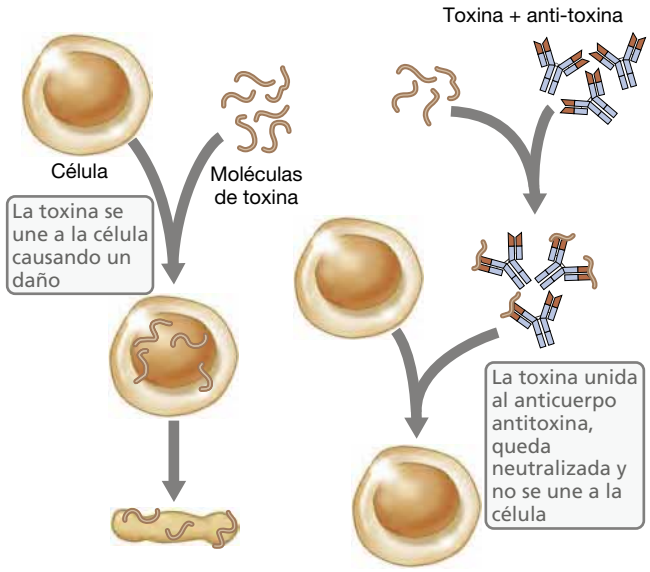


Figura 24.8 **Neutralización de una exotoxina por un anticuerpo antitoxina.** *(a)* Una toxina ocasiona la destrucción celular. *(b)* Su antitoxina previene la destrucción celular.

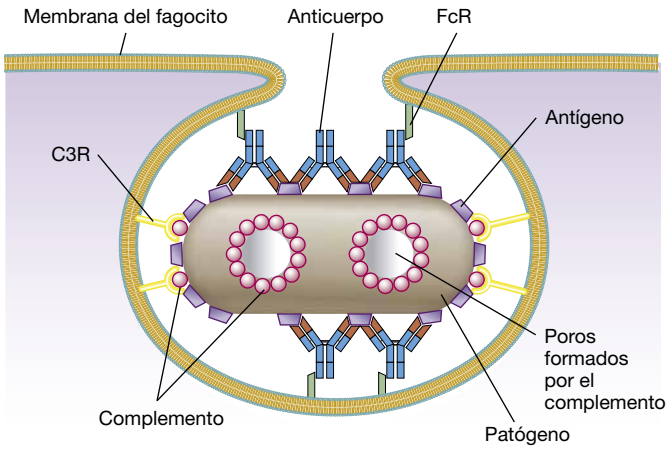


Figura 24.9 **Anticuerpos, complemento y opsonización.** Los fagocitos tienen receptores que unen los anticuerpos (FcR; en verde). Las proteínas del complemento (en rojo) se unen a los complejos antígeno-anticuerpo y se fijan a la célula a través de receptores del complemento (C3R; en amarillo). La interacción con FcR y C3R facilita la fagocitosis, un fenómeno llamado opsonización. El complemento también puede formar poros y lisar directamente la célula.

anticuerpos pueden tener uno o más efectos sobre el patógeno, muy rara vez la mera unión con el anticuerpo mata directamente al patógeno. Muchos anticuerpos actúan bloqueando las interacciones entre los patógenos o sus productos y las células hospedadoras. Por ejemplo, los anticuerpos IgA presentes en las secreciones mucosas y están dirigidos contra el virus de la gripe pueden interaccionar con los antígenos del virus que se unen a las células hospedadoras bloqueando su unión a las células. Los anticuerpos del suero específicos, pueden unirse a toxinas, como la del tétanos, bloqueando también su unión a los receptores de la célula hospedadora. Es un proceso que se conoce como *neutralización* (Figura 24.8). En muchos casos, los anticuerpos marcan al patógeno para ser destruido por fagocitosis. Los fagocitos tienen receptores generales de anticuerpos llamados *receptores Fc* (FcR) que se unen a cualquier anticuerpo unido a un antígeno. Esta interacción facilita la fagocitosis de células recubiertas de anticuerpos, un proceso que se conoce como *opsonización* (Figura 24.9).

Complemento

En la destrucción de patógenos mediada por anticuerpos también pueden intervenir un grupo de proteínas conocidas en conjunto como *complemento* (Figura 24.9). Estas proteínas del complemento se adhieren a las superficies de los patógenos atraídas por los anticuerpos IgM o IgG unidos a los mismos, lo que tienen dos efectos posibles. En primer lugar las proteínas del complemento pueden formar un poro en la membrana citoplasmática del patógeno, lisándolos directamente. Esta activación del complemento solo se produce si el patógeno lleva anticuerpos unidos a él. Por ejemplo, los anticuerpos específicos para las proteínas de la superficie celular de *Salmonella*, interaccionan únicamente con *Salmonella*. El complemento causa solo la lisis de células de *Salmonella* recubiertas de anticuerpos, pero no la lisis de células de *Escherichia coli* cercanas que no estén recubiertas de anticuerpos. Muchos patógenos, como las especies de *Streptococcus*, de paredes gruesas grampositivas, son relativamente resistentes a la lisis mediada por el complemento porque la pared celular hace a la membrana citoplasmática menos accesible a las proteínas del complemento. Sin embargo, los anticuerpos contra los componentes de la superficie siguen atrayendo las proteínas del complemento a la superficie del patógeno. El segundo efecto de la unión del complemento es la estimulación de la fagocitosis. Las proteínas del complemento unidas al patógeno pueden ser reconocidas por unos receptores para el complemento llamados *receptores C3* (*C3R*) que se encuentran en la superficie de fagocitos como los neutrófilos y los macrófagos. Esta interacción ocasiona la opsonización y la fagocitosis de las células sensibilizadas por los anticuerpos y el complemento (Figura 24.9).

MINIRREVISIÓN

- Resuma el proceso de producción de anticuerpos que sigue a la interacción de un patógeno con una célula B.
- Defina el papel de los anticuerpos y el complemento en la destrucción de patógenos.

UNIDAD 5

II • Defensas del hospedador

El sistema inmunitario protege al hospedador mediante varios mecanismos, como la inflamación y las respuestas inmunitarias adaptativas activa y pasiva, para librar al cuerpo de los patógenos. Utilizando antígenos derivados de los patógenos, también es posible generar inmunidad protectora sin infección, lo que denominamos vacunación.

24.5 Inflamación

La inflamación es una reacción general, no específica, a estímulos nocivos, como toxinas o patógenos. Se caracteriza por enrojecimiento (eritema), hinchazón (edema), dolor y calor, localizados normalmente en el sitio de la infección (Figura 24.6 y **Figura 24.10**). Las moléculas que inician la inflamación son un grupo de activadores y quimioatrayentes de células, como las citocinas y las quimiocinas, producidos por células diversas. Las principales quimiocinas y citocinas, producidas en altas concentraciones por los fagocitos y linfocitos, se denominan *proinflamatorias* debido a su capacidad de inducir la inflamación.

Tanto la respuesta inmunitaria innata como la adaptativa pueden producir inflamación, pues los dos sistemas inmunitarios de reconocimiento inducen los activadores que incorporan las células efectoras como los neutrófilos y las activan. La respuesta inmunitaria normalmente activa la inflamación para aislar y limitar el daño tisular mediante la destrucción de los patógenos invasores y la eliminación de las células dañadas. Sin embargo, en algunos casos ocasiona un daño considerable a los tejidos sanos del hospedador.

Células inflamatorias e inflamación local

La inflamación mediada por la inmunidad es un proceso agudo que comienza en el foco de entrada del patógeno en el cuerpo. Los PRR, presentes en macrófagos y células tisulares del sitio de la infección, reconocen los PAMP (Figura 24.3), lo que les induce a liberar mediadores, como citocinas y quimiocinas, que interaccionan con los receptores de citocinas y quimiocinas de otras células, como los neutrófilos. Por ejemplo, tras activarse por la interacción PAMP-PRR, los macrófagos de los tejidos locales secretan una quimiocina llamada CXCL8, para la que existe un receptor en los neutrófilos. Estos migran siguiendo el gradiente de CXCL8 hasta el lugar donde se genera, y allí comienzan a fagocitar y destruir al patógeno. Los neutrófilos, a su vez, secretan más CXCL8, atrayendo más neutrófilos y amplificando la respuesta para acabar destruyendo al patógeno (Figura 24.10*b*).

Las quimiocinas y citocinas liberadas por las células lesionadas y los fagocitos contribuyen a la inflamación. Por ejemplo, los macrófagos y otras células presentes en el foco de una infección producen citocinas proinflamatorias, como la interleucina-1 (IL-1), la IL-6, y el factor de necrosis tumoral α (TNF-α). Estas tres citocinas aumentan la permeabilidad vascular, produciendo la hinchazón (edema), el enrojecimiento (eritema) y el calentamiento local asociados con la inflamación. El edema estimula las neuronas locales, causando dolor (**Figura 24.11*a***).

El resultado habitual de la respuesta inflamatoria es una rápida localización y destrucción del patógeno por los macrófagos y los neutrófilos que han acudido al lugar. A medida que se eliminan los patógenos, las células inflamatorias dejan de ser estimuladas y se reduce su número en el lugar de la inflamación, disminuye la producción de citocinas, se detiene la atracción de los fagocitos hacia los productores de citocinas y baja la inflamación.

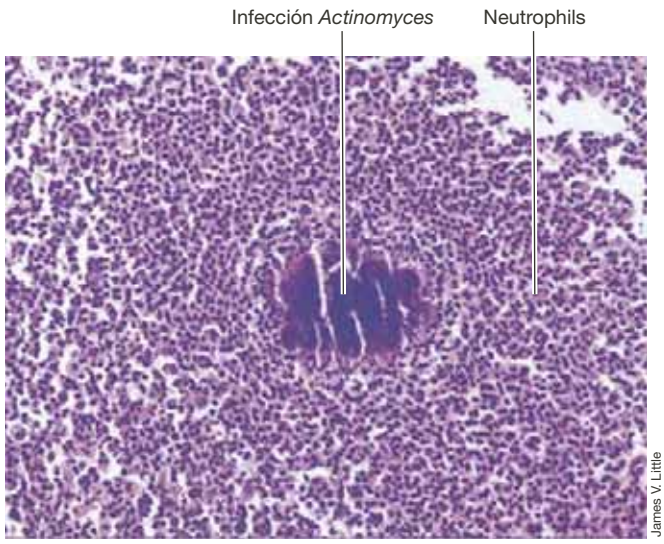
Inflamación sistémica y choque séptico

En algunos casos, la respuesta inflamatoria no es capaz de controlar a los patógenos y la reacción se propaga por todo el cuerpo. Una inflamación sistémica no controlada, con las células y mediadores inflamatorios contribuyendo a una inflamación a gran escala, puede ser más peligrosa que la infección original. Una respuesta inflamatoria que disemina células inflamatorias y mediadores a través de los sistemas circulatorio y linfático puede llevar al choque séptico, un cuadro agudo potencialmente mortal.

Una causa común de choque séptico es la infección sistémica por bacterias entéricas, como *Salmonella* o *Escherichia coli*, producida por lesiones del intestino que permiten su liberación a la cavidad intraperitoneal o al torrente sanguíneo. La infección primaria es a menudo eliminada por los fagocitos, o tratada con éxito con antibióticos. Sin embargo, el LPS

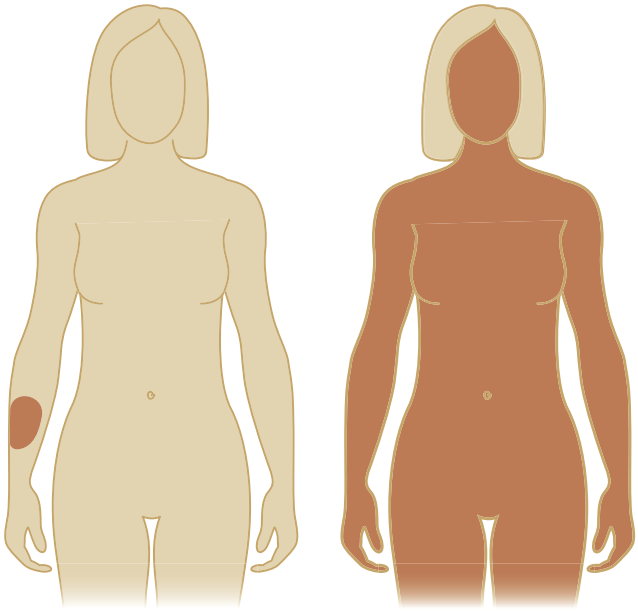


(a)



(b)

Figura 24.10 Inflamación. *(a)* La fotografía muestra la hinchazón en el pie de un niño debida a una infección por *vaccinia* virus; la actividad inflamatoria ocasiona la acumulación de fluidos. *(b)* La masa oscura en el centro de la microfotografía se debe a una infección por *Actinomyces*, una bacteria filamentosa. Las células teñidas de oscuro que rodean la masa son neutrófilos, lo que indica una inflamación aguda.



(a) Una infección localizada causa la inflamación de una pequeña zona del cuerpo, seguida de la curación.

(b) Una infección sistémica conduce a una inflamación y enfermedad por todo el cuerpo.

Figura 24.11 Inflamación local y sistémica. *(a)* Una infección localizada, mediada por citocinas proinflamatorias producidas por los macrófagos locales, ocasiona una inflamación que desaparece cuando la infección ha terminado. *(b)* Una infección sistémica causa la liberación generalizada de citocinas proinflamatorias, provocando síntomas inflamatorios sistémicos como edema grave, fiebre y choque séptico, incluso cuando la infección está controlada.

o endotoxina de la membrana externa de estos gramnegativos interacciona con un PRR de los fagocitos, estimulando la producción de citocinas proinflamatorias que alcanzan la circulación sistémica. Entonces, estas citocinas inducen respuestas sistémicas semejantes a la de la inflamación localizada, pero a una escala que afecta muchos órganos y sistemas, y provoca en última instancia una inflamación generalizada, que puede causar la muerte (Figura 24.11*b*).

Las citocinas proinflamatorias IL-1, IL-6 y TNF-α son *pirógenos endógenos*, es decir, moléculas del huésped que causan fiebre, pues estimulan el cerebro para producir prostaglandinas, señales químicas que elevan la temperatura corporal. En cambio, las mismas citocinas liberadas en pequeñas cantidades y localmente, en los sitios de infección producen calentamiento local, lo que aumenta el flujo de sangre y promueve la curación. La gran cantidad de pirógenos endógenos liberados a la circulación general como consecuencia de una infección sistémica provoca un calentamiento general del organismo que se caracteriza por una fiebre alta e incontrolable. Además, las grandes cantidades de mediadores inflamatorios liberados de forma sistémica, en lugar de causar un edema local por vasodilatación y aumento de la permeabilidad vascular, provocan estas mismas reacciones en todo el sistema. El resultado es la salida masiva de fluidos desde el sistema vascular central con la consiguiente reducción del volumen sanguíneo y caída de la presión arterial, más el grave edema debido a la afluencia de fluidos a los espacios extravasculares.

En resumen, las citocinas proinflamatorias, producidas en grandes cantidades para combatir las infecciones sistémicas, inducen fiebre alta, una presión arterial extremadamente baja y edema grave. Este cuadro clínico, llamado choque séptico, causa la muerte de hasta un 30 % de las personas afectadas.

MINIRREVISIÓN

- Indique las clases de mediadores moleculares de la inflamación y defina sus papeles individuales.
- ¿Cuáles son los principales síntomas de la inflamación localizada y del choque séptico?

24.6 Inmunidad e inmunización

Tanto las respuestas inmunitarias innatas como las adaptativas protegen al hospedador de las infecciones por patógenos y ambas son esenciales para la supervivencia (**Figura 24.12**). Por ejemplo, sin una intervención extraordinaria, las personas que no producen fagocitos, y carecen por tanto de inmunidad innata, desarrollan infecciones recurrentes por bacterias, virus y hongos y mueren a una edad temprana. Lo mismo sucede con las personas desprovistas de inmunidad adaptativa, aunque normalmente estas puedan sobrevivir más tiempo si el sistema inmunitario innato es funcional.

La inmunidad puede ser natural o ser inducida artificialmente por la exposición a antígenos (vacunación). Igualmente, la inmunidad puede ser adquirida *activamente*, por ejemplo, cuando generamos una respuesta inmunitaria a través de la exposición al antígeno, o *pasivamente*, cuando recibimos anticuerpos o células inmunitarias de un individuo inmune. Ambas se ilustran y comparan en la **Figura 24.13** y en la **Tabla 24.3**.

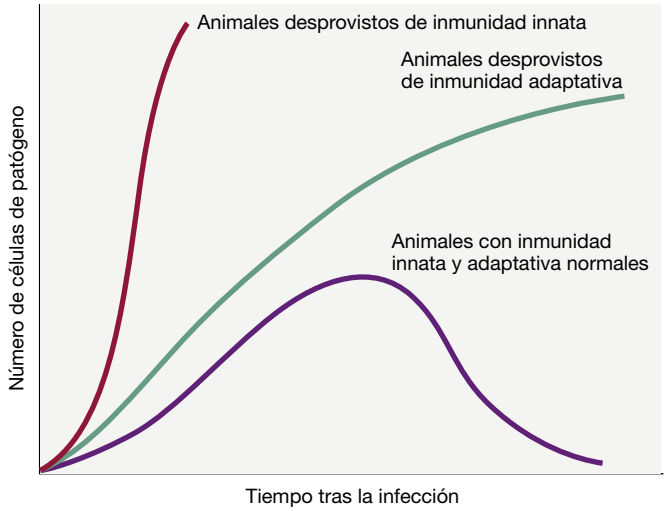


Figura 24.12 Infección y eliminación de patógenos en animales normales o inmunodeprimidos. Los animales con defectos genéticos que impiden el desarrollo de los fagocitos, críticos en la inmunidad innata, sufren infecciones recurrentes, incurables y letales. Los defectos genéticos que impiden el desarrollo de las células T y B reactivas a antígeno, fundamentales para la inmunidad adaptativa, también permiten infecciones recurrentes, pero la respuesta innata las controla durante un tiempo más largo, de forma que estos animales viven más tiempo que los que carecen de inmunidad innata. Los animales con inmunidad innata y adaptativa normales eliminan rápidamente la mayoría de las infecciones.



Figura 24.13 **Inmunidad natural y pasiva.** De izquierda a derecha, fotos que muestran: (1) El sarampión infantil con la típica erupción sistémica. La inmunidad natural activa requiere la infección con un patógeno para activar la respuesta inmunitaria adaptativa. (2) Cartel de 1934 del gobierno de los Estados Unidos para promover la lactancia materna. La inmunidad natural pasiva se produce cuando la inmunidad se transfieren de una persona a otra por medios naturales, tal y como ocurre con la transferencia de anticuerpos de la leche materna. (3) Vacunación por inhalación nasal de un antígeno. La inmunidad artificial activa se produce por la exposición a los antígenos concretos de una vacuna. (4) La serpiente de cascabel produce un veneno muy tóxico. Es posible preparar en caballos un suero antiveneno de la serpiente; la inyección de dicho suero en una víctima de mordedura de serpiente proporcionará inmunidad artificial pasiva.

Tabla 24.3 Inmunidad activa y pasiva

Inmunidad activa	*Inmunidad pasiva*
Exposición al antígeno; inmunidad obtenida por inyección del antígeno o a través de la infección	Sin exposición al antígeno; inmunidad obtenida por inyección de anticuerpos o células T reactivas de antígeno
Respuesta inmunitaria específica producida por individuos que quedan inmunizados	Respuesta específica obtenida en un hospedador secundario que dona anticuerpos o células T
Inmunidad activada por el antígeno; memoria inmunitaria eficaz	No hay activación del sistema inmunitario; no hay memoria inmunitaria
La respuesta inmunitaria puede mantenerse por estimulación de las células de memoria	La inmunidad no puede mantenerse y desaparece rápidamente
La inmunidad tarda semanas en aparecer	La inmunidad se desarrolla de inmediato

Inmunidad natural

Los animales desarrollan normalmente *inmunidad activa natural* tras una infección natural que inicia la respuesta inmunitaria adaptativa (Figura 24.13). La inmunidad activa natural es el resultado de la exposición a antígenos a través de la infección y, por lo general, genera una inmunidad protectora basada en anticuerpos y células T. Por ejemplo, prácticamente todos los adultos han adquirido inmunidad activa natural para muchas cepas de los virus de la gripe y del resfriado común como consecuencia de infecciones previas. No obstante, la inmunidad natural requiere que se haya producido una infección, lo que en algunos casos podría implicar contacto con patógenos potencialmente peligrosos.

La inmunidad activa es fundamental para la resistencia a las enfermedades infecciosas, como demuestran los problemas causados por defectos genéticos y enfermedades que afectan al sistema inmunitario. Son ejemplo de estas situaciones los pacientes que no pueden producir anticuerpos debido a defectos genéticos en sus células B, y que adquieren infecciones graves por patógenos extracelulares, especialmente bacterias. Igualmente, las personas que con defectos genéticos que impiden el desarrollo de las células T padecen infecciones recurrentes por virus y otros patógenos intracelulares. Los individuos con *síndrome de inmunodeficiencia combinada grave* (*SCID*, del inglés *severe combined immuno deficiency*) padecen un defecto genético que impide la formación adecuada tanto de las células B como de las T. Estas personas, al carecer de inmunidad adaptativa eficaz, mueren a causa de múltiples infecciones recurrentes (Figura 24.12) a menos que reciban terapia de apoyo, como trasplante de médula ósea o antibióticos. La inmunodeficiencia también puede ser causada por reacciones tóxicas a medicamentos, contaminantes ambientales o infecciones. Por ejemplo, la pérdida de la respuesta inmunitaria adaptativa es una característica determinante del *síndrome de inmunodeficiencia adquirida (sida)*. En los pacientes con sida, la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) causa una disminución en el número de las células Th, lo que impide una respuesta inmunitaria efectiva (**Figura 24.14**). En pacientes con otras inmunodeficiencias, el resultado es semejante: sufren de infecciones recurrentes potencialmente mortales.

La *inmunidad pasiva natural* (Figura 24.13) se produce cuando una persona no inmune adquiere células inmunitarias o anticuerpos mediante su transferencia natural desde una persona inmune. Por ejemplo, durante varios meses después del nacimiento, los recién nacidos tienen en la sangre anticuerpos IgG maternos transferidos a través de la placenta antes de nacer. Del mismo modo, los anticuerpos IgA son transferidos a los recién nacidos a través de la leche materna. En ambos casos, los anticuerpos que protegen al bebé proceden de la madre y son adquiridos pasivamente de forma natural. Su papel es

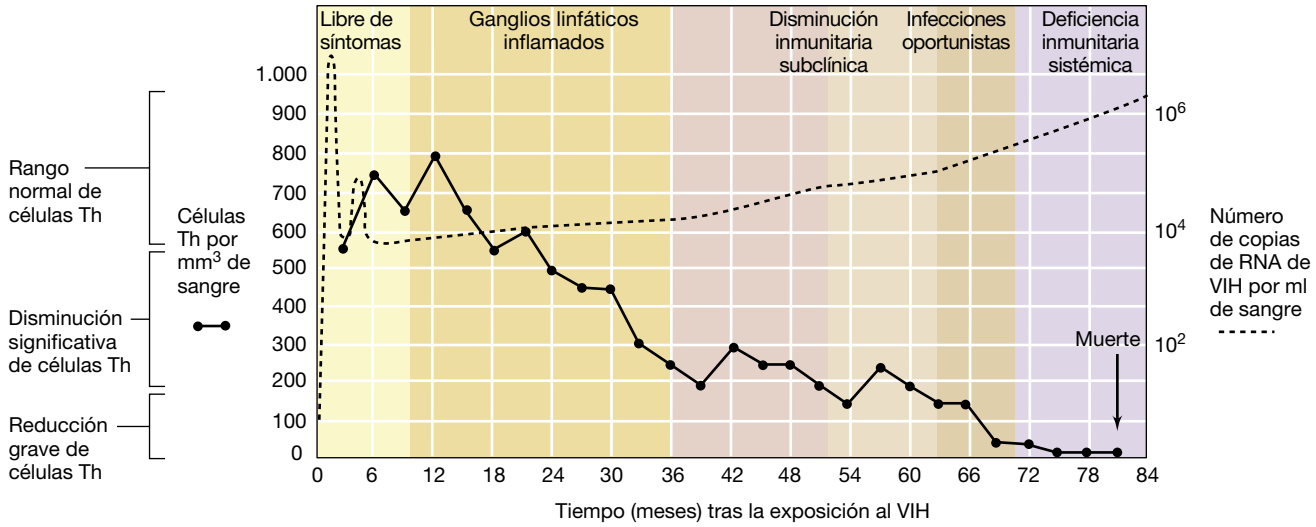


Figura 24.14 Linfocitos T-colaboradores (Th) y progreso del VIH /sida. Una infección por VIH no tratada evoluciona y causa el sida. El número y la capacidad funcional de las células Th disminuye gradualmente, mientras que la carga vírica, medida como copias de RNA específico del VIH por mililitro de sangre, aumenta después de una disminución inicial. La falta de una respuesta inmunitaria eficaz conduce a un aumento de otras infecciones graves y a la muerte.

proporcionar protección mientras madura el sistema inmunitario del recién nacido.

Inmunidad pasiva artificial

En la *inmunidad pasiva artificial*, el individuo que recibe los anticuerpos no desempeña ningún papel en su producción pues los recibe bien a través de la inyección de un *antisuero* (suero que contiene anticuerpos de la sangre de un individuo inmune) o bien purificados (inmunoglobulina) a partir de un individuo inmune. Estos anticuerpos desaparecen gradualmente del cuerpo y una exposición posterior al antígeno no puede provocar una respuesta secundaria.

La inmunidad pasiva artificial se usa para prevenir o tratar enfermedades infecciosas agudas como el tétanos, así como en el tratamiento de mordeduras de animales venenosos (Figura 24.13). Por ejemplo, un antisuero anti-tetánico se puede administrar para inmunizar pasivamente a una persona que se sospecha que ha estado expuesta a *Clostridium tetani* a causa de una lesión traumática, como un accidente de coche, pues los anticuerpos en el antisuero proporcionan protección inmunitaria inmediata contra la toxina del tétanos. La preparación que contiene los anticuerpos se conoce como *antisuero*, *antitoxina* si los anticuerpos se dirigen contra una toxina, o como *anti-veneno* si los anticuerpos se dirigen contra un veneno. Los antisueros se obtienen a partir de animales inmunizados, como caballos, o de seres humanos con altos niveles de anticuerpos específicos. También se puede utilizar una mezcla de inmunoglobulinas procedentes de sueros de distintos individuos con el fin de prevenir ciertas enfermedades virales, como la hepatitis A, ya que la mezcla contiene anticuerpos de patógenos comunes diversos.

Inmunidad activa artificial: vacunación

La **vacunación** o **inmunización** es la inducción artificial e intencionada de la inmunidad activa y representa un arma importante para la prevención y el tratamiento de muchas enfermedades infecciosas. La inmunidad artificial puede ser inducida de forma activa mediante la inyección de un patógeno o de sus productos (Figura 24.13) con el objetivo de producir una respuesta inmunitaria protectora. En la inmunidad activa, la introducción del antígeno induce cambios en el hospedador: el sistema inmunitario produce anticuerpos de respuesta primaria y, lo más importante, un gran número de células inmunitarias de memoria. Debido a la presencia de estas células, una segunda dosis (de «refuerzo» o «recuerdo») ocasiona una respuesta más rápida y con niveles mucho más altos de anticuerpos y de células T. Gracias a esta memoria, la inmunidad puede permanecer activa, incluso durante toda la vida.

La inmunidad activa artificial se utiliza para proteger a una persona contra un posible futuro contacto con un patógeno, pero tarda varios días o semanas en inducir la inmunidada protectora. Por ejemplo, la inmunización con el toxoide del tétanos, una versión no tóxica de la exotoxina de *C. tetani* (tétanos), protege a los individuos contra futuros encuentros con esta exotoxina, pero no es una terapia eficaz en el caso visto anteriormente de un traumatismo en un accidente de coche, pues la inmunidad adaptativa eficaz tarda como mínimo una semana en desarrollarse.

Vacunas

El antígeno o la mezcla de antígenos usado para inducir inmunidad activa artificial se conoce como **vacuna** o *inmunógeno*. La Tabla 24.4 resume las que existen para enfermedades humanas. La inmunización con una vacuna diseñada para producir una inmunidad activa artificial puede conllevar un cierto riesgo de infección u otras reacciones adversas. Para reducir estos efectos indeseables, se desactivan los patógenos o sus productos o se les hace inofensivos. Por ejemplo, muchas vacunas están constituidas por patógenos muertos por agentes químicos, como fenol o formaldehído, o por agentes físicos, como el calor. El formaldehído se utiliza también para desactivar virus vacunales, como en la vacuna de la polio desactivada (Salk). De igual manera, la forma activa de una exotoxina no puede utilizarse como inmunógeno debido a su efectos tóxicos. Muchas exotoxinas, sin

Tabla 24.4 Vacunas contra enfermedades infecciosas en humanos

Enfermedad	*Tipo de vacuna usada*
Enfermedades bacterianas	
Carbunco	Toxoide
Cólera	Células muertas o extracto celular *(Vibrio cholerae)*
Difteria	Toxoide
Haemophilus influenzae tipo B meningitis	Vacuna conjugada (polisacárido de *Haemophilus influenzae* tipo B conjugado con proteínas)
Meningitis	Polisacárido de *Neisseria meningitidis* purificado
Fiebre paratifoidea	Bacterias muertas (*Salmonella enterica* serovar Paratyphi)
Tos ferina	Bacterias muertas *(Bordetella pertussis)* o proteínas subcelulares
Peste bubónica	Células muertas o extracto celular *(Yersinia pestis)*
Neumonía bacteriana	Polisacárido de *Streptococcus pneumoniae* purificado o conjugado toxoide-polisacárido
Tétanos	Toxoide
Tuberculosis	Cepas atenuadas de Mycobacterium tuberculosis (BCG)
Fiebre tifoidea	Bacterias muertas (*Salmonella enterica* serovar Typhi)
Tifus exantemático	Bacterias muertas *(Rickettsia prowazekii)*
Enfermedades víricas	
Hepatitis A	Vacuna DNA recombinante
Hepatitis B	Vacuna DNA recombinante o virus desactivado
Virus del papiloma humano (VPH)	Vacuna DNA recombinante
Gripe (estacional)	Virus atenuados o desactivados
Gripe (H1N1)	Virus atenuado o desactivados
Encefalitis japonesa	Virus desactivados
Sarampión	Virus atenuados
Viruela de los monos	Virus con reacción inmunológica cruzada (vaccinia)
Paperas	Virus atenuados
Poliomielitis	Virus atenuados (Sabin) o virus desactivados (Salk)
Rabia	Virus desactivados (humanos) o virus atenuados (perros y otros animales)
Rotavirus	Virus atenuados
Rubeola	Virus atenuados
Viruela	Virus de reacción cruzada (vaccinia)
Varicela (herpes zóster)	Virus atenuados
Fiebre amarilla	Virus atenuados

embargo, pueden modificarse químicamente para que mantengan su antigenicidad, pero no sean tóxicas; es lo que se llama **toxoide**. Algunos toxoides, como los derivados de la exotoxina de *C. tetani* pueden administrarse con seguridad e inducen inmunidad protectora a largo plazo contra la exotoxina. En otros casos, los componentes antigénicos se extraen de patógenos cultivados in vitro, que son purificados e inyectados como vacuna. Este es el caso de algunas vacunas pneumocócicas, formadas por una mezcla de antígenos de cápsulas polisacarídicas obtenidas de las cepas patógenas más comunes del pneumococo.

La inmunización con células o virus vivos suele ser más eficaz que la inmunización con material muerto o desactivado. A menudo es posible obtener alguna cepa mutante de un patógeno que ha perdido su virulencia pero aún conserva los antígenos inmunizantes; estas cepas se denominan *cepas atenuadas* ((↷ Sección 27.6). Sin embargo, dado que las cepas atenuadas son todavía viables, algunas personas, especialmente las inmunodeprimidas, pueden desarrollar la enfermedad. Se han producido casos graves en individuos inmunodeprimidos tras el uso de vacunas vivas atenuadas, como, por ejemplo, las de poliovirus y de la viruela.

Muchas vacunas víricas efectivas son vacunas vivas atenuadas, un tipo de vacunas que suelen proporcionar inmunidad mediada por células T de larga duración, así como una importante inmunidad de anticuerpos y una fuerte respuesta secundaria tras la reinmunización o la propia exposición al patógeno. Sin embargo, las cepas de vacunas atenuadas son difíciles de seleccionar, estandarizar y mantener. Las vacunas vivas atenuadas, como la mayoría de las vacunas del sarampión, tienen una vida útil limitada y requieren refrigeración para su almacenamiento. Por otra parte, las vacunas de virus muertos, suelen proporcionar una respuesta inmunitaria de vida corta, con menos memoria a largo plazo, pero son relativamente fáciles de almacenar y mantienen su potencia durante largos períodos de tiempo.

La mayoría de las vacunas bacterianas se suministran como antígenos desactivados, como los toxoides que protegen contra el tétanos y la difteria. Una vacuna acelular actual contra *Bordetella pertussis* (tos ferina) se compone de la toxina

pertussis (PT) desactivada y de la hemaglutinina filamentosa (FHA, del inglés *filamentous hemagglutinin*) de esta bacteria. Las vacunas bacterianas desactivadas inducen una protección mediada por anticuerpos sin exponer a los destinatarios al riesgo de infección, pero las respuestas primaria y secundaria son un poco variables con cada vacuna e individuo, por lo que se requiere la revacunación periódica para establecer y mantener la inmunidad.

Inmunización

Los bebés adquieren inmunidad pasiva natural a partir de los anticuerpos maternos transferidos a través de la placenta o de la leche materna. Como consecuencia, son inmunes a muchas enfermedades infecciosas comunes durante los primeros 6 meses de vida. No obstante, deben ser vacunados tan pronto como sea posible para que su propia inmunidad activa reemplace la inmunidad pasiva de origen materno. Como se trata en la Sección 24.3, una sola exposición a un antígeno no conduce a un *título* elevado de anticuerpos. Tras la inmunización inicial, se da una serie de reimmunizaciones o «refuerzos» para producir una respuesta secundaria y un título elevado de anticuerpos. Un resumen de las recomendaciones actuales de vacunación en los Estados Unidos se muestra en la **Figura 24.15**.

La importancia de la inmunización en el control de enfermedades infecciosas está bien establecida. Por ejemplo, la introducción de vacunas eficaces en la población ha reducido la incidencia de enfermedades infantiles anteriormente epidémicas, como el sarampión, las paperas y la rubeola ((Sección 29.6) y ha eliminado por completo la viruela ((Sección 28.8). Sin embargo, el grado de inmunidad obtenido gracias a la vacunación varía en gran medida con el individuo, así como con la calidad y cantidad de la vacuna. Una inmunidad de por vida rara vez se consigue mediante una sola inyección, ni siquiera tras una serie de inyecciones, pues las células inmunitarias y los anticuerpos inducidos desaparecen gradualmente del cuerpo. Por otro lado, las mismas infecciones naturales pueden estimular la memoria inmunitaria. En ausencia completa de una estimulación antigénica, la duración de la inmunidad efectiva varía considerablemente con las diferentes vacunas. Por ejemplo, la inmunidad protectora contra el tétanos obtenida por inmunización con una dosis del toxoide dura muchos años, pero no toda la vida, y la recomendación actual para mantenerla es la revacunación de los adultos

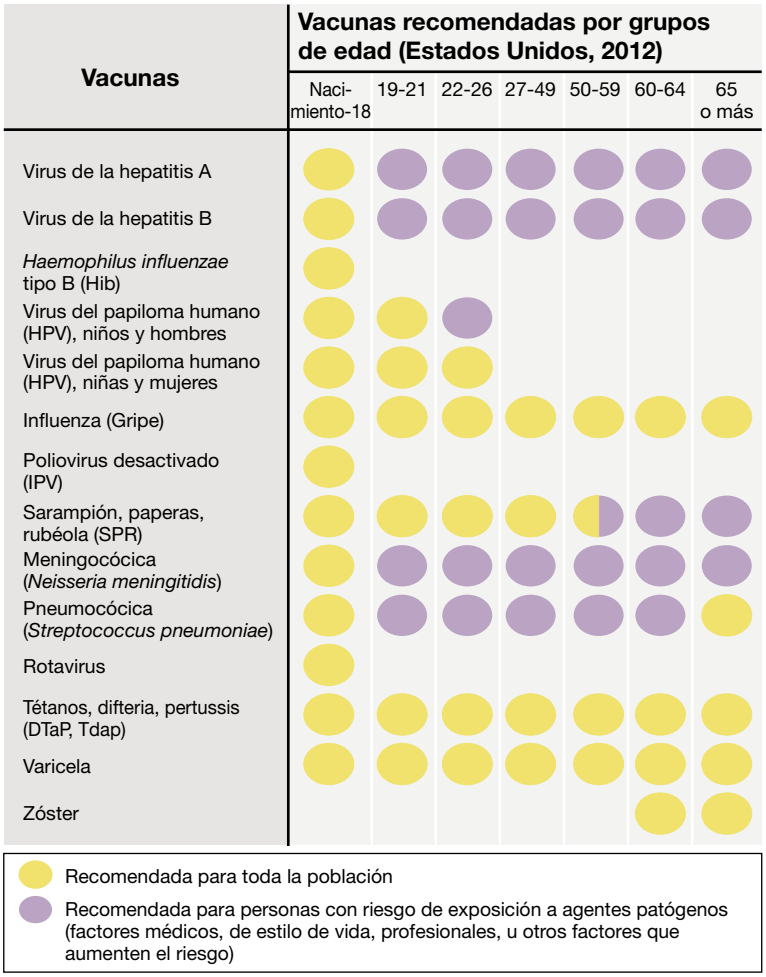


Figura 24.15 Recomendaciones de vacunación para niños y adultos en los Estados Unidos. Estas vacunas están recomendadas por los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) de Atlanta (Georgia) desde 2012. El sitio web de Vacunas e Inmunización de los CDC (http://www.cdc.gov) contiene recomendaciones específicas sobre el momento de vacunación y la dosificación de las vacunas para todos los grupos de edad y las recomendaciones para casos especiales, como son los viajes internacionales, las mujeres en edad fértil y las personas con afecciones médicas particulares, como inmunodeficiencias o enfermedades crónicas.

cada 10 años. La inmunidad inducida por la vacuna del virus de la gripe desactivado desaparece al cabo de uno o dos años si no hay reinmunización, ya sea por infección o por revacunación.

La vacunación beneficia a los individuos mediante la prevención de la enfermedad, pero también benefician a toda la población. La *inmunidad colectiva* se basa en el concepto de que las infecciones se propagan poco en poblaciones con una gran proporción de individuos inmunes. Por tanto, la vacunación es una herramienta importante en los programas de control de las enfermedades infecciosas.

MINIRREVISIÓN

- Distinga entre inmunidad activa natural y artificial e inmunidad pasiva natural y artificial.
- Repase las recomendaciones de vacunación para las personas de su grupo de edad. ¿Cómo benefician estas inmunizaciones al individuo? ¿Y a la población?

24.7 Estrategias de inmunización

Históricamente, muchas vacunas provienen de patógenos atenuados o desactivados. Hoy en día los métodos de ingeniería genética permiten la obtención de antígenos de patógenos para su uso como vacunas, evitando la exposición a los patógenos enteros, ya sea vivos o no.

Vacunas diseñadas genéticamente y sintéticas

En el Capítulo 11 se vio cómo las herramientas de ingeniería genética pueden ser utilizadas para sintetizar nuevos genes y proteínas. El enfoque alternativo más sencillo para el desarrollo de vacunas es hacer uso de estos métodos para producir *péptidos sintéticos*. Para generar una vacuna, un ingeniero genético puede sintetizar el péptido que corresponde a un antígeno de un agente infeccioso. Por ejemplo, la estructura de la toxina del virus de la fiebre aftosa o glosopeda, un importante patógeno animal, es conocida. Ya que la proteína entera es tóxica, no puede ser utilizada como vacuna. La respuesta frente a un péptido de 20 aminoácidos de esta proteína es protectora, pero el péptido es demasiado pequeño para evocarla de forma eficaz, por lo que no es una vacuna por sí mismo. Mediante ingeniería genética se ha diseñado una versión sintética del péptido acoplada a una proteína mayor e inocua que actúa como molécula transportadora. Esta *vacuna conjugada* produce una respuesta protectora contra la infección por virus de la fiebre aftosa. Esta estrategia es muy prometedora para la creación de vacunas para una serie de agentes patógenos, si bien para el diseño de una vacuna de este tipo se debe conocer la secuencia completa, de la proteína debe ser conocida y se debe identificar la sección que actúa como antígeno protector. En la actualidad se conocen las secuencias completas de los genomas de muchos agentes patógenos, lo que proporciona la información necesaria para identificar la estructura más antigénica de cada uno de ellos.

Hay disponibles dos vacunas conjugadas de un extracto polisacarídico bacteriano con un toxoide proteico, lo que provoca una respuesta inmunitaria más fuerte y más memoria inmunitaria que la inyección del antígeno polisacarídico solo. Así, una vacuna anti-pneumocócica utiliza el polisacárido pneumocócico acoplado al toxoide diftérico (**Figura 24.16**). Del mismo modo, la vacuna contra *Haemophilus influenzae* tipo b (Hib) utiliza el polisacárido de Hib acoplado al toxoide tetánico. Los antígenos polisacarídicos no son procesados eficazmente por las células B y por lo general solo proporcionan una respuesta primaria con poca memoria inmunitaria, pero los conjugados

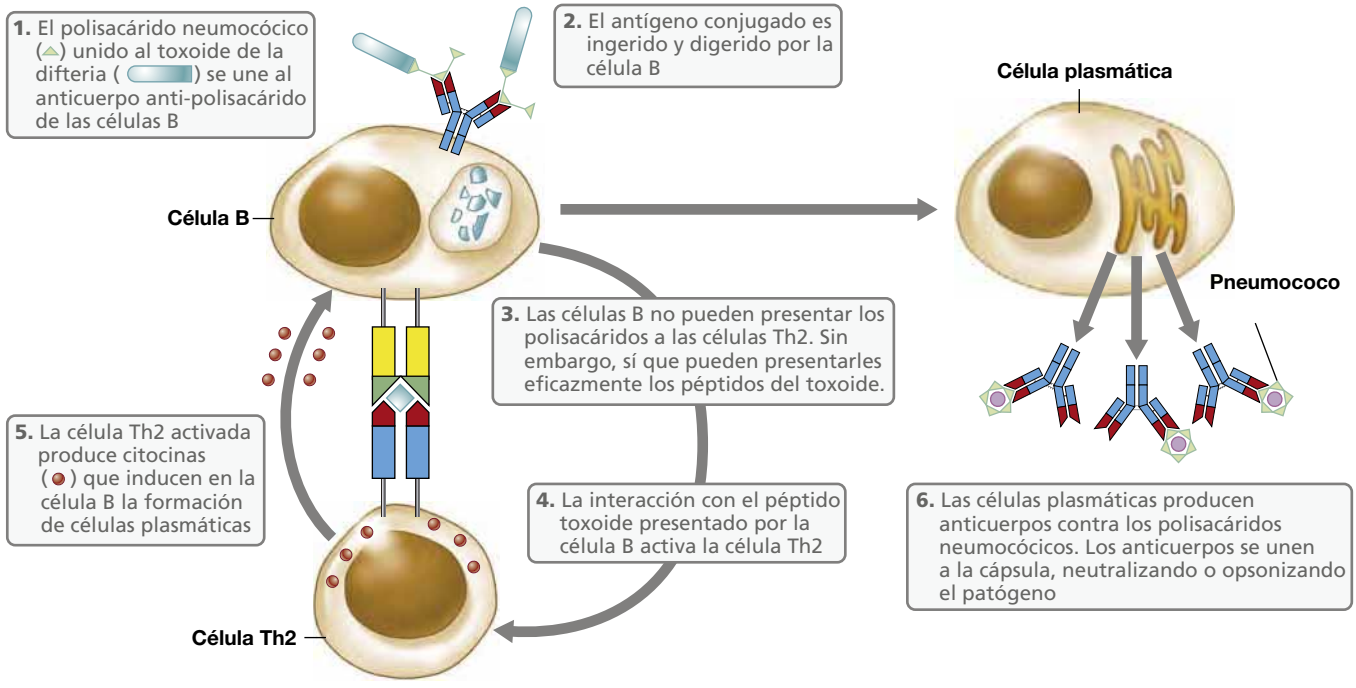


Figura 24.16 Vacunas conjugadas. Las vacunas conjugadas, como la del polisacárido de *Streptococcus pneumoniae* (pneumococo) unido covalentemente al toxoide de la difteria y la del polisacárido de *Haemophilus influenzae* tipo b (Hib) acoplado al toxoide tetánico, proporcionan inmunidad eficaz frente a los antígenos polisacarídicos. Los polisacáridos proporcionan poca inmunidad, cuando faltan las proteínas transportadoras, como los toxoides citados.

Hasta el 75 % de las personas sexualmente activas están infectadas por distintas cepas del virus del papiloma humano (VPH). Dicho virus puede causar verrugas genitales y cáncer de cuello uterino, vaginal o vulvar en las mujeres (**Figura 1**), así como verrugas genitales y cáncer anal en los hombres. En los Estados Unidos, unas 12.000 mujeres desarrollan cáncer de cuello uterino cada año y aproximadamente 4.000 mueren de dicha enfermedad. En todo el mundo, el número de mujeres afectadas cada año es de casi medio millón y el de muertes causadas por la enfermedad es de 250.000. Las vacunas dirigidas contra los antígenos de los VPH son altamente protectoras contra la infección vírica y previenen las verrugas genitales y el cáncer causado por los VPH contra los que están dirigidas. hay dos vacunas contra el VPH aprobadas para su uso. Una de estas vacunas, *Gardasil*, está dirigida contra los tipos 6, 11, 16, y 18 de VPH. La otra vacuna, *Cervarix*, es eficaz contra el VPH 16 y 18, dos cepas que causan el 70 % de los cánceres de cuello uterino y el 90 % de las verrugas genitales (Figura 1). *Gardasil* ha sido aprobada para su uso en mujeres y hombres de 9 a 26 años de edad, y *Cervarix* está aprobada para su uso en mujeres de 9 a 25 años. Se recomienda la vacunación en mujeres y hombres de entre 9 y 26 años.

Estas vacunas son una preparación de partículas similares a las principales proteínas L1 de la cápside de las varias cepas del virus. Las proteínas L1 han sido modificadas genéticamente para ser expresadas en *Saccharomyces cerevisiae* y, tras la ruptura de las células recombinantes de esta levadura, son liberadas como partículas autoensambladas similares a las proteínas del virus. Después de la purificación, estas partículas antigénicas recombinantes se adsorben sobre un adyuvante químico, una sustancia inocua que las inmoviliza y que hace que sean ingeridas más fácilmente por los fagocitos después de la inyección.

Debido a que el VPH es el responsable de la mayoría de los cánceres de cuello uterino, la vacunación de las personas susceptibles con vacunas contra el VPH dirigidas a cepas específicas prevendrá muchos casos de cáncer en las personas vacunadas. Sin embargo, quizás lo más importante sea que la inmunidad colectiva ocasionada por la vacunación de una gran proporción de la población puede reducir significativamente la propagación de estos virus, y así proporcionar protección indirecta incluso a las personas que no estén vacunadas (↪ Sección 28.2). Los modelos sugieren que la inmunidad colectiva puede subir significativamente mediante la vacunación de un 80 % de las mujeres jóvenes. La vacunación de niños y hombres, que es recomendable, podría proporcionar el resto de inmunidad colectiva necesaria para detener la transmisión de las cepas diana de VPH, y también es eficaz para prevenir las verrugas genitales y el cáncer anal en los hombres. Estas vacunas contra el VPH son las únicas vacunas eficaces contra infecciones de transmisión sexual en los humanos.

La vacuna contra el VPH es un ejemplo reciente del desarrollo y aplicación de una vacuna eficaz, pero todavía hay una serie de importantes enfermedades infecciosas que no se pueden prevenir mediante la vacunación. Por ejemplo, no existen vacunas para la mayoría de las enfermedades diarreicas (2,2 millones de muertes anuales en todo el mundo) o respiratorias (unos 4 millones de muertes anuales en todo el mundo), con las notables excepciones de las vacunas contra la gripe y contra el pneumococo. Todavía no existen vacunas eficaces para tres de las enfermedades infecciosas más letales del mundo: la tuberculosis (1,5 millones de muertes anuales en todo el mundo), malaria (alrededor de 900.000 muertes anuales en todo el mundo), y VIH / sida (dos millones de muertes anuales en todo el mundo). Incluso algunas vacunas eficaces tienen serias limitaciones. Por ejemplo, las vacunas contra la gripe solo son eficaces durante un año y son reformuladas cada año según los antígenos H y N, específicos de las cepas en circulación (↪ Secciones 28.2 y 28.11). Se ha propuesto el desarrollo de una vacuna universal de la gripe dirigida a un antígeno común del virus de la gripe, el antígeno M1, que debería inducir inmunidad contra todas las cepas de influenza con una sola vacuna. Sin embargo, la inmunogenicidad y la protección proporcionadas por M1 y otros antígenos compartidos no ha sido probada.



CDC-PHIL

Figura 1 **Verrugas genitales en una mujer infectada con el virus del papiloma humano.**

proteicos se procesan y activan las células Th2, ocasionando una respuesta primaria seguida de una fuerte respuesta secundaria y memoria inmunitaria.

La información genómica es particularmente útil para el diseño de vacunas antivíricas. Por ejemplo, los genes que codifican los antígenos de prácticamente cualquier virus pueden ser clonados y expresados en el genoma del virus vaccinia (o virus vacuna), de forma que la inoculación con el virus productor del nuevo antígeno puede inducir inmunidad contra el producto del gen clonado. Esta construcción se llama *vacuna recombinante*. Esta estrategia depende de la identificación y la clonación del gen que codifica el antígeno y también de la capacidad del virus vaccinia para expresar el gen clonado como una proteína antigénica. De esta forma se ha desarrollado una vacuna recombinante vaccinia-rabia eficaz para uso en animales. (Los métodos basados en DNA recombinante para el desarrollo de vacunas se han tratado en la Sección 11.14.)

Otra estrategia de vacunación se basa en el uso de proteínas inmunogenas producidas a partir de DNA clonado (véase Explorando el mundo microbiano: «vacunas y salud pública»). En primer lugar hay que clonar un gen de un patógeno en el microorganismo adecuado para expresar la proteína codificada por el gen clonado. La proteína del patógeno puede entonces ser utilizada como vacuna; es una vacuna que se conoce como *vacuna de antígeno recombinante* (↪ Sección 11.14). Por ejemplo, la actual vacuna del virus de la hepatitis B es una proteína antigénica de la superficie de este virus (HBsAg) expresada en células de levadura modificadas genéticamente. Una vacuna

eficaz contra el virus del papiloma humano (VPH) es también una vacuna de antígeno recombinante producida en células de levadura.

Vacunas de DNA

Un nuevo método para la inmunización se basa en la expresión de genes clonados en las células hospedadoras. Las *vacunas de DNA* son plásmidos bacterianos que contienen DNA clonado con el gen del antígeno de interés y que normalmente se inyectan por vía intramuscular en el animal hospedador. Una vez que el plásmido es absorbido por las células del hospedador, el DNA se transcribe y traduce para producir proteínas inmunógenas que desencadenan una respuesta inmunitaria convencional, con células Tc, células Th1 y anticuerpos frente a la proteína codificada por el DNA clonado.

Estas estrategias proporcionan considerables ventajas sobre los métodos convencionales de vacunación. Por ejemplo, a diferencia de las vacunas atenuadas, no hay posibilidad de infección, pues el plásmido contiene un único gen del patógeno. Además, se puede dirigir expresamente la respuesta inmunitaria frente a un componente celular concreto, por ejemplo un antígeno específico de un tumor, pues puede utilizarse un único plásmido que codifique un solo antígeno para introducirlo en las células del huésped y provocar una respuesta inmunitaria completa, induciendo tanto células T como anticuerpos. En al menos un caso, una vacuna experimental de DNA formada por un complejo péptido-MHC I protegió frente a la infección por un papilomavirus que induce cáncer en el modelo murino.

MINIRREVISIÓN

- Indique las estrategias de vacunación utilizadas para las vacunas en uso.
- Indique las ventajas de las estrategias alternativas de vacunación en comparación con los procedimientos tradicionales.

III • Enfermedades inmunitarias

Las reacciones inmunitarias pueden provocar daño celular en el hospedador, así como distintas enfermedades. La **hipersensibilidad** es una respuesta inmunitaria inapropiada que causa daño en el huésped. Las enfermedades de hipersensibilidad se clasifican según los antígenos y los mecanismos que las producen. En esta sección trataremos de estas enfermedades y de las producidas por los superantígenos de ciertas bacterias y virus. Los superantígenos causan daño al desencadenar respuestas inflamatorias masivas.

24.8 Alergia, hipersensibilidad y autoinmunidad

La **hipersensibilidad inmediata** mediada por anticuerpos se denomina comúnmente *alergia*. La hipersensibilidad mediada por células también causa enfermedades similares a la alergia, pero debido a la aparición retardada de los síntomas, estas reacciones mediadas por células se denominan **hipersensibilidad de tipo retardado (DTH**, del inglés «delayed-type hypersensitivity»). La **autoinmunidad** es una reacción inmunitaria perjudicial dirigida contra antígenos propios. Estas reacciones se clasifican como hipersensibilidad de tipo I, II, III o IV según los efectores inmunitarios, los antígenos y los síntomas (Tabla 24.5).

Hipersensibilidad inmediata

La hipersensibilidad inmediata, o hipersensibilidad de tipo I, está causada por los productos vasoactivos liberados por mastocitos recubiertos con IgE (Figura 24.17). Las reacciones de hipersensibilidad inmediata ocurren a los pocos minutos de la exposición a un *alérgeno*, el antígeno que la provoca. Dependiendo de la persona y del alérgeno, las reacciones de hipersensibilidad inmediata pueden ser muy leves o pueden causar una reacción potencialmente mortal llamada *anafilaxia*.

Alrededor del 20 % de la población sufre reacciones de hipersensibilidad inmediata, como son las alergias al polen, al moho, a la caspa de animales, a ciertos alimentos (fresas, frutos secos y mariscos), al veneno de insectos, a los ácaros del polvo doméstico y a otros agentes. La mayoría de los alérgenos entran al cuerpo tras el contacto con las superficies de membranas mucosas, como las de los pulmones o el intestino. La exposición inicial a los alérgenos estimula las células Th2 asociados a la mucosa para producir citocinas que inducen en las células B la producción de anticuerpos IgE. En lugar de unirse a IgG o IgM los anticuerpos IgE específicos de un alérgeno se unen a los receptores de IgE de los mastocitos (Figura 24.17), que son granulocitos no móviles (véase Sección 24.1) asociados con el tejido conjuntivo adyacente a los capilares de todo el cuerpo. Cuando se da una

Tabla 24.5 Hipersenisibilidad

Clasificación	*Descripción*	*Mecanismo inmunitario*	*Tiempo de latencia*	*Ejemplos*
Tipo I	Inmediata	Sensibilización de los mastocitos por IgE	Minutos	Reacción al veneno de abeja. Rinitis alérgica
Tipo II	Citotóxica[a]	Reacción IgG-antígenos de la superficie celular	Horas	Reacción a fármacos (penicilina)
Tipo III	Inmunocomplejos	Reacción IgG-antígenos circulantes o solubles	Horas	Lupus eritematoso sistémico (LES)
Tipo IV	Tipo retardado	Activación de células inflamatorias Th1 de macrófagos	Días (24-48 h)	Hiedra venenosa. Prueba de la tuberculina

[a] Las enfermedades autoinmunitarias pueden estar causadas por reacciones de tipo II, III o IV.

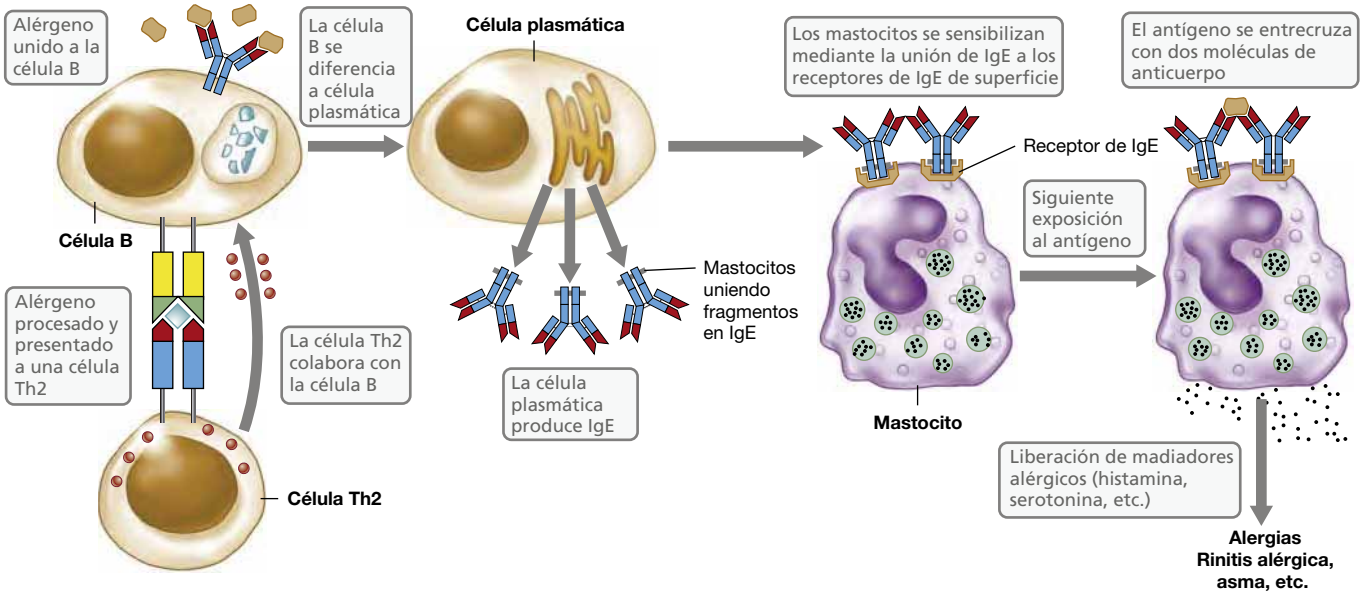


Figura 24.17 **Hipersensibilidad inmediata.** Algunos antígenos, como el polen, estimulan la producción de IgE, que se unen a los mastocitos por medio de un receptor de superficie de alta afinidad y quedan así sensibilizados. El antígeno se entrecruza con las IgE de superficie, lo que causa la liberación de mediadores solubles como la histamina, que producen síntomas que van desde una alergia leve hasta una anafilaxia potencialmente mortal.

exposición posterior al alérgeno, este se une a las IgE. El entrecruzamiento de IgE y el antígeno desencadena la liberación por los mastocitos de mediadores alérgicos solubles, un proceso llamado *desgranulación*. Estos mediadores causan los síntomas alérgicos a los pocos minutos de la exposición al antígeno. Después de la sensibilización inicial por un alérgeno, el individuo alérgico responde a cada nueva exposición al alérgeno.

Los principales mediadores químicos liberados por los mastocitos son la histamina y la serotonina, dos aminoácidos modificados que causan una rápida dilatación de los vasos sanguíneos y la contracción del músculo liso, produciendo síntomas que van desde un malestar local leve hasta el *choque anafiláctico* sistémico. Normalmente, los síntomas locales comprenden producción de mucosidad, erupción cutánea, estornudos, picazón, lagrimeo y urticaria (**Figura 24.18**). Otros síntomas del choque anafiláctico pueden ser la vasodilatación, con una fuerte caída de la presión arterial, y asma por constricción del músculo liso de los pulmones. La anafilaxis grave debe tratarse de inmediato con epinefrina para contrarrestar la contracción del músculo liso, aumentar la presión arterial y facilitar la respiración. Los síntomas alérgicos menos graves se pueden tratar con *antihistamínicos*, fármacos que neutralizan la histamina. El tratamiento de los síntomas también puede incluir esteroides antiinflamatorios. Finalmente, la inmunización con dosis crecientes del alérgeno puede derivar la producción de anticuerpos IgE hacia IgG e IgA. Las inmunoglobulinas IgG e IgA interaccionan con los alérgenos, bloqueando la unión a la IgE de los mastocitos sensibilizados, lo que permite detener los síntomas alérgicos e inhibir la producción de más IgE. Este procedimiento se denomina *desensibilización.*



CDC/PHIL Emory University, T.F. Sellers, Jr.

Figura 24.18 **Urticaria por hipersensibilidad inmediata.** Las zonas rojas hinchadas son síntomas típicos tras un contacto con alérgenos que causan hipersensibilidad inmediata.

Hipersensibilidad retardada

La hipersensibilidad de tipo retardado (DTH, del inglés *delayed-type hypersensibility*), o hipersensibilidad de tipo IV, está mediada por células y se caracteriza por un daño en los tejidos debido a la inflamación producida por las células Th1 (Tabla 24.5). Los síntomas de esta hipersensibilidad aparecen varias horas después de la exposición secundaria al antígeno, con una respuesta máxima que generalmente ocurre entre 24 y 48 horas después. Entre los antígenos DTH típicos hay compuestos químicos que normalmente no son antígenos, pero que pueden convertirse en alérgenos cuando se unen covalentemente a las proteínas de la piel, provocando una respuesta DTH. La hipersensibilidad a estos antígenos de nueva creación se conoce como *dermatitis de contacto* y puede ocasionar, por ejemplo, reacciones alérgicas en la piel frente a la resina de ciertas plantas (varias



Figura 24.19 **Hipersensibilidad de tipo retardado.** Ampollas por contacto con hiedra venenosa. La erupción aparece entre 24 y 48 horas después de la exposición a las plantas del género *Toxicodendron* debido a la activación de los macrófagos por las células Th1 sensibilizadas a los antígenos de estas plantas.

especies de *Toxicodendron* como la hiedra venenosa o *poison ivy*) (**Figura 24.19**), a joyas, a cosméticos, al látex o a otros productos químicos que reaccionan con los tejidos del hospedador. Varias horas después de una exposición posterior al antígeno, se siente picazón en la piel, en el sitio de contacto. Enrojecimiento e hinchazón suelen acompañar a la destrucción localizada del tejido en forma de ampollas, y se alcanzan un máximo tras varios días. El retraso en la aparición de la respuesta inflamatoria y la progresión del proceso inflamatorio son característicos de una reacción DTH. Como se verá más adelante, ciertos antígenos propios también pueden provocar respuestas DTH, ocasionanado una enfermedad autoinmunitaria.

Otro ejemplo de hipersensibilidad retardada es el desarrollo de la inmunidad protectora frente al agente de la tuberculosis, *Mycobacterium tuberculosis* (↻ Sección 29.4). Esta respuesta inmunitaria celular fue descubierta por Robert Koch durante sus clásicos estudios sobre la tuberculosis (↻ Sección 1.8). Cuando los antígenos de esta bacteria se inyectan por vía subcutánea en una persona previamente infectada por *M. tuberculosis*, se produce una reacción cutánea llamada *reacción a la tuberculina*. La reacción positiva a la tuberculina se desarrolla completamente tras 24–48 horas (Figura 24.6), a diferencia de la hipersensibilidad inmediata mediada por IgE, que aparece minutos después de la exposición al antígeno. En la zona donde se introducen los antígenos de las micobacterias, las células Th1 estimuladas liberan citocinas que atraen y activan un gran número de macrófagos. Estos, a su vez, producen una inflamación local característica, con induración, edema, eritema, dolor y calentamiento de la piel. Luego, los macrófagos activados ingieren y destruyen los antígenos invasores. La prueba de la tuberculina detecta una infección actual o previa por *M. tuberculosis*, o la inmunización con una vacuna atenuada contra la tuberculosis (BCG).

Una serie de otras enfermedades infecciosas causadas por patógenos intracelulares provocan reacciones de DTH. Pueden ser enfermedades bacterianas, como la lepra, la brucelosis o la psitacosis; víricas, como las paperas; o fúngicas, como la coccidioidomicosis, la histoplasmosis y la blastomicosis. Tras la inyección de antígenos derivados de estos agentes patógenos, se producen respuestas cutáneas visibles semejantes a la reacción de la tuberculina, que indican la exposición al patógeno e inmunidad mediada por Th1.

Autoinmunidad

Normalmente, a medida que los linfocitos maduran, las células T y B que reaccionan frente a antígenos propios son eliminadas. Las enfermedades autoinmunitarias se producen cuando estas células no son eliminadas, sino que se activan y ocasionan reacciones contra proteínas propias (**Tabla 24.6**). Por ejemplo, una DTH mediada por Th1 puede causar respuestas autoinmunitarias dirigidas contra antígenos propios. Así ocurre en la encefalitis alérgica, en la que hay una respuesta mediada por Th1 frente a antígenos derivados de células cerebrales. En la diabetes mellitus de tipo 1 (juvenil), las células beta productoras de insulina son destruidas por células Th1 activas contra los antígenos de las células pancreáticas. Además, muchas enfermedades autoinmunitarias están causadas por **autoanticuerpos**, inmunoglobulinas que interaccionan con antígenos propios.

En muchos casos, los anticuerpos interaccionan con antígenos específicos de un órgano. Por ejemplo, en *la enfermedad de Hashimoto* se producen autoanticuerpos contra la tiroglobulina, un producto de la glándula tiroidea. En este caso, los anticuerpos anti-tiroglobulina se unen al complemento, lo que provoca una inflamación local y la destrucción de las células del tiroides y su función, un rasgo característico de una enfermedad de hipersensibilidad de tipo II (Tabla 24.6).

El *lupus eritematoso sistémico* (LES) es un ejemplo de una enfermedad causada por hipersensibilidad de tipo III. Esta enfermedad y otras similares están causadas por autoanticuerpos dirigidos contra antígenos propios solubles circulantes. En el LES, dichos antígenos comprenden nucleoproteínas y DNA. Los anticuerpos se unen a proteínas solubles y producen inmunocomplejos insolubles. La enfermedad aparece cuando los complejos antígeno–anticuerpo se depositan en los tejidos de diferentes órganos, como los riñones, los pulmones o el bazo, donde activan el complemento produciendo inflamación y daño celular localizado, a menudo grave. Por tanto, la hipersensibilidad de tipo III es un trastorno inmunitario complejo (Tabla 24.5).

Las enfermedades autoinmunitarias específicas de órgano son a veces más fáciles de controlar clínicamente que las enfermedades que afectan a múltiples órganos. Por ejemplo, el producto de la función de un órgano, como la tiroxina en el hipotiroidismo autoinmunitario, o la insulina en la diabetes mellitus tipo 1, puede suministrarse en forma pura, de otro origen. El LES, la artritis reumatoide y otras enfermedades autoinmunitarias que afectan a múltiples órganos y lugares del cuerpo a menudo solo pueden ser controladas mediante terapia inmunosupresora, como el uso de fármacos esteroides. Sin embargo, la inmunosupresión general aumenta significativamente las posibilidades de padecer infecciones por patógenos oportunistas.

La incidencia, el tipo y la gravedad de las enfermedades autoinmunitarias tienen carácter hereditario. Muchas de ellas

Tabla 24.6 Enfermedades autoinmunitarias humanas

Enfermedad	*Órgano o zona afectada*	*Mecanismo (tipo de hipersensibilidad)*[a]
Diabetes juvenil (dependiente de insulina, diabetes mellitus)	Páncreas	Inmunidad mediada por células y autoanticuerpos contra antígenos de superficie y del citoplasma de los islotes de Langerhans (II y IV)
Miastenia grave	Músculo esquelético	Autoanticuerpos contra los receptores de acetilcolina en el músculo esquelético (II)
Síndrome de Goodpasture	Riñón	Autoanticuerpos contrala membrana basal de los glomérulos renales (II)
Artritis reumatoide	Cartílago	Autoanticuerpos anticuerpos IgG propios, que forman complejos que se depositan en las articulaciones, causando inflamación y destrucción del cartílago (III)
Tiroidits de Hashimoto (hipotiroidismo)	Tiroides	Autoanticuerpos contra antígenos de superficie del tiroides (II)
Esterilidad masculina (algunos casos)	Espermatozoides	Autoanticuerpos que aglutinan los espermatozoides del hospedador (II)
Anemia perniciosa	Factor intrínseco	Autoanticuerpos que impiden la absorción de la vitamina B12 (III)
Lupus eritematoso sistémico (LES)	DNA, cardiolipina, nucleoproteínas, proteínas de coagulación sanguínea	La respuesta de autoanticuerpos contra varios constituyentes celulares ocasiona la formación de inmunocomplejos (III)
Enfermedad de Addison	Glándulas suprarrenales	Autoanticuerpos contra antígenos de las células suprarrenales (II)
Encefalitis alérgica	Cerebro	Respuesta mediada por células contra tejido cerebral (IV)
Esclerosis múltiple	Cerebro	Respuesta mediada por células y de autoanticuerpos contra el sistema nervioso central (II y IV)

[a] Véase Tabla 24.5

se correlacionan positivamente con la presencia de determinadas proteínas de MHC (↬ Sección 25.4). Algunos estudios de enfermedades autoinmunitarias en modelos murinos apoyan la existencia de una base genética, pero las condiciones exactas que son necesarias para el desarrollo de la autoinmunidad también pueden depender de factores como infecciones previas, sexo, edad y estado de salud. Las mujeres, por ejemplo, son veinte veces más propensas a desarrollar LES que los hombres.

MINIRREVISIÓN

- Indique las diferencias entre hipersensibilidad inmediata y retardada con respecto a los antígenos y los efectores inmunitarios.
- Dé ejemplos y explique los mecanismos de una enfermedad autoinmunitaria mediada por anticuerpos dirigidos contra un órgano específico y de otra en la que intervengan complejos inmunitarios circulantes.

24.9 Superantígenos: sobreactivación de los linfocitos T

En el Capítulo 23 estudiamos los mecanismos de acción de diferentes toxinas bacterianas. La mayoría de las toxinas interaccionan directamente con las células hospedadoras para dañar los tejidos. Las endotoxinas, por ejemplo, lo hacen directamente con muchos tipos de células, causando la liberación de pirógenos endógenos y otros mediadores solubles, produciendo fiebre e inflamación general (Sección 24.5). La mayoría de las exotoxinas también interaccionan directamente con las células para causarles daño. Sin embargo, ciertas exotoxinas, los superantígenos, actúan indirectamente sobre las células hospedadoras alterando el sistema inmunitario de manera que las células (o linfocitos) T y las citocinas liberadas por dichas células dañen a las del hospedador (**Figura 24.20**).

Los **superantígenos** son proteínas capaces de provocar una respuesta inmunitaria muy intensa porque activan más células T de lo normal. Esto ocurre porque los superantígenos interaccionan directamente con los TCR y las proteínas del MHC (**Figura 24.21**). Están producidos por muchos virus y bacterias.



CDC-PHIL

Figura 24.20 Síndrome del choque tóxico. La persona muestra la denominada «lengua de fresa», un síntoma del síndrome de choque tóxico causado por un superantígeno de *Staphylococcus aureus*.

UNIDAD 5

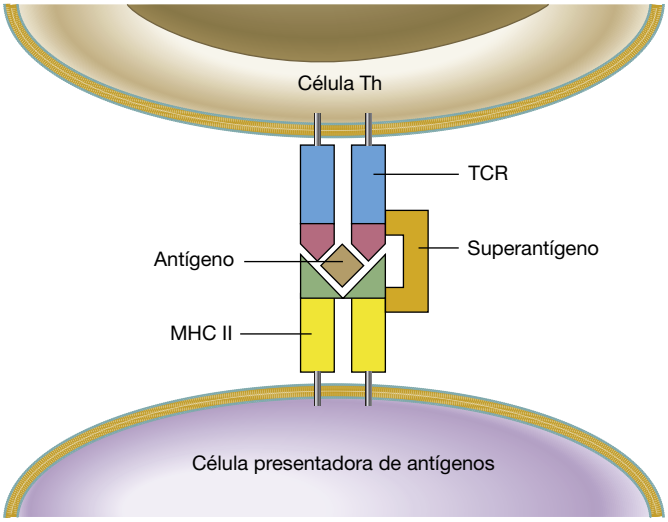


Figura 24.21 Superantígenos. Los superantígenos se unen a regiones conservadas de las proteínas MHC y del TCR fuera del sitio de unión normal. Los superantígenos interaccionan con un gran número de células T, provocando la activación a gran escala de células T, con la subsiguiente liberación de citocinas e inflamación sistémica.

Por ejemplo, algunos estreptococos y estafilococos producen varios superantígenos muy potentes (↪ Secciones 29.2 y 29.9).

Como se muestra en la Figura 24.5, las interacciones entre los superantígenos con los TCR se diferencian de la unión de los antígenos convencionales con TCR. Los antígenos convencionales son presentados por una proteína MHC y se unen al TCR en un sitio de unión al antígeno definido. En cambio, los superantígenos se unen fuera de este sitio. Por ello, un determinado superantígeno se puede unir a todos los TCR que tiene una estructura común y muchos TCR comparten la misma estructura fuera del sitio de unión al antígeno. En algunos casos, los superantígenos pueden unirse al 5–25 % de los linfocitos, mientras que, en una respuesta inmunitaria típica, un antígeno convencional se une a menos del 0,01 % de las células T disponibles. Los superantígenos se unen también a las moléculas MHC II de las APC fuera del sitio normal de unión al péptido. Estas interacciones imitan la presentación de antígeno convencional y estimulan a un gran número de linfocitos T a crecer y dividirse. Como en las respuestas normales, las células T activadas producen citocinas que estimulan otras células, como macrófagos y otros fagocitos. La abundante producción de citocinas resultante de la gran proporción de las células T activadas por un superantígeno desencadena una respuesta generalizada mediada por células caracterizada por reacciones inflamatorias sistémicas y que causa fiebre, diarrea, vómitos, producción de mucosidad e incluso un choque sistémico que puede ser letal en casos extremos. Clínicamente, el choque producido por superantígenos no se distingue del choque séptico (véase Sección 24.5).

Una enfermedad relativamente común de este tipo es la intoxicación alimentaria por *Staphylococcus aureus*, que se caracteriza por fiebre, vómitos y diarrea, y que está causada por alguna de las varias enterotoxinas estafilocócicas, que son superantígenos. *Staphylococcus aureus* también produce el superantígeno que causa el *síndrome de choque tóxico* (Figura 24.20). *Streptococcus pyogenes* produce la toxina eritrogénica, que es el superantígeno que causa la escarlatina (↪ Sección 29.2).

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué diferencias existen entre la activación normal y la activación por superantígeno de las células T?
- ¿Cuál es el sitio de unión para superantígenos de las células T y en las APC?

IDEAS PRINCIPALES

24.1 • Las células que intervienen en la inmunidad innata y en la adaptativa se originan a partir de células madre de la médula ósea. Los sistemas sanguíneo y linfático transportan células y proteínas importantes en la respuesta inmunitaria. Hay distintos tipos de leucocitos que participan en la respuesta inmunitaria en todas las partes del cuerpo.

24.2 • La inmunidad innata es una respuesta protectora natural a la infección que se caracteriza por el reconocimiento, en los patógenos, de patrones moleculares comunes asociados a patógenos. Los fagocitos reconocen estos patrones a través de receptores de reconocimiento de patógenos constitutivos, y el proceso de reconocimento e interacción estimulan en los fagocitos la destrucción de los patógenos.

24.3 • La inmunidad adaptativa se induce por las interacciones específicas de las células T con antígenos presentados por las células presentadoras de antígeno (APC). Los antígenos peptídicos embebidos en las proteínas del MHC son presentados a las células T, que matan directamente las células diana portadoras del antígeno. Las células Th actúan mediante citocinas para promover otras reacciones inmunitarias. Las Th1 inician la inflamación y la inmunidad mediante la activación de los macrófagos.

24.4 • Las células Th2 estimulan las células B que han sido expuestas al antígeno para diferenciarse en células plasmáticas, que producen anticuerpos. Los anticuerpos son proteínas solubles que interaccionan con antígenos específicos y proporcionan dianas para la interacción con las proteínas del sistema del complemento, ocasionando la destrucción de los antígenos a través de lisis o de opsonización.

24.5 • La inflamación, caracterizada por dolor, hinchazón (edema), enrojecimiento (eritema) y calor, es un resultado

normal y generalmente conveniente debido a la activación de efectores no específicos de la respuesta inmunitaria. La inflamación sistémica no controlada, llamada choque séptico, puede provocar una enfermedad grave y la muerte.

24.6 • La inmunidad adaptativa se desarrolla de manera natural y de forma activa a través de las respuestas inmunitarias a las infecciones o de forma pasiva mediante la transferencia de anticuerpos a través de la placenta o de la leche materna. La incapacidad de generar una respuesta inmunitaria innata o adaptativa ocasiona infecciones recurrentes e incontrolables. La inmunidad artificial pasiva se produce cuando se transfieren anticuerpos o células inmunitarias de un individuo inmune a un individuo no inmune. La vacunación induce la inmunidad artificial activa y se utiliza frecuentemente para prevenir enfermedades infecciosas. Las vacunas son patógenos atenuados o desactivados o productos de patógenos, o antígenos diseñados genéticamente.

24.7 • Las estrategias de vacunación que emplean moléculas diseñadas por bioingeniería eliminan la exposición a los microorganismos y, en algunos casos, incluso a la molécula completa del antígeno. La aplicación de estas estrategias está proporcionando vacunas más seguras dirigidas a antígenos individuales de patógenos.

24.8 • La hipersensibilidad es la inducción por antígenos extraños de respuestas inmunitarias mediadas por anticuerpos o por células, que dañan tejidos del hospedador. En la autoinmunidad, la respuesta inmunitaria se dirige contra antígenos propios. El daño está causado por la inflamación ocasionada por los mecanismos inmunitarios.

24.9 • Los superantígenos son componentes de ciertos patógenos bacterianos o víricos que se unen y activan un gran número de células T. Estas células T activadas por superantígenos pueden producir enfermedades caracterizadas por reacciones inflamatorias sistémicas.

MasteringMicrobiology®

Revise lo que sabe y descubra lo que ha aprendido con MasteringMicrobiology. Acceda a material de estudio, revisiones de los capítulos, animaciones y tutoriales de microbiología práctica en el Área de Estudio y asegúrese de que ha asimilado todo el contenido de este capítulo.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Anticuerpo: proteína soluble producida por células B y células plasmáticas que interacciona con el antígeno; también se denomina inmunoglobulina.

Antígeno: molécula que interacciona con los componentes específicos del sistema inmunitario.

Autoanticuerpo: anticuerpo que reacciona frente a antígenos propios.

Autoinmunidad: reacción inmunitaria dañina dirigida contra antígenos propios.

Célula B (o **linfocito B**): linfocito que tiene receptores de superficie de inmunoglobulina, que produce inmunoglobulinas y que puede presentar antígenos a las células T.

Célula dendrítica: células fagocíticas presentadoras de antígeno que se encuentran en diversos tejidos del cuerpo; transportan el antígeno a los órganos linfoides secundarios.

Célula madre: célula progenitora que puede convertirse en otros tipos celulares.

Célula plasmática: célula B diferenciada que produce anticuerpos solubles.

Célula presentadora de antígenos (APC): macrófago, célula dendrítica, o célula B que capta y procesa el antígeno y lo presenta a las células T-colaboradoras (Th).

Célula T (o **linfocito T**): linfocito que interacciona con antígenos a través de un receptor de antígeno de tipo T (TCR); las células T se dividen en subconjuntos funcionales que comprenden células Tc (T citotóxicos) y células Th (T colaboradoras). Las células Th se subdividen en células Th1 (inflamatorias) y células Th2, que ayudan a las células B en la formación de anticuerpos.

Citoquina: proteína soluble producida por un leucocito que modula una respuesta inmunitaria.

Clon: copia de un único linfocito que ha respondido a un antígeno.

Complejo principal de histocompatibilidad (MHC): región genética que codifica varias proteínas importantes en el procesamiento y presentación de antígenos. Las proteínas MHC I se expresan en todas las células. Las proteínas MHC II se expresan solo en las células presentadoras de antígeno.

Especificidad: capacidad de la respuesta inmunitaria de interaccionar con antígenos concretos.

Fagocito: célula que atrapa partículas extrañas y es capaz de ingerir, matar y digerir la mayoría de los patógenos.

Hipersensibilidad: respuesta inmunitaria que provoca daño en los tejidos del hospedador.

Hipersensibilidad de tipo retardado (DTH): respuesta alérgica inflamatoria mediada por linfocitos Th1.

Hipersensibilidad inmediata: respuesta alérgica rápida mediada por productos vasoactivos liberados por mastocitos sensibilizados por IgE.

Inflamación: reacción no específica frente a estímulos nocivos, como toxinas y patógenos, caracterizada por enrojecimiento (eritema), hinchazón (edema), calor (fiebre) y dolor, normalmente limitada al sitio de la infección.

Inmunidad: capacidad de un organismo para resistir una infección.

Inmunidad adaptativa: capacidad adquirida de reconocer y destruir un patógeno concreto o sus productos, que depende de la exposición previa al patógeno o a sus productos; también se denomina inmunidad específica e inmunidad específica de antígeno.

Inmunidad innata: capacidad no inducible de reconocer y destruir un patógeno individual o sus productos que no necesita una exposición previa al patógeno o sus productos; también llamada inmunidad inespecífica.

Inmunoglobulinas (Ig): proteínas solubles producidas por las células B y las

células plasmáticas que interaccionan con el antígeno; también se llaman anticuerpos.

Leucocito: célula nucleada de la sangre; también llamado glóbulo blanco.

Linfa fluido que circula a través del sistema linfático; como la sangre, pero carece de eritrocitos.

Linfocitos: subconjunto de células con núcleo de la sangre que intervienen en la respuesta inmunitaria adaptativa.

Macrófago: leucocito de gran tamaño que se encuentra en los tejidos y tiene capacidades fagocítica y de presentación de antígenos.

Médula ósea: órgano linfoide primario que contiene células pluripotentes precursoras de todas las células sanguíneas e inmunitarias.

Memoria (memoria inmunitaria): capacidad de producir rápidamente grandes cantidades de células inmunitarias o anticuerpos específicos después de la exposición a un antígeno frente al que ha habido una exposición previa.

Neutrófilo: leucocito con propiedades fagocíticas, citoplasma granular (granulocito), y un núcleo multilobulado; también llamado leucocito polimorfonuclear o PMN.

Nódulos linfáticos: órganos que contienen linfocitos y fagocitos preparados para detectar microorganismos y antígenos a medida que estos viajan por la circulación linfática.

Patrón molecular asociado a patógeno (PAMP): componente estructural repetitivo de un microorganismo o virus que es reconocido por un receptor de reconocimiento de patrones (PRR).

Plasma: porción líquida de la sangre que contiene proteínas y otros solutos.

Órgano linfoide primario: órgano en el que se desarrollan los linfocitos reactivos a antígenos se desarrollan y se hacen funcionales; la médula ósea es el órgano linfoide primario de las células B; el timo es el órgano linfoide primario de células T.

Órgano linfoide secundario: órgano en el que los antígenos interaccionan con los linfocitos y fagocitos y presentadores de antígeno para generar una respuesta inmunitaria adaptativa; comprenden los ganglios linfáticos, el bazo y el tejido linfoide asociado a mucosas (MALT).

Quimiocina: proteína soluble que modula una respuesta inmunitaria.

Receptor de células T (TCR): proteína de la superficie de las células T receptora específica de antígenos.

Receptor de células B (BCR): anticuerpo (inmunoglobulina) de la superficie celular de una célula B que actúa como receptor de antígenos.

Receptor de reconocimiento de patrones (PRR): proteína de membrana de los fagocitos que reconoce un patrón molecular asociado a patógeno (PAMP).

Respuesta inmunitaria adaptativa primaria: producción de anticuerpos o células T inmunitarias en una primera exposición a un antígeno; estos anticuerpos son en su mayoría de la clase IgM.

Respuesta inmunitaria adaptativa secundaria: aumento de la producción de anticuerpos o células T inmunitarias tras la segunda y posteriores exposiciones a un antígeno; estos anticuerpos son en su mayoría de la clase IgG.

Suero: porción líquida de la sangre de la que se han eliminado las proteínas que intervienen en la coagulación.

Superantígeno: producto producido por un patógeno que es capaz de inducir una respuesta inmunitaria inflamatoria intensa e inapropiada, mediante una estimulación exacerbada de las células T.

Tejido linfoide asociado mucosas (MALT): parte del sistema linfático que interacciona con antígenos y microorganismos que entran en el cuerpo a través de membranas mucosas, como las de intestino, el aparato genitourinario, y los tejidos bronquiales.

Timo: órgano linfoide primario en el que se desarrollan las células T.

Tolerancia: incapacidad adquirida para producir una respuesta inmunitaria frente a antígenos concretos.

Toxoide: forma de una toxina que retiene la antigenicidad, pero ha perdido la toxicidad.

Vacuna: patógeno desactivado o atenuado, o producto inofensivo de un patógeno utilizados para inducir inmunidad activa artificial.

Vacunación (inmunización): inoculación a un hospedador de patógenos inactivos o debilitados o de productos de un patógeno para estimular la inmunidad activa protectora.

PREGUNTAS DE REPASO

1. ¿Cuál es el origen de los fagocitos y linfocitos activos en la respuesta inmunitaria? Describa el proceso de maduración de las células B y células T. (Sección 24.1)
2. Indique qué células expresan receptores de reconocimiento de patrones (RRP). ¿Cómo interaccionan los PRR con patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) para estimular la inmunidad innata? (Sección 24.2)
3. Indique los tipos de linfocitos y los receptores específicos de antígeno que intervienen en la inmunidad adaptativa mediada por células. (Sección 24.3)
4. Indique qué linfocitos y receptores de antígenos específicos intervienen en la inmunidad adaptativa mediada por anticuerpos. (Sección 24.4)
5. ¿Qué células inician la inflamación y cuáles se activan por señales inflamatorias? (Sección 24.5)
6. Indique las vacunas recomendadas para adultos en los Estados Unidos. (Sección 24.6)
7. Indique las enfermedades para las que ha recibido inmunización y aquellas para las que es probable que haya adquirido inmunidad natural. (Secciones 24.6 y 24.7)
8. La vacuna acelular *pertussis* utiliza una estrategia biotecnológica adaptada a este caso. ¿Qué ventajas tiene esta vacuna biotecnológica con respecto de una vacuna convencional? ¿Qué inconvenientes, si los hay? (Sección 24.7)
9. Describa las diferencias entre la hipersensibilidad inmediata y la de tipo retardado en cuanto a efectores inmunitarios, tejidos diana, antígenos y resultado clínico. (Sección 24.8)
10. Describa el mecanismo general usado por los superantígenos para activar las células T. ¿En qué se diferencian la activación por superantígenos de la activación por antígenos convencionales? (Sección 24.9)

EJERCICIOS PRÁCTICOS

1. Compare la importancia relativa de la inmunidad innata con la de la inmunidad adaptativa. ¿Es una de ellas más importante que la otra? ¿Podemos sobrevivir en un ambiente normal sin inmunidad?
2. La inflamación es el sello distintivo de una respuesta inmunitaria activa. Explique cómo se desencadena la inflamación por mecanismos inmunitarioss innatos y adaptativos. ¿Son las células inflamatorias las mismas en ambos tipos de activación? ¿Por qué disminuye la inflamación a medida que se controla la infección?
3. Muchas enfermedades infecciosas no tienen vacunas eficaces. Indique varias de estas enfermedades (por ejemplo, el sida, la malaria, el resfriado común) y explique por qué las estrategias de vacunas actuales no han sido eficaces. Proponga alguna estrategia alternativa para la vacunación contra las enfermedades que haya elegido.
4. ¿Son las reacciones superantigénicas beneficiosas para el hospedador? ¿Proporcionan protección al hospedador o benefician al patógeno

CAPÍTULO

25 · Mecanismos inmunitarios

microbiología **actual**

¿Por qué las vacuna llevan alumbre?

El alumbre es una sal insoluble de aluminio que se lleva usando durante más de ochenta años en vacunas humanas. Se trata de un *adyuvante*, una substancia que aumenta la respuesta inmunitaria de forma no específica cuando se administra con una vacuna. Es el único adyuvante que ha sido aprobado para su uso en vacunas humanas. Por ejemplo, la vacuna triple difteria-tétanos-pertussis acelular (DTaP) tiene este adyuvante. ¿Cómo actúa el alumbre?

Es bien sabido que las vacunas administradas sin alumbre no son eficaces y que las proteínas de las vacunas (los antígenos) se adsorben a la superficie de las partículas de alumbre. Igualmente se sabe que, sin alumbre, se estimulan pocas células T colaboradoras y la respuesta inmunitaria es pobre. La explicación que se ha dado a estas observaciones es que el alumbre aumenta la vida media del antígeno en el cuerpo y que, de esta manera, prolonga la exposición del antígeno a las células inmunitarias. Pero, ¿es esto completamente cierto?

Cuando una vacuna se inyecta intramuscularmente (véase la fotografía), los monocitos migran al lugar de la inyección y desencadenan una respuesta inflamatoria. Un estudio[1] ha demostrado que el alumbre se acumula en nódulos que se mantienen unidos por la cromatina del hospedador (incluyendo el ADN) procedente de monocitos inflamatorios. El DNA de la cromatina y las proteínas de la vacuna adsorbidas se desplazan hasta el citosol de las células dendríticas presentadoras de antígeno. De esta manera, el DNA del hospedador activa vías que aumentan la capacidad de las células dendríticas para interaccionar con las células T colaboradoras antígeno-específicas.

Por tanto, el alumbre actúa como adyuvante no solo prolongando el tiempo que el antígeno permanece en el cuerpo, sino también porque potencia la señalización del DNA. Además, promueve una presentación de antígenos por las células dendríticas más vigorosa y una mejor estimulación de las células colaboradoras. El resultado final es una respuesta inmunitaria más eficaz.

[1]McKee, A.M., *et al.* 2013. Host DNA released in response to aluminum adjuvant enhances MHC class II-mediated antigen presentation and prolongs CD4 T-cell interactions with dendritic cells. *Proc. Natl. Acad. Sci*. (*USA*) *110*(12): E1122-1131. doi: 10.1073/pnas.1300392110.



I Mecanismos inmunitarios básicos 818
II Antígenos y presentación de antígenos 821
III Linfocitos T e inmunidad 825
IV Anticuerpos e inmunidad 829

En el Capítulo 24, hemos descrito las características principales de la inmunidad innata y adaptativa en el contexto de la protección contra la infección y la enfermedad. Ahora revisaremos los procesos moleculares y celulares de la inmunidad innata y de la inmunidad adaptativa, los dos grupos de *mecanismos* mediante los cuales se logra la inmunidad.

I • Mecanismos inmunitarios básicos

La *inmunidad innata* es básicamente una función de los *fagocitos*. Las respuestas innatas reconocen características estructurales comunes, internas o superficiales, de los patógenos. Las interacciones con los patógenos activan genes de los fagocitos que controlan la transcripción, traducción y expresión de proteínas que destruyen a los patógenos. Aunque la inmunidad innata se desarrolla inmediatamente cuando un fagocito entra en contacto con un patógeno, puede no ser totalmente eficaz para impedir las infecciones peligrosas. No obstante, algunos fagocitos también activan una respuesta inmunitaria adaptativa enviando antígenos hacia los receptores de los linfocitos. Estos últimos son los efectores de la *inmunidad adaptativa*, que es la capacidad adquirida de reconocer y destruir a un patógeno determinado o sus productos. La interacción entre el patógeno y el receptor activa los linfocitos que producen proteínas específicas contra el patógeno —anticuerpos y receptores de las células T—, que son los efectores de la inmunidad adaptativa. Esta respuesta adaptativa necesita varios días para desarrollarse, pues al comienzo solo hay disponible un número reducido de linfocitos reactivos al patógeno; la respuesta adaptativa se va intensificando a medida que dichos linfocitos se multiplican. Las células que participan en la respuesta innata y adaptativa se han descrito en la Sección 24.1.

25.1 Mecanismos de respuesta innata

En ocasiones, los patógenos superan las barreras físicas y químicas del organismo y consiguen infectar al hospedador. Entonces se activa el sistema inmunitario para proteger al hospedador de posibles daños. La inmunidad innata representa la primera línea de defensa cuando se inicia la infección y es crítica para proteger al hospedador durante unos cuatro días tras el comienzo de la infección (↻ Sección 24.5).

Fagocitos

Normalmente, el primer tipo de célula activo en la respuesta inmunitaria innata es un *fagocito* (literalmente, «célula que come»). Su función principal es ingerir patógenos y destruirlos. Una función secundaria de ciertos fagocitos es procesar los antígenos del patógeno que inician la respuesta inmunitaria adaptativa.

Los fagocitos comprenden los monocitos, los neutrófilos, los macrófagos y las células dendríticas (**Figura 25.1**). Presentes en los tejidos y fluidos de todo el cuerpo, la mayoría tienen inclusiones vacuolares, llamadas *lisosomas*, que contienen substancias bactericidas como peróxido de hidrógeno, lisozima, proteasas, fosfatasas, nucleasas y lipasas. Los fagocitos capturan los patógenos sobre superficies como las paredes de los vasos sanguíneos o los coágulos de fibrina. La zona de la membrana en contacto con el patógeno que lo rodea y se cierra hacia el interior forma un *fagosoma* o una vacuola que contiene el patógeno y que se mueve a través del citoplasma para fusionarse con un lisosoma y generar un fagolisosoma. Habitualmente, las substancias tóxicas y los enzimas presentes en el fagolisosoma mata la célula microbiana atrapada y la digieren (**Figura 25.2**).

Los *neutrófilos* son fagocitos muy activos y móviles que contienen lisosomas (Figura 25.1*a*), que derivan de las células madre mieloides (↻ Figura 24.1). Los neutrófilos se encuentran sobre todo en el torrente circulatorio y en la médula ósea, desde donde migran a los sitios de los tejidos donde tiene lugar

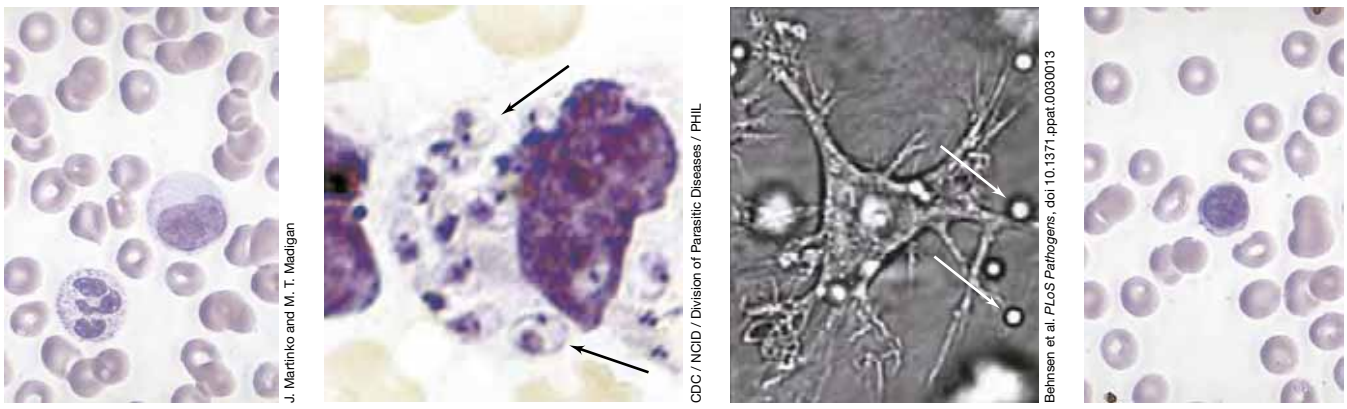


Figura 25.1 Principales tipos de células del sistema inmunitario. *(a)* La célula nucleada en la parte inferior izquierda es un neutrófilo (leucocito polimorfonuclear, PMN), caracterizado por un núcleo segmentado (tinción violeta) y un citoplasma granuloso. La célula nucleada que aparece algo más arriba y a la derecha del neutrófilo es un monocito. Estos fagocitos tienen de 12-15 μm de diámetro y las células no nucleadas (hematíes) más abundantes unos 6 μm de diámetro. *(b)* Un macrófago epitelial que ha ingerido un buen número de células de *Leishmania* (flechas), un protozoo. *(c)* Una célula dendrítica interaccionando con conidios fúngicos (flechas). *(d)* La célula nucleada es un linfocito circulante. Tiene unos 10 μm de diámetro y casi no presenta citoplasma.

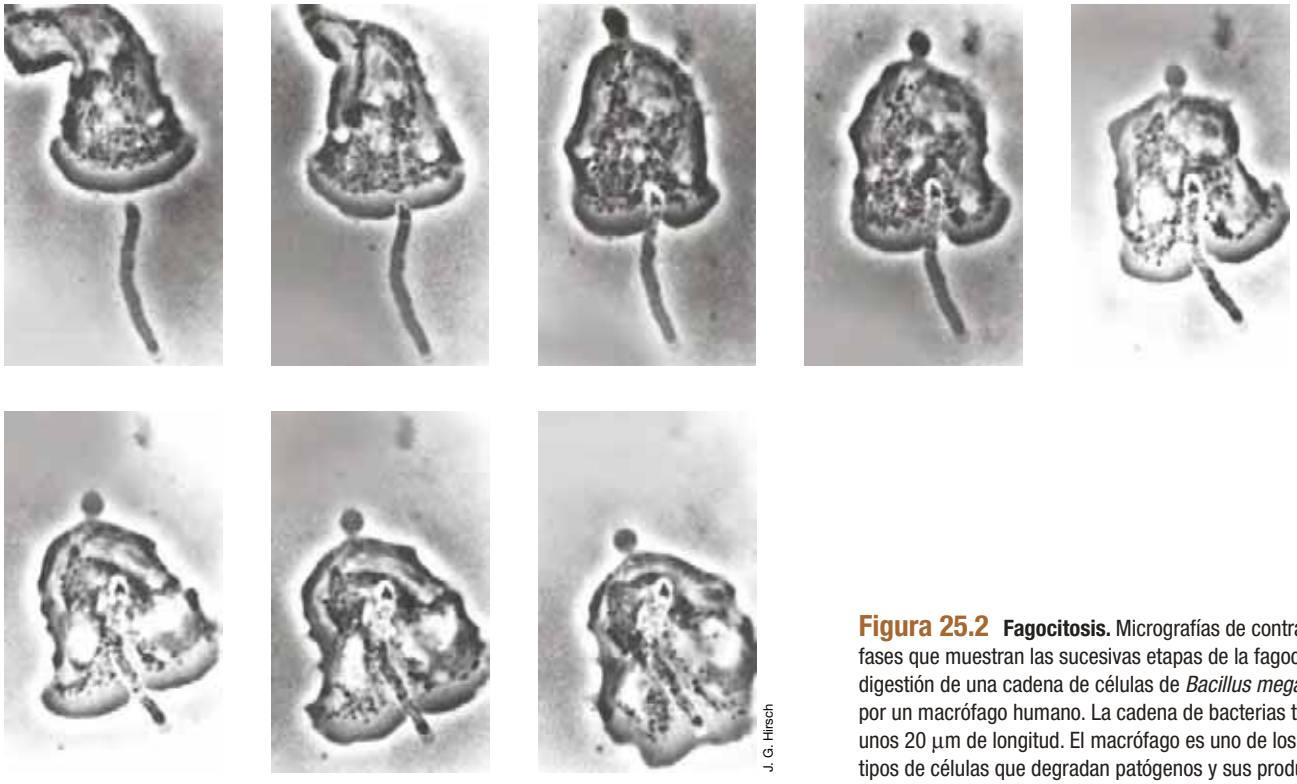


Figura 25.2 Fagocitosis. Micrografías de contraste de fases que muestran las sucesivas etapas de la fagocitosis y digestión de una cadena de células de *Bacillus megaterium* por un macrófago humano. La cadena de bacterias tiene unos 20 μm de longitud. El macrófago es uno de los varios tipos de células que degradan patógenos y sus productos.

una infección. Su presencia en un número mayor del normal en la sangre (una *neutrofilia*) o en un punto de inflamación indica una respuesta activa a una infección.

Los monocitos son precursores circulantes de los *macrófagos*, otro de los tipos principales de fagocitos (Figura 25.1*a*). Los macrófagos son células grandes fagocíticas, no circulantes, que se encuentran en casi todos los tejidos (Figura 25.1*b*), donde pueden constituir hasta el 10-15 % del total de las células. Debido a que ingieren y destruyen la mayoría de los patógenos y moléculas extrañas que invaden el cuerpo, los macrófagos son esenciales en la respuesta inmunitaria innata. Además, al presentar antígenos a los linfocitos T, desempeñan un papel crítico en la iniciación de la inmunidad adaptativa.

Las células dendríticas (Figura 25.1*c*) tienen también la doble función de fagocitar y presentar antígenos. Como los macrófagos, proceden de los monocitos y, como células dendríticas inmaduras, se encuentran en todos los tejidos, donde actúan como fagocitos activos. Cuando ingieren un antígeno, migran a los ganglios linfáticos, donde presentan el antígeno a los linfocitos T. Las funciones especializadas de los macrófagos y células dendríticas en la presentación de antígenos se describen en la Sección 25.4.

Reconocimiento de los patógenos por los fagocitos

Los fagocitos tienen un sistema de reconocimiento de patógenos que desencadena una respuesta oportuna y apropiada que generalmente conduce al reconocimiento, bloqueo y destrucción del patógeno. Este sistema, que se ha conservado a lo largo de la evolución, emplea *receptores de reconocimiento de patrones* (*PRR, del inglés pattern recognition receptors*). Los PRR son proteínas de la membrana de los fagocitos e identifican *patrones moleculares asociados a patógenos* (PAMP, del inglés *pathogen-associated molecular pattern*), que son componentes estructurales de las células microbianas o virus (↻ Figura 24.3). Los PRR se observaron por primera vez en *Drosophila*, la mosca del vinagre, en la que se denominan **receptores Toll** y de ahí su nombre genérico de TLR (del inglés *Toll-like receptors* o receptores tipo Toll). Existen varios tipos y cada uno reconoce un determinado PAMP. Por ejemplo, el TLR-2 de los fagocitos humanos interaccionan con el péptidoglicano, un PAMP presente en las paredes celulares de casi todas las bacterias (↻ Sección 2.10); esta interacción activa los fagocitos, que se dirigen a las bacterias grampositivas que tienen el peptidoglicano expuesto (**Figura 25.3**). En las bacterias gramnegativas, el acceso al peptidoglicano de la pared celular está bloqueado por los lipopolisacáridos de la superficie. Hay TLR que reconocen otros PAMP, como el propio lipopolisacárido de las bacterias gramnegativas, oligonucleótidos portadores de CpG no metilado o el RNA bicatenario de ciertos virus. Por otro lado, existen en el hospedador moléculas solubles que funcionan como estos PRR de los fagocitos. Más delante en este capítulo, revisaremos estos PRR solubles en el contexto de su capacidad para activar proteínas que aumentan la fagocitosis y la destrucción de los patógenos (Sección 25.9). La interacción PAMP-PRR desencadena una señal transmembrana que ocasiona la producción de proteínas de defensa importantes, como algunas que catalizan la generación de formas tóxicas del oxígeno que pueden causar la muerte del patógeno.

Sistemas microbicidas dependientes de oxígeno de los fagocitos

La transcripción de los genes que controlan la producción de compuestos tóxicos derivados del oxígeno es muy alta en los fagocitos activados. Tales compuestos comprenden peróxido de hidrógeno (H_2O_2), anión superóxido (O_2^-), radical hidroxilo (OH•), singlete de oxígeno ($^1O_2$), ácido hipocloroso (HOCl) y

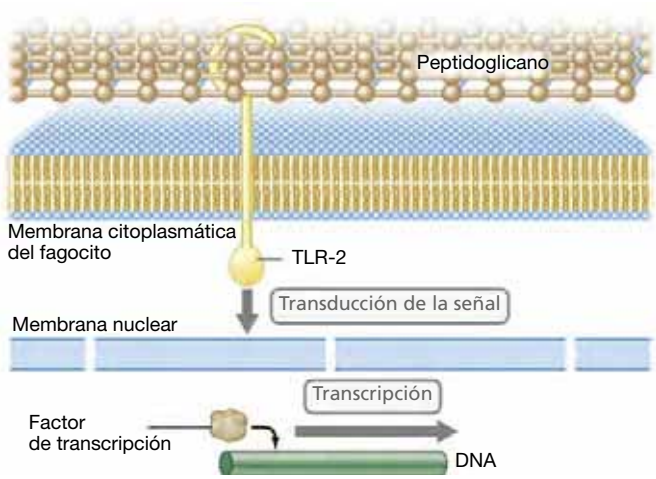


Figura 25.3 Receptor de tipo Toll. El peptidoglicano de los patógenos grampositivos interacciona con el receptor TLR-2 que, por medio de su dominio transmembrana, activa una cadena de señales que conduce a la activación de factores de transcripción del nucleo. El resultado final es la producción de proteínas que inducen la inflamación y otras actividades del fagocito. Todos los TLR tienen mecanismos análogos para activar la inmunidad innata.

óxido nítrico (NO) (**Figura 25.4**) (↻ Sección 5.16). La acidez del fagosoma favorece la producción de estos compuestos altamente reactivos y las células fagocíticas los emplean para matar las células bacterianas ingeridas oxidando sus componentes celulares. Estas reacciones dentro del fagocito, que no resulta dañado por los compuestos tóxicos del oxígeno.

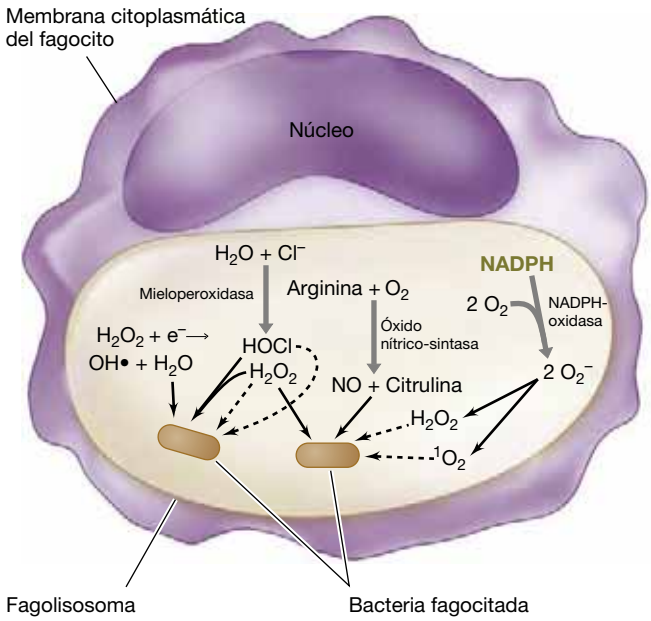


Figura 25.4 Actividad de las enzimas de los fagocitos que generan compuestos tóxicos derivados del oxígeno. Estos compuestos comprenden peróxido de hidrógeno (H_2O_2), radical hidroxilo (OH•), ácido hipocloroso (HOCl), anión superóxido (O_2^-), singlete de oxígeno ($^1O_2$) y óxido nítrico (NO). La formación de estos compuestos tóxicos requiere un gran aumento en la captación y consumo de oxígeno que, en los fagocitos activados, se conoce como «explosión respiratoria».

Inhibición de los fagocitos

Algunos patógenos han desarrollado mecanismos para neutralizar los productos tóxicos de los fagocitos, para causar su muerte o para evitar la fagocitosis. Por ejemplo, *Staphylococcus aureus* produce pigmentos carotenoides que neutralizan el singlete de oxígeno (↻ Sección 29.9). Algunos patógenos intracelulares, como *Mycobacterium tuberculosis* (el agente causal de la tuberculosis) se multiplican y persisten dentro de las células fagocíticas (↻ Sección 29.4). *Mycobacterium tuberculosis* emplea los glicolípidos de su pared celular para amortiguar los radicales hidróxilo y el anión superóxido, las dos especies más letales de compuestos tóxicos derivados del oxígeno que pueden producir los fagocitos.

Algunos patógenos intracelulares sintetizan proteínas letales para los fagocitos, las llamadas *leucocidinas*. En estos casos, aunque el patógeno es ingerido, la leucocidina causa la muerte del fagocito, de forma que el patógeno es liberado. Los fagocitos muertos son una proporción importante del *pus* y organismos como *Streptococcus pyogenes* y *Staphylococcus aureus*, dos productores importantes de leucocidinas, son denominados patógenos *piógenos* (formadores de pus) por esta razón. Las infecciones localizadas producidas por bacterias piógenas pueden formar abscesos y forúnculos.

Otra defensa importante contra la fagocitosis es la cápsula bacteriana (↻ Sección 2.13). Las bacterias capsuladas son a menudo muy resistentes a la fagocitosis, pues la cápsula impide la adherencia del fagocito a la célula bacteriana. Por ejemplo, mientras que menos de diez células de una cepa encapsulada de *Streptococcus pneumoniae* es suficiente para matar un ratón en unos pocos días tras la infección (↻ Figura 23.10), las cepas no capsuladas son completamente avirulentas. Además, existen otros componentes de la superficie de las bacterias que pueden inhibir su fagocitosis. Es lo que hace la proteína M de *S. pyogenes*, que altera la superficie de este patógeno.

Los anticuerpos o ciertos PRR solubles que interaccionan con cápsulas u otras moléculas de la superficie de la célula pueden neutralizar el efecto protector de los mecanismos de defensa del patógeno y favorecer la fagocitosis, un proceso este último llamado opsonización. Como ejemplo, la vacuna contra *Streptococcus pneumoniae*, un organismo que causa una grave neumonía bacteriana, usa los polisacáridos de la cápsula para estimular la producción de anticuerpos protectores (↻ Sección 24.7).

MINIRREVISIÓN

- Describa la localización celular y la especificidad molecular de los PAMP y PRR.
- Identifique el mecanismo empleado por los fagocitos para causar la muerte de los patógenos.

25.2 Propiedades de la respuesta adaptativa

La inmunidad adaptativa es la capacidad adquirida de reconocer y destruir un patógeno concreto, o sus productos. Al contrario que la inmunidad innata, la adaptativa requiere una activación por exposición al patógeno. Los linfocitos B producen

anticuerpos, que protegen frente a antígenos extracelulares. Los T, mediante sus receptores de células T (TCR, del inglés *T cell receptor*), protegen frente a patógenos intracelulares como los virus y algunas bacterias. La inmunidad adaptativa se caracteriza por tres propiedades, *especificidad*, *memoria* y *tolerancia*, ninguna de las cuales está presente en la respuesta innata.

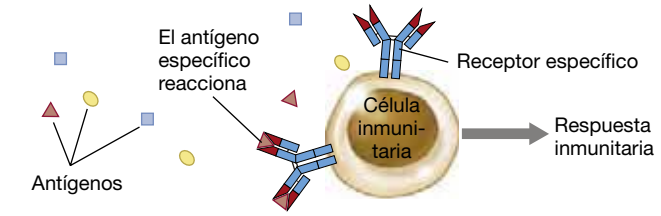
Especificidad

Si bien la respuesta inmunitaria es específica siempre, los sistemas de inmunidad innata y de inmunidad adaptativa difieren en este aspecto. La primera identifica motivos estructurales comunes a todos los patógenos, como los del peptidoglicano o del lipopolisacárido de todas las bacterias gramnegativas. En cambio, la inmunidad adaptativa puede identificar macromoléculas específicas de un patógeno concreto, como la proteína antigénica M de una cepa particular de *Streptococcus pyogenes* (↻ Sección 29.2.). La *especificidad* de la interacción antígeno-anticuerpo o antígeno-TCR depende de la capacidad del receptor correspondiente para interaccionar con este antígeno concreto y, por tanto y a diferencia del sistema inmunitario innato, la respuesta adaptativa desencadenada por el contacto con el antígeno se dirige exclusiva y específicamente contra ese antígeno (**Figura 25.5*a***).

Memoria y tolerancia

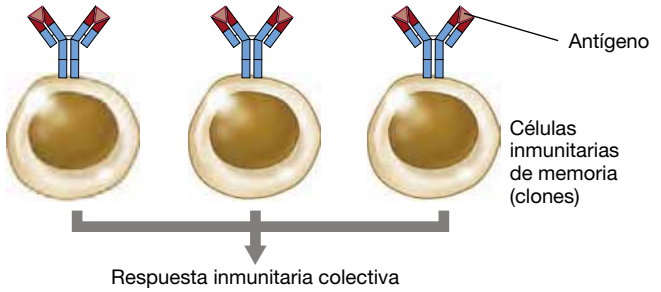
El sistema inmunitario debe entrar en contacto con un antígeno para estimular la producción de anticuerpos y TCR en cantidades eficaces y detectables. La repetición de la exposición al mismo antígeno estimula una producción rápida de grandes cantidades de los mismos anticuerpos y células T. Esta capacidad de responder con más prontitud e intensidad a exposiciones subsiguientes del mismo antígeno es la *memoria inmunitaria* (Figura 25.5*b*), que proporciona al hospedador una resistencia inmediata frente a patógenos con los que ha habido un contacto previo. En medicina clínica se aprovecha esta característica para vacunar a los individuos susceptibles empleando patógenos muertos o atenuados, o sus productos, estimulando y aumentando así artificialmente la inmunidad frente a una serie de patógenos (↻ Sección 24.7).

Además de la importancia de la especificidad y la memoria, la *tolerancia* es un aspecto crítico del sistema inmunitario y se define como la *incapacidad*, también adquirida, de producir una respuesta inmunitaria adaptativa frente a los antígenos *propios*. Dado que las macromoléculas del huésped son también antígenos, el sistema inmunitario tiene que evitar reconocerlas, pues, de serlo, podrían resultar dañadas por los anticuerpos o por las células T. Por tanto, la respuesta adaptativa debe desarrollar la capacidad de discriminar los antígenos *propios* (no peligrosos) del hospedador de los *no propios* (ajenos y peligrosos) (Figura 25.5*c*).



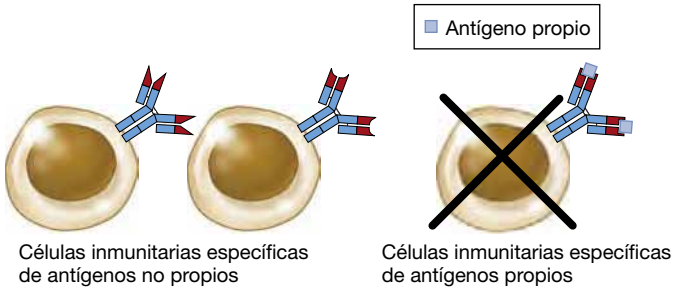
Especificidad: las células inmunitarias poseen receptores de superficie que interaccionan con antígenos individuales.

(a)



Memoria: la primera exposición al antígeno induce la multiplicación de las células reactivas al antígeno, que producen muchas copias o clones. Debido a este mayor número de células específicas, las exposiciones posteriores al mismo antígeno desencadenan una respuesta más rápida e intensa.

(b)



Tolerancia: Las células inmunitarias no reaccionan con los antígenos del propio huésped. Las células autorreactivas son destruidas durante el desarrollo de la respuesta inmunitaria.

(c)

Figura 25.5 La respuesta inmunitaria adaptativa. Las características principales de la inmunidad mediada por anticuerpos y por células son *(a)* especificidad, *(b)* memoria y *(c)* tolerancia.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué controla la especificidad de una célula inmunitaria?
- Indique las diferencias entre memoria y tolerancia inmunitarias.
- En caso de resultar dañadas la especificidad, la memoria o la tolerancia inmunitarias, ¿cuál sería el resultado para el hospedador?

II • Antígenos y presentación de antígenos

La respuesta inmunitaria adaptativa reconoce una gran variedad de macromoléculas derivadas de los patógenos. Estas macromoléculas son degradadas y procesadas por las células del hospedador para producir antígenos que después son presentados a las células T. Describiremos primero los antígenos y, a continuación, nos centraremos en los mecanismos de su procesamiento y presentación a las células T.

25.3 Inmunógenos y antígenos

Los **antígenos** son compuestos que reaccionan con anticuerpos o con TCR. La mayoría, pero no todos, son **inmunógenos**, es decir, que inducen una respuesta inmunitaria. En esta sección examinaremos las características necesarias para la inmunogenicidad y, a continuación, las de los antígenos que estimulan las interacciones con los anticuerpos y los TCR.

Propiedades intrínsecas de los inmunógenos

Los inmunógenos comparten varias características intrínsecas que los capacitan para inducir respuestas inmunitarias adaptativas. En primer lugar, el *tamaño molecular*, ya que para que una molécula sea inmunógena, debe ser suficientemente grande. Por ejemplo, los compuestos de bajo peso molecular llamados genéricamente *haptenos* no inducen respuestas inmunitarias, si bien pueden unirse a anticuerpos. Sin embargo, dado que los anticuerpos se unen a ellos, los haptenos son antígenos aunque no sean inmunógenos. Haptenos como azúcares, aminoácidos u otros compuestos orgánicos de bajo peso molecular resultan inmunógenos eficaces solo cuando se unen a una proteína grande, generalmente de un peso molecular igual o superior a 10.000. Por tanto, un requisito previo de la inmunogenicidad es un peso molecular suficiente. Esta y otras propiedades clave que se comentan a continuación están resumidas en la Tabla 25.1.

Los polímeros no repetitivos complejos como las proteínas son inmunógenos eficaces. Los carbohidratos complejos pueden asimismo ser excelentes inmunógenos. En cambio, los ácidos nucleicos, los polisacáridos sencillos con unidades repetitivas y los lípidos suelen ser inmunógenos débiles, pues están compuestos de cadenas de monómeros idénticos o casi idénticos. Por tanto, otra característica de la inmunogenicidad es un grado de *complejidad molecular suficiente*.

Las macromoléculas complejas, de gran tamaño, en forma agregada o insoluble (por ejemplo, proteínas precipitadas por desnaturalización por calor) son habitualmente excelentes inmunógenos. Mientras que los materiales insolubles son capturados fácilmente por los fagocitos, desencadenando una respuesta inmunitaria adaptativa, la forma soluble de la misma molécula puede ser poco inmunógena por no ser ingerida eficazmente por los fagocitos. Por tanto, una *forma física apropiada* es otra característica de la inmunogenicidad.

Tabla 25.1 Propiedades de los inmunógenos

Propiedades intrínsecas *al inmunógeno*	
Tamaño	> 10.000 de peso molecular
Complejidad	Polímeros > monómeros
Forma	Agregado > soluble
Propiedades extrínsecas *al inmunógeno*	
Dosis	10 µg a 1 g
Vía	Intravenosa, intradérmica, subcutánea o intramuscular > oral o tópica
Extraño al hospedador	No propio >> propio

Propiedades extrínsecas de los inmunógenos

Aunque muchas substancias son intrínsecamente inmunógenas, algunos factores extrínsecos también influyen. Los tres factores más importantes son la *dosis*, la *vía* de administración y el que el inmunógeno sea *no propio* (ajeno al hospedador).

Si bien hay un margen amplio de dosis dentro del cual se obtiene habitualmente una inmunidad satisfactoria, la dosis de un inmunógeno que se administra a un hospedador puede ser importante para que la respuesta inmunitaria sea eficaz. En general, dosis entre 10 µg y 1 g son eficaces en la mayoría de los mamíferos. Dosis menores o mayores podrían no estimular la respuesta inmunitaria e incluso suprimirla o inducir tolerancia.

Igualmente importante es la vía de administración. Las vías parenterales (no gastrointestinales), normalmente por inyección, son habitualmente más eficaces que las tópicas (contacto con la piel) u orales. Cuando los antígenos se administran por vía tópica u oral, pueden sufrir una degradación significativa antes de entrar en contacto con los fagocitos.

Finalmente, un inmunógeno eficaz deber ser extraño al huésped, pues el sistema inmunitario adaptativo solo reconoce y elimina antígenos no-propios porque cada individuo es tolerante con sus propias moléculas (Sección 25.2).

Unión de los antígenos por los anticuerpos y los receptores de las células T

Los anticuerpos o los TCR no interaccionan con la totalidad de la macromolécula antigénica, sino solo con una parte de la misma que denominamos **epítopo** (Figura 25.6). Los epítopos pueden ser azúcares, péptidos cortos y otras moléculas orgánicas.

Los anticuerpos interaccionan con secuencias de cuatro a seis aminoácidos, el tamaño óptimo de un epítopo. Por ello, las proteínas son secuencias de epítopos solapantes, pues muchas contienen cientos o incluso miles de aminoácidos. La superficie de un virus o de una bacteria es un mosaico de proteínas, polisacáridos y otras macromoléculas, todas ellas portadoras de epítopos individuales. En muchos casos, los anticuerpos reconocen *epítopos conformacionales* compuestos, por ejemplo, por aminoácidos de dos secciones distantes en la secuencia primaria

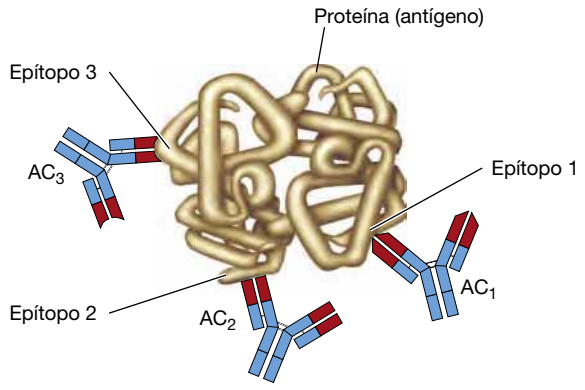


Figura 25.6 Antígenos y epítopos reconocidos por lo anticuerpos. Los antígenos pueden contener varios epítopos diferentes, cada uno capaz de reaccionar con un anticuerpo (AC) distinto. El epítopo 1 reconocido por AC1 es de tipo conformacional y está formado por dos secciones no lineales y distantes del polipéptido que, tras el plegamiento en la proteína nativa, aparecen como adyacentes para formar un solo epítopo.

de la proteína pero que están adyacentes cuando la cadena de la macromolécula se pliega en su estructura secundaria, terciaria o cuaternaria.

Los TCR reconocen epítopos proteínicos únicamente tras la degradación parcial de los inmunógenos, lo que se conoce como su *procesamiento*. El procesamiento de los antígenos destruye la conformación de la macromolécula, rompiendo la proteína en péptidos de menos de veinte aminoácidos. Como resultado, los TCR reconocen solo *epítopos lineales* de la secuencia primaria de la proteína. Los antígenos procesados se presentan a las células T en la superficie de la APC (APC, del inglés *antigen presenting cells*) o células diana especializada, como veremos en la Sección 25.4.

Los anticuerpos, por otro lado, pueden reconocer en proteínas o polisacáridos la conformación nativa de los epítopos en superficies macromoleculares. Además, los anticuerpos pueden reconocer epítopos lineales.

Los anticuerpos y los TCR tienen la capacidad de diferenciar epítopos estructuralmente muy semejantes. Por ejemplo, pueden distinguir entre glucosa y galactosa, dos hexosas que difieren solo en la orientación de un grupo hidroxilo. Sin embargo, la especificidad no es absoluta y un anticuerpo individual o un TCR puede reaccionar en cierta medida con epítopos que guarden una cierta semejanza estructural. El antígeno que induce un anticuerpo o TCR se denomina antígeno *homólogo* y los que no los inducen se denominan *heterólogos*. La reacción positiva entre un anticuerpo o un TCR y un antígeno heterólogo se denomina *reacción cruzada*.

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué se diferencian un inmunógeno y un antígeno?
- Resuma las propiedades intrínsecas y extrínsecas de los inmunógenos.
- Indique un epítopo reconocido por un anticuerpo y compárelo con un epítopo reconocido por un TCR.

25.4 Presentación de antígenos a las células T

Las células T (o linfocitos T) son linfocitos procesados en el timo que interaccionan con antígenos por medio de los TCR y activan respuestas inmunitarias adaptativas (↻ Sección 24.3). Examinaremos a continuación cómo los TCR interaccionan con los antígenos en la superficie de los fagocitos presentadores de antígenos o de las células diana infectadas.

El receptor T

El TCR es una proteína transmembrana que se extiende desde la superficie de la célula T hasta el ambiente extracelular y de la que, en una misma célula, está presente con miles de copias idénticas en su superficie. Un TCR funcional está constituido por una cadena polipeptídica α y una β, cada una con varios **dominios** o regiones que tienen propiedades estructurales y funcionales diferentes. Ambas cadenas tienen un dominio variable (V) y otro constante (C) (**Figura 25.7**). Los dominios V_α y V_β interaccionan cooperativamente para formar un único sitio de unión al antígeno. Como veremos en la Sección 26.7, la respuesta inmunitaria adaptativa es capaz de generar TCR que unirán casi todos los péptidos antigénicos conocidos. Los TCR reconocen únicamente complejos MHC-péptido, pero otros antígenos, como los polisacáridos complejos, no son reconocidos, pero pueden unirse a inmunoglobulinas receptoras de la superficie de las células B. Además, los TCR solo reconocen y se unen a un antígeno peptídico si está unido a una proteína del *propio* hospedador, la proteína del complejo principal de histocompatibilidad.

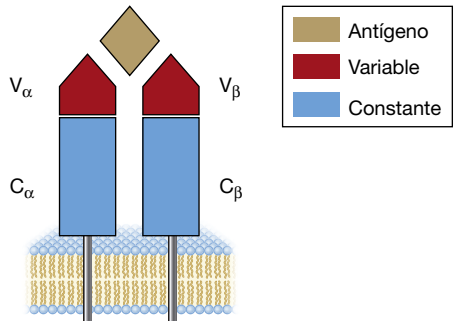


Figura 25.7 **El receptor T (TCR).** Los dominios V de las cadenas α y β se combinan para formar el lugar de unión al péptido.

Proteínas del complejo principal de histocompatibilidad

Todos los vertebrados poseen un conjunto de genes que se denomina *complejo principal de histocompatibilidad* (MHC, del inglés *major histocompatibility complex*). El MHC codifica, entre otras, un grupo de proteínas que son críticas en la presentación de los antígenos. En el ser humano, estas proteínas del MHC en humanos reciben también el nombre de *antígeno leucocitario humano* o HLA (del inglés *human leukocyte antigens*), y fueron identificadas por primera vez como los antígenos más importantes causantes del rechazo inmunitario de los órganos trasplantados. Hoy en día sabemos que la función primaria de las proteínas del MHC es la unión a péptidos derivados de los antígenos y su presentación a los TCR.

Hay dos grupos de proteínas MHC, que se denominan clase I y clase II. Las **proteínas MHC de clase I** se encuentran en la superficie de todas las células con núcleo. En cambio, las **proteínas MHC de clase II** solo están presentes en la de los linfocitos B, los macrófagos y las células dendríticas; es decir, de los tipos celulares que actúan como APC. Esta distribución guarda relación con la diferente función de las proteínas de clase I y II.

Las proteínas de clase I están formadas por dos polipéptidos: una cadena α, codificada por los genes de la región MHC y anclada en la membrana, y la *β-2 microglobulina* ($\beta_2 m$), una proteína de menor tamaño codificada por un gen no-MHC (**Figura 25.8*a***). Las MHC de clase II están formadas por dos polipéptidos no unidos covalentemente, denominados α y β. Como las cadenas alfa de las proteínas MHC de clase I, estos polipéptidos están anclados en la membrana y se proyectan hacia el exterior desde la superficie de la célula (Figura 25.8*b*).

Las proteínas del MHC no son estructuralmente idénticas entre los individuos de una misma especie, pues hay entre ellas sutiles diferencias individuales en la secuencia de aminoácidos

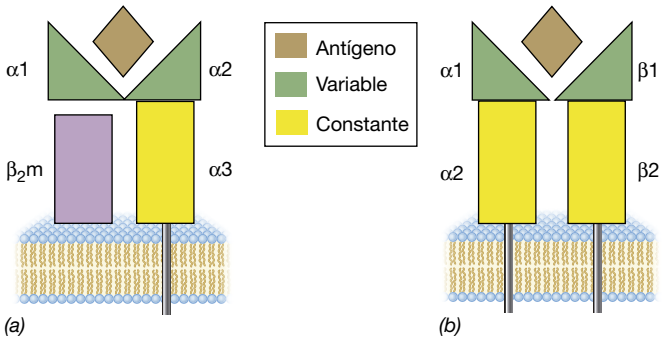


Figura 25.8 **Las proteínas MHC.** *(a)* Proteína MHC de clase I. Los dominios α1 y α2 interaccionan para formar el sitio de unión al péptido. *(b)* Proteína MHC de clase II. Los dominios α1 y β1 se combinan para formar el sitio de unión al péptido.

y, lógicamente, en los genes correspondientes, lo que se conoce como *polimorfismo* del MHC. Por ejemplo, en la especie humana hay más de 3.500 de tales variantes. Este polimorfismo de las proteínas del MHC representa la principal barrera antigénica en el trasplante de tejidos; los trasplantes entre individuos que no muestran una semejanza suficiente (compatibilidad) en el MHC son reconocidos como no propios por el sistema inmunitario y son rechazados. La estructura molecular de las proteínas y la organización genética del sistema MHC se presenta en detalle en el Capítulo 26.

Presentación y procesamiento de los antígenos

La proteínas del MHC no se expresan en la superficie celular si no es formando complejos con péptidos. Estos MHC-péptidos reflejan la composición de las proteínas del interior de la célula. Por ejemplo, en la superficie de una célula que no contenga patógenos o antígenos no propios, las proteínas del MHC forman complejos con péptidos propios procedentes de la degradación normal de proteínas autóctonas durante el crecimiento celular. En cambio, las células del hospedador que han ingerido proteínas ajenas o patógenos, o que han sido infectadas por virus, producen péptidos que también interaccionan con las proteínas MHC. Luego, las células hospedadoras degradan (procesan) los antígenos para formar péptidos pequeños. En ese caso, las proteínas del MHC que se expresan en la superficie de la célula forman complejos con los péptidos foráneos. Estas proteínas del MHC con los péptidos anclados constituyen la diana con antígenos extraños para las células T que, mediante sus TCR, examinan continuamente la superficie de otras células para identificar las que llevan antígenos foráneos unidos a una proteína MHC propia. Las células T no pueden reaccionar con los complejos MHC-péptido que se encuentra en células no infectadas, pues los linfocitos T con TCR autorreactivos son eliminados durante el desarrollo de la tolerancia inmunitaria. En la formación de los complejos MHC-péptido no-propio hay dos estrategias de procesamiento antigénico, según se trate de proteínas MHC I o MHC II (**Figura 25.9**).

Las proteínas MHC I presentan epítopos peptídicos derivados de proteínas de patógenos presentes en el citoplasma de células que han sido infectadas por virus y ciertos patógenos bacterianos intracelulares; dichas células se conocen como células diana (Figura 25.9*a*). Las proteínas producidas por virus infectantes, por ejemplo, son captadas y digeridas en el citoplasma en el interior de una estructura llamada *proteasoma*. Péptidos de unos diez aminoácidos son transportados al interior del retículo endoplasmático (RE) a través de poros formados por una pareja de proteínas denominadas *transportadores asociados al procesamiento de antígenos* (TAP, del inglés *transporters associated with antigen processing*). Una vez que los péptidos han penetrado en el RE, se unen a una proteína del MHC I, previamente ensamblada en el interior del propio RE y mantenida en la proximidad del sitio TAP por un grupo de *chaperoninas* hasta que se une el péptido. Posteriormente, el complejo MHC I-péptido se libera de las chaperoninas y se desplaza hasta la superficie celular, donde se intengra en la membrana y puede ser reconocido por las células T. Por tanto, las proteínas del MHC son una plataforma a la que se une el péptido extraño. Luego, el TCR de la superficie de las células T interaccionan tanto con el péptido (no-propio) como con la proterína del MHC I (propia) en la superficie de la célula diana. La señal generada estimula en las células T citotóxicas (células Tc) la producción de unas proteínas citotóxicas, las perforinas, que causan la muerte de la célula diana infectada por el virus (Sección 25.5). Cualquier célula con núcleo puede ser una diana de los linfocitos T que reconocen los complejos péptido-MHC I.

Las proteínas del MHC II son las proteínas presentadoras de antígeno en una segunda vía (Figura 25.9*b*). Dichas proteínas se expresan exclusivamente en los fagocitos que actúan como APC, presentando los péptidos de los patógenos ingeridos, por ejmplo, de bacterias. Como las proteínas MHC I, las MHC II se ensamblan inicialmente en el RE, con la diferencia de que su lugar de unión está bloqueado por una chaperona especial, denominada cadena invariante o Ii. Los complejos MHC II-Ii son transportados desde el RE a los lisosomas. Tras la fagocitosis de un patógeno el fagosoma que contiene el antígeno foráneo se fusiona con el lisosoma para formar el fagolisosoma. Allí, los enzimas del lisosoma degradan los antígenos foráneos y el péptido Ii. Los péptidos foráneos, generalmente de unos 11 a 15 aminoácidos (algo mayores que los que se unen al receptor MHC I) se acoplan al sitio de unión del MHCII recién abierto. El complejo es entonces transportado a la membrana citoplasmática, en cuya superficie es reconocido por un subgrupo especializado de linfocitos, las **células T colaboradoras** (**células Th**, del inglés T-*helper*). Estos linfocitos, a través del TCR, reconoce el complejo MHC II-péptido. Esta interacción activa en las células Th la secreción de citocinas, que estimulan la producción de anticuerpos por las células B o causan inflamación.

Correceptores CD4 y CD8

Además del TCR, cada célula T expresa una proteína de superficie exclusiva que funciona como correceptor. Las células Th expresan el **correceptor CD4** y las Tc el **correceptor CD8** (Figura 25.9). Cuando se produce la unión del TCR al complejo MHC-péptido, el correceptor de la célula T también se une a la proteína del MHC en la superficie de la célula presentadora de antígeno, reforzando así las interacciones moleculares y aumentando la activación de la célula T. El correceptor CD4 solo se une a la proteína del MHC II,

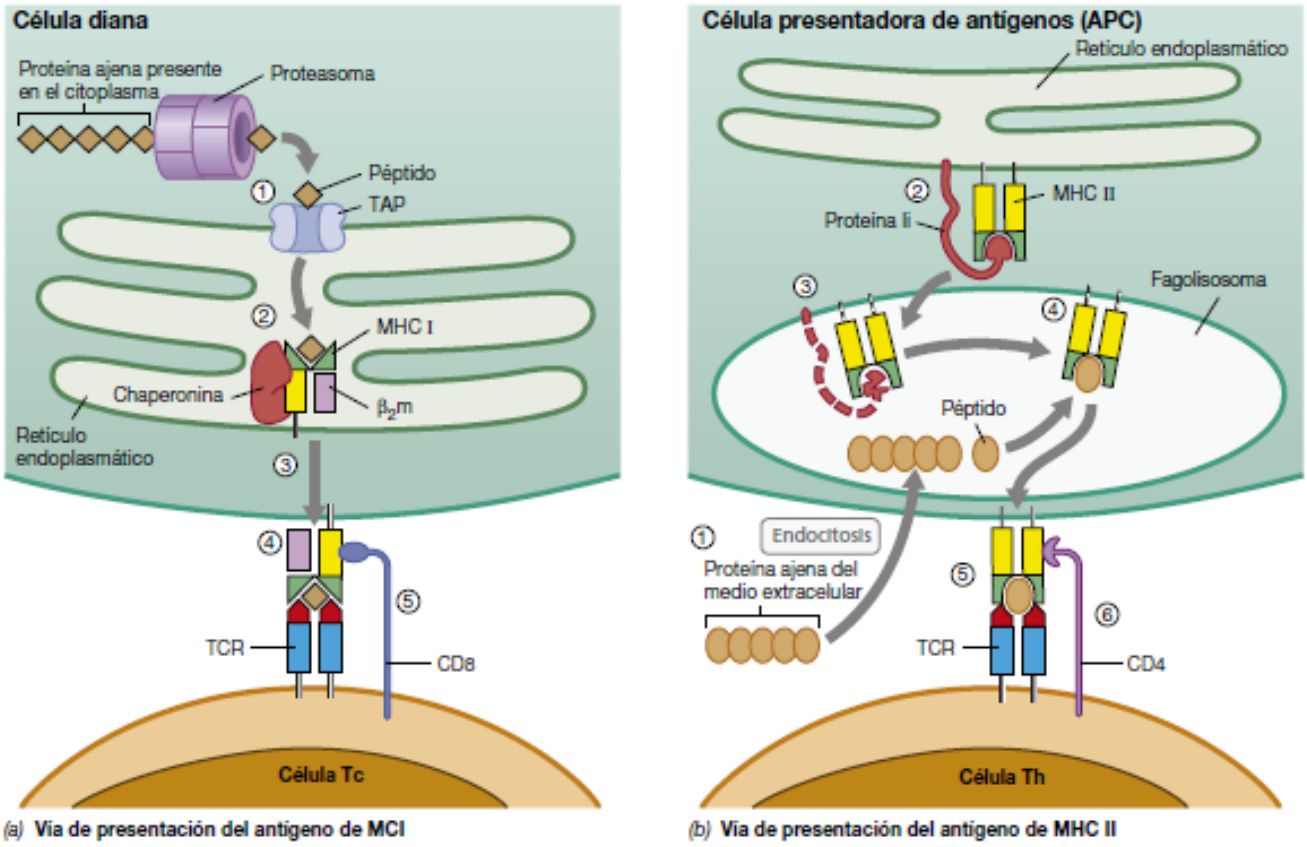


Figura 25.9 **Presentación de antígenos por las proteínas MHC I y MHC II.** *(a)* ① Los antígenos proteínicos como los componentes de un virus elaborados dentro de la célula son degradados en el proteasoma del citoplasma; los péptidos resultantes son transportados al interior del retículo endoplasmático (RE) a través de un poro formado por las proteínas TAP. ② Las proteínas MHC I presentes en el RE están estabilizadas por chaperoninas hasta el momento que se unen los péptidos. ③ Una vez que estos se unen a la molécula MHC I, el complejo es transportado a la superficie de la célula. ④ El complejo MHC I-péptido interacciona con los receptores de la superficie de las células T (TCR). ⑤ El correceptor CD8 de la célula Tc se une a la molécula MHC I generando así un complejo más fuerte, lo que conduce a la activación de la célula Tc, en la que se induce la liberación de citocinas y de citotoxinas que matan a la célula diana. *(b)* ① Las proteínas no propias, importadas por endocitosis, son digeridas produciendo péptidos en el fagosoma. ② Las proteínas del MHC II del RE están ensambladas con Ii, una proteína que bloquea el sitio de unión de MHC II e impide su unión a péptidos presentes en el RE. ③ El conjunto MHC II-Ii es transportado hasta el lisosoma, donde permanece hasta que este se fusiona con el fagosoma para formar el fagolisosoma y allí la proteína Ii es degradada, ④ permitiendo que la proteína del MHC II interaccione con los péptidos no propios que se han liberado en el fagolisosoma. ⑤ El complejo MHC II-péptido es llevado a la superficie de la célula, donde es reconocido por los TCR y ⑥ los correceptores CD4 de las células Th. Entonces las células Th liberan citocinas que, transmiten señales a otras células para promover la respuesta inmunitaria.

con lo que intensifica la interacción de Th con los APC que expresan la proteína de MHC II. De igual manera, CD8 solo se une a la proteína del MHC I, de forma que intensifica la unión de las células Tc con las células diana portadoras de MHC I. Las proteínas CD4 y CD8 se emplean como marcadores de células T, para diferenciar las células Th (CD4) de las células Tc (CD8).

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué células muestran proteínas MHC I y MHC II en su superficie?
- Describa la secuencia de sucesos en el procesamiento y presentación de antígenos de patógenos intracelulares y extracelulares.

III • Linfocitos T e inmunidad

La presentación de los antígenos activa los precursores de los linfocitos T para diferenciarse en los tipos de células T que llevan a cabo las funciones de la inmunidad mediada por células específicas de antígeno. Estas funciones incluyen la citotoxicidad mediada por células, la respuesta inflamatoria y la colaboración con las células B en la producción de anticuerpos. Cuando no existen células T activadas por antígenos, apenas hay inmunidad específica y no hay memoria inmunitaria.

25.5 Células T citotóxicas y linfocitos citocidas naturales

En la sección previa, hemos visto dos tipos de células T, las células T citotóxicas (Tc) y las células T colaboradoras (o cooperadoras, Th). Examinaremos ahora en detalle las células T citotóxicas y presentaremos también las células citocidas naturales (o células NK, del inglés *natural killer*), un tipo de leucocitos que emplea otro mecanismo para reconocer células infectadas por patógenos intracelulares y matarlas.

Células T citotóxicas

Las **células T citotóxicas (Tc),** también llamadas linfocitos T citotóxicos (CTL, del inglés *cytotoxic T lymphocytes*) son células CD8T que matan directamente células del propio huésped que muestran en su superficie antígenos extraños. Como se ha tratado en la Sección 25.4, las células Tc reconocen péptidos no propios embebidos en las proteínas del MHC I, y matan las células que presentan el antígeno no propio. Por ejemplo, un péptido vírico embebido en el MHC I, presente en una célula infectada por un virus, marca la célula para que sea reconocida por una célula Tc, que la matará.

La muerte de la célula diana requiere el contacto directo con la célula Tc (**Figura 25.10**). El inicio del contacto se da entre el TCR y el complejo MHC I-péptido, y es reforzado por el correceptor CD8, que se une a la proteína del MHC I. A continuación, los gránulos de la célula T migran al sitio de contacto y liberan su contenido, lo que se conoce como desgranulación. Los gránulos contienen perforinas, que al ser liberadas abren poros en la membrana de la célula diana, y *granzimas*, que son unas proteasas que penetran en la célula por los poros abiertos y causan *apoptosis* (o muerte celular programada), un proceso caracterizado por la muerte de la célula y su degradación desde el interior. Sin embargo, las células Tc quedan inalteradas; las perforinas no dañan sus membranas. Las células Tc solo matan las células que presentan el antígeno no propio porque los gránulos se liberan únicamente en la superficie de contacto entre la célula Tc y la célula diana portadora del complejo MHC I-péptido. Las células que no presentan el péptido que es reconocido por las células Tc no establecen ese contacto y no son atacadas.

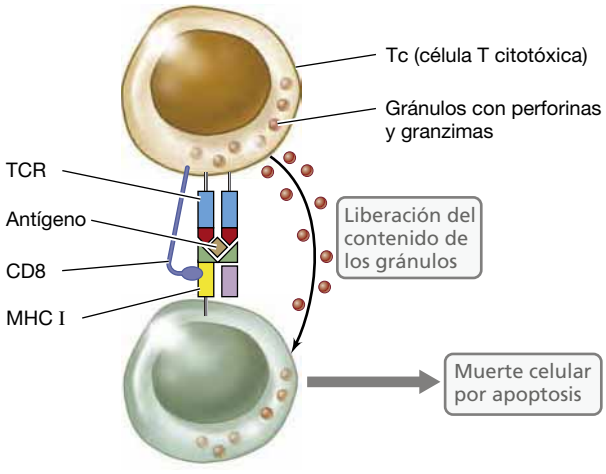


Figura 25.10 Células T citotóxicas. Cuando el TCR de la superficie de una célula Tc se une a un complejo MHC I-péptido presente en la superficie de cualquier célula, la célula Tc libera gránulos que contienen perforina y granzimas, citotoxinas que perforan la membrana de la célula diana y causan apoptosis, respectivamente.

Células NK

Las **células citocidas naturales** (**células NK**) son linfocitos citotóxicos diferentes de las células T i de las B, si bien se parecen a las células Tc en su capacidad de destruir células cancerosas y células infectadas por patógenos intracelulares. Las células NK también usan perforina y granzimas para matar las células diana, y destruyen las células cancerosas y las células infectadas por virus sin necesitar de un contacto previo con un antígeno (**Figura 25.11**). Esto es muy importante, pues muchas células tumorales o células infectadas por virus reducen o eliminan la expresión normal de las proteínas MHC I para eludir la respuesta específica de antígeno mediada por las células Tc. En este proceso, el número de células NK no aumenta, ni se desarrolla ningún tipo de memoria inmunitaria después de la interacción con las células diana.

Las células NK reconocen y destruyen células cancerosas o células infectadas por un patógeno empleando un sistema de dos receptores. Las dianas moleculares de las células NK son proteínas que se encuentran en la superficie de otras células (Figura 25.11*a*). Al circular por el organismo e interaccionar con las células del cuerpo, emplean un receptor especializado en el reconocimiento de proteínas del MHC I en células normales y sanas. La unión de los receptores de las células NK al MHC I desactiva la liberación de perforinas y granzimas por las células NK, un proceso conocido como concesión de «*licencia*». Sin embargo, las células tumorales o las infectadas pueden expresar proteínas de estrés en su superficie, y las células NK poseen receptores complementarios para muchas de esas proteínas de estrés. Especialmente en ausencia de esta la interacción MHC-«*licencia*», los receptores de estrés de la superficie de las células NK interaccionan con las proteínas de estrés de la superficie de las células diana. La célula NK responde liberando perforinas y granzimas citotóxicas, que destruyen las células infectadas o las tumorales que expresen proteínas de estrés indicadoras de enfermedad y que ya no expresan las proteínas del MHC I de las células sanas (Figura 25.11*b*).

MINIRREVISIÓN

- Describa las dianas y los mecanismos de acción de las células Tc y NK y compárelos.
- Describa el sistema citotóxico común de las células Tc y NK.

25.6 Células T colaboradoras

La interacción con las APC induce la diferenciación de las células CD4 (Th) en varios subgrupos, cada uno capaz de producir combinaciones exclusivas de citocinas que incorporan células efectoras tales como macrófagos, células B productoras de anticuerpos y neutrófilos. Las células de los subgrupos Th1 y Th2 intervienen en la inmunidad adaptativa, promoviendo respectivamente la inflamación y la producción de anticuerpos. Las células Th17 amplifican la respuesta inmunitaria innata y las células Treg suprimen la inmunidad cuando no es necesaria (**Tabla 25.2**).

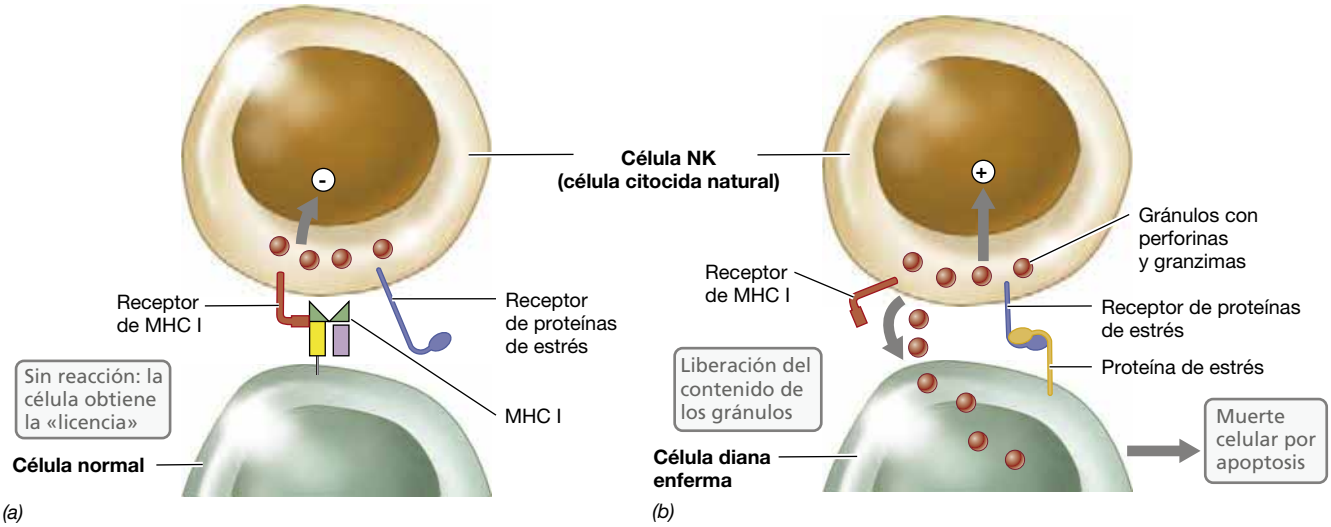


Figura 25.11 **Células NK (o células citocidas naturales).** Estas células tienen dos receptores: uno que interacciona con MHC I, en células sanas y otro que lo hace con proteínas de estrés celular que se encuentran solo en la superficie de células tumorales o infectadas por patógenos. *(a)* El reconocimiento del MHC I concede «licencia» a las células sanas, e impide a la célula NK libere su contenido. *(b)* Las células infectadas por un patógeno y las células tumorales expresan proteínas de estrés y a menudo reducen la expresión del MHC I. Cuando MHC I no está presente, las células NK reconocen las proteínas de estrés liberan perforinas y granzimas, que matan la célula enferma.

Tabla 25.2 Subgrupos de células T colaboradoras (Th)

	Subgrupo Th			
	Th1	*Th2*	*Th17*	*Treg*
Célula presentadora de antígenos (APC)	Macrófago	Célula B	Célula dendrítica activada	Célula dendrítica no activada
Citocinas principales producidas	IL2, IFN-γ, TNF-α	IL-4, IL-5	IL-17, IL-6	IL-10, TGF-β
Efectos celulares	Activación de células T (IL-2) y macrófagos	Activación de células B	Activación y reclutamiento de neutrófilos (PMN)	Supresión de células de la respuesta adaptativa
Efectos sistémicos	Inmunidad mediada por células	Inmunidad mediada por anticuerpos	Amplificación de la inmunidad innata	Control de la inmunidad dependiente de Th

Células Th1 y activación de los macrófagos

Los macrófagos desempeñan un papel central como APC en la inmunidad celular. Como muestra la **Figura 25.12**, los macrófagos ingieren, procesan y presentan antígenos a las células **Th1**, que responden produciendo IL-2 (*inter*leucina-2), una citocina que estimula el crecimiento y la activación de otras células T y que activa a los propios macrófagos por medio de otras citocinas. Como regla general, incluso los macrófagos no activados fagocitan y destruyen a la mayoría de las bacterias, pero unos pocos patógenos pueden sobrevivir y multiplicarse dentro del fagolisosoma. Entre estos patógenos intracelulares se encuentran *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium leprae* y *Listeria monocytogenes*, los agentes de la tuberculosis, la lepra y la listeriosis, respectivamente. Empleando una dosis moderada, los animales de experimentación inoculados con *M. tuberculosis* pueden superar la infección y desarrollan una respuesta inmunitaria mediada por células T inflamatorias, el subgrupo Th1. Las células Th1 activan los macrófagos mediante el interferón gamma (IFN-γ), el factor alfa de necrosis tumoral (TNF-α) y el factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSG) (Figura 25.12). Los macrófagos activados por las células Th, ingieren y matan *M. tuberculosis* más eficazmente que los no activados. Sorprendentemente, los macrófagos activados fagocitan y matan a otros patógenos intracelulares no relacionados, como *Listeria*. La especificidad de la respuesta reside en las células Th1 y no en los macrófagos. Estos, si están activados matan las bacterias intracelulares que normalmente se multiplican en el interior de macrófagos no activados o en otros tipos de células.

Este tipo de activación de los macrófagos, además de matar células infectadas por patógenos, también ayuda a destruir células tumorales, pues estas frecuentemente producen antígenos tumorales específicos que no se encuentran en las células sanas y frente a los cuales existen células Th1 reactivas. El rechazo de órganos trasplantados es un grave problema que se presenta después de trasplantar órganos o tejidos de una persona a otra, que también está mediado por macrófagos activados por Th1. En este caso, las células Th1 identifican como no-propias las proteínas del MHC de los donantes (transplante), desencadenando la activación de los macrófagos y el rechazo.

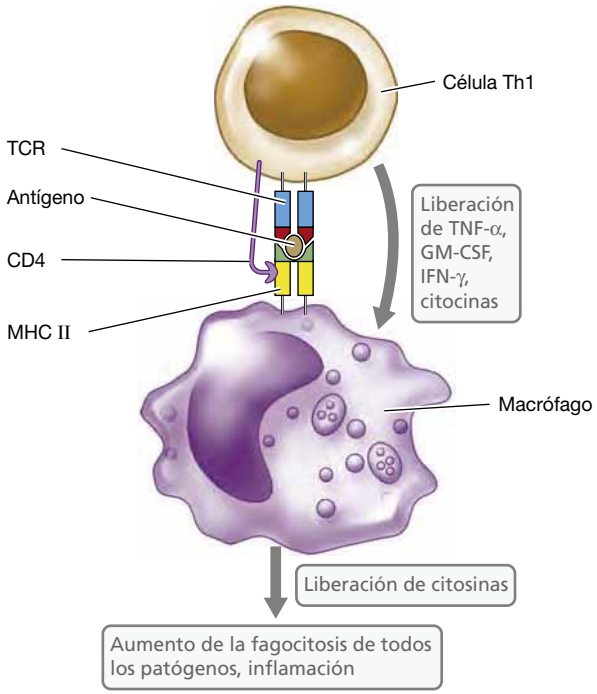


Figura 25.12 **Células Th1.** Las células Th1 (T-inflamatorias) son activadas por antígenos presentados por los macrófagos en el contexto de proteínas MHC II. Una vez activadas, producen citocinas que estimulan a los macrófagos para aumentar la actividad del fagocito y promover la inflamación.

Células Th2

Estos linfocitos **Th2** desempeñan un papel determinante en la activación de las células B y en la producción de anticuerpos, como se vio en la Sección 24.4. Las células B diferenciadas están recubiertas de anticuerpos que actúan como receptores de antígenos. El antígeno se une a los receptores de antígeno de la célula B, pero esta no produce anticuerpos solubles de forma inmediata (Figura 25.13). El antígeno captado por el anticuerpo es internalizado en la célula B por endocitosis y degradado, los péptidos resultantes del antígeno se presentan formando complejos con las proteínas del MHC II de las células B. Por tanto, las células B cumplen un doble papel, en primer lugar como APC y en segundo lugar como productoras de anticuerpos. Cuando actúa como APC, la célula B capta el antígeno y lo degrada en péptidos, que une al MHC II. Posteriormente la célula B presenta el complejo MHC II-péptido a las células Th2, que responden produciendo IL-4 e IL-5, dos citocinas que activan a las propias células B. Como consecuencia, la célula B activada se diferencia a célula plasmática productora de anticuerpos, como veremos en la Sección 25.8.

Células Th17 y células treg

Las células dendríticas desempeñan un papel crítico en el desarrollo de las células **Th17** y de las células Treg. Las células Th17 son importantes en las primeras fases de la respuesta inmunitaria adaptativa; activadas por la interacción con los antígenos, estas células incorporan neutrófilos, células inmunitarias

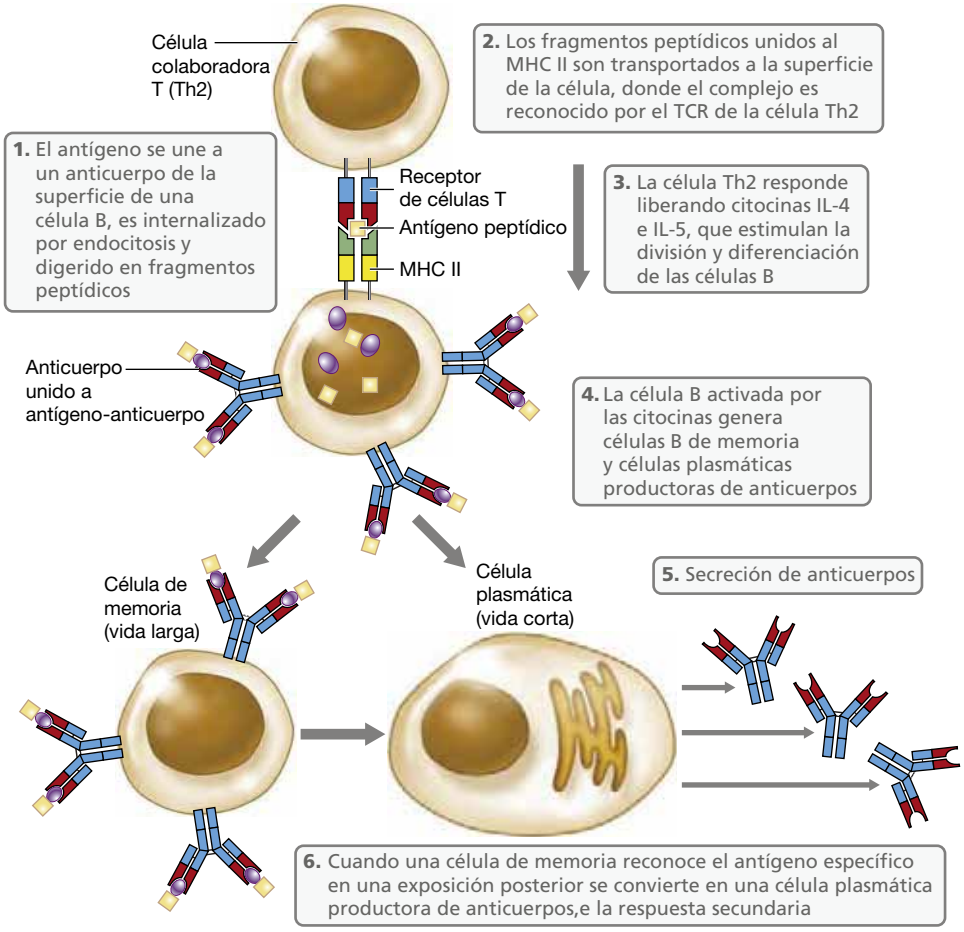


Figura 25.13 **Interacciones entre células B y T y producción de anticuerpos.** Las células B interaccionan con antígenos y células Th2 para producir anticuerpos. Inicialmente, las células B actúan como células presentadoras de antígenos empleando las Ig específicas de antígeno como receptores. El procesamiento del antígeno por la célula B y su presentación a la Th2 induce a esta última a producir citocinas que activan la diferenciación de las B en células plasmáticas productoras de anticuerpos o en células de memoria.

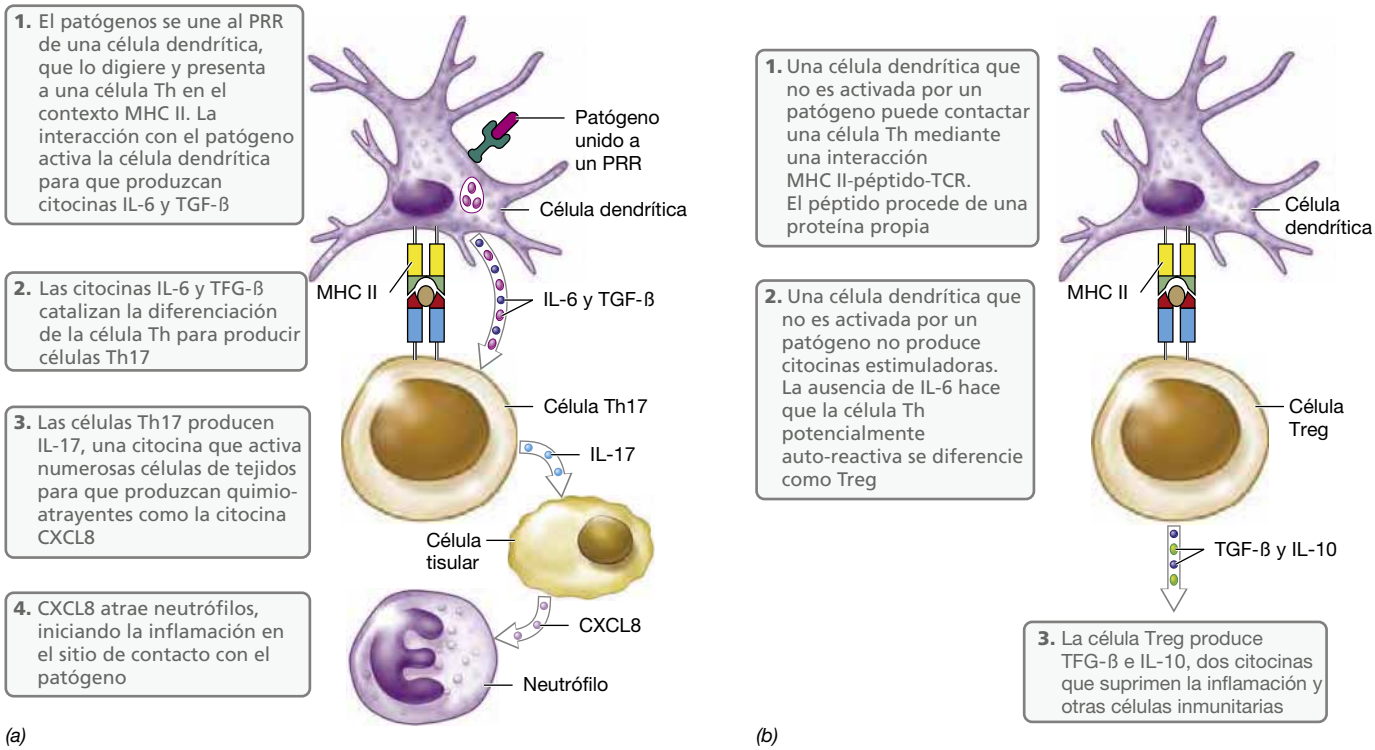


Figura 25.14 Células Th17 y Treg. *(a)* Las células Th17 interaccionan con células dendríticas estimuladas por el patógeno para atraer los neutrófilos hacia el patógeno, lo que causa inflamación y control del patógeno. *(b)* Las células Treg interaccionan con células dendríticas no activadas y producen citocinas inmunosupresoras que controlan las reacciones frente a los antígenos propios.

innatas importantes en los procesos de inflamación. Las células Th indiferenciadas (o células Th *naive*) se diferencian en células Th17 por la acción de las células dendríticas. Cuando estas últimas reconocen un patógeno y presentan sus antígenos, secretan dos citocinas, IL-6 y el factor de crecimiento transformante beta (o TGF-β del inglés *transforming growth factor-β*), que catalizan la conversión de las células Th no activadas en células Th17 (**Figura 25.14*a***). Las células Th17 producen entonces IL-17, una citocina que activa otras células de los tejidos para que produzcan citocinas y quimiocinas que atraerán a los neutrófilos al lugar de la infección. Por tanto, la función de las células Th17 es producir IL-17, iniciando una cascada que lleva los neutrófilos hasta los lugares de infección. Al incorporar los neutrófilos, las células Th17 amplifican la respuesta inmunitaria innata desencadenada por la interacción del patógeno con la célula dendrítica.

Las células **Treg** son importantes para el control de la inmunidad. Los linfocitos Th permanecen indiferenciados si no son estimulados para madurar por algunas citocinas, como es el caso de la IL-6 en la generación de las células Th17. Sin embargo, en ausencia de patógenos, las células Th aún pueden interaccionar con las células dendríticas a través de un complejo MHC II-péptido-TCR en el que el péptido procede de una proteína autóctona (Figura 25.14*b*) y podría causar una enfermedad autoinmunitaria. No obstante, al no haber interacción con un patógeno, no se produce IL-6 para promover la diferenciación de las células Th17. En cambio, la ausencia de IL-6 se estimula la diferenciaciób de las células Treg, que sintetizan IL-10 y TFG-β, dos citocinas supresoras de la inmunidad y la inflamación. Por tanto, en presencia de antígenos propios y ausencia de IL-6, las células Treg suprimen la respuesta inmunitaria e inhiben la inflamación; una actividad importante para prevenir reacciones autoinmunitarias.

MINIRREVISIÓN

- Describa el papel de las células Th1 en la activación de los macrófagos.
- Describa el papel de las células Th2 en la activación de los linfocitos B.
- Describa el papel de las células Th17 en la activación de los neutrófilos.

IV • Anticuerpos e inmunidad

Los anticuerpos proporcionan inmunidad específica de antígeno que protege contra patógenos extracelulares y proteínas solubles peligrosas como las toxinas. En esta sección, después de considerar la estructura y diversidad genética que son críticas para la función de los anticuerpos, revisaremos los mecanismos que permiten neutralizar y destruir los antígenos.

25.7 Estructura de los anticuerpos

Los anticuerpos, también llamados *inmunoglobulinas* (*Ig*), son proteínas que interaccionan específicamente con los epítopos de los antígenos. Se encuentran en el suero y en otros fluidos corporales, tales como las secreciones de las mucosas y la leche. El suero que contiene anticuerpos específicos de antígeno se denomina *antisuero* (↻ Sección 24.6). Teniendo en cuenta sus propiedades físicas, químicas e inmunológicas, las inmunoglobulinas se diferencian en cinco clases principales: *IgG, IgA, IgM, IgD e IgE* (**Tabla 25.3**).

Estructura de la inmunoglobulina G

La IgG es el anticuerpo circulante más común, y comprende cerca del 80 % de las inmunoglobulinas del suero. Está compuesta por cuatro cadenas polipeptídicas (**Figura 25.15**) conectadas por puentes disulfuro (enlaces S—S). En cada protína de IgG, contiene dos cadenas idénticas ligeras, de unos 220 aminoácidos, que están emparejadas con dos cadenas idénticas pesadas, de unos 440 aminoácidos. Cada cadena ligera interacciona con una pesada para formar un sitio funcional de unión al antígeno, lo que hace a los anticuerpos IgG *bivalentes*, con dos sitios de unión idénticos que reconocen dos epítopos idénticos.

Cada cadena, sea ligera o pesada, está formada por varios dominios diferentes de unos 110 aminoácidos (Figura 25.15). En las cadenas pesadas hay un dominio variable conectado a tres dominios constantes. La secuencia de aminoácidos del dominio variable, que es el que se une al antígeno, es distinta para cada anticuerpo diferente. Los tres dominios constantes de cada cadena pesada son idénticos en todas las moléculas Ig de una clase determinada. En las cadenas ligeras existen dos dominios, uno variable y otro constante. El dominio variable de una cadena ligera interacciona con el dominio variable de una cadena pesada que forman el sitio de unión al antígeno. La secuencia de aminoácidos del dominio constante es la misma en las cadenas ligeras de un mismo tipo.

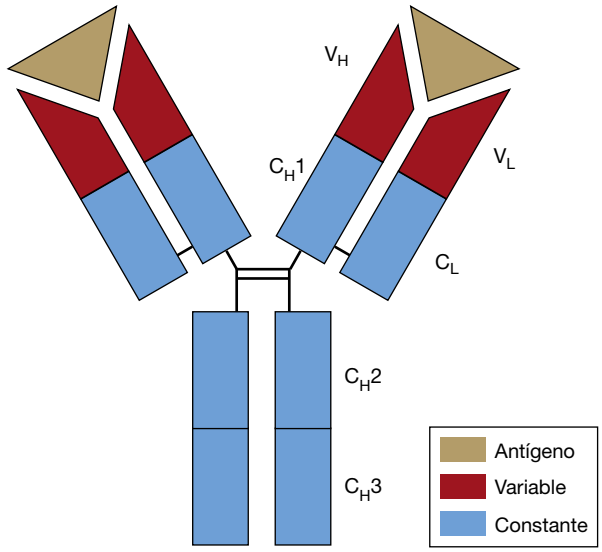


Figura 25.15 Estructura de la inmunoglobulina G. Una molécula de IgG está formada por dos cadenas pesadas (peso molecular 50.000) y dos ligeras (peso molecular 25.000), con un peso molecular total de 150.000. Una cadena pesada y otra ligera interaccionan para formar una unidad de unión al antígeno, localizada en los dominios variables V_H y V_L correspondientes. Los dominios constantes (C_H1, C_H2, C_H3 y C_L) son idénticos en todas las IgG. Las cadenas se unen entre sí covalentemente por puentes disulfuro.

Tabla 25.3. Propiedades de las inmunoglobulinas humanas

Clase (cadena pesada)[a]	*Peso molecular/fórmula*[b]	*Concentración sérica (mg/ml)*	*N.º de sitios de unión al antígeno*	*Propiedades*	*Distribución*
IgG (γ)	150.000/2(H+L)	13,5	2	Principal anticuerpo circulante; cuatro subclases: IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4; IgG1 e IgG3 activan el complemento	Fluidos extracelulares, sangre y linfa; cruza la placenta
IgM (μ)	970.000/pentamérica 5(H + L) + J	1,5	10	El primer anticuerpo que aparece tras la inmunización; potente activador del complemento	Sangre y linfa; el monómero es un receptor de superficie de las células B
	175.000/monomérica 2(H + L)	0	2		
IgA (α)	150.000/2(H + L)	3,5	2	Anticuerpo circulante importante	Sangre
	385.000/(dímero secretado) 2(H + L) + J + SC	0,05	4	Principal anticuerpo secretor	Secreciones (saliva, calostro, leche); monómero en la sangre y dímero en las secreciones
IgD (δ)	180.000/2(H + L)	0,03	2	Anticuerpo circulante menor	Sangre y linfa; receptor de las células B
IgE (ε)	190.000/2(H + L)	0,00005	2	Interviene en las reacciones alérgicas y en la inmunidad frente a parásitos	Sangre y linfa; el dominio C_H4 se une a mastocitos y eosinófilos

[a]Todas las inmunoglobulina puede tener cadenas ligeras de tipo λ o de tipo κ, pero no ambas en la misma molécula.
[b]Basada en el número y disposición de las cadenas pesadas (H, *heavy*) y ligeras (L, *light*). La cadena J es una proteína que une cadenas pesadas de las IgM e IgA multiméricas secretoras; SC es el componente secretor que se encuentra en la IgA secretada.

El sitio de unión al antígeno

En todos los anticuerpos, la interacción entre los dominios variables de una cadena ligera y otra pesada crea un receptor o sitio de unión al antígeno (**Figura 25.16**), al que se une fuertemente, pero no covalentemente. La fuerza de unión entre uno de estos sitios y el epítopo puede medirse y se denomina *afinidad de la unión*. Se dice que un anticuerpo es de *alta afinidad* cuando se une muy firmemente al antígeno.

El sistema inmunitario de cada individuo tiene la capacidad de reconocer innumerables antígenos, y cada antígeno se une a un sitio de unión exclusivo. Para que todos los antígenos posibles tengan su sitio propio, cada individuo puede producir miles de millones de sitios de unión diferentes, cada uno de ellos codificado por un gen que se forman por recombinación somática y por mutación. La interacción de los antígenos con los anticuerpos de la superficie de las células B estimula en dichas células la producción y secreción de copias del anticuerpo preformado.

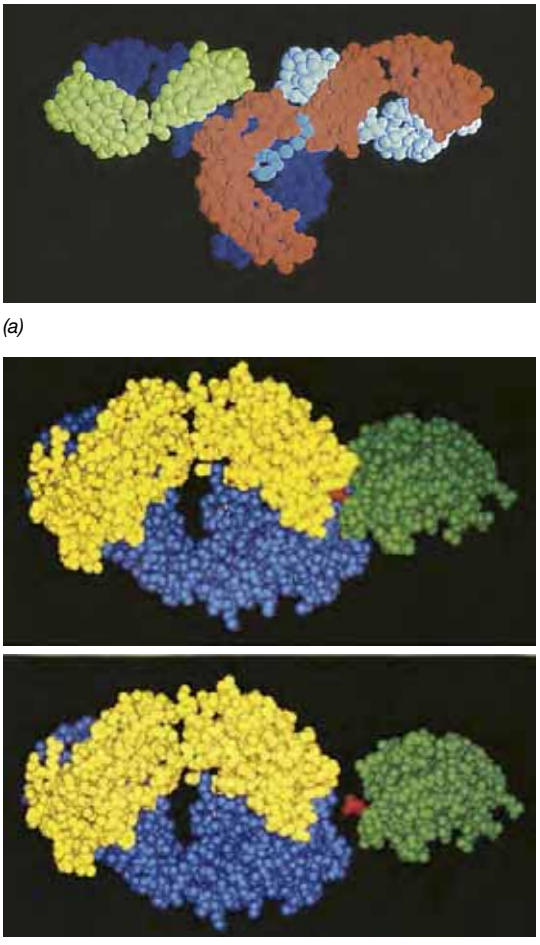


Figura 25.16 Estructura de las inmunoglobulinas y del sitio de unión al antígeno. *(a)* Modelo espacial de una molécula de IgG. Las cadenas pesadas se presentan en rojo y azul oscuro; las ligeras, en verde y azul claro. *(b)* Modelo espacial de las interacciones de unión entre un antígeno y una inmunoglobulina. El antígeno (lisozima) se presenta en verde, el dominio variable de la cadena pesada de la inmunoglobulina en azul, y el de la cadena ligera en amarillo. El aminoácido en rojo es una glutamina de la lisozima. La glutamina encaja en una cavidad de la molécula de inmunoglobulina y, además, la interacción antígeno-anticuerpo implica el contacto entre otros muchos aminoácidos de las superficies de la inmunoglobulina y del antígeno. (Reproducido con permiso de *Science* 233:744 [1986] © AAAS).

Otras clases de anticuerpos

Los anticuerpos de las otras clases son distintos de la IgG. La clase a la que pertenece la molécula de un anticuerpo concreto está definida por la secuencia de aminoácidos de sus dominios constantes de la cadena pesada. La cadena pesada llamada *gamma* (γ) define la clase IgG y las cadenas pesadas *alfa* (α), *delta* (δ), *mu* (μ) y *épsilon* (ε) definen a las clases IgA, IgD, IgM e IgE, respectivamente (Tabla 25.3). Las secuencias con dominios constantes constituyen las tres cuartas partes de las cadenas pesadas de IgG, IgA y de IgD y cuatro quintas partes de las cadenas pesadas de IgM y IgE (**Figura 25.17**).

La **Figura 25.18** muestra la estructura de la IgM. Habitualmente, esta inmunoglobulina se dispone como un agregado de cinco moléculas unidas por, al menos una cadena J (del inglés *joining*). La IgM es la primera clase de inmunoglobulinas que se produce en una respuesta inmunitaria típica a una infección bacteriana. La fuerza de unión por el antígeno se refuerza mediante la *valencia* alta de la molécula de la IgM que, al ser pentamérica, dispone de un total de diez sitios de unión (Tabla 25.3 y Figura 25.18). La fuerza combinada de todos los sitios de unión de un anticuerpo se denomina *avidez*, de forma que la IgM tiene una *baja* afinidad, pero una *alta* avidez por el antígeno. Las IgM constituyen hasta un 10 % de los anticuerpos en el suero. Los monómeros de IgM se encuentran en la superficie de las células M.

Los dímeros de IgA se encuentran en fluidos corporales como la saliva, las lágrimas, el calostro y la leche y las secreciones mucosas del tubo digestivo, de las vías respiratorias y del aparato genitourinario. Estas superficies mucosas están asociadas con tejido linfoide (el llamado MALT, del inglés *mucosa-associated lymphoid tissue*) que produce IgA. En un adulto medio, las superficies mucosas alcanzan unos 400 m^2 (la piel ocupa 6 m^2) y se producen grandes cantidades, aproximadamente 10 g diarios, de IgA secretora. En cambio, en el mismo tiempo, la cantidad de IgG producida por un individuo es de 5 g, la mitad de la IgA. La IgA secretora tiene dos moléculas de IgA unidas covalentemente a una cadena péptidica J y a una proteína especial, el *componente secretor*, que ayuda en el transporte de la IgA a través de las membranas

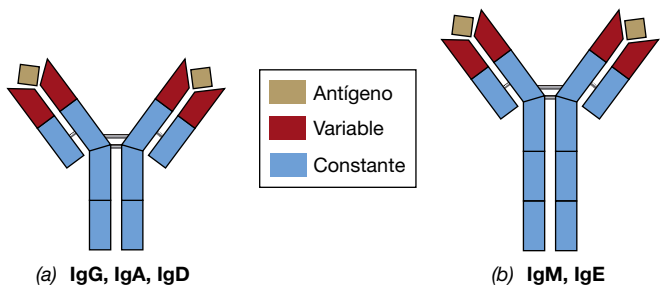


Figura 25.17 Clases de inmunoglobulinas. Todas las clases de inmunoglobulinas tienen dominios V_P y V_L que se unen a los antígenos. *(a)* La IgA y la IgD tienen tres dominios constantes. *(b)* Las cadenas pesadas de las IgM e IgE tienen un cuarto dominio constante.

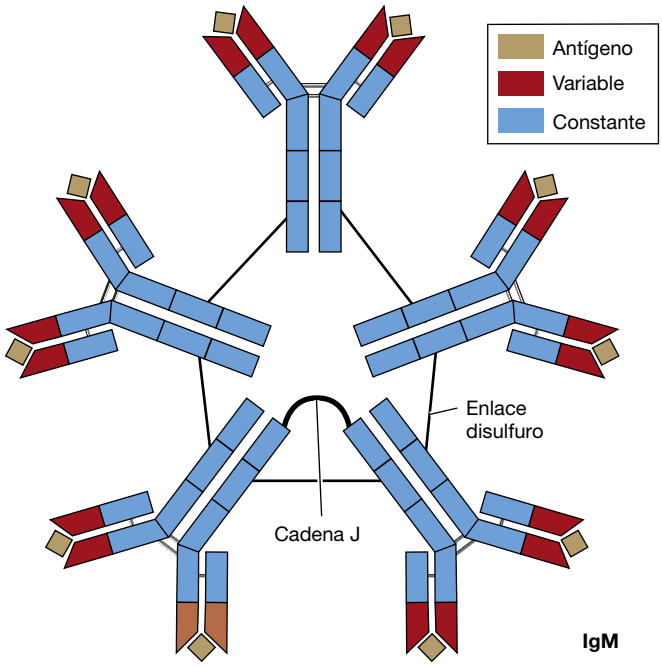


Figura 25.18 **Inmunoglobulina M.** La IgM se encuentra en el suero como proteína pentamérica, formada por cinco IgM monoméricas unidas entre sí mediante puentes disulfuro, y por una cadena proteínica J. Debido a la estructura pentamérica, la IgM puede unirse hasta a diez antígenos.

(Figura 25.19). Además, la IgA está presente en el suero en su forma monomérica (Tabla 25.3).

La IgE está presente en muy baja concentración en el suero sanguíneo (aproximadamente, solo una de cada 50.000 moléculas de inmunoglobulina corresponde a la IgE) y en su mayor parte está unida a células. Por ejemplo, a eosinófilos, a los que se unen por la región constante y a los que capacita para enfrentarse a parásitos eucariotas como los esquistosomas u otros gusanos. De igual manera, la IgE se une a los mastocitos. La unión de los antígenos a las porciones variables de unión a antígeno de los mastocitos causan la liberación del contenido de estos últimos, proceso conocido como desgranulación, que desencadena una hipersensibilidad inmediata (o alergia; Sección 24.8.). El peso molecular de la IgE es bastante más alto que el resto de inmunoglobulinas (Tabla 25.3) porque, como ocurre con la IgM, la IgE tiene un cuarto dominio constante

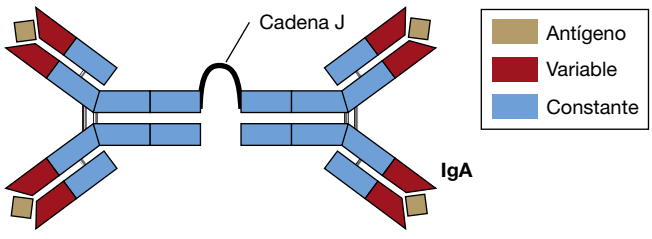


Figura 25.19 **Inmunoglobulina A.** La IgA secretora (sIgA) se encuentra a menudo en las secreciones corporales como un dímero formado por dos IgA unidas entre sí covalentemente por la cadena proteínica J. Un componente secretor (no mostrado en la Figura) ayuda al transporte de la IgA a través de las membranas mucosas.

(Figura 25.17). Es este cuarto dominio el que se une a eosinófilos y mastocitos, y esta unión es crítica para activar las reacciones de protección y alérgicas asociadas a este tipo de células (Figura 24.17).

La IgD (Figura 25.17) está presente en el suero en concentraciones bajas y no se sabe que tenga una función protectora exclusiva. No obstante, como la IgM, la IgD es abundante en la superficie de las células B, especialmente en las células B de memoria.

MINIRREVISIÓN

- Indique los dominios de las cadenas pesadas y de las cadenas ligeras de los anticuerpos que se unen al antígeno.
- Describa las diferencias entre las clases de anticuerpos según sus características estructurales, patrones de expresión y función.

25.8 Producción de anticuerpos

Se conoce bien la secuencia de sucesos que conduce a la producción de anticuerpos tras la exposición al antígeno. A nivel genético, las células B y las T emplean recombinaciones y mecanismos de mutación para generar redistribuciones genéticas que pueden codificar un número ilimitado de sitios diferentes de unión al antígeno. A nivel celular, una serie de interacciones complejas entre las células B y las T produce anticuerpos que proporcionan una protección inmunitaria específica eficaz.

Generación de la diversidad de los receptores

Cada individuo es capaz de producir miles de millones de anticuerpos y TCR diferentes, destinado cada uno a interaccionar con uno de los innumerables antígenos que hay en el ambiente. ¿Cómo logra el sistema inmunitario producir tal número de proteínas específicas de cada antígeno? La respuesta está en una capacidad propia solo de las células B y T. La producción de anticuerpos comienza con una reorganización secuencial de los genes de las inmunoglobulinas. Durante el desarrollo de las células B en la médula ósea, los genes individuales, tanto de las cadenas ligeras como los de las pesadas, se reorganizan. Estos genes se combinan por rotura y empalme (*gene splicing*) y su reorganización en las células B que se están desarrollando, proceso que se conoce como *recombinación somática*.

La Figura 25.20 muestra que la redistribución del gen de una cadena ligera kappa ocasiona la producción de una proteína de cadena ligera. El complejo de los genes de las cadenas pesadas contiene un número aun mayor de segmentos génicos, lo que permite más recombinaciones y posibles cadenas pesadas (Figura 26.8). Sin embargo en una célula B concreta se produce una sola redistribución, con lo que el resultado final es un solo gen de cadena ligera y otro de cadena pesada en cualquier célula B. La transcripción y la traducción de cada uno de los genes reorganizados conducen a la formación de un anticuerpo que es exclusivo de esa célula y está formado por dos proteínas de cadena pesada y dos proteínas de cadena ligera. Este anticuerpo es el que se expresa en la superficie de la célula B.

La exposición a un antígeno es necesaria para estimular a la célula B para que produzca anticuerpos solubles y para su diferenciación en una célula plasmática, que producirá más copias

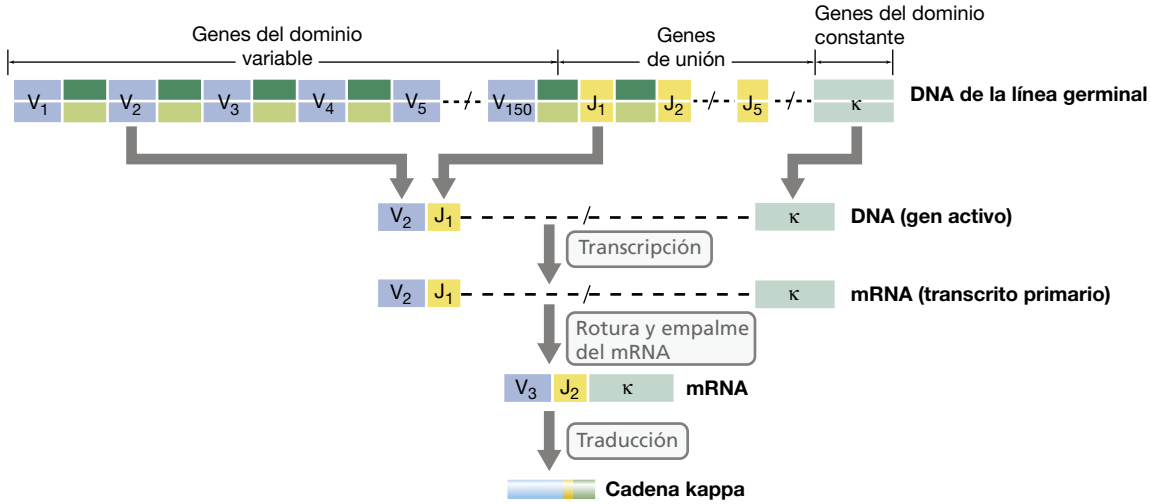


Figura 25.20 Reorganización del gen de la cadena ligera kappa de la inmunoglobulina en células B humanas. En el cromosoma 2 humano, los segmentos génicos están dispuestos en tándem en los genes de la cadena ligera kappa (κ). La redistribución del DNA se completa durante la maduración de la célula B. Cualquiera de las 150 secuencias V (variables) se puede combinar con cualquiera de las 5 secuencias de unión J. Por tanto, hay 750 (5 × 150) recombinaciones posibles que codificarían 750 dominios variables de cadenas kappa. No obstante, en cada célula B solo se da una de estas reordenaciones.

del anticuerpo. Además, la exposición al antígeno induce mutaciones somáticas de forma acelerada en los genes de los anticuerpos, un fenómeno que se conoce como *hipermutación somática* y que diversifica aún más el reportorio de anticuerpos.

Este gran número de reordenaciones posibles, junto con la hipermutación somática después de la exposición al antígeno, asegura un número casi ilimitado de anticuerpos diferentes. Aunque no existe hipermutación somática en las células T, sí hay reordenaciones semejantes a las de las células B durante su desarrollo, por lo que los TCR también muestran una diversidad considerable.

Producción de anticuerpos y memoria inmunológica

Empezando con una célula B, la producción de anticuerpos se inicia con la exposición a un antígeno y culmina con la producción y secreción de un anticuerpo específico siguiendo una cadena de sucesos bien definida:

1. Los antígenos se introducen a través del sistema circulatorio sanguíneo y linfático hasta los órganos linfoides secundarios como los ganglios linfáticos, el bazo y el MALT (↻ Sección 24.1 y Figura 24.2). La vía de exposición al antígeno influye en la clase de anticuerpos producidos. Los antígenos introducidos en el torrente circulatorio por inyección o por infección viajan hasta el bazo, donde se forman las IgM, IgG e IgA séricas. Cuando la vía es subcutánea, intradérmica, tópica o intraperitoneal, el sistema linfático transporta los antígenos hasta el ganglio más próximo, estimulando también la producción de IgM, IgG e IgA séricas. En cambio, los antígenos que se introducen por las superficies mucosas van a parar al MALT más próximo. Por ejemplo, los antígenos administrados oralmente alcanzan el MALT del intestino y allí estimulan preferentemente la producción de IgA secretora.
2. Tras el contacto inicial con el antígeno, cada célula B estimulada se multiplica y se diferencia en células plasmáticas productoras de anticuerpos y células de memoria (Figura 25.13). Aunque las *células plasmáticas* tienen una vida relativamente corta (menos de una semana), producen y secretan una cantidad considerable de anticuerpos, principalmente IgM en la *repuesta primaria* (**Figura 25.21**). Después de un corto periodo de latencia, los anticuerpos aparecen en la sangre y su *título* (cantidad de anticuerpos) aumenta progresivamente. A medida que el antígeno desaparece, la respuesta primaria disminuye lentamente.
3. Las **células B de memoria** generadas por la exposición inicial al antígeno pueden vivir durante años. Una nueva exposición al mismo antígeno estimula inmediatamente en estas células su diferenciación en plasmáticas y la producción de anticuerpos; para ello no necesitan la ayuda de las células T. En la segunda, o en subsiguientes exposiciones al antígeno, los títulos de anticuerpos suben rápidamente, a menudo de 10-100 veces más alto que el producido por la primera exposición al antígeno. Este aumento es consecuencia de la *respuesta secundaria* e ilustra dos características de la memoria inmunitaria: una mayor rapidez y una mayor producción de anticuerpos que en la respuesta primaria. Además, en la respuesta secundaria se produce habitualmente un cambio en la clase de inmunoglobulinas producidas. En el suero, el cambio más común es desde la IgM, que aparecía en la respuesta primaria, a IgG e IgA, un fenómeno que se conoce como *cambio de clase* (Figura 25.21).
4. Los títulos de anticuerpos disminuyen lentamente con el tiempo, pero futuras exposiciones al mismo antígeno pueden causar otra respuesta de memoria. La rapidez y la intensidad de estas respuestas son la base de las llamadas «inyecciones de recuerdo» de las vacunas (por ejemplo, la inyección anual de la vacuna antirrábica en los animales domésticos). La revacunación periódica

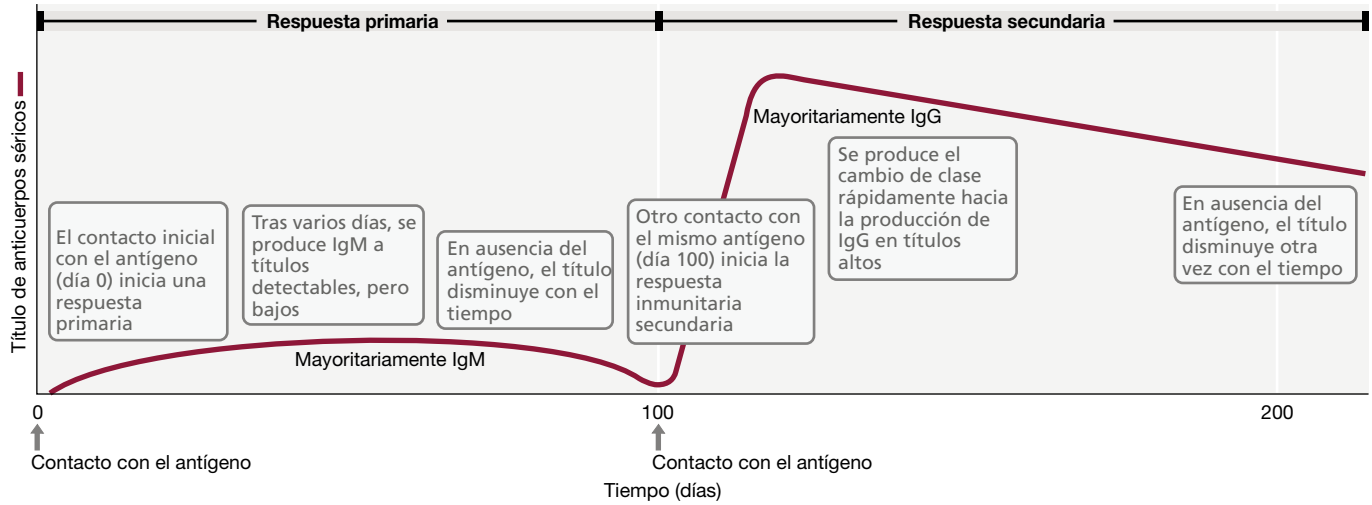


Figura 25.21 **Respuestas primaria y secundaria de anticuerpos en el suero.** El antígeno inyectado en los días 0 y 100 debe ser el mismo para inducir una respuesta secundaria. Esta última, también llamada respuesta de recuerdo, puede ser más de 10 veces más intensa que la primera y se da con cambio de clase desde IgM, en la respuesta primaria, a IgG, en la respuesta secundaria.

mantiene altos los niveles de células B de memoria y de anticuerpos circulantes específicos contra un determinado antígeno, proporcionando así una protección activa y duradera al individuo frente a una enfermedad infecciosa determinada.

MINIRREVISIÓN

- Explique cómo puede redistribuirse un número limitado de genes de inmunoglobulinas para formar un número casi ilimitado de anticuerpos.
- Explique las bases de la revacunación periódica de niños y adultos.

25.9 Anticuerpos, complemento y destrucción de patógenos

El sistema del **complemento** o, simplemente complemento, es un grupo de proteínas que interaccionan secuencialmente y son importantes tanto en la inmunidad innata como en la adaptativa, pues ambas disponen de mecanismos para activarlas.

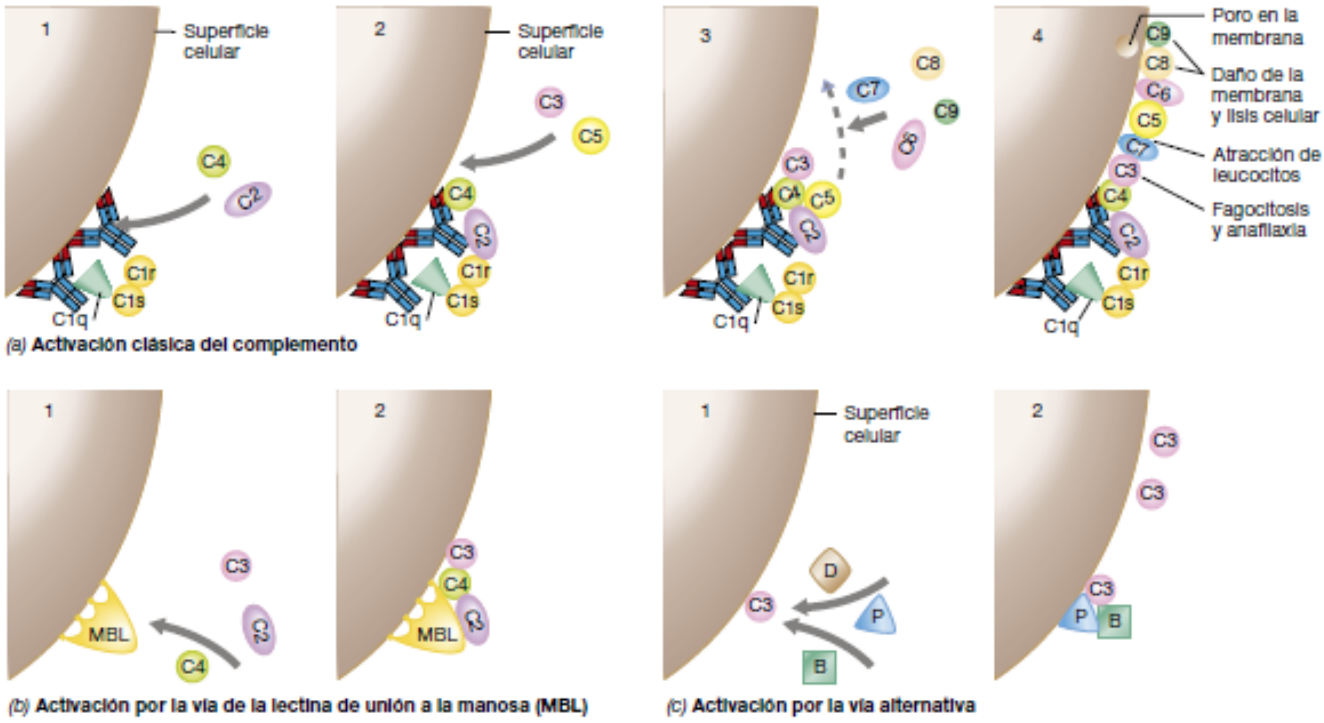
Activación del complemento por la vía clásica y daño celular

Las proteínas del complemento reaccionan secuencialmente tras la exposición al complejo antígeno-anticuerpo en una célula diana. La activación del complemento puede ocasionar daño en la membrana de la célula diana o su lisis o bien favorecer su fagocitosis, proceso este último que se conoce como *opsonización*. El complemento está presente en el suero sanguíneo y la mayoría de las IgG y de las IgM pueden unirse a él (Tabla 25.3).

Las proteínas que forman parte del complemento se designan con la letra C y un número (C1, C2, C3, etc.). La activación clásica del complemento se desencadena por la unión de IgG o IgM a un antígeno, especialmente a los de la superficie de una célula. Los anticuerpos que tienen esta capacidad se dice que *fijan* las proteínas del complemento, que están siempre presentes. Dichas proteínas reaccionan siguiendo una secuencia definida en cascada, de forma que la activación de una de ellos conduce a la activación de la siguiente y así sucesivamente. Las etapas clave, que se muestran en la Figura 25.22, comienzan con la unión del anticuerpo al antígeno (iniciación) y la unión de los constituyentes de C1 (C1q, C1r y C1s) al complejo antígeno-anticuerpo, lo que conduce al depósito de C4-C2 en un sitio contiguo de la membrana. Este complejo C4-C2 es la llamada *convertasa de C3*, y es una enzima que escinde C3 en dos fragmentos: C3a y C3b. El segundo, C3b, se une a la propia convertasa formando un complejo que inicia la interacción con C5-C6-C7 en un segundo sitio de la membrana, lo que a su vez conduce al depósito de C8 y C9. El grupo resultante comprende a todos estos componentes (de C5 a C9) y se conoce como *complejo de ataque a la membrana* (MAC, del inglés *membrane attack complex*), pues se inserta en la misma y forma poros a través de los cuales se escapa el contenido citoplasmático, causando la lisis de la célula diana (Figura 25.23).

Entre los fragmentos proteicos liberados durante la activación del complemento hay quimioatrayentes denominados *anafilotoxinas*; son moléculas que provocan reacciones inflamatorias en el sitio donde se deposita el complemento. Por ejemplo, cuando C3 se escinde en C3a y C3b. Mientras esta última se fija a la célula diana, como se ha indicado antes, C3a permanece en solución y atrae y activa a los fagocitos, aumentando la fagocitosis. Las reacciones en las que intervienen los producto de la escisión de C5 resulta en dos fragmentos, C5a y C5b ocasionan la atracción de las células T, la liberación de citocinas y la respuesta inflamatoria.

Cuando se activa por el antígeno específico, el complemento es capaz de lisar muchas bacterias gramnegativas. Aunque las grampositivas son en general resistentes a la lisis por el complemento y por anticuerpos específicos, pueden ser destruidas por medio de opsonización.



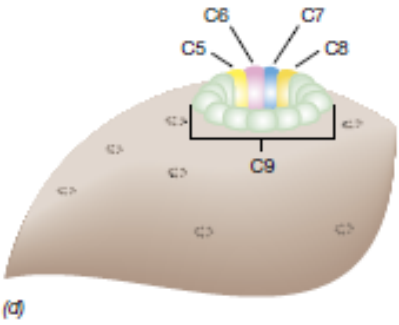


Figura 25.22 **Activación del complemento**. *(a)* Secuencia, orientación y actividad de los componentes de la vía clásica del complemento cuando interaccionan para lisar una célula. 1. Unión del anticuerpo y del complejo C1 (C1q, C1r y C1s). 2. El complejo C42 interacciona con C3. 3. El complejo C423 activa C5, el cual se une entonces a un sitio adyacente de la membrana. 4. La unión secuencial de C6, C7, C8 y C9 a C5 produce un poro en la membrana. Este complejo C5–C9 (MAC) actúa atacando a la membrana. *(b)* Vía de la lectina de unión a la manosa (MBL). Esta lectina se une a grupos manosa de la superficie de la bacteria y proporciona un punto de formación del complejo C423. De esta forma, C3 activa C5 e inicia la formación del MAC (como indicado en la etapa 3, véase más arriba). *(c)* Vía alternativa. C3, unido a la célula, atrae las proteínas B y D, que activan C3. El complejo C3B es estabilizado en la membrana por el factor P (la properdina) y actúa entonces sobre el C3 sérico libre provocando el depósito de más C3 sobre la membrana. El C3 fijado activa C5, como en la etapa 3 (véase más arriba) de la vía clásica de activación e inicia la formación del MAC (véase la etapa 3 más arriba). *(d)* Vista esquemática del poro formado por lo componentes del complemento desde C5 a C9.

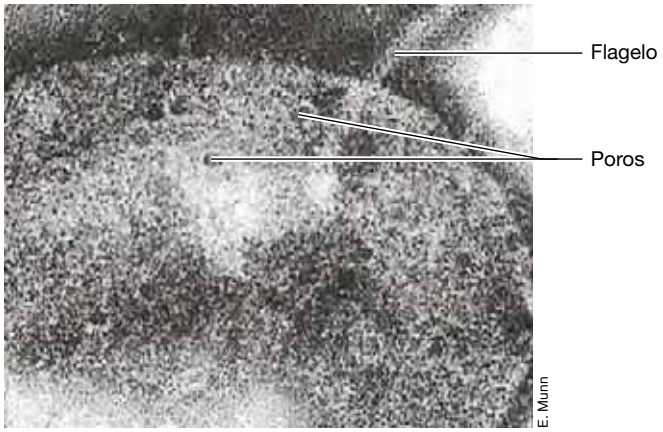


Figura 25.23 **Acción del complemento sobre células bacterianas**. Micrografía electrónica de *Salmonella enterica* serovar Paratyphi que muestra los poros formados en la envoltura celular bacteriana como consecuencia de la reacción entre los antígenos de la misma, sus anticuerpos específicos y el complemento.

Opsonización

Por **opsonización** se entiende la potenciación de la fagocitosis causada por la deposición del complemento o de un anticuerpo en la superficie de un patógeno o de otro tipo de antígeno. Por ejemplo, una célula bacteriana es más probable que sea fagocitada cuando un anticuerpo se une a un antígeno de su superficie. Si el complemento se une a un complejo antígeno-anticuerpo en la superficie de la célula, es más fácil que esta sea ingerida. Esto ocurre porque la mayoría de los fagocitos, como los neutrófilos, los macrófagos y las células B, tiene receptores de anticuerpos (FcR) y de C3 (C3R). Dichos receptores se unen, respectivamente, al dominio constante del anticuerpo y a la proteína de complemento C3. La fagocitosis se multiplica por 10 cuando los anticuerpos interaccionan con los FcR y otras 10 veces más si también hay interacciones C3b-C3R. En el caso de las bacterias grampositivas, la unión de los anticuerpos a los antígenos de superficie promueve la opsonización, lo que conduce a la destrucción del patógeno al mejorar la fagocitosis.

Lectina de unión a la manosa y vías alternativas

Además de la activación del complemento por la vía clásica, C3 puede depositarse en las membranas y activar el MAC si actúan las vías de la lectina de unión a la manosa (MBL del inglés *mannose-biding lectin*) o por la llamada vía alternativa. Ambas vías dependen del reconocimiento de moléculas del patógeno y son importantes en la respuesta inmunitaria innata (**Figura 25.24**).

La vía MBL se activa por la proteína sérica del mismo nombre. Esta proteína es un PRR soluble (Sección 25.1) que se une a polisacáridos que contienen manosa, un azúcar presente solo en la superficie de células bacterianas (Figura 25.24). El complejo resultante se asemeja a los complejos C1 de la vía clásica del complemento y fija C4 y C2, produciendo así la convertasa de C3 y uniendo C3b a C42. El complejo resultante de esta unión cataliza la formación del MAC C5-9, con la subsiguiente lisis y opsonización de la célula bacteriana.

La vía alternativa es un mecanismo de activación del complemento no específico que emplea muchos de los componentes de la cascada clásica y algunas proteínas séricas exclusivas. Juntos inducen la opsonización y activan el MAC C5-9. La primera fase de la activación de la vía alternativa es la unión a la superficie de la célula bacteriana del componente C3b producido por la vía clásica o MBL. Este C3b puede entonces unirse a una proteína de la vía alternativa, el factor B, que es escindido por el factor D para producir Ba y Bb solubles. Se forma así un complejo C3bBb, que es otro tipo de convertasa de C3. El factor P o properdina, que se une también a la pared celular bacteriana, puede unirse a C3Bb para C3bBbP, que es una convertasa de C3 muy estable porque está fijada en la superficie de la célula como lo están las convertasas producidas por las vías clásica y MBL (Figura 25.4). Entonces C3bBbP atrae más C3, que se deposita sobre la membrana y se inicia la misma reacción del complejo C423 unido a membrana de la vía clásica del complemento. El resultado de esta reacción es la formación de MAC C5-9 y la destrucción de la célula o una opsonización reforzada a través de los receptores C3. La vía alternativa y la vía MBL no se dirigen de manera específica a los invasores bacterianos sino que llevan a la activación del MAC y a la opsonización a través de la formación de convertasas C3 estables. La MBL y los factores B, D y P, así como las proteínas del complemento clásicas forman parte de la respuesta inmunitaria innata. Para su activación, ni la vía alternativa ni la vía de la MBL requieren una exposición previa al antígeno ni tampoco la presencia de anticuerpos. Mediante la vía alternativa y la MBL, la convertasa C3 desencadena la formación de MAC C5-C9 o refuerza la opsonización a traves de los receptores de C3 en la superficie de los fagocitos.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué clases de anticuerpos fijan el complemento?
- ¿Qué es la opsonización y cómo ayuda a prevenir enfermedades bacterianas?
- ¿Por qué se considera que la vía de la lectina de unión a la manosa y la vía alternativa forman parte del sistema inmunitario innato?

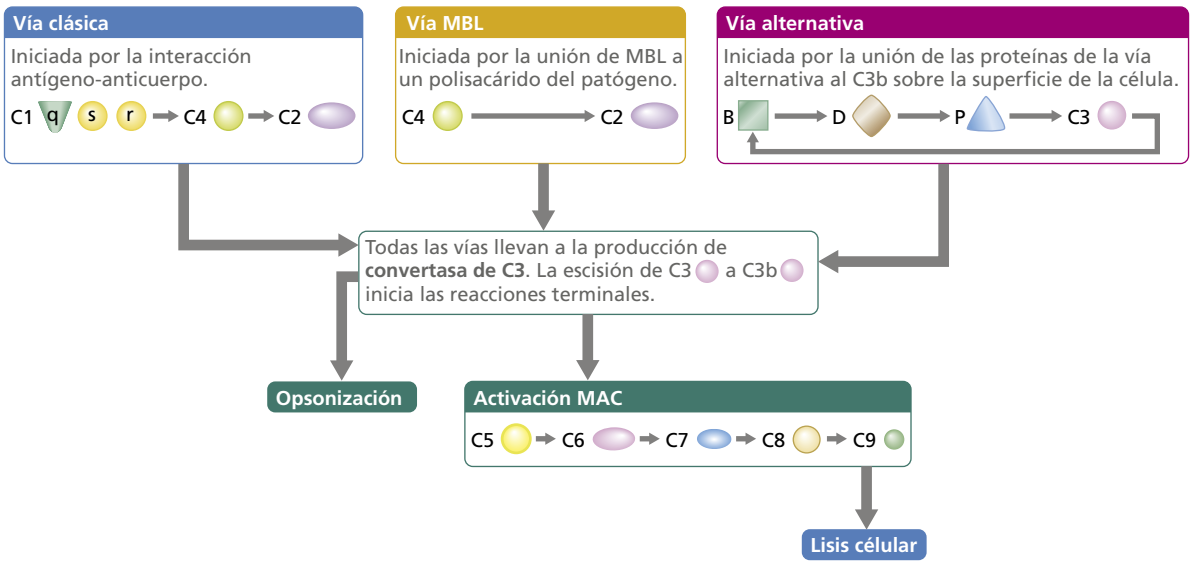


Figura 25.24 **Activación del sistema del complemento.** Se muestran las proteínas que activan el sistema del complemento por las vías clásicas, de la lectina de unión a la manosa (MBL) y alternativa. Las proteínas interaccionan en una secuencia ordenada, como muestran las flechas. Cada vía lleva de manera independiente a la producción de convertasa de C3 que escinde C3 para generar C3b, la proteína que, además de opsonizar, inicia la secuencia terminal que conduce a la lisis celular.

IDEAS PRINCIPALES

25.1 • Los fagocitos usan los receptores de reconocimiento de patógenos (PRR) presentes en sus membranas para identificar patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP). La interacción PRR-PAMP activa la destrucción de los patógenos por los fagocitos y causa una reacción inflamatoria. Sin embargo, muchos patógenos han desarrollado mecanismos para inhibir los fagocitos.

25.2 • la respuesta inmunitaria adaptativa se caracteriza por la *especificidad* frente al antígeno, la capacidad para responder con mayor intensidad cuando se da una nueva exposición al mismo antígeno (*memoria*) y la adquisición de la incapacidad para interaccionar con antígenos propios (*tolerancia*).

25.3 • Los inmunógenos son macromoléculas extrañas al organismo que inducen una respuesta inmunitaria. Los antígenos son moléculas reconocidas por los anticuerpos o por los TCR. Los anticuerpos reconocen epítopos lineales y conformacionales; los TCR solo los epítopos peptídicos lineales.

25.4 • Las células T interaccionan con células portadoras de antígeno, como las APC y las células infectadas por patógenos. Los TCR se unen a antígenos peptídicos presentados por las proteínas MHC en la superficie de células infectadas o en APC. Estas interacciones activan las células T para matar las células portadoras de antígenos, o para promover reacciones inflamatorias o la producción de anticuerpos.

25.5 • Las células T citotóxicas (Tc) reconocen antígenos en la superficie de células diana infectadas por virus o en células tumorales por medio de TCR específicos de tales antígenos. Este reconocimiento desencadena la liberación de perforinas y granzimas que actúan matando la célula diana. Las células NK no necesitan la presencia de antígenos, sino que responden a proteínas de estrés expuestas en la superficie de células infectadas por virus o tumorales, y emplean también perforinas y granzimas pata matar sus células diana.

25.6 • Por medio de citocinas, las células Th1 inflamatorias activan células efectoras macrofágicas; las células Th2 activan células B. Las células Th17 son activadas por células dendríticas estimuladas por patógenos y atraen neutrófilos. Las células Treg producen citocinas que suprimen la respuesta inmunitaria adaptativa.

25.7 • Cada inmunoglobulina (anticuerpo) es una proteína formada por dos cadenas pesadas y dos ligeras. El sitio de unión al antígeno está formado por la interacción de las regiones variables de una cadena pesada y una cadena ligera. Cada clase de inmunoglobulina tiene sus propias características estructurales, patrón de expresión y función.

25.8 • La producción de anticuerpos se inicia cuando un antígeno se pone en contacto con una célula B específica para el antígeno. Dicha célula B procesa el antígeno y lo presenta a una célula Th2 también específica, que se activa y produce citocinas que inducen la activación y proliferación clonal de la célula B y su diferenciación para producir anticuerpos. Las células B activadas viven durante años como células de memoria y, tras una nueva exposición al antígeno pueden expandirse rápidamente y diferenciarse para producir títulos altos de anticuerpos.

25.9 • El sistema del complemento cataliza la opsonización y lisis de células bacterianas. El complemento se activa por reacciones antígeno-anticuerpo o por interacciones con activadores no específicos, como la lectina de unión a la manosa. La activación del complemento puede ser producida tanto por el sistema inmunitario adaptativo como con el innato. El complemento puede reforzar la fagocitosis o causar la lisis de la célula.

MasteringMicrobiology®

Revise lo que sabe y descubra lo que ha aprendido con MasteringMicrobiology. Acceda a material de estudio, revisiones de los capítulos, animaciones y tutoriales de microbiología práctica en el Área de Estudio y asegúrese de que ha asimilado todo el contenido de este capítulo.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Antígeno: molécula capaz de interaccionar con componentes específicos del sistema inmunitario.

Célula B de memoria: célula de larga vida que responde a un antígeno específico.

Células NK (del inglés *natural killer*)**:** linfocito especializado que reconoce y destruye de manera no específica células extrañas o células hospedadoras infectadas.

Células T citotóxicas (Tc): linfocito que interacciona con los complejos MHC I-péptido a través de su receptor de células T y produce citotoxinas que matan a la célula diana con la que interacciona.

Células Th (T colaboradoras): linfocito que interacciona con complejos MHC II-péptido a través de su receptor de células T y produce citocinas que actúan sobre otras células. Los subgrupos Th incluyen las células **Th1** que activan los macrófagos, las células **Th2** que activan las células B, las células **Th17** que activan los neutrófilos, y las células **Treg** que suprimen la inmunidad adaptativa.

Complemento: serie de proteínas que reaccionan de manera secuencial con complejos anticuerpo-antígeno, lectinas de unión a manosa, o proteínas de la vía de activación alternativa para potenciar o amplificar la destrucción de la célula diana.

Correceptor CD4: proteína que se encuentra exclusivamente en las células Th y que interacciona con el MHC II de las células presentadoras de antígeno.

Correceptor CD8: proteína que se encuentra exclusivamente sobre las células Tc que interacciona con MHC I en la célula diana.

Dominio: región de una proteína con una estructura y función definidas.

Epítopo: porción de un antígeno que reacciona con un anticuerpo específico o con un receptor de células T.

Inmunógeno: molécula capaz de provocar una respuesta inmunitaria.

Opsonización: mejora la fagocitosis debido a la precipitación del anticuerpo o el complemento sobre la superficie de un patógeno o de otro antígeno.

Proteína MHC de clase I: molécula presentadora de antígeno que se encuentra en todas las células con núcleo de los vertebrados.

Proteína MHC de clase II: molécula presentadora de antígeno que se encuentra en los macrófagos, en las células B, y en las células dendríticas.

Receptor Tipo Toll («Toll-like» receptor o TLR): receptor en los fagocitos que reconoce un patrón molecular asociado a patógenos e interacciona con él.

PREGUNTAS DE REPASO

1. Identifique algunos patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) que son reconocidos por los receptores de reconocimiento de patrones (PRR). ¿Cuál es la importancia de las interacciones entre estas moléculas? (Sección 25.1)
2. Explique cómo los fagocitos engullen y destruyen los microorganismos, con especial atención a los mecanismos dependientes de oxígeno. (Sección 25.1)
3. Describa las tres características que definen la respuesta inmunitaria adaptativa. (Sección 25.2)
4. ¿Qué moléculas inducen respuestas inmunitarias? ¿Qué propiedades tiene que tener una molécula para inducir una respuesta inmunitaria? (Sección 25.3)
5. Describa la estructura básica de las proteínas del complejo principal de histocompatibilidad (MHC) de clase I y del de clase II. ¿En qué se diferencia su funcionamiento? (Sección 25.4)
6. Indique las diferencias entre células Tc y células NK. ¿Cuál es la señal de activación para cada tipo de célula? (Sección 25.5)
7. ¿En qué se diferencian las células Th de las células Tc? Indique las diferentes funciones de las células Th1, Th2, Th17 y Treg. (Sección 25.6)
8. Describa las diferencias estructurales y funcionales de las cinco clases principales de anticuerpos. (Sección 25.7)
9. Identifique las interacciones celulares en la producción de anticuerpos por las células B. (Sección 25.8)
10. Describa el sistema del complemento. ¿Es el orden de la interacción entre las proteínas importante? ¿Por qué lo es o por qué no lo es? Indique los componentes de la vía de la lectina de unión a manosa para la activación del complemento. Indique los componentes de la vía alternativa para la activación del complemento. (Sección 25.9)

EJERCICIOS PRÁCTICOS

1. Describa los posibles problemas que surgirían si una persona tuviera una incapacidad adquirida para fagocitar patógenos. ¿Podría esa persona sobrevivir en un ambiente normal, como un campus universitario? ¿Qué defectos en el fagocito podrían causar la falta de fagocitosis?
2. La especificidad y la tolerancia son cualidades necesarias para una respuesta inmunitaria adaptativa. Sin embargo, la memoria parece ser menos crítica, al menos a primera vista. Defina el papel de la memoria inmunitaria y explique cómo la producción y el mantenimiento de las células de memoria pueden beneficiar al hospedador a largo plazo. ¿Es la memoria una característica conveniente para la inmunidad innata?
3. ¿Qué problemas surgirían si una persona tiene una deficiencia hereditaria que ocasionara una incapacidad para presentar antígenos a las células Tc? ¿Cuáles serían los problemas si esa persona tuviera una deficiencia en la presentación del antígeno a las células Th1? ¿Y a las células Th2? ¿Y a todas las células T? ¿Qué moléculas podrían ser deficientes en cada situación? ¿Podría una persona con cualquiera de estas deficiencias sobrevivir en un ambiente normal? Explique cada caso.
4. Los anticuerpos de la clase IgA probablemente sean más predominantes que los de la clase IgG. Explique esto y defina los beneficios que puede tener para el hospedador.
5. ¿Está de acuerdo con la siguiente afirmación?: El complemento es un componente crítico en la defensa mediada por anticuerpos. Justifique su respuesta. ¿Qué podría suceder a las personas que carecen del componente C3 del complemento? ¿Y a las que carecen del C5? ¿Y a las que carecen del factor B (vía alternativa)? ¿Y a las que carecen de la lectina de unión a la manosa (MBL)?

CAPÍTULO

26 · Inmunología molecular

microbiología actual

Los antiguos homínidos ayudaron a conformar la inmunidad moderna

Los genes que codifican las proteínas de clase I del complejo principal de histocompatibilidad del sistema inmunitario humano (también llamado complejo antigénico leucocitario humano o HLA (del inglés *human leukocyte antigens*) presentan un elevado polimorfismo, con varios centenares de alelos en algunos *loci*. Los productos de los genes HLA tienen una importancia crucial para presentar antígenos a las células T en los primeros pasos de la respuesta inmunitaria. Se pueden trazar la genealogía de un individuo analizando el espectro de genes HLA de esa persona, y este es uno de los métodos utilizados para probar (o descartar) la paternidad. En investigaciones recientes sobre el origen de la especie humana, los genes HLA se han usado para descubrir la antigüedad y la migración de los antiguos homínidos[1].

Los resultados de estas investigaciones sugieren que algunos genes HLA de los humanos modernos fueron adquiridos como resultado de un antiguo cruzamiento entre al menos dos grupos relacionados de homínidos que después se extinguieron, los neandertales y los denisovanos. Los denisovanos, un linaje descubierto recientemente en Siberia, fueron un grupo de homínidos muy relacionado con los Neandertales (foto) que poblaron una gran parte de Eurasia.

Los genes HLA de los denisovanos se encuentran hoy en los humanos de las islas del Pacífico Sur y en los pueblos aborígenes de Australia. La conclusión es que los denisovanos vivieron en Eurasia y se cruzaron con humanos cuando dejaron África y finalmente poblaron las islas del Pacífico Sur y regiones más allá. Sin embargo, puesto que otros asiáticos actuales no tienen HLA del tipo denisovano, debió de darse una segunda migración (de homínidos) que no se cruzó con los denisovanos, quizás porque se extinguieron.

Los genes HLA denisovanos no se encuentran en pueblos de África. Por tanto, nuestros antepasados que dejaron África debieron de adquirir genes denisovanos cuando las migraciones ya habían terminado. Los genes HLA denisovanos dotaron a los humanos modernos de una diversidad genética adicional y probablemente reforzaron el conjunto de su respuesta inmunitaria y aumentaron su supervivencia.

[1]Abi-Rached, *et al.* 2011. The shaping of modern human immune systems by multiregional admixture with archaic humans. *Science* 334: 89-94.



I Receptores e inmunidad 840

II El complejo principal de histocompatibilidad (MHC) 845

III Anticuerpos y receptores de células T 847

IV Interruptores moleculares en la inmunidad 852

En este capítulo examinaremos las moléculas de la respuesta inmunitaria innata y de la adaptativa, así como los mecanismos que afectan a la diferenciación celular y a la activación de la inmunidad. En primer lugar examinaremos las proteínas de la respuesta inmunitaria innata que interaccionan con dianas moleculares compartidas por los patógenos. A continuación, trataremos de la estructura y el desarrollo de los receptores de la respuesta inmunitaria adaptativa. Para terminar, presentaremos los mecanismos que activan esta última.

I • Receptores e inmunidad

26.1 Inmunidad innata y reconocimiento de patrones

Entre los organismos multicelulares, desde las plantas primitivas hasta los vertebrados, es muy frecuente que tengan un sistema de reconocimiento *innato*, que les sirve para identificar y controlar patógenos. Muchos invertebrados tienen genes homólogos a los que en los animales superiores sirven como receptores de reconocimiento de patrones.

Patrones moleculares asociados a los patógenos y receptores de reconocimiento de patrones

Los *patrones moleculares asociados a patógenos* (PAMP, del inglés *pathogen-associated molecular patterns*) son componentes estructurales comunes dentro de un grupo concreto de agentes infecciosos. Los PAMP son normalmente macromoléculas e incluyen polisacáridos, proteínas, ácidos nucleicos o incluso lípidos. El lipopolisacárido de la pared de las bacterias gramnegativas (↻ Sección 2.11) es un excelente ejemplo de PAMP.

Los *receptores de reconocimiento de patrones* (PRR, del inglés *pattern recognition receptors*) son un grupo de proteínas del hospedador solubles o asociadas a membrana que interaccionan con los PAMP (**Tabla 26.1**). Un ejemplo de PRR extracelular y soluble es la lectina de unión a la manosa (MBL) (↻ Sección 25.9). El PAMP reconocido por la MBL es la manosa, un azúcar que se encuentra como subunidades repetidas en los polisacáridos de bacterias y hongos (la manosa de las células de los mamíferos es inaccesible a la MBL). La proteína C reactiva, un PRR extracelular soluble, es una *proteína de la fase aguda* producida por el hígado en respuesta a la inflamación. La proteína C reactiva interacciona con la fosfocolina, una macromolécula de la pared celular de las bacterias grampositivas. La MBL y la proteína C reactiva se unen a los PAMP de la superficie de los patógenos y a proteínas del complemento, lo que ocasiona la lisis u opsonización de la célula diana.

Los PRR fueron identificados por primera vez como receptores asociados a membrana en el invertebrado *Drosophila* (la mosca del vinagre) y se les denominó receptores Toll. Son receptores que se han conservado a lo largo de la evolución (↻ Explora el mundo microbiano. Receptores Toll de *Drosophila:* Una antigua respuesta a la infección). Los *receptores tipo Toll* (TLR, del inglés *Toll-like receptor*s) se encuentran extensamente distribuidos en las células del sistema inmunitario innato de los mamíferos y son, desde el punto de vista estructural, funcional y evolutivo, homólogos de los receptores Toll. Estos receptores se encuentran asociados a la membrana de la superficie o de vesículas intracelulares de macrófagos, monocitos, células dendríticas y neutrófilos, todas ellas con la capacidad de ingerir y destruir patógenos. En los humanos, se han identificado un mínimo de nueve TLR que interaccionan con una serie de PAMP asociados a membrana o solubles de virus, bacterias y hongos.

Los *receptores de tipo NOD* (NLRs, del inglés *NOD-like receptors*) son una familia de PRR que tiene un dominio de oligomerización de unión a nucleótidos o dominio NOD (del inglés *nucleotide-binding oligomerization domain).* Los NLR son PRR solubles que se encuentran en el citoplasma. NOD1 y NOD2 interaccionan con los componentes del peptidoglicano de la pared celular de las bacterias gramnegativas y grampositivas, respectivamente, y estimulan la producción de péptidos antimicrobianos y citocinas pro-inflamatorias (Tabla 26.1). El receptor de tipo NOD con dominio pirina 3 NLRP3 (del inglés *NOD-like receptor pyrin 3*) interacciona con otras proteínas para formar una estructura denominada *inflamasoma*. El inflamasoma citoplasmático detecta indicadores del estrés celular, como la perdida de iones potasio (K^+) de las células dañadas, y desencadena la producción de citocinas pro-inflamatorias, que inician la inflamación.

Algunos TLR interaccionan con más de un PAMP. Por ejemplo, TLR-4 forma parte de la respuesta inmunitaria innata al LPS bacteriano y también responde a las *proteínas del choque térmico* producidas por células del hospedador dañadas. Tanto el LPS como las proteínas del choque térmico interaccionan con TLR-4 a través de las proteínas correceptoras que, a su vez, interaccionan con TLR-4. En otros casos, el TLR se une directamente al PAMP sin la interacción con proteínas correceptoras, como en el caso de la unión entre la flagelina y TLR-5.

Transducción de señales en los fagocitos

La interacción de un PAMP con su PRR induce una *transducción de la señal* a través de la membrana, lo que inicia la transcripción y la traducción de proteínas de respuesta del hospedador de modo semejante a lo que ocurre en la transducción de la señal a través de la membrana en los procariotas (↻ Sección 7.7). La transducción de la señal iniciada con la interacción PAMP-PRR ocasiona un aumento de la fagocitosis, la muerte de los patógenos, inflamación y cicatrización de los tejidos (↻ Sección 24.5).

Por ejemplo, una vía de transducción de señales se puede activar por la unión del LPS (un PAMP) a TLR-4 (un PRR) (**Figura 26.1**). A continuación, TLR-4 se une a proteínas del citosol y comienza una cascada de reacciones que activa factores de transcripción como NFκB (del inglés *nuclear factor kappa B*), una proteína que reconoce sitios específicos de regulación en el DNA, e inicia la transcripción de los genes en dirección 3′. Muchos de los genes regulados por NFκB codifican proteínas del hospedador, como las citocinas que activan otras células e inician la inflamación.

Tabla 26.1 Receptores y dianas de la respuesta inmunitaria innata

Receptores de reconocimiento de patrones (PRR)	*Patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP)*	*Resultado de la interacción*
PRR extracelulares solubles		
Lectina de unión a manosa[a] (soluble)	Componentes de la superficie celular microbiana que contienen manosa (bacterias gramnegativas)	Activación del complemento
Proteína C reactiva (soluble)	Componentes de la pared celular de grampositivas	
PRR asociados a membrana plasmática		
TLR-1[b] (receptor tipo Toll 1)	Lipoproteínas de las micobacterias	Transducción de la señal, activación de los fagocitos e inflamación[c]
TLR-2	Peptidoglicano de bacterias grampositivas; zymosan en hongos	
TLR-4	LPS (lipopolisacárido) de bacterias gramnegativas	
TLR-5	Flagelina de bacterias	
TLR-6	Lipoproteínas de micobacterias; zymosan en hongos	
PRR asociados a membrana de endosomas		
TLR-3	RNA vírico bicatenario	Transducción de la señal, activación de los fagocitos e inflamación[c]
TLR-7	RNA vírico monocatenario	
TLR-8	RNA vírico monocatenario	
TLR-9	Oligonucleótidos CpG no metilados de bacterias	
PRR citoplasmáticos		
NLR (Receptores tipo NOD)		
NOD1	Peptidoglicano de bacterias gramnegativas	Estimulan la producción de péptidos antimicrobianos y citocinas proinflamatorias
NOD2	Peptidoglicano de bacterias grampositivas	
NLRP3	Componente del inflamasoma	Desencadena la liberación de citocinas proinflamatorias. Aumenta la inflamación

[a]Los PRR extracelulares solubles son producidos por las células del hígado en respuesta a citocinas inflamatorias.
[b]Los receptores tipo Toll son PRR integrados en la membrana que se expresan en los fagocitos. TLR-1, -2, -4, -5 y -6 se encuentran en la membrana citoplasmática. TLR-3, -7, -8 y 9 se encuentran en la membrana de orgánulos intracelulares, como los lisosomas.
[c]Los receptores tipo Toll intervienen en la activación de los fagocitos a través de la transducción de señales.

TLR-4 es una proteína con tres dominios distintos, cada uno con una función propia. El dominio externo contiene un sitio de unión para el complejo formado por el LPS unido a la proteína de superficie CD14 (Figura 26.1). Un dominio transmembrana de TLR-4 conecta el dominio externo con el citoplasmático. La unión del complejo LPS-CD14 al dominio externo de TLR-4 causa un cambio en la conformación del tercer dominio de TLR-4 que se extiende en el citoplasma y deja expuesto a su vez un sitio que interacciona con una proteína adaptadora, MyD88. A su vez, MyD88 cambia su conformación y se une a una proteína tirosina cinasa (PTK), denominada IRAK4. Las PTK transfieren grupos fosfatos ricos en energía desde el ATP a una tirosina de otra proteína diana que queda expuesta cuando la unión cambia la conformación. En este caso, la unión de MyD88 e IRAK4 activa IRAK4, y se inicia una cascada de fosforilación mediada por ATP de otra cinasa denominada TRAF6. Entonces TRAF6 fosforila la proteína IκK (inhibidor de la cinasa kappa). IκK fosoforila la proteína IκB (inhibidor de la B kappa) y causa su disociación de NFκB. El NFκB libre de su molécula inhibidora se difunde entonces a través de la membrana nuclear, se une a dominios específicos de unión a NFκB en el DNA, e inicia la transcripción de los genes en dirección 3′.

Como muestra este ejemplo, las vías de transducción de señales inician la activación de la transcripción a través de la unión ligando-receptor en la superficie de la célula. La interacción ligando-receptor fuera de la célula induce la unión, el reclutamiento y la concentración de proteínas adaptadoras y enzimas con actividad cinasa dentro de la célula. Una única cinasa puede fosforilar muchas proteínas de la cascada de señalización, amplificando así el efecto de la interacción de un único ligando con su receptor. La transducción de señales que lleva a la activación de factores de transcripción y a la producción de proteínas comunes es también el mecanismo de activación de los linfocitos en la inmunidad adaptativa, como veremos más adelante.

MINIRREVISIÓN

- Indique los pasos que llevan al reconocimiento del LPS por el TLR-4.
- Indique las características generales de una vía de transducción de señales empezando por la unión de un PAMP a su PRR asociado a la membrana.

EXPLORANDO EL MUNDO MICROBIANO

Los receptores Toll de *Drosophila*. Una antigua respuesta a las infecciones

Los organismos multicelulares, como los invertebrados y las plantas, carecen de inmunidad adaptativa, pero tienen una respuesta innata bien desarrollada frente a una gran variedad de patógenos. Prácticamente todos ellos responden mediante el reconocimiento de moléculas que se encuentran en la superficie de la célula o virus patógenos. Dichas moléculas contienen estructuras repetitivas conservadas, llamadas patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP, del inglés *pathogen associated molecular patterns*). Entre esas moléculas se encuentran los LPS y la flagelina de las bacterias gramnegativas, el peptidoglicano de las bacterias grampositivas, o las moléculas de RNA de doble cadena exclusivas de determinados virus. Al reconocer características compartidas por muchos patógenos, el mecanismo inmunitario innato ha evolucionado para proporcionar protección contra la mayoría de los patógenos comunes.

La respuesta a los patógenos por parte de la mosca del vinagre, *Drosophila melanogaster* (**Figura 1**) han proporcionado una visión de los mecanismos de inmunidad innata en muchos otros grupos de organismos. Varias proteínas necesarias para el desarrollo de la mosca del vinagre son también receptores importantes para el reconocimiento de bacterias invasoras, que funcionan como receptores de reconocimiento de patrones (PRR del inglés *pattern recognition receptor*) e interaccionan con PAMP presentes en las macromoléculas del patógeno. El mejor ejemplo de un PRR es el receptor Toll de *Drosophila*, una proteína transmembrana esencial para la formación del eje dorsoventral, así como para la respuesta inmunitaria innata de este insecto.

La señalización inmunitaria mediada por Toll se inicia por la interacción de un patógeno o de sus componentes con la proteína Toll de la superficie de los fagocitos. Sin embargo, el receptor Toll de *Drosophila* no interacciona directamente con el patógeno. La transducción de señales comienza con la unión de un PAMP, por ejemplo el lipopolisacárido (LPS) de bacterias gramnegativas (↻ Sección 2.11) con una o más proteínas accesorias (la Figura 26.1 muestra el sistema TLR-4, un análogo de Toll en seres humanos). El complejo LPS-proteína accesoria se une a continuación a Toll. La proteína Toll integrada en la membrana inicia una cascada de transducción de señales, mediante la activación de un factor de transcripción nuclear e induciendo la transcripción de varios genes que codifican péptidos antimicrobianos. Los factores de transcripción asociados a Toll inducen la expresión de péptidos antimicrobianos como la drosomicina, activa contra hongos; la diptericina, activa contra bacterias gramnegativas y una defensiva, activa contra bacterias grampositivas. Los péptidos de *Drosophila* se producen en un órgano graso semejante al hígado y se liberan después al sistema circulatorio del insecto donde interaccionan con el patógeno diana y causan su lisis celular.

Estructuralmente, las proteínas Toll están relacionadas con las lectinas, un grupo de proteínas que se encuentran en todos los organismos pluricelulares, invertebrados y plantas incluidos. Las lectinas interaccionan específicamente con ciertos monómeros de oligosacáridos. En los seres humanos, los receptores tipo Toll (TLR, del inglés *Toll-like receptors*) reaccionan con una gran variedad de PAMP. Como ocurre con los receptores Toll de *Drosophila*, el TLR-4 humano proporciona inmunidad innata contra las bacterias gramnegativas mediante interacciones indirectas con el LPS, iniciando una cascada de señalización mediada por cinasas y la activación del factor de transcripción nuclear NFκB. Este último activa la transcripción de citocinas y de otras proteínas de fagocitos que intervienen en las respuestas del hospedador (Figura 26.1).

La proteína Toll de *Drosophila* está relacionada, desde el punto de vista evolutivo, estructural y funcional, con los receptores TLR de los vertebrados superiores, entre ellos los humanos. Desde el punto de vista evolutivo, Toll y sus homólogos son antiguos componentes muy conservados del sistema inmunitario innato de los animales e incluso se han encontrado en las plantas.



Jarmo Holopainen

Figura 1 ***Drosophila melanogaster*, la mosca del vinagre común.** La proteína Toll, un homólogo de los receptores de tipo Toll de los vertebrados superiores se descubrió en la mosca del vinagre.

26.2 La inmunidad adaptativa y la superfamilia de las inmunoglobulinas

La superfamilia de genes de las inmunoglobulinas comprende genes y sus productos proteínicos que comparten características estructurales, evolutivas y funcionales con las inmunoglobulinas y sus genes.

Las proteínas de unión al antígeno de la respuesta inmunitaria adaptativa forman parte de esta extensa familia genética.

Como se vio en los capítulos 24 y 25, tres tipos de proteínas de la superficie celular interaccionan directamente con antígenos durante la respuesta inmunitaria adaptativa: las *inmunoglobulinas* (*Ig* o *anticuerpos*) producidas por las células B que interacciona con los antígeno; los *receptores de las células T* (TCR), presentes en la superficie de estas células, y las proteínas del *complejo principal de histocompatibilidad* (MHC, del inglés *major histocompatibility complex*), que presentan antígenos que han sido procesados. Cada una de estas proteínas de unión al antígeno tiene diferente localización, estructura y función. Las Ig se encuentran en la superficie de los linfocitos B, en el suero y en las secreciones mucosas e interaccionan directamente con antígenos extracelulares (↻ Sección 25.7). Los TCR, presentes exclusivamente en las células T, se unen también al antígeno, pero solo cuando es presentado por las proteínas MHC (↻ Sección 25.4).

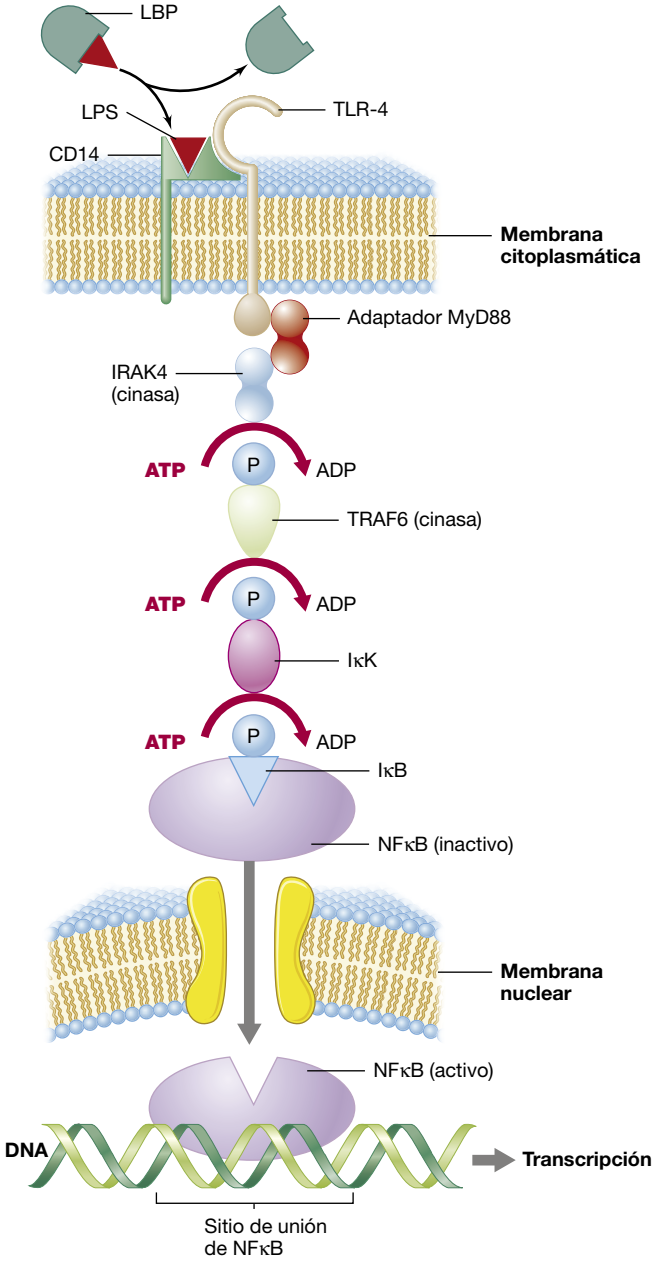


Figura 26.1 Transducción de señales en la inmunidad innata. La transducción de la señal se inicia cuando el LPS (un PAMP) se une a LBP (proteína de unión al lipopolisacárido) que a su vez transfiere el LPS a CD14 en la superficie del fagocito. El complejo LPS-CD14 se une entonces al receptor transmembrana TLR-4. La unión a TLR-4 inicia una serie de reacciones en las que intervienen proteínas adaptadoras y cinasas y causa la activación del factor NFκB, que luego se difunde a través de la membrana nuclear, se une al DNA e inicia la transcripción de proteínas esenciales para la inmunidad innata.

Estructura y evolución de las proteínas de unión al antígeno

La proteínas Ig, TCR y MHC comparten motivos estructurales y han evolucionado por duplicación y selección de genes que codifican receptores primordiales de antígenos. Algunas proteínas importantes de la superfamilia de las Ig se muestran en la Figura 26.2. Las proteínas están constituidas por varios dominios.

Cada proteína tiene por lo menos un dominio con una secuencia de aminoácidos muy conservada llamado *dominio constante* (o dominio C). Este dominio tiene normalmente unos 100 aminoácidos con un puente disulfuro que se extiende entre 50-70 aminoácidos. Los dominios C dan integridad estructural a las moléculas que unen antígenos, fijan el dominio V de unión al antígeno a la membrana citoplasmática y dan a cada proteína su forma característica. Los dominios C pueden también proporcionar sitios de reconocimiento para moléculas accesorias. Por ejemplo, el dominio C de la mayoría de las IgG y de todas las IgM se une al componente C1q del complemento, un paso crítico para iniciar la secuencia de activación del complemento (↻ Sección 25.9). De la misma forma, el dominio C de las proteínas MHC I se une al CD8 en los linfocitos T citotóxicos (Tc), y los dominios C homólogos de MHC II unen CD4 en la superficies de las células T colaboradoras (o Th, del inglés *T-helper*). Las interacciones MHC I-CD8 y MHC II-CD4 son pasos críticos para la activación de las células T y para el desarrollo de la respuesta inmunitaria (↻ Sección 25.4).

Los *dominios variables* (V) de TCR e Ig tienen aproximadamente el mismo tamaño que los dominios constantes, pero sus estructuras pueden ser muy diferente unas de otras y también de los dominios C. Los dominios V de Ig y TCR han evolucionado para interaccionar con una gran variedad de antígenos. En cambio, los dominios V de las proteínas del MHC han evolucionado de forma independiente de los dominios V de Ig y TCR, e interaccionan con péptidos no propios (extraños al hospedador), dando lugar al complejo MHC- péptido que es reconocido por el TCR.

Las proteínas TCR, Ig y MHC están constituidas por dos polipéptidos diferentes. El TCR contiene una cadena alfa (α) y una cadena beta (β) (↻ Sección 25.4). Las proteínas del MHC también están constituidas por dos cadenas polipeptídicas distintas, llamadas también α y β (↻ Sección 25.4). Las Ig tienen una cadena pesada y una cadena ligera separadas (↻ Sección 25.7). Estos heterodímeros se expresan en la superficie de la célula y se unen al antígeno. Sin embargo, la función específica de cada una de estas moléculas es bastante diferente. Las Ig pueden estar ancladas en la superficie de las células B donde se unen a los patógenos y productos de los patógenos como las toxinas. Las Ig también son producidas en grandes cantidades como proteínas solubles en el suero y en las mucosas. Los TCR se encuentran exclusivamente en los linfocitos T e interaccionan con péptidos antigénicos derivados de proteínas del patógeno que han sido procesadas. Estos péptidos son presentados por las proteínas del MHC en las células diana o en células especializadas presentadoras de antígeno (APC). Como se vio en la Sección 25.4, las APC comprenden los macrófagos, las células dendríticas y los linfocitos B).

Transducción de señales en linfocitos reactivos a antígenos

Las células B interaccionan con los antígenos a través de sus Ig y las células T lo hacen a través de los receptores de antígeno TCR. Como ocurre con los PRR en la respuesta inmunitaria innata, las Ig y los TCR trasmiten una señal a través de la membrana citoplasmática para estimular la transcripción

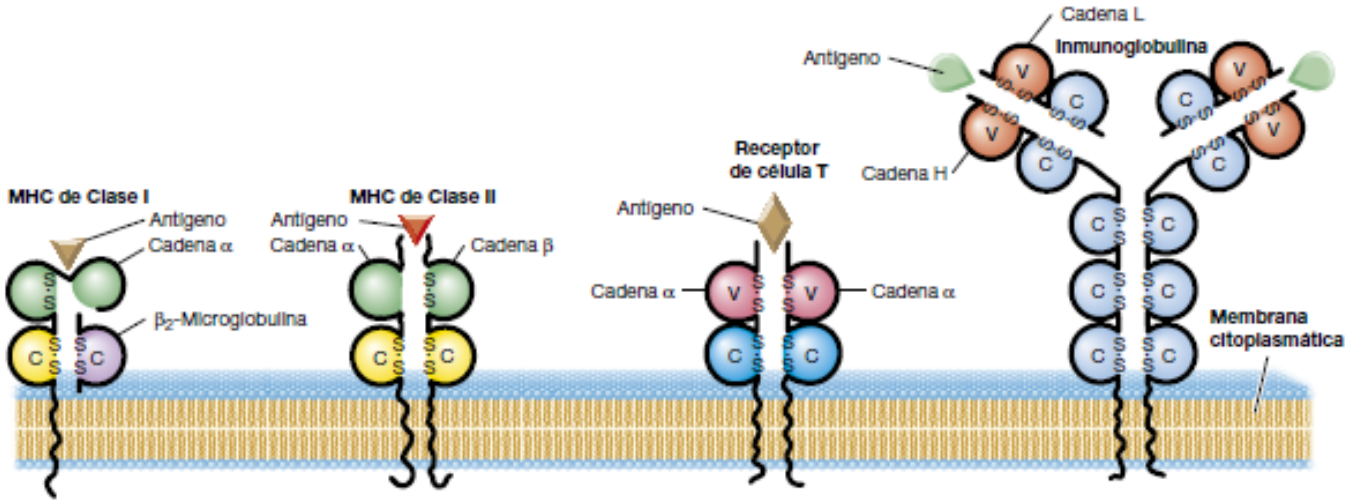


Figura 26.2 **Proteínas codificadas por la superfamilia de genes de las inmunoglobulinas.** Los dominios constantes tienen secuencias de aminoácidos homólogas y estructuras muy organizadas. La presencia en todas estas proteínas de un dominio C del tipo del de las inmunoglobulinas indica una relación evolutiva que identifica las proteínas como miembros de la superfamilia de genes de las Ig. Los dominios V de las Ig y de los TCR también son dominios Ig, pero el dominio de unión al péptido de los MHC de clase I y de clase II no lo son porque sus estructuras varían considerablemente de la estructura básica del dominio V de Ig.

y activar la célula. Los linfocitos B y T usan las proteínas de unión a antígeno de los TCR y de las Ig y para transferir señales a través de la membrana mediante la conexión a las vías de transducción de señales normales del interior de la célula. No obstante, los receptores de antígeno, no pueden conectar directamente con las vías de señalización porque las Ig y los TCR tienen dominios citoplasmáticos muy pequeños. Estos dominios no interaccionan directamente con las proteínas adaptadoras comunes a las vías de señalización celular. Además, ni los dominios citoplasmáticos de las Ig ni los de los TCR tienen tirosinas citoplasmáticas que puedan ser fosforiladas (**Figura 26.3**).

Para solucionar este problema, ambos receptores se asocian con moléculas adaptadoras con motivos de activación de inmunorreceptores basada en tirosina (ITAM, del inglés *immune-based tyrosine-activation motifs*), que contienen residuos tirosina que pueden ser activados por fosforilación. Estas proteínas adaptadoras son Igα e Igβ en el caso de las inmunoglobulinas (Figura 26.3*a*), y el complejo CD3 en el caso de los TCR (Figura 26.3*b*). Los adaptadores se asocian de forma no covalente con sus respectivos receptores de antígeno situados en la membrana. La unión del antígeno a la Ig o al TCR provoca cambios conformacionales en las proteínas adaptadoras. Estos cambios exponen los ITAM citoplasmáticos de las proteínas adaptadoras, que son fosforilados por una familia de proteínas-tirosina cinasas (PTK), como se muestra en la Figura 26.3*b*. Como ocurre en la transducción de señales en la respuesta inmunitaria innata, la reacción de la cinasa inicia una cascada que culmina en la activación de NFκB y de otros factores de transcripción, e inicia la transcripción de los genes en dirección 3′.

Estos factores de transcripción inducen la transcripción de los genes en dirección 3′ como son los de las cadenas pesadas y ligeras de las inmunoglobulinas en las células B, causando su traducción y la producción de inmunoglobulinas. En las células T, los factores de transcripción pueden causar la transcripción

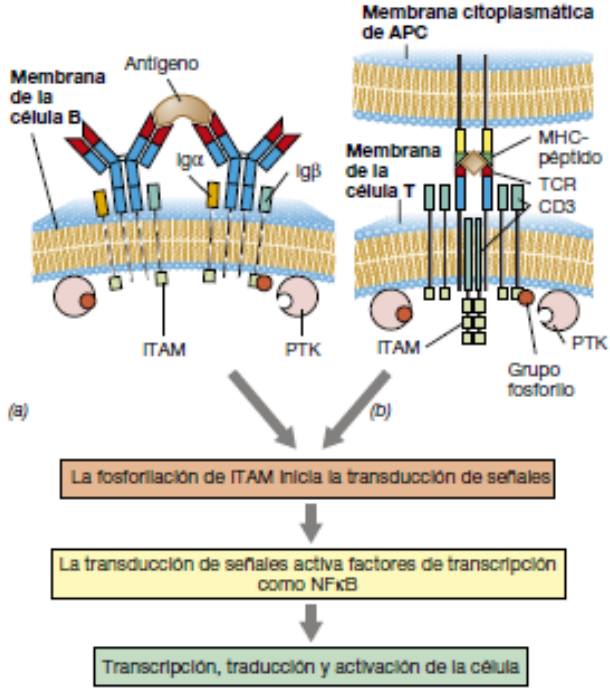


Figura 26.3 **La transducción de señales en la inmunidad adaptativa.** *(a)* La inmunoglobulina situada en la superficie de la célula B se asocia con dos proteínas adaptadoras, Igα e Igβ, en la membrana citoplasmática. Las proteínas adaptadoras contienen múltiples motivos ITAM (motivos de activación del inmunorreceptor vía tirosina) que son expuestos cuando el antígeno se une con las Ig y se entrecruza con ellas. La fosforilación de las ITAM por cinasas inicia una cascada de señalización e induce la activación de factores de transcripción, entre los que se encuentra NFκB, que a su vez inician la transcripción *(b)*. El TCR se asocia también con proteínas adaptadoras llamadas colectivamente CD3. La interacción de TCR con el complejo MHC-péptido expone los ITAM en los componentes CD3, y esto lleva a la fosforilación, la transducción de la señal, la activación de los factores de transcripción y la traducción de proteínas específicas de las células T.

de los genes del TCR y también de genes que codifican citocinas. Esto induce directamente la traducción y la expresión de las citocinas y la activación de más células que reconocen el antígeno.

MINIRREVISIÓN

- Describa y compare las características estructurales de los dominios constantes y variables de las proteínas de la familia de las Ig.
- ¿Cómo influye la unión del antígeno a las Ig y a los TCR en la transducción de señales y en la activación de factores de transcripción?

II • El complejo principal de histocompatibilidad (MHC)

Los genes del complejo principal de histocompatibilidad (MHC) se encuentran en todos los vertebrados y codifican las proteínas MHC, responsables del rechazo en trasplantes de tejidos y aún más importante, encargadas de presentar antígenos procesados a los TCR. Las MHC se extienden alrededor de 4 Mbp en el cromosoma humano 6 y se denominan **complejo antigénico leucocitario humano** (HLA, del inglés *human leukocyte antigen*) (Figura 26.4).

26.3 Proteínas MHC

Las proteínas MHC se expresan siempre en la superficie de las células como un complejo con un péptido integrado. En las células normales, el péptido deriva de la degradación de productos finales del metabolismo celular. Las proteínas MHC llevan por tanto integrados péptidos *propios*. Sin embargo, en células infectadas por virus, muchos de los péptidos integrados proceden del virus. La presencia de estos péptidos víricos unidos a proteínas MHC, por tanto extraños al huésped, se parece mucho a lo que ocurre con la presencia de variantes de las proteínas MHC en un trasplante. Como consecuencia, los complejos MHC-péptido vírico son reconocidos como *no propios* y son una diana para la destrucción por las células Tc. Las proteínas del MHC presentan péptidos a las células T para su reconocimiento y, si procede, su destrucción (↔ Sección 25.4).

Hay dos clases de proteínas MHC. Las *proteínas MHC de clase I* se encuentran en la superficie de todas las células con núcleo. Como norma, las proteínas de clase I presentan antígenos peptídicos a las células Tc. Si el péptido integrado en las MHC I es reconocido por las células Tc, la célula que contiene dicho antígeno es destruida directamente (↔ Sección 25.5). Las *proteínas MHC de clase II* se encuentran únicamente en la superficie de las células presentadoras de antígeno (APC) profesionales: linfocitos B, macrófagos y células dendríticas (↔ Sección 25.4). Mediante las proteínas de clase II, las APC presentan antígenos a las células Th, lo que estimula la producción de citocinas que conduce a la inmunidad mediada por anticuerpos o a la respuesta inflamatoria (↔ Sección 25.6).

Proteínas del MHC de clase I

Las proteína del MHC de clase I están formadas por dos polipéptidos (Figura 26.5*a*). El gen que codifica la cadena alfa (α) integrada en la membrana se encuentra en la región MHC del cromosoma 6. El otro polipéptido de clase I, unido de forma no covalente, es la beta-2-microglobulina (β_2m). La estructura tridimensional de las proteínas del MHC de clase I interacciona simultáneamente con el péptido del antígeno peptídico y con el TCR. La cadena α de clase I se pliega para formar una cavidad cerrada por ambos lados. La cavidad se encuentra entre dos hélices α que encuadran una lámina β. En el retículo endoplasmático, la cavidad de MHC I se carga con péptidos de ocho a once aminoácidos derivados de proteínas *endógenas* degradadas (Figura 26.5*b*). Por ejemplo, las proteínas víricas producidas en el interior de la célula son degradadas en péptidos que se unen a estas proteínas MHC de clase I. El complejo MHC-péptido se desplaza entonces a la superficie de la célula donde será reconocido por los TCR de las células Tc (↔ Sección 25.4).

Proteínas del MHC de clase II

Las proteínas del MHC de clase II están formadas por dos polipéptidos α y β integrados en la membrana y unidos de forma no covalente, que se encuentran únicamente en las APC. Una subunidad α y una β se expresan juntas para formar un heterodímero funcional (Figura 26.5*c*). Los heterodímeros pueden estar dispuestos en pares o en trímeros para aumentar su estabilidad. Los dominios α1 y β1 de las proteínas de clase II interaccionan

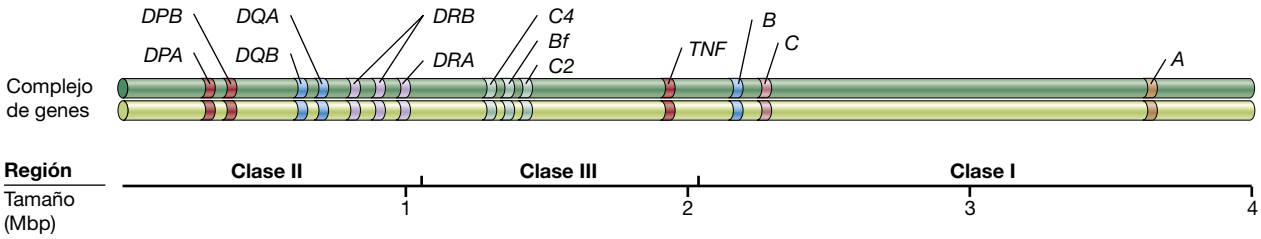


Figura 26.4 El mapa génico de los antígenos de leucocitos humanos (HLA, del inglés *human leukocyte antigen*). El complejo HLA, localizado en el cromosoma 6, tiene más de 4 millones de bases. Los genes de clase II *DPA* y *DPB* codifican las proteínas de clase II DPα y DPβ; *DQA* y *DQB* codifican DQα y DQβ; *DRA* y 2 loci *DRB* codifican las proteínas DRα y DRβ. Las proteínas MHC de clase I HLA-B, HLA-C y HLA-A están codificadas por los genes *B*, *C* y *A*. Los loci de la clase II y de clase I son muy polimórficos y codifican proteínas de unión a péptidos. Los genes del MHC de clase III codifican proteínas que se asocian con funciones relacionadas con la inmunidad como las proteínas del complemento C4 y C2, y la citocina TNF (factor de necrosis tumoral).

UNIDAD 5

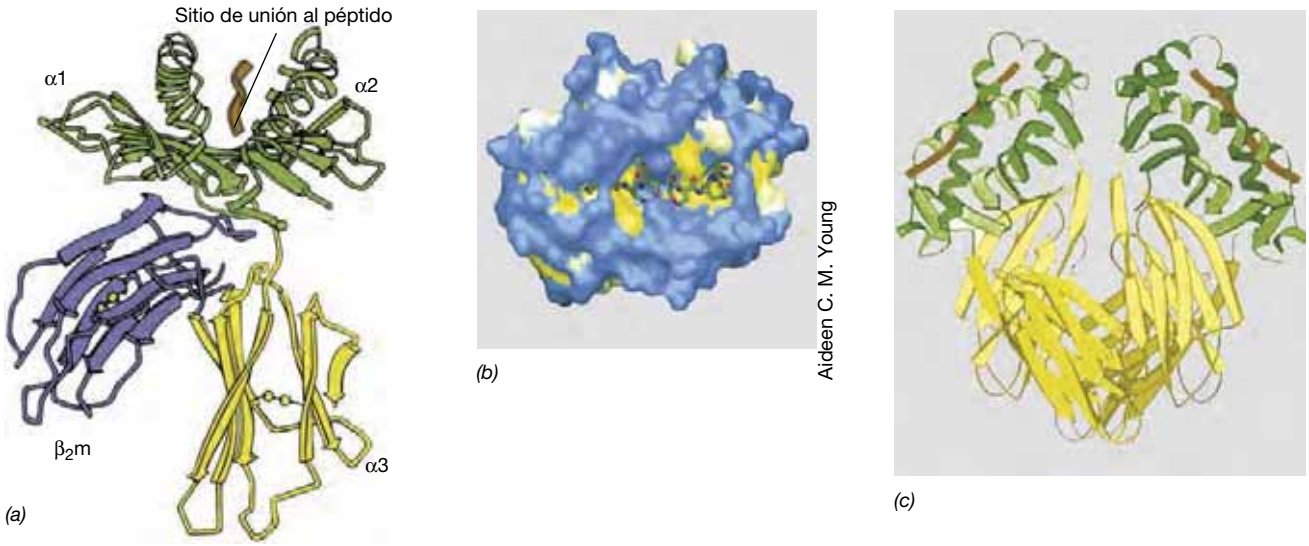


Figura 26.5 **Estructura de la proteína MHC.** *(a)* La proteína del MHC de clase I. La beta-2-microglobulina (β_2m) se une de forma no covalente a la cadena α. El péptido antigénico (marrón) es unido cooperativamente por los dominios α1 y α2. Una forma helicoidal indica la estructura de la proteína en hélice α, y una forma plana indica una lámina β. *(b)* Una proteína MHC I con un péptido unido visto desde arriba. Se muestra un péptido de nueve aminoácidos como una estructura con un esqueleto de carbonos, integrado en un modelo tridimensional de la proteína MHC I de ratón. *(c)* Una proteína MHC dimérica de clase II. Los péptidos (marrón) se muestran en su posición en el sitio de unión de las proteínas MHC II.

para formar un sitio de unión para el péptido-TCR de la misma manera que lo hacen las proteínas de clase I. Sin embargo, los extremos de la cavidad están abiertos, lo que permite a las proteínas de clase II unir y presentar péptidos que pueden ser de un tamaño bastante mayor a 8-11 aminoácidos. Los péptidos que se unen a las proteínas de clase II tienen generalmente de 10 a 20 aminoácidos y son fragmentos que resultan de la proteólisis de patógenos *exógenos* que han sido internalizados y procesados por las APC (↻ Sección 25.4). Las APC utilizan los complejos proteínas de clase II-péptido para interaccionar con los TCR de las células Th y activarlas (↻ Sección 25.6).

MINIRREVISIÓN

- Compare la estructura de las proteínas de los MHC de clase I y de clase II. ¿En qué se diferencian? ¿En qué se parecen?
- Compare los sitios de unión al péptido de las proteínas de los MHC de clase I y de clase II. ¿En qué se diferencian? ¿En qué se parecen?

26.4 Polimorfismo de los MHC, poligenia y unión del antígeno

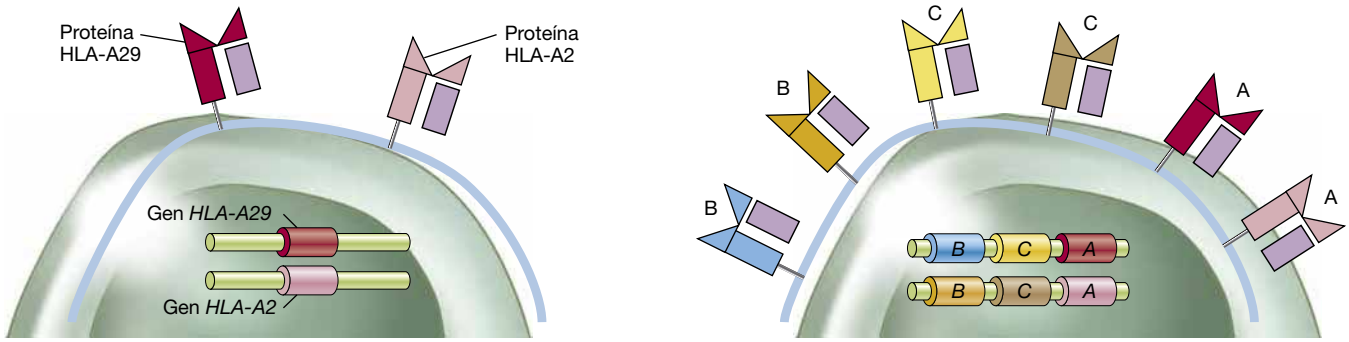
Los genes humanos de los MHC de clase I y II codifican proteínas que se unen a antígenos peptídicos para su presentación a las células T. Las distintas variantes de estas proteínas son capaces de unir todos los péptidos conocidos.

Polimorfismo y poligenia

El **polimorfismo** es la presencia en una población de múltiples alelos (formas alternativas de un gen) en un *locus* (localización del gen en el cromosoma) específico, con frecuencias que no pueden ser explicadas por mutaciones recientes al azar. Por ejemplo, el locus MHC de clase I *HLA-A* tiene 2.013 alelos conocidos. Estas variaciones genéticas codifican 2.013 proteínas HLA-A distintas. Sin embargo, cada persona tiene solo dos alelos *HLA-A*: un alelo de origen paterno y otro de origen materno; los polimorfismos se encuentran distribuidos por el conjunto de la especie humana. Las dos variantes alélicas se expresan de forma codominante (las dos y con la misma intensidad) (**Figura 26.6*a***).

Además, los fenómenos de duplicación génica ocurridos durante la evolución han dado lugar a dos loci adicionales *HLA-B* y *HLA-C* relacionados genética, estructural y funcionalmente. La presencia de múltiples copias de genes relacionados genética, estructural y funcionalmente se denomina **poligenia.** *HLA-B* tiene 2.605 variantes alélicas conocidas y *HLA-C* tiene 1.551. Por tanto, un individuo normalmente dispone de seis proteínas estructuralmente distintas de clase I derivadas de tres loci de clase I polimórficos (3 productos de origen materno y 3 de origen paterno) (Figura 26.6*b*). Igualmente, los genes en los *loci* que codifican las proteínas de las cadenas alfa y beta de los MHCII, HLA-DR, HLA-DP y HLA-DQ son altamente polimórficos. Las proteínas de clase II son también producto de alelos codominantes, en este caso un total de 12 alelos que codifican distintas proteínas alfa y beta de clase II.

Como consecuencia de la poligenia, la mayoría de los individuos tienen un perfil MHC único: solamente los miembros más cercanos de una familia es probable que tengan los mismos genes y proteínas MHC. Este alto grado de polimorfismo en las proteínas MHC es la mayor barrera para el éxito del trasplante de tejidos, ya que las proteínas MHC del tejido donante (injerto) son reconocidas como antígenos extraños por el sistema inmunitario del individuo receptor. La respuesta inmunitaria dirigida contra las proteínas MHC del injerto causa la muerte de las células que lo forman y su rechazo. Sin embargo, el rechazo de los trasplantes de tejidos se puede minimizar haciendo coincidir los alelos MHC de donante y receptor. El control del rechazo



(a) **Polimorfismo** (b) **Poligenia**

Figura 26.6 **Polimorfismo y poligenia en genes y proteínas MHC.** *(a)* El polimorfismo de los loci *HLA-A* da lugar a la expresión codominante de proteínas codificadas por los dos alelos. Hay más de 2.000 HLA-A alelos en la población humana, pero cada individuo tiene solo dos (uno en cada locus). *HLA-B* y *HLA-C* tienen un nivel semejante de polimorfismo. *(b)* La poligenia en MHC ocasiona un polimorfismo duplicado de los genes *HLA-A*, *HLA-B* y *HLA-C*, que podrían codificar tres pares de diferentes proteínas MHC. Los colores representan alelos alternativos de cada gen y su respectiva proteína.

puede también conseguirse con fármacos que supriman la respuesta inmunitaria.

Unión de péptidos

La mayoría de las variaciones alélicas en las proteínas MHC tienen lugar como cambios en aminoácidos concentrados en la hendidura de unión al antígeno, y cada variante polimórfica de la proteína MHC une un grupo diferente de antígenos peptídicos. Los péptidos unidos por una misma proteína MHC comparten un patrón estructural o **motivo** peptídico, de modo que cada proteína MHC diferente une un patrón estructural o motivo determinado. Por ejemplo, para una determinada proteína de clase I, los péptidos que se unen tienen 8 aminoácidos con una fenilalanina (F) en posición 5 y una leucina (L) en posición 8. Las otras posiciones en el péptido pueden estar ocupadas por cualquier aminoácido (X). Así, todos los péptidos con la secuencia X-X-X-X-**F**-X-X-**L** se unirán a esa proteína MHC concreta. Otra proteína MHC de clase I codificada por otro alelo MHC se une a un motivo diferente, de nueve aminoácidos con una tirosina (Y) siempre en posición 2 y una isoleucina (I) siempre en posición 9 (X-**Y**-X-X-X-X-X-X-**I**).

Los aminoácidos constantes de cada motivo se conocen como *residuos de anclaje,* y se unen de forma directa y específica a la hendidura de una proteína MHC concreta. Por tanto, una determinada proteína MHC puede unir y presentar muchos péptidos diferentes, siempre que dispongan de los mismos residuos de anclaje. Puesto que cada proteína MHC se une a un motivo diferente con distintos residuos de anclaje, las 6 MHC proteínas de clase I posibles en cada individuo se unen a 6 motivos diferentes. De esta manera, cada individuo puede presentar un gran número de antígenos peptídicos diferentes utilizando el número limitado de moléculas MHCI disponibles. Las proteínas del MHC de clase II se unen a péptidos de manera análoga. Como consecuencia, dentro de la especie humana, por lo menos algunos antígenos peptídicos de cada patógeno expondrán un motivo que se unirá a las proteínas MHC y será presentado por estas. Este mecanismo es muy diferente de los empleados por las Ig y los TCR, que también unen antígenos. Cada Ig o TCR interacciona de manera muy específica con un *único* antígeno. Como veremos estas proteínas emplean un mecanismo genético especial para generar una diversidad prácticamente ilimitada (Sección 26.6 y 26.7).

MINIRREVISIÓN

- Defina y explique el polimorfismo y la poligenia de los genes MHC.
- ¿Cómo es posible que una única proteína MHC presente muchos péptidos diferentes a las células T?

UNIDAD 5

III • Anticuerpos y receptores de las células T

En este apartado analizaremos la estructura, la unión del antígeno, la organización genética y la generación de diversidad en las infinitamente variables inmunoglobulinas y en los receptores de las células T.

26.5 Anticuerpos y unión a antígenos

Los anticuerpos están formados por cuatro polipéptidos, dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L) (Figura 26.2) dispuestas formando dos heterodímeros. La unidad funcional capaz de unir a un antígeno está constituida por un heterodímero formado por una cadena pesada y una ligera. Además, las cadenas pesada y ligera están divididas, a su vez, en dominios constantes (C) y variables (V). De los dominios C dependen funciones como la unión al complemento (↻ Sección 25.9). Los dominios variables de las cadenas H y L interaccionan entre sí para formar el sitio de unión al antígeno (**Figura 26.7**). En esta sección examinaremos las características estructurales de los dominios V y del sitio de unión al antígeno.

Dominios variables

La secuencia de aminoácidos varía considerablemente entre los dominios V de las distintas inmunoglobulinas (Figura 26.7). La

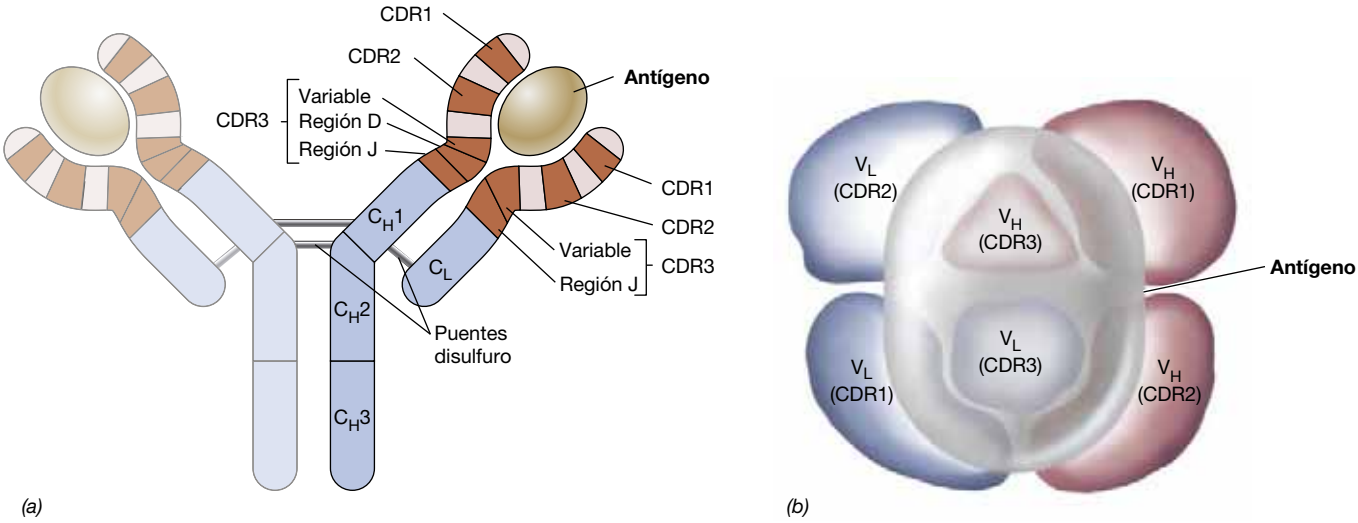


Figura 26.7 Unión al antígeno por las cadenas pesada y ligera de la inmunoglobulina. *(a)* Se muestra el esquema de una inmunoglobulina con un antígeno unido. Los dominios V en las cadenas pesada (H) y ligera (L) se muestran en rojo, con el sitio de unión al antígeno CDR1, CDR2 y CDR3. Los dominios C_H1, C_H2, y C_H3 son dominios constantes en la cadena H y C_L es el dominio constante de las cadena L. *(b)* Las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de las cadenas H (roja) y L (azul), vista desde arriba, están organizadas para formar un único sitio de unión al antígeno en la Ig. Las regiones muy variables CDR3 de las cadenas H y L cooperan en el centro del sitio de unión. Un antígeno (en gris), contacta con todos los CDR. La forma del sitio puede ser una ranura superficial o una cavidad profunda, dependiendo del par antígeno-anticuerpo que intervenga.

variabilidad de aminoácidos es especialmente aparente en algunas **regiones determinantes de la complementariedad** (CDR, del inglés *complementary-determining regions*). Las tres CDR en cada dominio V proporcionan la mayoría de los contactos moleculares con el antígeno. Los dominios CDR1 y CDR2 son algo diferentes entre las distintas inmunoglobulinas, pero los dominios CDR3 presentan enormes diferencias entre ellos. El dominio CDR3 de la cadena pesada tiene una estructura particularmente compleja que está codificada por tres segmentos génicos distintos, como veremos enseguida. Los dominios CDR3 están constituidos por la porción carboxi-terminal del dominio V, seguido por un segmento de escasa diversidad (D) de unos 3 aminoácidos, y un segmento de unión (J) de entre 13 y 15 aminoácidos. El dominio CDR3 de la cadena ligera es similar, pero carece del segmento D. Todos los CDR de las cadenas pesadas y ligeras participan en la unión al antígeno.

Unión al antígeno

La Figura 25.16 muestra la estructura tridimensional de una inmunoglobulina. Cada reacción antígeno-anticuerpo requiere la combinación específica del antígeno con los dominios pesados y ligeros de la región variable que actúan en cooperación.

El sitio de unión al antígeno de la molécula de un anticuerpo mide aproximadamente 2 × 3 nm, lo que le hace suficientemente grande para albergar una pequeña porción del antígeno llamada *epítopo*, de aproximadamente 10 a 15 aminoácidos. La unión de un antígeno está determinada básicamente por el plegamiento de las cadenas de polipéptidos pesada y ligera de la Ig. El plegamiento de la región V posibilita la localización conjunta de los seis CDR (CDR1, 2 y 3, de ambas cadenas, pesada y ligera). El resultado final es un sitio único y específico de unión al antígeno (↻ Figura 25.16 y Figura 26.7). En la sección siguiente analizaremos los mecanismos genéticos que generan la enorme diversidad de las inmunoglobulinas.

Cada anticuerpo se une a cada antígeno con una afinidad característica (fuerza de unión). La afinidad de un anticuerpo es típicamente más alta por el antígeno para el que fue seleccionado, y los anticuerpos normalmente no se unen a otros antígenos. Sin embargo, algunos anticuerpos pueden interaccionar, aunque débilmente, con otros antígenos diferentes al antígeno original para el que fueron seleccionados. Este fenómeno se conoce como *reacción cruzada*.

MINIRREVISIÓN

- Dibuje una molécula de inmunoglobulina e indique los sitios de unión al antígeno en el anticuerpo.
- Describa la unión de los antígenos a las regiones CDR1, 2 y 3 de los dominios variables de las cadenas pesadas y ligeras.

26.6 Genes de los anticuerpos y diversidad

En la mayoría de los casos, un gen codifica una proteína. Sin embargo, esto no es así para las cadenas pesadas y ligeras de las inmunoglobulinas. Puesto que la serie de anticuerpos de cada individuo debe reconocer y unirse a una gran variedad de estructuras moleculares, el sistema inmunitario debe generar una variedad casi ilimitada de anticuerpos. Algunos mecanismos, como la *recombinación somática*, la *reorganización* aleatoria de cadenas pesadas y ligeras y la *hipermutación* contribuyen a la diversidad casi ilimitada generada a partir de un número relativamente pequeño de genes Ig. La Tabla 26.2 resume estos mecanismos generadores de diversidad.

Genes de inmunoglobulinas

El gen que codifica cada cadena H o L de las inmunoglobulinas se construye a partir de varios segmentos de genes. En cada

Tabla 26.2 Generación de la diversidad de receptores de unión al antígeno en células B y células T

Mecanismo generador de diversidad	*Receptores de Ig de células B, cadenas pesadas y ligeras*	*Receptores de células T, cadenas α y β*
Recombinación somática de genes en tándem	Sí	Sí
Reordenamiento aleatorio	Sí	Sí
Unión imprecisa V-D-J o V-J	Sí	Sí
Adición de nucleótidos en uniones V-D-J o V-J	Sí	Sí
D presentes en 3 marcos de lectura	No	Sí
Hipermutación somática	Sí	No

célula B, los segmentos de genes que codifican la Ig sufren una serie de reorganizaciones somáticas aleatorias (recombinación seguida de la deleción de las secuencias involucradas) para producir un único gen funcional para un anticuerpo, derivado del conjunto de genes que codifican anticuerpos. Los estudios moleculares han confirmado esta hipótesis de «genes en piezas» al demostrar que tanto los segmentos de genes V, D y J que codifican la cadena pesada de los dominios V, como los genes que codifican los dominios C, están separados unos de otros en el genoma. Cuando la célula B madura, los segmentos de genes se juntan por recombinación somática para formar un único gen de cadena pesada de Ig (**Figura 26.8**). Un único gen V codifica las regiones CDR1 y CDR2, mientras que la región CDR3 está codificado por un mosaico entre el extremo 3′ del gen V seguido de los genes D y J.

En cada célula B, en los genes de las cadenas pesada y ligera solo se produce una reorganización que dé lugar a una proteína. Este mecanismo, llamado *exclusión alélica*, asegura que *cada*

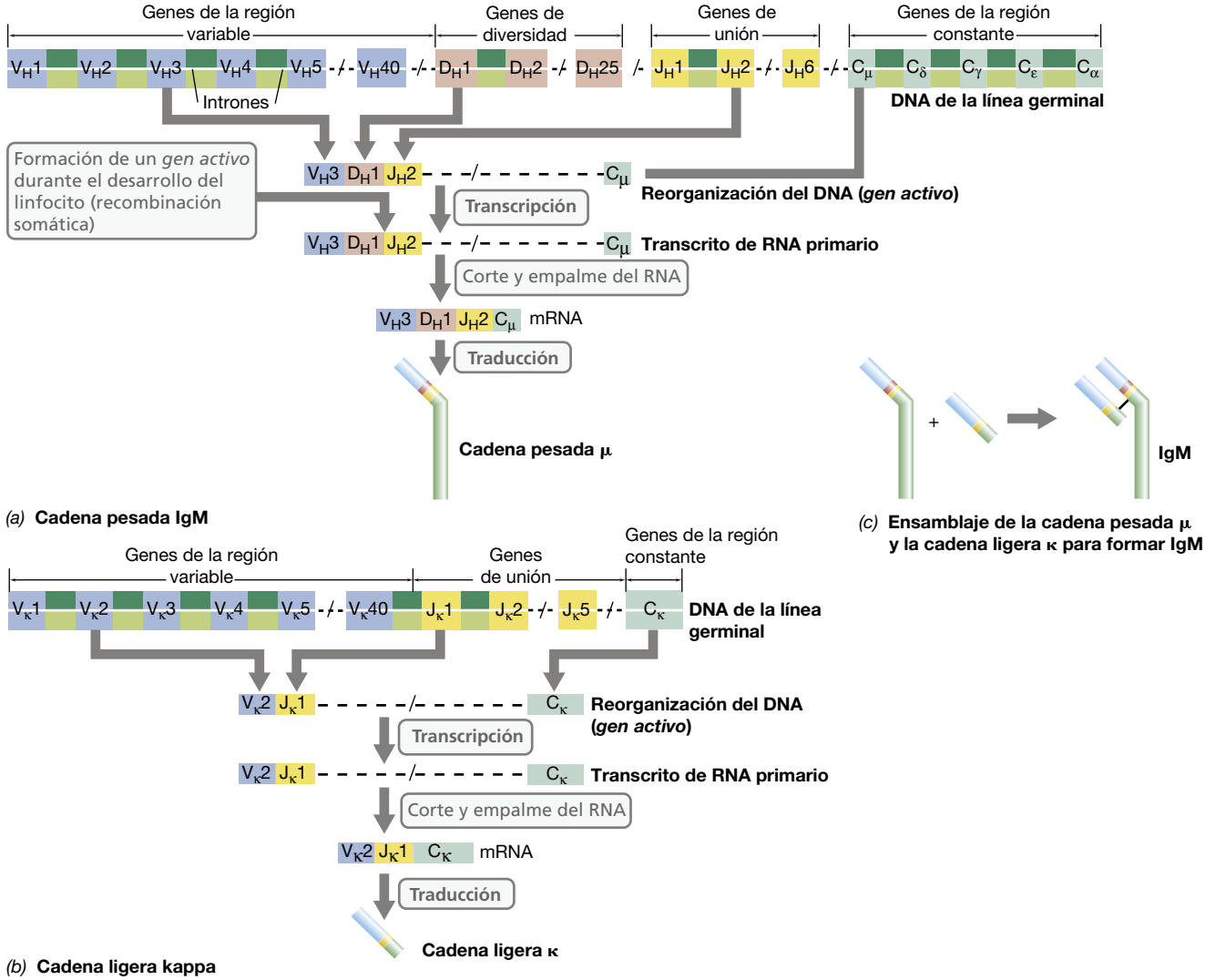


Figura 26.8 **Reorganización de los genes de las inmunoglobulinas en las células B humanas.** Los genes Ig están dispuestos en tándem en tres cromosomas diferentes. *(a)* El gen de la cadena H se agrupa en el cromosoma 14. Las cajas rellenas representan genes que codifican Ig. Las líneas discontinuas indican las secuencias intermedias y no se muestran a escala. *(b)* Complejo de la cadena ligera kappa (κ) en el cromosoma 2. Los genes de la cadena ligera λ están en un complejo similar en el cromosoma 22. *(c)* Ensamblaje de media molécula de un anticuerpo.

célula B produzca una sola Ig. Finalmente, los dominios constantes que definen la clase de la Ig están codificados por genes C separados. Por tanto, cuatro segmentos diferentes de genes V, D, J y C se recombinan para formar un gen de cadena pesada funcional. De manera similar, las cadenas ligeras son codificadas por los productos de la recombinación de los genes V, J y C de la cadena ligera.

Los segmentos de genes necesarios para todas las Ig están presentes en todas las células, pero solo se recombinan en los linfocitos B en desarrollo. Como se muestra en la Figura 26.8, cada célula B contiene múltiples genes V y J colocados en tándem para las cadenas ligeras kapa (κ) y lambda (λ). Cada célula B tiene también genes V, D y J en tándem para las cadenas pesadas. Además, los genes del dominio constante de la cadena pesada (C_H) y los de la cadena ligera (C_L) también están presentes. Los genes V, D, J y C están separados por regiones no codificantes (intrones) típicas de la disposición de los genes en los eucariotas. La recombinación genética ocurre en cada célula B durante su desarrollo. Cada uno de los segmentos V, D y J se recombina al azar para formar un gen funcional de cadena pesada. En otro cromosoma, los segmentos V y J se recombinan también al azar para formar un gen completo de cadena ligera. El gen activo, que contiene todavía una secuencia intermedia entre los segmentos de genes VDJ o VJ y los segmentos de genes C, se transcribe y el RNA primario resultante se corta y empalma_para producir un RNA mensajero final (mRNA). Entonces el mRNA es traducido para formar las cadenas pesada y ligera de la molécula de Ig.

Reorganización y unión de VDJ

Hasta el momento, hemos visto cómo la diversidad de las Ig se ha generado por recombinación de genes existentes. En los humanos, por ejemplo, el número de *loci* de la cadena ligera kappa (κ) permite aproximadamente 40 V × 5 J reordenamientos posibles, o 200 cadenas ligeras κ posibles. Para la cadena ligera alternativa lambda (λ), hay aproximadamente 30 V × 4 J = 120 combinaciones posibles. Por otro lado, se pueden formar alrededor de 6.000 cadenas pesadas posibles por la reorganización de aproximadamente 40 V × 25 D × 6 J genes. Cada gen de cadena ligera o de cadena pesada tiene teóricamente las mismas posibilidades de ser expresado en cada célula B, reorganizando de forma aleatoria todas las cadenas pesadas y ligeras. La cadena final ligera y la pesada producidas por una determinada célula B son el resultado de la asociación de genes individuales de cadena ligera y pesada (Figura 26.8*c*). Suponiendo que cada cadena pesada y ligera tenga iguales probabilidades de ser expresada, hay 6.000 × 200 = 1.200.000 inmunoglobulinas posibles con cadenas ligeras κ y 6.000 × 120 = 720.000 inmunoglobulinas posibles con cadena *λ*. Juntando todas estas posibilidades se pueden expresar al menos 1.920.000 posibles anticuerpos.

Se puede generar una diversidad adicional en el CDR3 de ambas cadenas, pesadas y ligeras, mediante varios mecanismos especiales. En primer lugar, el mecanismo de unión (empalme) del DNA responsable de la construcción de segmentos V-D o D-J en la cadena pesada o de segmentos V-J en la cadena ligera es impreciso; la secuencia final en estas regiones codificantes varía frecuentemente de la secuencia genómica en unos pocos nucleótidos. Se genera incluso una mayor diversidad en las uniones V-D y D-J de los genes de la cadena pesada y en las regiones V-J de los genes de las cadenas ligeras por adición de nucleótidos. Se pueden añadir nucleótidos al azar (N) o copiando un molde (P). Puesto que estas uniones están presentes en la región que codifica CDR3 tanto en la cadena pesada como en la cadena ligera, la diversidad N y P en los dominios de unión V puede cambiar o añadir aminoácidos en el CDR3 de ambas cadenas.

Hipermutación

La diversidad de anticuerpos en las células B aumenta aún más por la **hipermutación somática,** que es la mutación de los genes de las inmunoglobulinas Ig con una frecuencia mucho mayor que la observada en otros genes. La hipermutación somática de los genes Ig normalmente se manifiesta después de una segunda exposición a un antígeno inmunizante. Esta hipermutación somática solo afecta a la región V de los genes reorganizados de las cadenas pesadas y ligeras dando lugar a células B con receptores de Ig mutados. Estas células B mutadas compiten por unirse a los antígenos disponibles y este proceso selecciona las células B que tengan receptores que se unan con más fuerza al antígeno (que tengan una mayor afinidad que el receptor original de la célula B). Este proceso de *maduración de la afinidad* es uno de los factores responsables de la intensidad mucho mayor de la respuesta inmunitaria secundaria (↻ Figura 25.21). El mecanismo de maduración de la afinidad añade nuevas posibilidades de crear diversidad en las Ig y hace que el repertorio posible de anticuerpos sea casi ilimitado.

MINIRREVISIÓN

- Describa los distintos fenómenos de recombinación que dan lugar a un gen maduro de una cadena pesada.
- Describa otros mecanismos somáticos específicos de las células B que aumentan la diversidad de anticuerpos.

26.7 Los receptores de las células T: proteínas, genes y diversidad

Los receptores de las células T (TCR) son receptores de superficie integrados en la membrana citoplasmática de las células T y reconocen péptidos extraños embebidos en las proteínas MHC o presentados por ellas. Llevan a cabo esta doble función de unión a través de un sitio de unión compuesto de los dominios V de sus cadenas α y *β*. Estos dominios contienen segmentos CDR1, CDR2 y CDR3 que se unen directamente al complejo MHC-péptido antigénico (↻ Sección 25.4).

Proteínas TCR

La estructura tridimensional del TCR unido al complejo MHC-péptido se muestra en la **Figura 26.9**. El TCR y la proteína MHC se unen directamente al antígeno peptídico. La proteína MHC se une a un lado del péptido (el motivo MHC), mientras que el TCR se une a otro lado del péptido, el epítopo. Las regiones CDR del TCR se unen directamente al complejo MHC-péptido, y cada CDR tiene una función de unión específica: la región CDR3 de las cadenas α y *β* del TCR se unen al epítopo del péptido; las regiones CDR1 y CDR2 de ambas cadenas se unen principalmente a las proteínas del MHC.

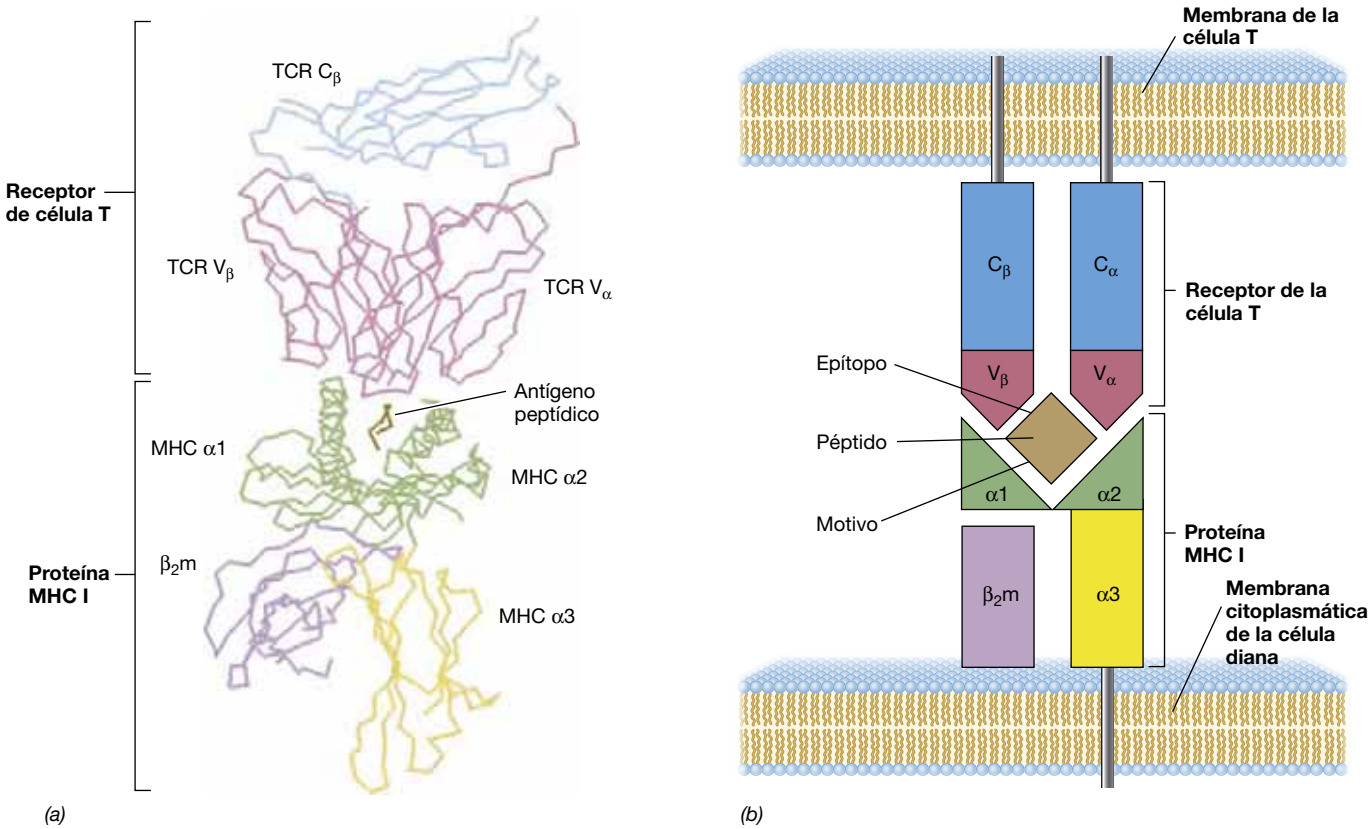


Figura 26.9 **El complejo TCR:MHC I-péptido.** *(a)* Estructura tridimensional en la que se muestra la orientación del TCR, del péptido (marrón) y del MHC. Estructura deducida a partir de datos depositados en el *Protein Data Bank*. *(b)* Representación de la estructura TCR:MHC-péptido. Obsérvese que el péptido está unido a las proteínas MHC y TCR y que tiene dos superficies distintas para interaccionar con cada una de ellas.

UNIDAD 5

Genes de los TCR y diversidad

Las células T generan una diversidad de receptores de forma similar a como las células B generan una diversidad de Ig. La Tabla 26.2 resume y compara los mecanismos de generación de diversidad del receptor en cada tipo celular. De manera análoga a las cadenas H y L de las inmunoglobulinas, las cadenas α y β de los TCR están codificadas por distintos segmentos de genes que codifican dominios constantes y variables. Los genes de la región V de los TCR están organizados como series de segmentos en tándem. La cadena α puede estar codificada por aproximadamente 80 genes V y 61 genes J, mientras que la cadena β tiene 52 genes V, 2 genes D y 13 genes J (Figura 26.10). Los

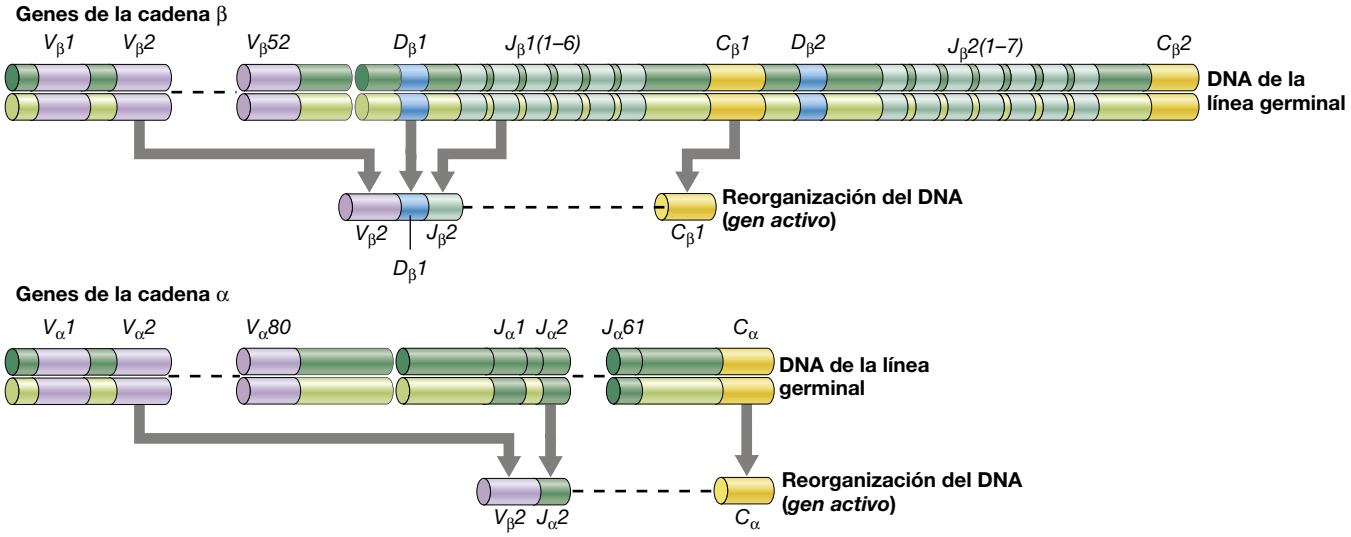


Figura 26.10 **Organización de los genes humanos de las cadenas alfa (α) y beta (β) del TCR.** Los genes de la cadena α se localizan en el cromosoma 14 y los genes de la cadena β en el cromosoma 6.

genes V, D y J de la cadena β y los genes V y J de la cadena α se recombinan para formar los genes funcionales de la región V. Como en el caso de las Ig, se dan mutaciones somáticas ocasionadas por la diversidad de N y P en las regiones de unión entre los segmentos V-D y entre los segmentos D-J de la cadena β y entre los segmentos V-J en la cadena α. Además, la región D de la cadena β se puede transcribir en los tres marcos de lectura, dando lugar a la producción de tres transcritos diferentes a partir de cada gen de la región D, lo que origina una mayor diversidad de la que se esperaría únicamente de los segmentos de genes D. Como ocurre en el ensamblado de las cadenas H y L de las Ig, cada célula T produce al azar cadenas α y cadenas β individuales que se unen para formar el heterodímero completo α:β.

Los mecanismos de hipermutación somática, responsables del aumento en la diversidad de los receptores en los genes Ig, no se dan en las células T y no se genera diversidad TCR adicional. Sin embargo la diversidad potencial de losTCR es enorme y se pueden generar del orden de 10^5 TCR diferentes.

MINIRREVISIÓN

- Distinga las funciones de los segmentos CDR1, CDR2 y CDR3 de los receptores de las células T.
- Compare los mecanismos generadores de diversidad exclusivos de los TCR y los que generan la diversidad en las Ig.

IV • Interruptores moleculares en la inmunidad

Además de la interacción con el antígeno, otros varios factores controlan la actividad inmunitaria. La selección clonal elige aquellas células que reaccionan con antígenos extraños e ignoran los antígenos propios. Las células T y B son activadas por una serie de señales exclusivas en la superficie celular. Finalmente, las citocinas y las quimiocinas producidas por las células activadas reclutan otras células de la respuesta inmunitaria.

26.8 Selección clónica y tolerancia

Las células T deben ser capaces de diferenciar entre antígenos no propios, potencialmente peligrosos, y los antígenos propios que componen nuestros tejidos y que no son dañinos. Por tanto, las células T desarrollan *tolerancia*, o ausencia de respuesta específica frente a los antígenos propios. Los linfocitos maduros solo interaccionan con antígenos extraños.

Selección clónica

La teoría de la **selección clónica** establece que cada célula B o T reactiva a antígeno dispone de un receptor de superficie específico para un único epítopo de un antígeno. Cuando son estimuladas por la interacción con un antígeno concreto, las células se pueden multiplicar y diferenciar para producir un conjunto de células que expresan un receptor con la misma especificidad para ese antígeno. La descendencia idéntica de la célula original que interaccionó con el antígeno es un *clon* (**Figura 26.11**). Las células que no han interaccionado con el antígeno no proliferarán.

Para responder a la variedad aparentemente infinita de antígenos, el cuerpo necesita un número casi infinito de células capaces de interaccionar con esos antígenos. Como hemos visto, el sistema inmunitario genera un número casi ilimitado de receptores específicos en las células B y T. Inevitablemente, algunos de estos receptores tendrán la capacidad de reaccionar con antígenos propios del huésped; el sistema inmunitario debe eliminar o suprimir estas células que pueden reaccionar con nuestro propio cuerpo y, al mismo tiempo, seleccionar las células que pueden ser útiles contra antígenos extraños.

Selección de células T y tolerancia

Las células T experimentan una selección *a favor* de las células que tienen la capacidad de reconocer antígenos y *en contra* de las células que reaccionan fuertemente con antígenos propios. La selección en contra de las células que reaccionan con el propio organismo causa el desarrollo de la tolerancia. El fallo en el desarrollo de la tolerancia puede dar lugar a reacciones peligrosas frente a antígenos propios, un trastorno conocido como autoinmunidad (↪ Sección 24.8).

Los precursores de los linfocitos T abandonan la médula ósea y entran en el timo, un órgano linfoide primario, a través del torrente circulatorio (**Figura 26.12**). Durante el proceso de maduración de las células T en el timo, las células T inmaduras sufren un doble proceso de selección para (1) seleccionar las células con capacidad para reaccionar con antígenos (selección positiva) y (2) eliminar las células que reaccionan con antígenos propios (selección negativa). La **selección positiva** requiere la interacción de las células T nuevas del timo con los antígenos propios del timo. Mediante sus TCR, algunas células T se unen a complejos MHC-péptido en el tejido tímico. Las células T que no se unen a estos complejos MHC-péptido sufren *apoptosis,* o muerte celular programada, y son eliminadas. En cambio, las células T que se unen a proteínas MHC del timo reciben señales para sobrevivir, crecer y continuar dividiéndose. La selección positiva retiene las células T que reconocen complejos MHC-péptido y elimina las que no reconocen estos complejos y que, por tanto, no serían capaces de reconocer complejos MHC-péptido fuera del timo.

La segunda etapa de la maduración de las células T es la **selección negativa**. En este caso, las células T que habían sido seleccionadas positivamente continúan interaccionando con complejos MHC-péptidos del timo. Las células T que reaccionan con los antígenos propios del timo podrían ser peligrosas si reaccionan fuertemente con dichos antígenos (autoinmunidad). Estas células T que son tan auto-reactivas se unen fuertemente a las células del timo, no pueden dividirse y finalmente mueren, en cambio, las que reaccionan más débilmente con complejos MHC-antígenos propios sobreviven a esta selección. Este doble proceso en el timo para seleccionar células T reactivas a antígenos y tolerantes a los antígenos propios ocasiona una **deleción clónica**. Los precursores de clones de células T que no son útiles (no se unen) o son dañinos (se unen muy fuertemente) mueren en el timo; más del 95 % de todos los precursores de células T que entran en el timo no sobreviven al proceso de selección.

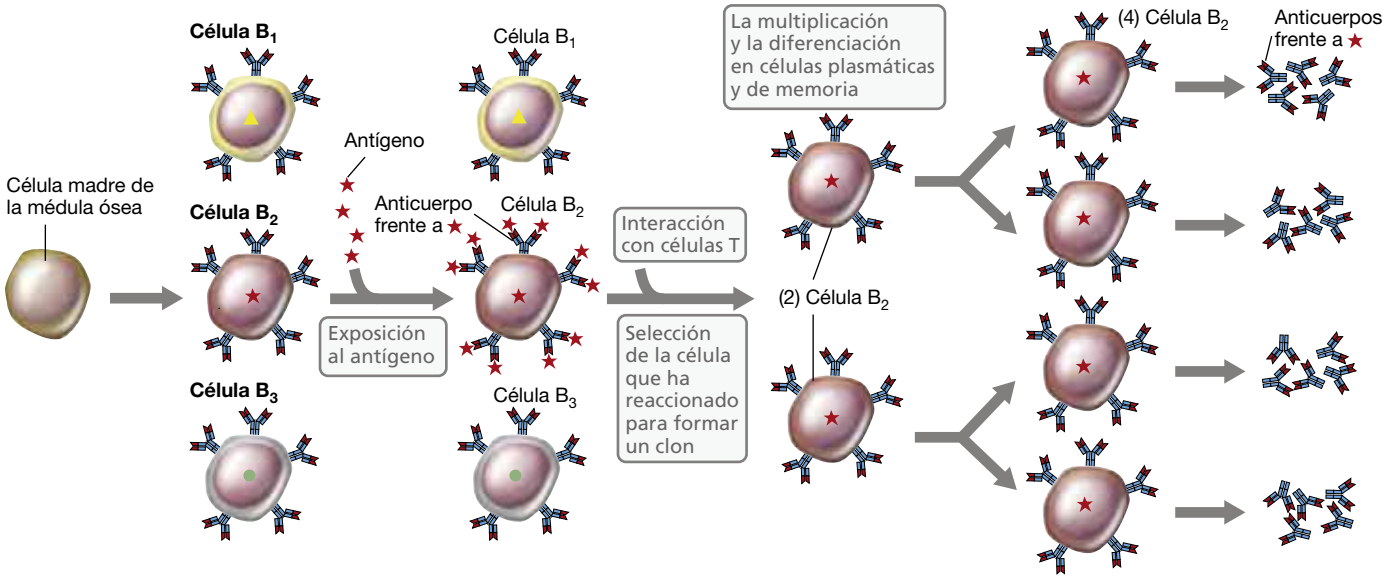


Figura 26.11 **Selección clónica.** Las células B individuales, específicas para un único antígeno, proliferan y se expanden para formar un clon después de la interacción con ese antígeno concreto. El antígeno dirige la selección y luego la proliferación de dichas células. Las copias clónicas de la célula original reactiva a antígeno tienen el mismo anticuerpo de superficie específico de antígeno y la exposición continuada al antígeno ocasiona la expansión constante del clon.

Las restantes células T seleccionadas están destinadas a reaccionar fuertemente con antígenos no-propios (extraños). No son destruidas en el timo porque su débil unión con antígenos propios del timo les proporciona señales para proliferar. Las células T seleccionadas que crecen dejan el timo y migran al bazo, al tejido linfoide asociado a mucosas, y a los ganglios linfáticos, donde entran en contacto con antígenos extraños presentados por los linfocitos B u otras APC.

Tolerancia de células B

El desarrollo de tolerancia en las células B es también necesario porque los anticuerpos producidos por células B autorreactivas

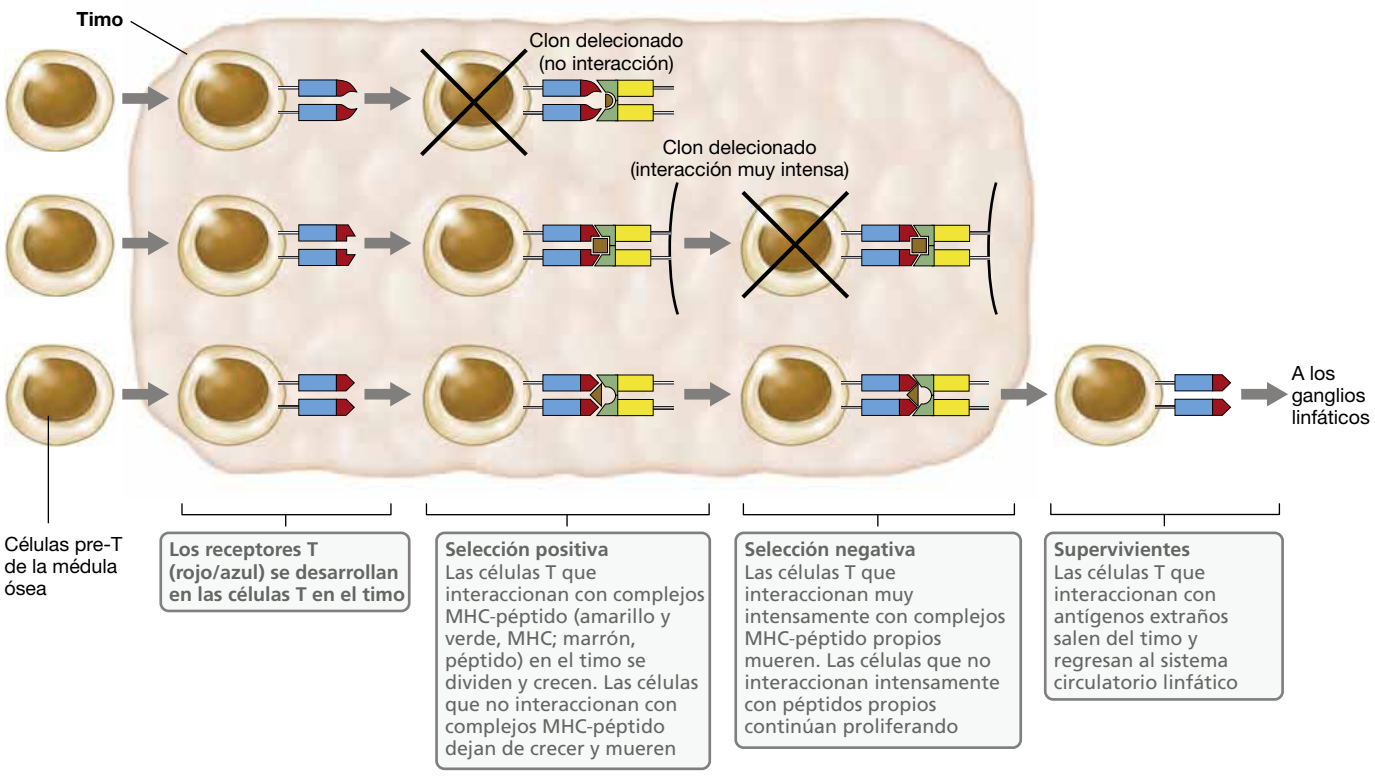


Figura 26.12 **Selección de células T y deleción clónica.** Las células T son seleccionadas en el timo para el reconocimiento de antígenos no propios peligrosos.

(autoanticuerpos) pueden causar autoinmunidad y daño en los tejidos del huésped (↔ Sección 24.8). Las células B también sufren un proceso de deleción clonal. Muchas células B autoreactivas son eliminadas durante su desarrollo en la medula ósea, el órgano linfoide primario en el que se desarrollan las células B en los mamíferos.

Además de la deleción clonal, la **anergía clónica** (falta de respuesta) también cumple una función en la selección final del repertorio de células B. Algunas células B inmaduras reaccionan con antígenos propios, pero no se activan aunque sean expuestas a concentraciones altas del antígeno propio. Esto es así porque la activación de las células B requiere una segunda señal por parte de las células Th, como veremos ahora. Si no se genera esa segunda señal porque las células Th disponibles se han hecho tolerantes al antígeno en el timo, las células B no pueden responder.

MINIRREVISIÓN

- Distinga entre selección positiva y negativa de células T. ¿De qué forma la selección positiva y negativa controlan el desarrollo de tolerancia en las células T?
- Distinga entre selección clonal y anergia clonal en las células B.

26.9 Activación de las células T y B

Las células B y T requieren señales moleculares adicionales para su activación, además de la interacción con el antígeno mediante las Ig o los TCR. La ausencia de estas señales da lugar a una célula incapaz de responder, aunque esté expuesta al antígeno. Estos mecanismos ayudan a prevenir la autoinmunidad.

Activación de las células T

Como se ha comentado anteriormente, las células T que reaccionan fuertemente con antígenos propios son eliminadas en el timo. Sin embargo, muchos antígenos propios no se expresan en el timo. Como consecuencia, muchos clones de células T que responden a antígenos no tímicos escapan a la deleción clonal en el timo. Estas células T auto-reactivas se vuelven anérgicas y pueden persistir como células T que no responden. La clave para mantener la anergia clonal en estas células T auto-reactivas y potencialmente peligrosas es el mecanismo de señalización usado para activar las células T una vez que han abandonado el timo.

Cuando las células T activadas positiva y negativamente abandonan el timo, migran a los órganos linfoides secundarios (ganglios linfáticos, bazo y tejido linfoide asociado a mucosas; ↔ Sección 24.1). Estas células T reactivas a antígeno no han sido expuestas todavía a un antígeno específico y son, por tanto, células T vírgenes o *naive*. La células T vírgenes deben ser activadas por una APC para convertirse en células efectoras competentes.

El primer paso en la activación de las células T vírgenes es la unión del TCR con el complejo MHC-péptido extraño de la APC (**Figura 26.13**). Esta primera señal (señal 1) es absolutamente necesaria para la activación. Si no hay interacción de TCR con el complejo MHC-péptido, la célula T no puede activarse. El paso siguiente requiere la interacción entre otras dos proteínas, una presente en la APC, llamada B7 y otra presente

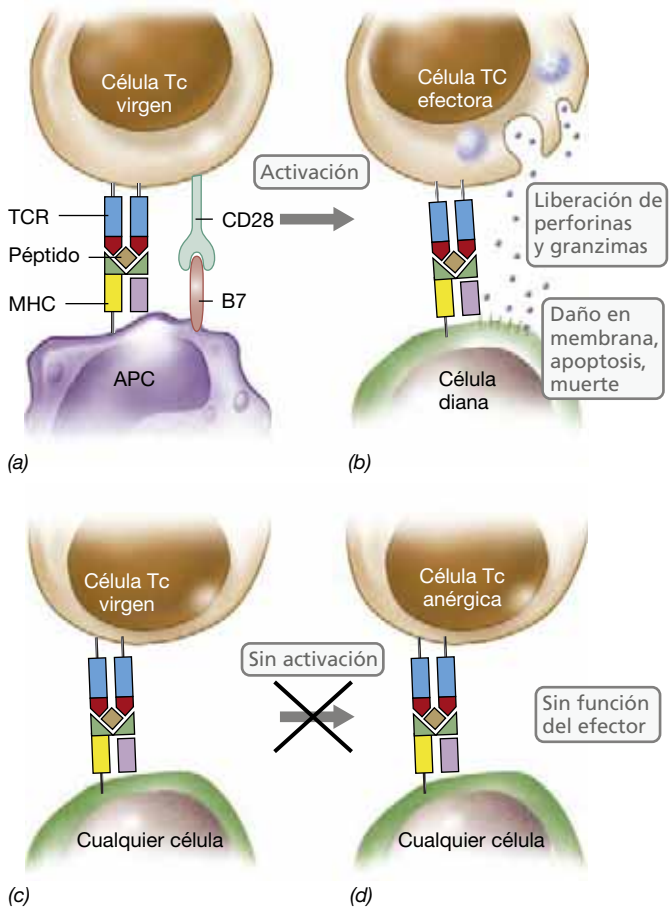


Figura 26.13 Activación de las células T. *(a)* Una célula Tc virgen interacciona a través del TCR con el complejo MHC-péptido en la superficie de la APC (señal 1 de activación). La proteína CD28 en la superficie de la célula Tc interacciona con la proteína B7 en la superficie de la APC (señal 2 necesaria para activar la célula T no activada). *(b)* La célula Tc activada puede destruir cualquier célula diana con el mismo complejo MHC-péptido. *(c)* Una célula Tc virgen interacciona a través del TCR con el complejo MHC-péptido en la superficie de cualquier célula. Aunque se cumplen las condiciones para la señal 1 (interacción de TCR con el complejo MHC-péptido, la señal 2 no se puede generar porque únicamente las células APC expresan la proteína B7. *(d)* En la ausencia de la señal 2, la célula Tc permanece *anérgica* (sin respuesta).

exclusivamente en las células T, llamada CD28. La unión de B7 y CD28 actúa como segunda señal (señal 2), activa la célula Tc y la convierte en una célula T efectora. Si no se produce la interacción B7-CD28, la célula T no se activa (Figura 26.13). Una célula Tc activada puede destruir cualquier célula diana que exprese el complejo MHC-péptido no propio, incluso aquellas que no expresen B7. Una vez que la célula T ha sido activada, solo es necesaria la primera señal (unión TCR a MHC-péptido) para que se active su capacidad destructora. Una situación similar ocurre con las células Th.

Anergia de células T

La necesidad de una segunda señal de activación tiene implicaciones importantes para establecer y mantener la anergia clonal. Los antígenos propios que no se encuentran en el timo están

presentes en muchas otras células del cuerpo. Una célula Tc virgen que interacciona con un antígeno propio que se encuentre en una célula que no sea una APC recibirá únicamente la señal MHC-péptido, porque las células que no son APC no expresan la proteína B7 necesaria para completar la segunda señal. Si no se produce la interacción B7-CD28, una célula Tc que interaccione con el complejo MHC-péptido estará permanentemente en anergia y nunca podrá ser activada (Figura 26.13). Por tanto, la segunda señal B7-CD28 es absolutamente necesaria para la activación. Los linfocitos Th vírgenes se activan de la misma forma, utilizando también la interacción B7–CD28 como segunda señal.

Activación de la célula B

La célula B tiene también otras señales independientes, además de la interacción con el antígeno, para ser activada y producir anticuerpos. Sin embargo, las señales que activan las células B son diferentes de las que activan las células T. Como hemos visto, las células B se ocupan de la captación, procesamiento y presentación del antígeno, así como de la producción de anticuerpos específicos. (**Figura 26.14** y ↻ Sección 25.8). La primera señal para las células B es la unión del antígeno y el entrecruzamiento de las inmunoglobulinas de la superficie.

La segunda señal para la activación de las células B requiere varias moléculas. La primera señal (interacción antígeno-Ig) genera una señal a través de la membrana que estimula la célula B para expresar CD40 en su superficie. Mientras tanto, la célula B ingiere el antígeno unido a las Ig, lo degrada y presenta los péptidos resultantes integrados en el MHC II a las células Th vecinas (tanto las células Th1 como las Th2 pueden intervenir en este proceso). La interacción vía el complejo TCR:MHCII-péptido estimula la expresión de CD40L (ligando de CD40) por parte de las células Th, que a su vez se une al CD40 de la célula B. La interacción CD40L-CD40 inicia una transducción de señal en la célula Th, que lleva a la transcripción de una serie de genes de la célula T y la producción de las correspondientes proteínas, como IL-4 y otras citocinas solubles. Las citocinas secretadas por la célula T interaccionan con receptores de citocinas en las superficies de la célula B, completando una segunda señal para estas células B y estimulando la producción de anticuerpos. Por tanto, la segunda señal completa para la activación de las células B es doble e implica: (1) la interacción de CD40 de la célula B con CD40L de la célula Th y (2) la interacción de una citocina producida por la célula Th con el receptor de dicha citocina en la célula B.

Una vez que la célula B se ha activado, ya no necesita la interacción con células T o citocinas para producir anticuerpos; la interacción con el antígeno es suficiente para ello. Algunas células B activadas pueden convertirse en células plasmáticas que secretarán grandes cantidades de anticuerpos en la respuesta inmunitaria primaria. Otras células B permanecen como *células B de memoria* y desempeñan un papel fundamental en la respuesta inmunitaria secundaria durante posteriores exposiciones al antígeno (↻ Sección 25.8).

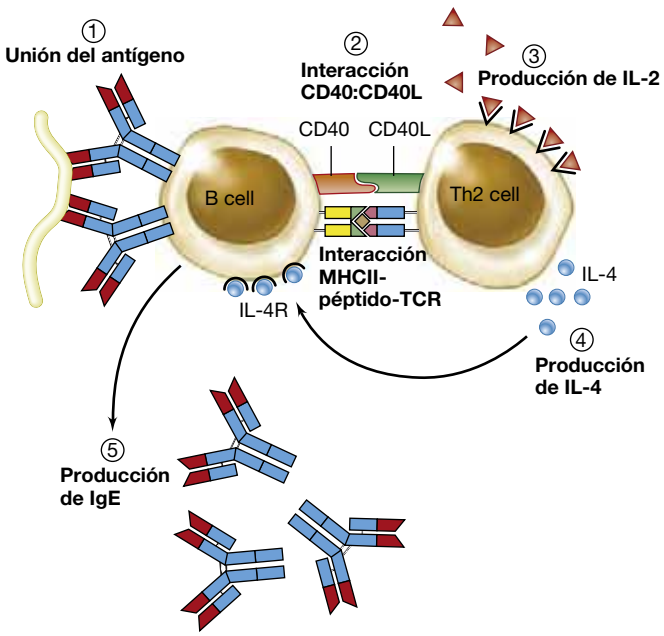


Figura 26.14 Activación de las células B. ① El antígeno se une a los receptores Ig y se entrecruza con ellos en la superficie de una célula B virgen, a la que estimula para que produzca CD40 y lo exprese en la superficie celular. La célula B procesa el antígeno y lo presenta a una célula Th2 a través del MHC II. ② El TCR de la célula Th2 interacciona con el MHC I-péptido. El CD40L de Th2 interacciona entonces con el CD40 de células B. ③ Estas interacciones estimulan la célula Th2 para producir IL-2, que estimula la misma célula Th2 (función autocrina). ④ La célula Th2 estimulada puede sintetizar varias citocinas, una de las cuales es la IL-4, que es una señal de activación final para esta célula B. ⑤ La célula B estimulada por la IL-4 produce a continuación, IgE. Las citocinas de las células Th2 estimulan los linfocitos T y B.

MINIRREVISIÓN

- Describa las señales de activación de las células T vírgenes.
- Describa las señales de activación de las células B vírgenes.

26.10 Citocinas y quimiocinas

La comunicación intercelular en el sistema inmunitario se lleva a cabo en muchos casos a través de las *citocinas*, una familia heterogénea de proteínas solubles producidas por los leucocitos y otras células. Las citocinas regulan funciones de las células del sistema inmunitario y activan varios tipos de células. Las citocinas producidas por los linfocitos se llaman *linfocinas o interleucinas* (IL).

Las citocinas se unen a receptores específicos; algunos de estos receptores pueden estar situados en la misma célula que las produce. Estas citocinas tienen actividad autocrina (autoestimuladora). Otras citocinas se unen a receptores situados en otras células. La unión de la citocina a su receptor generalmente activa la vía de transducción de señales que controla la transcripción y la síntesis de proteínas. Finalmente, estas señales dan lugar a la diferenciación celular y la proliferación clonal.

Las *quimiocinas* son un grupo de proteínas pequeñas producidas por los macrófagos, los linfocitos y otras células en respuesta a productos bacterianos, a virus y a otros agentes que dañan las células. Las quimiocinas atraen los fagocitos y las células T al sitio donde se ha producido la lesión, estimulan la respuesta inflamatoria y reclutan las células necesarias para iniciar una respuesta inmunitaria específica.

La Tabla 26.3 enumera algunas de las citocinas y quimiocinas inmunitarias más importantes, las células que las producen, las células diana sobre las que actúan más frecuentemente, y sus efectos biológicos más importantes. Se conocen más de cincuenta citocinas, la mayoría producidas por células T, monocitos o macrófagos. También se conocen unas cuarenta quimiocinas. En primer lugar examinaremos la actividad de las citocinas necesarias para inducir una respuesta inmunitaria específica mediada por anticuerpos. A continuación, examinaremos las citocinas producidas por células Th1 que activan los macrófagos para que produzcan las citocinas y quimiocinas que desencadenan la inflamación mediada por macrófagos.

Citocinas y producción de anticuerpos

Las células B son responsables de captar el antígeno, procesarlo y presentarlo, así como de producir anticuerpos específicos. Como se trató en la sección anterior, las células B necesitan dos señales independientes para activarse y producir anticuerpos. Las células B se activan por la unión del antígeno a la inmunoglobulina que está en la superficie (señal 1), seguido de la interacción entre CD40 de la célula B y CD40L de las superficies de la célula T (Figura 26.14). La célula Th activada responde produciendo IL-2, que es secretada y se une al IL-2R en la superficie de las células Th. De esta forma, la IL-2 puede activar la misma célula que la ha secretado. Bajo la influencia de la IL-2, la célula se divide, haciendo copias clónicas. Durante este proceso, la célula Th también produce otras citocinas, como la IL-4 y la IL-5.

La IL-4 se une a su receptor IL-4R en la célula B original presentadora del antígeno. La interacción IL-4:IL-4R estimula la célula B para que se diferencie la célula plasmática, productora de anticuerpos (Sección 25.8). La IL-4 producida por la célula T que responde es la segunda señal (señal 2) necesaria para iniciar la producción de anticuerpos. Además, la interacción con IL-4 puede señalar un cambio en la clase de inmunoglobulina, por ejemplo, la interacción IL-4:IL-4R puede cambiar la producción de anticuerpos de IgM a IgE o IgG1.

De manera alternativa, la IL-5 producida por las células Th se puede unir a IL-5R en la superficie de la célula B presentadora del antígeno. Al igual que ocurría en la interacción IL-4:IL-4R, la interacción IL-5:IL-5R también estimula la célula B para diferenciarse la célula plasmática productora de anticuerpos, e induce un cambio de clase de inmunoglobulina, pero esta vez a IgA.

Como muestran estos dos ejemplos, las citocinas IL-2, IL-4 y IL-5 son mediadores solubles y activadores de linfocitos B y T que interaccionan para inducir una respuesta inmunitaria mediada por anticuerpos. Las células Th presentes en diferentes localizaciones producen diferentes citocinas activadoras de células B para centrar la respuesta de anticuerpos a ese ambiente particular. Por ejemplo, las células Th cerca de la piel producen más IL-4, e inducen producción de IgE, mientras que las células Th del estómago producen IL-5 e inducen la producción de IgA secretora. Por tanto, IL-4 y IL-5 no solo controlan la activación de las células B, sino también la cualidad de la respuesta de anticuerpos, dirigiendo el cambio de clase de IgM a IgE o IgA, respectivamente y centrando por tanto la producción para un ambiente particular.

Activación de macrófagos mediada por Th1

La Tabla 26.3 muestra la actividad de varias citocinas producidas por algunas células Th1. Estas citocinas son importantes

Tabla 26.3 Citocinas y quimiocinas inmunitarias principales

Citocinas (quimiocinas)	*Principales células productoras*	*Principales células diana*	*Efecto principal*
IL-4[a]	Th2	Células B	Activación, proliferación, diferenciación, síntesis de IgG1 e IgE
IL-5	Th2	Células B	Activación, proliferación, diferenciación, síntesis de IgA
IL-2	Células T vírgenes Th1 y Tc	Células T	Proliferación (a menudo autocrina)
IFN-γ[b]	Th1	Macrófagos	Activación
GM-CSF[c]	Th1	Macrófagos	Crecimiento y diferenciación
TNF-α[d]	Th1	Macrófagos	Activación, producción de citocinas proinflamatorias
	Macrófagos	Epitelio vascular	Activación, inflamación
IL-1β	Macrófagos	Epitelio vascular, linfocitos	Activación, inflamación
IL-6	Macrófagos, células dendríticas	Linfocitos	Activación
IL-12	Macrófagos, células endoteliales	Células NK células T vírgenes	Activación, aumenta la diferenciación de Th1
IL-17	Th17	Neutrófilos	Activación
CXCL8 (quimiocina)	Macrófagos	Neutrófilos, basófilos, células T	Factor quimiotáctico
CCL2 (MCP-1[e]) (quimiocina)	Macrófagos	Macrófagos, células T	Factor quimiotáctico, activador

[a]IL interleucina; [b]IFN, interferón; [c]GM-CSF, factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos; [d]TNF, factor de necrosis tumoral, [e]MCP, proteína quimiotáctica de macrófagos.

en la activación de los macrófagos. Las citocinas IFN-γ (interferón gamma), GM-CSF (del inglés *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*, factor estimulador de colonias de monocitos y granulocitos) y TNF-α (del inglés *tumor necrosis factor alpha* o factor de necrosis tumoral alfa) son producidas por células Th1 activadas tras su unión al antígeno. Estas citocinas estimulan la diferenciación y activación de los macrófagos.

Los macrófagos estimulados producen una serie de citocinas y quimiocinas, muchas de las cuales desempeñan alguna función al inicio de la inflamación. Algunas de las citocinas proinflamatorias más importantes producidas por los macrófagos son IL-1β, TNF-α, IL-6 e IL-12. La IL-1β y el TNF-α inducen la activación del endotelio vascular. La IL-6 activa los linfocitos, y todas ellas, excepto la IL-12, causan fiebre a nivel sistémico. La IL-12 actúa estimulando las células citocidas naturales (o células asesinas naturales) o células NK (del inglés *natural killer*) y la diferenciación de células T vírgenes en células Th1 (Tabla 26.3).

Entre las quimiocinas producidas por macrófagos activados se encuentran CXCL8 y CCL2, también llamada MCP-1. CXCL8 (también llamada IL-8) es producida por monocitos, macrófagos y otras células. Es secretada por las células activadas y se une a receptores de las superficies de las células T y de los neutrófilos, donde actúa como un quimioatrayente. Esto causa una respuesta inflamatoria mediada por neutrófilos, seguida de una respuesta inmunitaria específica de las células T que han sido atraídas. Como en el caso de los receptores de las citocinas, los receptores de las quimiocinas en la superficie de la célula diana actúan a través de vías de transducción de señales para inducir la activación de células efectoras, como neutrófilos o células T.

CCL2, que es producida por los macrófagos y otras células, atrae los basófilos, eosinófilos, monocitos, células dendríticas, células citocidas naturales (NK) y células T, estimula la producción de más mediadores de la inflamación y puede organizar una respuesta inmunitaria específica.

MINIRREVISIÓN

- Indique las principales citocinas y quimiocinas producidas por las células Th1 y Th2 y por los macrófagos.
- Indique las citocinas proinflamatorias, las células que las producen y los efectos que tienen en otras células.

IDEAS PRINCIPALES

26.1 • Los PRR interaccionan con los PAMP compartidos por patógenos variados, activando al complemento y a los fagocitos para atacar y destruir el patógeno. La interacción PRR-PAMP inicia una cascada de transducción de señales que activa las células efectoras.

26.2 • Los genes de la superfamilia Ig codifican proteínas que están relacionadas con las inmunoglobulina desde el punto de vista evolutivo, estructural y funcional. Las Ig que unen el antígeno, los TCR y las proteínas del MHC forman parte de esta familia. La unión del antígeno a las Ig o a los TCR facilita la transducción de señales a través de una molécula adaptadora que contiene un motivo de activación del inmunorreceptor vía tirosina (ITAM).

26.3 • Las proteínas del MHC de clase I se expresan en la superficie de todas las células nucleadas y funcionan presentando péptidos antigénicos endógenos a los TCR de las células Tc. Las proteínas del MHC de clase II se expresan solo en las APC y su función es presentar péptidos antigénicos de origen exógeno a los TCR de la superficies de las células Th.

26.4 • Los genes MHC codifican proteínas que presentan antigenos peptídicos a las células T. Los genes de los MHC de clase I y de clase II son muy polimórficos. Los alelos de ambas clases codifican proteínas que unen y presentan péptidos con motivos estructurales conservados.

26.5 • El sitio de unión al antígeno de las Ig está compuesto de los dominios V (variables) de una cadena pesada y una cadena ligera. Cada región V contiene tres regiones determinantes de complementariedad o CDR, que se pliegan juntas para formar el sitio de unión al antígeno.

26.6 • La diversidad de las inmunoglobulinas se genera por diversos mecanismos. La recombinación somática de fragmentos de genes permite la mezcla de los distintos segmentos de genes de Ig. La redistribución aleatoria de los genes de las cadenas ligeras y pesadas, la imprecisión en la unión de los segmentos de genes VDJ y VJ, y los mecanismos de hipermutación contribuyen a la generación de una diversidad casi ilimitada de inmunoglobulinas.

26.7 • Los receptores de las células T unen los antígenos peptídicos presentados por las proteínas del MHC. La región CDR3 de las cadenas α y β se unen al epítopo del antígeno; las regiones CDR1 y CDR2 se unen a la proteína del MHC. La cadena β del dominio V está codificada por los segmentos de genes VDJ. La cadena α del dominio V está codificada por los segmentos de genes VJ. La diversidad de los TCR, generada por diversos mecanismos, es casi ilimitada.

26.8 • El timo es un órgano linfoide primario que ofrece un ambiente para la maduración de las células T reactivas al antígeno. Las células T inmaduras que no interaccionan con el complejo MHC-péptido (selección positiva) o

que reaccionan muy fuertemente con antígenos propios (selección negativa) son eliminadas por deleción clonal en el timo. Las células T que sobreviven a la selección positiva y negativa dejan el timo y participan en la respuesta inmunitaria. La reactividad de células B a antígenos propios está controlada por deleción clonal y anergia.

26.9 • Las células T vírgenes se activan en los órganos linfoides secundarios uniéndose primero con el complejo MHC-péptido a través de su TCR (señal 1), seguido por la unión de la proteína B7 de la APC a la proteína CD28 de la célula T (señal 2). La activación de las células B se inicia por la interacción del antígeno con la inmunoglobulina de la superficie (señal 1), seguida de la interacción entre la proteína CD40 de la célula B y la proteína CD40L de la célula T para que se genere la producción de citocinas (señal 2).

26.10 • Las citocinas producidas por los leucocitos y otras células son mediadores solubles que regulan la interacción entre células. Varias citocinas, como la IL-2 y la IL-4, afectan a los linfocitos y son componentes críticos en la generación de la respuesta inmunitaria específica. Otras citocinas, como IFN-γ y TNF-α, afectan a gran variedad de tipos celulares. Las quimiocinas producidas por varias tipos de células se liberan como respuesta a una lesión y actúan atrayendo fuertemente células inflamatorias no específicas y células T.

MasteringMicrobiology®

Revise lo que sabe y descubra lo que ha aprendido con MasteringMicrobiology. Acceda a material de estudio, revisiones de los capítulos, animaciones y tutoriales de microbiología práctica en el Área de Estudio y asegúrese de que ha asimilado todo el contenido de este capítulo.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Anergia clonal: incapacidad para producir una respuesta inmunitaria frente a antígenos específicos debido a la neutralización de células efectoras.

Antígeno de leucocitos humanos (HLA): proteína presentadora de antígenos codificada por los genes del complejo principal de histocompatibilidad del genoma humano.

Deleción clonal: eliminación de clones no útiles o que reaccionan con antígenos propios que se produce en el timo para seleccionar las células T.

Hipermutación somática: mutación de los genes de las inmunoglobulinas con una frecuencia mayor que las observadas en otros genes.

Motivo: en el contexto de la presentación de antígenos, una secuencia conservada de aminoácidos presentes en todo los péptidos que se unen a una proteína concreta del MHC.

Poligenia: presencia de múltiples copias de genes relacionados desde el punto de vista evolutivo, genético, estructural y funcional.

Polimorfismo: en una población, la existencia de múltiples alelos para un locus con una frecuencia más alta de lo normal y que no puede ser explicada por mutaciones aleatorias recientes.

Región determinante de complementariedad (CDR): secuencia de aminoácidos variable dentro del dominio variable de las inmunoglobulinas o de los receptores de las células T donde tiene lugar el contacto con el antígeno

Selección clonal: la producción, por las células B o T, de copias de sí mismas después de su interacción con el antígeno.

Selección negativa: en la selección de células T, la deleción de las células T que interaccionan con antígenos propios en el timo (véase también deleción clonal).

Selección positiva: en la selección de células T, crecimiento y desarrollo de células T que interaccionan con complejos MHC-péptido propios en el timo.

Superfamilia de genes de inmunoglobulinas: familia de genes que están relacionados evolutiva, estructural y funcionalmente con las inmunoglobulinas.

PREGUNTAS DE REPASO

1. Indique al menos un receptor de reconocimiento de patrones (PRR), su patrón molecular asociado a patógeno (PAMP) y la respuesta que se produce en el hospedador. (Sección 26.1)
2. Defina los criterios utilizados para asignar un gen y la proteína que codifica a la superfamilia de genes de las inmunoglobulinas. (Sección 26.2)
3. Indique las principales características estructurales de las proteínas de los MHC de clase I y de clase II. (Sección 26.3)
4. Polimorfismo implica que cada proteína MHC diferente se une a un motivo peptídico diferente. Para los polimorfismos de los MHC de clase I, ¿cuántas proteínas MHC diferentes se expresan en un individuo? ¿Y en el conjunto de la población humana? (Sección 26.4)
5. ¿Qué cadenas de las inmunoglobulinas se utilizan para construir un sitio completo de unión al antígeno? ¿Qué dominios? ¿Qué CDR? (Sección 26.5)

6. Calcule el número total de dominios V_H y V_L codificados por líneas germinales que pueden construirse con los genes de inmunoglobulinas existentes. Compárelo con el número de dominios V_β y V_α de los TCR. ¿Cómo aumenta esta diversidad en cada pareja de receptores de antígenos? (Sección 26.6)

7. Como ocurre en las inmunoglobulinas, la diversidad en los TCR se puede generar por recombinación y por reorganización, y se puede generar más diversidad con procesos somáticos como la adición de nucleótidos N y la lectura del segmento D en los tres marcos de lectura. Explique estos mecanismos generadores de diversidad. (Sección 26.7)

8. Explique la selección positiva y negativa de las células T. (Sección 26.8)

9. ¿Qué interacciones moleculares son necesarias para la activación de las células T vírgenes («naive»)? ¿Y para la activación de células B vírgenes? (Sección 26.9)

10. ¿Cuáles son las principales citocinas y sus efectos en la respuesta inmunitaria mediada por anticuerpos? ¿Y en una respuesta mediada por células Th1? (Sección 26.10)

EJERCICIOS PRÁCTICOS

1. Describa las consecuencias de una mutación genética que elimine un PRR y cómo se manifestaría en el huésped. Aplicar esta pregunta por lo menos a un PRR soluble y a un PRR asociado a membrana.

2. El polimorfismo implica que cada proteína MHC diferente se une a un motivo peptídico diferente. Sin embargo, para las proteínas del MHC de clase I se pueden reconocer solo 6 motivos peptídicos en un individuo, mientras que el conjunto de la población humana puede reconocer hasta 6.000 motivos. ¿Qué ventajas tiene el reconocimiento de múltiples motivos para el individuo? ¿Qué posible ventaja tiene el reconocimiento de un número muy elevado de motivos para la población? ¿Puede cada individuo procesar y presentar los mismos antígenos?

3. Aunque los procesos de recombinación genética son importantes para generar una diversidad significativa en los sitios de unión al antígeno de las Ig, ciertos mecanismos somáticos posteriores a la recombinación pueden llegar a ser incluso más importantes para generar una alta diversidad final. ¿Está usted de acuerdo o en desacuerdo con esta afirmación? Justifique la respuesta.

4. ¿Cuál sería el resultado de la activación de todas las células T que entran en contacto con el antígeno? ¿De qué manera los múltiples mecanismos de señalización impiden que esto ocurra?

CAPÍTULO

27 · Microbiología diagnóstica

microbiología **actual**

Los antibióticos y las abejas

Las abejas (*Apis mellifera*, foto) producen miel y son polinizadores agrícolas muy importantes. En la década de 1950, la oxitetraciclina, un antibiótico de amplio espectro, se introdujo en las colmenas en los EE.UU. para prevenir las enfermedades causadas por patógenos bacterianos. Después de más de 50 años del uso establecido de antibióticos, un estudio muestra ahora que la microbiota intestinal de la mayoría de las abejas de los EE.UU. contiene un alto número de copias de un grupo de ocho genes que confieren resistencia a la tetraciclina[1].

La composición de la comunidad bacteriana del intestino de las abejas está sorprendentemente conservada y en ella dominan ocho especies que contribuyen a la defensa contra las infecciones parasitarias y ayudan en la nutrición. Los genes de resistencia están codificados por plásmidos y otros elementos genéticos móviles y se transmiten entre estas especies. La comparación de las abejas americanas con las de Europa y Nueva Zelanda, donde el uso de antibióticos en las abejas no está permitido, muestran que la comunidad bacteriana de las abejas de las colmenas no tratadas no ha adquirido genes de resistencia. Esto también ocurre en las abejas de los EE.UU. que no han sido expuestas a los antibióticos durante más de 25 años, así como en los abejorros, que tienen una microbiota intestinal similar a las abejas, pero no están domesticados y, por tanto, no están expuestos a la oxitetraciclina.

¿Realmente necesitamos tratar las abejas con antibióticos? ¿Podemos prever con precisión las consecuencias a largo plazo del uso de antibióticos? No hay pruebas de que las bacterias de las abejas resistentes a la tetraciclina se hayan transferido a los seres humanos o les hayan causado alguna enfermedad, pero estas bacterias son un reservorio de genes de resistencia que pueden ser transferidos a patógenos de abejas y a otras bacterias. Más importante es aún el que la exposición prolongada a un único antibiótico puede alterar la microbiota de las abejas de forma imprevisible y, a largo plazo, podría afectar la salud de estos insectos y su resistencia a las enfermedades.

[1] Tian, B., *et al.* 2012. Long-term exposure to antibiotics has caused accumulation of resistance determinants in the gut microbiota of honeybees. *mBio 3(6):* e00377-12. doi:10.1128/mBi.oo377-12.



I El ambiente clínico 862
II Identificación microbiológica de patógenos 865
III Métodos diagnósticos no dependientes de cultivo 872
IV Fármacos antimicrobianos 880
V Resistencia a agentes antimicrobianos 889

Los laboratorios de microbiología deben identificar los patógenos de forma segura, rápida y eficaz. El microbiólogo clínico examina las muestras de los pacientes por observación directa, cultivo, ensayos inmunológicos, y métodos moleculares para identificar patógenos. La identificación correcta del patógeno será la clave para su control con drogas antimicrobianas específicas.

I • El ambiente clínico

27.1 Seguridad en el laboratorio de microbiología

La seguridad en el laboratorio clínico impide la propagación de las infecciones a las personas que trabajan en él. Para prevenir las infecciones accidentales en el puesto de trabajo, se han establecido normas para el manejo de las muestras clínicas.

Seguridad en el laboratorio

El laboratorio clínico presenta peligros potenciales para todo el personal, especialmente para personal sin conocimientos específicos o para quienes no utilizan las medidas de precaución necesarias. Todos los laboratorios que manipulan tejidos humanos o de primates deben tener algún plan de protección del personal para manejar patógenos transmisibles por la sangre, que debe estar diseñado especialmente para proteger a los trabajadores de la infección por el virus de la hepatitis B (HBV, ↬ Sección 29.11) y por el de la inmunodeficiencia humana (HIV, causante del síndrome de inmunodeficiencia humana [sida], ↬ Sección 29.14). Este plan de prevención limita finalmente la infección por todos los patógenos.

Las dos causas más comunes de infecciones en el laboratorio son la ignorancia y la falta de precauciones. La preparación adecuada y el obligado cumplimiento de los procedimientos de seguridad establecidos son esenciales para evitar la mayoría de las infecciones. Las infecciones que se producen en el laboratorio en su mayor parte no están ocasionadas por exposiciones o accidentes identificables, como salpicaduras de cultivos, sino más bien de la manipulación rutinaria de las muestras de los pacientes, siendo los aerosoles generados durante los procedimientos microbiológicos su causa más común. Los laboratorios clínicos siguen las normas generales de seguridad resumidas en la **Tabla 27.1**, para minimizar el riesgo de infecciones. La observancia de estas normas garantiza un ambiente seguro en el laboratorio de conformidad con las regulaciones gubernamentales.

Estas normas generales son aplicables en todos los laboratorios que manipulan agentes potencialmente infecciosos y constituyen la base para todos los aspectos relacionados con el control de la infección en el ámbito sanitario. Los laboratorios que manipulan agentes particularmente peligrosos o que se transmiten con facilidad pueden contar con normas y medidas adicionales de protección, además de las que garantizan un ambiente de trabajo seguro, como se trata más adelante. En última instancia, la seguridad en el lugar de trabajo es responsabilidad del personal del laboratorio.

Contención biológica y niveles de seguridad

Los niveles de contención empleados para prevenir infecciones accidentales o contaminación ambiental accidental (fugas) en laboratorios clínicos, de investigación o de docencia deben adaptarse para contrarrestar el riesgo biológico de los organismos que se manejan en el laboratorio. Los laboratorios se clasifican de acuerdo con las medidas de contención y su nivel de *bioseguridad* (*BSL*, del inglés *biosafety level*) como *BSL-1, BSL-2, BSL-3* y *BSL-4* (**Figura 27.1**). El personal que trabaja en laboratorios de cualquiera de estos niveles debe seguir las normas básicas resumidas en la Tabla 27.1 para asegurar la limpieza y limitar la contaminación. Los requisitos de cada nivel de bioseguridad se resumen en la **Tabla 27.2**. En cada nivel aumentan las precauciones, el instrumental y los costos.

La mayoría de las universidades tienen instalaciones de nivel BSL-1 y BSL-2 para la docencia y la investigación. Los laboratorios clínicos estándar operan a un nivel BSL-2. Los requisitos físicos especiales para las instalaciones de nivel BSL-3 las limita a los principales centros clínicos o de investigación. Puesto que los laboratorios de nivel BSL-4 deben asegurar un aislamiento total y una contención física de los patógenos, no llega a cincuenta el número de laboratorios BSL-4 operativos en todo el mundo. La mayoría de los laboratorios BSL-4 están relacionados con instalaciones del Gobierno de los Estados Unidos, como los Centros para la Prevención y el Control de Enfermedades (CDC, del inglés *Centers for Disease Control and Prevention*), de Atlanta (Georgia, EE.UU.) y el Instituto de Investigación Médica de Enfermedades Infecciosas del Ejército de los EE.UU.

Tabla 27.1 Normas estándar de seguridad en el laboratorio de microbiología

Norma	*Puesta en práctica*
Acceso restringido	Solo tienen acceso los trabajadores de laboratorio y personal de apoyo capacitado.
Práctica de buena higiene personal	Se prohíbe comer, beber y la aplicación de cosméticos en el laboratorio. El lavado de manos impide la propagación de agentes patógenos.
Uso de equipos de protección personal	Dependiendo de los agentes patógenos manipulados, se recomienda o es necesario el uso de batas de laboratorio, guantes, protección para los ojos y respiradores.
Vacunación	El personal debe estar vacunado contra los agentes con los que puede tener contacto.
Manejo de las muestras con seguridad	Las muestra clínicas deben ser consideradas como infecciosas y deben manejarse apropiadamente.
Descontaminación	Después de su uso o exposición, se deben descontaminar las muestras, superficies y materiales mediante desinfección, autoclavado o incineración.



CDC/PHIL, Jim Gathany

Figura 27.1 Trabajadora de un laboratorio BSL-4 (nivel de bioseguridad 4). BSL-4 es el nivel más alto de control biológico, y proporciona la máxima protección a los trabajadores y la contención de patógenos. La trabajadora lleva un traje sellado que cubre todo el cuerpo, con un suministro de aire exterior y un sistema de ventilación. El acceso al laboratorio está controlado con esclusas de aire. Todo el material que sale del laboratorio se desinfecta en un autoclave o se descontamina químicamente.

(USAMRIID, del inglés U.S. Army Medical Research Institute of Infectious Diseases) de Fort Detrick (Maryland, EE.UU.).

MINIRREVISIÓN

- ¿Cuáles son las causas principales de infecciones en el laboratorio?
- Indique las medidas de contención de riesgo biológico de los laboratorios BSL-1, BSL-2, BSL-3 y BSL-4.

27.2 Infecciones hospitalarias

Una infección asociada a la atención en salud (en español IAAS; o HAI, del inglés *healthcare-associated infection*) es una infección local o sistémica adquirida por un paciente en un centro de atención sanitaria, especialmente si ocurre durante la estancia en dicho centro. Las IAAS, también llamadas *infecciones nosocomiales* (originalmente del griego *nosokomion*), causan una elevada morbilidad y mortalidad. Aproximadamente 1 de cada 20 pacientes admitidos en un centro sanitario, adquieren una IAAS. En los EE.UU. cada año se producen alrededor de 1,7 millones de IAAS, que directa o indirectamente causan unas 100.000 muertes.

Mecanismos de transmisión de infecciones asociadas a la asistencia sanitaria

Algunas IAAS se adquieren a partir de pacientes con enfermedades contagiosas, pero otras son causadas por patógenos que se seleccionan y mantienen en el ambiente hospitalario, propagándose por infección cruzada de paciente a paciente o por el personal sanitario. Estos patógenos se encuentran a menudo formando parte de la microbiota normal de los pacientes o del personal sanitario.

Las instalaciones sanitarias son ambientes de alto riesgo de propagación de enfermedades infecciosas porque concentran individuos que las padecen o están en riesgo de adquirirlas debido a su precario estado de salud. La Tabla 27.3 resume algunos de los factores de riesgo frecuentes para adquirir enfermedades infecciosas en centros sanitarios.

Las IAAS más comunes se muestran en la Figura 27.2. De las cerca de 100.000 muertes anuales que en los EE.UU. se estima que están causadas por IAAS, unas 36.000 lo son por neumonía, 31.000 por infecciones de la sangre, 13.000 por infecciones urinarias, 8.000 por infecciones de heridas quirúrgicas y 11.000 por otras causas. Si bien otros agentes infecciosos también pueden causarlas, un número relativamente pequeño de patógenos causa la mayoría de las IAAS (Tabla 27.4).

UNIDAD 5

Tabla 27.2 Niveles de bioseguridad y directrices para los laboratorios de microbiología

Nivel de bioseguridad	*Acceso*	*Precauciones/equipo especializado*	*Ejemplo y propósito*	*Ejemplos de microorganismos*
BSL-1	Debería ser limitado	Se deberían utilizar barreras de protección básicas (batas, guantes).	Laboratorio de docencia (no se trabaja con patógenos conocidos)	*Bacillus subtilis*
BSL-2	Debe ser limitado	Se deben utilizar barreras de protección. Las manipulaciones que pueden generar aerosoles deben llevarse a cabo en una cabina de seguridad biológica.	Laboratorio que trabaja con patógenos de riesgo moderado	*Streptococcus pyogenes, Escherichia coli*
BSL-3	Debe ser limitado; separado de pasillos de circulación general	Se deben utilizar barreras de protección. El laboratorio tiene presión negativa y está equipado con filtros para evitar el escape de patógenos. Las manipulaciones deben llevarse a cabo en una cabina de seguridad biológica.	Laboratorio que trabaja con patógenos emergentes y de alto riesgo	*Mycobacterium tuberculosis*, virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)
BSL-4	Debe ser limitado; separado de pasillos de circulación general	Se deben utilizar barreras de protección. Las manipulaciones se deben realizar en una cabina de seguridad biológica sellada o por personal que lleve trajes de presión positiva con un suministro de aire, además de los requisitos de BSL-3 (Figura 27.1).	Laboratorio que trabaja con patógenos emergentes o de alto riesgo, especialmente los que pueden propagarse por aerosoles, o para los que no existe ningún tratamiento, curación, o vacuna	Virus del Ebola *Mycobacterium tuberculosis* resistente a antibióticos

Tabla 27.3 Factores de riesgo para las infecciones adquiridas en el hospital

Factor de riesgo	*Justificación*
Pacientes	Los pacientes ya están enfermos o inmunodeprimidos
Recién nacidos y ancianos	Sistema inmunitario no totalmente competente
Pacientes con enfermedades infecciosas	Reservorios de patógenos
Proximidad del paciente	Aumenta la infección cruzada
Personal sanitario	Pueden transferir patógenos al paciente y de un paciente a otro
Procedimientos médicos (extracciones de sangre, etc.)	Al romper la barrera de la piel, se pueden introducir patógenos
Cirugía	Expone órganos internos, puede introducir patógenos, y el estrés disminuye la resistencia a la infección
Medicamentos antiinflamatorios	Bajan la resistencia a la infección
Tratamiento con antibióticos	Puede seleccionar patógenos resistentes y oportunistas

Tabla 27.4 Patógenos nosocomiales

Patógenos	*Sitios comunes de infección y enfermedades*	*Micrografías*[b]	
[a]*Acinetobacter*	Herida/zona de la cirugía, torrente circulatorio, neumonía, infección de orina		*Acinetobacter*
Burkholderia cepacia	Neumonía		*B. cepacia*
Clostridium difficile, *C. sordellii*	Gastrointestinal Neumonía, endocarditis, artritis, peritonitis, mionecrosis		*C. difficile*
[a]*Enterobacteriaceae*, resistentes al carbapenem, especialmente *Escherichia coli* y *Klebsiella*	Neumonía, herida/zona de la cirugía, torrente circulatorio, meningitis		*E. coli*
[a]*Enterococcus* resistente a vancomicina (VRE)	Herida/zona de la cirugía, torrente circulatorio, infección de orina		*Klebsiella*
Hepatitis	Infección hepática crónica		*Enterococcus*
Virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)	Inmunodeficiencia		Virus de la hepatitis B
Virus influenza	Neumonía		VIH
Mycobacterium abscessus	Infecciones de la piel o tejidos blandos		Virus de la gripe
[a]*M. tuberculosis*	Infección pulmonar crónica (tuberculosis)		*M. tuberculosis*

(continúa)

Tabla 27.4 Patógenos nosocomiales *(continuación)*

Patógenos	*Sitios comunes de infección y enfermedades*	*Micrografías*[b]	
Norovirus	Gastroenteritis		Norovirus
[a]*Staphylococcus aureus* Resistente a la meticilina (MRSA) Resistencia a la vancomicina intermedia o total (VISA, VRSA)	Torrente circulatorio, neumonía, endocarditis, osteomielitis		*S. aureus*

[a] Organismos resistentes a antibióticos que tienen múltiples resistencias.
[b] Todas las micrografías son de microscopía electrónica de barrido y han sido coloreadas. Todas ellas son de CDC/PHIL. Créditos adicionales de fotografías (números de arriba a abajo): 1-5, 10, y 12, Janice Haney Carr; 6, Peta Wardell; 7, Erskine Palmer; 8, A. Harrison and P. Feorino; 9, Frederick Murphy; 11, Charles D. Humphrey

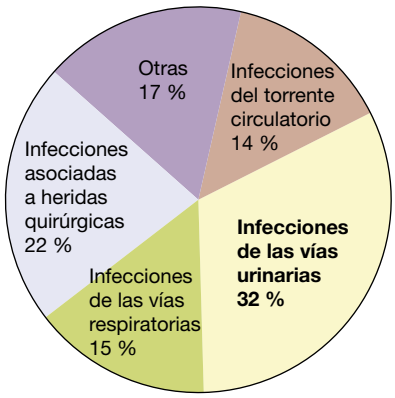


Figura 27.2 Infecciones asociadas a la asistencia sanitaria. Anualmente se producen alrededor de 1,7 millones de infecciones asociadas a la asistencia sanitaria en los EE.UU. (Fuente: Klevens *et al., Public Health Reports 122:* 160-166, 2007)

Patógenos comunes en las infecciones asociadas a la asistencia sanitaria

Staphylococcus aureus es uno de los agentes de IAAS más importantes y de mayor distribución (↪ Sección 29.9). Es el causante más frecuente de neumonía, el tercero de infecciones sanguíneas y un problema grave en la unidad de recién nacidos. Muchas cepas hospitalarias de *S. aureus* son excepcionalmente virulentas y resistentes a los antibióticos habituales, por lo que su tratamiento es muy difícil. Los estafilococos son la causa más frecuente de infecciones IAAS transmitidas por la sangre y su prevalencia en las heridas infectadas es alta.

Staphylococcus, Enterococcus, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae y otras *Enterobacteriaceae* tienen la capacidad de causar IAAS, pero también pueden formar parte de la microbiota normal de algunos individuos, por lo que es difícil eliminarlas de los centros sanitarios. Además, estos organismos pueden adquirir resistencias a los fármacos. En cambio, patógenos que no forman parte de la microbiota normal, tales como *Acinetobacter* o *Mycobacterium* spp, sí que pueden ser eliminados. Estos patógenos entran en el ambiente sanitario a través de individuos infectados o, en el caso de algunas micobacterias, como contaminantes ambientales a través del polvo y del aire.

La prevención de las IAAS requiere la cooperación entre el equipo de control de infecciones del centro sanitario y los miembros del personal, no solo los trabajadores sanitarios, sino también el personal de apoyo, como el servicio de limpieza. El control de la infección comienza con la gestión del paciente en el momento de su ingreso en el centro sanitario; estos pacientes deberían ser evaluados en relación a posibles infecciones y, si fuera necesario, deberían permanecer aislados para prevenir la propagación de la infección al personal del centro o a otros pacientes. A partir de ese momento, el personal sanitario aplica medidas estándar para limitar la infección, con las mismas medidas generales de precaución de los laboratorios (Tabla 27.1).

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué los pacientes ingresados en instalaciones sanitarias son más susceptibles a los patógenos que quienes no lo están?
- ¿Cómo se puede controlar la propagación de las IAAS?

UNIDAD 5

II • Identificación microbiológica de los patógenos

La observación y el cultivo de los patógenos a partir de muestras de pacientes son estrategias importantes para la identificación del agente causal de la enfermedad infecciosa. Esta identificación permite realizar pruebas de sensibilidad a fármacos antimicrobianos y seguir un plan de tratamiento específico. Empezaremos estudiando los métodos de observación, cultivo y aislamiento de patógenos y seguiremos con los métodos de identificación y de estudio de la susceptibilidad a los antimicrobianos.

27.3. Detección directa de patógenos

Para poder aislar e identificar microorganismos de importancia clínica, la muestra debe obtenerse y manipularse correctamente para asegurar la supervivencia del patógeno. Primero, la muestra debe obtenerse del mismo lugar de la infección y de manera aséptica para evitar la contaminación con otros microorganismos. Segundo, la muestra tiene que ser lo suficientemente grande para asegurar un inóculo adecuado para el cultivo.

Tercero, para garantizar la supervivencia del microorganismo, sus necesidades metabólicas deben mantenerse durante la toma de muestras, el almacenamiento y transporte. Finalmente, debe procesarse la muestra lo más rápidamente posible para evitar su degradación. Por ejemplo, las muestras obtenidas de sitios anóxicos se deben obtener, almacenar y transportar en condiciones anóxicas para asegurar la supervivencia de potenciales patógenos anaerobios.

Si el personal sanitario sospecha que una enfermedad está causada por un agente infeccioso, se recogen muestras de tejidos o fluidos para su análisis microbiológico, inmunológico y de biología molecular (**Figura 27.3**). Las muestras típicas comprenden sangre, orina, heces, esputo, líquido cefalorraquídeo o pus de una herida. A menudo, se utilizan hisopos estériles para obtener muestras de zonas infectadas sospechosas como heridas, piel, fosas nasales, o la garganta (**Figura 27.4**). Con el hisopo se inocula una placa de agar o un tubo con medio de cultivo líquido. En algunos casos, se puede obtener una pequeña muestra de tejido (biopsia) para el cultivo o examen al microscopio. La sangre y otros fluidos se analizan inicialmente mediante métodos microbiológicos automatizados.

La mayoría de los patógenos se detectan por medios directos utilizando una o más pruebas de diagnóstico. La fiabilidad de cualquier prueba de diagnóstico depende tanto de su *especificidad* como de su *sensibilidad*. La **especificidad** es la capacidad de una prueba para reconocer un único patógeno. Una especificidad óptima es aquella en que la prueba solo detecta un determinado patógeno y no identifica cualquier otro. Una especificidad alta reduce los resultados positivos falsos. Por ejemplo, para la detección de *Neisseria gonorrhoeae*, el microorganismo que causa la gonorrea, la especificidad de la tinción de Gram es de aproximadamente el 99 por ciento para los frotis de exudados uretrales de hombres y de aproximadamente el 95 por ciento para los exudados endocervicales de mujeres. Los resultados positivos falsos para la gonorrea son, por tanto, raros por este método.

La **sensibilidad** define el número mínimo de patógenos o la menor cantidad de un producto del patógeno que puede ser detectada. El nivel de sensibilidad más alto requiere que la prueba sea capaz de identificar un único organismo o una molécula. Una alta sensibilidad previene las reacciones negativas falsas. Por ejemplo, para la detección de *N. gonorrhoeae*, la sensibilidad de la tinción de Gram de frotis de exudados uretrales de hombres es de 90 por ciento aproximadamente, pero solo de un 50 por ciento para exudados endocervicales de mujeres. Por tanto, la prueba es sensible en los hombres, pero lo es mucho menos en las mujeres. En los casos sospechosos de gonorrea en mujeres, los resultados negativos falso con la tinción de Gram son relativamente frecuentes; por tanto, deben ser examinadas por métodos más sensibles, incluidas las técnicas de cultivo.

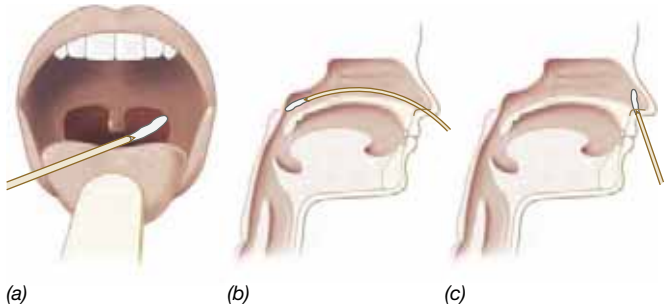


Figura 27.4 Muestras de las vías respiratorias altas. *(a)* Frotis de garganta. *(b)* Frotis nasofaríngeo pasado a través de la nariz. *(c)* Toma de muestras del interior de la nariz.

Observación directa y cultivo

La observación directa de los agentes patógenos en muestras clínicas es una herramienta importante para el diagnóstico de muchas enfermedades infecciosas. Por ejemplo, la observación de *Mycobacterium tuberculosis* en esputos de pacientes teñidos con la tinción para microorganismos ácido-alcohol resistentes demuestra la infección por *M. tuberculosis* (↪ Sección 29.4 y Figura 29.16a). Del mismo modo, la infección por *N. gonorrhoeae* se puede diagnosticar mediante la observación directa de la tinción de Gram de frotis de exudados uretrales de hombres,

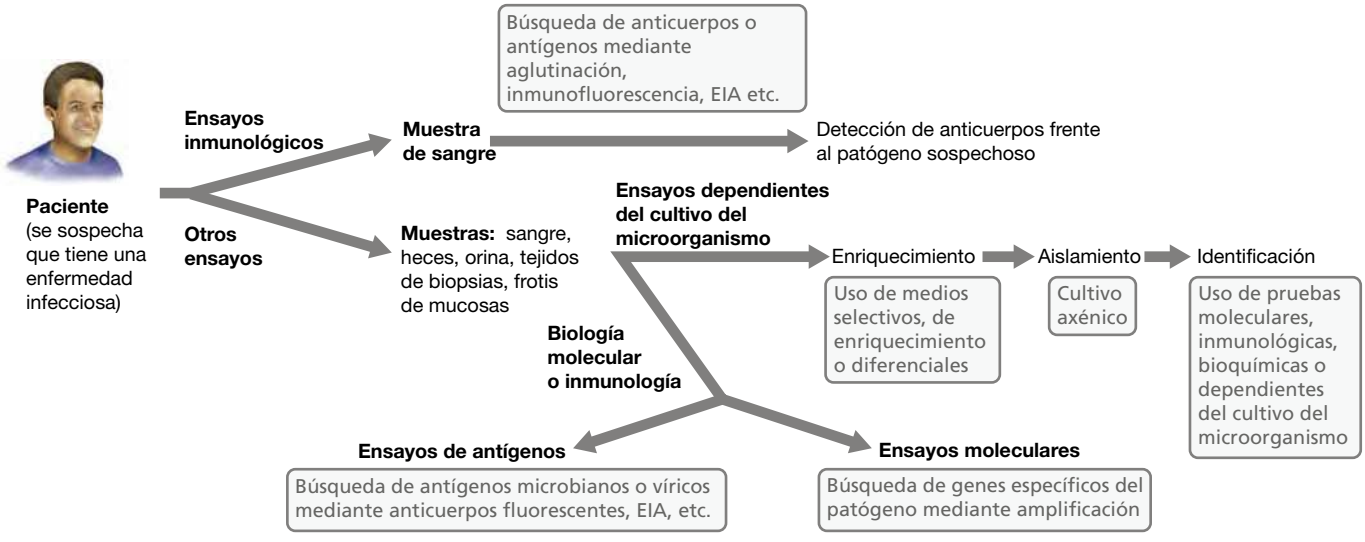


Figura 27.3 Identificación de patógenos microbianos en el laboratorio clínico. El diagrama de flujo muestra vías alternativas para la identificación de patógenos o para detectar la exposición a agentes patógenos.

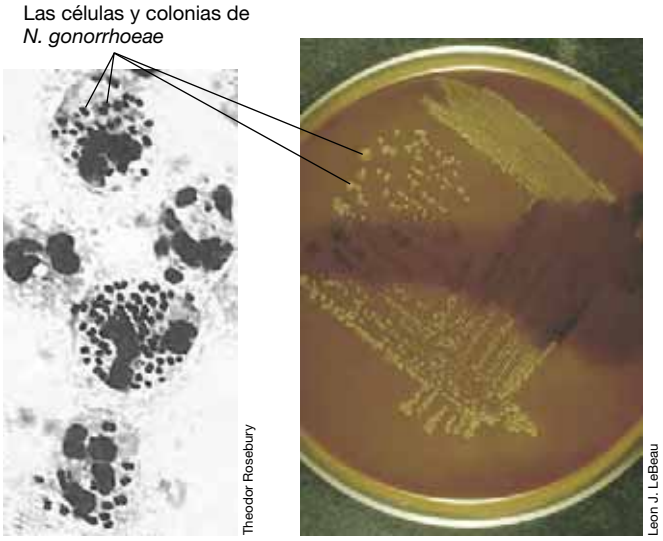


Figura 27.5 **Identificación *de Neisseria gonorrhoeae.*** *(a)* Células de *N. gonorrhoeae* dentro de los leucocitos polimorfonucleares humanos de un exudado uretral. Obsérvense los cocos emparejados (diplococos). *(b) N. gonorrhoeae* creciendo en agar Thayer-Martin. La placa ha sido teñida en el centro con un reactivo que tiñe las colonias de azul si las células contienen citocromo *c* (prueba de la oxidasa). Las colonias de *N. gonorrhoeae* en contacto con el reactivo son de color azul, lo que indica que son oxidasa-positivas.

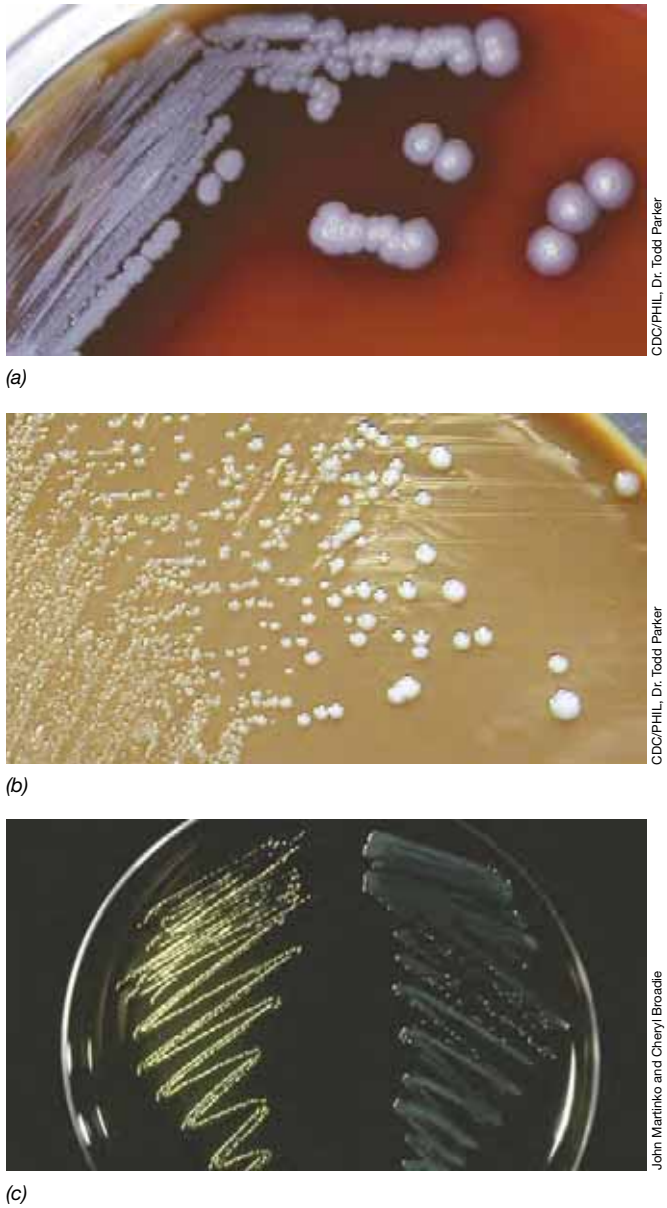


Figura 27.6 **Medios enriquecidos** *(a) Burkholderia* creciendo en agar con sangre de oveja (SBA); el color rojo se debe a la sangre añadida a un medio rico, como el agar tripticasa de soja. *(b) Francisella tularensis* creciendo en agar chocolate; el color marrón se debe a la sangre lisada con calor en un medio rico como el agar de tripticasa de soja. *(c) Escherichia coli*, un fermentador de lactosa (izquierda) y *Pseudomonas aeruginosa*, un no-fermentador de lactosa (a la derecha) creciendo en agar eosina-azul de metileno (EMB). El brillo verde metálico de las colonias identifica a *E. coli* como un fermentador de lactosa.

ya que la presencia de diplococos gramnegativos en grupos en el interior de neutrófilos es característica de la enfermedad (**Figura 27.5*a***). En mujeres, sin embargo, los frotis cervicales a menudo no revelan la presencia del organismo infectante y se utilizan el cultivo o técnicas moleculares para establecer o confirmar un diagnóstico de gonorrea (↻ Sección 29.12 y Figura 27.5*b*). La mayoría de los patógenos se pueden cultivar fácilmente en el laboratorio. Para este propósito, una herramienta importante es el **cultivo de enriquecimiento,** el uso de medios de cultivo y condiciones de incubación selectivos, que permiten aislar diferentes microorganismos a partir de muestras (↻ Sección 18.1). La mayoría de los microorganismos de importancia clínica pueden cultivarse, aislarse e identificarse con medios de crecimiento especializados. Las muestras clínicas son inoculadas en **medios generales,** como *agar sangre* (**Figura 27.6*a***) *y agar chocolate* (Figura 27.6*b*) que permiten el crecimiento de muchos patógenos aerobios o aerobios facultativos. El agar chocolate, llamado así por su color marrón oscuro, contiene sangre lisada por calor. La sangre calentada interacciona con los otros componentes del medio, absorbiendo compuestos que son tóxicos para microorganismos exigentes, como *N. gonorrhoeae*. También se pueden utilizar medios de cultivo más específicos.

El siguiente paso en la identificación es el uso de *medios enriquecidos* para el cultivo de patógenos seleccionados. Los **medios enriquecidos** contienen factores de crecimiento específicos que mejoran el crecimiento de patógenos concretos. Por ejemplo, el medio de Thayer-Martin favorece el crecimiento de bacterias como *N. gonorrhoeae* (Figura 27.5*b*). Otro tipo son los **medios selectivos,** que permiten el crecimiento de algunos organismos e inhiben el crecimiento de otros debido a la presencia de agentes inhibidores. Finalmente, los **medios diferenciales** son los que permiten identificar organismos por su crecimiento, color y aspecto en el medio. El agar eosina-azul de metileno (EMB, del inglés eosin-methylene blue) es un medio selectivo que inhibe el crecimiento de organismos grampositivos mientras que permite el de los gramnegativos. Además, es un medio diferencial porque distingue bacterias fermentadoras de lactosa, como *Escherichia coli*, de otras bacterias gramnegativas que no fermentan la lactosa, como *Pseudomonas aeruginosa* (Figura 27.6*c*). La **Tabla 27.5** indica los especímenes usualmente inoculados en cada uno de de los medios de cultivo generales y enriquecidos de uso más frecuente.

Tabla 27.5 Medios enriquecidos y selectivos para el aislamiento primario de patógenos

	Media[a]		
Muestra	Agar sangre	CA	Agar para bacterias entéricas
Fluidos de pecho, abdomen, pericardio, articulaciones	+	+	+
Heces: hisopos con muestra rectal o entérica	+	+	+
Biopsias de tejido quirúrgicos	+	–	+
Garganta, esputo, amígdalas, nasofaringe, pulmones, ganglios linfáticos	+	+	+
Uretra, vagina, cuello uterino	+	+	+
Orina	+	–	+
Sangre[b]	+	+	+
Heridas, abscesos, exudados	+	+	+

[a] Agar sangre, 5 % de sangre de oveja entera en agar tripticasa de soja; CA, agar chocolate (sangre calentada en agar de tripticasa de soja); agar para bacterias entéricas, por ejemplo agar eosina-azul de metileno (EMB).
[b] La sangre se cultiva inicialmente en caldo. Dependiendo de las características de la tinción de Gram de las cepas aisladas, se realizan subcultivos en agar para bacterias entéricas (gramnegativos) o en agar chocolate (grampositivos).

Sangre y muestras líquidas

Los patógenos en muestras líquidas de gran volumen como la sangre o el líquido cefalorraquídeo se detectan normalmente utilizando sistemas de cultivo automatizados, seguido por el examen microscópico y el subcultivo.

El procedimiento de cultivo de sangre estándar (hemocultivo) consiste en extraer asépticamente de 10 a 20 ml de sangre de una vena e inyectarla en dos frascos de cultivo que contienen un anticoagulante y un caldo de cultivo general. Una botella se incuba aeróbicamente y la otra se incuba en condiciones anóxicas, y ambas se mantienen a 35 °C hasta unos 5 días. Los sistemas de cultivo automatizados detectan el crecimiento mediante la monitorización, cada 10 minutos, del consumo de gas (en condiciones óxicas) o de la producción de dióxido de carbono (en condiciones anóxicas). Algunos sistemas miden también la turbidez. La mayoría de las bacterias clínicamente más significativas se recuperan en 2 días, pero el crecimiento de organismos como micobacterias u hongos puede durar de 3 a 5 días o incluso más. Los frascos donde hay crecimiento se examinan primero por la tinción de Gram (Sección 2.2) y luego se inoculan en medios de enriquecimiento y diferenciales para el aislamiento e identificación posteriores.

La **bacteriemia** es la presencia de bacterias en la sangre. Es muy rara en los individuos sanos, aunque se puede producir de forma transitoria al cepillarse los dientes, durante una cirugía dental, o por un trauma. La presencia prolongada de bacterias en la sangre es generalmente indicativa de una infección sistémica. La **septicemia,** o **sepsis,** es una infección de la sangre por un microorganismo virulento que entra en el torrente circulatorio desde un foco infeccioso, se multiplica, y viaja a distintos tejidos del cuerpo para iniciar nuevas infecciones. La sepsis es muy grave y puede ser letal. Entre los patógenos más comunes que se encuentran en la sangre están las bacterias grampositivas *Staphylococcus* spp. y *Enterococcus* spp, pero alrededor del 2 al 3 por ciento de los hemocultivos están contaminados por microorganismos como *Staphylococcus epidermidis*, corinebacterias, o propionibacterias introducidas desde la piel durante la toma de la muestra de sangre. Estos microorganismos también pueden infectar el corazón (endocarditis bacteriana subaguda) o colonizar válvulas cardíacas artificiales. Por tanto, un hemocultivo positivo debe valorarse junto con observaciones clínicas para un diagnóstico preciso.

Cultivos de heces y de orina

Las infecciones de las vías urinarias son comunes, especialmente en las mujeres. La interpretación de los cultivos de orina puede ser confusa porque los agentes causantes de infecciones urinarias son a menudo miembros de la microbiota normal (por ejemplo, *E. coli*). En la mayoría de los casos, las vías urinarias se infectan por organismos que ascienden a la vejiga desde la uretra. Sin embargo, las infecciones de las vías urinarias son las infecciones más comunes asociadas a la asistencia sanitaria y a menudo están causadas por la manipulación de catéteres.

El examen microscópico directo de la orina puede indicar *bacteriuria*, la presencia de un número anormal de bacterias, pero casi todas las muestras de orina contienen un cierto número de bacterias. La tinción de Gram se puede hacer directamente en muestras de orina para identificar la morfología de posibles patógenos de las vías urinarias. Este método se utiliza para identificar posibles bacilos gramnegativos, incluidas las bacterias entéricas, cocos gramnegativos como *Neisseria*, y grampositivos como *Enterococcus*. La tinción de Gram y otros métodos de tinción directa también son útiles para la detección de bacterias en otros fluidos corporales como esputos y exudados de heridas.

Una infección urinaria significativa normalmente da recuentos bacterianos de 10^5 o más organismos por mililitro de orina. Los patógenos más frecuentes de las vías urinarias son las bacterias entéricas, *E. coli* en particular, pues representa alrededor del 90 por ciento de los casos. Normalmente se emplean dos tipos de medios para cultivar patógenos de las vías urinarias. El agar sangre para el aislamiento inicial. Medios entéricos selectivos y diferenciales, como el agar EMB, permiten la diferenciación inicial de los fermentadores de la lactosa de los no fermentadores e inhiben el crecimiento de posibles contaminantes grampositivos como algunas especies de *Staphylococcus* (Figura 27.6*c*). Otros medios diferenciales y selectivos pueden utilizarse para diferenciar entre varios posibles patógenos gramnegativos (**Figura 27.7**).

Los cultivos de orina se realizan cuantitativamente mediante recuento de las colonias en agar sangre o en un medio de agar selectivo. Para este fin, se utiliza un asa calibrada que deposita una cantidad específica de la orina inóculo en la placa, generalmente 1 µl. Si no se obtiene crecimiento bacteriano a pesar de haber síntomas persistentes de infección de las vías urinarias, el clínico puede solicitar cultivos adicionales para microorganismos más exigentes desde el punto de vista nutritivo como *N. gonorrhoeae* y *Chlamydia trachomatis.*

Una recolección y conservación de las heces adecuada es importante para el aislamiento de patógenos intestinales. Durante el almacenamiento, las heces se vuelven más ácidas, por lo que el retraso entre la toma de las muestras y su procesamiento debe ser mínimo. Esto es especialmente crítico para el aislamiento de patógenos sensibles a la acidez como *Shigella* y *Salmonella*.

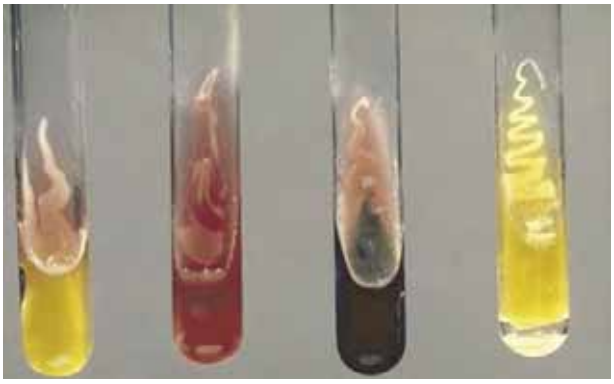


Figura 27.7 Prueba de diagnóstico dependiente de cultivo para patógenos gramnegativos. Se muestran cuatro bacterias entéricas diferentes creciendo en agar triple azúcar-hierro (TSI). El medio contiene glucosa, lactosa y sacarosa. Los organismos que solo fermentan la glucosa forman ácido solamente en la parte inferior, mientras que los organismos que fermentan la lactosa o la sacarosa forman ácido a lo largo de todo el tubo. La formación de gas se refleja por la ruptura del agar en la parte inferior del tubo. La formación de sulfuro de hidrógeno (por la degradación de proteínas o por la reducción de tiosulfato en el medio) se indica por el ennegrecimiento debido a la reacción con el hierro ferroso del medio. El medio se inocula por picadura (un pinchazo) en la superficie y en el fondo del agar. De izquierda a derecha: 1. Fermentación de glucosa únicamente, típico de *Shigella*. 2. Crecimiento sin fermentación, típico de *Pseudomonas*, un aerobio estricto no fermentador. 3. Formación de sulfuro de hidrógeno, típico de *Salmonella*. 4. Fermentación de azúcares y producción de hidrógeno gaseoso, típicos de *Escherichia coli*.

Las muestras de heces recién recogidas se colocan en un contenedor sellado estéril para el transporte al laboratorio. Las heces que contengan sangre o pus, así como las de pacientes con sospecha de infección transmitida por los alimentos o por el agua, se inoculan en medios selectivos para aislamiento de bacterias individuales. Los patógenos intestinales eucariotas se identifican mediante observación microscópica directa de los quistes en la muestra de heces o mediante pruebas de detección de antígeno, más bien que por métodos de cultivo. Muchos laboratorios también utilizan medios selectivos y diferenciales para identificar *E. coli* O157:H7 y *Campylobacter*, dos importantes patógenos intestinales que se adquieren normalmente a partir de alimentos o de agua contaminada (↻ Secciones 31.11 y 31.12).

Heridas y abscesos

En las infecciones asociadas a lesiones traumáticas, como mordeduras de animales, quemaduras o cortes, se toman muestras para detectar el patógeno principal. Los resultados deben interpretarse cuidadosamente para diferenciar entre infección y contaminación, pues estas infecciones y los abscesos se contaminan frecuentemente con microbiota normal y las muestras de frotis son frecuentemente engañosas. Para abscesos y otras lesiones purulentas, el pus se debe aspirar con una jeringa y aguja estériles después de desinfectar la superficie de la piel. Las muestras de lesiones purulentas internas se toman por biopsia o de tejidos extraídos quirúrgicamente.

Los patógenos comúnmente asociados con infecciones de heridas son *Staphylococcus aureus*, bacterias entéricas, *Pseudomonas aeruginosa*, y anaerobios como *Bacteroides* y *Clostridium*. Debido a la variedad en las necesidades de oxígeno de estas bacterias, las muestras deben obtenerse, transportarse y cultivarse en condiciones óxicas y anóxicas. Los principales medios de aislamiento son agar sangre, medios selectivos para bacterias entéricas, y medios de enriquecimiento que contengan suplementos y agentes reductores para anaerobios estrictos. Además, estos especímenes se examinan directamente al microscopio con tinción de Gram.

Muestras genitales y cultivos para gonorrea

En los hombres, un exudado uretral purulento indica una infección de transmisión sexual. Estas infecciones se clasifican como uretritis no gonocócica o gonocócica. La uretritis no gonocócica está causada generalmente por *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, o *Trichomonas vaginalis* (↻ Sección 29.13). La uretritis gonocócica es debida a *Neisseria gonorrhoeae* (↻ Sección 29.12).

Neisseria gonorrhoeae se encuentra generalmente como diplococos gramnegativos. No hay microorganismos parecidos que se encuentren normalmente en el aparato genitourinario y, por tanto, si una tinción de Gram de un frotis uretral, vaginal o de cuello de útero muestra diplococos gramnegativos permite suponer un diagnóstico positivo de gonorrea. El examen microscópico de las descargas purulentas generalmente revela la presencia de diplococos gramnegativos en los neutrófilos (Figura 27.5*a*). El agar chocolate, un medio enriquecido no selectivo, se utiliza a menudo para los especímenes que se sospecha que contienen *N. gonorrhoeae*. Un medio selectivo utilizado para el aislamiento primario es el agar Thayer-Martin modificado (MTM) (Figura 27.5b). Este medio incorpora los antibióticos vancomicina, nistatina, trimetoprim y colistina para suprimir el crecimiento de la microbiota normal. Estos antibióticos no tienen ningún efecto sobre *N. gonorrhoeae* ni sobre *N. meningitidis*, que causa meningitis bacteriana (↻ Sección 29.5).

Las placas inoculadas se incuban en un ambiente húmedo en una atmósfera que contenga del 3 al 7 por ciento de CO_2 durante 24 y 48 horas y se realiza la prueba de la oxidasa porque las bacterias del género *Neisseria* son oxidasa-positivo (Figura 27.5*b*). Si el inóculo procedía del aparato genitourinario, los diplococos gramnegativos oxidasa-positivos que han crecido en agar chocolate o medios selectivos serán muy probablemente gonococos. La identificación definitiva de *N. gonorrhoeae* requiere la determinación del espectro de utilización de carbohidratos y pruebas inmunológica o de ácidos nucleicos. Las pruebas de laboratorio de muestras genitourinarias para *N. gonorrhoeae* (y *C. trachomatis*, frecuentemente asociada a *N. gonorrhoeae*) se basan a menudo en la amplificación del DNA mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) u otros métodos moleculares.

Cultivo de microorganismos anaerobios

Las bacterias anaerobias obligadas son causa común de infección, y su identificación requiere métodos especiales de aislamiento y cultivo. En general, los medios para anaerobios no difieren mucho de los utilizados para aerobios, excepto que por lo general son (1) más ricos en componentes orgánicos, (2) contienen agentes reductores como cisteína o tioglicolato para eliminar el oxígeno y (3) contienen un indicador redox para indicar que las condiciones son anóxicas. La recolección, manipulación y procesamiento de las muestras debe excluir la contaminación con oxígeno, porque este elemento es tóxico para los organismos anaerobios estrictos.

Varios hábitats del cuerpo, como algunas zonas de la cavidad bucal y del intestino grueso, son anóxicos y permiten el crecimiento de la microbiota normal anaerobia. Otras partes del cuerpo, sin embargo, pueden también convertirse en anóxicas como resultado de una lesión tisular o un trauma que reduzca el suministro de sangre y, en consecuencia, la perfusión de oxígeno a la zona. Estos sitios anóxicos pueden ser colonizados entonces por anaerobios estrictos. En general, las bacterias potencialmente patógenas anaerobias forman parte de la microbiota normal, pero se mantienen bajo control por la competencia con otros miembros de la microbiota normal. En ciertas condiciones, sin embargo, estas bacterias normalmente benignas pueden llegar a ser patógenos oportunistas. Por ejemplo, *Clostridium difficile* es generalmente un miembro inofensivo de la microbiota normal del intestino grueso, pero a menudo aparece como patógeno nosocomial después de que una terapia intensiva con antibióticos destruya la microbiota normal con la que compite (Tabla 27.4).

El aislamiento, el crecimiento y la identificación de patógenos anaerobios son procesos complicados por la contaminación de las muestras, así como por el constante reto de mantener un ambiente anóxico durante la recogida, el transporte y el cultivo. Las muestras recogidas por aspiración con una jeringa, o las biopsias, deben colocarse inmediatamente en un tubo sin oxígeno, por lo general con una solución que contenga un agente reductor como el tioglicolato, más un indicador redox como la resazurina (↪ Figura 5.27) para controlar la contaminación por oxígeno.

Para la incubación anóxica, las muestras se inoculan en frascos de cultivo anaeróbico en un sistema de cultivo automatizado, o bien se incuban en condiciones anóxicas después de la inoculación de medios de cultivo que contengan agentes reductores en un recipiente lleno con un gas diferente del oxígeno, como nitrógeno o hidrógeno (↪ Figura 5.28*b*).

MINIRREVISIÓN

- Describa los medios de cultivo y las condiciones usadas con muestras de sangre, heridas, orina, fecales y del aparato genital.
- Describa los métodos utilizados para mantener las condiciones óptimas para el aislamiento de patógenos anaerobios.

27.4 Métodos de identificación dependientes del cultivo

Si se detecta crecimiento después de la inoculación de una muestra en un medio general, el microbiólogo clínico debe identificar el organismo u organismos presentes. Muchos microorganismos recuperados a partir de muestras clínicas pueden ser identificados mediante pruebas dependientes del cultivo. Teniendo en cuenta sus características de crecimiento en los medios enriquecidos utilizados para el aislamiento primario, un presunto patógeno se subcultiva en medios especiales, diseñados para medir alguna de las muchas reacciones bioquímicas posibles. Aquí veremos ejemplos de algunas pruebas bioquímicas estándar, todas ellas diseñadas para diferenciar perfiles de crecimiento y metabolismo bacterianos con el objetivo de identificar un patógeno concreto a partir de su perfil único de crecimiento en los medios selectivos.

Los medios empleados son selectivos, diferenciales, o ambos. El agar eosina azul de metileno (EMB), por ejemplo, es un medio selectivo y diferencial muy utilizado para el aislamiento y diferenciación de bacterias entéricas. El azul de metileno tiene un efecto selectivo porque inhibe el crecimiento de las bacterias grampositivas y, por tanto, solo pueden crecer organismos gramnegativos. El agar EMB tiene un pH inicial de 7,2 y contiene lactosa y sacarosa, pero no glucosa, como fuentes de energía. La acidificación cambia la eosina, que es el componente diferencial del medio, de incolora a roja o negra. Las bacterias que fermentan fuertemente la lactosa, como *Escherichia coli*, acidifican el medio y sus colonias aparecerán negras con un brillo verdoso. Otras bacterias entéricas, como *Klebsiella* o *Enterobacter*, producen menos ácido y sus colonias, en EMB, van de color rosa a rojo. Las colonias de microorganismo que no fermentan la lactosa, como *Salmonella*, *Shigella* y *Pseudomonas*, son translúcidas o rosas (Figura 27.6*c*). Por tanto, el medio EMB es selectivo para gramnegativas y también diferencial para las bacterias entéricas comunes.

Muchos medios diferenciales incorporan pruebas bioquímicas para medir la presencia o ausencia de enzimas que intervienen en el catabolismo de un sustrato o sustratos específicos. Se conocen cientos de pruebas bioquímicas diferenciales, pero habitualmente solo se utilizan unas veinte. Un ejemplo es el agar triple azúcar-hierro (TSI, del inglés *triple-sugar iron*) utilizado para diferenciar patógenos entéricos. Los perfiles de fermentación y producción de gas de estas bacterias son diferentes según géneros y, a veces, especies (Figura 27.7). Otro método de ensayo utiliza sustratos cromogénicos que alteran el color de las colonias de organismos específicos. Por ejemplo, CHROMagar, un medio selectivo y diferencial patentado, inhibe el crecimiento de la mayoría de los microorganismos. Sin embargo, los *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina (MRSA del inglés *methicillin-resistant S. aureus*) crecen como colonias de color rosa claramente identificables; el medio contiene también compuestos que emiten fluorescencia cuando son metabolizados por MRSA.

Los perfiles bioquímicos de reacción de los patógenos se pueden almacenar en un banco de datos. Utilizando los resultados de las pruebas diferenciales de un patógeno desconocido, un ordenador los compara con los perfiles metabólicos de patógenos conocidos, y esto permite su identificación. Tan solo tres o cuatro pruebas clave son suficientes para hacer una identificación inequívoca de muchos patógenos. Sin embargo, en algunos casos, se requieren procedimientos de identificación más sofisticados. El microbiólogo clínico decide qué pruebas de diagnóstico se deben usar según el origen de la muestra clínica, las características de un cultivo puro en medios de uso general (por ejemplo, morfología y tinción de Gram) y la experiencia previa con casos semejantes.

MINIRREVISIÓN

- Distinga entre medios de uso general, selectivos y diferenciales. Dé un ejemplo de un medio que se utilice para cada finalidad.
- Identifique los componentes selectivos y diferenciales del agar EMB y explique cómo funciona cada uno.

27.5. Análisis de susceptibilidad a los fármacos antimicrobianos

Los patógenos aislados de muestras clínicas se identifican para confirmar diagnósticos médicos y para guiar la terapia antimicrobiana. Para muchos patógenos, el tratamiento antimicrobiano

adecuado y eficaz se basa en la experiencia. Sin embargo, para determinados patógenos las decisiones sobre el antimicrobiano adecuado debe hacerse estudiando caso por caso. Entre estos patógenos están aquellos que con frecuencia son resistentes a fármacos antimicrobianos (por ejemplo, bacterias entéricas gramnegativas), los que causan enfermedades que pueden ser mortales (por ejemplo, la meningitis causada por *Neisseria meningitidis*) y aquellos que requieren fármacos bactericidas en lugar de bacteriostáticos (↻ Sección 5.19) para impedir la progresión de la enfermedad y el daño tisular. Los agentes bactericidas están indicados, por ejemplo, para los organismos que causan endocarditis bacteriana, donde la muerte rápida de todos los patógenos es crítica para la supervivencia del paciente.

Concentración inhibidora mínima

La susceptibilidad antimicrobiana se mide determinando la cantidad más pequeña de un agente necesaria para inhibir completamente el crecimiento del microorganismo, un valor llamado **concentración inhibidora mínima** (CIM). Para determinar la CIM de un agente concreto contra un microorganismo dado, se prepara una serie de tubos de un medio de cultivo con concentraciones decrecientes del agente antimicrobiano y se inoculan todos con un mismo número de microorganismos. Cada tubo contiene el medio con una concentración en aumento del agente antimicrobiano. Después de la incubación, se comprueba el crecimiento visible (turbidez) en los distintos tubos. En la práctica, esto se hace de forma automatizada usando cantidades del medio y de reactivos del orden de microlitros. La CMI es la concentración más baja del agente que inhibe completamente el crecimiento del microorganismo (↻ Figura 5.40). Una versión miniaturizada de esta prueba utiliza un método estándar de pocillos de microvaloración para determinar la CIM utilizando diluciones dobles de varios antibióticos en medio inoculado con una cantidad estándar de las bacterias que se analizan (**Figura 27.8*a***). En el laboratorio de microbiología clínica, las pruebas para la determinación rutinaria de las CIM están automatizadas.

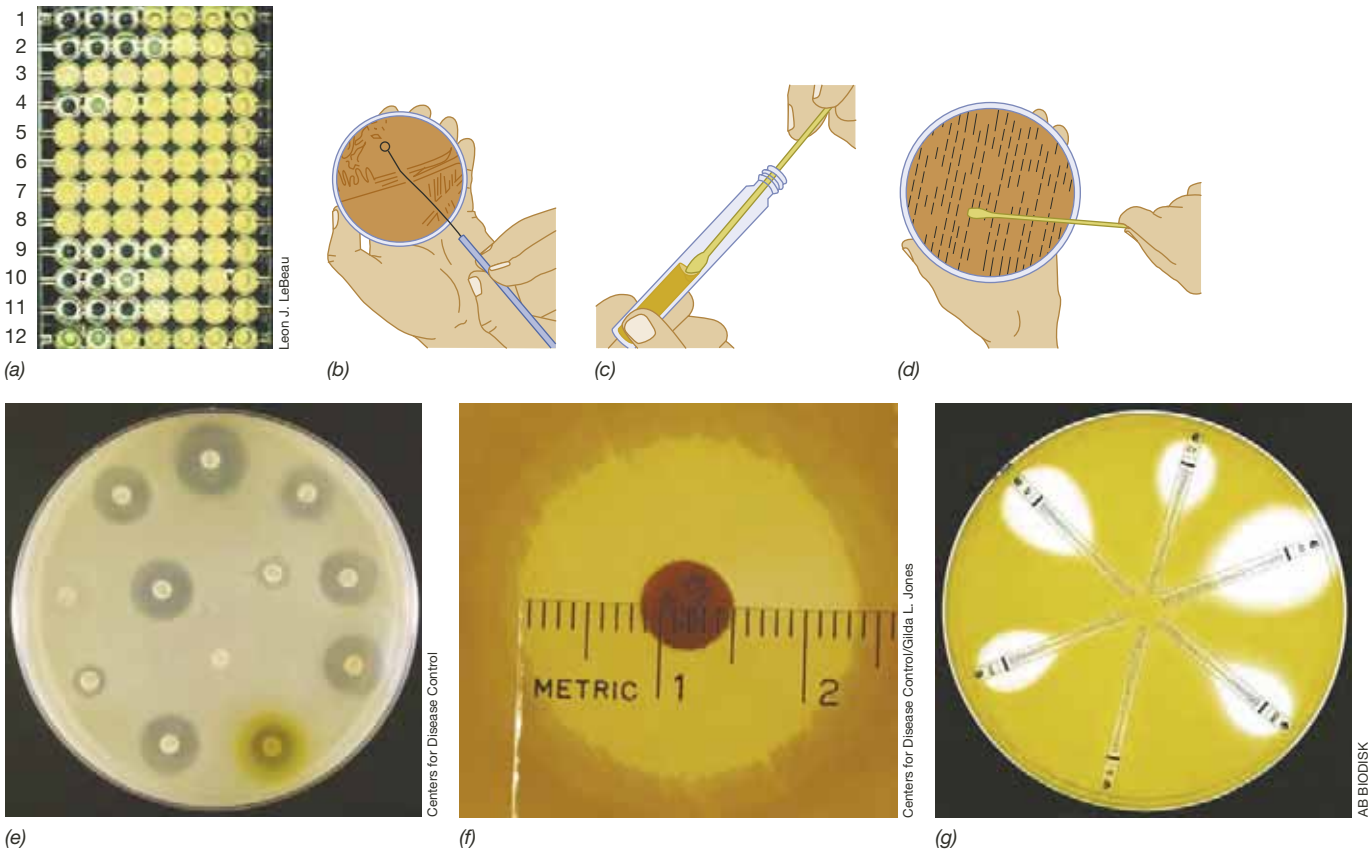


Figura 27.8 Pruebas de sensibilidad a los antibióticos. Métodos para determinar la sensibilidad de un microorganismo a los antibióticos. *(a)* Sensibilidad determinada por el método de dilución en caldo en una placa de microtitulación. El organismo es *Pseudomonas aeruginosa*. Cada fila tiene un antibiótico diferente. La dilución límite es la del pocillo con la más baja concentración de antibiótico en la que no hay crecimiento bacteriano visible. La mayor concentración de antibiótico está en el pocillo de la izquierda, desde el que se realizaron diluciones seriadas dobles hacia la derecha. En las filas 1 y 2, la dilución límite corresponde al tercer pocillo. En la fila 3, el antibiótico es ineficaz a todas las concentraciones ensayadas, ya que hay crecimiento bacteriano en todos los pocillos. En la fila 4, la dilución límite se encuentra en el primer pocillo. *(b)* Para la prueba de difusión en disco, varias colonias axénicas aisladas se homogeneizan en medio líquido hasta alcanzar una turbidez estándar determinada. *(c, d)* Un hisopo de algodón estéril se sumerge en la suspensión bacteriana y se extiende uniformemente sobre la superficie de un medio apropiado. *(e)* Unos discos que contienen cantidades conocidas de diferentes antibióticos se colocan sobre la superficie del agar inoculado. *(f)* Después de la incubación, se observan y miden las zonas de inhibición; la susceptibilidad del microorganismo se determina con un gráfico interpretativo que sirve de referencia para comparar los halos de inhibición. *(g)* Susceptibilidad a diferentes antibióticos determinada por E-test (AB BIODISK, Solna, Suecia). Cada tira se coloca en una placa inoculada antes de la incubación (las tiras están calibradas y llevan una escala en µg/ml comenzando con la concentración más baja desde el centro de la placa). La concentración más baja de antibiótico que inhibe el crecimiento bacteriano es el valor de la CIM. Por ejemplo, la CIM para la cefotaxima (CT) es de 16 µg/ml. Este organismo es resistente al imipenem (IP); CMI > 27 µg/ml.

Medida de la susceptibilidad antimicrobiana

El ensayo estándar para determinar actividad antimicrobiana es la *prueba de difusión en disco* (Figura 27.8*b-f*). Una placa de Petri con agar se inocula extendiendo uniformemente una suspensión de un cultivo puro del patógeno sospechoso sobre la superficie del agar. A continuación, en la superficie del agar se colocan, en discos de papel de filtro, cantidades conocidas de un agente antimicrobiano. Durante la incubación, el agente se difunde desde el disco al agar durante un período de tiempo determinado, estableciéndose un gradiente de concentración del agente; cuanto más lejos, desde el papel de filtro, se difunde el compuesto químico, menor es la concentración del agente. A cierta distancia del disco se alcanza la CIM efectiva. Más allá de ese punto el microorganismo crece, pero más cerca del disco no hay crecimiento. Se forma así *un halo de inhibición* cuyo diámetro será proporcional a la cantidad de agente antimicrobiano añadido al disco, a su solubilidad en el medio, a su coeficiente de difusión y a la eficacia en conjunto del agente antimicrobiano.

La Figura 27.8*g* muestra cómo se determina la sensibilidad a los antibióticos empleando tiras de plástico con un gradiente preformado y predefinido de un agente antimicrobiano. El gradiente de concentración cubre una gama de CIM en una escala de 15 diluciones dobles. Cuando se aplica la tira a la superficie de una placa de agar inoculada, el gradiente se transfiere al medio y permanece estable durante el tiempo suficiente para cubrir el tiempo de crecimiento característico de diferentes bacterias patógenas. Después de un período de incubación adecuado, aparece una zona elíptica de inhibición centrada a lo largo de la tira. El valor de la CIM (en microgramos por mililitro) se puede leer en el punto de intersección entre el borde de la elipse y la tira.

La CIM no es constante para un agente concreto, sino que varía con el microorganismo analizado, el tamaño del inóculo, la composición del medio de cultivo, el tiempo y las condiciones de incubación como la temperatura, el pH y la aireación. Sin embargo, cuando las condiciones de cultivo están estandarizadas, se pueden comparar diferentes agentes antimicrobianos para determinar cuál es más eficaz contra el patógeno aislado.

Los estándares para los agentes antimicrobianos son actualizados constantemente por el Clinical and Laboratory Standards Institute, una organización que desarrolla y establece estándares de consenso voluntario para las pruebas con antimicrobianos (http://www.clsi.org). La Agencia de Alimentos y Medicamentos (FDA, del inglés *Food and Drug Administration*) de los Estados Unidos establece los estándares para los instrumentos automatizados utilizados en las pruebas de susceptibilidad en aquel país.

Los microbiólogos clínicos que controlan la infecciones hospitalarias generan y también analizan los datos de susceptibilidad para efectuar informes periódicos que definen el espectro de sensibilidad a los antibióticos de uso corriente de los microorganismos aislados, los llamados **antibiogramas** de referencia. Estos antibiogramas son útiles para el control de patógenos conocidos, para detectar la aparición de nuevos patógenos e identificar nuevas resistencias a escala local.

MINIRREVISIÓN

- Describa la prueba de difusión en disco para la determinación de la sensibilidad antimicrobiana. Para un microorganismo individual y un agente antimicrobiano, ¿qué indican los resultados?
- ¿Qué valor tienen las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos para el microbiólogo, el médico y el paciente?

III • Métodos diagnósticos no dependientes del cultivo

Los ensayos inmunológicos se usan en clínica y en los laboratorios de referencia y en los de investigación para detectar patógenos específicos o sus productos. Cuando los métodos de cultivo de patógenos no están disponibles habitualmente o hay prohibiciones que dificultan su realización, como es el caso de muchas infecciones víricas o de algunos patógenos bacterianos, los inmunoensayos y los ensayos de amplificación de ácidos nucleicos por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) son útiles para identificar patógenos particulares o detectar la exposición del hospedador a un patógeno.

27.6. Inmunoensayo para enfermedades infecciosas

La respuesta inmunitaria se trató en los capítulos 24 al 26. Muchos inmunoensayos utilizan anticuerpos específicos para patógenos o para sus productos en pruebas diseñadas para detectar in vitro agentes infecciosos determinados. La respuesta inmunitaria de los pacientes también puede ser estudiada para obtener pruebas de la exposición al patógeno o de la infección.

Serología, especificidad y sensibilidad

El estudio de las reacciones antígeno-anticuerpo in vitro se llama **serología**. En el contexto del diagnóstico microbiológico, serología significa la detección de anticuerpos inducidos por un patógeno. Las pruebas serológicas analizan el suero del paciente para detectar anticuerpos y son la base de un buen número de tests diagnósticos. Las reacciones antígeno-anticuerpo se basan en la interacción específica del antígeno con una molécula de anticuerpo (↪ Sección 25.7).

En el contexto de las pruebas serológicas, *especificidad* significa que la reacción anticuerpo-antígeno observada demuestra la exposición a un único patógeno. Por tanto, el antígeno utilizado para detectar anticuerpos en el suero del paciente debe ser exclusivo para el patógeno en cuestión, lo que evita que se den reacciones falsas positivas. La *sensibilidad* de algunas reacciones serológicas comunes en términos de la cantidad de anticuerpo necesaria para detectar el antígeno varía considerablemente. Las reacciones de *aglutinación pasiva*, que son rápidas y fáciles de realizar, requieren concentraciones de anticuerpos de hasta 6 nanogramos (ng, 10^{-9} g) por ml, mientras que las pruebas de inmunoensayo enzimático (EIA del inglés *enzyme immunoassay*), muy sensible, pero técnicamente más complicado,

requieren tan solo 0,1 ng de anticuerpo por ml y puede detectar cantidades tan pequeñas como 0,1 ng de antígeno (Sección 27.9). Los ensayos de aglutinación y EIA se utilizan para detectar antígenos o anticuerpos en el suero de los pacientes.

Títulos de anticuerpos

Un enfoque alternativo al aislamiento y cultivo del patógeno que proporciona una prueba contundente indirecta de la infección es medir el *título* (cantidad) de anticuerpos específicos frente a antígenos producidos por un posible patógeno. Si se sospecha que un individuo se ha infectado con un determinado patógeno, la respuesta inmunitaria, en este caso, el título de anticuerpos frente al mismo, debería ser elevado. Para determinarlo, las diluciones seriadas del suero del paciente se ensayan mediante métodos que trataremos en las secciones 27.7-27.9. El **título** se define como la dilución más alta (concentración más baja) de suero en la que se puede observar la reacción antígeno-anticuerpo (**Figura 27.9**).

Un título de anticuerpos positivo indica exposición o infección previa a un patógeno. Para los patógenos que rara vez se encuentran en una población, un resultado positivo en una única prueba que sea específica frente al patógeno puede indicar una infección activa en curso, sin necesidad de hacer una prueba de seguimiento. Por ejemplo, es lo que ocurre con las enfermedades por hantavirus (↻ Sección 30.2). En la mayoría de los casos, sin embargo, la mera presencia de anticuerpos no indica una infección activa. Los títulos de anticuerpos normalmente permanecen detectables por largos períodos después de que una infección previa se haya resuelto. Para asociar una enfermedad aguda con un patógeno concreto, es esencial observar un *aumento* en el título de anticuerpos en muestras de suero tomadas del paciente durante la fase aguda y más tarde durante la fase de convalecencia de la enfermedad. Con frecuencia, el título de anticuerpos es bajo durante la fase aguda de la infección y se eleva durante la convalecencia (Figura 27.9). Un aumento del título de anticuerpos es una prueba evidente de que la enfermedad se debe al patógeno sospechoso.

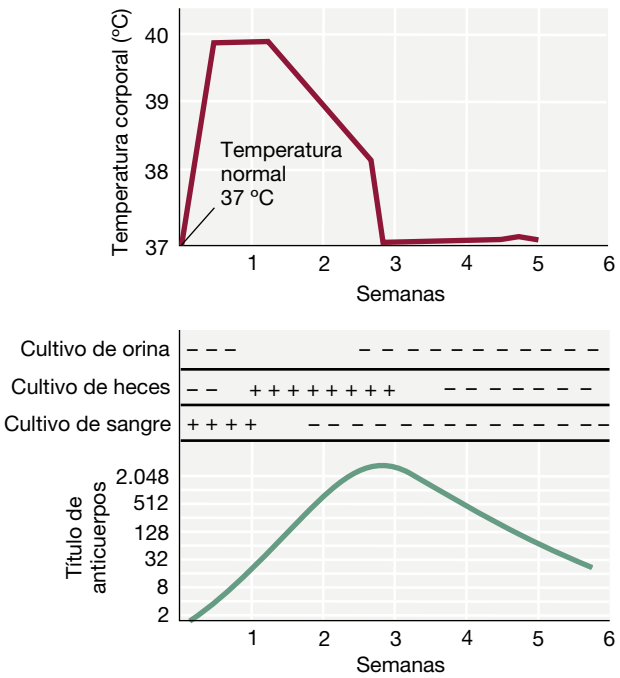


Figura 27.9 Infección e inmunidad en la fiebre tifoidea. Los datos corresponden al patrón observado en pacientes no tratados. La temperatura del cuerpo indica una enfermedad aguda que progresa con el tiempo. El título de anticuerpos se midió mediante la determinación de la dilución doble de suero más alta que causa aglutinación de *Salmonella enterica* serovar Typhi (↻ Sección 31.5). El título es el valor *recíproco* (o el denominador) de la dilución más alta que produce una reacción de aglutinación. La presencia de bacterias viables en sangre, heces y orina se determinó mediante cultivo. El patógeno es eliminado de la sangre a medida que aumenta el título de anticuerpos, mientras que la eliminación en las heces y en la orina requiere más tiempo. La temperatura corporal desciende gradualmente a la normalidad a medida que aumenta el título de anticuerpos. La fiebre tifoidea solía ser una grave amenaza para la salud pública en los EE.UU. antes de que el agua se filtrase y clorase de manera sistemática (↻ Sección 28.5).

Pruebas cutáneas

Algunos patógenos inducen una reacción de hipersensibilidad retardada (DTH, del inglés *delayed-type hypersensitivity*), un tipo de respuesta mediada por células Th1 (↻ Secciones 24.3 y 24.8). En estos casos, las pruebas cutáneas pueden ser útiles para determinar una exposición al patógeno. Por ejemplo, una prueba cutánea comúnmente utilizada es la *prueba de la tuberculina*, que consiste en una inyección intradérmica de un extracto soluble preparado a partir de células de *Mycobacterium tuberculosis*. Una reacción inflamatoria positiva en el sitio de inyección en un plazo de 48 horas indica una infección en curso o una exposición previa a *M. tuberculosis*. Esta prueba identifica las respuestas mediadas por células Th1 inflamatorias específicas del patógeno (↻ Figura 24.6). Las pruebas cutáneas son rutinariamente utilizadas como ayuda en el diagnóstico de la tuberculosis, de la enfermedad de Hansen (lepra) y de algunas enfermedades fúngicas debido a que las respuestas de anticuerpos frente a patógenos intracelulares o a hongos suelen ser indetectables o muy débiles.

Si un patógeno está muy localizado, puede haber poca inducción de una respuesta inmunitaria sistémica y no detectarse un aumento del título de anticuerpos o una reacción cutánea positiva, incluso si el patógeno está proliferando abundantemente en el sitio de la infección. Un buen ejemplo es la gonorrea, causada por la infección de superficies mucosas con *Neisseria gonorrhoeae*. La gonorrea no provoca una respuesta inmunitaria sistémica o de protección, no hay título de anticuerpos en suero ni reactividad en las pruebas cutáneas y la reinfección de los individuos es común (↻ Sección 29.12).

MINIRREVISIÓN

- Explique las razones de los cambios en el título de anticuerpos frente a un único agente infeccioso, desde la fase aguda a la fase de convalecencia de la infección.
- Describa el método, el lapso de tiempo, y el razonamiento en la prueba cutánea de la tuberculina. ¿Qué componente de la respuesta inmunitaria detecta esta prueba?

27.7 Aglutinación

La aglutinación es una reacción entre un anticuerpo y un antígeno unido a partículas que se ocasiona una agregación visible de las partículas. Las pruebas de aglutinación se pueden realizar en tubos de ensayo, en placas de microtitulación en un pequeño

volumen, o mediante la mezcla de reactivos sobre un portaobjetos. Estas pruebas se utilizan frecuentemente en los laboratorios clínicos y de diagnóstico, pues son simples de realizar, muy específicas, de bajo coste, rápidas, y suficientemente sensibles. Existen pruebas de aglutinación estandarizadas para la identificación de los antígenos de los grupos sanguíneos (glóbulos rojos) (**Figura 27.10*a***), así como para detectar patógenos y sus productos. Para determinar los grupos sanguíneos, las muestras de sangre se mezclan con cualquiera de los antisueros anti-A o anti-B y se comprueba si hay aglutinación de los glóbulos rojos (Figura 27.10).

La *aglutinación directa* tiene lugar cuando los anticuerpos solubles forman agregados (grumos) al interaccionar con un antígeno que es parte constitutiva de la superficie de una célula o en otra partícula insoluble como un glóbulo rojo (eritrocito). La aglutinación de los glóbulos rojos se denomina *hemaglutinación* y es la base para la clasificicación de los grupos sanguíneos (Figura 27.10). La *aglutinación pasiva* es la aglutinación de los anticuerpos o antígenos solubles que han sido adsorbidos o acoplados químicamente a partículas insolubles como microesferas de látex o partículas de carbón. El anticuerpo o antígeno insoluble se detecta por las reacciones de aglutinación. La célula o las partículas actúan a modo de vehículo inerte. La aglutinación pasiva es hasta cinco veces más sensible que la aglutinación directa.

La aglutinación de microesferas de látex recubiertas de antígeno o de anticuerpos por anticuerpos o antígenos complementarios de un paciente es un típico ensayo rápido. Se emplean microesferas de látex (diámetro 0,8 μm) recubiertas con un antígeno específico, que se mezclan con suero del paciente sobre un portaobjetos y se incuban durante un período corto. Si los anticuerpos del paciente se unen al antígeno de la superficie de las microesferas, la suspensión de látex de color blanco lechoso formará grumos claramente visibles, lo que indica una reacción de aglutinación positiva y confirma la exposición al patógeno.

Este tipo de aglutinación también se utiliza para detectar antígenos de superficies bacterianas mezclando una pequeña cantidad de una colonia bacteriana con microesferas de látex recubiertas con anticuerpos. Por ejemplo, existe en el mercado una suspensión de microesferas de látex recubiertas con anticuerpos frente a la proteína A y el factor de agregación, dos proteínas que se encuentran exclusivamente en la superficie de células de *Staphylococcus aureus*. Esta suspensión es específica para la identificación de cepas *S. aureus* aisladas de muestras clínicas. A diferencia de las pruebas tradicionales que dependen del cultivo de *S. aureus*, el ensayo con microesferas de látex se realiza en menos de un minuto y puede ser utilizado directamente con una muestra clínica, como el material procedente de una infección purulenta, que podría estar causada por *S. aureus* (**Figura 27.11**). Existen también pruebas de aglutinación con microesferas de látex para identificar otros patógenos comunes, como *Streptococcus pyogenes*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Escherichia coli* O157:H7, el hongo *Candida albicans* y muchos otros.

Los ensayos de aglutinación pasiva no requieren un equipo costoso ni experiencia especializada, y pueden ser muy específicos y suficientemente sensibles. Su economía y facilidad los hace adecuados para programas de cribado a gran escala, por todo lo cual son muy utilizados en aplicaciones clínicas.



Tipo O **Tipo B** **Tipo A**

(a)

Grupo sanguíneo	Caucasiano	Afroamericano	*Hispano*	Asiático
O	45 %	51 %	57 %	40 %
A	40 %	26 %	31 %	28 %
B	11 %	19 %	10 %	25 %
AB	4 %	4 %	2 %	7 %

(b)

Figura 27.10 Aglutinación directa de los glóbulos rojos humanos: Tipado de grupos sanguíneos ABO. *(a)* Una gota de sangre se mezcló con antisueros específicos de los antígenos de grupo A o B. La reacción de la izquierda muestra la ausencia de aglutinación, indicativa del grupo sanguíneo O. La reacción en el centro muestra un patrón de aglutinación difusa lo que indica una reacción positiva para el grupo sanguíneo B. La reacción de la derecha muestra el fuerte patrón de aglutinación con grumos grandes y agrupados típico del grupo sanguíneo A. *(b)* Grupos sanguíneos ABO por raza y grupo étnico en la población estadounidense. (Fuente: Cruz Roja de los EE.UU.)

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué se distinguen la aglutinación directa de la pasiva? ¿Qué prueba es más sensible?
- ¿Qué ventajas tiene la aglutinación respecto a otros inmunoensayos? ¿Qué inconvenientes?

27.8 Inmunofluorescencia

Los anticuerpos conjugados con fluorocromos pueden ser utilizados para detectar antígenos en células intactas. Los **anticuerpos fluorescentes** son muy utilizados en pruebas de diagnóstico y en investigación.

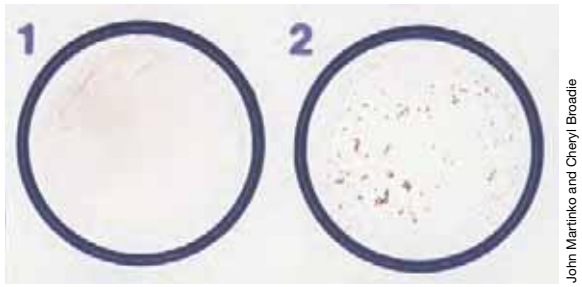


Figura 27.11 Prueba de aglutinación de microesferas de látex para la detección de *Staphylococcus aureus*. El panel 1 muestra un control negativo. Obsérvese el color rosa uniforme de la suspensión de microesferas de látex recubiertas con anticuerpos dirigidos frente a la proteína A y el factor de aglutinación, dos antígenos que se encuentran exclusivamente en la superficie de las células de *S. aureus*. El panel 2 muestra la misma suspensión después de mezclar con la misma suspensión material de una colonia bacteriana, recogida con un asa de siembra. Los grumos de color rojo brillante indican una aglutinación positiva, e identifican la colonia como de *S. aureus*.

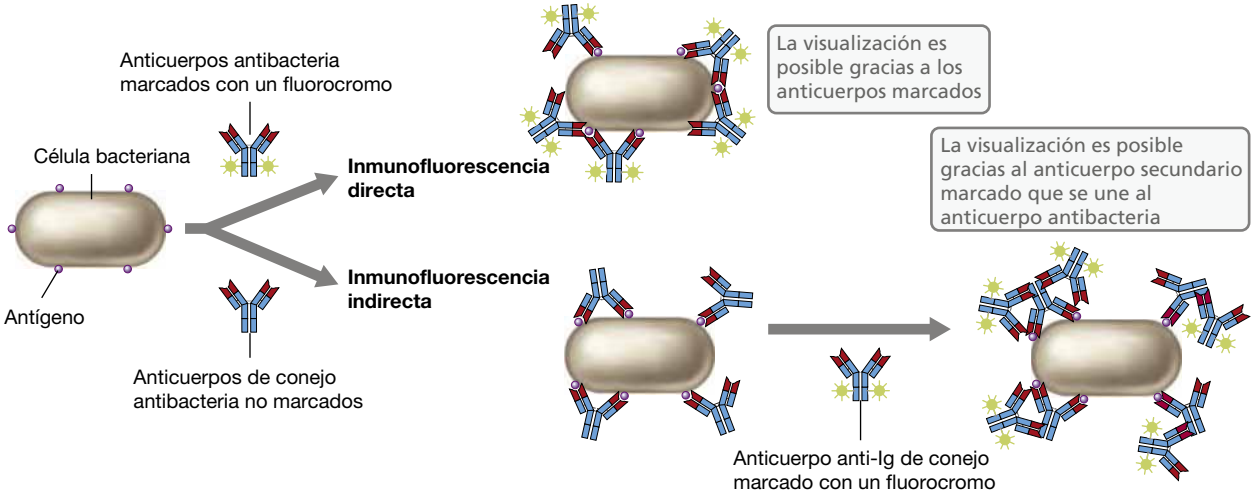


Figura 27.12 Métodos que utilizan anticuerpos fluorescentes para la detección de antígenos de superficie microbianos. Obsérvese que la inmunofluorescencia indirecta requiere un anticuerpo secundario marcado que se une al anticuerpo primario.

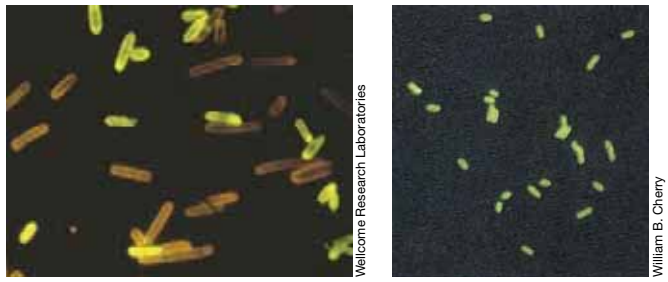
Métodos fluorescentes

Los métodos de tinción con anticuerpos fluorescentes pueden ser directos o indirectos (**Figura 27.12**). En el *método directo*, el anticuerpo que interacciona con el antígeno de superficie está unido covalentemente al fluorocromo. En el *método indirecto*, un anticuerpo no fluorescente unido a la superficie de una célula es detectado por un anticuerpo fluorescente dirigido contra el anticuerpo no fluorescente.

Los anticuerpos pueden ser modificados covalentemente por colorantes fluorescentes, como la rodamina B, que emite fluorescencia roja, o el isotiocianato de fluoresceína, que emite fluorescencia amarillo-verdosa. Los fluorocromos unidos no alteran la especificidad del anticuerpo pero permiten detectar el complejo mediante el uso de un microscopio de fluorescencia una vez que el colorante se ha unido a los antígenos de superficie del tejido de la célula. Los anticuerpos fluorescentes unidos a la célula emiten su fluorescencia característica cuando son excitados con luz de la longitud de onda concreta. Los anticuerpos fluorescentes pueden utilizarse para identificar un microorganismo directamente en una muestra de un paciente (in situ), evitando la necesidad de aislar y cultivar el microorganismo.

Aplicaciones

En una prueba típica que utilice anticuerpos fluorescentes, una muestra con un posible patógeno se mezcla con un anticuerpo específico fluorescente y se observa con un microscopio de fluorescencia. Si el patógeno contiene antígenos de superficie que reaccionan con el anticuerpo, las células del patógeno emiten fluorescencia (**Figura 27.13**). Los anticuerpos fluorescentes se aplican directamente a los tejidos del hospedador infectados, permitiendo el diagnóstico mucho antes de que las técnicas de aislamiento primarias identifiquen un posible patógeno. Por ejemplo, para el diagnóstico de la legionelosis, una forma de neumonía infecciosa (↔ Sección 31.4), se puede hacer una identificación positiva tiñendo directamente una muestra de tejido pulmonar obtenido por biopsia con anticuerpos fluorescentes específicos para los antígenos de la pared celular de *Legionella pneumophila* (Figura 27.13*b*), el agente causal de la enfermedad. Del mismo modo, se puede usar una prueba directa de detección de la cápsula de *Bacillus anthracis* con anticuerpos fluorescentes para confirmar un diagnóstico de carbunco (↔ Figura 23.11*a*).



(a) (b)

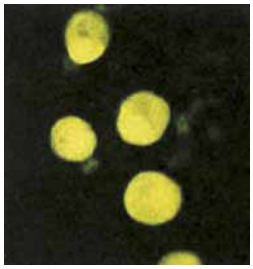
Figura 27.13 Identificación de bacterias con anticuerpos fluorescentes. *(a)* Las células de *Clostridium septicum* se tiñeron con anticuerpos conjugados con isotiocianato de fluoresceína, que emite fluorescencia de color amarillo verdoso. Las células de *Clostridium chauvoei* se tiñeron con anticuerpos conjugados con rodamina B, que emite fluorescencia de color rojo anaranjado. *(b)* Células de *Legionella pneumophila*, agente causal de la legionelosis, teñidas por inmunofluorescencia con anticuerpos conjugados con isotiocianato de fluoresceína (verde). La muestra fue tomada de una biopsia de tejido pulmonar. Cada organismo mide de 2 a 5 µm de longitud.

Las pruebas directas o indirectas con anticuerpos fluorescentes también se utilizan para ayudar a diagnosticar infecciones víricas con patógenos como el virus linfotrópico B humano (HBLV), el virus respiratorio sincicial (VRS) y el virus de Epstein-Barr (EBV) (**Figura 27.14**). Los patógenos respiratorios comunes de la gripe A y B, parainfluenza y los adenovirus también pueden identificarse mediante inmunofluorescencia de células de cultivo infectadas con virus procedentes de muestras de las vías respiratorias.

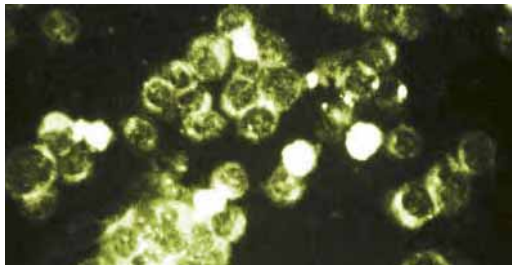
MINIRREVISIÓN

- Describa y compare las pruebas de inmunofluorescencia directa e indirecta, indicando las ventajas e inconvenientes de cada una.
- ¿Por qué se pueden utilizar anticuerpos fluorescentes para identificar células específicas en mezclas complejas como la sangre?

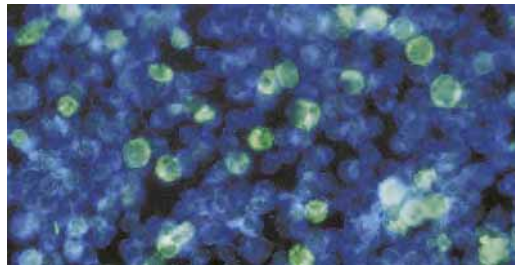
UNIDAD 5



(a)



(b)



(c)

Figura 27.14 Identificación de virus patógenos con anticuerpos fluorescentes. *(a)* Detección por inmunofluorescencia de células infectadas por virus. Células del bazo infectadas con el virus del herpes humano 6 (HHV-6) se incubaron con suero que contiene anticuerpos frente al HHV-6. Las células fueron tratadas con anticuerpos anti-IgG humana conjugados con isotiocianato de fluoresceína. Las células HHV-6-infectadas dan una fluorescencia de color amarillo brillante. Las células sin teñir no reaccionaron con el suero. Las células individuales miden unos 10 μm de diámetro. *(b)* Detección por inmunofluorescencia indirecta de células infectadas con el virus respiratorio sincicial (VRS). Las células brillantes están infectadas. *(c)* Detección de células infectadas por el virus de Epstein-Barr (EBV) usando inmunofluorescencia indirecta. El EBV causa mononucleosis y linfoma. Las células teñidas de verde están infectadas.

27.9 Inmunoensayo enzimático, pruebas rápidas e inmunotransferencias

Las pruebas **inmunoenzimáticas** (**EIA,** del inglés *Enzyme immunoassays*), o *pruebas de inmunoabsorción ligadas a enzimas* (*ELISA,* del inglés *enzyme-linked immunosorbent assays*) son ensayos inmunológicos muy sensibles de uso muy difundido en aplicaciones clínicas y de investigación. Un EIA puede detectar incluso tan solo 0,01 nanogramos de antígeno o anticuerpo. La rapidez (el ensayo normalmente se puede hacer en varias horas), bajo costo, falta de residuos peligrosos, larga vida útil, alta especificidad, y alta sensibilidad de las pruebas EIA las hacen particularmente útiles para el inmunodiagnóstico. Las *pruebas rápidas* son parecidas a las EIA, excepto en que los resultados a menudo pueden darse en unos minutos. Muchas pruebas rápidas están diseñadas como pruebas inmediatas, pero en general no son tan específicas o sensibles como los EIA. La **inmunotransferencia (Western blot),** una prueba comparativamente más compleja y lenta, utilizan proteínas de patógenos inmovilizadas que se pueden unir a los anticuerpos de las muestras de pacientes, por ejemplo, suero, y proporciona pruebas muy específicas de la exposición a patógenos. La inmunotransferencia se utiliza a menudo para confirmar los resultados obtenidos en otras pruebas serológicas, como las pruebas rápidas o los EIA.

Pruebas EIA

En las pruebas EIA, una enzima se une covalentemente a una molécula de antígeno o de anticuerpo, creando una herramienta inmunológica de alta especificidad y alta sensibilidad. Las propiedades catalíticas de la enzima y las propiedades de unión específicas del antígeno o anticuerpo marcado no se ven alteradas. Entre las enzimas normalmente ligadas al antígeno o anticuerpo están la peroxidasa, la fosfatasa alcalina, y la β-galactosidasa y cada una interacciona con su sustrato específico para formar un producto de reacción coloreado que puede ser detectado en cantidades muy bajas.

Normalmente se utilizan cuatro formatos de EIA para la evaluación de muestras sospechosas de una enfermedad infecciosa: *EIA directo*, para la detección de antígeno; *EIA indirecto*, para la detección de anticuerpos; *EIA sándwich de antígeno*, que detecta anticuerpos utilizando una técnica de sándwich; y *EIA combinado*; que detecta tanto el antígeno como el anticuerpo. Las características principales de cada uno de ellos se ilustran en la **Figura 27.15**.

Los EIA directos están diseñados para detectar antígenos tales como partículas víricas en una muestra de sangre o de heces (Figura 27.15*a*). Una matriz tal como una placa de microtitulación de plástico se recubre con anticuerpos dirigidos contra un antígeno del patógeno. Se añade la muestra, por ejemplo, el suero de un paciente, y, cuando el antígeno de la muestra se una al anticuerpo, se añade un segundo anticuerpo. Este anticuerpo también es específico para el antígeno y está acoplado a una enzima. Finalmente, se añade el sustrato de la enzima y esta convierte el sustrato en un producto coloreado de manera proporcional a la cantidad de antígeno del paciente unido por el complejo enzima-anticuerpo. Los EIA directos son útiles para detectar antígenos como la toxina del cólera, la de *Escherichia coli* enteropatógeno y la enterotoxina de *Staphylococcus aureus*. Entre los virus que se detectan actualmente con técnicas de EIA directos están el virus de la gripe, rotavirus, los virus de la hepatitis y de la rubeola, bunyavirus, los virus del sarampión y de las paperas, y el virus parainfluenza.

Los EIA indirectos se utilizan para detectar anticuerpos frente a agentes patógenos en fluidos corporales (Figura 27.15*b*). En la prueba indirecta, primero el antígeno del patógeno se inmoviliza sobre la matriz. Se añade el suero del paciente y, si contiene anticuerpos, estos se unen al antígeno. A continuación se añade un conjugado formando una enzima unida a anticuerpos frente a los anticuerpos del paciente. Finalmente, la adición del sustrato de la enzima ocasiona el desarrollo de un producto coloreado de forma proporcional a la concentración de anticuerpos del paciente en la muestra.

Se han desarrollado EIA indirectos para la detección de anticuerpos séricos contra *Salmonella* (enfermedades gastrointestinales), *Yersinia pestis* (peste), rickettsias (fiebre de las Montañas Rocosas, tifus, fiebre Q), *Vibrio cholerae* (cólera), *Mycobacterium tuberculosis* (tuberculosis), *Legionella pneumophila* (legionelosis), *Borrelia burgdorferi* (enfermedad de Lyme) y *Treponema pallidum* (sífilis), entre otras (Capítulos 29, 30 y 31). También se han desarrollado EIA para la detección de anticuerpos contra *Candida* (levadura) y otros patógenos eucariotas, como los que causan amebiasis, la enfermedad de Chagas, la esquistosomiasis y la malaria (Capítulo 32).

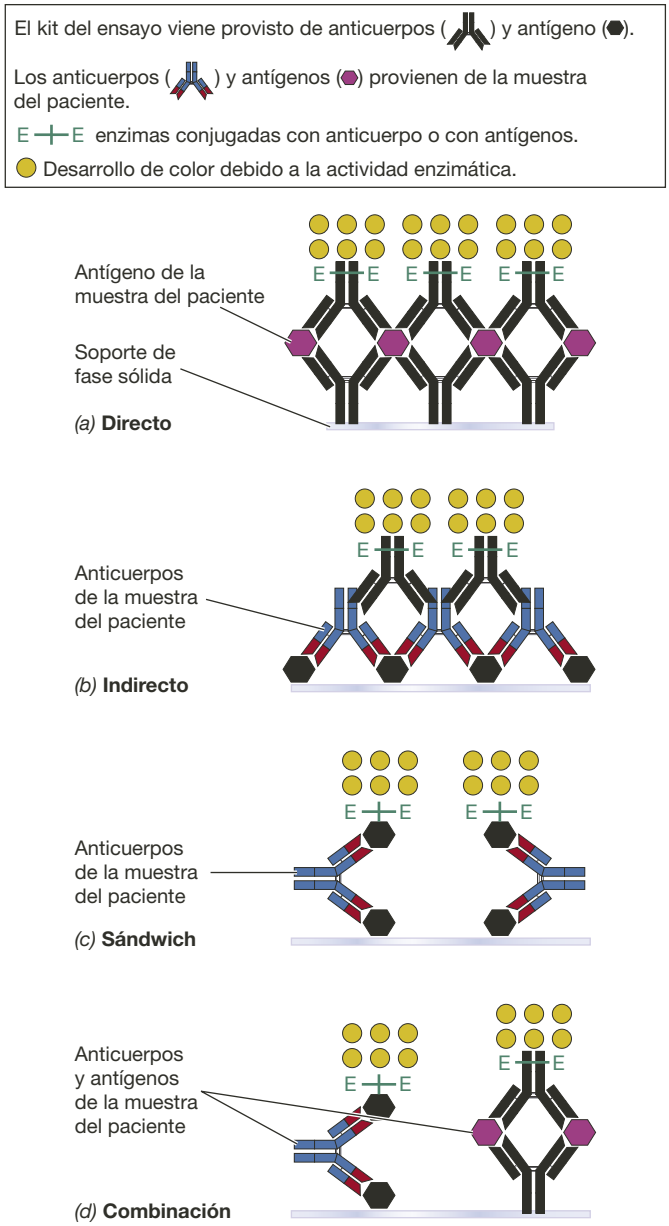


Figura 27.15 **Inmunoensayos enzimáticos (EIA).** Las muestras de los pacientes están en color. Los reactivos del ensayo se muestran en negro. Todos los ensayos emplean un soporte sólido (azul claro). Las enzimas unidas a antígeno o a anticuerpo convierten el sustrato en un producto coloreado, que se muestra en amarillo. En cada ensayo, la cantidad de producto coloreado es proporcional a la cantidad de anticuerpos específicos del patógeno o antígenos del patógeno presentes en una muestra. *(a)* El *EIA directo* utiliza anticuerpos inmovilizados específicos frente al patógeno y anticuerpos específicos del patógeno marcados con una enzima para detectar el antígeno del patógeno en muestras del paciente, como sangre. *(b)* El *EIA indirecto* utiliza antígeno del patógeno inmovilizado y anticuerpos marcados con enzima dirigidos frente a inmunoglobulina humana para detectar anticuerpos específicos de patógenos en muestras de pacientes, como sangre. *(c)* El *EIA de tipo sándwich* utiliza antígeno del patógeno inmovilizado y antígeno del patógeno marcado con enzima para detectar anticuerpos específicos del patógeno en muestras de pacientes, como sangre. Este EIA es más sensible que los EIA directos o indirectos. *(d)* El *EIA combinado* utiliza el ensayo tipo sándwich y el ensayo directo en una plataforma para identificar anticuerpos y antígenos en muestras de pacientes, y así conseguir la máxima sensibilidad. Aunque menos sensible que los EIA, la inmunotransferencia (véase la Figura 27.17) tiene mayor especificidad.

El EIA de tipo sándwich también detecta anticuerpos contra patógenos en los fluidos corporales (Figura 27.15*c*). La prueba de sándwich comienza con antígeno de patógenos inmovilizado en la matriz. Se añade el suero del paciente y, si contiene anticuerpos, estos se unen al antígeno. A continuación, se añade el mismo antígeno acoplado a enzima. Por último, la adición del sustrato de la enzima ocasiona el desarrollo de producto coloreado proporcional a la concentración de anticuerpos del paciente en la muestra.

El método sándwich de antígeno es considerado el más sensible en el cribado de anticuerpos porque detecta anticuerpos específicos del patógeno independientemente del isotipo del anticuerpo. Este método se utiliza para la detección del VIH (tercera generación prueba del VIH) y es preferible a las pruebas de EIA indirectas porque la prueba sándwich puede detectar el isotipo IgM producido en la respuesta inmunitaria primaria al VIH, unas cuatro semanas después de la infección. La mayoría de las pruebas indirectas usan anti-IgG como el anticuerpo conjugado, lo que retrasa la observación de anticuerpos contra el VIH hasta la aparición de una respuesta de anticuerpos secundaria, unas cinco semanas después de la infección (↻ Figura 25.21).

El EIA combinado que se muestra en la Figura 27.15*d*, hace uso de un EIA directo para detectar antígeno de patógenos y el método sándwich para detectar anticuerpos específicos del patógeno, ambos en una sola matriz. Este método se utiliza para una prueba de VIH de cuarta generación. Esta prueba es más sensible que la prueba tipo sándwich de tercera generación; se puede detectar antígeno en tan solo 2,5 semanas después de la infección por VIH, lo que reduce el tiempo para el tratamiento.

Pruebas rápidas

Los procedimientos rápidos de inmunoensayo utilizan reactivos adsorbidos a los materiales de soporte fijo, como tiras de papel, nitrocelulosa o membranas de plástico. Estas pruebas causan un cambio de color en la tira en un tiempo muy corto. Son pruebas inmediatas que ayudan a establecer un diagnóstico rápido de enfermedades infecciosas como el VIH/sida (↻ Sección 29.14), la faringitis estreptocócica (infección faríngea con *Streptococcus pyogenes*, ↻ Sección 29.2), la gripe (↻ Sección 29.8) y la gonorrea (↻ Sección 29.12). Los resultados pueden obtenerse a menudo en minutos; sin embargo, la sensibilidad y especificidad de las pruebas rápidas no suelen ser tan buenas como los ensayos inmunoenzimáticos desarrollados para los mismos patógenos.

En la mayoría de estas pruebas, se aplica a la matriz de reactivo de soporte un fluido corporal, generalmente orina, sangre, saliva o esputo (**Figura 27.16**). Para la detección de anticuerpos, como en las pruebas rápidas de VIH, la matriz contiene el antígeno soluble conjugado a una molécula de color llamado *cromóforo*. A medida que la muestra líquida se difunde a través de la matriz, los anticuerpos se unen al antígeno marcado. Incorporada en la matriz hay una sola línea de antígeno fijado. El complejo antígeno-anticuerpo marcado migra a través la matriz, donde entra en contacto con el antígeno fijado y se une a él inmovilizando el complejo marcado. Como la concentración del complejo marcado aumenta, el cromóforo se hace visible como una línea de color sobre la línea donde está el antígeno fijado, lo que indica una prueba positiva para el anticuerpo.

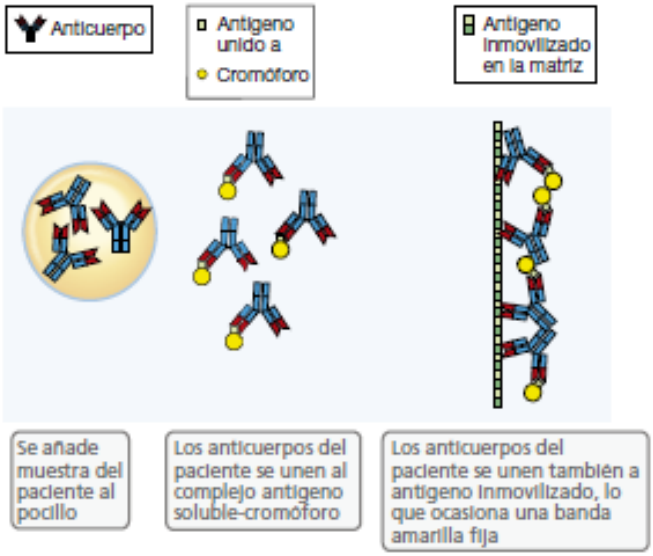


Figura 27.16 **Pruebas rápidas.** Un fluido corporal como orina sangre, saliva o esputos se aplica a la matriz que soporta el reactivo y que contiene antígeno soluble conjugado con un cromóforo. La muestra de líquido se difunde a través de la matriz, y los anticuerpos se unen al antígeno marcado con cromóforo. Incorporada a la matriz y fijada a ella hay una única línea de antígeno. Cuando el complejo antígeno-anticuerpo marcado entra en contacto con el antígeno fijado y se une a él, la concentración de complejo marcado aumenta y el cromóforo se hace visible como una línea de color sobre la línea donde está fijado el antígeno. Esto indica que la prueba es positiva para el anticuerpo.

De modo parecido, para detectar el antígeno en muestras de pacientes, por ejemplo para la identificación de la infección por *S. pyogenes* (faringitis estreptocócica), se utiliza el mismo sistema, pero el cromóforo está ahora unido al anticuerpo, y la muestra donde puede haber antígeno se aplica a la matriz donde se une al complejo cromóforo-anticuerpo soluble. Cuando el líquido de la muestra se difunde a través de la matriz, el antígeno del paciente se une al anticuerpo marcado. Fijada a la matriz hay también una sola línea de anticuerpo. El complejo antígeno-anticuerpo marcado migra a través de la matriz, donde entra en contacto con el anticuerpo fijado. El complejo de anticuerpo-antígeno marcado se une al anticuerpo fijado, inmovilizando todo el complejo. A medida que la concentración de complejo marcado aumenta, el cromóforo se hace visible en la línea de anticuerpos fijados, lo que indica un resultado positivo para el antígeno.

Estas pruebas son valiosas para el análisis inmediato en el sitio donde se ha recogido la muestra (por ejemplo, lejos de un laboratorio clínico) y para análisis rápidos en el laboratorio. Los resultados pueden obtenerse casi de inmediato, evitando los retrasos en el cuidado del paciente y las visitas de seguimiento para saber el resultado de las pruebas. El inconveniente de estas pruebas, sin embargo, es que a menudo son menos específicas o menos sensibles que otras pruebas más elaboradas. Por consiguiente, el examen rápido a menudo se confirma mediante EIA u otras pruebas.

Inmunotransferencia

El método de inmunotransferencia emplea tres técnicas: (1) la *separación* de proteínas en geles de poliacrilamida, (2) la *transferencia* (*blotting*) de proteínas a partir de geles a una membrana de nitrocelulosa y (3) la *identificación* de las proteínas mediante anticuerpos específicos. La inmunotransferencia VIH (**Figura 27.17**) se utiliza mucho para confirmar infección por VIH. Esta inmunotransferencia es generalmente menos sensible, más laboriosa, requiere más tiempo, y es más costosa que el EIA VIH, por lo que no se utiliza como herramienta de cribado de exposición al VIH. Sin embargo, se usa para confirmar la infección por VIH porque la alta sensibilidad, el EIA VIH, de una gran sensibilidad, puede dar de vez en cuando resultados falsos positivos. Por ello la inmunotransferencia, al ser más específica, permite confirmar los resultados positivos del EIA. Los procedimientos de inmunotransferencia de VIH son semejantes a los utilizados en la inmunotransferencia para diagnosticar la infección por otros patógenos. En general, son procedimientos utilizados para detectar anticuerpos específicos de un patógeno en muestras de pacientes.

Para llevar a cabo la inmunotransferencia VIH (Figura 27.17), las tiras de membrana con las proteínas del VIH fijadas se

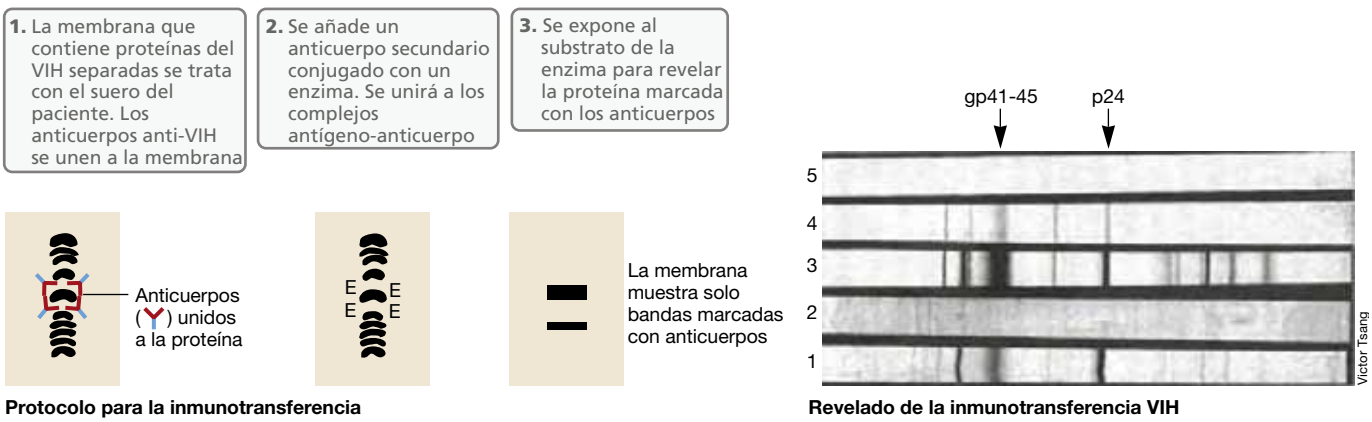


Figura 27.17 **Inmunotransferencia (*Western blot*) y su uso en el diagnóstico del virus de inmunodeficiencia humana (VIH).** Las moléculas p24 (proteína de la cápside) y gp41 (glicoproteína de la envoltura) se utilizan para el diagnóstico del VIH. Calle 1, suero control positivo (de pacientes de sida conocidos); calle 2, suero control negativo (de voluntarios sanos); calle 3, resultado fuertemente positivo con la muestra de un paciente; calle 4, resultado débilmente positivo con la muestra de un paciente; calle 5, blanco de reactivos para detectar la inespecificidad o ruido de fondo.

incuban con la muestra de suero del paciente. Los anticuerpos de pacientes VIH-positivos se unirán a las proteínas VIH en la membrana. Para detectar esta unión, se añade a las tiras un anticuerpo de detección una anti-IgG humana conjugada a una enzima y posteriormente el sustrato de la enzima. Si se ha producido la unión del antígeno al anticuerpo del paciente y de este a la anti-IgG humana conjugada a una enzima, al añadir el sustrato de la enzima se formará una banda de color sobre la tira en el sitio de unión del anticuerpo. El paciente es VIH-positivo si la posición de las bandas resuelta por la exposición con el suero del paciente y un suero de control positivo son idénticos. También se analiza un suero control negativo en paralelo que no debe detectar ninguna banda (Figura 27.17). Aunque la intensidad de las bandas obtenidas en la inmunotransferencia VIH varía algo de muestra a muestra, la interpretación es generalmente inequívoca. Esta prueba se utiliza principalmente para confirmar resultados positivos del EIA para el VIH y eliminar los falsos positivos.

MINIRREVISIÓN

- Compare EIA indirecto, EIA directo y EIA de combinación con respecto a su capacidad para identificar la infección por VIH.
- Compare las ventajas e inconvenientes del EIA, de la inmunocromatografía y de la inmunotransferencia con respecto a su rapidez, sensibilidad y especificidad.

27.10 Amplificación de ácidos nucleicos

Hemos visto en la Sección 11.3 cómo la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) amplifica los ácidos nucleicos y forma múltiples copias de una secuencia diana. Las técnicas de PCR utilizan cebadores de un gen específico de un patógeno para examinar DNA procedente de tejidos sospechosos de estar infectados, incluso aunque no se observe ningún patógeno cultivable. Esto hace que las pruebas basadas en la PCR sean muy utilizadas para la identificación de una serie de patógenos y son particularmente útiles para la identificación de infecciones víricas o de otros patógenos intracelulares, en las que el cultivo de los agentes responsables puede ser muy difícil o incluso imposible. Los métodos extremadamente sensibles basados en los análisis de ácidos nucleicos son muy utilizados en microbiología clínica para detectar patógenos.

Estos métodos no dependen del aislamiento o cultivo del patógeno, o de la detección de una respuesta inmunitaria contra el patógeno, sino que se basan en la detección de secuencias de ácido nucleico específicas de especie.

Pruebas y análisis PCR

Las pruebas basadas en la PCR comprenden tres componentes básicos. En primer lugar, el DNA o RNA debe ser extraído de la muestra que se ha de analizar. En segundo lugar, el ácido nucleico debe amplificarse usando cebadores apropiados específicos de un gen. Como cebadores para la amplificación por PCR de uno o más genes específicos característicos de un patógeno concreto se utilizan oligonucleótidos cortos (normalmente de 15-27 nucleótidos), lo que requiere el conocimiento de la secuencia del gen o genes diana del patógeno. En tercer lugar, el producto de ácido nucleico amplificado (*amplicón*) debe ser visualizado por electroforesis en gel u otros métodos. La presencia de un producto de amplificación que corresponda al gen del patógeno confirma la presencia de este. Los métodos de diagnóstico basados en la PCR se utilizan para la identificación de casi todos los patógenos.

PCR cuantitativa

Muchas pruebas de PCR emplean *PCR cuantitativa en tiempo real* (qPCR, del inglés *quantitative real-time PCR*). La qPCR usa amplicones PCR marcados con fluorescencia que dan un resultado casi inmediato, evitando la necesidad de purificar y visualizar el producto PCR. La acumulación de DNA diana se controla durante el proceso de qPCR añadiendo sondas fluorescentes a la mezcla de la reacción de PCR. La fluorescencia de la sonda aumenta tras la unión al DNA. A medida que el DNA diana se amplifica, el nivel de fluorescencia aumenta proporcionalmente. Las sondas fluorescentes pueden ser inespecíficas o específicas para el DNA diana. Por ejemplo, el colorante SYBR Green se une *inespecíficamente* al DNA bicatenario, pero no se une a DNA monocatenario o RNA. El mismo colorante añadido a la mezcla de la PCR emite fluorescencia solo cuando está unido, lo que indica que en la mezcla hay DNA bicatenario, en este caso debido al proceso de amplificación (**Figura 27.18**). Las sondas fluorescentes *específicas de gen* se preparan uniendo un colorante fluorescente a una sonda de DNA corta que coincida con la secuencia diana que se va a amplificar. El colorante emite fluorescencia solo cuando se acumula el DNA bicatenario de la secuencia correcta.

Debido a que la amplificación por qPCR se puede controlar de forma continua, la visualización por electroforesis en gel u otros métodos de detección no es necesaria para confirmar la amplificación; la detección de un gen de diagnóstico para un patógeno concreto en una muestra clínica puede realizarse en

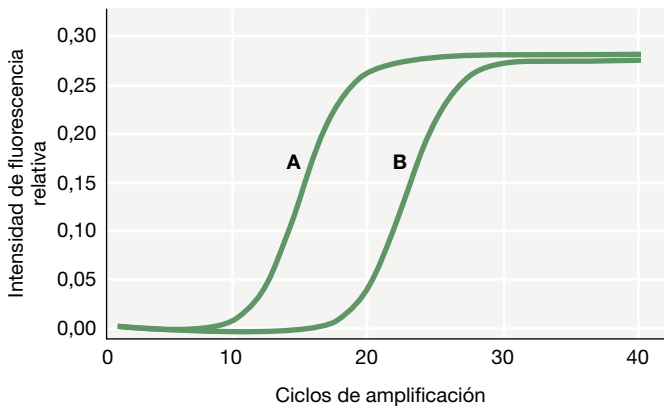


Figura 27.18 Reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa en tiempo real (qPCR) de genes 16S RNAr de una bacteria gramnegativa. El DNA extraído de un cultivo se analizó para determinar la expresión del RNAr 16S (curva A) y *npt* (curva B), un marcador de resistencia a la kanamicina, utilizando cebadores específicos de ambos genes. SYBR Green, un colorante fluorescente que emite fluorescencia solo cuando está unido con DNA bicatenario, se añadió a la mezcla de PCR para visualizar el DNA amplificado a medida que se iba formando. La curva de la izquierda (A) tenía 0,15 unidades de fluorescencia después de 15 ciclos, mientras que la curva a la derecha (B) tenía 0,15 unidades de fluorescencia después de 22 ciclos, lo que indica que había una mayor cantidad del RNA 16S del microorganismo problema que del control *npt*.

varias horas en lugar del proceso habitual de un día para otro de la PCR estándar. Además, mediante el control de la *tasa* de aumento de fluorescencia en la reacción de PCR, es posible determinar con precisión la *cantidad* de DNA diana presente en la muestra original. La qPCR se puede utilizar para evaluar la abundancia de un patógeno en una muestra mediante la cuantificación de un gen característico de ese patógeno concreto.

PCR con transcripción inversa (RT-PCR)

El uso de la PCR se ha extendido con el desarrollo de la PCR con *transcripción inversa* PCR (RT-PCR, del inglés *reverse transcription PCR*). Esta técnica se aplica al análisis de muestras ambientales, además de su uso para la identificación de patógenos en muestras clínicas.

La RT-PCR utiliza RNA específico de un patógeno para producir DNA complementario (cDNA) directamente a partir de muestras de los pacientes y así puede ser utilizada para la detección de RNA de los retrovirus como el VIH y otros virus de RNA (↻ Figura 11.6). El primer paso es utilizar la enzima transcriptasa inversa (↻ Sección 9.11) para hacer una copia de cDNA a partir de una muestra que contenga RNA. A continuación, se utiliza la PCR para amplificar este cDNA. La expresión de un gen concreto de un patógeno puede controlarse mediante el aislamiento de RNA y el empleo de qPCR para hacer copias de DNA del gen o genes correspondientes. El DNA amplificado puede ser entonces secuenciado o analizado con sondas para su identificación.

PCR cualitativa

Algunas pruebas de diagnóstico basadas en el formato de qPCR utilizan un protocolo ligeramente diferente de amplificación y una etapa adicional para identificar genes asociados a patógenos. Este método, llamado *PCR cualitativa*, utiliza cebadores de hibridación marcados que se incorporan en un amplicón procedente de una reacción de qPCR (**Figura 27.19**). En el ejemplo mostrado, las sondas de hibridación se hibridan con el DNA del gen *pol* de los virus 1 y 2 del herpes simplex, (HSV-1 y HSV-2).

El amplicón se detecta por fluorescencia usando un par de sondas de hibridación específicas. Las sondas son dos oligonucleótidos diferentes, marcados con colorantes fluorescentes, que se unen a una secuencia interna del fragmento amplificado durante la fase de hibridación del ciclo de PCR. Después de la hibridación al DNA, las sondas son excitadas por una fuente de luz en el aparato de PCR. A continuación, se mide la fluorescencia emitida y, después del ciclo de PCR, se analiza la curva que registra la temperatura de fusión para distinguir entre las muestras positivas para HSV-1 y HSV-2. Esta curva mostrará un comportamiento de fusión específico debido al polimorfismos de nucleótidos en las secuencias de hibridación diana de HSV-1 y HSV-2. Debido a estos polimorfismos, las temperaturas de fusión para HSV-1 y HSV-2 son significativamente diferentes y permiten la clara determinación del subtipo HSV.

Este método proporciona resultados en cuestión de horas. Los resultados se comparan con reacciones de control internas del ensayo, evitando la necesidad de una amplificación posterior, purificación y visualización de ácidos nucleicos.

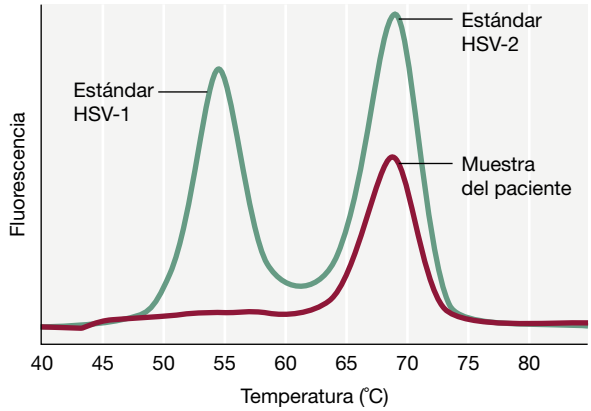


Figura 27.19 Reacción en cadena de la polimerasa cualitativa en tiempo real (*qualitative real-time polymerase chain reaction*) para el gen *pol* de HSV-1 (herpes simplex virus 1) y HSV-2. Se realizó una PCR quantitativa (qPCR) para amplificar el gen *pol* de los virus HSV-1 y HSV-2 a partir del DNA de una muestra de paciente. El ensayo utiliza dos sondas de hibridación que se incorporan al amplicón obtenido por qPCR. Las sondas están marcadas con colorantes fluorescentes que se hibridan con una secuencia interna del fragmento amplificado de cada genoma vírico durante el ciclo de PCR. Después de la hibridación con el DNA molde, las sondas son excitadas con una fuente de luz y se mide su fluorescencia. Después del ciclo de PCR, las dos cadenas de DNA se separan por calor y cada virus muestra una curva de fusión característica. La temperatura de fusión en la muestra del paciente (rojo) se corresponde con el HSV-2 estándar (verde), lo que indica que el paciente está infectado con HSV-2.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué ventaja tiene la amplificación de ácidos nucleicos en relación a los métodos de cultivo estándar para la identificación de microorganismos? ¿Qué inconvenientes?
- ¿En qué se diferencian la qPCR y la PCR cualitativa?

IV • Fármacos antimicrobianos

Los *fármacos antimicrobianos* son compuestos que matan microorganismos en el hospedador (in vivo) o controlan su crecimiento. Los antimicrobianos eficaces tienen una **toxicidad selectiva**: inhiben o matan los agentes patógenos sin causar daño al hospedador. Los fármacos antimicrobianos se clasifican según su estructura molecular, mecanismo de acción (**Figura 27.20**), y espectro de actividad antimicrobiana (**Figura 27.21**). En el mundo, se fabrican y utilizan anualmente más de 10.000 toneladas de diversos fármacos antimicrobianos (**Figura 27.22**). Los agentes antimicrobianos se dividen en dos grandes categorías, *antimicrobianos sintéticos* y *antibióticos*.

27.11 Fármacos antimicrobianos sintéticos

Los fármacos antimicrobianos sintéticos comprenden *análogos de factores de crecimiento*, que interfirieren con el metabolismo

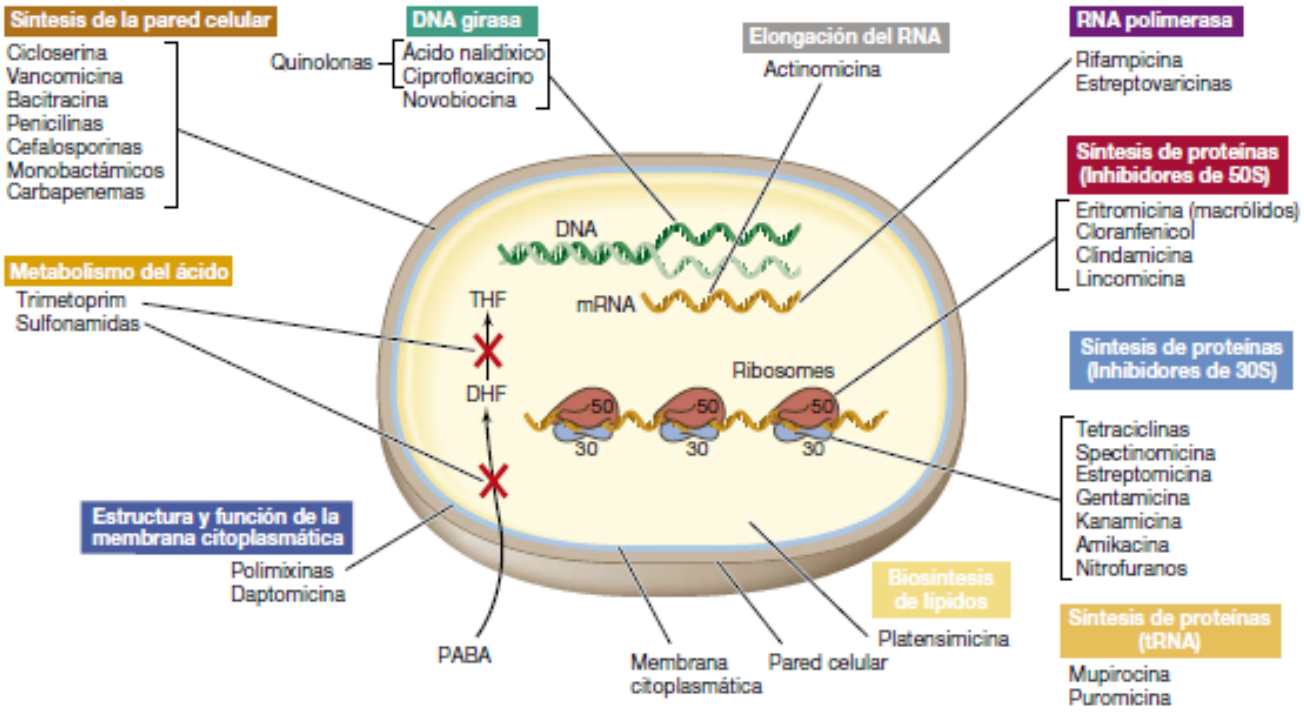


Figura 27.20 **Dianas de los principales agentes antibacterianos.** Los agentes se clasifican de acuerdo con sus estructuras diana en la célula bacteriana. THF, tetrahidrofolato; DHF, dihidrofolato; RNAm, RNA mensajero.

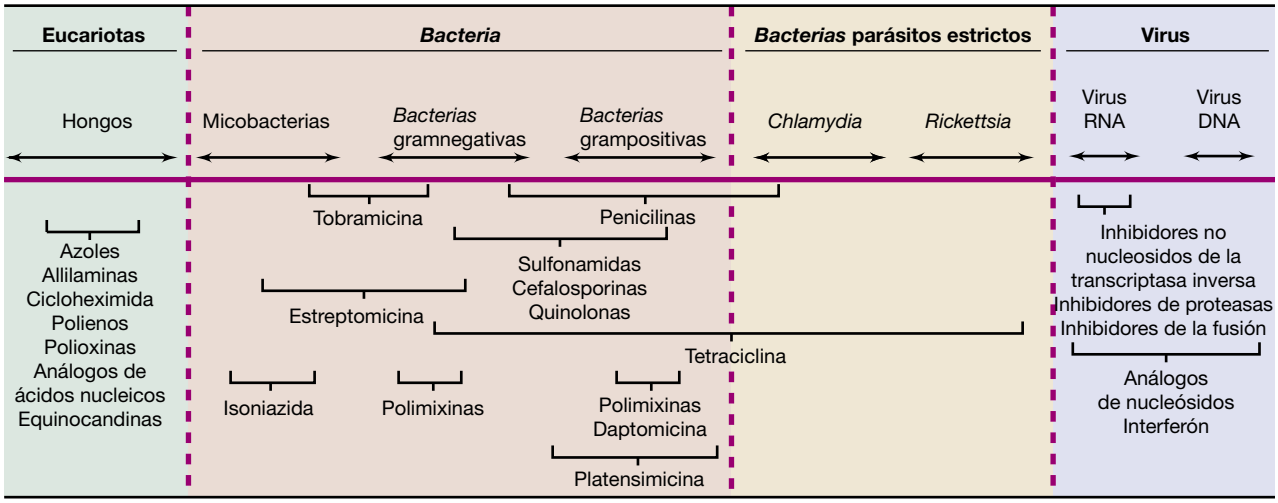


Figura 27.21 **Espectro de la actividad antimicrobiana.** Cada agente antimicrobiano afecta a un grupo limitado y bien definido de microorganismos. Unos cuantos agentes son muy específicos y afectan el crecimiento de un solo género. Por ejemplo, la isoniazida afecta solo a microorganismos del género *Mycobacterium*.

microbiano, y *quinolonas*, que interfieren con el empaquetamiento del DNA en las bacterias.

Análogos de factores de crecimiento

Los *factores de crecimiento* son sustancias químicas específicas requeridas por un organismo que es incapaz de sintetizarlas. Por consiguiente, una fuente externa es esencial para la supervivencia (↻ Sección 3.1). Un **análogo de un factor de crecimiento** es un compuesto sintético estructuralmente semejante al factor de crecimiento, pero diferencias estructurales sutiles entre el análogo y el factor impiden que el primero funcione en la célula y alteran de esta manera el metabolismo celular. Se conocen análogos para muchas biomoléculas importantes como ciertas vitaminas, aminoácidos, y nucleósidos. Algunos análogos de factores de crecimiento son antibacterianos. Los que son eficaces para el tratamiento de infecciones víricas y fúngicas se estudiarán en las Secciones 27.15 y 27.16.

Las *sulfamidas* fueron los primeros análogos de factores de crecimiento de uso difundido que inhiben específicamente el crecimiento bacteriano. El descubrimiento de la

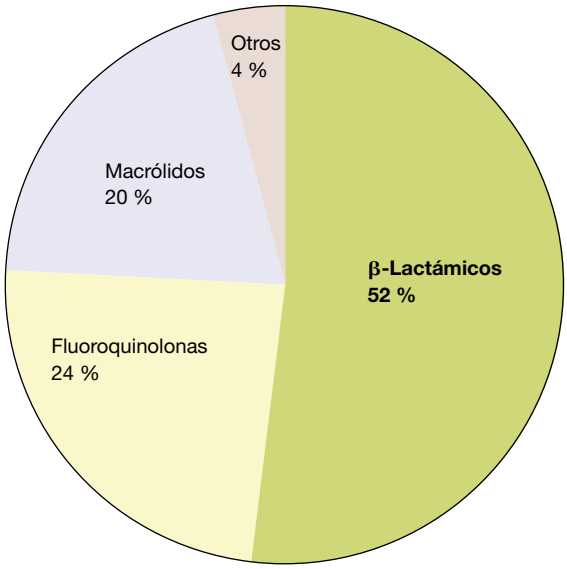


Figura 27.22 Producción mundial y uso anuales de antibióticos. Alrededor de 10.000 toneladas métricas de agentes antimicrobianos se fabrican en todo el mundo cada año. Los antibióticos β-lactámicos comprenden las cefalosporinas (30 %), penicilinas (7 %), y otras β-lactámicos (15 %). «Otros» comprenden las tetraciclinas, los aminoglucósidos, y todos los demás fármacos antimicrobianos.

primera sulfamida generó un cribado a gran escala de productos químicos para detectar los que tuvieran actividad contra las infecciones estreptocócicas en animales experimentales. La sulfanilamida, la sulfamida más sencilla, es un análogo del ácido *p*-aminobenzoico que a su vez forma parte del ácido fólico, una vitamina que es un precursor del ácido nucleico (Figura 27.23).

La sulfanilamida bloquea la síntesis del ácido fólico, e inhibe de este modo la síntesis de los ácidos nucleicos. Es selectivamente tóxica en bacterias porque estas sintetizan su propio ácido fólico, mientras que los humanos y la mayoría de los animales obtienen el ácido fólico a través de la alimentación. Inicialmente, las sulfamidas se utilizaron mucho para el tratamiento de las infecciones por estreptococos. Sin embargo, la resistencia aumentó debido a que muchos patógenos anteriormente susceptibles desarrollaron la capacidad de captar ácido fólico de su ambiente. La terapia antimicrobiana con sulfametoxazol (una sulfamida) más trimetoprim, un competidor relacionado con la síntesis de ácido fólico, sigue siendo eficaz en muchos casos debido a que la combinación de los dos fármacos bloquea dos pasos secuenciales en la vía de síntesis de ácido fólico y la resistencia a esta recombinación de fármacos requiere dos mutaciones en los genes de la misma vía, un fenómeno relativamente raro.

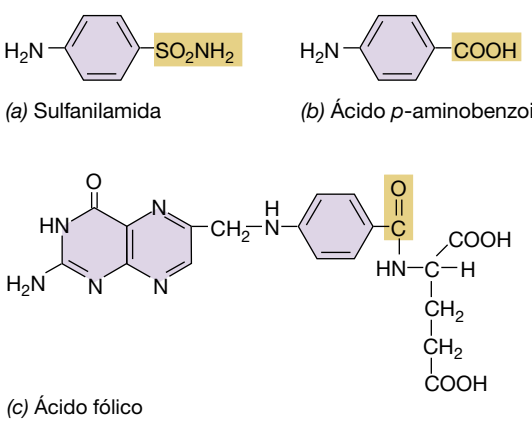


Figura 27.23 Sulfamidas. *(a)* La sulfamida más sencilla, la sulfanilamida. *(b)* la sulfanilamida es un análogo del ácido *p*-aminobenzoico, que es un precursor del ácido fólico *(c)*, un factor de crecimiento.

La isoniazida (↻ Figura 29.17) es un análogo de un factor de crecimiento importante y tiene un espectro muy estrecho de actividad (Figura 27.21). Efectiva solo contra *Mycobacterium*, la isoniazida interfiere con la síntesis de ácidos micólicos, un componente de la pared celular de las micobacterias. Por ello es el fármaco más eficaz utilizado para el control y tratamiento de la tuberculosis (↻ Sección 29.4).

Quinolonas

Las **quinolonas** son compuestos antibacterianos sintéticos que alteran el metabolismo bacteriano al interferir con la DNA girasa e impedir el superenrollamiento del DNA, un paso indispensable para el empaquetamiento del DNA en la célula bacteriana (↻ Sección 4.3). Debido a que la DNA girasa se encuentra en todas las *Bacteria*, las fluoroquinolonas son eficaces para tratar infecciones tanto por bacterias grampositivas como gramnegativas (Figura 27.21). Las fluoroquinolonas, como el ciprofloxacino (Figura 27.24*a*) se utilizan normalmente para tratar infecciones de las vías urinarias en los humanos y han sido muy utilizadas en el sector de la carne y de las aves de corral para la prevención y el tratamiento de enfermedades respiratorias en animales. El ciprofloxacino es también el fármaco de elección para el tratamiento del carbunco ya que algunas cepas de *Bacillus anthracis*, el agente causal de esta enfermedad (↻ Sección 30.8), son resistentes a la penicilina. La moxifloxacina (Figura 27.24*b*) es uno de los pocos fármacos que ha demostrado ser eficaz para el tratamiento de la tuberculosis. En combinación con otros fármacos antituberculosos (↻ Sección 29.4), la moxifloxacina puede reducir significativamente la duración del tratamiento, un problema importante en los tratamientos a base de isoniazida.

MINIRREVISIÓN

- Explique el concepto de toxicidad selectiva en términos de terapia antimicrobiana.
- Describa la acción de cualquier fármaco antimicrobiano sintético.

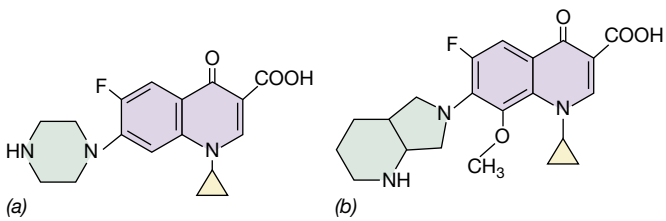


Figura 27.24 Quinolonas. *(a)* el ciprofloxacino, un derivado fluorado del ácido nalidíxico con actividad de amplio espectro, es más soluble que el compuesto original, y esto le permite alcanzar niveles terapéuticos en la sangre y los tejidos. *(b)* la moxifloxacina, una fluoroquinolona aprobada para el tratamiento de las infecciones por *Mycobacterium*.

27.12 Fármacos antimicrobianos naturales: antibióticos

Los **antibióticos** son agentes antimicrobianos producidos por microorganismos. Están producidos por una variedad de bacterias y de hongos (*Eukarya*) y aparentemente funcionan en la naturaleza como lo hacen clínicamente: inhibiendo o matando a otros microorganismos. Aunque se conocen miles de antibióticos, menos del 1 % son clínicamente útiles, a menudo debido a problemas de toxicidad o la falta de absorción por las células del hospedador. Sin embargo, los que son útiles en la práctica clínica han tenido un impacto extraordinario en el tratamiento de las enfermedades infecciosas. Los antibióticos naturales pueden ser modificados artificialmente para mejorar su eficacia. A estos se les llama antibióticos *semisintéticos*.

Los antibióticos y la toxicidad selectiva antimicrobiana

La susceptibilidad de los microorganismos a agentes antimicrobianos varía significativamente (Figura 27.21). Por ejemplo, las bacterias grampositivas y gramnegativas difieren en su susceptibilidad a antibióticos determinados, por ejemplo, a la penicilina: las bacterias grampositivas son generalmente sensibles, mientras que la mayoría de las gramnegativas son naturalmente resistentes. Algunos **antibióticos de amplio espectro** como la tetraciclina, sin embargo, son eficaces contra ambos grupos. Por consiguiente, un antibiótico de amplio espectro encuentra un uso médico más amplio que un antibiótico de espectro reducido. Un antibiótico con un espectro limitado de actividad puede, sin embargo, ser muy valioso para el control de patógenos que no responden a otros antibióticos. Un buen ejemplo de ello es la vancomicina, un antibiótico de espectro limitado que es un agente bactericida eficaz frente a los enterococos resistentes a la penicilina, así como frente a *Staphylococcus*, *Bacillus* y *Clostridium* (Figura 27.22). Los ribosomas, la pared celular, la membrana citoplasmática, las enzimas de la biosíntesis de lípidos, y los elementos de la transcripción y replicación del DNA de los miembros de *Bacteria* son importantes dianas de los antibióticos (Figura 27.20).

Antibióticos que afectan a la traducción

Algunos antibióticos inhiben la síntesis de proteínas interaccionando con los ribosomas, a menudo con el RNA ribosomico (RNAr), e interrumpiendo la traducción (Figura 27.20). Muchos, como el cloranfenicol, la estreptomicina y las tetraciclinas, tienen como diana ribosomas de un solo dominio filogenético, *Bacteria*, pero no causan ningún efecto en los ribosomas citoplasmáticos de *Eukarya*. Sin embargo, dado que los ribosomas de mitocondrias y cloroplastos en *Eukarya* tienen sus orígenes evolutivos en los ribosomas bacterianos (es decir, son ribosomas 70S), los antibióticos que inhiben la síntesis de proteínas en *Bacteria* también inhiben la síntesis de proteínas en estos orgánulos (↔ Sección 17.1). Por ejemplo, la tetraciclina inhibe los ribosomas 70S. No obstante, sigue teniendo aplicación clínica porque los ribosomas 70S mitocondriales de eucariotas se ven afectados solo a concentraciones más altas que las que se utilizan para la terapia antimicrobiana.

Antibióticos que afectan a la transcripción bacteriana

Un cierto número de antibióticos inhiben específicamente la transcripción mediante el bloqueo de la síntesis de RNA (Figura 27.20). Por ejemplo, la rifampicina y las estreptovaricinas inhiben la síntesis de RNA mediante la unión a la subunidad β de la RNA polimerasa en *Bacteria*, cloroplastos, y mitocondrias y la actinomicina lo hace combinándose con el DNA y bloqueando la elongación del RNA. Este segundo agente se une más fuertemente al DNA en los pares de bases guanina-citosina, situándose en el surco mayor de la doble cadena donde el RNA se está sintetizando.

MINIRREVISIÓN

- Señale las diferencias en el modo de acción de los antibióticos y de los análogos de factores de crecimiento.
- ¿Qué es un antibiótico de amplio espectro?

27.13 Antibióticos β-lactámicos: penicilinas y cefalosporinas

Los antibióticos β-lactámicos son inhibidores de la síntesis de la pared celular y entre ellos se encuentran varios de importancia médica, como las penicilinas y las cefalosporinas. Estos antibióticos comparten un componente estructural característico, el *anillo β-lactámico* (**Figura 27.25**). En conjunto, los antibióticos β-lactámicos suponen más de la mitad de todos los antibióticos que se producen y utilizan en todo el mundo (Figura 27.22).

Penicilinas

En 1929 Alexander Fleming caracterizó el primer antibiótico, un compuesto antibacteriano llamado **penicilina** (Figura 27.25) aislado del hongo *Penicillium chrysogenum*. Este nuevo antibiótico β-lactámico fue muy eficaz para controlar las infecciones por estafilococos y neumococos y más eficaz que las sulfamidas para el tratamiento de las infecciones por estreptococos. La penicilina revolucionó el tratamiento de enfermedades infecciosas cuando se utilizó de modo general después de la Segunda Guerra Mundial.

Los antibióticos β-lactámicos son inhibidores de la síntesis de la pared celular bacteriana. Un paso importante de la síntesis de este componente es la *transpeptidación*, que da lugar al entrecruzamiento de dos cadenas de péptido-glicano (↔ Sección 5.4). Debido a que la pared celular y sus mecanismos de síntesis son exclusivos de *Bacteria*, los antibióticos β-lactámicos son altamente selectivos y no tóxicos para las células del hospedador.

La penicilina G (Figura 27.25) es activa principalmente contra *bacterias* grampositivas porque las gramnegativas son impermeables al antibiótico, pero la modificación química de la estructura de la penicilina G cambia significativamente el antibiótico resultante. Así, muchas penicilinas semisintéticas, como la ampicilina y la carbenicilina, resultado de la modificación química de la penicilina G, son eficaces contra las *bacterias* gramnegativas. Las diferencias estructurales en estas penicilinas semisintéticas les permiten pasar a través de la membrana

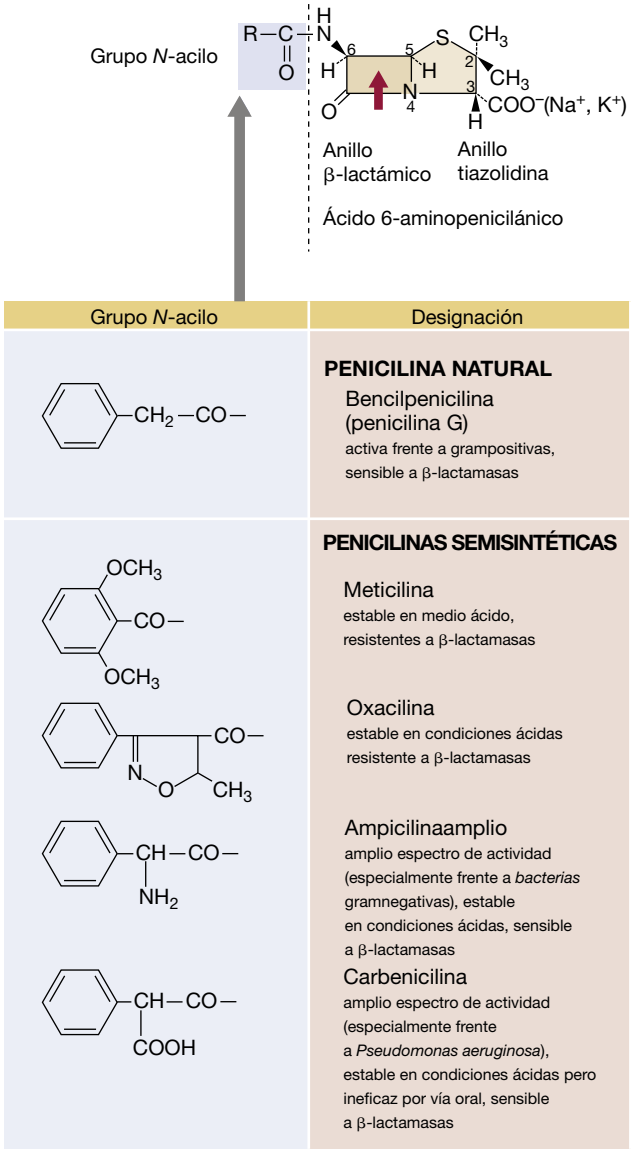


Figura 27.25 **Penicilinas.** La flecha roja (panel superior) es el sitio donde actúan la mayoría de las β-lactamasas, enzimas que destruyen la penicilina y otros antibióticos β-lactámicos. La mayoría de las penicilinas estables en medio ácido se pueden administrar por vía oral.

externa de gramnegativas (↔ Sección 2.11), donde inhiben la síntesis de la pared celular. La penicilina G también es sensible a la β-lactamasa, una enzima producida por diversas bacterias resistentes a la penicilina (véase el apartado 27.17). La oxacilina y la meticilina son penicilinas semisintéticas muy utilizadas porque son resistentes a las β-lactamasas.

Cefalosporinas

Las cefalosporinas, producidas por el hongo *Cephalosporium* sp., difieren estructuralmente de las penicilinas. Conservan el anillo β-lactámico, pero tienen un anillo dihidrotiazina de seis carbonos en lugar del anillo de tiazolidina de cinco carbonos de las penicilinas (**Figura 27.26**). Las cefalosporinas tienen el mismo modo de acción que las penicilinas; se unen de manera irreversible a las PBP (transpeptidasas) e impiden la formación

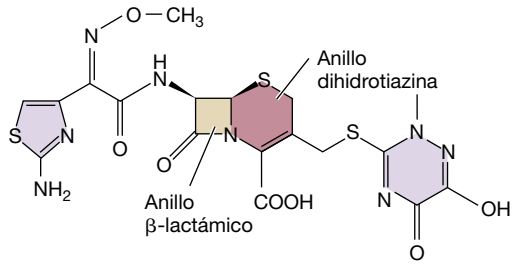


Figura 27.26 **Ceftriaxona.** La ceftriaxona es un antibiótico β-lactámico resistente a la mayoría de β-lactamasas debido al anillo dihidrotiazina de 6 miembros adyacente al anillo β-lactámico. Compárese esta estructura con el anillo tiazolidina de 5 miembros de las penicilinas sensibles a la β-lactamasas (Figura 27.25).

de la red de peptidoglicano. Las cefalosporinas de importancia clínica son antibióticos semisintéticos importantes con un espectro más amplio de actividad que las penicilinas. Además, las cefalosporinas son normalmente más resistentes a las β-lactamasas. Por ejemplo, la ceftriaxona (Figura 27.26) es muy resistente a las β-lactamasas y ha reemplazado a la penicilina para el tratamiento de las infecciones por *Neisseria gonorrhoeae* (gonorrea), porque muchas cepas de *N. gonorrhoeae* son ahora resistentes a la penicilina (↔ Sección 29.12).

MINIRREVISIÓN

- ¿Cómo funcionan los antibióticos β-lactámicos?
- ¿Por qué pueden tener mayor valor clínico las penicilinas semisintéticas que la penicilina natural?

27.14 Antibióticos producidos por bacterias

Muchos antibióticos activos contra las *Bacteria* también son producidas por organismos de este mismo dominio. Entre ellos se encuentran muchos antibióticos que tienen gran aplicación clínica.

Aminoglucósidos

Los antibióticos que contienen aminoazúcares unidos por enlace glicosídico se llaman **aminoglucósidos**. Entre los aminoglucósidos de utilidad clínica se incluyen la estreptomicina (producido por *Streptomyces griseus*) y otros relacionados como la kanamicina (**Figura 27.27**), la neomicina y la gentamicina. Los aminoglucósidos se dirigen a la subunidad 30S del ribosoma, inhibiendo la síntesis de proteínas (Figura 27.20), y son útiles para el tratamiento de infecciones por bacterias gramnegativas. (Figura 27.21).

El uso de aminoglucósidos para el tratamiento de infecciones por bacterias gramnegativas ha disminuido desde el desarrollo de las penicilinas semisintéticas (Sección 27.13) y las tetraciclinas (véase más adelante en esta sección). Los aminoglucósidos se utilizan ahora sobre todo cuando fallan otros antibióticos.

Macrólidos

Los macrólidos contienen anillos de lactona unida a azúcares (**Figura 27.28**). Las variaciones tanto en el anillo de lactona como en los azúcares dan lugar a un gran número de macrólidos. Los

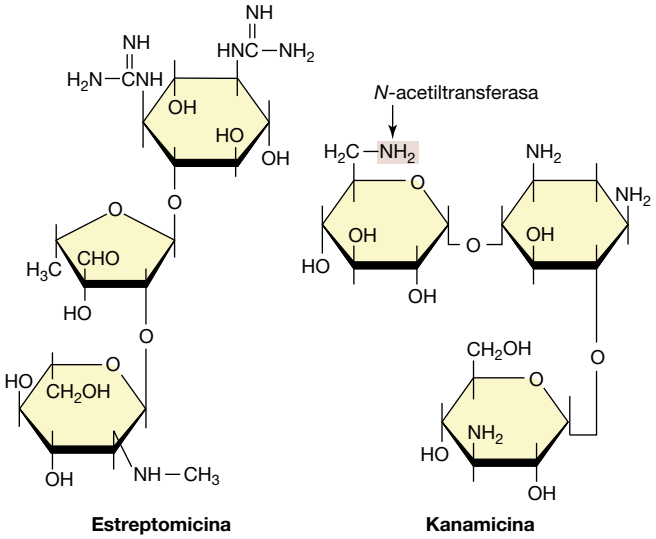


Figura 27.27 Antibióticos aminoglucósidos: estreptomicina y kanamicina. Los aminoazúcares están en amarillo. En la posición indicada, la kanamicina puede ser modificada por una *N*-acetiltransferasa codificada por un plásmido de resistencia. Después de la acetilación, el antibiótico está inactivo. Tanto la kanamicina como la estreptomicina son sintetizados por especies de *Streptomyces*.

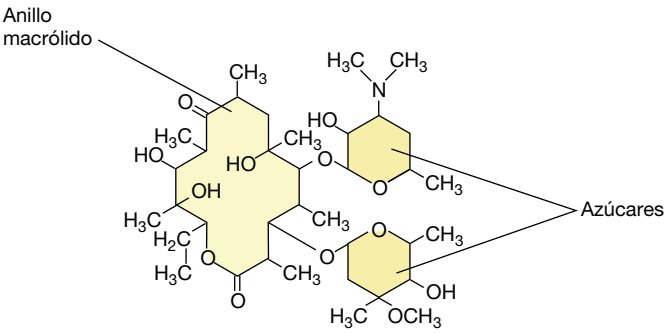
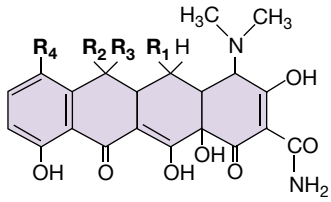


Figura 27.28 Eritromicina, un antibiótico macrólido. La eritromicina es un antibiótico de amplio espectro muy utilizado.

más comunes son eritromicina (producida por *Streptomyces la erythreus*), la claritromicina, la azitromicina y las telitromicina. Los macrólidos representan aproximadamente el 20 % de la producción mundial total de antibióticos y de su uso (Figura 27.22). La eritromicina es un antibiótico de amplio espectro que se dirige a la subunidad 50S del ribosoma bacteriano, e inhibe parcialmente la síntesis de proteínas (Figura 27.20). Esto conduce a la traducción preferencial de algunas proteínas y restringe la traducción de otras, lo que ocasiona un desequilibrio en el proteoma, que puede alterar las funciones celulares en todos los niveles. En su aplicación clínica se utiliza a menudo en pacientes alérgicos a la penicilina o a otros antibióticos β-lactámicos. La eritromicina es especialmente útil para el tratamiento de la legionelosis (↻ Sección 31.4).

Tetraciclinas

Las **tetraciclinas**, producidas por varias especies de *Streptomyces*, son antibióticos de amplio espectro que inhiben a la mayoría de las bacterias grampositivas y gramnegativas (Figura 27.21).



Análogo de tetraciclina	R_1	R_2	R_3	R_4
Tetraciclina	H	OH	CH_3	H
7-Clortetraciclina (aureomicina)	H	OH	CH_3	Cl
5-Oxitetraciclina (terramicina)	OH	OH	CH_3	H

Figura 27.29 Tetraciclina. La tetraciclina es un antibiótico de amplio espectro con muchos análogos semi-sintéticos activos.

La estructura básica de las tetraciclinas se compone de un anillo naftaceno (Figura 27.29). Las sustituciones en el anillo básico naftaceno se producen de forma natural y dan lugar a nuevos análogos de tetraciclina. También se han desarrollado tetraciclinas semisintéticas que tienen sustituciones en el anillo naftaceno. Al igual que la eritromicina y los antibióticos aminoglucósidos, la tetraciclina es un inhibidor de la síntesis de proteínas, que interfiere con la función de la subunidad 30S del ribosoma bacteriano (Figura 27.20).

Las tetraciclinas y los antibióticos β-lactámicos constituyen los dos grupos más importantes de antibióticos en el campo médico. Las tetraciclinas son también ampliamente utilizadas en veterinaria y en algunos países se utilizan como complementos en los piensos de aves de corral y cerdos. El uso extensivo no médico de antibióticos importantes en medicina puede contribuir a la aparición de resistencias a antibióticos, por lo que este uso está desaconsejado.

Antibióticos nuevos: daptomicina y platensimicina

Algunos antibióticos tienen nuevas estructuras o dianas. Por ejemplo, la daptomicina, producida por una especie de *Streptomyces*, es un lipopéptido cíclico (Figura 27.30) con un modo de acción exclusivo. Se utiliza principalmente para el tratamiento de infecciones por bacterias grampositivas tales como estreptococos y estafilococos patógenos (↻ Secciones 29.2 y 29.9). Se une específicamente a la membrana citoplasmática de las bacterias, forma un poro, e induce la despolarización rápida de la membrana. La célula despolarizada pierde rápidamente la capacidad de sintetizar macromoléculas como ácido nucleicos y proteínas, lo que ocasiona la muerte celular. Sin embargo, las alteraciones en la estructura de la membrana citoplasmática pueden generar resistencia a este antibiótico.

La platensimicina (Figura 27.31), producida por *Streptomyces platensis*, es el primer miembro de una nueva clase de antibióticos que inhibe la biosíntesis de ácidos grasos, alterando así la biosíntesis de lípidos. Este antibiótico es eficaz contra una gran variedad de bacterias grampositivas y se puede utilizar para infecciones casi intratables causadas por *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina y enterococos resistentes a la vancomicina. La platensimicina tiene

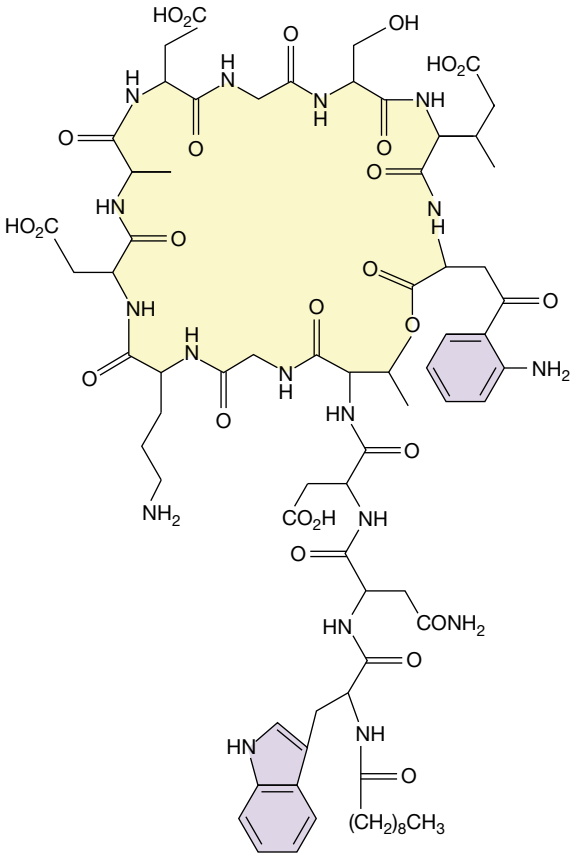


Figura 27.30 Daptomicina. La daptomicina es un lipopéptido cíclico que despolariza la membrana citoplasmática en bacterias grampositivas.

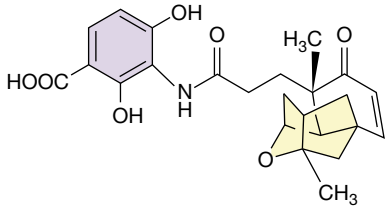


Figura 27.31 Platensimicina. La platensimicina inhibe selectivamente la biosíntesis de lípidos en el dominio *Bacteria*.

un modo de acción exclusivo, no muestra toxicidad para el hospedador y no se conocen mecanismos posibles para el desarrollo de resistencias por parte de los patógenos. Trataremos del descubrimiento de la platensimicina en la Sección 27.18.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cuál es el origen de los aminoglucósidos, las tetraciclinas, los macrólidos, la daptomicina y la platensimicina?
- ¿Cómo afecta la actividad de cada clase de antibióticos al control de los patógenos?

27.15 Antivíricos

Los medicamentos que actúan sobre los virus de eucariotas a menudo afectan también a las células hospedadoras porque los virus dependen de la maquinaria de biosíntesis de la célula hospedadora para su replicación. Por consiguiente, la toxicidad selectiva para los virus es muy difícil de alcanzar; solo son útiles los agentes que actúan preferentemente sobre vías víricas exclusivas que intervienen en la replicación o el ensamblaje de componentes estructurales del virus. A pesar de estas limitaciones, hay una serie de fármacos más tóxicos para los virus que para el hospedador, así como algunos que actúan específicamente contra el virus. El desarrollo y el uso de agentes antivíricos ha tenido éxito en gran parte debido a los esfuerzos para controlar las infecciones del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) (↻ Sección 29.14).

Agentes antivíricos de VIH

Los agentes con más éxito y de uso común para la quimioterapia antivírico son los análogos de nucleósidos (**Tabla 27.6**). El primer compuesto que se utilizó extensamente en esta categoría fue la zidovudina, también llamada *azidotimidina* (AZT) (↻ Figura 29.48*a*). La AZT inhibe la multiplicación del VIH y de otros retrovirus mediante el bloqueo de la transcripción inversa y de la producción del DNA intermedio codificado por el virus (↻ Sección 29.14); está químicamente relacionada con la timidina pero es un didesoxi-derivado que carece del grupo 3′-hidroxilo. Otros análogos de nucleósidos como aciclovir (Tabla 27.6 y ↻ Figura 29.42), tienen mecanismos análogos y fueron desarrollados para el tratamiento del VIH y otros virus.

Casi todos los análogos de nucleósidos son **nucleósidos inhibidores de la transcriptasa inversa** (NRTI, del inglés *nucleoside reverse transcriptase inhibitors*) y funcionan inhibiendo la elongación de la cadena de ácido nucleico vírico mediada por la polimerasa. Debido a que la función normal de replicación del ácido nucleico en las células es también diana de estos nucleósidos, estos fármacos inducen generalmente alguna toxicidad en el hospedador. Muchos NRTI también pierden su potencia antiviral debido a la aparición de virus resistentes al fármaco (↻ Sección 29.14).

Varios agentes antivíricos actúan sobre la enzima clave de los retrovirus, la transcriptasa inversa (o reversa). La nevirapina, un **inhibidor no-nucleósido de la transcriptasa inversa** (**NNRTI,** del inglés *nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor*), se une directamente a la transcriptasa inversa e inhibe su función. El ácido fosfonofórmico, un análogo del pirofosfato inorgánico, inhibe las uniones normales entre nucleótidos e impide la síntesis de ácidos nucleicos víricos. Como ocurre con los NRTI, los NNRTI causan generalmente un cierto nivel de toxicidad en el hospedador debido a que su acción también afecta a la síntesis de ácido nucleico de la célula hospedadora normal.

Los **inhibidores de proteasa** son otra clase de fármacos antivíricos eficaces para el tratamiento del VIH (Tabla 27.6 y Figura 27.37). Estos medicamentos impiden la replicación vírica mediante la unión al sitio activo de la proteasa del VIH, inhibiendo en esta enzima el procesamiento de proteínas grandes para formar componentes víricos individuales, e impidiendo así la maduración del virus (↻ Sección 9.11).

Otra categoría de medicamentos contra el VIH está representada por un solo fármaco, la enfuvirtida, que es un **inhibidor de fusión** compuesto de un péptido sintético de 36 aminoácidos que se une a la proteína de membrana gp41 del VIH (Tabla 27.6 y ↻ Sección 29.14). La unión de enfuvirtida a la proteína gp41 detiene los cambios conformacionales necesarios para la

Tabla 27.6 Compuestos antivíricos

Categoría/ejemplos	*Mecanismo de acción*	*Virus afectado*
Inhibidor de la fusión		
Enfuvirtida	Bloquea la fusión de las membranas del VIH- y linfocitos T	VIH (virus inmunodeficiencia humana)
Interferones		
α, β, γ-interferón	Induce proteínas que inhiben la replicación vírica	Amplio espectro (específico del hospedador)
Inhibidores de la neuraminidasa		
Oseltamivir (Tamiflu®) y Zanamivir (Relenza®)	Bloquea el sitio activo de la neuraminidasa del virus influenza	Influenza A y B
Inhibidor no-nucleósido de la transcriptasa inversa (NNRTI)		
Nevirapina	Inhibidor de la transcriptasa inversa	VIH
Análogos de nucleósidos		
Aciclovir (↻ Figura 29.42)	Inhibidor de la polimerasa vírica	Virus del herpes, varicela zoster
Zidovudina (AZT) (↻ Figura 29.48a)	Inhibidor de la transcriptasa inversa	VIH
Ribavirina	Bloquea el capping del RNA vírico	Virus respiratorio sincicial, virus influenza A y B, virus fiebre de Lassa
Análogos de nucleótidos		
Cidofovir	Inhibidor de la polimerasa vírica	Citomegalovirus, herpesvirus
Tenofovir (TDF)	Inhibidor de la transcriptasa inversa	VIH
Inhibidores de proteasas		
Indinavir, saquinavir (véase la figura 27.37)	Inhibidores de proteasas víricas	VIH

fusión de las membranas del VIH y de los linfocitos T y, por tanto, impide la infección de las células por el VIH.

Otros agentes antivíricos

Una sola categoría de medicamentos limita de manera eficaz la infección por el virus influenza. Los inhibidores de la neuraminidasa oseltamivir (nombre comercial Tamiflu) y zanamivir (Relenza) bloquean el sitio activo de la neuraminidasa en los virus influenza A y B e inhiben la liberación de los virus de las células infectadas, el zanamivir solo se utiliza para el tratamiento de la gripe, mientras que el oseltamivir se usa tanto para el tratamiento como para la profilaxis (Tabla 27.6).

La *interferencia vírica* es un fenómeno en el que la infección con un virus interfiere con la infección posterior por otro virus. Varias proteínas pequeñas llamadas interferones son su causa. Los **interferones** son proteínas pequeñas de la familia de las citocinas (↻ Sección 26,10) que impiden la replicación vírica mediante la estimulación de la producción de proteínas antivíricas en células no infectadas. Los interferones se forman en respuesta a virus vivos, a virus inactivados, y a ácidos nucleicos víricos. Se producen en grandes cantidades por las células infectadas con virus de baja virulencia, pero los virus muy virulentos inhiben la síntesis de proteínas en el hospedador antes de que el interferón haya podido ser generado, lo que reduce significativamente su producción. Los interferones también son inducidos por RNA bicatenarios (dsRNA, del inglés *double strand RNA*). En la naturaleza, solo existe dsRNA como la forma replicativa de virus RNA en células infectadas por virus como los rinovirus (virus del resfriado; ↻ Sección 29.7). El dsRNA vírico envía señales a la célula animal para producir interferón.

La actividad del interferón es *específica del hospedador* en lugar de ser *específica del virus*. Es decir, el interferón producido por una especie activa los receptores solo en células de la misma especie. Por tanto, el interferón producido por las células de un animal en respuesta a un rinovirus, por ejemplo, puede también inhibir la multiplicación del virus influenza, por ejemplo, en células de la misma especie, pero no tendrá ningún efecto sobre la multiplicación de ningún virus, incluidos los rinovirus, en células de otras especies.

La utilidad clínica de interferón depende de nuestra capacidad para hacerlo llegar a áreas locales en el hospedador a través de inyecciones o aerosoles para estimular la producción de proteínas antivíricas en células no infectadas del hospedador. Alternativamente, estimuladores de interferón apropiados, como nucleótidos de virus, virus no virulentos, o incluso nucleótidos sintéticos, pueden estimular la producción natural de interferón si se suministran a las células del hospedador antes de que sean infectadas.

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué hay relativamente pocos agentes antivíricos eficaces? Tales agentes no se utilizan para tratar enfermedades víricas comunes como resfriados; ¿por qué?
- ¿Qué pasos en el proceso de maduración vírica son inhibidos por los análogos de nucleósidos? ¿Y por los inhibidores de la proteasa? ¿y por los interferones?

27.16 Antimicóticos

Como en el caso de los virus, el desarrollo de medicamentos para el tratamiento de las infecciones causadas por hongos plantea problemas especiales. Debido a que los hongos pertenecen al dominio *Eukarya*, los agentes antifúngicos que

actúan sobre las vías metabólicas en los hongos suelen afectar las vías correspondientes en las células del hospedador, por lo que los fármacos son tóxicos. Por consiguiente, muchos antimicóticos se pueden utilizar solo para aplicaciones tópicas (de uso externo y local). Sin embargo, algunos son tóxicos selectivamente para los hongos porque se dirigen a estructuras o procesos metabólicos exclusivos de los hongos. Los fármacos específicos para los hongos se están volviendo más importantes a medida que las infecciones por hongos en los individuos inmunodeprimidos se hacen más prevalentes (↻ Secciones 32.1 y 32.2).

Los inhibidores del ergosterol abarcan dos tipos de compuestos antifúngicos que funcionan mediante la interacción con el ergosterol o en la inhibición de su síntesis (**Tabla 27.7**). El ergosterol está presente en la membrana citoplasmática fúngica en lugar del colesterol que se encuentra en la membrana citoplasmática de la célula animal. Los inhibidores del ergosterol incluyen los *polienos*, un grupo de medicamentos antifúngicos producidos por especies de *Streptomyces*. Los polienos se unen específicamente al ergosterol, causando la permeabilización de la membrana y, finalmente, la muerte celular (**Figura 27.32**).

Los *azoles* y las *alilaminas* constituyen un segundo grupo funcional de fármacos que afectan al ergosterol. Funcionan inhibiendo selectivamente la biosíntesis de este compuesto y, por tanto, tienen una amplia actividad antifúngica. El tratamiento con azoles ocasiona una membrana citoplasmática anormal en el hongo, lo que daña la membrana y altera actividades de transporte críticas. Las alilaminas también inhiben la biosíntesis de ergosterol, pero se limitan a uso tópico porque no son captadas fácilmente por los tejidos animales.

Las equinocandinas son inhibidores de la pared celular que bloquean la actividad de la 1,3-β-D-glucano sintasa, la enzima que forma polímeros de β-glucano en la pared celular fúngica (Figura 27.32 y Tabla 27.7). Debido a que las células de los mamíferos no tienen 1,3-β-D-glucano sintasa (o paredes célulares), la acción de estos agentes es específica, y ocasiona la muerte selectiva de las células de hongos. Las equinocandinas se usan para tratar infecciones por hongos como *Candida* y algunos otros que son resistentes a otros agentes (↻ Sección 32.1).

Las paredes celulares de los hongos también contienen quitina, un polímero de *N*-acetilglucosamina que solo se encuentra en hongos e insectos. Varias polioxinas inhiben la síntesis de la pared celular al interferir con la biosíntesis de quitina.

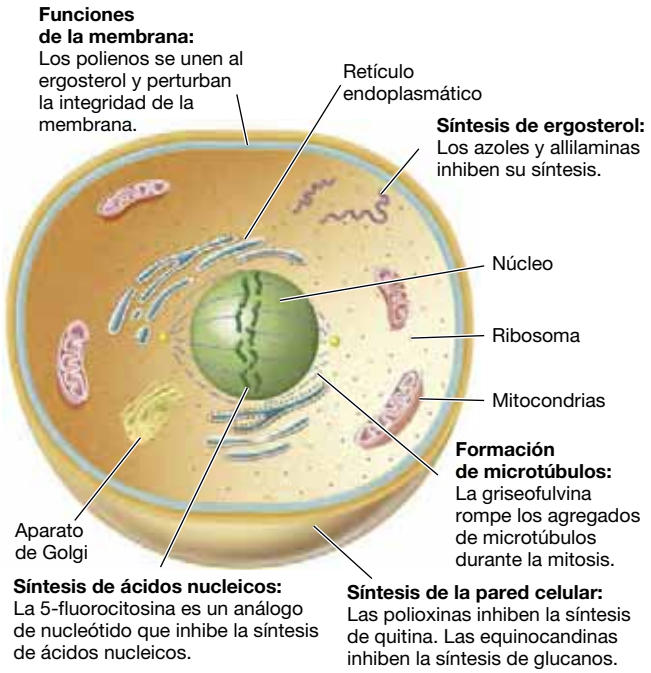


Figura 27.32 Dianas de algunos agentes antifúngicos. Los agentes anti-bacterianos tradicionales generalmente son ineficaces porque los hongos son células eucariotas. La membrana citoplasmática y la pared celular que aparecen aquí actúan como dianas porque son estructuras exclusivas, no presentes en las células del hospedador.

Tabla 27.7 Agentes antimicóticos

Categoría	*Diana*	*Ejemplos*	*Uso*
Alilaminas	Síntesis de ergosterol	Terbinafina	Oral, tópico
Antibiótico aromático	Inhibidor de la mitosis	Griseofulvina	Oral
Azoles	Síntesis de ergosterol	Clotrimazol	Tópico
		Fluconazol	Oral
		Itraconazol	Oral
		Ketoconazol	Oral
		Miconazol	Tópico
		Posaconazol	Experimental
Inhibidor de la síntesis de quitina	Síntesis de quitina	Nicomicina Z	Experimental
Equinocandinas	Síntesis de la pared celular	Caspofungina	Intravenoso
Análogos de ácidos nucleicos	Síntesis de DNA	5-fluorocitosina	Oral
Polienos	Síntesis de ergosterol	Anfotericina B	Oral, intravenoso
		Nistatina	Oral, tópico
Polioxinas	Síntesis de quitina	Polioxina A	Agrícola
		Polioxina B	Agrícola

Las polioxinas no se utilizan en clínica, pero se utilizan mucho como antifúngicos en agricultura.

Otros fármacos antifúngicos inhiben la biosíntesis de folato, interfieren con la topología del DNA durante la replicación o, en el caso de medicamentos como la griseofulvina, alteran la agregación de los microtúbulos durante la mitosis. Además, la 5-fluorocitosina (flucitosina), que es un análogo de ácido nucleico, es un inhibidor eficaz de la síntesis de ácidos nucleicos en los hongos. Algunos antimicóticos muy eficaces también tienen otras aplicaciones. Por ejemplo, la vincristina y la vinblastina son agentes antifúngicos eficaces y también tienen propiedades anticancerígenas.

Como era de esperar, el uso de fármacos antifúngicos ha ocasionado la aparición de poblaciones de hongos resistentes y la aparición de hongos patógenos oportunistas. Por ejemplo, las especies de *Candida*, que normalmente no son patógenas, ahora producen enfermedades en individuos inmunodeprimidos. Las infecciones por *Candida* resistentes a los antifúngicos se producen actualmente en personas que han sido tratadas con estos fármacos y algunas *Candida* son resistentes a múltiples agentes (véase la Figura 27.35).

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué hay muy pocos agentes antifúngicos clínicamente eficaces?
- ¿Qué factores contribuyen a un aumento de la incidencia de infecciones fúngicas?

V • Resistencia a fármacos antimicrobianos

La **resistencia a los fármacos antimicrobianos** es la capacidad adquirida de un microorganismo para resistir los efectos de un agente antimicrobiano al que normalmente es susceptible. Ningún agente antimicrobiano inhibe todos los microorganismos y la capacidad de presentar algún tipo de resistencia antimicrobiana es una propiedad inherente a prácticamente todos los microorganismos.

27.17 Mecanismos de resistencia y propagación

Como ya hemos comentado, los productores de antibióticos son microorganismos y también sabemos que los genes que codifican la resistencia a antibióticos están presentes en prácticamente todos los organismos que producen un antibiótico. La resistencia generalizada a los fármacos antimicrobianos se trasmite habitualmente por transferencia horizontal de genes entre microorganismos. Por tanto, por cualquiera de varias y diferentes razones algunos microorganismos son resistentes a determinados antibióticos.

Mecanismos de resistencia

Algunos ejemplos específicos de resistencia bacteriana a los antibióticos se muestran en la Tabla 27.8. Los sitios de modificación enzimática de antibióticos seleccionados se muestran en la Figura 27.33. La resistencia a los antibióticos de un microorganismo puede ser codificada genéticamente por el cromosoma o por un plásmido llamado *R* (de resistencia) (↻ Sección 4.3) (Tabla 27.8). Debido a que la resistencia a los antibióticos está muy extendidas y a la aparición continua de nuevas resistencias,

Tabla 27.8 Resistencia bacteriana a los antibióticos

Mecanismo de resistencia	*Ejemplo de antibiótico*	*Base genética de la resistencia*	*Mecanismo presente en:*
Permeabilidad reducida	Penicilinas	Cromosómica	*Pseudomonas aeruginosa* Bacterias entéricas
Inactivación del antibiótico. Ejemplos: β-lactamasas; enzimas modificadoras tales como metilasas, acetilasas, fosforilasas	Penicilinas	Plásmido y cromosómica	*Staphylococcus aureus* Bacterias entéricas
	Cloranfenicol	Plásmido y cromosómica	*Neisseria gonorrhoeae* *Staphylococcus aureus*
	Aminoglucósidos	Plásmido	Bacterias entéricas
Alteración de la diana. Ejemplos: RNA polimerasa, rifamicina; ribosoma, eritromicina y estreptomicina; DNA girasa, quinolonas	Eritromicina	Cromosómica	*Staphylococcus aureus*
	Rifamicina		Bacterias entéricas
	Estreptomicina		Bacterias entéricas
	Norfloxacina		Bacterias entéricas *Staphylococcus aureus*
Desarrollo de vías bioquímicas resistentes al agente	Sulfonamidas	Cromosómica	Bacterias entéricas *Staphylococcus aureus*
Bombas de expulsión	Tetraciclinas	Plásmido	Bacterias entéricas
	Cloranfenicol	Cromosómica	*Staphylococcus aureus* *Bacillus subtilis*
	Eritromicina	Cromosómica	*Staphylococcus*

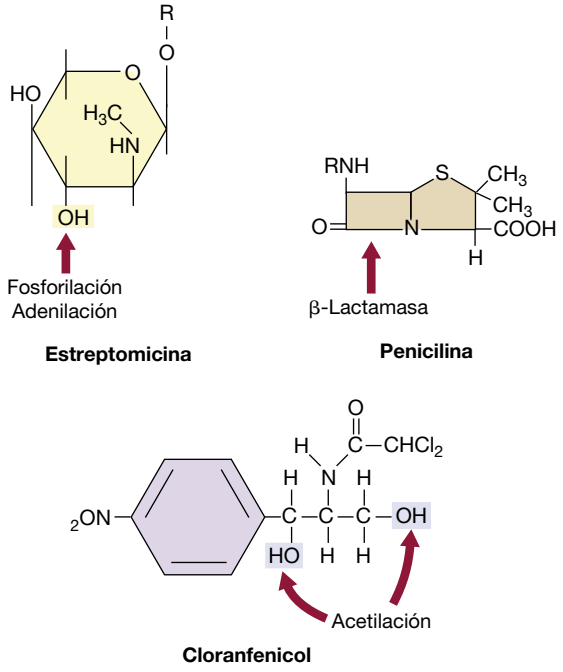


Figura 27.33 Sitios en los que los antibióticos son modificados por enzimas codificadas por genes de plásmidos R. Los antibióticos pueden ser inactivados selectivamente por modificación química o escisión. Para la estructura completa de la estreptomicina, véase la Figura 27.27, y para la penicilina, la Figura 27.25.

se debe analizar la susceptibilidad a los antibióticos de los patógenos aislados de muestras clínicas para garantizar el tratamiento adecuado de una infección (Sección 27.5).

La mayoría de las bacterias resistentes a los fármacos aisladas de pacientes contienen genes de resistencia que se encuentran en plásmidos R de transmisión horizontal, en lugar de encontrarse en el cromosoma. Los genes del plásmido R codifican enzimas que modifican e inactivan el fármaco (Figura 27.33), o que impiden su absorción o lo bombean hacia fuera. Por ejemplo, las especies de *Bacteria* que llevan plásmidos R de resistencia al aminoglucósido estreptomicina pueden producir enzimas que fosforilan, acetilan o adenilan el fármaco. El fármaco modificado carece de actividad antibiótica.

En el caso de las penicilinas, los plásmidos R codifican *β-lactamasa*, una enzima que rompe el anillo *β*-lactámico e inactiva el antibiótico (Figura 27.33). La resistencia al cloranfenicol se debe a un plásmido R que codifica una enzima capaz de acetilar el antibiótico. Los plásmidos R pueden contener múltiples genes de resistencia y conferir resistencia a varios antibióticos a una bacteria que era previamente sensible a cada uno de ello.

Los plásmidos R y los genes de resistencia son anteriores al uso generalizado de los antibióticos. Una cepa de *Escherichia coli* que se liofilizó en 1946 contenía un plásmido con genes que confieren resistencia tanto a tetraciclina como a la estreptomicina, a pesar de que estos antibióticos no se utilizaron clínicamente hasta varios años después. Del mismo modo, plásmidos R con genes de resistencia a las penicilinas semisintéticas existían antes de que las penicilinas semisintéticas fueran sintetizadas. Otro estudio examinó un suelo congelado o *permafrost* de 30.000 años de antigüedad y se encontraron genes bacterianos de *β*-lactamasas así como genes de resistencia a la tetraciclina y a la vancomicina. La conclusión inevitable es que el uso humano y veterinario de antibióticos no produce resistencia, sino más bien selecciona los microorganismos con mecanismos de resistencia preexistentes. Tal vez de mayor importancia ecológica sea que se encuentren plásmidos R con genes de resistencia a antibióticos en muchas bacterias gramnegativas no patógenas del suelo. Sin embargo, el papel ecológico de los antibióticos y plásmidos R en la naturaleza está abierta a la especulación —la concentración de antibióticos en los ambientes naturales es tan baja que no representan una amenaza para las bacterias vecinas— y se ha sugerido que los antibióticos funcionan como moléculas de señalización entre células vecinas. Independientemente de su verdadera función, es claro que los genes de resistencia a los antibióticos surgieron en las bacterias mucho antes de que los antibióticos fueran utilizados en medicina clínica. Estos genes de origen natural han sido intensamente seleccionados en los últimos ochenta años, aproximadamente, por el uso frecuente de antibióticos en medicina , en veterinaria y en ciertas aplicaciones agrícolas.

Propagación de la resistencia a los fármacos antimicrobianos

El uso generalizado de antibióticos en medicina, veterinaria y agricultura ofrece condiciones favorables para la propagación de plásmidos R que confieren una ventaja selectiva inmediata. La existencia de plásmidos R y de otras fuentes de genes de resistencia señala la existencia de límites en el uso a largo plazo de cualquier antibiótico como un agente antimicrobiano eficaz.

El uso inadecuado de los fármacos antimicrobianos es la principal causa del rápido desarrollo de la resistencia en los microorganismos causantes de enfermedades. El descubrimiento y uso clínico de muchos antibióticos conocidos es paralelo a la aparición de bacterias capaces de resistirlos. La **Figura 27.34** muestra ejemplos de la correlación existente entre las cantidades y tipos de antibióticos utilizados y la aparición y número de bacterias resistentes a los mismos.

El uso excesivo de antibióticos acelera la aparición de la resistencia. El uso de antibióticos en agricultura se correlaciona con la aparición de infecciones resistentes a los antibióticos en humanos (Figura 27.34*a*). El uso indiscriminado, no médico, de antibióticos contribuye a la aparición de cepas resistentes. Además de su uso tradicional como tratamiento para las infecciones, los antibióticos se utilizan como complementos de la alimentación animal, como sustancias promotoras del crecimiento y como aditivos profilácticos para prevenir enfermedades. En todo el mundo, aproximadamente el 50 por ciento de todos los antibióticos producidos se utilizan en aplicaciones a animales de granja. En un estudio realizado en China en el que el estiércol de las granjas porcinas que utilizaban antibióticos se examinó para detectar genes de resistencia utilizando PCR múltiples se detectaron 149 genes de resistencia diferentes. Los genes más prevalentes estaban enriquecidos hasta 28.000 veces más que en fincas o suelos que no utilizaban antibióticos. Además, el propio estiércol todavía contenía antibióticos residuales, aumentando aún más el potencial de selección de genes de resistencia fuera del animal hospedador.

Las fluoroquinolonas de amplio espectro como la ciprofloxacina se han utilizado mucho durante más de 20 años como

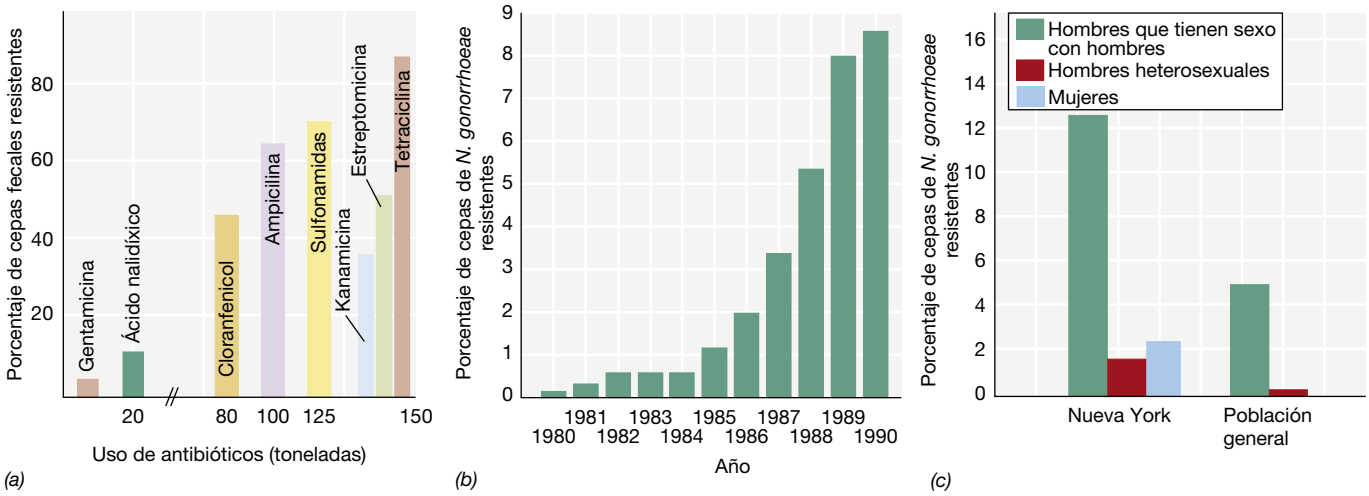


Figura 27.34 Patrones de resistencia a los medicamentos en patógenos. *(a)* Relación entre el uso de antibióticos y el porcentaje de bacterias resistentes a los antibióticos aisladas de pacientes con diarrea. Los agentes que han sido utilizados en cantidades mayores, como se indica por la cantidad comercializada, son aquellos para los que las cepas resistentes son más frecuentes. *(b)* Porcentaje de casos notificados de gonorrea causada por cepas resistentes a los antibióticos. El número real de casos resistentes notificado en 1985 en los EE. UU. fue de 9.000. Este número se elevó hasta 59.000 para 1990. Más del 95 por ciento de casos resistentes se debieron a cepas de *Neisseria gonorrhoeae* productoras de penicilinasa. Desde 1990, la penicilina no se recomienda para el tratamiento de la gonorrea debido a la aparición de resistencias a este fármaco. *(c)* Prevalencia de *N. gonorrhoeae* resistente a fluoroquinolonas en ciertas poblaciones de los EE. UU. en 2003. Ciprofloxacino, una fluoroquinolona, ya no se recomienda como antibiótico de primera elección para el tratamiento de las infecciones por *N. gonorrhoeae.*

promotoras del crecimiento y agentes profilácticos en la agricultura. En correlación con este uso, han surgido cepas de *Campylobacter jejuni* resistentes a las fluoroquinolonas como un patógeno de transmisión alimentaria en las aves de corral (↻ Sección 31.12), probablemente debido al tratamiento rutinario de explotaciones de aves de corral con este antibiótico para prevenir enfermedades respiratorias. Por ello, los productores de aves de corral y los de medicamentos están utilizando directrices voluntarias para controlar y reducir el uso de fluoroquinolonas con el objetivo de prevenir la aparición de resistencias a nuevos antibióticos de este grupo.

Cada vez más a menudo, el agente antimicrobiano prescrito para el tratamiento de una infección en particular debe ser cambiado debido al aumento de resistencia del microorganismo causante de la enfermedad. Un ejemplo clásico es el desarrollo de resistencia a la penicilina y otros fármacos antimicrobianos en *Neisseria gonorrhoeae*, la bacteria que causa la gonorrea, una enfermedad de transmisión sexual (Figura 27.34*b*). La penicilina, utilizada extensamente para el tratamiento de la gonorrea hasta después de 1980, fue sustituida por ciprofloxacina, pero su eficacia en el tratamiento de la enfermedad en determinadas poblaciones solo duró unos diez años. Esto provocó un cambio en las recomendaciones de tratamiento y la utilización de ceftriaxona, un β-lactámico resistente a la penicilinasa (Figura 27.34*c*). Las pautas de tratamiento se actualizan casi cada año para hacer frente a la continua aparición de resistencia a los antibióticos de *N. gonorrhoeae* (↻ Sección 29.12).

Los antibióticos se utilizan en la práctica clínica con más frecuencia de lo necesario. El tratamiento con antibióticos se justifica en aproximadamente el 20 por ciento de las personas que buscan tratamiento, pero los antibióticos se prescriben hasta en un 80 por ciento de las ocasiones. Además, en hasta el 50 por ciento de los casos, las dosis prescritas o la duración de los tratamientos no son correctas, un problema agravado por el incumplimiento del tratamiento por parte del paciente. Muchos dejan de tomar la medicación, especialmente antibióticos, tan pronto como se sienten mejor. Por ejemplo, la aparición de la tuberculosis resistente a la isoniazida guarda relación con el fallo del paciente en tomar la medicación oral todos los días durante todo el tratamiento de 6 a 9 meses (↻ Sección 29.4). La exposición de patógenos virulentos a dosis subletales de antibióticos durante períodos de tiempo inadecuados selecciona las cepas resistentes a los medicamentos. Otros estudios recientes, sin embargo, indican que esta tendencia está cambiando en los EE.UU. Los médicos recetan alrededor de un tercio menos de antibióticos para el tratamiento de infecciones de la infancia que lo que recetaron en el año 2000. Esta reducción se debe en gran parte a una mejor educación de médicos, servicios de salud y pacientes sobre el uso apropiado de la terapia con antibióticos.

Agentes patógenos resistentes a los antibióticos

Desde el comienzo del uso generalizado de medicamentos antimicrobianos en la década de 1950, y en gran parte como consecuencia de los fallos en utilizarlos adecuadamente y en monitorizar la aparición de resistencias, muchos patógenos han desarrollado resistencia a algunos agentes antimicrobianos (**Figura 27.35**). La penicilina y las sulfamidas, los primeros agentes antimicrobianos de mayor utilización, no se utilizan tanto hoy porque muchos patógenos han adquirido resistencia. Incluso los organismos que aún son sensibles uniformemente a la penicilina, como *Streptococcus pyogenes* (la causa de la faringitis estreptocócica, la escarlatina, y la fiebre reumática, ↻ Sección 29.2), ahora requieren mayores dosis de penicilina para que el tratamiento tenga éxito.

Unos pocos patógenos han desarrollado resistencia a todos los agentes antimicrobianos conocidos (Figura 27.35). Entre estos se encuentran varias cepas aisladas de *Staphylococcus*

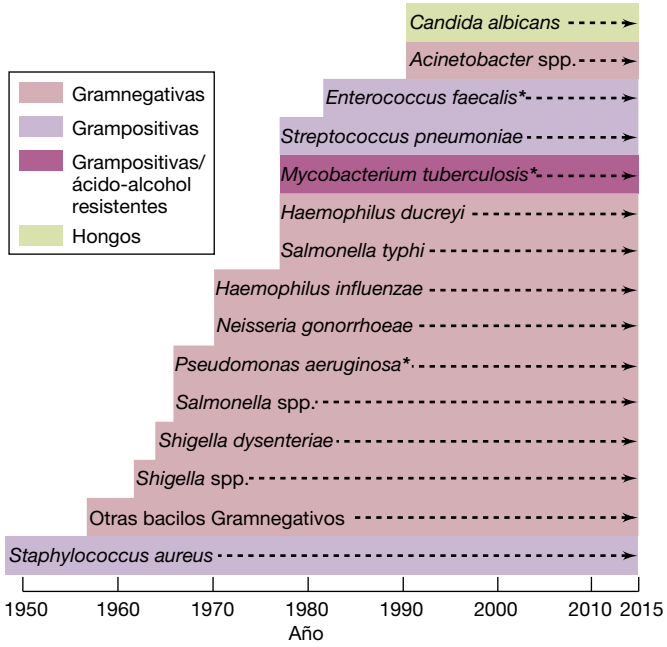


Figura 27.35 Aparición de resistencia a los fármacos antimicrobianos en algunos patógenos humanos. Los asteriscos indican que algunas cepas de estos patógenos ya no pueden tratarse con los fármacos antimicrobianos conocidos.

aureus resistentes a la meticilina (MRSA, de *methicillin-resistant Staphylococcus aureus*; la meticilina es una penicilina semisintética) (↻ Sección 29.9). Aunque las infecciones por MRSA ocurren con mayor frecuencia en los ambientes hospitalarios, también causan un número significativo de infecciones comunitarias. Un número cada vez mayor de cepas MRSA han desarrollado de forma independiente una reducción en la susceptibilidad también a la vancomicina (cepas VISA, del inglés *Staphylococcus aureus vancomycin intermediate*).

Los *Enterococcus faecium* resistentes a la vancomicina (VRE) y algunas cepas aisladas de *Mycobacterium tuberculosis* y *Candida albicans* también han desarrollado resistencia a todos los fármacos antimicrobianos conocidos. La resistencia a los antibióticos puede ser minimizada si los medicamentos solo se utilizan para el tratamiento de enfermedades susceptibles y se dan en dosis suficientemente altas y durante el tiempo suficiente para erradicar la población microbiana del hospedador, antes de que puedan propagarse mutantes resistentes. La combinación de dos agentes antimicrobianos no relacionados también puede reducir las resistencias; es menos probable que una cepa mutante resistente a un antibiótico también sea resistente al segundo antibiótico. Sin embargo, ciertos plásmidos R comunes confieren resistencia a múltiples fármacos y hacen que la terapia con varios antibióticos sea menos útil como estrategia de tratamiento clínico.

Prevención de la resistencia antimicrobiana

Para evitar una mayor aparición de cepas de *Mycobacterium tuberculosis* resistentes a múltiples fármacos (MDR, del inglés *multi-drug-resistant*) y de cepas resistentes a antibióticos de *Staphylococcus aureus, Enterococcus faecium* y *Candida albicans*, los centros para el control y prevención de enfermedades de los EE.UU. proporciona directrices (resumidas en la **Tabla 27.9**) que destacan la importancia de la prevención de la infección, del diagnóstico rápido y concluyente y del tratamiento de infecciones, usando los agentes antimicrobianos con prudencia, y evitando la transmisión de los patógenos.

Si se detiene el uso de un antibiótico concreto, la resistencia a ese antibiótico se puede revertir, al menos temporalmente, en el curso de varios años. Por otra parte, organismos resistentes a los antibióticos pueden persistir, por ejemplo en el intestino, durante algún tiempo. Esto implica que la eficacia de algunos antibióticos puede restablecerse suspendiendo el uso del antibiótico, pero solo siguiendo un plan prudente y cuidadosamente controlado de reintroducción y de uso futuro

Tabla 27.9 Directrices para la prevención de la resistencia a los fármacos antimicrobianos

Directiva	*Acción/ejemplos*	*Justificación*
Vacunar para prevenir enfermedades comunes	Inmunizar con las vacunas necesarias y recomendadas.	La inmunización previene enfermedades que pueden requerir tratamiento antimicrobiano.
Evitar procedimientos invasivos innecesarios	Evitar catéteres, biopsias, etc. si no es absolutamente necesario.	Los procedimientos parenterales aumentan el riesgo de exposición a patógenos.
Identificar y atacar el patógeno	Utilizar el antibiótico que se dirija selectivamente al patógeno que causa el daño. Por ejemplo, tratar unas anginas causadas por estreptococos con penicilina en lugar de eritromicina.	La exposición a antibióticos de espectro más amplio es innecesaria y puede dañar la microbiota local y esto conducir a la infección por patógenos oportunistas.
Tratar con el fármaco antimicrobiano eficaz más antiguo	Por ejemplo, el tratamiento de unas anginas causadas por estreptococos con penicilina en lugar de vancomicina.	El tratamiento con los últimos antimicrobianos facilita la selección potencial de resistencias.
Monitorizar el tratamiento	Suspender el tratamiento transcurrido el tiempo indicado.	El tratamiento innecesario potencia la selección de resistencias a los antibióticos.
Romper la cadena de contagio	Aislar a los pacientes cuando sea práctico y llevar a cabo una buena limpieza e higiene personal.	Reducir el contacto y la práctica de una buena higiene limita la potencial contaminación cruzada del personal sanitario, proveedores y clientes.
Acceso a expertos	Consultar con los equipos de atención médica para el control de la infección.	Los expertos locales pueden informar mejor sobre la selección de la terapia con antibióticos.

para prevenir la recurrencia de la resistencia. Por último, como veremos a continuación, se están desarrollando nuevos agentes antimicrobianos.

MINIRREVISIÓN

- Indique los seis mecanismos básicos de la resistencia a los antibióticos entre las bacterias.
- ¿Qué prácticas fomentan el desarrollo de patógenos resistentes a los antibióticos?

27.18. Nuevos fármacos antimicrobianos

A la larga se desarrollarán resistencias a cualquier fármaco antimicrobiano. Aunque un uso apropiado y prudente puede prolongar o incluso restablecer la aplicación clínica eficaz de los fármacos disponibles, la solución a largo plazo del problema de la resistencia a los antimicrobianos requiere el descubrimiento o el diseño y desarrollo continuo de nuevos fármacos.

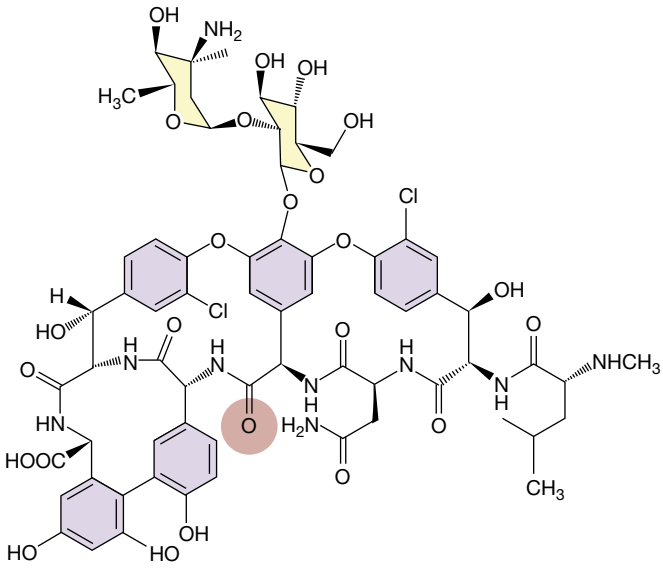
Los candidatos a posibles fármacos antimicrobianos deben ser evaluados en cuanto a eficacia y toxicidad en animales y, finalmente, estudiados en ensayos clínicos en humanos. Todo este proceso tarda normalmente entre 10 y 25 años hasta que un medicamento es aprobado para su uso clínico. Cada año, la industria farmacéutica gasta hasta 4.000 millones de dólares en el desarrollo de nuevos fármacos antimicrobianos y cada nuevo fármaco aprobado para uso humano cuesta a la industria más de 500 millones de dólares de inversión inicial.

Diseño de nuevos fármacos antimicrobianos

Los análogos nuevos de compuestos antimicrobianos existentes suelen ser eficaces debido a que los nuevos compuestos tienen un mecanismo de acción ya probado. El análogo, en realidad, puede ser más eficaz que el compuesto original y, dado que la resistencia al antimicrobiano se basa en el reconocimiento estructural, los análogos pueden no ser reconocidos por los factores de resistencia. Por ejemplo, la Figura 27.29 muestra la estructura de la tetraciclina. Usando tetraciclina natural como molécula inicial, las sustituciones químicas sistemáticas en los cuatro sitios del grupo R pueden generar una serie casi interminable de análogos de la tetraciclina. Utilizando esta estrategia básica, se han sintetizado análogos semisintéticos no solo de la tetraciclina, sino también de antibióticos β-lactámicos (Sección 27.13) y de la vancomicina (**Figura 27.36**).

El hallazgo de nuevos compuestos antimicrobianos es mucho más difícil que la obtención de análogos de fármacos existentes porque los nuevos compuestos antimicrobianos deben actuar en sitios especiales en las rutas metabólicas o han de ser estructuralmente diferentes a los compuestos existentes para evitar los mecanismos de resistencia conocidos. La tecnología informática y los métodos de biología estructural hacen posible modelar y diseñar nuevos compuestos y maximizar la unión y la eficacia en un ambiente virtual a un costo relativamente bajo.

Uno de los éxitos más espectaculares en el diseño de drogas dirigido por ordenador es el *saquinavir*, un inhibidor de proteasa que se utiliza para disminuir la velocidad de multiplicación del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) en



Vancomicina

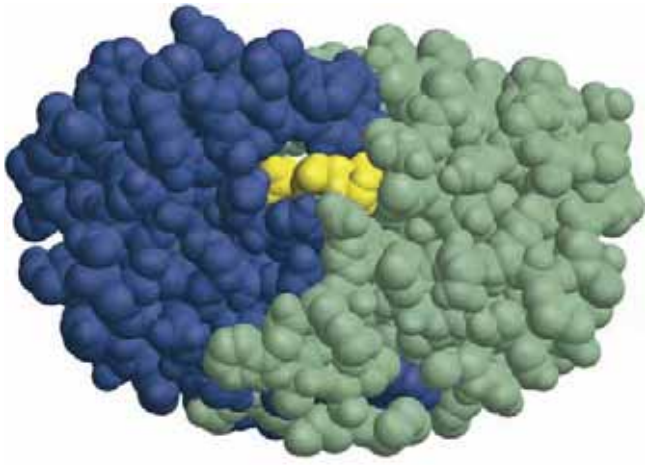
Figura 27.36 Vancomicina. En los últimos años se ha desarrollado una resistencia intermedia a la estructura parental de la vancomicina. Sin embargo, la modificación en la posición señalada en rojo por sustitución de un grupo metileno ($=CH_2$) por el oxígeno del carbonilo restaura gran parte de la actividad perdida. Como la penicilina, la vancomicina funciona impidiendo la transpeptidación del peptidoglicano y es más eficaz frente a patógenos grampositivos.

individuos infectados (**Figura 27.37**). El saquinavir, que se une al sitio activo de la proteasa del VIH, se diseñó basándose en la estructura tridimensional conocida del complejo proteasa–sustrato. La proteasa del VIH normalmente escinde una proteína precursora codificada por el virus para producir piezas de la nucleocápside del virus maduro y activar la enzima transcriptasa inversa necesaria para la replicación (↬ Secciones 8.10 y 9.11). El saquinavir es un péptido de alta afinidad análogo de la proteína precursora del VIH y desplaza el auténtico sustrato de la proteína, inhibiendo así la maduración del virus. Otros compuestos inhibidores de la proteasa diseñados por ordenador se están usando como medicamentos antivíricos para el tratamiento del VIH/sida.

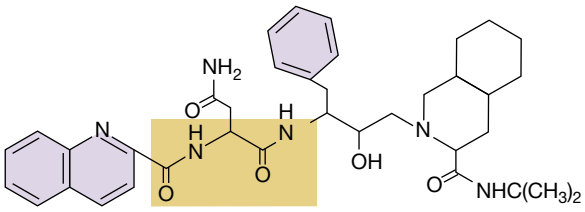
Nuevas dianas para los antibióticos

Los antimicrobianos experimentales tradicionales eran biomoléculas aisladas a partir de fuentes naturales, tales como *Streptomyces* o *Penicillium*, que eran analizadas sistemáticamente en busca de la actividad antimicrobiana. Estas fuentes y sus derivados semisintéticos aislados mediante los métodos de la química combinatoria y de diseño por ordenador han sido en gran parte agotados.

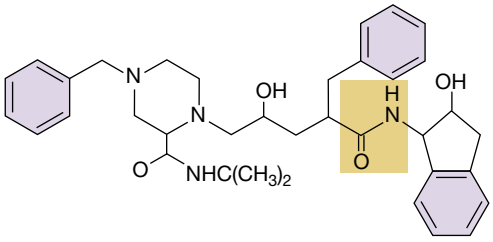
Una clave para superar este problema es seleccionar antibióticos que interaccionen con dianas que están relativamente sin explotar. Una segunda estrategia es aumentar la sensibilidad del ensayo para seleccionar antibióticos que se producen en cantidades más pequeñas que las reconocidas por los métodos tradicionales de análisis de susceptibilidad. La platensimicina (Figura 27.31) fue descubierta usando estos principios. Es el primer fármaco antimicrobiano enfocado para alterar la biosíntesis de lípidos bacterianos y es especialmente activo contra patógenos



(a) **Proteasa del VIH**



Saquinavir



Indinavir

(b)

Figura 27.37 Fármacos anti-VIH generados por ordenador. *(a)* El homodímero proteasa del VIH. Las cadenas individuales de polipéptidos se muestran en verde y azul. Un péptido (amarillo) está ligado al sitio activo. La proteasa del VIH escinde una proteína precursora de VIH, un paso necesario para la maduración del virus. El bloqueo del sitio de la proteasa por el péptido unido inhibe el procesamiento de la proteína precursora y la maduración del VIH. Esta estructura se ha diseñado a partir de información en el *Protein Data Bank*. *(b)* Estos fármacos anti-VIH son análogos de péptidos que fueron diseñados por ordenador para bloquear el sitio activo de la proteasa del VIH. Las áreas destacadas en naranja muestran las regiones análogas en las proteínas.

grampositivos, incluidos los estafilococos y enterococos resistentes a otros fármacos. Para seleccionar un agente para una diana definida, en este caso una enzima de la vía de síntesis de lípidos de las bacterias grampositivas, se redujo la cantidad del lípido diana mediante la introducción de un defecto en el gen *fabF* responsable de la síntesis de lípidos de *Staphylococcus aureus*. Esto se logró mediante el uso de una cepa que expresa RNA anti-sentido *fabF* (↻ Sección 7.14). El RNA anti-sentido específico del gen disminuyó la expresión de *fabF*, redujo la síntesis de ácidos grasos y aumento la sensibilidad de la cepa defectuosa de *S. aureus* a los antibióticos que inhiben la síntesis de ácidos grasos. Después de analizar los productos naturales de 83.000 cepas de posibles productores de antibióticos, se identificó y aisló la platensimicina de un microorganismo del suelo, *Streptomyces platensis*. Este método identifica antibióticos con una diana específica presentes a bajas concentraciones. Es una estrategia aplicable a prácticamente cualquier diana para la que se conozca la secuencia del gen (y, por tanto, la secuencia de RNA anti-sentido correspondiente).

Combinaciones de fármacos

Es posible mantener la eficacia de algunos antibióticos si se administran con compuestos que inhiben la resistencia a los antibióticos. Varios antibióticos β-lactámicos se pueden combinar con inhibidores de β-lactamasas para conservar la actividad antibiótica en microorganismos resistentes a β-lactamasas. Por ejemplo, la ampicilina, un antibiótico β-lactámico de amplio espectro (Figura 27.25), se puede mezclar con sulbactam (Unasyn) o con ácido clavulánico (Augmentine), dos inhibidores de β-lactamasas. Ambos se unen a la β-lactamasa de forma irreversible, impidiendo la degradación de la ampicilina. Esta combinación mantiene la eficacia de la ampicilina sensible a β-lactamasa para el tratamiento de los productores de estas enzimas, como los estafilococos. Del mismo modo, ya hemos mencionado que el uso de sulfametoxazol-trimetoprim (Bactrin), una mezcla de dos inhibidores de la síntesis de ácido fólico, impide la pérdida de la eficacia causada por una mutación (Sección 27.11).

El enfoque de la terapia con una combinación de fármacos ha revolucionado el tratamiento de las infecciones por el VIH. Actualmente, se recomienda una combinación de análogos de nucleósidos con un inhibidor de proteasa. Este protocolo de tratamiento se denomina HAART (del inglés *highly active anti-retroviral therapy*). Como en los casos de combinación de antimicrobianos, HAART está diseñado para atacar dos funciones víricas independientes: los análogos de nucleósidos interfieren en la replicación del virus y los inhibidores de la proteasa en la maduración del virus. Debido a que la probabilidad de que un solo virus desarrolle resistencia a múltiples fármacos es menor que la probabilidad de desarrollo de resistencia a un solo fármaco, las cepas resistentes a HAART son relativamente poco frecuentes (↻ Sección 29.14).

MINIRREVISIÓN

- Explique las ventajas e inconvenientes de desarrollar nuevos medicamentos basados en análogos de fármacos existentes.
- Identifique otros métodos de desarrollo de nuevos fármacos.

IDEAS PRINCIPALES

27.1 • La seguridad en el laboratorio clínico requiere una buena formación y planificación para prevenir la contaminación y posible infección del personal. Según el riesgo de infección por un agente dado, y para manipular materiales contaminados y las muestras de los pacientes, Se deben establecer normas de funcionamiento, medidas de precaución y procedimientos (niveles de bioseguridad o BSL).

27.2 • Los pacientes hospitalizados son excepcionalmente susceptibles a las enfermedades infecciosas debido a sus problemas de salud y al peligro de exposición a diversos patógenos presentes en las instalaciones. Muchas infecciones asociadas a cuidados sanitarios son resistentes a los antimicrobianos.

27.3 • Es necesario llevar a cabo técnicas apropiadas de muestreo, observación y cultivo para aislar e identificar posibles patógenos. La selección de las técnicas requiere conocimientos de la ecología, la fisiología y el metabolismo de los presuntos patógenos.

27.4 • La mayoría de los patógenos tiene perfiles metabólicos únicos cuando se cultivan en medios selectivos y diferenciales apropiados. Estos perfiles proporcionan la información necesaria para la identificación precisa de los patógenos.

27.5 • Los patógenos aislados de muestras clínicas suelen analizarse para probar su susceptibilidad a los antibióticos y garantizar una terapia adecuada. Se determina la concentración inhibitoria mínima de un compuesto concreto que es necesaria para inhibir completamente el crecimiento del patógeno.

27.6 • La respuesta inmunitaria es normalmente el resultado natural de la infección. La respuesta inmunitaria específica medida como un aumento del título de anticuerpos y por la presencia de células T positivas detectadas por pruebas cutáneas confirma que se ha producido una infección y permite controlar la convalecencia.

27.7 • Las pruebas de aglutinación directa se utilizan para la determinación de los grupos sanguíneos. Existen también pruebas de aglutinación pasiva para la identificación de una serie de patógenos y de productos relacionados con ellos. Las pruebas de aglutinación son rápidas, relativamente sensibles, muy específicas, fáciles de realizar y de bajo costo.

27.8 • Los anticuerpos fluorescentes se utilizan para una identificación rápida y precisa de patógenos y otras sustancias antigénicas en muestras de tejido, sangre y otras mezclas complejas. Los métodos basados en el uso de anticuerpos fluorescentes pueden aplicarse a la identificación de diferentes tipos de células procariotas y eucariotas.

27.9 • Los inmunoensayos enzimáticos, inmunocromatografías y la inmunotransferencia son ensayos inmunológicos sensibles y específicos. Estas pruebas pueden ser diseñadas para detectar ya sea anticuerpos o antígenos en el diagnóstico de infecciones por un gran número de patógenos.

27.10 • Los métodos de amplificación de ácidos nucleicos (PCR) se aplican como herramientas de diagnóstico muy específicas para identificar un gran número de patógenos. Las técnicas de PCR cuantitativa (qPCR) y PCR cualitativa permiten la cuantificación e identificación de los patógenos.

27.11 • Los agentes antimicrobianos sintéticos son tóxicos de manera selectiva para bacterias, virus y hongos. Los análogos de factores de crecimiento sintéticos son inhibidores metabólicos. Las quinolonas inhiben la acción de la DNA girasa bacteriana.

27.12 • Los antibióticos son compuestos antimicrobianos de composición química diversa producidos por microorganismos. Aunque se conocen muchos antibióticos, solo unos pocos son eficaces en su uso clínico. Cada antibiótico funciona mediante la inhibición de un proceso celular específico en el microorganismo diana.

27.13 • Los antibióticos β-lactámicos, como las penicilinas y las cefalosporinas, son la clase más importante de antibióticos utilizados en clínica. Estos antibióticos y sus derivados semisintéticos actúan sobre la síntesis de la pared celular de las bacterias. Tienen baja toxicidad para el hospedador y en conjunto tienen un amplio espectro de actividad.

27.14 • Los antibióticos aminoglucósidos, macrólidos y tetraciclinas interfieren selectivamente con la síntesis de proteínas en *Bacteria*. La daptomicina y la platensimicina son antibióticos estructuralmente nuevos que actúan sobre funciones de la membrana citoplasmática y la biosíntesis de lípidos, respectivamente. Estos antibióticos son moléculas estructuralmente complejas producidas por bacterias y activos contra otras bacterias.

27.15 • Los agentes antivíricos actúan selectivamente sobre enzimas y procesos específicos de los virus. Los agentes útiles incluyen análogos y compuestos que inhiben las polimerasas de ácidos nucleicos y la replicación del genoma vírico. Los inhibidores de proteasa interfieren con pasos de maduración víricos. Las células hospedadoras también producen proteínas antivíricas, como los interferones, que detienen la replicación de los virus.

27.16 • Los antifúngicos que presentan toxicidad selectiva son difíciles de encontrar porque los hongos son miembros de *Eukarya*. Sin embargo, algunos antifúngicos eficaces

están disponibles. El tratamiento de infecciones fúngicas es un problema emergente de salud.

27.17 • El uso de medicamentos antimicrobianos conduce inevitablemente a la aparición de resistencias en los microorganismos diana. El desarrollo de la resistencia puede acelerarse por el uso indiscriminado de estos fármacos. Muchos patógenos han desarrollado resistencia a antimicrobianos comunes.

27.18 • Se están descubriendo y desarrollando constantemente nuevos compuestos antimicrobianos para hacer frente a patógenos resistentes y para mejorar nuestra capacidad de tratar enfermedades infecciosas.

MasteringMicrobiology®

Revise lo que sabe y descubra lo que ha aprendido con MasteringMicrobiology. Acceda a material de estudio, revisiones de los capítulos, animaciones y tutoriales de microbiología práctica en el Área de Estudio y asegúrese de que ha asimilado todo el contenido de este capítulo.

PREGUNTAS DE REPASO

Aglutinación: reacción entre anticuerpo y antígenos unidos a partículas que ocasiona la aglutinación visible de las partículas.
Aminoglucósido: antibiótico que contiene aminoazúcares unidos por enlaces glicosídicos, como la estreptomicina.
Análogo de factor de crecimiento: agente químico que está relacionado con un factor de crecimiento y bloquea la absorción o utilización de este.
Análogo de nucleósido inhibidor de la transcriptasa inversa (NRTI, del inglés *Nucleoside reverse transcriptase inhibitor*): análogo de nucleósido que se utiliza para inhibir la transcriptasa inversa vírica.
Antibiograma: informe que indica la susceptibilidad de microorganismos aislados clínicamente a los antibióticos en uso actual.
Antibiótico de amplio espectro: antibiótico que actúa sobre bacterias grampositivas y gramnegativas.
Antibiótico *β*-lactamico: penicilina o un antibiótico relacionado que contiene el anillo *β*-lactámico heterocíclico de cuatro miembros.
Antibiótico: sustancia química producida por un microorganismo que mata otro microorganismo o inhibe su crecimiento.
Anticuerpo fluorescente: molécula de anticuerpo unido covalentemente con un colorante fluorescente que hace que el anticuerpo sea visible bajo luz fluorescente.
Bacteriemia: presencia de bacterias en la sangre.
Concentración inhibitoria mínima (CIM): la cantidad más pequeña de un agente necesaria para inhibir completamente el crecimiento de un organismo in vitro.
Cultivo de enriquecimiento: uso de medios de cultivo y condiciones de incubación, selectivos para aislar microorganismos específicos de muestras naturales.
Inmunoensayo enzimático (EIA, del inglés *enzyme immunoassay*): prueba que utiliza anticuerpos ligados a enzimas para detectar antígenos o anticuerpos en fluidos corporales.
Especificidad: la capacidad de un anticuerpo o de un linfocito para reconocer un solo antígeno, o de una prueba de diagnóstico para identificar un patógeno específico.
Infección relacionada con la asistencia sanitaria: infección local o sistémica adquirida por un paciente durante su estancia en un centro de asistencia sanitaria. También llamada *infección nosocomial*.
Inhibidor de fusión: péptido que bloquea la fusión del virus con la membrana citoplasmática de la célula diana.
Inhibidor de proteasa: un inhibidor de una proteasa vírica.
Inhibidor no nucleósido de la transcriptasa inversa o retrotranscriptasa (NNRTI, del inglés *Nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor*): análogo no nucleósido utilizado para inhibir la transcriptasa inversa vírica.
Inmunotransferencia (o Western blot): uso de anticuerpos marcados para detectar proteínas específicas que han sido previamente separadas por electroforesis y transferidas a una membrana.
Interferón: proteína del grupo de las citocinas producida por células infectadas por virus que induce la transducción de señales en las células cercanas causando la transcripción de genes antivíricos y la expresión de las correspondientes proteínas antivíricas.
Medios selectivos: medios que favorecen el crecimiento de ciertos organismos, mientras retrasan el crecimiento de otros.
Medios de cultivo de uso general: medios de cultivo que permiten el crecimiento de la mayoría de organismos aerobios y aerobios facultativos.
Medios diferenciales: medios que permiten la identificación de microorganismos por las propiedades fenotípicas que se manifiestan en ellos.
Medios enriquecidos: medios que permiten el crecimiento de microorganismos metabólicamente exigentes porque están suplementados con factores de crecimiento específicos.
Penicilinas: clase de antibióticos que inhiben la síntesis de la pared celular bacteriana y que se caracterizan por tener un anillo *β*-lactámico.
Quinolonas: compuestos antibacterianos sintéticos que interaccionan con la DNA girasa e impiden el superenrollamiento del DNA bacteriano.
Resistencia a los fármacos antimicrobianos: capacidad adquirida por un microorganismo para resistir los efectos de un agente antimicrobiano al que era normalmente susceptible.
Sensibilidad: la mínima cantidad de un antígeno que puede ser detectada por una prueba de diagnóstico.
Septicemia (sepsis): infección de la sangre.
Serología: el estudio de reacciones antígeno–anticuerpo in vitro.
Tetraciclina: un antibiótico caracterizado por la estructura de cuatro anillos naftaceno.
Título: cantidad de anticuerpo presente en una solución.
Toxicidad selectiva: capacidad de un compuesto para inhibir o destruir los microorganismos patógenos sin afectar negativamente al hospedador.

PREGUNTAS DE REPASO

1. ¿Cómo se contraen la mayoría de las infecciones de laboratorio? ¿Qué medidas se pueden tomar para prevenir las infecciones de laboratorio? (Sección 27.1)
2. Los ambientes sanitarios son propicios para la propagación de enfermedades infecciosas. Revise las razones de la mayor propagación de infecciones en los centros sanitarios. ¿Cuáles son las fuentes de la mayoría de las infecciones nosocomiales? (Sección 27.2)
3. Describa el procedimiento estándar para obtener y cultivar una muestra de garganta y una muestra de sangre. ¿Qué precauciones especiales deben tomarse durante la obtención de la muestra de sangre? (Sección 27.3)
4. ¿Por qué es importante procesar las muestras clínicas con la mayor rapidez posible? ¿Qué procedimientos y precauciones especiales son necesarios para el aislamiento y cultivo de anaerobios? (Sección 27.3)
5. Indique las diferencias entre los medios selectivos y los diferenciales. El medio agar eosina-azul de metileno ¿es un medio selectivo o un medio diferencial? ¿Cómo y por qué se utiliza en un laboratorio clínico? (Sección 27.4)
6. Describa la prueba de difusión en disco para determinar la susceptibilidad a los antibióticos. ¿Por qué se debe probar la susceptibilidad a los antibióticos de los posibles patógenos aislados de pacientes? (Sección 27.5)
7. ¿Por qué sube el título de anticuerpos después de una infección? ¿Es un título alto de anticuerpos indicativo de una infección en curso? Explique sus respuestas. ¿Por qué es necesario obtener una muestra de sangre de la fase aguda y otra de la fase convaleciente para el seguimiento de las infecciones? (Sección 27.6)
8. Las pruebas de aglutinación son muy utilizadas para fines de diagnóstico clínico. ¿Por qué? (Sección 27.7)
9. ¿Cómo se utilizan los anticuerpos fluorescentes para el diagnóstico de enfermedades víricas? ¿Qué ventajas tienen los anticuerpos fluorescentes sobre otras pruebas para el diagnóstico de infecciones víricas? (Sección 27.8)
10. Los inmunoensayos enzimáticos (EIA) son extremadamente sensibles, en comparación con la aglutinación. ¿Por qué? (Sección 27.9)
11. ¿Por qué se utiliza el test de inmunotransferencia (Western blot) para confirmar las pruebas de cribado que son positivas para el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)? (Sección 27.9)
12. Indique las diferencias entre PCR cuantitativa y cualitativa. (Sección 27.10)
13. Los análogos del factor de crecimiento se distinguen de los antibióticos por un único criterio importante. Explíquelo. (Sección 27.11)
14. Indique las fuentes más frecuentes de los fármacos antimicrobianos naturales. (Sección 27.12)
15. Describa brevemente el modo de acción de un antibiótico β-lactámico. ¿Por qué son estos antibióticos generalmente más eficaces contra bacterias grampositivas que contra bacterias gramnegativas? (Sección 27.13)
16. Distinga entre los modos de acción de tres antibióticos que inhiban la síntesis de proteínas. (Sección 27.14)
17. ¿Por qué los medicamentos antivíricos son generalmente tóxicos para el paciente? (Sección 27.15)
18. Indique las dianas que permiten la toxicidad selectiva de agentes antimicóticos. (Sección 27.16)
19. Indique seis mecanismos responsables de la resistencia a los antibióticos. (Sección 27.17)
20. Explique por qué la selección de mutantes metabólicos puede extender los métodos tradicionales de selección de productos naturales y ayudar al descubrimiento de nuevos antibióticos. (Sección 27.18)

EJERCICIOS PRÁCTICOS

1. Un hemocultivo es positivo para *Staphylococcus epidermidis*. Explique la razón más probable de este resultado. ¿Es probable que el paciente tenga una bacteriemia por *S. epidermidis*? Prepare una lista de posibilidades y preguntas para debatirlo con el médico que atiende al paciente. ¿Qué información adicional se necesitará para confirmar o descartar una infección del torrente circulatorio por *S. epidermidis*?
2. Describa brevemente los procedimientos que utilizaría para aislar e identificar un nuevo patógeno. Tenga en cuenta los postulados de Koch (Sección 1.8) cuando prepare su respuesta. Asegúrese de incluir pruebas dependientes del crecimiento del patógeno, inmunoensayos y ensayos moleculares. ¿A quién informaría de sus hallazgos? ¿Cuál de sus pruebas podría ser adaptada para ser utilizada como una prueba de rutina de alto rendimiento para el diagnóstico clínico rápido?
3. Los virus y hongos presentan problemas especiales para la terapia con antimicrobianos. Explicar los problemas inherentes a este tratamiento en ambos grupos y explique si está o no de acuerdo con la afirmación anterior. Dé ejemplos específicos y sugiera al menos un grupo de agentes que podrían actuar sobre ambos tipos de agentes infecciosos.
4. Explique la base genética de la resistencia adquirida a antibióticos β-lactámicos en *Staphylococcus aureus*. Diseñe experimentos de laboratorio para revertir la resistencia a los antibióticos β-lactámicos. ¿Podrían ponerse en práctica sus experimentos para promover la selección negativa de organismos resistentes a los antibióticos?

CAPÍTULO

28 · Epidemiología

microbiología **actual**

El síndrome respiratorio por coronavirus de Oriente Medio (MERS-CoV): una enfermedad emergente

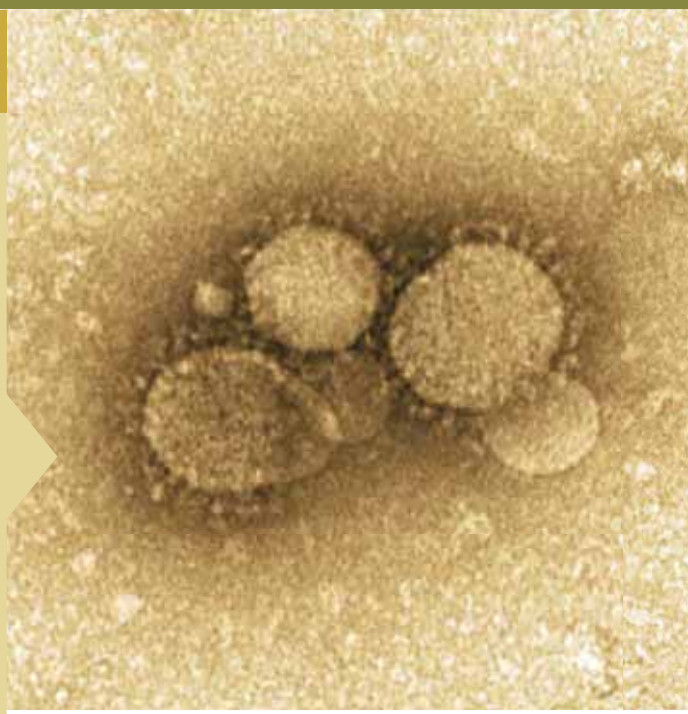
Las enfermedades emergentes nuevas frecuentemente aparecen de repente. Por ejemplo, en 2012 se identificó por primera vez que el coronavirus del síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS-CoV, del inglés *Middle East respiratory syndrome-coronavirus*) era la causa de casos graves de neumonía. El primer brote se produjo en Arabia Saudí y a partir de ahí se extendió por otros países árabes y a Europa debido al trasiego de personas. Desde septiembre de 2012 hasta junio de 2013 se confirmaron 58 casos, con 33 muertes[1].

Un equipo de investigación se desplazó a Arabia Saudí para observar un brote en marcha del MERS-CoV y describió que este se extendía con facilidad entre los pacientes de tres centros sanitarios diferentes. Dos profesionales de la salud también resultaron infectados, con 15 muertes de 23 casos. El tiempo de incubación de la infección es de unos 5 días, con una rápida diseminación al siguiente hospedador. Los datos de secuenciación genómica confirmaron que el responsable del brote era un único grupo de virus muy relacionados (fotografía).

Los casos confirmados, y otros dos posibles, estaban relacionados con el contacto con individuos infectados en los centros sanitarios. El MERS-CoV es muy virulento y se disemina con facilidad en entornos asistenciales, probablemente por medio de aerosoles o contacto indirecto. Así pues, los centros sanitarios que cuidan a los pacientes con MERS-CoV tienen que estar muy alerta para proteger tanto a su personal como a los pacientes de la propagación de esta enfermedad.

Otro coronavirus, el del síndrome respiratorio agudo grave (SARS-CoV, del inglés *severe acute respiratory syndrome-coronavirus*), que trataremos más adelante en este capítulo, provoca una enfermedad similar al MERS-CoV con una tasa de mortalidad igualmente elevada. Al igual que el SARS-CoV, el MERS-CoV probablemente se originó en los murciélagos. Se desconocen todos sus reservorios, pero entre ellos se incluyen los camellos. ¿Se transmite a partir de los murciélagos y los camellos mediante aerosoles y contacto directo? Puesto que el MERS-CoV se transmite de una persona a otra con tanta facilidad y con una mortalidad tan alta, los epidemiólogos necesitan responder a estas cuestiones si quieren romper la cadena de infección y evitar una posible pandemia del MERS-CoV.

[1]Assiri, A., *et al.* 2013. Hospital outbreak of Middle East respiratory syndrome coronavirus. *New England Journal of Medicine*, 369: 407-416.



I Principios de epidemiología 900
II Epidemiología y salud pública 909
III Enfermedades infecciosas emergentes 913
IV Pandemias actuales 920

La **epidemiología** es el estudio de la incidencia, la distribución y los factores determinantes de salud y enfermedad en una población; se ocupa de la **salud pública**, la salud de la población en su conjunto. Aquí tratamos la epidemiología de las enfermedades infecciosas y los métodos de salud pública que se usan para controlarlas.

En el Capítulo 1 comparamos las causas comunes actuales de muerte en los Estados Unidos con las de principios del siglo xx (↻ Figura 1.8). En los Estados Unidos y otros países desarrollados, las enfermedades infecciosas ya no matan como antes, pero de forma global, todavía provocan casi la cuarta parte de las muertes anuales. Hasta los países desarrollados se ven afectados por los patógenos resistentes a los antibióticos y las gripes pandémicas que ocasionan nuevas enfermedades, y nuevas infecciones continúan emergiendo por todo el mundo (**Figura 28.1**). El objetivo del epidemiólogo es la identificación y solución de los problemas relacionados con las enfermedades infecciosas.

I • Principios de epidemiología

En este apartado tratamos los principios de la epidemiología de las enfermedades infecciosas y definimos los términos clave del lenguaje del epidemiólogo.

28.1 Fundamentos de epidemiología

El epidemiólogo sigue el rastro de la diseminación de una enfermedad para identificar su origen y su modo de transmisión. Los datos epidemiológicos se obtienen recogiendo la información sobre la enfermedad en una *población*. Los datos se consiguen de redes de vigilancia sanitaria, historiales clínicos y entrevistas con los pacientes (anamnesis) con el objetivo de definir los factores comunes de una enfermedad. Es distinto al tratamiento y el diagnóstico de cada paciente en la consulta o en el laboratorio. El epidemiólogo conecta la dinámica de la población de patógenos y hospedadores a los problemas clínicos para formular las medidas de salud pública eficaces para el control de la enfermedad.

Vocabulario de epidemiología

Un microorganismo patógeno bien adaptado vive en equilibrio con su hospedador, toma lo que necesita para su existencia y solo ocasiona un daño mínimo. Tales patógenos pueden provocar **infecciones crónicas** (infecciones de larga duración) en el hospedador. Cuando existe equilibrio entre el hospedador y el patógeno, ambos sobreviven. Por otra parte, un hospedador cuya resistencia está comprometida debido a factores tales como una dieta insuficiente, la edad y otros factores estresantes, puede resultar dañado (↻ Sección 23.12). Además, de vez en cuando emergen nuevos patógenos contra los que no han desarrollado resistencia ni el hospedador individual, ni las poblaciones específicas ni incluso una especie entera. A menudo, estos patógenos emergentes ocasionan **infecciones agudas**, que se caracterizan por comenzar de manera rápida y drástica.

Algunos términos tienen un significado especial en la epidemiología. Una enfermedad es una **epidemia** cuando infecta

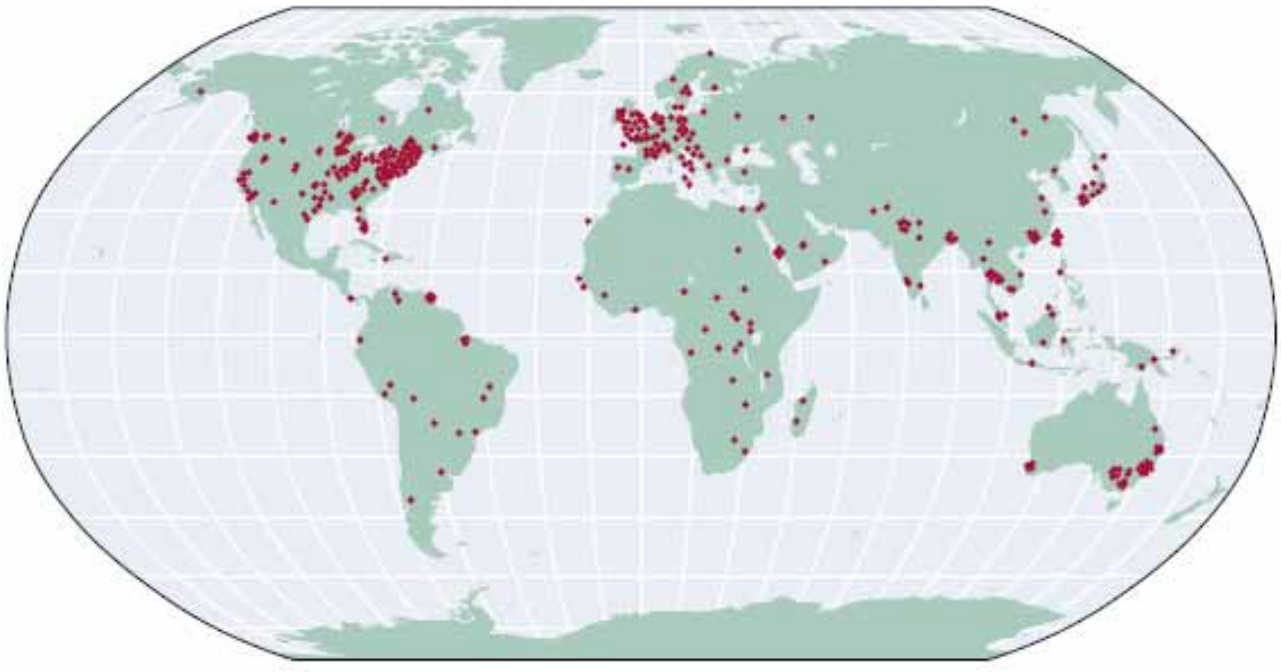


Figura 28.1 Enfermedades infecciosas emergentes en el mundo, 1940-2004. El número de enfermedades infecciosas emergentes y reemergentes es significativo a pesar de los extensivos programas de saneamiento, vacunación y tratamientos farmacológicos antimicrobianos que han reducido en el último siglo la mortalidad de las enfermedades infecciosas en los países desarrollados. Los puntos rojos indican una enfermedad infecciosa emergente. Adaptado de Jones *et al., Nature 451*: 990-993, 2008.

simultáneamente a un número inusualmente elevado de individuos de una población; una **pandemia** es una epidemia generalizada, normalmente por todo el planeta. En cambio, una **enfermedad endémica** es la que está siempre presente en una población, normalmente con poca incidencia (Figura 28.2). Una enfermedad endémica implica que el microorganismo patógeno puede no ser muy virulento o que la mayoría de los individuos de la población pueden ser inmunes, lo que da lugar a una incidencia baja, pero persistente. Los individuos infectados con un organismo que ocasiona una enfermedad endémica son **reservorios** de la infección, una fuente de agentes infecciosos capaces de infectar a los individuos vulnerables.

La **incidencia** de una enfermedad concreta es el *número de casos nuevos* en una población en un determinado período de tiempo. Por ejemplo, en 2010 hubo 47.500 casos nuevos de infección por VIH en los Estados Unidos, esto es, una incidencia de 15,5 casos nuevos por cada 100.000 personas al año. La **prevalencia** de una enfermedad concreta es el *número total de casos nuevos y casos ya existentes de la enfermedad* en una población en un determinado período de tiempo. Por ejemplo, en los Estados Unidos había 803.771 personas infectadas por el VIH/SIDA a finales de 2010. Dicho de otro modo, la prevalencia de VIH/SIDA en los Estados Unidos era de unos 262 casos por cada 100.000 personas en 2010. Así pues, la *incidencia* proporciona un registro de casos nuevos de una enfermedad, mientras que la *prevalencia* indica la cantidad total de afectados en una población. La incidencia y la prevalencia de la enfermedad son indicadores de la salud pública de un determinado grupo, como puede ser la población global total o la población de una región localizada, como una ciudad, provincia o país.

La aparición de casos *esporádicos* de una enfermedad, uno cada cierto tiempo, en áreas independientes desde el punto de vista geográfico, sugiere que los casos no están relacionados. Por otra parte, un **brote** de enfermedad es la aparición de un gran número de casos en poco tiempo en un área en la que antes solo se presentaban casos esporádicos. Los enfermos sin síntomas o con síntomas leves se dice que tienen *infecciones subclínicas*. Las personas con una infección subclínica son, con frecuencia, **portadoras** del patógeno concreto, que se reproduce dentro de ellos y se disemina por el entorno. Finalmente, el término **virulencia** se utiliza con frecuencia en la jerga epidemiológica y es una medida de la capacidad relativa que tiene un patógeno para provocar una enfermedad.

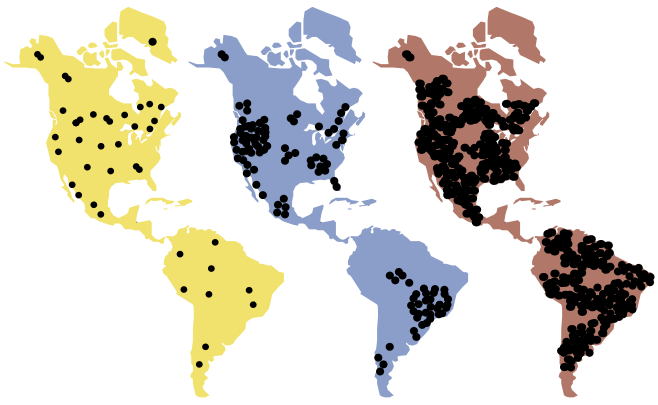


Figura 28.2 Enfermedades endémicas, epidémicas y pandémicas. Cada punto representa el brote de una enfermedad. *(a)* Las enfermedades endémicas están presentes en la población circunscritas a una determinada área geográfica. *(b)* Las enfermedades epidémicas muestran una incidencia alta en un área más amplia y se suelen desarrollar desde un foco endémico. *(c)* Las enfermedades pandémicas se distribuyen por todo el mundo.

Las condiciones y problemas de salud pública varían en el espacio y en el tiempo. Es decir, la evaluación de la salud pública en un momento dado solo ofrece una instantánea de una situación dinámica. Las políticas y las leyes de salud pública tienen por objetivo reducir la incidencia y la prevalencia de las enfermedades, y se evalúan al examinar las estadísticas de salud pública durante largos períodos de tiempo.

Mortalidad y morbilidad

La **mortalidad** es la incidencia de *muerte* en una población. Las enfermedades infecciosas eran la causa principal de muerte en 1900 en todos los países y regiones geográficas, pero ahora son menos prevalentes en los países desarrollados. Las enfermedades no infecciosas asociadas al «estilo de vida», como las cardiopatías y el cáncer, son ahora mucho más prevalentes y provocan una mortalidad más elevada que las enfermedades infecciosas (↻ Figura 1.8). Sin embargo, esto podría cambiar rápidamente si se interrumpiesen las medidas de salud pública. En todo el mundo, y en especial en los países en vías de desarrollo, las enfermedades infecciosas siguen siendo la causa principal de mortalidad (Tabla 28.1 y Sección 28.6).

Tabla 28.1 Muertes, a nivel mundial, debidas a enfermedades infecciosas, 2004[a]

Enfermedad	*Muertes*	*Agente(s) causal(es)*
Infecciones respiratorias[b]	4.259.000	Bacterias, virus, hongos
Enfermedades diarreicas	2.163.000	Bacterias, virus
Síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA)	2.040.000	Virus
Tuberculosis[c]	1.464.000	Bacteria
Malaria	889.000	Protista
Sarampión[c]	424.000	Virus
Meningitis bacteriana[c]	340.000	Bacteria
Tosferina[c]	254.000	Bacteria
Tétanos[c]	163.000	Bacteria
Hepatitis (todos los tipos)[d]	159.000	Virus
Otras enfermedades declarables	1.645.000	Varios agentes

[a]Los datos muestran las diez causas principales de muerte debido a enfermedades infecciosas. Globalmente, hubo unos 58,7 millones de muertes en 2004 debidas a todas las causas. Alrededor de 13,8 millones de muertes, o el 23,5 %, fueron por enfermedades infecciosas, casi todas en países en vías de desarrollo. Los datos son de la Organización Mundial de la Salud (OMS), Ginebra, Suiza.
[b]Para algunos agentes respiratorios agudos, como la gripe y *Streptococcus pneumoniae,* hay vacunas eficaces; para otros, como los que producen el resfriado común, no las hay.
[c]Enfermedades para las que se dispone de vacunas eficaces.
[d]Hay vacunas disponibles para los virus de la hepatitis A y de la hepatitis B. No las hay para los agentes responsables de otras hepatitis.

UNIDAD 6

La **morbilidad** es la incidencia de una *enfermedad* en una población, e incluye tanto casos mortales como no mortales. Las estadísticas de morbilidad estiman la salud pública de una población con más precisión que las de mortalidad, ya que muchas enfermedades tienen una mortalidad relativamente baja. Dicho de otro modo, las causas principales de *enfermedad* son muy diferentes de las causas principales de *muerte*. Por ejemplo, entre las enfermedades infecciosas de morbilidad elevada se incluyen las enfermedades respiratorias agudas, como el resfriado común, y los trastornos digestivos agudos. En los países desarrollados, sin embargo, estas enfermedades rara vez provocan la muerte. Así pues, ambas enfermedades tienen una elevada morbilidad, pero una baja mortalidad. Por otra parte, el virus ébola infecta solo a unos cientos de personas en todo el mundo cada año, pero la mortalidad de algunos brotes se acerca al 70 %. Así pues, el virus ébola tiene una baja morbilidad, pero una alta mortalidad.

Progresión de la enfermedad

La progresión de los síntomas clínicos de una enfermedad infecciosa aguda típica se puede dividir en etapas:

1. *Infección*: El organismo invade, coloniza y crece en el hospedador.
2. *Período de incubación*: Siempre transcurre algún tiempo entre la infección y la aparición de los signos y síntomas de la enfermedad. Algunas enfermedades, como la gripe, tienen períodos de incubación muy cortos, medidos en días; otras, como el SIDA, tienen períodos más largos, a veces de años. El período de incubación de una enfermedad concreta viene determinado por el tamaño del inoculo, la virulencia y el ciclo de vida del patógeno, y la resistencia del hospedador. Normalmente, los primeros signos y síntomas aparecen al final del período de incubación, por ejemplo, en el caso de sobrevenir un resfriado, una tos leve y una sensación de debilidad general.
3. *Período agudo*: La enfermedad está en su apogeo, con síntomas y signos palpables, como fiebre y escalofríos.
4. *Período de declive*: Ceden los signos y los síntomas de la enfermedad. Disminuye la fiebre, normalmente tras un período de sudoración intensa, y aparece una sensación de bienestar. El período de declive puede ser rápido (de un día), en cuyo caso el declive se produce por *crisis,* o puede ser más lento, a lo largo de varios días, en cuyo caso se produce por *lisis*.
5. *Período de convalecencia*: El paciente recupera fuerzas y vuelve a la normalidad.

Después del período agudo, los mecanismos inmunitarios del hospedador se hacen cada vez más importantes para la recuperación completa de la enfermedad.

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué los epidemiólogos toman datos poblacionales sobre las enfermedades infecciosas?
- Distinga entre una enfermedad endémica, una enfermedad epidémica y una enfermedad pandémica.

28.2 La comunidad de hospedadores

La colonización de una población de hospedadores vulnerables por parte de un patógeno puede provocar infecciones explosivas, la transmisión a hospedadores no infectados y una epidemia. Sin embargo, a medida que la población hospedadora desarrolla resistencia, la diseminación del patógeno se controla y, finalmente, se estabiliza en un punto en el que las poblaciones de hospedador y de patógeno están en equilibrio. En un caso extremo, cuando no se consigue alcanzar el equilibrio, podría sobrevenir la muerte y la extinción final de la especie hospedadora. Si el patógeno no tiene otro hospedador, la extinción del hospedador conlleva también la extinción del patógeno. Por tanto, el éxito evolutivo de un patógeno dependerá más de su capacidad para establecer un equilibrio con la población del hospedador que de su capacidad para destruirla. En la mayoría de casos, la evolución del hospedador y la del patógeno se afectan mutuamente, es decir, el hospedador y el patógeno *coevolucionan*.

Coevolución de un hospedador y un patógeno

Un ejemplo sorprendente de coevolución entre un hospedador y un patógeno es la introducción voluntaria del virus de la mixomatosis en Australia para controlar a los conejos silvestres que estaban provocando daños masivos en los cultivos y la vegetación. El virus, propagado por la picadura de los mosquitos, es extremadamente virulento y provoca infecciones fatales en los animales vulnerables. En unos meses la infección del virus se había extendido por una amplia región, alcanzando la máxima incidencia en verano con la presencia de los mosquitos vectores, y descendiendo posteriormente en invierno, a medida que los mosquitos desaparecían. Más del 95 % de los conejos infectados murieron durante el primer año. Sin embargo, cuando se utilizó el virus aislado de conejos silvestres infectados para infectar conejos recién nacidos tanto de laboratorio como silvestres, el virus había perdido algo de virulencia. Unida a la pérdida de virulencia, la resistencia de los conejos silvestres se había incrementado considerablemente; los conejos silvestres no eran tan vulnerables al virus como los conejos de laboratorio. En seis años, la mortalidad de los conejos bajó al 84 % (**Figura 28.3**). Con el tiempo, todos los conejos silvestres adquirieron resistencia. En 30 años, la población de conejos en Australia estaba acercándose a los niveles previos a la introducción del virus de la mixomatosis y volviendo a provocar daños medioambientales generalizados.

Pocos años después, las autoridades australianas liberaron el virus de la enfermedad hemorrágica del conejo (RHDV, del inglés *rabbit hemorrhagic disease virus*), un patógeno muy virulento para los conejos vulnerables. Puesto que el RHDV se extiende por contacto directo entre los hospedadores y mata a los animales a los pocos días de infectarlos, las autoridades creyeron que las infecciones matarían a todos los conejos de la población local y se evitaría el desarrollo de resistencia al RHDV. Al principio el RHDV fue muy eficaz reduciendo la población local de conejos. Sin embargo, la infección natural de algunos conejos por un virus autóctono de la fiebre hemorrágica, que no era letal, confirió una inmunidad cruzada contra el RHDV introducido. Esta inmunidad imprevista redujo la virulencia del RHDV en algunas regiones. Igual que sucedió con el

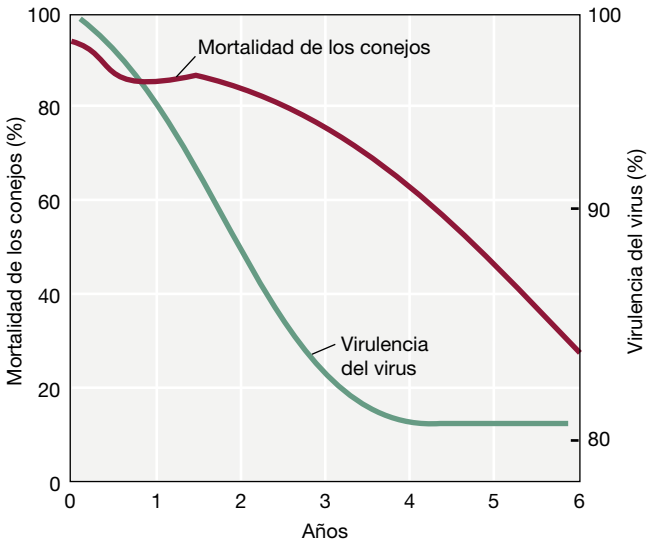


Figura 28.3 Coevolución del virus de la mixomatosis y su hospedador. El virus de la mixomatosis se introdujo en Australia para controlar la población de conejos silvestres. La virulencia del virus se presenta como la mortalidad media de los conejos de laboratorio para el virus recuperado de campo cada año. La mortalidad se determinó sacando gazapos silvestres de las conejeras e infectándolos con una cepa vírica que mataba el 90-95 % de los conejos de laboratorio de control.

virus de la mixomatosis, el hospedador desarrolló resistencia al agente de control del RHDV, desplazando la proporción de hospedadores y patógenos hacia el equilibrio.

Para los patógenos que no dependen de la transmisión de hospedador a hospedador, como *Clostridium tetani*, una bacteria común en el suelo y que provoca el tétanos, no existe selección que disminuya la virulencia y favorezca la coexistencia mutua. Los patógenos transmitidos por vectores que suelen transmitirse por la picadura de garrapatas y otros artrópodos tampoco están bajo ningún tipo de presión evolutiva que salvaguarde al hospedador humano. Siempre que un vector pueda alimentarse de sangre después de la infección y antes de que el hospedador muera, el patógeno podrá mantener un nivel elevado de virulencia y matar a su hospedador humano. Por ejemplo, los parásitos de la malaria (*Plasmodium* spp.) muestran variaciones antigénicas en las proteínas de su envoltura que le ayudan a eludir la respuesta inmunitaria del hospedador. Esta capacidad para evitar la inmunidad del hospedador incrementa la virulencia del patógeno independientemente de la vulnerabilidad del hospedador.

Otra prueba del fenómeno de virulencia descontrolada de los patógenos procede de los estudios sobre la diarrea en los recién nacidos. En las guarderías hospitalarias, *Escherichia coli* puede provocar diarrea grave e incluso la muerte; la virulencia parece incrementarse cada vez que el patógeno pasa de un paciente a otro. Los patógenos se replican en un hospedador y, por descuido, se transfieren a otro a través de los profesionales sanitarios o de objetos tales como la ropa de cama sucia y los muebles. Para interrumpir el ciclo de estas infecciones, muy virulentas, a veces se necesitan esfuerzos extraordinarios, tales como desinfectar completamente las salas y el mobiliario, además de trasladar al personal sanitario a otros servicios.

Inmunidad de grupo

Si una proporción elevada de los individuos en un grupo son inmunes a un patógeno, entonces la población entera estará protegida; esta resistencia a la infección se denomina **inmunidad de grupo** (Figura 28.4). La evaluación de la inmunidad de grupo es importante para comprender el desarrollo de las epidemias. Cuanto más infeccioso sea un patógeno, o cuanto más largo sea su período de infectividad, mayor proporción de individuos inmunes será necesaria para prevenir la diseminación de la enfermedad. Para conferir inmunidad de grupo frente a una enfermedad como el sarampión, muy infecciosa, el 90-95 % de la población debe ser inmune. En cambio, una epidemia

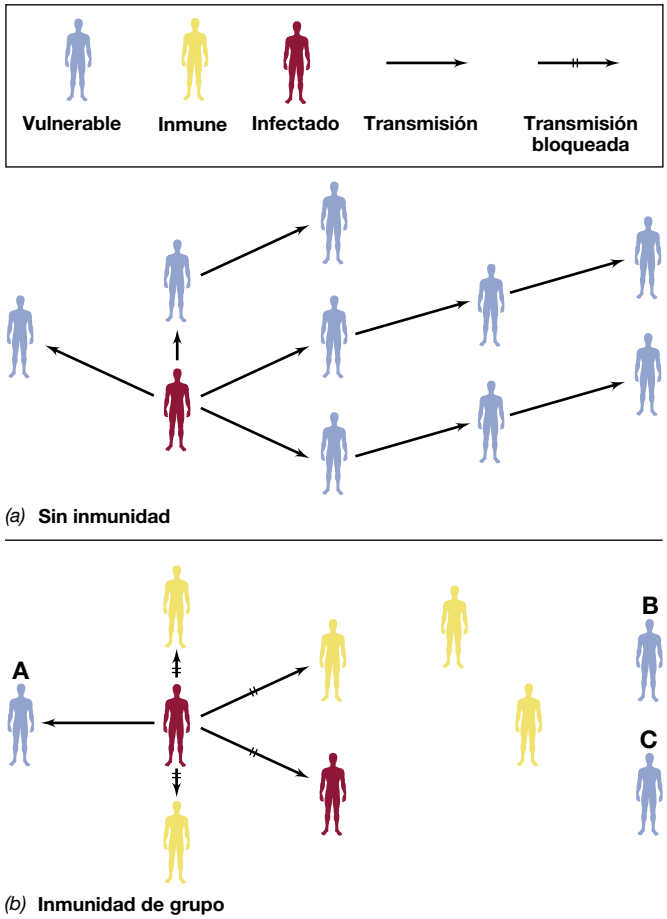


Figura 28.4 Inmunidad de grupo y transmisión de la infección. La inmunidad de algunos individuos protege a los individuos sin inmunizar contra la infección. *(a)* En una población sin inmunidad, la transferencia de un patógeno desde un individuo infectado puede infectar con éxito (flechas) a toda la población debido a que los nuevos individuos infectados pueden, a su vez, transferir el patógeno a otros individuos. *(b)* En una población de densidad moderada que tiene cierta inmunidad contra un patógeno moderadamente transmisible, como el virus de la gripe, un individuo infectado no puede transferir el patógeno a los demás individuos vulnerables porque los resistentes, inmunes gracias a la exposición previa o a la inmunización, rompen el ciclo de transmisión del patógeno: el individuo vulnerable A se infecta, pero los individuos vulnerables B y C están protegidos. La proporción de la población que debe ser inmune para lograr una inmunidad de grupo eficaz también varía con la enfermedad; las enfermedades muy infecciosas requieren que la proporción individuos inmunes sea mayor para que la inmunidad de grupo impida la transmisión.

causada por un agente menos infeccioso o con un breve período de infectividad, se puede evitar con una menor proporción de individuos inmunes. El virus de la parotiditis (paperas), que es menos infeccioso que el virus del sarampión, muestra este patrón. En ausencia de inmunidad, incluso agentes poco infecciosos se pueden transmitir de persona a persona si los hospedadores vulnerables están en contacto continuo o frecuente con un individuo infectado. Este es el caso de la transmisión de la gripe aviar H5N1 entre los humanos (Sección 28.11).

MINIRREVISIÓN

- Explique la coevolución del hospedador y el patógeno. Cite un ejemplo específico.
- ¿Cómo impide la inmunidad de grupo que un individuo no inmune adquiera una enfermedad? Dé un ejemplo.

28.3 Transmisión de las enfermedades infecciosas

Los epidemiólogos vigilan la transmisión de una enfermedad correlacionando los datos geográficos, climáticos, sociales y demográficos con su incidencia. Estas correlaciones se utilizan para identificar los posibles modos de transmisión y los patrones de la enfermedad. Una enfermedad circunscrita a una determinada localización restringida, por ejemplo, puede sugerir la existencia de un vector concreto. Este es el caso de la malaria, una enfermedad de las regiones tropicales que solo se transmite por especies de mosquitos restringidas a las regiones tropicales (↻ Sección 32.5).

Una marcada estacionalidad o periodicidad de una enfermedad a menudo nos indica ciertos modos de transmisión. Por ejemplo, la gripe surge con un patrón cíclico anual y provoca epidemias que se propagan entre los escolares y otras poblaciones de individuos vulnerables. La infectividad de la gripe es elevada en entornos concurridos, como los colegios, porque el virus se transmite por vía respiratoria. Las cepas epidémicas del virus de la gripe cambian casi cada año, por lo que la mayoría de los niños son susceptibles de ser infectados. Cuando el virus entra en un colegio se produce una epidemia de propagación explosiva. Se infectan casi todos los individuos y entonces se vuelven inmunes. La epidemia remite a medida que aumenta la población inmune, pero la aparición de un nuevo virus de la gripe, normalmente al año siguiente, desencadenará otra epidemia.

El modo de transmisión del patógeno suele guardar relación con su hábitat preferido en el cuerpo. Los patógenos respiratorios, por ejemplo, se suelen transmitir por el aire, mientras que los patógenos intestinales se diseminan a través de la contaminación fecal de los alimentos o del agua. En algunos casos, factores medioambientales como la meteorología pueden influir en la supervivencia del patógeno. Por ejemplo, el virus de la encefalitis de California y otros virus de encefalitis provocan la enfermedad durante los meses de verano y otoño y desaparecen cada invierno siguiendo un patrón cíclico (**Figura 28.5**). El virus lo transmiten mosquitos vectores que mueren durante los meses de invierno, lo que hace que la enfermedad desaparezca hasta que, en los meses estivales, reaparece el insecto vector y vuelve a transmitir el virus.

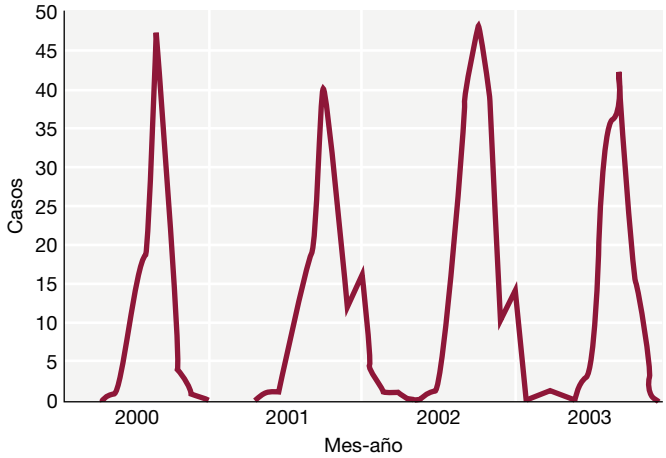


Figura 28.5 Encefalitis de California en los Estados Unidos. La incidencia de la enfermedad presenta un aumento abrupto a finales del verano, seguida de un declive total en invierno. El ciclo de la enfermedad sigue el ciclo anual del mosquito vector, que muere durante los meses de invierno. Los datos proceden de CDC, Atlanta, Georgia, EE. UU.

Los patógenos se pueden clasificar por su mecanismo de transmisión, pero todos los mecanismos tienen tres etapas en común: (1) salida del hospedador, (2) viaje, y (3) entrada en un nuevo hospedador. La transmisión del patógeno se puede llevar a cabo tanto por mecanismos directos como indirectos.

Transmisión directa de hospedador a hospedador

La transmisión de hospedador a hospedador se produce cuando un hospedador infectado transmite una enfermedad directamente a un hospedador vulnerable sin que medie un hospedador intermedio ni un objeto transmisor. Las infecciones de las vías respiratorias superiores, como el resfriado común y la gripe, se transmiten con más frecuencia entre los hospedadores a través de las gotitas expelidas con los estornudos o la tos (↻ Figura 29.1). Sin embargo, como muchas de estas gotitas no permanecen mucho tiempo en el aire, la transmisión requiere un contacto cercano entre las personas, aunque no necesariamente íntimo.

Algunos patógenos son muy sensibles a factores ambientales como la sequedad y el calor, y son incapaces de sobrevivir durante períodos de tiempo significativos lejos del hospedador. Entre estos patógenos, transmitidos solo mediante un contacto íntimo entre personas, como puede ser el intercambio de líquidos corporales durante una relación sexual, se encuentran los responsables de enfermedades de transmisión sexual, entre ellas la sífilis (*Treponema pallidum*), la gonorrea (*Neisseria gonorrhoeae*) y el VIH/SIDA .

También se transmiten por contacto directo patógenos de la piel como estafilococos (furúnculos y granos) y hongos (tiña). Estos patógenos a menudo se diseminan por medios indirectos porque son relativamente resistentes a condiciones ambientales como la sequedad.

Transmisión indirecta de hospedador a hospedador

La transmisión indirecta de un agente infeccioso puede verse facilitada por portadores vivos o inanimados. Los portadores vivos que transmiten patógenos se llaman **vectores**.

Comúnmente actúan como vectores los artrópodos (ácaros, garrapatas o pulgas) y los vertebrados (perros, gatos o roedores). Los vectores artrópodos pueden no ser hospedadores del patógeno, pero pueden transportarlo de un hospedador a otro. Muchos artrópodos se alimentan picando y succionando sangre, y si el patógeno está presente en la sangre, pueden ingerirlo y transmitirlo al picar a otro individuo. En algunos casos, los patógenos víricos se replican en el vector artrópodo, que entonces se considera un *hospedador alternativo*. Ese es el caso del virus del Nilo Occidental (↻ Sección 30.6). Estas replicaciones generan un mayor número de patógenos, lo que aumenta la probabilidad de que la infección se transmita en la siguiente picadura.

Los agentes inanimados, como la ropa de cama, los juguetes, los libros y el instrumental quirúrgico, también pueden transmitir enfermedades. Los objetos inanimados que, contaminados con un patógeno viable, pueden transferir el patógeno a un hospedador se denominan **fómites**. El término **vehículo** se utiliza para describir las fuentes inanimadas de patógenos que transmiten enfermedades a un gran número de individuos; los vehículos de enfermedades más frecuentes son el agua o los alimentos contaminados. Los fómites también pueden ser vehículos de enfermedades, pero las principales epidemias originadas a partir de un único vehículo se suelen atribuir a fuentes comunes como la comida o el agua, porque ambos son productos básicos consumidos en grandes cantidades por todo el mundo.

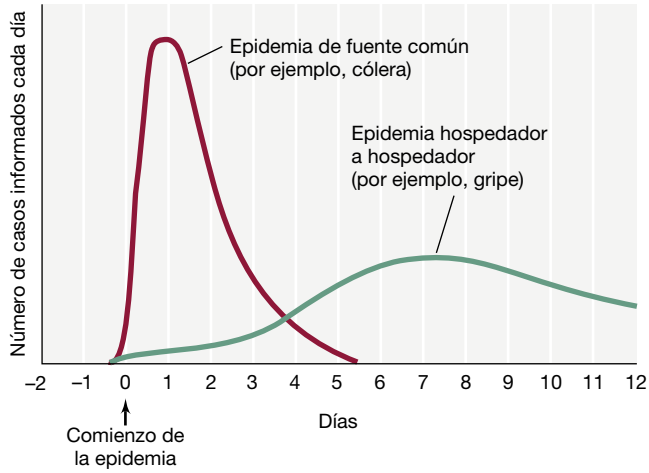


Figura 28.6 **Tipos de epidemias**. La forma de la curva que representa la incidencia de una enfermedad epidémica respecto al tiempo identifica el tipo probable de epidemia. Para una epidemia de fuente común, como las debidas a alimentos o agua contaminados compartidos por las personas infectadas, la curva se eleva bruscamente para dar un pico y después descender rápidamente. La incidencia de la enfermedad infecciosa transmitida de hospedador a hospedador aumenta con relativa lentitud a medida que se acumulan los nuevos casos.

Epidemias

Las epidemias importantes se suelen clasificar, bien como *epidemias de fuente común*, bien como *epidemias de hospedador a hospedador*. Estos dos tipos se comparan en la Figura 28.6. La Tabla 28.2 resume las características epidemiológicas cruciales de las enfermedades epidémicas principales.

Una **epidemia de fuente común** aparece como resultado de una infección (o intoxicación) de un gran número de personas a partir de una fuente común contaminada, como los alimentos o el agua. Las epidemias de este tipo suelen estar causadas por un fallo en el saneamiento del sistema de distribución central de agua o de alimentos, pero también pueden ser más locales,

Tabla 28.2 Selección de enfermedades epidémicas/pandémicas

Enfermedad	*Agente causal*	*Fuentes de infección*	*Reservorios*	*Medidas de control*
Epidemia de fuente común				
Cólera	*Vibrio cholerae* (B[a])	Contaminación fecal de alimentos y agua	Humanos	Descontaminación del suministro público de agua; inmunización
Epidemias de hospedador a hospedador				
Enfermedades respiratorias				
Tuberculosis	*Mycobacterium tuberculosis* (B)	Esputo de casos humanos; leche infectada	Humanos, ganado vacuno	Tratamiento con antimicrobianos; pasteurización de la leche
Gripe	Virus de la gripe (V)	Aerosoles y fómites de origen humano	Humanos, animales	Inmunización
Epidemias de hospedador a hospedador				
Enfermedades de transmisión sexual				
VIH/SIDA (síndrome de inmunodeficiencia adquirida)	Virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)	Líquidos corporales infectados, especialmente sangre y semen	Humanos	Tratamiento con inhibidores metabólicos (no curativo)
Enfermedad transmitida por vectores				
Malaria	*Plasmodium* spp. (P)	Picadura del mosquito *Anopheles*	Humanos, mosquitos	Control de la población de mosquitos; tratamiento y prevención de las infecciones humanas con fármacos contra la malaria

[a]B, Bacteria; V, virus; P, protista.

como la comida contaminada de un restaurante concreto. Las epidemias de fuente común con origen en el agua o en la comida son principalmente enfermedades intestinales; el patógeno abandona el cuerpo con la materia fecal, contamina los suministros de alimentos o agua debido a una higiene inadecuada, y entonces entra en el tubo digestivo del destinatario durante su ingestión. Las enfermedades con origen en el agua o los alimentos se suelen controlar con medidas de salud pública, que se tratan con mayor profundidad en el Capítulo 31. Una epidemia de fuente común clásica es el cólera. En 1855, el médico británico John Snow correlacionó la incidencia del cólera con la contaminación fecal de los sistemas de distribución de agua en Londres. Snow demostró con claridad que el agente infeccioso, la bacteria *Vibrio cholerae*, se transmitía a través del consumo del vehículo de fuente común contaminado, el agua (Sección 28.10, y Sección 31.3).

La incidencia de la enfermedad en un brote de fuente común se caracteriza por alcanzar rápidamente un pico de incidencia debido a que un gran número de individuos enferman en un período de tiempo relativamente breve (Figura 28.6). Suponiendo que se descubre y sanea la fuente común contaminada por el patógeno, la incidencia de la enfermedad de fuente común también desciende con rapidez, aunque el descenso es más lento que la subida. Se seguirán notificando casos durante un tiempo aproximadamente igual a la duración de un período de incubación de la enfermedad.

En una **epidemia de hospedador a hospedador**, la incidencia de la enfermedad muestra un aumento progresivo relativamente lento (Figura 28.6) y un descenso gradual. Se continúan notificando casos durante un tiempo equivalente a varios períodos de incubación de la enfermedad. Una epidemia transmitida de hospedador a hospedador se puede iniciar por la introducción en una población vulnerable de un único individuo infectado que infecta a una o más personas. El patógeno se replica entonces en los individuos vulnerables, alcanza el estadio de transmisible, se transfiere a otros individuos vulnerables y, de nuevo, se replica y se vuelve transmisible. La gripe y la varicela son ejemplos de enfermedades que se diseminan típicamente como epidemias de hospedador a hospedador. En el Capítulo 29 se explican estas y otras enfermedades propagadas por la transmisión de hospedador a hospedador.

Número básico de reproducción (R_0)

La infectividad de un patógeno se puede predecir con modelos matemáticos que estiman el **número básico de reproducción (R_0)**, definido como el número de transmisiones secundarias de una enfermedad, esperado a partir de cada caso único, en una población completamente vulnerable. La Tabla 28.3 recoge los valores del R_0 para una selección de enfermedades infecciosas.

El valor de R_0 predice el riesgo de propagación de una enfermedad en una población. Un R_0 de 1 significa que cada persona infectada contagiará la enfermedad a una persona vulnerable, lo que mantiene la enfermedad en la población. Un R_0 mayor que 1 indica que cada persona infectada contagiará la enfermedad a *más de una* persona vulnerable, lo que propaga el brote y probablemente desencadene una epidemia o incluso una pandemia. En cambio, un R_0 menor que 1 indica que cada persona infectada pasará la enfermedad a *menos de una* persona vulnerable y, bajo estas circunstancias, la enfermedad desaparecerá.

Tabla 28.3 Número básico de reproducción (R_0) e inmunidad de grupo necesarios para la protección de la comunidad frente a determinadas enfermedades infecciosas

Enfermedad	[a]R_0	*Inmunidad de grupo*
Difteria	7	85 %
Ébola	1,8	
Gripe[b]	1,6	29 %
Sarampión	18	94 %
Paperas	7	86 %
Tosferina	17	94 %
Poliomielitis	7	86 %
Rubeola	7	85 %
SARS	3,6	
Viruela	7	85 %

[a]Los valores del R_0 e inmunidad de grupo corresponden a las estimaciones más altas para cada enfermedad. Los valores de la inmunidad de grupo se muestran solo para las enfermedades para las que existen vacunas.
[b]Los valores mostrados corresponden a gripe H1N1 2009 pandémica. Cada epidemia de gripe tiene unos valores de R_0 y de inmunidad de grupo diferentes. Los valores de la inmunidad de grupo suponen que la vacuna es eficaz al 100 %. La eficacia de la vacuna para la gripe es aproximadamente del 60 % y los valores de la inmunidad de grupo observados son del 40 % o más, según las poblaciones hospedadoras vulnerables.

El R_0 se correlaciona directamente con la inmunidad de grupo necesaria para impedir que se propague la infección; cuanto más alto sea el valor de R_0, mayor inmunidad de grupo se necesitará para detener la infección. Por ejemplo, en circunstancias ideales, para detener la propagación del muy infeccioso virus del sarampión ($R_0 = 18$), debe ser inmune el 94 % de la población, mientras que solo es necesario que el 29 % de la población sea inmune para detener la diseminación de la gripe ($R_0 = 1{,}6$) (Tabla 28.3). Por desgracia, las condiciones no siempre son ideales, y los modelos matemáticos que predicen el R_0 pueden no tener en cuenta factores tales como el número de individuos recuperados, la densidad de la población (contacto cercano), la duración del contacto, las poblaciones con individuos de alto riesgo y otras variables que pueden afectar a la propagación de la enfermedad. Como resultado, el R_0 solo puede estimar la infectividad teórica, aunque sigue siendo útil para calibrar la infectividad relativa de un patógeno y ayudar a establecer los objetivos de cobertura de la inmunización que impidan que se propague la enfermedad.

El *número observado de reproducción*, R, que se calcula a partir de estudios de propagación real de la enfermedad, es un término más útil porque tiene en cuenta las transmisiones observadas desde los individuos infectados a los vulnerables. Para la mayoría de los brotes de enfermedad, el R no se puede obtener de manera fiable porque no se dispone de información precisa sobre la propagación de la enfermedad; no se puede rastrear con precisión la fuente de cada infección porque son demasiados los individuos afectados. Sin embargo, para el brote de SARS de 2003 (véase Explore el mundo microbiano, «SARS, un modelo de éxito epidemiológico»), el R observado fue de 3,6. Las autoridades de salud pública, al reconocer una posible epidemia grave, implantaron controles de la infección, como el aislamiento de los individuos infectados y las barreras

EXPLORANDO EL MUNDO MICROBIANO

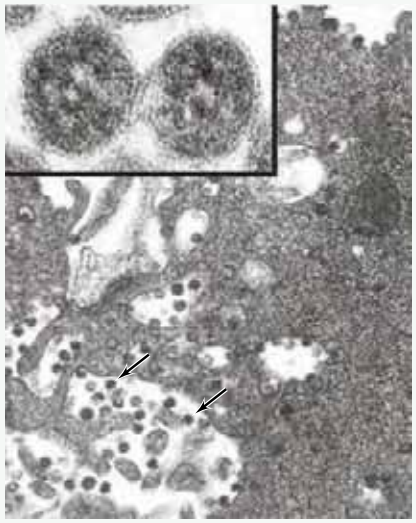
SARS: un modelo de éxito epidemiológico

El manejo de una epidemia del síndrome respiratorio agudo grave (SARS, del inglés *severe acute respiratory syndrome*) a principios de esta década es un ejemplo excelente de aplicación exitosa de los principios de la epidemiología. Al igual que muchas otras enfermedades de rápida emergencia, el SARS era vírico y se originó en los animales. Estas características las dotan de la capacidad de desencadenar enfermedades explosivas en los humanos cuando los agentes infecciosos traspasan la barrera de especie del hospedador.

La epidemia del SARS se originó a finales de 2002 en la provincia de Guangdong, en China. El febrero siguiente, el virus se había propagado a 28 países. Los viajes internacionales fueron su principal vehículo de propagación. La causa de la enfermedad se atribuyó rápidamente a un coronavirus procedente de un animal. El coronavirus entró en la cadena alimentaria humana al comer civeta (un animal pequeño y nocturno, parecido al gato). Es muy probable que el coronavirus del SARS (SARS-CoV) (**Figura 1**) proceda de los murciélagos. Aparentemente las civetas adquirieron el virus al consumir fruta contaminada por heces de murciélago. El SARS-CoV probablemente evolucionó durante un largo período de tiempo en los murciélagos y desarrolló, de forma accidental, la capacidad de infectar a las civetas y, posteriormente, a los humanos.

Al igual que los virus del resfriado común, el SARS-CoV es un virus de RNA relativamente resistente y muy infeccioso que resulta difícil de contener (R_0 de 3,6). Una vez en los humanos, el SARS-CoV se disemina con rapidez entre las personas por los estornudos y la tos, o por contactos con fómites o heces contaminados. Normalmente, la aparición de un nuevo virus de resfriado sería poco preocupante, pero el SARS-CoV causó infecciones de mortalidad significativa. De las 8.500 infecciones por SARS-CoV conocidas, 800 acabaron en muerte, con lo que la tasa de mortalidad global se acercó al 10 %. En los mayores de 65 años, la tasa de mortalidad alcanzó el 50 %, lo que atestigua la virulencia del SARS-CoV como patógeno humano.

Alrededor del 20 % de los casos de SARS se produjo entre el personal sanitario, una



CDC/C.S. Goldsmith, T.G. Ksiazek, S.R. Zaki/Public Health Image Library

Figura 1 Coronavirus del síndrome respiratorio agudo grave (SARS-CoV). El panel superior izquierdo muestra viriones aislados del SARS-CoV. Un virión individual tiene un diámetro de 128 nm. El panel grande muestra los coronavirus dentro de vacuolas unidas a la membrana citoplasmática y en el retículo endoplasmático rugoso de las células hospedadoras. El virus se replica en el citoplasma y sale de la célula a través de vacuolas citoplasmáticas.

demostración de la elevada infectividad del virus. Los métodos estándar de control y contención de la infección practicados por el personal sanitario no fueron eficaces para controlar la propagación de la enfermedad. Así que se confinó en aislamiento estricto en habitaciones con presión negativa a los pacientes con SARS mientras cursaban la enfermedad. Para impedir la infección, el personal sanitario al cuidado de los pacientes con SARS utilizaron respiradores para cuidar a los pacientes o cuando manejaban los fómites (ropa de cama, cubiertos, etc.).

La detección y contención del brote de SARS fue el comienzo de una respuesta internacional que implicó a los médicos, científicos y autoridades públicas. Casi de inmediato, se restringieron los viajes desde y hacia la zona endémica, lo que limitó los nuevos brotes. El SARS-CoV se aisló con rapidez, se cultivó, y se secuenció rápidamente su genoma. Esta información se utilizó para desarrollar pruebas PCR para detectar el virus en las muestras. A medida que avanzaba el trabajo de laboratorio, los epidemiólogos siguieron la pista del virus hasta el uso de la civeta como alimento en China y detuvieron la transmisión a los humanos al restringir la venta de civetas y otros alimentos de origen silvestre. Este conjunto de medidas detuvo el brote.

El SARS es un ejemplo de infección grave que emergió muy rápidamente de una única fuente. Sin embargo, la rápida identificación y caracterización del patógeno del SARS, el desarrollo inmediato en todo el mundo de procedimientos de notificación y pruebas diagnósticas, y la coordinación de los esfuerzos para conocer la biología y la genética de este nuevo patógeno, sirvieron para controlar la enfermedad; no se han producido más casos de SARS desde principios de 2004. La rápida emergencia del SARS, y el esfuerzo internacional igualmente rápido y exitoso a la hora de identificar y controlar el brote, constituyen un modelo para el control de epidemias emergentes.

Con la expansión internacional de los viajes y del comercio, se incrementarán las posibilidades de propagación y la rápida diseminación de nuevas enfermedades exóticas. Por ejemplo, a principios de 2013 emergió con rapidez una enfermedad vírica parecida al SARS en Arabia Saudí y en los países cercanos que provocaba síntomas graves (y en algunos casos mortales) similares a los del SARS. Este virus, denominado MERS-CoV (coronavirus del síndrome respiratorio de Oriente Medio, véase la primera página de este capítulo), es un coronavirus nuevo que apareció repentinamente en los centros sanitarios y que se puede transmitir con rapidez entre las personas. Debido a estos retos, los epidemiólogos y los profesionales de la salud deben estar preparados para la emergencia de otras enfermedades infecciosas graves, como la gripe pandémica en particular. Sin embargo, es probable que las lecciones aprendidas de la epidemia de SARS den sus frutos cuando aparezcan otras enfermedades emergentes.

de protección estrictas para el personal sanitario. Estas medidas redujeron el valor de *R* del SARS a 0,7, acabando con la amenaza de diseminación posterior de la enfermedad. De igual modo, en un brote del filovirus ébola (Tabla 28.5), el número de reproducción se redujo de un R_0 teórico de 1,8 a un *R* de 0,7, de nuevo con medidas de control de la infección estrictas que detuvieron la propagación de la infección, lo que evitó una posible epidemia.

MINIRREVISIÓN

- Diferencie entre transmisión directa e indirecta de una enfermedad. Cite, al menos, un ejemplo de cada una.
- Defina el número básico de reproducción para un patógeno.

28.4 Reservorios de enfermedades y epidemias

Los reservorios son sitios en los que los agentes infecciosos permanecen viables y desde los cuales se pueden infectar los individuos. Pueden ser tanto animados como inanimados. Algunos patógenos cuyos reservorios no se encuentran en los animales solo infectan y ocasionan enfermedades a los humanos accidentalmente. Por ejemplo, los organismos en el género *Clostridium*, unas bacterias corrientes en el suelo, de vez en cuando infectan a los humanos y les provocan enfermedades potencialmente mortales, como el tétanos, el botulismo, la gangrena y algunos trastornos digestivos. Los daños al hospedador, e incluso su muerte, no afectan a las poblaciones de estos patógenos porque son habitantes normales del suelo; el patógeno no depende del hospedador para sobrevivir, de manera que el equilibrio entre el hospedador y el patógeno no es necesario para la supervivencia de este último. Patógenos de este tipo pueden ocasionar enfermedades agudas devastadoras sin consecuencias para ellos.

Para muchos patógenos, sin embargo, los únicos reservorios son organismos vivos. En estos casos, el hospedador-reservorio es esencial para el ciclo de vida del agente infeccioso; el mantenimiento de patógenos humanos de esta clase requiere la transmisión de persona a persona. Muchos patógenos respiratorios víricos y bacterianos, y patógenos de transmisión sexual, requieren hospedadores humanos; algunos estafilococos y estreptococos son ejemplos de patógenos restringidos a los humanos, como los agentes causantes de la difteria, la gonorrea y las paperas. Como veremos más adelante, muchos patógenos cuyo ciclo de vida depende completamente de una única especie hospedadora, especialmente si es la especie humana, pueden ser erradicados o, al menos, controlados. La Tabla 28.2 recoge algunas enfermedades infecciosas humanas con potencial epidémico y sus reservorios.

Zoonosis

Algunas enfermedades infecciosas están causadas por patógenos que se reproducen tanto en humanos como en animales. Una enfermedad que infecta principalmente a los animales, pero que se transmite ocasionalmente a los humanos, se denomina **zoonosis**. La transmisión de enfermedades veterinarias entre animales puede ser alta porque las medidas de salud pública están menos desarrolladas, sobre todo para las poblaciones de animales silvestres. De vez en cuando la transmisión de una enfermedad zoonótica se da entre un animal y un humano; la transferencia de estos patógenos entre personas es rara pero sucede. Los factores que conducen a la aparición de una enfermedad zoonótica incluyen la existencia y la propagación del agente infeccioso en un hospedador animal, el entorno adecuado para la propagación y la transferencia del agente, y la presencia de la nueva especie hospedadora vulnerable. Cuando hay una transmisión de animal a humano, puede aparecer de repente una enfermedad infecciosa nueva y virulenta en la población humana expuesta. Este fue el caso, por ejemplo, del SARS (véase el apartado Explore el mundo microbiano).

El control de una enfermedad zoonótica en la población humana no la elimina como potencial problema de salud pública. La erradicación de la forma humana de una enfermedad zoonótica solo se suele conseguir a través de la eliminación de la enfermedad en el reservorio animal. Esto se debe a que el mantenimiento esencial del patógeno depende de la transferencia entre animales, y los humanos no son más que hospedadores ocasionales, no esenciales. Como ejemplo, la peste es principalmente una enfermedad de los roedores. El control eficaz de los casos humanos de peste se consigue al controlar la población de roedores infectados y el insecto vector (pulga) que transporta el patógeno a los humanos. El control del reservorio zoonótico y del vector es más eficaz para prevenir la transmisión de la peste que intervenciones como vacunar al hospedador humano accidental (↻ Sección 30.7). Otro ejemplo es la tuberculosis bovina zoonótica, que se propaga con facilidad a los humanos y resulta clínicamente indistinguible de la tuberculosis humana. La enfermedad se controló en los países desarrollados principalmente al identificar y eliminar los animales infectados. La pasteurización de la leche también fue importante, porque la leche era el principal vehículo transmisor de la tuberculosis bovina a los humanos (↻ Sección 29.4).

Algunas enfermedades infecciosas están provocadas por organismos como los protistas que tienen ciclos de vida más complejos, que incluyen la transferencia obligada desde un hospedador no humano a un hospedador humano, seguida de una transferencia inversa obligatoria al hospedador no humano (por ejemplo, la malaria, ↻ Sección 32.5). En estos casos, la enfermedad es potencialmente controlable tanto en el hospedador humano como en el no humano.

Portadores

Un *portador* vivo es un individuo infectado por un patógeno que presenta una infección subclínica sin síntomas o solo con síntomas leves de enfermedad clínica. Los portadores son fuentes potenciales de infección para los demás. Estos individuos pueden estar en el período de incubación de la enfermedad, en cuyo caso el estado de portador precede al desarrollo de síntomas reales. Infecciones respiratorias como los resfriados y la gripe, por ejemplo, son a menudo propagadas por portadores que no son conscientes de su infección y que, por tanto, no toman ninguna precaución para no infectar a los demás. El estado de portador dura poco tiempo para los que sufren la enfermedad aguda. Sin embargo, los portadores crónicos pueden diseminar la enfermedad durante mucho tiempo porque suelen parecer sanos. Se pueden haber recuperado de una enfermedad clínica pero albergar todavía patógenos viables, o su infección puede no ser aparente.

Los portadores se pueden identificar con técnicas diagnósticas; estudios de cultivos o inmunoensayos que se llevan a cabo en las poblaciones para identificar a los portadores. Un ejemplo es la prueba cutánea con antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* para la hipersensibilidad retardada. Esta prueba revela una infección anterior o actual y se utiliza ampliamente para identificar a los portadores de *M. tuberculosis* (↻ Sección 24.3). Otras enfermedades en las que los portadores contribuyen a la

propagación de infecciones incluyen la hepatitis, la fiebre tifoidea y el SIDA. Los estudios mediante cultivos o inmunoensayos de los manipuladores de alimentos y de los profesionales de la salud se usan a veces para identificar individuos portadores que suponen un riesgo como fuentes de infección.

Un conocido ejemplo de portador crónico era la mujer conocida como María la Tifoidea, una cocinera de la ciudad de Nueva York de principios del siglo xx. María la Tifoidea (cuyo nombre real era Mary Mallon) trabajó como cocinera durante una epidemia de fiebre tifoidea en 1906. Las investigaciones revelaron que Mary estaba relacionada con una serie de brotes tifoideos. Probablemente ella era la fuente de la infección porque sus heces contenían una gran cantidad de la bacteria tifoidea, *Salmonella enterica* serovar Typhi. Siguió siendo portadora durante toda su vida, probablemente porque tenía la vesícula biliar infectada y secretaba continuamente el patógeno al intestino. Se negó a que le extirparan la vesícula biliar y la encarcelaron. Liberada con la condición de que no volviera a cocinar ni manipular alimentos para otros, María desapareció, cambió de nombre y continuó cocinando en restaurantes e instituciones públicas, dejando tras de sí brotes epidémicos de fiebre tifoidea. Al cabo de unos años, fue arrestada y encarcelada de nuevo y permaneció bajo custodia hasta su muerte en 1938.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué es una enfermedad zoonótica? ¿Y un reservorio de una enfermedad?
- Distinga entre portadores agudos y crónicos. Aporte un ejemplo de cada uno.

II • Epidemiología y salud pública

Aquí identificamos algunos de los métodos utilizados para identificar, seguir, contener y erradicar las enfermedades infecciosas en las poblaciones. También identificamos algunas amenazas actuales importantes y futuras potenciales de las enfermedades infecciosas.

28.5 Salud pública y enfermedades infecciosas

Salud pública hace referencia a la salud de la población general y a las actividades de las autoridades sanitarias para controlar las enfermedades. La incidencia y la prevalencia de muchas enfermedades infecciosas descendieron considerablemente durante el siglo xx, en especial en los países desarrollados, debido a las mejoras universales en salud pública derivadas de los avances en las condiciones básicas de vida. El acceso a agua y alimentos seguros, el mejor tratamiento de las aguas residuales públicas, el menor hacinamiento y unas condiciones de trabajo mejores han contribuido inconmensurablemente al control de enfermedades, principalmente al reducir la exposición a los agentes infecciosos. Varias enfermedades históricamente importantes como la viruela, la fiebre tifoidea, la difteria, la brucelosis y la poliomielitis, se han controlado y, en algunos casos, eliminado (por ejemplo, la viruela) mediante medidas de salud pública activas y específicas para la enfermedad, como la cuarentena y la vacunación.

Controles dirigidos contra los vehículos comunes

Los *vehículos comunes* para la dispersión de los patógenos incluyen alimentos, agua y aire. La transmisión de los patógenos por los alimentos o el agua se puede eliminar evitando la contaminación (Capítulo 31). Por ejemplo, los métodos de purificación de agua han reducido considerablemente la incidencia de la fiebre tifoidea (**Figura 28.7**). Las leyes que controlan la pureza y la preparación de los alimentos han hecho disminuir enormemente la probabilidad de que trasmitan patógenos alimentarios a los humanos. Tal y como mencionamos antes, la eliminación del ganado vacuno infectado y la pasteurización de la leche han eliminado casi completamente la diseminación de la tuberculosis bovina a los humanos.

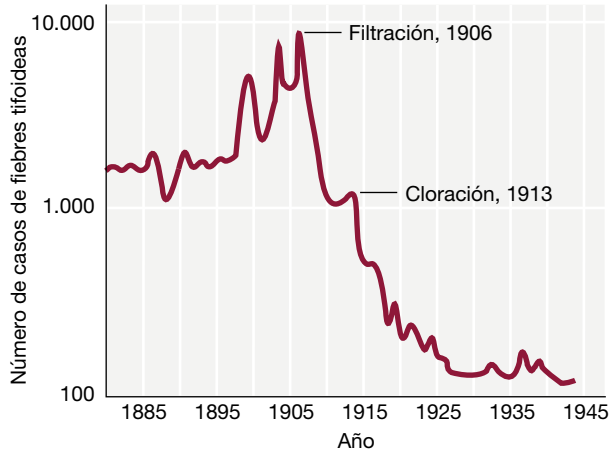


Figura 28.7 Fiebre tifoidea en Filadelfia. La introducción de la filtración y la cloración eliminó la fiebre tifoidea en Filadelfia y otras ciudades con suministros de agua bien controlados.

La transmisión de patógenos respiratorios transportados por el aire es difícil de evitar. Los intentos de desinfección química del aire han sido infructuosos. La filtración del aire es un método viable, pero está restringido a áreas cerradas y pequeñas. En Japón, muchas personas llevan mascarillas faciales cuando tienen infecciones de las vías respiratorias superiores para no transmitírsela a los demás, pero tales métodos, aunque eficaces, son voluntarios y difíciles de instaurar como medidas de salud pública.

Controles dirigidos contra el reservorio

Cuando los reservorios de la enfermedad son principalmente los animales domésticos, la infección de los humanos se puede impedir si se elimina la enfermedad de la población animal infectada. La inmunización o la eliminación de los animales infectados puede eliminar la enfermedad en los animales y, en consecuencia, en los humanos. Estos procedimientos casi han eliminado la brucelosis y la tuberculosis bovina en los humanos, y han controlado la encefalitis espongiforme bovina

(enfermedad de las vacas locas) causada por un prión (véanse Secciones 9.13 y 31.14) en el ganado vacuno en Reino Unido, Canadá y Estados Unidos. De paso, se ha mejorado la salud de la población de animales domésticos.

La erradicación es mucho más difícil cuando el reservorio de la enfermedad es un animal salvaje. La rabia, por ejemplo, es una enfermedad tanto de animales salvajes como domésticos que se transmite principalmente a los domésticos desde los salvajes. Así pues, el control de la rabia en los animales domésticos y en humanos se puede conseguir mediante la inmunización de los animales domésticos. Sin embargo, como la mayoría de casos de rabia en los Estados Unidos se da en animales salvajes (↻ Sección 30.1), la erradicación de la rabia requeriría la inmunización o la eliminación de todos los animales salvajes reservorios, entre los que se incluyen especies tan diversas como mapaches, murciélagos, mofetas y zorros. Aunque la inmunización oral contra la rabia es práctica y recomendada para su control en poblaciones restringidas de animales salvajes, su eficacia no se ha probado en poblaciones animales amplias y diversas como las reservas de animales salvajes en los Estados Unidos.

Cuando insectos como los mosquitos vectores que transmiten la malaria también son hospedadores necesarios, se puede lograr el control efectivo de la enfermedad eliminando el vector-hospedador con insecticidas u otros agentes. Sin embargo, el uso de sustancias químicas tóxicas o carcinógenas debe ajustarse a los intereses ambientales porque, en algunos casos, la eliminación de un problema de salud pública crea otro. Por ejemplo, el insecticida diclorodifeniltricloroetano (DDT) es muy eficaz contra los mosquitos y se le atribuye la erradicación de la fiebre amarilla y la malaria en América del Norte. Su uso, sin embargo, fue prohibido en los Estados Unidos en 1972 debido a sus efectos nocivos sobre la vida salvaje y el medio ambiente. El DDT se sigue usando en muchos países en vías de desarrollo para controlar las enfermedades transmitidas por los mosquitos, si bien se usa cada vez menos por todo el mundo.

Cuando los humanos somos el reservorio de la enfermedad (como, por ejemplo, en el caso del SIDA), el control y la erradicación pueden resultar difíciles, en especial si hay portadores asintomáticos. En cambio, hay enfermedades exclusivas de humanos que no tienen una fase asintomática. Si estas se pueden evitar mediante la inmunización o el tratamiento con fármacos antimicrobianos, la enfermedad puede ser erradicada si aquellos que han contraído la enfermedad y todos los posibles contactos son puestos en cuarentena estricta, inmunizados y tratados. Esta estrategia fue empleada con éxito por la Organización Mundial de la Salud para erradicar la viruela y en la actualidad se está utilizando para erradicar la poliomielitis, como se explicará más adelante.

Inmunización

La viruela, la difteria, el tétanos, la tosferina, el sarampión, las paperas (parotiditis), la rubeola y la poliomielitis se han controlado principalmente mediante la inmunización. La difteria, por ejemplo, ya no se considera una enfermedad endémica en los Estados Unidos. Se dispone de vacunas para otras muchas enfermedades infecciosas (↻ Tabla 24.4). Tal y como explicamos en la Sección 28.2, no se necesita que la inmunización alcance el 100 % para poder controlar la enfermedad en una población gracias a la inmunidad de grupo, aunque el porcentaje necesario para garantizar el control de la enfermedad varía con la infectividad y la virulencia del patógeno y con las condiciones de vida de la población (por ejemplo, hacinamiento).

Las epidemias de sarampión ofrecen un ejemplo de los efectos de la inmunidad de grupo. La reaparición ocasional del contagiosísimo virus del sarampión ($R_0 = 18$, Tabla 28.3) resalta la importancia de mantener unos niveles de inmunización adecuados contra un patógeno determinado. Hasta 1963, año en el que se autorizó una vacuna eficaz contra el sarampión, casi todos los niños estadounidenses pasaban el sarampión por infección natural, lo que daba lugar a más de 300.000 casos al año. Después de introducir la vacuna, el número de infecciones de sarampión anuales disminuyó rápidamente (**Figura 28.8**). El número de casos alcanzó un mínimo de 1.497 en 1983. Sin embargo, hacia 1990, el porcentaje de niños inmunizados contra el sarampión descendió al 70 % y el número de casos nuevos ascendió a 27.786. Un esfuerzo coordinado para elevar el nivel de inmunización frente al sarampión por encima del 90 % eliminó virtualmente la transmisión del sarampión autóctono en los Estados Unidos, y en 1993 se describieron solo 312 casos. Actualmente se notifican unos 100 casos de sarampión al año en los Estados Unidos, la mayoría debidos a infecciones importadas por los visitantes de otros países.

La mayoría de los niños estadounidenses están ya inmunizados adecuadamente, pero hasta el 80 % de los adultos carecen de una inmunidad eficaz contra las enfermedades infecciosas importantes porque la inmunidad que confieren las vacunaciones de la infancia disminuye con el tiempo. Cuando las enfermedades infantiles se producen en los adultos, pueden tener efectos devastadores. Por ejemplo, si una mujer embarazada contrae la rubeola (una enfermedad vírica que se previene con una vacuna) (↻ Sección 29.6) el feto puede sufrir trastornos graves de desarrollo y neurológicos. El sarampión, las paperas y la varicela son también enfermedades más graves en los adultos que en los niños.

Se recomienda que todos los adultos revisen su estado de inmunización y comprueben sus datos médicos para confirmar cuándo se inmunizaron, en especial quienes viajan al extranjero.

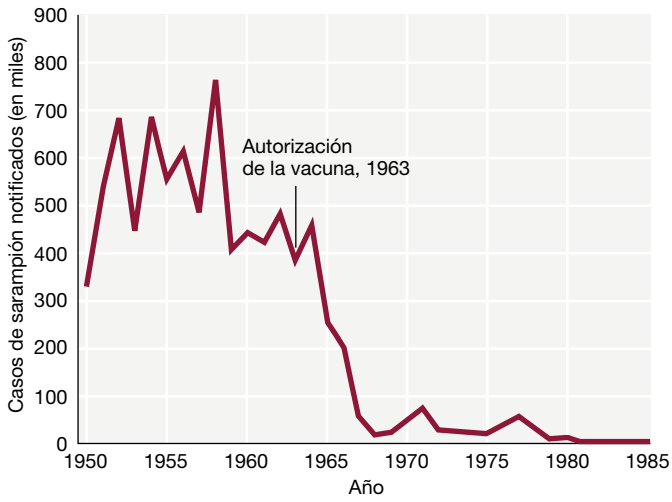


Figura 28.8 **Inmunización contra el sarampión en los Estados Unidos.** La introducción de una vacuna contra el sarampión eliminó la enfermedad como infección infantil habitual en 20 años.

La inmunización contra el tétanos, por ejemplo, se debe renovar al menos cada 10 años para proporcionar una inmunidad efectiva. Los estudios de las poblaciones de adultos indican que más del 10 % de los menores de 40 años y más del 50 % de los mayores de 60 años no están inmunizados adecuadamente. Las recomendaciones generales para la inmunización se explicaron en la Sección 24.6 y las de algunas infecciones concretas se tratarán desde el Capítulo 29 al Capítulo 32.

Aislamiento, cuarentena y vigilancia

El **aislamiento** consiste en la separación de las personas que tienen una enfermedad infecciosa de aquellas que están sanas. La **cuarentena** es la separación y reclusión de personas sanas que hayan podido estar expuestas a una enfermedad infecciosa para ver si desarrollan la enfermedad. La duración del aislamiento o de la cuarentena para una determinada enfermedad es el período de transmisibilidad más largo para dicha enfermedad. Para ser eficaces, estas medidas deben impedir que los individuos infectados, o que pudieran estarlo, se pongan en contacto con individuos vulnerables sin infectar.

Por acuerdo internacional, hay seis enfermedades que necesitan aislamiento y cuarentena: *viruela*, *cólera*, *peste*, *fiebre amarilla*, *fiebre tifoidea* y *borreliosis*. Todas son particularmente contagiosas y graves. La propagación de algunas otras enfermedades muy contagiosas como la fiebre hemorrágica ébola, el SARS, la gripe H5N1 y la meningitis también se pueden controlar mediante la cuarentena o el aislamiento en cuanto se detecta un brote.

La **vigilancia** es la observación, reconocimiento y notificación de las enfermedades en cuanto se producen. La Tabla 28.4 recoge las enfermedades que están bajo vigilancia actualmente en los Estados Unidos. Algunas de las enfermedades epidémicas (recogidas en la Tabla 28.2) y de las enfermedades emergentes (véase la Tabla 28.5) no aparecen en la lista de vigilancia. No obstante, muchas de estas enfermedades, como la gripe estacional, se estudian en laboratorios regionales que identifican los *casos índice*, aquellos casos de enfermedad que muestran una incidencia inusualmente alta, nuevos síndromes o características, o que están relacionados con patógenos nuevos o en evolución con gran capacidad para provocar una nueva epidemia.

Los **centros para el control y la prevención de enfermedades** (**CDC,** del inglés *Centers for Disease Control and Prevention*) en los Estados Unidos conforman la agencia del Servicio de Salud Pública estadounidense que vigila la tendencia de las enfermedades, proporciona información al público y a los profesionales sanitarios, y elabora la política pública relacionada con la prevención de las enfermedades y la intervención. El CDC ejecuta varios programas de vigilancia de enfermedades infecciosas. Por citar unos pocos, las enfermedades recogidas en la Tabla 28.4 se notifican a los CDC a través del Sistema de Vigilancia Nacional de Enfermedades de Declaración Obligatoria, que proporciona una base de datos que localiza tendencias a escala nacional y permite la planificación sanitaria nacional; las infecciones relacionadas con la sanidad pública se notifican a la Red de Seguridad Sanitaria Nacional (NHSN, por su nombre en inglés *National Healthcare Safety Network*) (↪ Sección 27.2); el Programa de Agentes de Bioterrorismo (*Select Agents Program*) gestiona las notificaciones de los posibles casos de bioterrorismo (Sección 28.8); los brotes de enfermedades infecciosas emergentes a escala mundial se describen en la Red Centinela de Infecciones Emergentes Globales (GeoSentinel). El objetivo general de la vigilancia es formular e implantar planes para el diagnóstico y el tratamiento de infecciones.

Tabla 28.4 Agentes infecciosos y enfermedades de declaración obligatoria en los Estados Unidos, 2013

Enfermedades causadas por bacterias	
Carbunco	Fiebre Q
Botulismo	Salmonelosis
Brucelosis	*Escherichia coli* productora de la toxina de Shiga (STEC)
Chancro	Shigelosis
Infección por *Chlamydia trachomatis*	Rickettsiosis maculada
Cólera	Síndrome del choque tóxico estreptocócico
Difteria	*Streptococcus pneumoniae*, enfermedad invasiva
Ehrlichiosis/Anaplasmosis	Sífilis, todas las etapas
Gonorrea	Tétanos
Haemophilus influenzae, enfermedad invasiva	Síndrome del choque tóxico (estafilococal)
Enfermedad de Hansen (lepra)	Tuberculosis
Síndrome urémico hemolítico	Tularemia
Legionelosis	Fiebre tifoidea
Listeriosis	*Staphylococcus aureus* resistente intermedio a la vancomicina (VISA)
Enfermedad de Lyme	*Staphylococcus aureus* resistentes a la vancomicina (VRSA)
Enfermedad meningocócica (*Neisseria meningitidis*)	Vibriosis (infecciones por *Vibrio* no colérico)
Tosferina	
Peste	
Psitacosis	
Enfermedades causadas por virus	**Enfermedades causadas por protistas**
Arbovirus (encefalitis y enfermedad no neuroinvasiva)	Babesiosis
Dengue	Criptosporidiosis
Síndrome pulmonar por Hantavirus	Ciclosporiasis
Hepatitis A, B, C	Malaria
Infección por VIH/SIDA	Giardiasis
Nueva gripe A	**Enfermedad causada por helmintos**
Sarampión	Triquinelosis (triquinosis)
Paperas	**Enfermedad causada por hongos**
Poliomielitis	Coccidioidomicosis
Rabia	
Rubeola	
Síndrome respiratorio agudo e intenso (SARS-CoV)	
Viruela	
Varicela (viruela loca)	
Fiebres hemorrágicas víricas	
Virus del Nilo Occidental	
Fiebre amarilla	

Erradicación de patógenos

La erradicación de los casos de viruela que se producen de forma natural se consiguió con un programa coordinado de erradicación de enfermedades. La viruela era una enfermedad cuyo reservorio eran únicamente los individuos con infecciones agudas de viruela, y la transmisión era exclusivamente de una persona a otra. Los individuos infectados transmitían la enfermedad a través del contacto directo con individuos que no se habían expuesto antes. Aunque la viruela, una enfermedad vírica, no responde a los tratamientos una vez adquirida, las prácticas de inmunización fueron muy eficaces: la vacunación con el cercano vaccinia virus (VACV, VV o virus vacuna) confirió una inmunidad completa.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) puso en marcha un plan de erradicación de la viruela en 1967. Debido al éxito de los programas de vacunación a escala mundial, la viruela endémica quedó confinada a África, Oriente Medio y el subcontinente indio. El personal de la OMS vacunó después a toda la gente de las restantes áreas endémicas con el objetivo de proporcionar inmunidad de grupo y directa a todos los contactos potenciales. Cada brote, o sospecha de brote, subsiguiente fue detectado por los equipos de la OMS, que se desplazaban al foco, ponían en cuarentena a los individuos con la enfermedad activa y vacunaban a todos los contactos. Para romper la cadena de posibles infecciones, inmunizaron a todos los que habían tenido trato con los contactos. Esta agresiva forma de vacunación eliminó la enfermedad natural activa en menos de diez años y la OMS anunció la erradicación de la viruela en 1980.

La poliomielitis, otra enfermedad vírica con reservorio exclusivo en humanos, también se puede prevenir con una vacuna eficaz y está siendo erradicada (la poliomielitis endémica ha desaparecido del hemisferio occidental). La OMS se enfrentó a la poliomielitis con una estrategia casi idéntica a la de la viruela, y en 1988 llevó a cabo un programa de inmunización masiva, concentrando los esfuerzos en las áreas endémicas que quedaban. En conjunto, se inmunizaron cerca de 2.000 millones de personas, principalmente niños, lo que se estima que previno unos 5 millones de casos de poliomielitis paralizante. Hacia 2012, la poliomielitis endémica estaba restringida a Nigeria, Pakistán y Afganistán. En 2011 solo se describieron 650 casos de poliomielitis. Los brotes individuales se tratan mediante la inmunización de todas las personas vulnerables en la región del foco.

La enfermedad de Hansen (lepra), otra enfermedad exclusiva de los humanos, es también objeto de erradicación. Los casos activos de lepra se pueden tratar hoy con eficacia mediante un tratamiento multifarmacológico que cura al paciente y también impide la propagación de *Mycobacterium leprae*, el agente causal (↻ Sección 29.4).

Hay más enfermedades transmisibles que son candidatas a la erradicación. Entre ellas se incluyen la enfermedad de Chagas (mediante el tratamiento de los casos activos y la destrucción del insecto vector del parásito *Trypanosoma cruzi* en la América tropical) (↻ Sección 32.6) y la dracunculiasis (mediante el tratamiento del agua potable en África, Arabia Saudí, Pakistán y otros lugares de Asia para impedir la transmisión del parásito *Dracunculus medinensis*, el gusano de Guinea). La erradicación de la sífilis es factible porque la enfermedad se encuentra solo en los humanos y es tratable. La difteria, provocada por *Corynebacterium diphtheriae*, ya no es endémica de América del Norte. La enfermedad se pudo erradicar mundialmente al aplicar unos estrictos protocolos de inmunización que la han eliminado casi por completo de América del Norte.

MINIRREVISIÓN

- Compare las medidas de salud públicas para controlar las enfermedades infecciosas ocasionadas por insectos vectores y portadores humanos.
- Describa los pasos seguidos para erradicar la viruela y la poliomielitis.

28.6 Comparaciones sobre salud mundial

La Organización Mundial de la Salud ha dividido el mundo en seis regiones geográficas con el propósito de recoger y notificar información sanitaria, como las causas de morbilidad y mortalidad. Estas regiones geográficas son África, América (América del Norte, el Caribe, América Central y América del Sur), el Mediterráneo Oriental, Europa, el Sureste de Asia y el Pacífico Occidental. Aquí comparamos los datos de mortalidad de una región relativamente desarrollada, América, con los de una región en vías de desarrollo, África.

Enfermedades infecciosas en América y en África: una comparativa

Las estadísticas de mortalidad en los países desarrollados y en los países en vías de desarrollo son significativamente diferentes, como queda de manifiesto al comparar los datos de América y de África en 2008, cuando la población mundial era de casi 6.900 millones. A escala mundial, murieron 60,8 millones de personas, lo que da una tasa de mortalidad de 8,8 muertes por cada 1.000 habitantes al año. De ellas, unos 15,8 millones (26 %) eran atribuibles a enfermedades infecciosas. En 2008, había 924 millones de personas en América y se produjeron 5,6 millones de muertes, o 6,1 muertes por cada 1.000 habitantes al año. Ese mismo año, en África había 837 millones de personas y se produjeron 14,1 millones de muertes, o 16,8 muertes por cada 1.000 habitantes al año. Estas estadísticas muestran con claridad las diferencias de mortalidad total entre los países desarrollados y los países en vías de desarrollo, pero un examen comparativo de las *causas* de mortalidad es todavía más esclarecedor.

La **Figura 28.9** muestra que la mayoría de muertes en África se debieron a las enfermedades infecciosas, mientras que en América, las causas principales de mortalidad fueron enfermedades no infecciosas como el cáncer, las enfermedades cardiovasculares y la diabetes. En África murieron unas 6,6 millones de personas por enfermedades infecciosas y la esperanza de vida era de 54 años. En África, el número de víctimas debido a las enfermedades infecciosas supuso el 10 % del total de muertes en el mundo. En marcado contraste, solo 672.000 personas murieron por enfermedades infecciosas en América, donde la esperanza de vida era de 76 años. En los países desarrollados, el incremento de la esperanza de vida es una consecuencia directa de la reducción en la tasa de muerte por infección durante el último siglo (↻ Figura 1.8). La mayor parte de esa reducción se debe a los avances en la salud pública. En cambio, la falta de

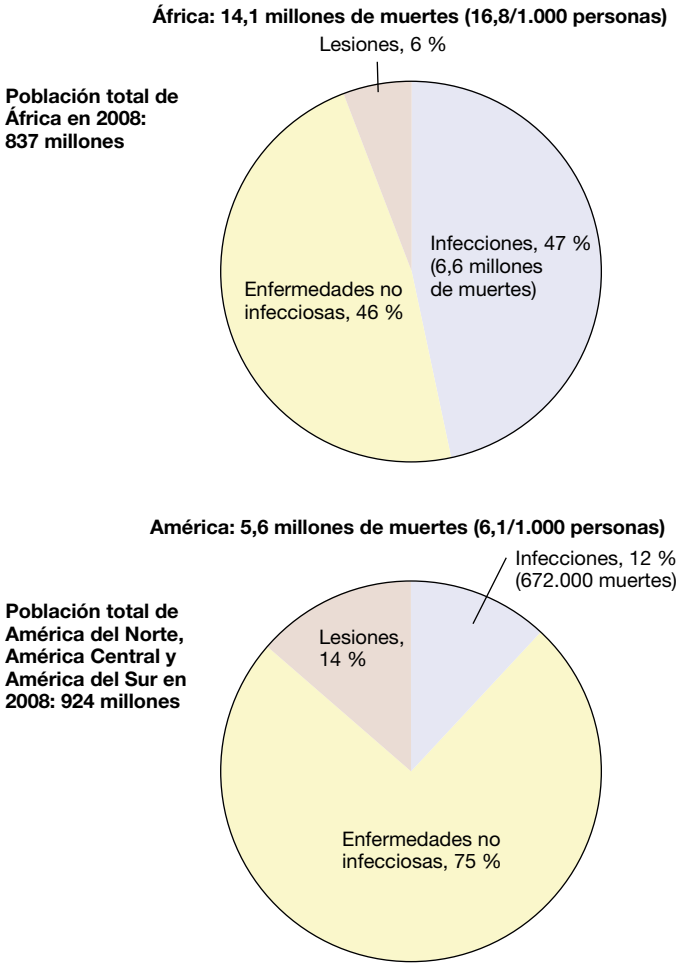


Figura 28.9 **Causas de muerte en África y América en 2008.** Las enfermedades no infecciosas incluyen cáncer, cardiovasculopatías y diabetes. Las lesiones incluyen accidentes, asesinatos, suicidios y guerras. Los datos proceden de la Organización Mundial de la Salud.

recursos de los países en vías de desarrollo limita el acceso a una higiene adecuada, a alimentos y agua seguros, a inmunizaciones, a atención sanitaria, y a medicamentos, lo que conlleva un incremento de las enfermedades infecciosas y, por extensión, una drástica reducción de la esperanza de vida.

Viajar a áreas endémicas

La elevada incidencia de enfermedades en muchas partes del mundo constituye un problema para quienes viajan a ellas. Sin embargo, los viajeros se pueden inmunizar contra muchas de las enfermedades que son endémicas en los países extranjeros. Cada dos años, los centros para el control y la prevención de enfermedades (http://www.cdc.gov/) publican y actualizan las recomendaciones específicas sobre inmunización para quienes viajan al extranjero.

En muchos países se piden certificados de inmunización contra la fiebre amarilla cuando se llega desde áreas con la fiebre amarilla endémica. Esas regiones incluyen a buena parte de las zonas ecuatoriales de América del Sur y de África. La mayor parte del resto de inmunizaciones no estandarizadas, como las de la rabia y la peste, están recomendadas solo para quienes se consideran de un alto riesgo, como los veterinarios. Los CDC resumen la información actual sobre el potencial de transmisión de las enfermedades infecciosas por todo el mundo, entre ellas las enfermedades contra las que no hay inmunizaciones eficaces (por ejemplo, el VIH/SIDA, la malaria, la fiebre hemorrágica ébola, el dengue, la amebiasis, la encefalitis y el tifus). Los viajeros deben tomar precauciones como evitar las relaciones sexuales sin protección, evitar las picaduras de insectos y las mordeduras de animales, beber solo agua con un tratamiento adecuado que destruya todos los microorganismos, comer alimentos conservados y preparados correctamente, y someterse a programas de tratamiento con antibióticos o quimioterapia como medida profiláctica o cuando se sospecha de una posible exposición. Aunque estas precauciones no garantizan que uno permanezca libre de enfermedades, cumplirlas reduce enormemente el riesgo de infección.

MINIRREVISIÓN

- Compare la mortalidad debida a enfermedades infecciosas en África y en América.
- Enumere las enfermedades infecciosas para las que usted no ha sido inmunizado y con las que podría entrar en contacto el próximo año.

UNIDAD 6

III • Enfermedades infecciosas emergentes

Constantemente están surgiendo nuevas enfermedades infecciosas y algunas enfermedades establecidas están resurgiendo con una frecuencia alarmante. Aquí tratamos algunas de estas enfermedades y las razones de su emergencia o reemergencia repentinas. También analizamos el potencial del uso deliberado de microorganismos infecciosos como agentes de guerra y terrorismo.

28.7 Enfermedades infecciosas emergentes y reemergentes

Las enfermedades infecciosas constituyen un problema de salud dinámico y global. En esta sección examinamos algunos patrones recientes de enfermedad infecciosa, algunas razones por las que cambian estos patrones, y los métodos utilizados por los epidemiológicos para identificar y tratar las nuevas amenazas para la salud pública.

Enfermedades emergentes y reemergentes

La distribución mundial de las enfermedades puede cambiar de forma drástica y veloz. Alteraciones en el patógeno, en el ambiente o en la población de hospedadores contribuyen a la propagación de nuevas enfermedades, potencialmente con alta morbilidad y mortalidad. Las enfermedades que se vuelven prevalentes de manera repentina se denominan **enfermedades emergentes**, enfermedades infecciosas cuya incidencia se incrementó recientemente o cuya incidencia amenaza con

incrementarse en un futuro cercano. Las enfermedades emergentes no son solo enfermedades «nuevas»; también incluyen a las **enfermedades reemergentes**, enfermedades que ya estaban controladas pero que, de repente, aparecen como una nueva epidemia.

En la Figura 28.1 se muestran ejemplos de enfermedades emergentes y reemergentes a nivel global, y en la Figura 28.10 se muestran ejemplos recientes. En la Tabla 28.5 se describen determinadas enfermedades con un elevado potencial de emergencia o reemergencia. Las enfermedades epidémicas recogidas en la Tabla 28.2 también tienen potencial para emerger o reemerger en forma de epidemias o pandemias.

Las enfermedades epidémicas emergentes no son un nuevo fenómeno. Entre las enfermedades que emergieron rápida y, a veces, incluso catastróficamente, en el pasado se encuentran la sífilis (causada por *Treponema pallidum*) y la peste (causada por *Yersinia pestis*). En la Edad Media, hasta un tercio de la población mundial murió como consecuencia de las epidemias de peste que asolaron Europa, Asia y África (↻ Capítulo 1, Explore el mundo microbiano, «La muerte negra descodificada» y Sección 30.7). La gripe provocó una pandemia devastadora a escala mundial entre 1918 y 1919, cobrándose más de 100 millones de vidas. En la década de 1980, el SIDA y la enfermedad de Lyme emergieron como nuevas enfermedades. Entre los patógenos emergentes importantes en la última década figura el virus del Nilo Occidental (↻ Sección 30.6) y la gripe pandémica de 2009 (H1N1), la cepa que emergió en la primavera de 2009 en México y que se propagó con rapidez por todo el mundo (Sección 28.11). Las autoridades sanitarias en todo el mundo están particularmente preocupadas por la posibilidad de una emergencia rápida de la gripe pandémica desarrollada a partir de la gripe aviar H5N1 (↻ Sección 29.8).

Factores de emergencia: demografía, uso del suelo y transporte

La Tabla 28.6 recoge algunos de los factores responsables de la emergencia de nuevos patógenos, algunos ejemplos actuales, y algunas epidemias atribuibles, al menos en parte, a estos factores de emergencia. La demografía y el comportamiento humano pueden afectar a la propagación de una enfermedad. En 1800, menos del 2 % de la población mundial vivía en áreas urbanas. Hoy, esa cifra se eleva casi al 50 %. La elevada densidad de hospedadores humanos en las ciudades facilita la transmisión de enfermedades. Por ejemplo, el dengue (Tabla 28.4) es una enfermedad grave que está ahora concentrada en las áreas urbanas tropicales y subtropicales, con hasta 100 millones de personas infectadas debido a la propagación del virus del dengue por parte del mosquito *Aedes aegypti* (Figura 28.11). Antes de 1981 no había dengue en América, ya que el mosquito vector, *Aedes aegypti*, no estaba presente (↻ Sección 30.5). Sin embargo, en 2003 tanto el mosquito como el virus del dengue estaban presentes en América Central y en los países tropicales de América del Sur, posiblemente llegados a los núcleos urbanos tropicales desde África en cargueros que transportaban mosquitos infectados junto con las mercancías. El comportamiento humano, en especial en los grandes centros de población, también contribuye a propagar las enfermedades. Por ejemplo, la promiscuidad sexual en los núcleos poblacionales contribuye a propagar la hepatitis y el VIH/SIDA.

Los avances tecnológicos y el desarrollo industrial tienen, por lo general, un impacto positivo sobre el nivel de vida en todo el mundo, pero en algunos casos estos avances han contribuido a la propagación de enfermedades. Por ejemplo, en los últimos años se ha incrementado enormemente el número y la clase

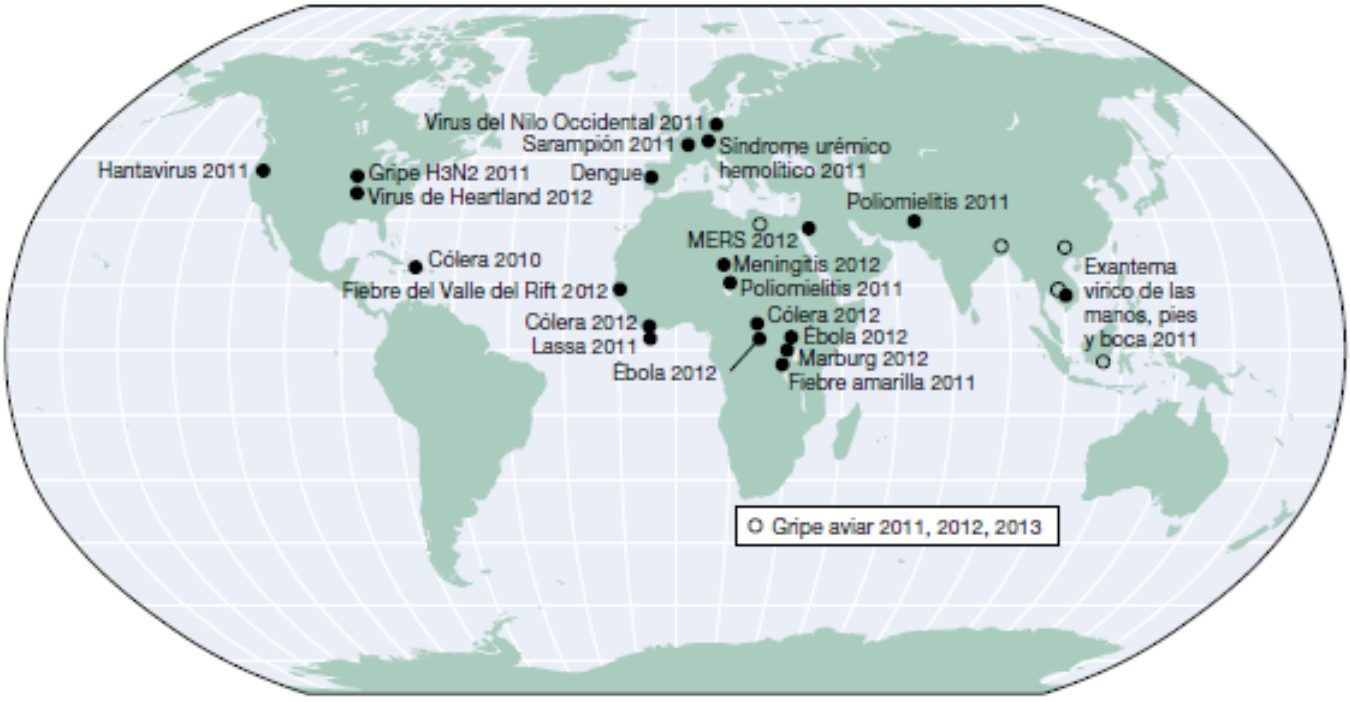


Figura 28.10 Brotes recientes de enfermedades infecciosas emergentes y reemergentes. Las enfermedades mostradas son brotes locales capaces de producir epidemias y pandemias generalizadas. No se muestran las enfermedades pandémicas establecidas, como el VIH/SIDA y el cólera, ni las enfermedades epidémicas anuales predecibles, como la gripe humana epidémica estacional.

Tabla 28.5 Enfermedades infecciosas epidémicas emergentes y reemergentes

Agente	*Enfermedad y síntomas*	*Modo de transmisión*	*Causa de la emergencia*
Bacterias, rickettsias y clamidias			
Borrelia burgdorferi	Enfermedad de Lyme: exantema, fiebre, anomalías neurológicas y cardíacas, artritis	Picadura de la garrapata infecciosa *Ixodes*	Incremento de las poblaciones humanas y de ciervos en zonas boscosas
Mycobacterium tuberculosis	Tuberculosis: tos, pérdida de peso, lesiones pulmonares	Gotitas de esputo (exhaladas al toser o estornudar) desde una persona con la enfermedad activa	Resistencia a antimicrobianos como la tuberculosis multirresistente (MDR TB) y la tuberculosis con resistencia múltiple extendida (XDR TB)
Vibrio cholerae	Cólera: diarrea severa, deshidratación rápida	Aguas contaminadas con las heces de personas infectadas; alimentos expuestos a aguas contaminadas	Saneamiento e higiene escasos; introducido en áreas no endémicas por viajeros infectados y comercio
Virus			
Dengue	Fiebre hemorrágica	Picadura de un mosquito infectado (principalmente *Aedes aegypti*)	Escaso control de los mosquitos; incremento de la urbanización en los trópicos; incremento de los viajes y el transporte de mercancías
Filovirus (Marburg, Ébola)	Fiebres hemorrágicas fulminantes de elevada mortalidad	Contacto directo con sangre, órganos, secreciones y semen infectados	Contacto con reservorios en vertebrados
Gripe H5N1 (gripe aviar)	Fiebre, cefalea, tos, neumonía, elevada mortalidad	Contacto directo con animales o humanos infectados, no se propaga con facilidad por aerosoles respiratorios	Peligro de recombinación entre el virus animal y el humano; cambio antigénico
Hongos			
Candida	Candidiasis: infecciones fúngicas del tubo digestivo, vagina y boca	La microbiota endógena se convierte en un patógeno oportunista; contacto con secreciones o excreciones de personas infectadas	Inmunosupresión; productos sanitarios (catéteres); uso de antibióticos

de infecciones asociadas a la asistencia sanitaria (↬ Sección 27.2). La resistencia de los microorganismos a los antibióticos es otro resultado negativo de las prácticas sanitarias modernas. Por ejemplo, los enterococos y estafilococos resistentes a la vancomicina, y los multirresistentes *Streptococcus pneumoniae* y *Mycobacterium tuberculosis*, son patógenos emergentes en los países desarrollados.

El desarrollo económico y los cambios en el uso del terreno también favorecen la diseminación de las enfermedades. Por ejemplo, la fiebre del Valle del Rift, otra infección vírica transmitida por mosquitos, ha estado aumentando desde que se terminó la presa de Asuán sobre el Río Nilo, en Egipto, en 1970. Una epidemia de fiebre del Valle del Rift se desarrolló inicialmente en Egipto en 1977, y se estimó que enfermaron unas

UNIDAD 6

Tabla 28.6 Factores de emergencia para las enfermedades infecciosas

Factor de emergencia	*Ejemplo*	*Patógeno/enfermedad*
Demografía y comportamiento humanos	Urbanización	VIH/SIDA, dengue
Tecnología e industria	Infecciones relacionadas con la asistencia sanitaria	Patógenos resistentes
Desarrollo económico y uso del suelo	Construcción de la presa de Asuán	Fiebre del Valle del Rift
	Cambio de los patrones recreativos y de alojamiento	Enfermedad de Lyme
Viajes y comercio internacionales	Distribución centralizada de alimentos	Infecciones de alimentos por *E. coli* O157:H7
	Transporte internacional de animales	Brotes de filovirus Marburg y Ébola-Reston
Adaptación y cambio de los patógenos	Mutaciones de los virus de RNA	Gripe pandémica (H1N1) 2009
Fracaso de la salud pública	Epidemia del cólera	Brote del cólera en Haití en 2010
	Inmunización inadecuada	Brotes de tosferina en Europa oriental y los Estados Unidos
Acontecimientos inusuales que alteran el equilibrio usual entre hospedador y patógeno	Clima suave que permite la expansión de la población de roedores	Brotes de hantavirus, Estados Unidos

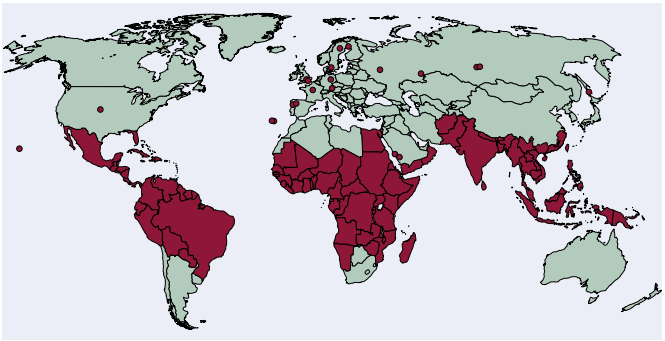


Figura 28.11 Virus del dengue de 2013. El virus del dengue se encuentra ahora en los países tropicales y subtropicales debido a la propagación por su vector, el mosquito *Aedes aegypti*. Las áreas en rojo son ahora endémicas para el virus y el mosquito vector. Los puntos rojos indican brotes fuera de las áreas endémicas conocidas. Antes de 1981, el virus del dengue era desconocido en América. Los datos proceden del CDC, Atlanta, Georgia, Estados Unidos.

200.000 personas y que 598 murieron; la enfermedad se considera ahora endémica cerca del embalse. La enfermedad de Lyme, la más frecuente de las enfermedades transmitidas por vectores en los Estados Unidos, aumenta continuamente debido en buena parte a los cambios en los patrones del uso del suelo (↻ Sección 30.4). La reforestación y el consiguiente incremento de las poblaciones de ciervos y ratones (los reservorios naturales de *Borrelia burgdorferi*, que provoca la enfermedad) han dado lugar a una mayor cantidad de garrapatas, el artrópodo vector. Las casas y áreas recreativas nuevas en los bosques o cerca de ellos, incrementan el contacto entre las garrapatas infectadas y los humanos, con el consiguiente incremento de la incidencia de la enfermedad.

El transporte, el procesamiento a gran escala y los métodos de distribución centralizados se han vuelto cada vez en más importantes para garantizar calidad y la rentabilidad en la industria alimentaria. Sin embargo, estos mismos factores pueden incrementar la posibilidad de epidemias de fuentes comunes cuando fallan las medidas sanitarias. En 2009, por ejemplo, una sola planta de procesamiento de carne en los Estados Unidos propagó la *Escherichia coli* O157:H7 a habitantes de ocho estados. Se retiró del mercado la fuente de contaminación alimentaria, la carne picada, y se detuvo la epidemia, pero no sin que antes murieran varias personas.

Los viajes y el comercio internacionales también afectan a la diseminación de los patógenos. Por ejemplo, los filovirus (*Filoviridae*), un grupo de virus de RNA, producen fiebres que acaban en una enfermedad hemorrágica en los hospedadores infectados (véase Explore el mundo microbiano, «Manejo de los virus de las fiebres hemorrágicas víricas», en el capítulo 30). Estas enfermedades víricas intratables suelen tener una tasa de mortalidad por encima del 20 %. La mayoría de los brotes se han circunscrito al África central ecuatorial, donde viven los primates hospedadores naturales y otros vectores (Figura 28.10), pero los viajes de posibles hospedadores hacia o desde las áreas endémicas, pueden provocar la transmisión de la enfermedad. Por ejemplo, uno de los filovirus llegó a Marburg (Alemania) en 1967 con un cargamento de monos verdes africanos (*Cercopithecus aethipops*) que se usaban para los estudios en laboratorios. El virus se propagó desde el hospedador primate a algunos humanos que los manejaban. Siete de las 31 personas infectadas murieron en este brote de lo que se conoció como el *virus de Marburg*. En 1989, otro cargamento de monos de laboratorio trajo un filovirus diferente a Reston, Virginia, en los Estados Unidos. El virus, que ahora denominamos Ébola-Reston, aparentemente no causaba ninguna enfermedad en los humanos, pero, al tener un modo de transmisión respiratoria eficaz, el Ébola-Reston infectó y mató a la mayoría de los monos del estabulario de Reston en cuestión de días. El elevado potencial de mortalidad de las infecciones por filovirus, especialmente de una de transmisión respiratoria, puede acabar asolando centros de población a escala mundial en cuestión de semanas.

Factores de emergencia: variación de los patógenos, fracaso de la salud pública y cambio climático

La adaptación de los patógenos y sus cambios pueden contribuir a la emergencia de enfermedades. Por ejemplo, casi todos los virus de RNA, como el de la gripe (↻ Sección 29.8), el VIH, y los virus de la fiebre hemorrágica, mutan con rapidez. Al carecer de mecanismos de corrección de mutaciones durante la replicación del RNA, estos virus incorporan mutaciones con una frecuencia muchísimo más elevada que la mayoría de los virus de DNA. Estos virus de RNA mutantes plantean importantes problemas epidemiológicos porque la alteración de sus genomas puede afectar a sus antígenos, haciendo que la inmunidad frente a los antiguos virus sea ineficaz para neutralizar a los mutantes (véase un ejemplo con la gripe en la Figura 29.27). Los mecanismos genéticos bacterianos son capaces de reforzar la virulencia y favorecer la aparición de nuevas epidemias. A menudo, los factores que refuerzan la virulencia se encuentran en bacteriófagos, plásmidos y transposones como elementos genéticos móviles que se pueden transferir entre miembros de la misma especie y, a veces, a otras especies y géneros. En la Tabla 28.7 se recogen algunos factores de virulencia móviles que pueden contribuir a la emergencia de los patógenos.

En ocasiones, el responsable de la emergencia o reemergencia de las enfermedades es un fallo en las medidas de salud pública. Por ejemplo, el cólera (causado por *Vibrio cholerae*) se puede controlar adecuadamente, incluso en áreas endémicas, mediante la correcta eliminación de las aguas residuales y el adecuado tratamiento del agua. En 2010, el suministro de agua contaminada, probablemente por unas inadecuadas medidas de saneamiento llevadas a cabo por las fuerzas de pacificación de las Naciones Unidas, llevó el cólera a Haití por primera vez en más de 100 años (Sección 28.10). En 1993, el suministro municipal de agua de Milwaukee (Wisconsin, Estados Unidos) se contaminó de *Cryptosporidium*, un protista resistente al cloro, y ocasionó más de 400.000 casos de enteropatías.

Los programas de vacunación pública inadecuados pueden llevar a la reaparición de enfermedades que ya estaban controladas. Por ejemplo, la tosferina, una enfermedad respiratoria de la infancia que se previene con una vacuna, ha aumentado recientemente en la Europa Oriental y en los Estados Unidos debido, en parte, a una inmunización inadecuada entre los adultos y los niños.

Finalmente, los acontecimientos naturales anormales alteran a veces el equilibrio habitual entre el hospedador y el patógeno. Por ejemplo, el hantavirus es un patógeno humano endémico en

Tabla 28.7 Factores de virulencia codificados por bacteriófagos, plásmidos y transposones

Elemento genético	*Organismo*	*Factores de virulencia*
Bacteriófago	*Streptococcus pyogenes*	Toxina eritrogénica
	Escherichia coli	Toxina de tipo Shiga
	Staphylococcus aureus	Enterotoxinas A, D, E, estafilocinasa, toxina 1 del síndrome del choque tóxico (TSST-1)
	Clostridium botulinum	Neurotoxinas C, D, E
	Corynebacterium diphtheriae	Toxina diftérica
Plásmido	*Escherichia coli*	Enterotoxinas, factor de colonización de los pili, hemolisina, ureasa, factor de resistencia al suero, factores de adherencia, factores de invasión celular
	Bacillus anthracis	Factor causante de edema, factor letal, antígeno protector, cápsula de ácido poli-D-glutámico
	Yersinia pestis	Coagulasa, fibrinolisina, toxina murina
Transposón	*Escherichia coli*	Enterotoxinas termoestables, sideróforos de aerobactina, operones de hemolisina y pili
	Shigella dysenteriae	Toxina de Shiga
	Vibrio cholerae	Toxina del cólera

algunas poblaciones de roedores (↪ Sección 30.2). En 1993, en el suroeste americano, se describió un número anormalmente elevado de casos de infecciones por hantavirus en humanos, con varios casos mortales, y que estaban asociados a la exposición a ratones silvestres, su orina y sus excrementos. La probabilidad de exposición a los ratones y a sus desechos aumentó debido a que unas copiosas lluvias, una temporada agrícola prolongada, y un invierno suave, dieron lugar a una población de ratones salvajes más numerosa de lo normal, lo que condujo a un incremento considerable del hospedador zoonótico y de la densidad de patógenos y a un aumento de la exposición de los hospedadores humanos vulnerables. Factores similares provocaron un brote de hantavirus en el Parque Nacional de Yosemite (California, Estados Unidos) en 2011 (Figura 28.10). A medida que avanza el calentamiento global, probablemente veamos alteraciones permanentes del clima que alterarán significativamente el abanico de hospedadores, vectores y patógenos.

Abordaje de las enfermedades emergentes

Las enfermedades emergentes tienen, por lo menos al principio, una incidencia baja y no suelen estar en la lista de enfermedades de declaración obligatoria para los Estados Unidos (Tabla 28.4). Las claves para abordar las enfermedades emergentes son el reconocimiento de la enfermedad y la intervención para evitar la transmisión del patógeno.

Las enfermedades emergentes son reconocidas primero por su incidencia epidémica única, sus agrupamientos, y otros patrones epidemiológicos y síntomas clínicos que no están relacionados con patógenos conocidos. Estas enfermedades requieren una vigilancia intensiva de la salud pública, acompañada de intervenciones específicas diseñadas para controlar los futuros brotes. Para contener los brotes, se pueden aplicar métodos tales como el aislamiento, la cuarentena, la inmunización y el tratamiento farmacológico. Para las enfermedades zoonóticas y de transmisión por vectores, se debe identificar el hospedador no humano o el vector para intervenir en el ciclo de vida del patógeno y detener la infección en humanos.

Los programas internacionales de vigilancia e intervención para la salud pública fueron decisivos para controlar la emergencia del síndrome respiratorio agudo grave (SARS), una enfermedad que emergió rápida, explosiva e impredeciblemente, a partir de una fuente zoonótica. Por otra parte, incluso una respuesta rápida y focalizada resultó incapaz de contener la propagación de la gripe pandémica (H1N1) en 2009 (Sección 28.11).

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué factores son importantes para la emergencia y reemergencia de posibles patógenos?
- Indique los métodos generales y específicos que serían útiles para identificar enfermedades infecciosas emergentes.

28.8 Guerra biológica y armas biológicas

La **guerra biológica** consiste en el uso de agentes biológicos para incapacitar o matar a una población militar o civil en un acto de guerra o de terrorismo. El uso y desarrollo de armas biológicas está prohibido por las leyes internacionales. No obstante, las armas biológicas se han utilizado contra objetivos en los Estados Unidos y plantas de producción de armas biológicas pueden estar en manos de diferentes gobiernos así como de reconocidos grupos terroristas.

Características de las armas biológicas

Las armas biológicas eficaces son patógenos o toxinas (1) fáciles de producir y entregar, (2) seguras para que las usen las fuerzas de ataque y (3) capaces de incapacitar o matar personas de una manera sistemática y consistente. Aunque las armas biológicas son potencialmente útiles en manos de fuerzas militares convencionales, lo más probable es que sean usadas por terroristas. Esto se debe, en parte, a la disponibilidad y al bajo coste

que tiene el producir y propagar muchos de los microorganismos útiles para la guerra biológica.

Prácticamente todas las bacterias o virus patógenos son potencialmente útiles para la guerra biológica y varios de los organismos candidatos más probables son relativamente fáciles de cultivar y diseminar. Los *patógenos peligrosos* que tienen un potencial significativo para ser utilizados como armas biológicas se presentan en la **Tabla 28.8**. Los candidatos mencionados con más frecuencia para su uso como armas biológicas son el virus de la viruela y *Bacillus anthracis*, la causa del carbunco.

Los centros para el control y la prevención de enfermedades clasifican los patógenos peligrosos en tres categorías por su potencial como arma biológica. El nivel de amenaza más elevado corresponde a los agentes de la Categoría A. Estos pueden ser diseminados fácilmente, por ejemplo mediante aerosoles, o fácilmente transmisibles de persona a persona. Típicamente, estos agentes causan una elevada mortalidad y, en consecuencia, provocan un gran impacto en la salud pública. Los preparativos para hacer frente a ataques por este tipo de agentes requieren un plan específico para cada uno de ellos. Loa agentes de la Categoría B son moderadamente fáciles de propagar, lo que provoca una morbilidad moderada y una baja mortalidad, y requieren mecanismos de vigilancia y de diagnóstico especializados. Los agentes de la Categoría C son patógenos emergentes para los cuales no se puede anticipar ningún plan específico de contención ni de control.

Viruela

El virus de la viruela tiene un potencial intimidatorio como arma biológica de Categoría A porque se puede propagar con facilidad por contacto o mediante aerosoles, y tiene una tasa de mortalidad del 30 % o más. Sin embargo, su potencial para ser utilizado como arma biológica militar se considera bajo porque las únicas reservas conocidas del virus de la viruela se encuentran en repositorios vigilados en los Estados Unidos y Rusia, y el personal militar, por norma, está vacunado. Sin embargo, sigue existiendo la posibilidad de que grupos terroristas o fuerzas militares tengan acceso al virus de la viruela y lo dispersen entre la población general. Por eso, el gobierno de los Estados Unidos ha tomado medidas para inmunizar contra la viruela al personal sanitario y de seguridad pública de primera línea.

A pesar de que existe una vacuna muy eficaz contra la viruela, que utiliza como inmunógeno el vaccinia virus, estrechamente emparentado, esta vacuna no se ha estado usando de forma general durante casi 40 años porque la variedad salvaje de la viruela se erradicó del planeta hace más de 35 años. La inmunización con vaccinia es muy eficaz, pero conlleva ciertos riesgos; entre una y dos personas, por cada millón de personas vacunadas, probablemente morirán por una complicación con el vaccinia virus. Por consiguiente, ya no se recomienda esta vacuna y más del 90 % de la población mundial está inadecuadamente inmunizada y es vulnerable a la enfermedad. Los preparativos frente a un posible ataque con la viruela en los Estados Unidos han incluido recomendaciones para la inmunización de determinados individuos: personas que estén en estrecho contacto con pacientes con la viruela; profesionales que evalúan, cuidan o transportan enfermos de viruela; personal de laboratorio que maneja muestras clínicas de enfermos de viruela; y otro personal, como el de mantenimiento, que podría entrar en contacto con materiales infecciosos de los enfermos de viruela.

Tabla 28.8 Agentes patógenos y enfermedades según la categoría de amenaza como armas biológicas[a]

Categoría A
Agentes de la más alta prioridad que suponen un riesgo para la seguridad nacional. Se propagan o transmiten con facilidad y dan lugar a una tasa de mortalidad alta. Requieren una acción especial de alerta de salud pública.
Enfermedad/patógeno
Carbunco (*Bacillus anthracis*)
Botulismo (toxina de *Clostridium botulinum*)
Peste (*Yersinia pestis*)
Viruela (*Variola major*)
Tularemia (*Francisella tularensis*)
Fiebres hemorrágicas víricas (filovirus [p. ej., Ébola, Marburg] y arenavirus [p. ej., Lassa, Machupo])
Categoría B
Agentes de segunda prioridad más alta. Estos agentes son moderadamente fáciles de diseminar, dan lugar a una morbilidad moderada y a una mortalidad baja, y requieren mejoras específicas de la capacidad diagnóstica de la salud pública y de la vigilancia de enfermedades.
Enfermedad/patógeno
Brucelosis (especies de *Brucella*)
Toxina épsilon de *Clostridium perfringens*
Amenazas de seguridad alimentaria (p. ej., *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157:H7, *Shigella*)
Muermo (*Burkholderia mallei*)
Melioidosis (*Burkholderia pseudomallei*)
Psitacosis (*Chlamydophila psittaci*)
Fiebre Q (*Coxiella burnetii*)
Toxina de ricino de *Ricinus communis* (semillas de ricino)
Enterotoxina B estafilocócica (*Staphylococcus aureus*)
Fiebre tifoidea (*Rickettsia prowazekii*)
Encefalitis vírica (alfavirus como los de la encefalitis equina de Venezuela, la encefalitis equina oriental, la encefalitis equina occidental)
Amenazas de seguridad del agua (*Vibrio cholerae*, *Cryptosporidium parvum* y otros)
Categoría C
Los agentes de tercera prioridad más alta son patógenos emergentes que están disponibles, se producen y se diseminan con facilidad, y tienen una gran capacidad de provocar morbilidad y mortalidad altas.
Patógenos
Enfermedades infecciosas emergentes, como el hantavirus

[a]Fuente: Centros para el Control y la Prevención de las Enfermedades, Atlanta (Georgia, Estados Unidos).

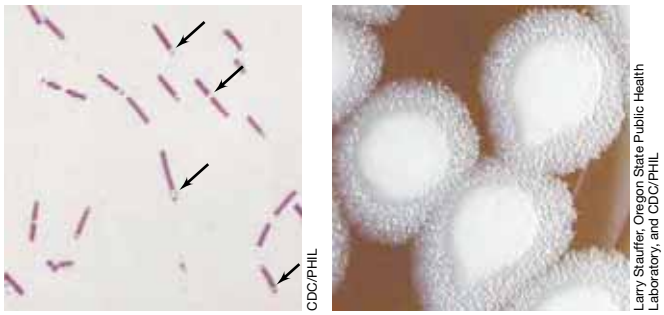
Carbunco

Bacillus anthracis, una bacteria del suelo saprofítica y ubicua, es un agente de bioterrorismo y guerra biológica de Categoría A. Sus propiedades únicas lo hacen particularmente útil como arma biológica. Crece como un bacilo aerobio grampositivo y

produce endósporas resistentes al calor y a la desecación, y forma colonias características en las placas de agar de sangre (**Figura 28.12**). La formación de endósporas refuerza la capacidad para diseminar *B. anthracis* mediante aerosoles.

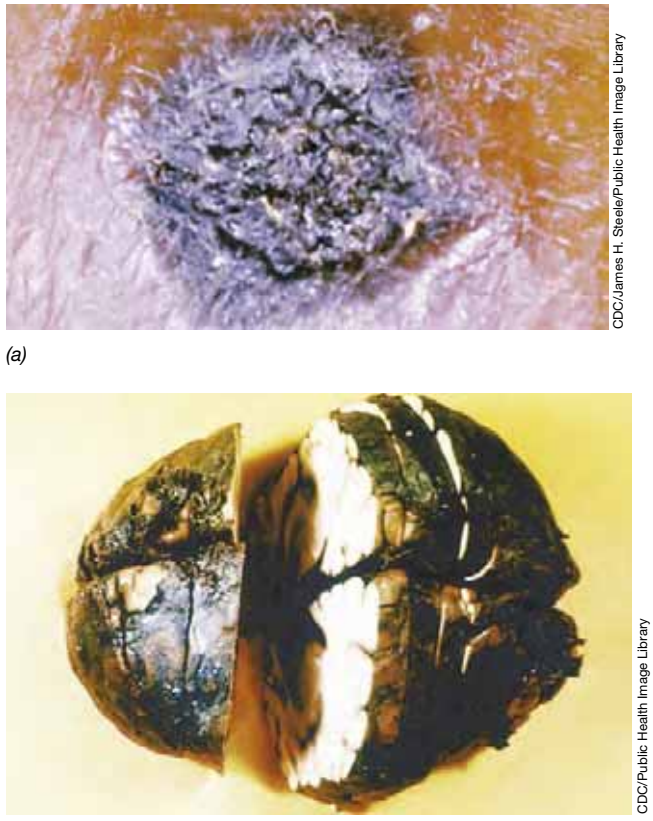
Las endósporas de *B. anthracis* constituyen el medio normal de contraer el carbunco; la patología del carbunco se trata detalladamente en la Sección 30.8. Los animales y los humanos adquieren ocasionalmente las esporas por contacto con plantas o suelo contaminados. Hay tres formas de la enfermedad. El *carbunco cutáneo* (**Figura 28.13*a***) se contrae cuando la piel erosionada se contamina con endósporas de una cepa de *B. anthracis* toxigénica productora de cápsulas de ácido poli-D-glutámico. Los casos de carbunco cutáneo en humanos son raros en los Estados Unidos. El *carbunco intestinal* se contrae por el consumo de plantas contaminadas con endósporas o de carne de animales infectados con el carbunco. El carbunco intestinal de los humanos es también rara en los Estados Unidos. El *carbunco por inhalación* (también llamada carbunco pulmonar) se contrae cuando se inhalan las endósporas. La inhalación de las endósporas o de las bacterias vivas da lugar a infecciones pulmonares caracterizadas por hemorragia pulmonar y cerebral (Figura 28.13*b*). Si no se trata, el carbunco pulmonar tiene una tasa de mortalidad próxima al 100 %. Afortunadamente, esta infección, incluso entre los trabajadores agrícolas, es muy poco frecuente. El caso más reciente de carbunco pulmonar adquirida de forma natural en los Estados Unidos se produjo en 1976. Sin embargo, en 2001 se identificaron varios casos de carbunco pulmonar provocados por ataques de bioterrorismo en los Estados Unidos.

La patogenia es resultado de la inhalación de endósporas de *B. anthracis* toxingénico. Las cepas patógenas producen tres importantes proteínas de virulencia: *antígeno protector* (PA), *factor letal* (LF) y *factor de edema* (EF). El PA y el LF forman la *toxina letal*. El PA y el EF forman la *toxina de edema* (↬ Tabla 23.5). El crecimiento de *B. anthracis* en los ganglios y tejidos linfáticos produce dolor de garganta, fiebre y dolores musculares. Los síntomas de la toxemia creciente aumentan en pocos días para incluir dificultades respiratorias y el choque sistémico. La tasa de mortalidad se acerca al 90 %, incluso cuando se ha detectado la exposición y se ha iniciado el tratamiento, y es de casi el 100 % en los casos en los que el tratamiento no se comienza hasta que no aparecen los síntomas.



(a) (b)

Figura 28.12 ***Bacillus anthracis***. *(a) Bacillus anthracis* es un bacilo grampositivo formador de endósporas cuyo diámetro es de aproximadamente 1 µm y cuya longitud es de 3-4 µm. Obsérvense las endósporas en desarrollo (flechas). *(b)* Aspecto característico de «cristal molido» que presentan las colonias de *B. anthracis* en las placas de agar sangre.



(a) (b)

Figura 28.13 **Carbunco**. *(a)* Carbunco cutáneo. Lesión ennegrecida de unos 2 cm en el antebrazo de un paciente, debida a una necrosis del tejido. *(b)* La carbuncosis pulmonar puede provocar hemorragias cerebrales, como demuestra la coloración oscura de este cerebro humano fijado y seccionado. Véase también la Figura 30.21.

Las cepas *armamentísticas* (*weaponized*) de carbunco suelen ser preparaciones de endósporas que tienen propiedades que favorecen su diseminación. Tales cepas y preparaciones se desarrollaron en varios países después de la II Guerra Mundial, pero el desarrollo de nuevas armas biológicas fue prohibido por el tratado internacional de 1972. Las características físicas de las preparaciones armamentísticas de carbunco incluyen típicamente partículas de pequeño tamaño mezcladas con un agente particulado muy fino, como el talco. Esta forma pulverulenta garantiza que las endósporas se dispersarán fácilmente gracias a las corrientes de aire. Así pues, abrir un sobre que contenga endósporas, o liberar la mezcla de polvo y endósporas en un sistema de ventilación u otra corriente de aire, puede contaminar las áreas circundantes y al personal.

En 2001 se llevaron a cabo ataques con carbunco en los Estados Unidos mediante el envío de sobres o paquetes que contenían esporas armamentísticas de carbunco. En conjunto, los ataques produjeron 22 casos de carbunco, 11 de los cuales fueron de carbunco cutáneo y 11 de carbuncosis pulmonar; como resultado de los ataque murieron cinco personas. Estos incidentes en los Estados Unidos no fueron ni el primero ni el más

grave caso de infección por carbunco utilizado como arma biológica. En 1979, se liberaron involuntariamente esporas de *B. anthracis* a la atmósfera desde una instalación de armas biológicas en Sverdlovsk, Rusia. Se liberó menos de 1 g de endósporas, y se inmunizó a todos los que se encontraban en el área que rodeaba a la instalación y se les administró un tratamiento preventivo con antibióticos en cuanto se diagnosticó el primer caso de carbunco. A pesar de la rapidez con la que se tomaron las medidas, 77 personas de fuera de la instalación contrajeron carbuncosis pulmonar y 66 fallecieron.

La vacunación contra el carbunco se limita a las personas que se considera que están en riesgo, incluidos los granjeros, agricultores y el personal militar.

Distribución de las armas biológicas

Al igual que el carbunco, los microorganismos más adecuados para su uso como armas biológicas se pueden diseminar con aerosoles, lo que proporciona una propagación amplia, rápida y simple que facilita la infección. Los ejemplos de otras exposiciones a aerosoles resultan ilustrativos.

Uno de los últimos brotes de viruela en un país desarrollado se produjo en Alemania en 1962. Un trabajador alemán desarrolló la viruela a su vuelta de Pakistán, donde la viruela era aún endémica. El paciente, que tenía tos, fue hospitalizado y puesto en cuarentena inmediatamente; su tos distribuyó el virus como aerosol y provocó 19 casos de viruela y una muerte, a pesar de que todos los individuos infectados habían sido inmunizados.

Antes de los ataques con carbunco de 2001 ya se habían planificado ataques bioterroristas en los Estados Unidos y otros países. En 1984, en The Dalles (Oregón, Estados Unidos), los terroristas rociaron las ensaladas del mostrador de diez restaurantes con un cultivo de *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, lo que causó 751 casos de salmonelosis alimentaria en una región que normalmente tenía menos de 10 casos al año. En 1995, un grupo terrorista liberó gas nervioso sarín, un arma química, en el metro de Tokio, matando a varias personas y lesionando a muchas más. Este incidente es relevante para el debate sobre las armas biológicas porque este grupo también poseía cultivos de carbunco, medios bacteriológicos, drones y depósitos de spray. Intentaron al menos un ataque biológico, pero no tuvieron éxito.

La distribución de toxinas bacterianas sintéticas, como la toxina botulínica o la enterotoxina estafilocócica, a grandes poblaciones puede no ser práctica porque la mayoría de las exotoxinas son proteínas que pierden eficacia conforme se diluyen o desnaturalizan, y se destruyen en fuentes corrientes como el agua. Sin embargo, la distribución de toxinas podría destinarse a determinados individuos y grupos pequeños, o administrarse aleatoriamente para infundir el pánico.

Prevención y respuesta frente a las armas biológicas

Ya se pusieron en marcha medidas activas contra el despliegue de armas biológicas con una actualización periódica de los acuerdos internacionales de la Convención sobre Armas Biológicas y Tóxicas de 1972. La quinta actualización, la más reciente, tuvo lugar en 2002. A nivel práctico, los gobiernos están apoyando la producción y distribución a gran escala de vacunas así como el desarrollo de planes estratégicos y tácticos de prevención y control de las armas biológicas.

El gobierno de los Estados Unidos, a través de los centros para el control y la prevención de enfermedades (CDC), ha desarrollado el sistema de vigilancia del programa de agentes de bioterrorismo (*Select Agent Program*) para vigilar la posesión y el uso de posibles patógenos con fines bioterroristas. Se ha mejorado tanto la red de laboratorios de respuesta del CDC como la red de alertas sanitarias para potenciar su capacidad de diagnóstico e incrementar la capacidad de notificación de los centros de salud locales y regionales para identificar con rapidez los actos de bioterrorismo así como las enfermedades emergentes (Tabla 28.5).

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué características hacen a un patógeno o a sus productos particularmente útiles como arma biológica?
- Indique las etapas que llevaría a cabo para identificar y tratar las infecciones del virus de la viruela o del carbunco en un ataque bioterrorista.

IV • Pandemias actuales

Aquí examinamos los datos recogidos por los programas de vigilancia de enfermedades a escala nacional y mundial que proporcionan un cuadro de los patrones de enfermedades actuales y emergentes para tres de las enfermedades pandémicas principales: SIDA, cólera y gripe.

28.9 La pandemia de VIH/SIDA

El SIDA es una enfermedad que comienza con la infección de un individuo con el virus de inmunodeficiencia humana (VIH), lo que conduce a la enfermedad clínica, el SIDA (síndrome de inmunodeficiencia adquirida), una enfermedad que ataca al sistema inmunitario (↪ Sección 29.14).

El VIH/SIDA en cifras

Los primeros casos de SIDA notificados se diagnosticaron en los Estados Unidos en 1981. Desde entonces se han descrito más de 1 millón de casos en los Estados Unidos y más de 500.000 muertes. En 2009 se dieron 36.870 infecciones nuevas por VIH, y 35.741 en 2010. Desde 1989 se han diagnosticado y descrito cada año más de 33.000 nuevos casos de SIDA (**Figura 28.14**); de 800.000 a 1,3 millones de personas viven con el VIH/SIDA en los Estados Unidos.

Entre 1981 y 2010, se han infectado con el VIH más de 80 millones de personas en todo el mundo. Unos 46 millones de personas ya han muerto de SIDA y otros 34 millones están infectados con el VIH en la actualidad (**Tabla 28.9**), la mayoría

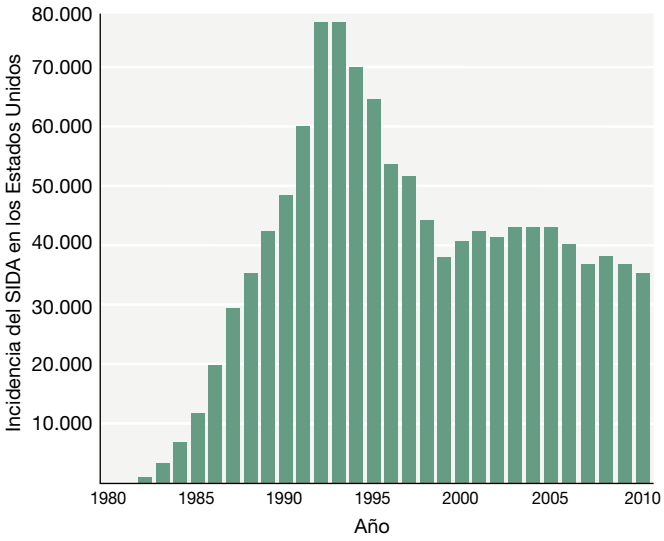


Figura 28.14 Nuevos casos anuales del virus de inmunodeficiencia humana y del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (VIH/SIDA) en los Estados Unidos. Acumulativamente, se contabilizaron aproximadamente 1,1 millones de casos de VIH/SIDA hasta 2010. En 2009, la definición de casos del VIH/SIDA cambió para incluir todas las nuevas infecciones por VIH y los diagnósticos de SIDA. Los datos proceden de HIV/AIDS Surveillance Report and Division of HIV/AIDS Prevention —Surveillance and Epidemiology, CDC, Atlanta, Georgia, EE. UU.

de ellos (23,5 millones) en el África subsahariana. Globalmente, cada año se producen 2,5 millones de infecciones nuevas del VIH y aproximadamente 1,7 millones de muertes, de las que 1,2 millones que se producen en el África subsahariana.

Epidemiología del VIH/SIDA

Inicialmente, los casos estudiados en los Estados Unidos en los años ochenta sugerían una alta prevalencia del SIDA entre los varones homosexuales y los consumidores de drogas por vía intravenosa. Esto indicaba que había un agente transmisible, que presumiblemente se transfería durante la actividad sexual o por agujas contaminadas con sangre. Las personas que recibían transfusiones de sangre o hemoderivados también eran de alto riesgo: contrajeron el SIDA los hemofílicos que necesitaban infusiones de hemoderivados que procedían de múltiples donantes, al igual que un pequeño número de individuos que recibieron transfusiones de sangre o transplantes de tejidos antes de 1982 (cuando se implantaron los procedimientos de control y análisis de la sangre). Hoy en día, la incidencia del VIH en los hemofílicos y en los receptores de transfusiones y órganos casi ha desaparecido gracias al control riguroso de la sangre y de los productos biológicos.

Poco después del descubrimiento del VIH, se desarrollaron ensayos de inmunoabsorción y pruebas de inmunotransferencia (↔ Sección 27.9) para detectar anticuerpos contra el virus en una muestra de sangre. Una amplia vigilancia de la incidencia y de la prevalencia del VIH definió su diseminación y garantizó que los nuevos casos no se transmitieran por transfusiones de sangre. El patrón ilustrado en la **Figura 28.15** es típico de un agente transmisible por la sangre y otros líquidos corporales. La identificación de grupos definidos de alto riesgo confirmó que el VIH no se transmitía entre personas por contacto casual, como por vía respiratoria, ni por alimentos o agua contaminados. En cambio, se identificó que los líquidos corporales, principalmente la sangre y el semen, eran los vehículos de transmisión del VIH.

La Figura 28.15 muestra que, en los Estados Unidos, el número de casos de SIDA es desproporcionadamente alto entre los varones homosexuales, pero los patrones en las mujeres y en algunos grupos étnicos y raciales indicaron que la homosexualidad masculina no era el único factor de riesgo para adquirir el SIDA. Entre las mujeres, por ejemplo, el grupo de heterosexuales es el de mayor riesgo, mientras que entre los hombres hispanos y afroamericanos, tanto el consumo de drogas por vía intravenosa como la actividad sexual están relacionados con la infección del VIH.

Las diferencias raciales en la tasa de incidencia del VIH en los Estados Unidos indican que los factores sociales y económicos también contribuyen al riesgo de infección. Los afroamericanos contrajeron el 44 % de las nuevas infecciones por VIH

Tabla 28.9 Infecciones de VIH/SIDA a escala mundial, 2011[a]

Localización	*Infecciones de VIH/SIDA*
América	3,0 millones
Europa Central y Occidental	0,9 millones
Europa Oriental y Asia Central	1,4 millones
África	23,8 millones
Asia Oriental y el Pacífico	0,9 millones
Sur y Sureste de Asia	4,0 millones
Oceanía	53.000 millones

[a]El número total de individuos infectados con el VIH/SIDA se estima que es de unos 34 millones. Aproximadamente 1,7 millones de personas murieron de SIDA en 2011. Los datos son de la Organización Mundial de la Salud.

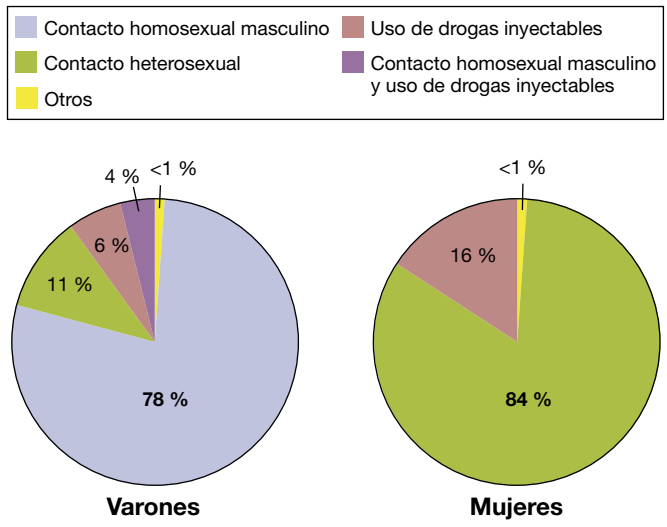


Figura 28.15 Distribución de los casos de SIDA por grupo de riesgo y sexo en los adolescentes y en los adultos de los Estados Unidos en 2010. La información se obtuvo de 38.000 varones y 9.500 mujeres diagnosticados con VIH/SIDA en 2010. Los datos proceden del CDC, Atlanta, Georgia, EE.UU.

en 2010, aunque solo representaban el 14 % de la población del país. Los varones negros suponían el 70 % de estas infecciones; la incidencia de nuevas infecciones del VIH en varones negros fue siete veces mayor que en varones blancos.

El estudio de individuos con riesgo elevado de contagiarse de SIDA indica que casi todos los que se contagian del VIH hoy en día comparten dos patrones de comportamiento específicos. En primer lugar, llevan a cabo actividades (sexo o consumo de drogas) en las que se intercambian líquidos corporales, normalmente semen o sangre. En segundo lugar, intercambian líquidos corporales con muchas personas distintas, mediante la actividad sexual, el consumo de drogas con agujas compartidas, o ambos. En cada encuentro tienen la probabilidad de recibir fluidos corporales de un individuo infectado con el VIH y, por tanto, la posibilidad de infectarse con el VIH.

Una madre infectada, o también la leche materna, pueden transmitir VIH al feto; en 2010 hubo 162 nuevos casos de infección del VIH perinatal en los Estados Unidos. Los niños nacidos de madres infectadas con el VIH tienen en su sangre anticuerpos contra el VIH procedentes de la madre. Sin embargo, para validar un diagnóstico positivo de infección por VIH en los niños se debe esperar un año, o más, tras el parto, porque un 70 % de los niños que nacen con anticuerpos maternos contra el VIH no muestran luego signos la infección.

En África, lo normal es la transmisión heterosexual del VIH. En algunas regiones se infectan con VIH menos hombres que mujeres. La identificación de grupos de alto riesgo, como las prostitutas, ha conducido al desarrollo de campañas de educación sanitaria que informan al público de los métodos de transmisión del VIH y definen las conductas de alto riesgo. Puesto que no existe cura ni inmunización eficaz contra el VIH/SIDA, el enfoque más eficaz sigue siendo la educación en salud pública. La patología y la terapia del SIDA se tratan en la Sección 29.14.

MINIRREVISIÓN

- Describa los principales factores de riesgo para quedar infectado por el VIH. Adapte la respuesta a su país de origen.
- Prediga cuántas personas vivirán con el VIH/SIDA en los próximos dos años.

28.10 Pandemias de cólera

El cólera es una enfermedad diarreica grave que en la actualidad está circunscrita casi exclusivamente a los países en vías de desarrollo. Es un ejemplo de enfermedad grave transmitida por el agua que se puede controlar con la aplicación de medidas de salud pública adecuadas. Se calcula que la incidencia global oscila entre 3 y 5 millones de casos al año, la mayoría sin notificar, que se estima que provocan unas 100.000-120.000 muertes. La biología, la patogenia y el tratamiento del cólera se abordan en la Sección 31.3. Aquí nos centramos en la epidemiología de las pandemias de cólera, incluido el reciente brote de Haití.

Epidemiología

Normalmente, el cólera se contrae por la ingestión de agua contaminada con *Vibrio cholerae*, una especie de *Proteobacteria* gramnegativa con forma de bacilo curvado. Al igual que muchas enfermedades transmitidas por el agua, el cólera también se puede adquirir mediante el consumo de alimentos contaminados (↔ Sección 31.3).

El cólera es endémico en África, el sureste de Asia, el subcontinente indio y América Central y del Sur. El cólera epidémico se produce con frecuencia en las regiones donde el tratamiento de las aguas residuales es inadecuado o del todo inexistente. A escala mundial, en 2008 se notificaron 190.130 casos y 5.143 muertes por cólera, de los que más del 98 % se produjeron en África. Se han descrito unos 100.000 casos o más al año desde el año 2000, con un mínimo de 95.560 casos en 2004 y un máximo de 589.854 en 2011 (**Figura 28.16**).

La Organización Mundial de la Salud estima que solo se notifican el 5-10 % de los casos de cólera, por lo que su incidencia total supera el millón de casos al año. La enfermedad supone una amenaza incluso en los países desarrollados. Cada año se notifican unos cuantos casos en los Estados Unidos, pero raramente por culpa del agua. La mayoría son importados, a menudo en los alimentos. Unos pocos posiblemente sean de fuentes endémicas; el marisco crudo parece ser el vehículo común más habitual, presumiblemente porque *V. cholerae* puede vivir libre en las aguas costeras de las regiones endémicas donde se adhiere a los microorganismos marinos que ingiere el marisco (↔ Sección 31.3).

El cólera epidémico puede volverse una pandemia cuando los viajeros de áreas endémicas se llevan el patógeno a nuevas localizaciones con poblaciones vulnerables. Desde 1817, el cólera ha asolado el mundo en siete pandemias importantes, casi seguidas (**Figura 28.17**). Todas las pandemias de cólera se originaron en el subcontinente indio, donde es endémico. Se han identificado dos cepas pandémicas distintas de *V. cholerae*, conocidas como los biotipos *clásico* y *El Tor*. El biotipo *V. cholerae* O1

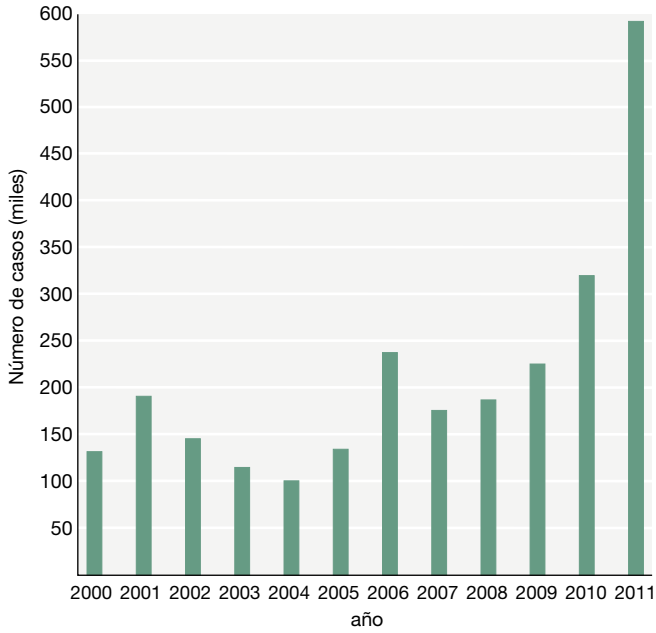


Figura 28.16 **Casos de cólera**. Los casos de cólera notificados entre 2000 y 2011 muestran una tendencia creciente, lo que indica que la séptima pandemia no ha terminado (o que ha comenzado la octava). Hasta un 95 % de los casos de cólera quedan sin notificar. Los datos proceden de la Organización Mundial de la Salud.

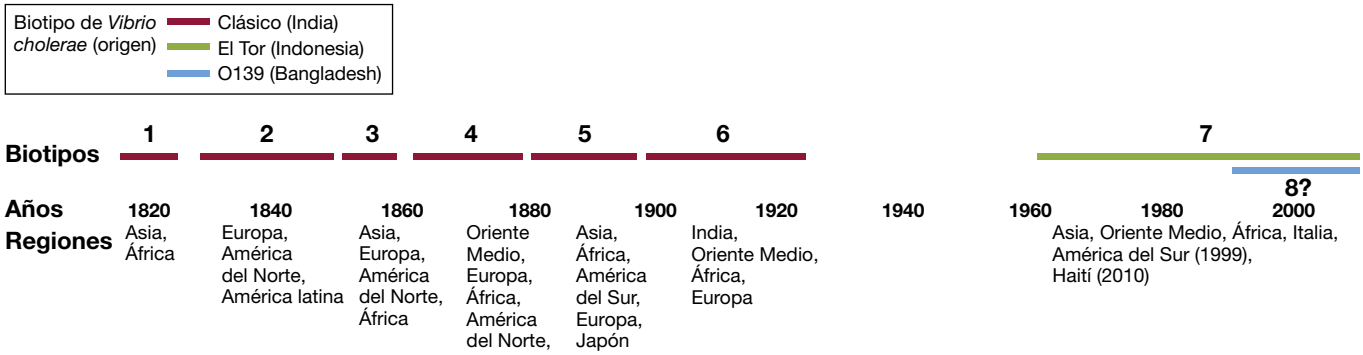


Figura 28.17 Cronología de las pandemias de cólera. Se han producido siete pandemias de cólera casi continuas durante más de 200 años. La séptima pandemia comenzó en 1961 y no ha terminado. La cepa O139 que apareció en 1991 es endémica de Bangladesh y el Valle de Bengala, y está causando una epidemia que puede ser el preludio de una octava pandemia.

El Tor originó la séptima pandemia en Indonesia en 1961 y todavía sigue propagándose. Esta pandemia ha provocado más de 5 millones de casos de cólera y, al menos, 250.000 muertes, y continúa siendo una causa importante de morbilidad y mortalidad, en especial en los países en vías de desarrollo. En 1992, una variante genética del biotipo El Tor conocida como *V. cholerae* O139 Bengal surgió en Bangladesh y originó una gran epidemia. El *V. Cholerae* O139 Bengal sigue propagándose desde 1992, ha ocasionado varias epidemias importantes y puede ser la causa de una octava pandemia.

Brote haitiano

En octubre del 2010, Haití sufrió su primer caso de cólera en más de 100 años. En julio de 2012, se contabilizaron 581.952 casos y 7.455 muertes por cólera, sin que el final esté a la vista. El brote comenzó como consecuencia de un terremoto catastrófico en 2010. Hubo dos posibles desencadenantes del brote de cólera, el primero fue una situación clásica de poca higiene, y el segundo una importación accidental de una fuente externa.

A partir de los datos climáticos y de la posibilidad de que el terremoto que hubiera alterado las aguas costeras en las que *Vibrio cholerae* es endémico en los microorganismos, algunos científicos propusieron la hipótesis de que los vibriones habían crecido de manera explosiva en el mar y se habían infiltrado en las aguas dulces costeras, donde contaminaron las fuentes de agua. Las malas condiciones sanitarias tras el terremoto incluían destrucción de las infraestructuras de tratamiento del agua potable y de las aguas residuales que, según pensaron, proporcionaron el escenario perfecto para la aparición de un brote.

La segunda posibilidad era que el brote fuera el resultado de un mal saneamiento y una mala eliminación de los residuos de un batallón de las fuerzas de paz de las Naciones Unidas (ONU). Las tropas habían llegado del Nepal, donde se acababa de producir un brote de cólera. Las aguas residuales de su campamento se evacuaron al río Artibonite, una importante fuente de agua para buena parte de Haití. Los primeros casos se dieron en las ciudades cercanas al río Artibonite y al campamento de la ONU, tierra adentro de las áreas costeras que hubieran sido, probablemente, los lugares iniciales de un brote cuyo origen estuviera en el mar. La secuenciación genómica confirmó que la cepa responsable del brote de Haití era casi idéntica al serogrupo O1 de *V. cholerae*, serotipo Ogawa, la cepa que había provocado el reciente brote de Nepal. Este serotipo nunca se había visto antes en el hemisferio occidental.

Aunque a los científicos no se les permitió tomar muestras de los soldados nepalíes, tanto los datos obtenidos mediante epidemiología clásica y como molecular confirman, casi con total seguridad, de que estas tropas habían introducido el cólera en Haití. De allí se extendió a la República Dominicana, el país vecino de Haití en la isla de La Española, a otras áreas del Caribe y a México.

MINIRREVISIÓN

- Identifique la manera más probable de contraer el cólera.
- ¿Por qué siguen apareciendo pandemias de cólera?

28.11 Pandemias de gripe

La pandemia de gripe de 2009-2010 comenzó con un brote en México. Cambios genéticos importantes del genoma del virus de la gripe A provocan que, con una periodicidad de entre 10 y 40 años, se produzca una nueva pandemia (↔ Tabla 29.2). La gripe como enfermedad se trata con detalle en la Sección 29.8.

Gripe porcina (o gripe A). Gripe (H1N1) pandémica 2009

En marzo del 2009 comenzó una pandemia de gripe con el brote epidémico de México. La típica variación antigénica anual, llamada *deriva antigénica*, se debe a mutaciones puntuales del RNA del genoma de la gripe. Estas mutaciones no suelen provocar pandemias, pero sí provocan brotes anuales de gripe. Las cepas de gripe pandémicas surgen de un cambio mucho mayor en el genoma vírico denominado *cambio antigénico*. En la pandemia de «gripe porcina» (oficialmente [H1N1] 2009 pandémico, en España más conocida como gripe A), los cerdos mexicanos se infectaron simultáneamente con la gripe porcina, la gripe aviar y la gripe humana (↔ Figura 29.27). Durante la maduración vírica, segmentos del RNA genómico de los virus, en este caso con tres orígenes, se mezclan y se empaquetan para formar virus genéticamente únicos, en un proceso que se denomina *recombinación*. Estos *virus recombinantes* provocan nuevas pandemias a medida que las nuevas cepas se mezclan en los animales vulnerables y se propagan a las poblaciones humanas expuestas (↔ Sección 29.8).

Un virus que surja por cambio antigénico es muy posible que contenga antígenos a los que ningún humano haya estado expuesto antes. Esto significa que no existe inmunidad contra el nuevo virus; la única manera de que los humanos adquieran inmunidad para una nueva cepa pasa por ser infectados (o inmunizados artificialmente) y generar una respuesta inmunitaria. Casi nadie con menos de 50 años estaba inmunizado contra el virus de la pandemia (H1N1) 2009 porque nunca habían estado expuestos a cepas víricas H1N1 similares. El resultado fue que muchas de las muertes provocadas por esta pandemia fueron de personas menores de 50 años que estaban sanas hasta que se infectaron con el virus. No obstante, el (H1N1) 2009 pandémico está relacionado con la pandemia de gripe de 1957 denominada «gripe asiática» y, aun anterior, con la pandemia de gripe de 1918, que mató a más de 2 millones de personas en todo el mundo. Por tanto, la mayoría de personas con 50 años o más probablemente se habían infectado con una cepa del virus de la gripe relacionado con el virus pandémico (H1N1) 2009 y tenían células inmunitarias y anticuerpos (memoria inmunitaria) que respondieron para luchar contra este virus pandémico. Las personas más jóvenes, por desgracia, no tenían memoria inmunitaria contra el (H1N1) 2009 pandémico.

Al cabo de seis meses desde su aparición, el (H1N1) 2009 pandémico ya estaba presente en casi todos los países del mundo, causando una mortalidad significativa en la mayoría de ellos. El patrón de propagación era similar al de la gripe estacional, pero tenía una diferencia importante. El virus comenzó a propagarse desde un foco inicial de infección en México y en suroeste de los Estados Unidos en marzo, muy a finales de la estación tradicional de la gripe de invierno. En vez de extinguirse, como hacen la mayoría de brotes de la gripe estacional al final del invierno, el (H1N1) 2009 pandémico siguió propagándose durante los meses de verano en los Estados Unidos, en especial en las poblaciones más vulnerables, como los niños en los campamentos juveniles. La estación de la gripe de 2009-2010 en los Estados Unidos no siguió el patrón de infección típico de la gripe estacional; la incidencia máxima se produjo en octubre y noviembre y disminuyó durante la estación habitual del máximo de gripe, entre enero y marzo (**Figura 28.18**). En el hemisferio sur, donde la estación de la gripe va desde abril a septiembre, la cepa pandémica se diseminó con todas las características de la gripe estacional.

Futuras pandemias de gripe

Quizás la mayor amenaza para la bioseguridad mundial es otra pandemia de gripe que tiene la virulencia y la infectividad de la de 1918. Las autoridades de salud pública a escala mundial vigilan la aparición de una gripe aviar potencialmente devastadora denominada gripe A H5N1, también llamada *gripe aviar*. El H5N1 apareció primero en Hong Kong en 1997, por un salto directo desde el hospedador aviar a los humanos. El virus H5N1 ha reemergido varias veces durante la última década, y los brotes más recientes se han producido en Egipto, Indonesia, Camboya, Bangladesh y China (Figura 28.10). A lo largo de 2012 se confirmaron 610 casos de infecciones humanas por H5N1 con 360 muertes, o sea, una tasa de mortalidad de casi el 60 %.

El virus H5N1 se propaga directamente de las aves, como los pollos o los patos domésticos, a los humanos por un contacto prolongado o el consumo de carne infectada; el contagio entre humanos solo se da tras el contacto cercano y prolongado, pero algunas notificaciones indican que el H5N1 ha infectado a los cerdos. Si se produce una nueva recombinación con las cepas de gripe humana, un nuevo virus recombinante para el que los humanos no tenemos inmunidad podría desencadenar una pandemia de gripe con capacidad para provocar una mortalidad sin precedentes. Se han puesto en marcha planes nacionales e internacionales para proporcionar vacunas adecuadas y apoyo contra las posibles pandemias que se inicien con esta y otras cepas emergentes de gripe. Existe una vacuna recombinante para el virus H5N1 de acceso restringido.

MINIRREVISIÓN

- Identifique las características del (H1N1) 2009 pandémico que la diferencian de una epidemia estacional de la gripe.
- ¿Por qué la gripe aviar H5N1 se considera una amenaza importante para la salud?

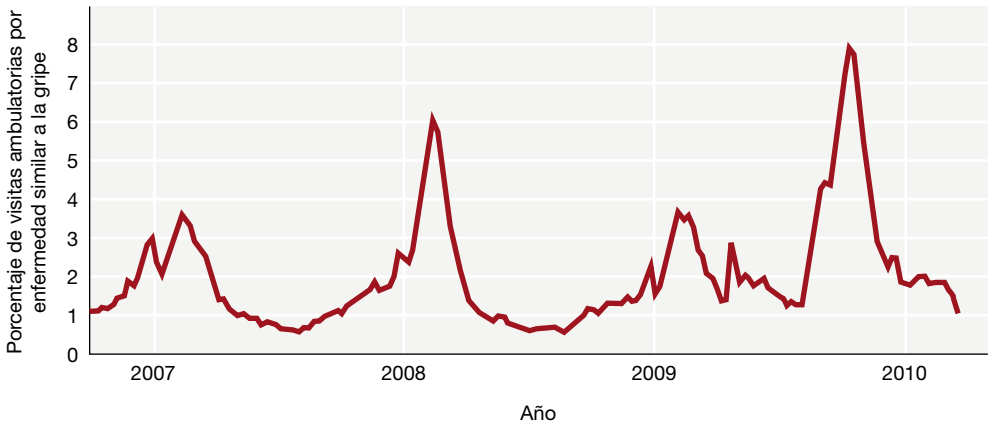


Figura 28.18 Incidencia de la gripe en los Estados Unidos. El virus pandémico de la gripe (H1N1) 2009 tuvo una incidencia más alta de lo normal a partir de mediados de 2009 y durante 2010. En la estación de gripe de 2009-2010, la incidencia máxima de la enfermedad fue más alta que en las tres estaciones anteriores, y se produjo 3-4 meses antes de lo normal. Los datos están adaptados del CDC, Atlanta, Georgia, EE.UU.

IDEAS PRINCIPALES

28.1 • La epidemiología es el estudio de la incidencia, la distribución y los factores determinantes de salud y enfermedad en las poblaciones. Una enfermedad endémica está siempre presente con una incidencia baja en la población, mientras que una enfermedad epidémica es aquella cuya incidencia se ha incrementado hasta valores inusualmente altos en la población. La incidencia es un registro de los nuevos casos de una enfermedad, mientras que la prevalencia es un registro de casos totales de una enfermedad en una población. Las enfermedades infecciosas provocan morbilidad (enfermedad) y pueden ocasionar mortalidad (muerte). Una enfermedad infecciosa sigue un patrón clínico predecible en el hospedador.

28.2 • Para conocer una enfermedad infecciosa hay que estudiar los efectos tanto en las poblaciones como en los individuos. Las interacciones de los patógenos con los hospedadores pueden ser dinámicas y afectar a la supervivencia y evolución a largo plazo de todas las especies implicadas. La inmunidad de grupo proporciona una protección frente a la enfermedad para los hospedadores sin infectar o sin inmunizar.

28.3 • Las enfermedades infecciosas se pueden transmitir de forma directa de un hospedador a otro, de forma indirecta a partir de vectores vivos u objetos inanimados (fómites), o a partir de vehículos de fuente común, como los alimentos y el agua. Las epidemias pueden originarse desde un hospedador o desde una fuente común.

28.4 • Existen muchos patógenos exclusivos de humanos y que se mantienen solo mediante su transmisión entre las personas. Sin embargo, muchos otros patógenos humanos tienen reservorios en el suelo, en el agua o en los animales. El conocimiento de los reservorios de la enfermedad, de los vehículos y del ciclo de vida de los patógenos es decisivo para controlar las epidemias de las enfermedades.

28.5 • Las normativas de pureza de los alimentos y del agua, el control de los vectores, la inmunización, la cuarentena, el aislamiento y el seguimiento de las enfermedades son medidas de salud pública que reducen la incidencia de las enfermedades transmisibles.

28.6 • Las enfermedades infecciosas son responsables de casi el 25 % de las muertes a escala mundial. La mayoría de los casos de enfermedades infecciosas se dan en los países en vías de desarrollo. El control de las enfermedades infecciosas se puede llevar a cabo mediante medidas de salud pública.

28.7 • Los cambios del hospedador, del vector o de las condiciones de los patógenos, tanto si son naturales como artificiales, pueden alentar la emergencia o reemergencia explosivas de las enfermedades infecciosas. Deben ponerse en marcha programas de vigilancia e intervención globales para prevenir las nuevas epidemias y pandemias.

28.8 • El bioterrorismo constituye una amenaza en un mundo de viajes internacionales rápidos e información técnica de acceso fácil. Los agentes biológicos los pueden utilizar como armas las fuerzas militares o los grupos terroristas. Los aerosoles o fuentes comunes, como los alimentos o el agua, constituyen la forma más probable de distribución. Las medidas de prevención y contención dependen de una infraestructura de salud pública bien preparada.

28.9 • El VIH/SIDA es un problema importante de salud pública a escala mundial que afecta a quienes intercambian líquidos corporales. El mayor riesgo lo tienen quienes tienen relaciones sexuales promiscuas y sin protección, o consumen drogas por vía intravenosa.

28.10 • Se han producido pandemias de cólera casi constantemente durante los últimos 200 años. El control del cólera se puede conseguir si se mantienen unas medidas adecuadas de tratamiento del agua y de saneamiento de los residuos.

28.11 • Las pandemias de gripe se producen de forma cíclica. Las nuevas cepas pandémicas de gripe que se generan por recombinación de las gripes aviar-porcina-humana representan la amenaza infecciosa predecible más grande a escala mundial.

MasteringMicrobiology®

Revise lo que sabe y descubra lo que ha aprendido con MasteringMicrobiology. Acceda a material de estudio, revisiones de los capítulos, animaciones y tutoriales de microbiología práctica en el Área de Estudio y asegúrese de que ha asimilado todo el contenido de este capítulo.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Aislamiento: en el contexto de una enfermedad infecciosa, separación entre las personas que tienen una enfermedad infecciosa y las sanas.
Brote: aparición de un gran número de casos de una enfermedad en un corto período de tiempo.
Centros para el control y la prevención de enfermedades (CDC, del inglés *Centers for Disease Control and Prevention*): agencia del Servicio de Salud Pública de los Estados Unidos que hace el seguimiento de las enfermedades, proporciona información sobre ellas al público y a los profesionales sanitarios, y establece normas para la prevención e intervención de las enfermedades.
Cuarentena: separación y reclusión de personas sanas que hayan podido estar expuestas a una enfermedad infecciosa para ver si desarrollan la enfermedad.
Enfermedad emergente: enfermedad infecciosa cuya incidencia aumentó recientemente o amenaza con incrementarse en un futuro próximo.
Enfermedad endémica: enfermedad que siempre está presente, normalmente en poca cantidad, en una población.
Enfermedad reemergente: enfermedad infecciosa que estaba bajo control, pero que produce una nueva epidemia.
Epidemia: aparición de una enfermedad con cifras de infección inusualmente altas en una población localizada.
Epidemia de fuente común: infección (o intoxicación) de un gran número de personas a partir de una fuente común contaminada, como los alimentos o el agua.
Epidemia de hospedador a hospedador: epidemia que resulta del contacto entre personas, caracterizada por un aumento y una caída graduales del número de casos nuevos.
Epidemiología: estudio de la incidencia, la distribución y los factores determinantes de salud y enfermedad en una población.
Fómite: objeto inanimado que, cuando se contamina con un patógeno viable, puede transferirlo a un hospedador.
Guerra biológica: uso de agentes biológicos para incapacitar o matar una población militar o civil en un acto de guerra o terrorismo.
Incidencia: número de casos nuevos de enfermedad notificados en una población en un determinado período de tiempo.
Infección aguda: infección de corta duración, normalmente caracterizada por un comienzo brusco.
Infección crónica: infección perdurable en el tiempo.
Inmunidad de grupo: resistencia de una población a un patógeno como resultado de la inmunidad de una gran parte de la población.
Morbilidad: incidencia de una enfermedad en una población.
Mortalidad: incidencia de muertes en una población.
Número básico de reproducción (R_0): número de transmisiones secundarias de una enfermedad, esperado a partir de cada caso único, en una población completamente vulnerable.
Pandemia: epidemia a escala mundial.
Portador: individuo infectado, pero asintomático, que puede propagar una enfermedad.
Prevalencia: número total de casos, nuevos y existentes, de una enfermedad en una población y en un determinado espacio de tiempo.
Reservorio: fuente de agentes infecciosos de la que pueden infectarse los individuos vulnerables.
Salud pública: salud de una población en conjunto.
Vector: agente vivo que transfiere un patógeno (no es lo mismo que vector genético, explicado en el Capítulo 11).
Vehículo: fuente inanimada de patógenos que los transmite a un gran número de individuos; vehículos comunes son los alimentos y el agua.
Vigilancia: observación, reconocimiento y notificación de enfermedades a medida que se producen.
Virulencia: capacidad relativa de un patógeno para provocar la enfermedad.
Zoonosis: enfermedad que se da principalmente en los animales, pero que se puede transmitir a los humanos.

PREGUNTAS DE REPASO

1. Diferencie entre los términos *aguda* y *crónica*, *mortalidad* y *morbilidad*, *prevalencia* e *incidencia*, y *epidemia* y *pandemia*, en relación con una enfermedad infecciosa. (Sección 28.1)
2. ¿Cómo protege la inmunidad de grupo a los miembros de la población que están sin inmunizar, a la hora de contraer una enfermedad? ¿Funcionará la inmunidad de grupo contra las enfermedades que tienen una fuente común, como el agua? ¿Por qué? (Sección 28.2)
3. Dé ejemplos de transmisión de una enfermedad de hospedador a hospedador por contacto directo. Dé también ejemplos de transmisión indirecta de hospedador a hospedador a través de agentes vectores y fómites. (Sección 28.3)
4. Identifique los reservorios de enfermedad para el botulismo, la gonorrea y la peste. ¿Cómo influyen los reservorios en nuestra capacidad para controlar o erradicar la enfermedad? (Sección 28.4)
5. Describa las principales medidas médicas y de salud pública desarrolladas en el siglo XX, que fueron determinantes para controlar la propagación de las enfermedades infecciosas en los países desarrollados. (Sección 28.5)
6. Compare la contribución de las enfermedades infecciosas a la mortalidad en los países desarrollados y en vías de desarrollo. (Sección 28.6)
7. Revise los principales motivos para la emergencia de enfermedades infecciosas nuevas. ¿De qué métodos disponemos para identificar y controlar la emergencia de nuevas enfermedades infecciosas? (Sección 28.7)
8. Describa las propiedades generales de un agente efectivo de guerra biológica. ¿Cumplen la viruela y *Bacillus anthracis* estos criterios? Identifique otros organismos que cumplan los requisitos básicos de un arma biológica. (Sección 28.8)

9. Identifique los principales factores de riesgo para infectarse con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) en los Estados Unidos. ¿Resulta válido este patrón para otras regiones geográficas? (Sección 28.9)
10. Revise la pandemia de cólera actual. ¿Dónde y cuándo comenzó? (Sección 28.10)
11. ¿Por qué la gripe H5N1 se considera una amenaza biológica muy importante? (Sección 28.11)

EJERCICIOS PRÁCTICOS

1. La viruela, una enfermedad que estaba limitada a los humanos, se erradicó. La peste, una enfermedad con un reservorio zoonótico en los roedores (véase Sección 30.7), no puede ser erradicada. Explique esta afirmación y porqué está o no de acuerdo con la posibilidad de erradicar la peste a escala mundial. Idee un plan para erradicar la peste en un entorno acotado, como un pueblo o ciudad. Asegúrese de que utiliza métodos que impliquen tanto al reservorio como al patógeno y al hospedador.

2. Identifique un patógeno que pudiera ser adecuado como agente en la guerra biológica y que no esté catalogado como agente de Categoría A o B (Tabla 28.8). Describa las propiedades del patógeno en el contexto de su uso como arma biológica. Describa el equipamiento y otros recursos necesarios para cultivar el patógeno en grandes cantidades. Identifique un método de distribución adecuado. Si tuviera que propagarlo usted mismo, describa las precauciones de autoprotección que adoptaría para convertirlo en un arma y distribuirlo. Ahora invierta su papel. Como autoridad de salud pública en su comunidad, describa cómo reconocería y diagnosticaría la enfermedad ocasionada por el agente. Indique las medidas que tomaría para tratar las enfermedades provocadas por el agente. ¿Cómo restringiría al máximo el daño? ¿Resultarían útiles el aislamiento y la cuarentena? ¿Y la inmunización y los antibióticos?

3. El virus de la inmunodeficiencia humana/síndrome de inmunodeficiencia adquirida (VIH/SIDA) es una enfermedad que se puede eliminar porque se propaga por contacto entre personas y no hay reservorios animales conocidos. ¿Está de acuerdo o en desacuerdo con esta afirmación? Explique la respuesta. Diseñe un programa para eliminar el VIH/SIDA de un país desarrollado y de uno en vías de desarrollo. ¿En que se diferenciarían estos programas? ¿Qué factores estarían en contra del éxito de su programa, tanto en términos de conducta humana como de progresión de la enfermedad? ¿Por qué sigue creciendo el número de pacientes con VIH/SIDA, en especial en los países en vías de desarrollo? La incidencia del VIH/SIDA (nuevos casos) en los países desarrollados casi no ha cambiado en este siglo (Figura 28.14). Sin embargo, se incrementa el número de individuos que viven con el VIH/SIDA. Explique esta contradicción.

4. La gripe aviar H5N1 tiene la capacidad de generar una pandemia de gripe en determinadas circunstancias. Explique las condiciones en las que la gripe aviar puede propagarse como una epidemia en los humanos. Si evolucionase en Asia una cepa humano-aviar, desde la perspectiva de una autoridad de salud pública nacional, ¿qué medidas emplearía para detener la propagación de la nueva gripe a los Estados Unidos? Si no consigue contener el nuevo virus, basándose en las cifras de mortalidad conocidas para la cepa de la gripe aviar actual y suponiendo que el 10 % de la población se haya infectado, prediga el número total de muertes en los Estados Unidos.

CAPÍTULO

29 · Enfermedades bacterianas y víricas transmitidas de persona a persona

microbiología **actual**

¿Se avecina otra pandemia de gripe?

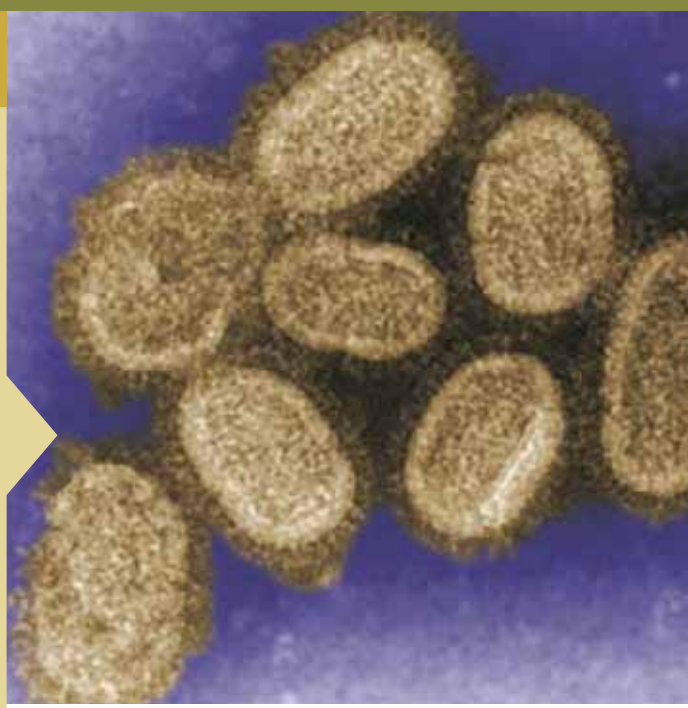
En 1918, una pandemia (o epidemia mundial) de gripe asoló el mundo: infectó a 500 millones de personas, de las cuales murió cerca de una quinta parte. La cepa pandémica de aquel virus de la gripe era especialmente virulenta, y mató a muchas personas que, en otras circunstancias, hubieran estado sanas. En 2005, los científicos recuperaron la cepa mortal de la gripe de 1918 (en la fotografía) a partir de tejidos de una de sus víctimas, para determinar la causa de su extrema virulencia.

A las autoridades sanitarias actuales les preocupa que puedan formarse nuevos virus de la gripe de gran virulencia a partir del intercambio genético entre diferentes cepas. Se sabe que los virus de la gripe que infectan a humanos también pueden infectar a aves y a cerdos. Cuando un animal es infectado por más de una cepa, sus genes se pueden mezclar (mediante un proceso llamado recombinación) para formar virus con nuevas propiedades. Una preocupación actual es que la cepa del virus de la gripe H5N1, causante de importantes brotes que afectaron a aves de corral y salvajes, pero que no se transmite bien a humanos ni entre humanos, pueda reagruparse y desencadenar una nueva pandemia de gripe humana.

Los científicos se centran en estudiar cómo la H5N1 gana transmisibilidad en un nuevo hospedador. En un importante estudio[1], los investigadores se sorprendieron al descubrir que uno o dos genes diferentes transferidos al virus H5N1 desde una cepa de gripe humana reciente (H1N1), permitía al H5N1 dispersarse por vía aérea entre cobayas (*Cavia porcellus*), un fenómeno nuevo en este virus. De este modo, los cambios en el patrón de transmisión del virus de la gripe pueden producirse muy rápidamente y a partir de un intercambio genético mínimo.

Los virus de la gripe son patógenos especialmente peligrosos, porque se propagan fácilmente a través de microgotas de mucosa contaminadas, y su genética les permite convertirse rápidamente en transmisibles dentro de nuevos hospedadores. ¿Se está gestando una nueva pandemia de gripe humana? Permanezcamos alerta.

[1]Zhang, Y., *et al.* (2013). H5N1 hybrid viruses bearing 2009/H1N1 virus genes transmit in guinea pigs by respiratory droplet. *Science 340*: 1459-1463.



I Enfermedades bacterianas de transmisión aérea 930
II Enfermedades víricas de transmisión aérea 939
III Enfermedades por contacto directo 945
IV Infecciones de transmisión sexual 949

En la naturaleza pueden existir millones de especies de microorganismos, pero solo unos cuantos centenares de ellos provocan enfermedades. En este capítulo y en los tres siguientes, nos centramos en este importantísimo subconjunto del mundo microbiano. Investigamos tanto la biología de los patógenos como las enfermedades que provocan, incluyendo su diagnóstico, tratamiento y prevención.

Nuestra cobertura de las enfermedades infecciosas se organiza en torno al *modo de transmisión* de cada patógeno. En este capítulo, exploramos las enfermedades que se transmiten de persona a persona, ya sea a través del aire, por contacto directo o por contacto íntimo. Utilizando este enfoque, estableceremos las conexiones ecológicas entre patógenos diversos desde el punto de vista biológico. En los Capítulos 30 y 31, nos centramos en las enfermedades transmitidas por animales y artrópodos vectores, y en las que se deben a fuentes comunes como el agua y los alimentos, respectivamente. En el Capítulo 32 examinamos las infecciones fúngicas y parasitarias, enfermedades causadas por microorganismos del dominio *Eukarya*.

I • Enfermedades bacterianas de transmisión aérea

Las infecciones respiratorias agudas matan a más de 4 millones de personas cada año en todo el mundo, fundamentalmente en los países en desarrollo. La población infantil y las personas mayores son las principales víctimas, pero en general, las infecciones de este tipo son las enfermedades humanas más habituales. Los aerosoles, como los generados al estornudar (**Figura 29.1**), al toser, al hablar o al respirar, son vehículos importantes de transmisión de muchas enfermedades infecciosas de una persona a otra. Además de infectar directamente a un nuevo hospedador, la mucosa infecciosa de un aerosol también puede contaminar objetos, como el pomo de una puerta, y transmitir la infección mucho después de que se haya producido el aerosol. De esta manera, las enfermedades respiratorias se propagan con velocidad, especialmente en áreas congestionadas, puesto que los patógenos que se transmiten por el aire utilizan un método de infección tan simple como efectivo.

29.1 Patógenos que se propagan por el aire

Los microorganismos que encontramos en el aire proceden del suelo, del agua, de plantas, de animales, de personas, de superficies y de otras fuentes. Muchos microorganismos sobreviven con dificultad en el aire, y por ello, algunos patógenos solo se transmiten eficazmente entre los humanos en distancias cortas. No obstante, algunos patógenos resisten condiciones de sequedad y pueden permanecer vivos en el polvo o en fómites durante largos períodos de tiempo. Las bacterias grampositivas (*Staphylococcus*, *Streptococcus*), por ejemplo, son generalmente más resistentes a la sequedad que las gramnegativas debido al grosor y a la rigidez de su pared celular. También la capa cérea de las paredes celulares de *Mycobacterium* resiste la sequedad y favorece la supervivencia de patógenos como *Mycobacterium tuberculosis*.

Durante un estornudo se puede expeler un gran número de pequeñas gotitas (Figura 29.1). Las gotitas infecciosas tienen un diámetro de unos 10 µm y cada una de ellas puede contener una o varias células bacterianas o viriones. La velocidad inicial de estas gotas en un estornudo violento se aproxima a 100 m/s (más de 325 km/h), y a unos 15-50 m/s cuando tosemos o gritamos. En un único estornudo, el número de bacterias varía de 10^4 a 10^6, y las cifras de virus pueden ser mucho mayores. Debido a su pequeño tamaño, estas gotas se evaporan rápidamente en el aire, dejando tras de sí un moco seco en el que permanecen embebidas las bacterias.

El aparato respiratorio humano se divide en una región superior y otra inferior, y hay patógenos específicos de transmisión aérea que explotan una región o la otra, o a veces ambas (**Figura 29.2**). La velocidad a la que se mueve el aire a través del aparato respiratorio humano varía, y es bastante lenta en el tracto inferior. A medida que el aire pierde velocidad, las partículas que transporta dejan de moverse y se depositan. Las partículas de mayor tamaño se depositan antes que las pequeñas, y solo las partículas de tamaño inferior a 3 µm logran alcanzar los bronquiolos, en la parte inferior del tracto respiratorio (Figura 29.2).

Las infecciones que afectan al tracto respiratorio *superior*, como el resfriado común, suelen ser agudas pero no graves. Por el contrario, las infecciones del tracto *inferior*, como la neumonía bacteriana o la vírica, suelen ser crónicas y pueden ser bastante graves, especialmente en personas ancianas o en pacientes con inmunidad comprometida. Aunque muchas infecciones respiratorias comunes no son graves en un hospedador sano, pueden propiciar la aparición de *infecciones secundarias*



T. D. Brock

Figura 29.1 Fotografía de alta velocidad de un estornudo. El efluente sale a más de 325 km/s.

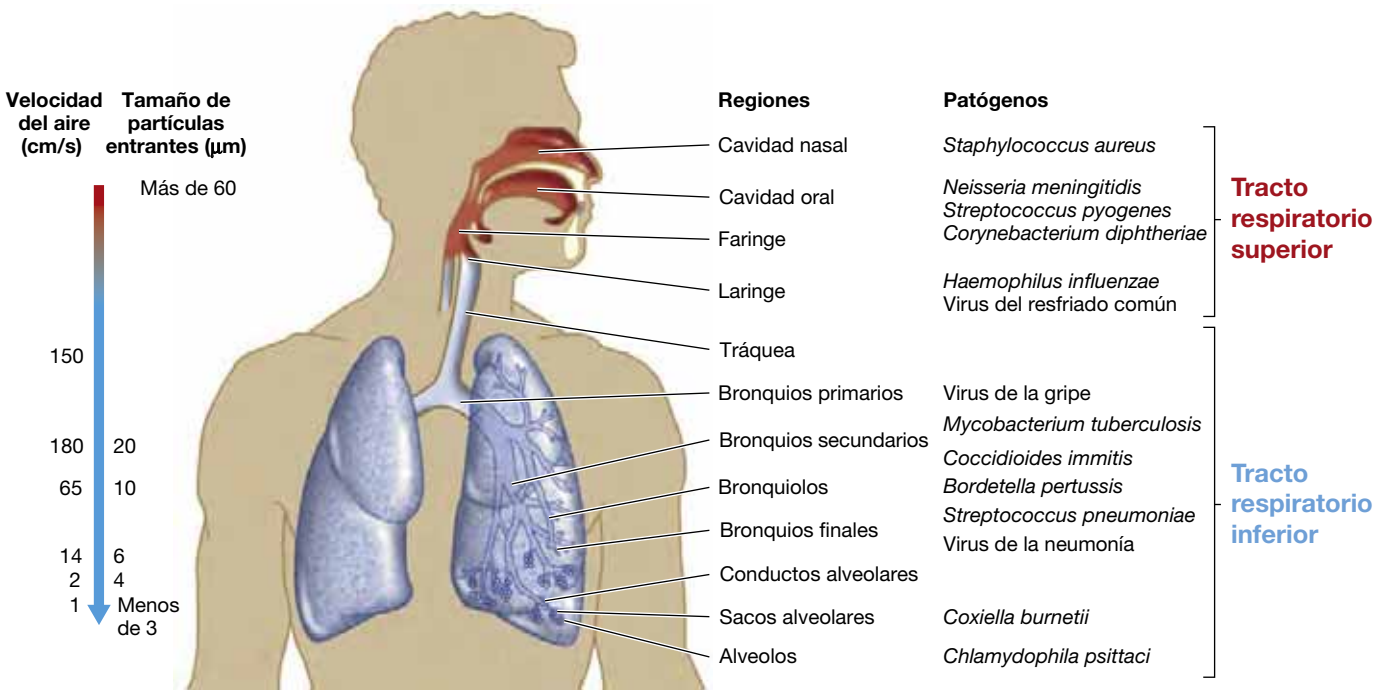


Figura 29.2 **Aparato respiratorio humano.** Los microorganismos señalados inician generalmente la infección en el lugar indicado.

potencialmente mortales. Por ejemplo, la muerte de una persona anciana a causa de una neumonía declarada tras una gripe severa no es un caso infrecuente.

La mayoría de los patógenos respiratorios para el ser humano se transmiten de persona a persona porque los humanos constituyen su único reservorio. No obstante, muchos patógenos transmitidos por el aire, como *Streptococcus* spp., los virus del resfriado y la gripe, también se pueden transmitir por contacto directo (por ejemplo, al dar la mano) o mediante fómites. El diagnóstico y el tratamiento rápido y preciso de las infecciones respiratorias están muy desarrollados en el contexto clínico, y pueden limitar el daño al hospedador. Muchos patógenos bacterianos y víricos transmitidos por el aire se pueden controlar mediante inmunización. La mayoría de los patógenos bacterianos responden bien a la terapia con antibióticos, mientras que las terapias antivíricas son más bien limitadas, y la recuperación de infecciones víricas suele deberse únicamente a la respuesta inmunológica.

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué se puede decir que los patógenos respiratorios han explotado un medio de transmisión efectivo?
- Identifique los patógenos que se encuentran frecuentemente en el tracto respiratorio superior. Identifique los patógenos que se encuentran frecuentemente en el tracto respiratorio superior.

29.2 Enfermedades estreptocócicas

Las bacterias *Streptococcus pyogenes* (Figura 29.3) y *Streptococcus pneumoniae* son importantes patógenos respiratorios humanos. Los estreptococos son cocos grampositivos no esporulantes, homofermentativos pero aerotolerantes (↔ Sección 15.6). Las células de *S. pyogenes* (Figura 29.3) muestran largas cadenas típicas, como muchas otras especies de este género. Por su parte, las cepas patógenas de *S. pneumoniae* suelen crecer en parejas o en cadenas cortas, y las cepas virulentas presentan una cápsula de polisacárido muy amplia (véase Figura 29.11). Las cepas virulentas de *Streptococcus* pueden producir infecciones agudas supurativas en humanos y en otros animales de sangre caliente. (Figura 29.4 y véase Figura 29.10), pero también se asocian a infecciones estreptocócicas muchas otras enfermedades graves cuyos síntomas son menos evidentes.

Streptococcus pyogenes

Streptococcus pyogenes (Figura 29.3), también denominado *Streptococcus del grupo A*, se aísla con frecuencia del tracto respiratorio superior de individuos sanos. Aunque el número de *S. pyogenes* suele ser bajo, cuando las defensas del hospedador

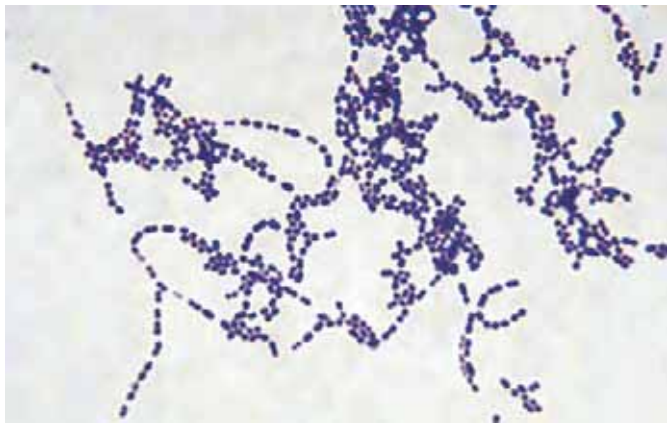
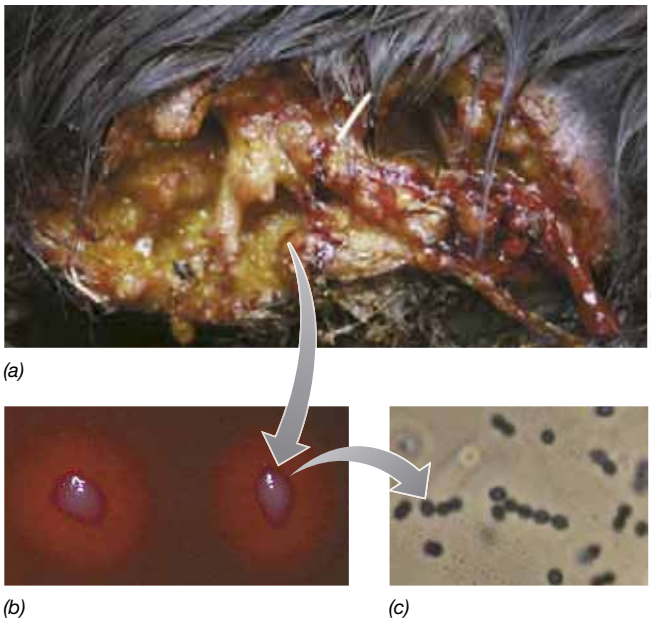


Figura 29.3 ***Streptococcus pyogenes.*** Las células de *Streptococcus pyogenes* forman cadenas, y cada célula tiene un diámetro que oscila entre 0,6 y 1 µm.

UNIDAD 6



Michael T. Madigan

Figura 29.4 Herida supurante en un caballo, causada por estreptococos β-hemolíticos. *(a)* Pus y sangre coagulada a causa de una infección por *Streptococcus equi* en las glándulas salivares de un caballo (reventadas a causa de la infección). *(b)* Colonias de *S. equi* que muestran β-hemólisis en agar sangre. *(c)* Fotomicrografía de contraste de fases de células de *S. equi*. Cada célula tiene un diámetro de 1 μm.

están debilitadas, o se introduce una nueva cepa muy virulenta, se pueden producir infecciones agudas.

Streptococcus pyogenes es el causante de la *faringitis estreptocócica*, más conocida como *anginas* o *amigdalitis estreptocócica* (Figura 29.5). La mayoría de los *S. pyogenes* aislados de casos clínicos producen una exotoxina (↻ Sección 23.9) que lisa los glóbulos rojos en los medios de cultivo, una propiedad que se denomina *β-hemólisis* (Figura 24.4*b* y véase Figura 29.8). La faringitis estreptocócica se caracteriza por un dolor agudo de garganta, inflamación y puntos rojos en las amígdalas (Figura 29.5), sensibilidad en los nódulos linfáticos cervicales,



CDC/PHIL

Figura 29.5 Caso de dolor de garganta provocado por *Streptococcus pyogenes*. La parte posterior de la garganta está inflamada, y muestra los puntitos rojos típicos de la faringitis estreptocócica.



Franklin H. Top

Figura 29.6 Lesiones típicas de impétigo. El impétigo está causado generalmente por *Streptococcus pyogenes* o *Staphylococcus aureus*.

fiebre poco elevada y malestar general. *Streptococcus pyogenes* también puede ocasionar infecciones en el oído medio (*otitis media*) o en las glándulas mamarias (*mastitis*), así como infecciones en las capas superficiales de la piel, denominadas *impétigo* (Figura 29.6), y *erisipelas*, que son infecciones estreptocócicas epidérmicas agudas (Figura 29.7), además de otras enfermedades asociadas a los efectos secundarios de infecciones estreptocócicas.

Casi la mitad de los casos clínicos de dolor de garganta severo se deben a *S. pyogenes*, y el resto, a infecciones víricas. Por ello, es importante diagnosticar con fiabilidad y rapidez la causa del dolor. Si se debe a *S. pyogenes*, precisará de un tratamiento



CDC/Dr. Thomas F. Sellers

Figura 29.7 Erisipelas La erisipela es una infección cutánea por *Streptococcus pyogenes*, mostrada aquí en la nariz y en los carrillos, que se caracteriza por enrojecimiento y márgenes definidos en la infección. Suele afectar también a otras partes del cuerpo, como las orejas y las piernas.

rápido y completo, ya que la ausencia de este en infecciones de estreptococos del grupo A puede conducir a enfermedades secundarias graves como la escarlatina, la fiebre reumática, la glomerulonefritis aguda y el síndrome del choque tóxico estreptocócico. Por otra parte, si el dolor de garganta es de origen vírico, el tratamiento con antibióticos resulta ineficaz y únicamente favorece la resistencia de la microbiota normal a los medicamentos.

Los centros médicos de atención primaria tienen a su alcance y usan de forma rutinaria diversos métodos clínicos para diagnosticar con rapidez la faringitis estreptocócica. Entre dichos métodos, se encuentran varios sistemas de detección rápida del antígeno que contienen anticuerpos específicos contra las proteínas superficiales de *S. pyogenes* (↻ Sección 27.9). Una confirmación más exacta de la infección se puede llevar a cabo mediante el cultivo de *S. pyogenes* en un medio de cultivo con agar sangre a partir de muestras tomadas de la garganta o de otras lesiones sospechosas (**Figura 29.8**). Sin embargo, en contraste con las pruebas rápidas, los resultados de un cultivo pueden tardar hasta 48 h, y semejante retraso en el tratamiento puede tener, como vamos a ver, efectos adversos.

Escarlatina, fiebre reumática y otros síndromes estreptocócicos del grupo A

Algunas cepas de estreptococos del grupo A son portadoras de un bacteriófago lisogénico que codifica la exotoxina pirogénica A (SpeA), la SpeB, la SpeC y la SpeF. Estas exotoxinas son las responsables de la mayoría de los síntomas del *síndrome del choque tóxico estreptocócico* y de la **escarlatina** (**Figura 29.9**). Las exotoxinas pirogénicas estreptocócicas son superantígenos que reclutan masivamente células T a los tejidos infectados (↻ Secciones 23.9 y 23.9). El choque tóxico se produce cuando las células T activadas secretan citocinas que, por su parte, activan gran cantidad de macrófagos y neutrófilos, causando una severa inflamación y la destrucción de los tejidos.

La escarlatina, cuyos síntomas son dolor de garganta, fiebre y una erupción característica (Figura 29.9), se puede tratar con antibióticos inmediatamente, o bien puede curarse por sí sola, pero se recomienda siempre iniciar un tratamiento, ya que, en caso contrario, pueden producirse afecciones no deseables. En


Franklin H. Top

Figura 29.9 Escarlatina. Erupción típica de la escarlatina debida a la actividad de exotoxinas pirogénicas producidas por *Streptococcus pyogenes*.

ocasiones, los estreptococos del grupo A provocan infecciones sistémicas invasivas fulminantes (rápidas y graves), como celulitis, una infección de las capas subcutáneas de la piel, y *fascitis necrotizante*, una enfermedad rápida y progresiva que origina una destrucción muy extensa de tejido subcutáneo, músculo y tejido adiposo (**Figura 29.10**). La fascitis necrotizante es el término clínico que describe la afección causada por las «bacterias carnívoras». En estos casos, tanto las exotoxinas SpeA, SpeB, SpeC y SpeF, como la proteína M de la superficie bacteriana, funcionan como superantígenos; la inflamación asociada origina una destrucción tisular generalizada, y puede ser letal (Figura 29.10).

Las infecciones por *S. pyogenes* no tratadas, o insuficientemente tratadas, pueden provocar otras afecciones graves entre 1 y 4 semanas después del inicio de la infección. Por ejemplo, la respuesta inmune al patógeno invasor puede producir anticuerpos que presentan reacción cruzada con antígenos de tejido del

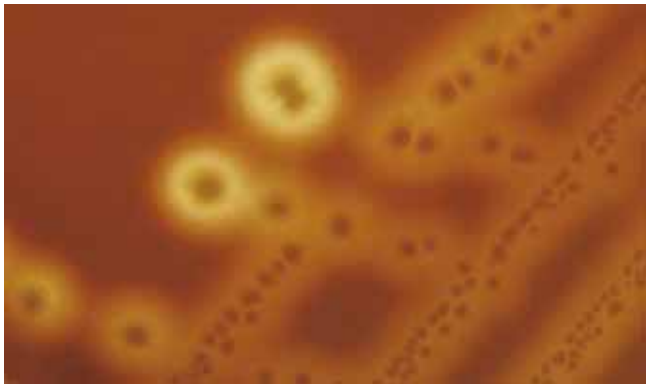

Michael T. Madigan

Figura 29.8 β-hemolisis. La capacidad de una bacteria para lisar los glóbulos rojos y formar una zona clara alrededor de una colonia en un cultivo de agar sangre, indica la secreción de la proteína β-hemolisina. Véanse también Figuras 23.18*a* y 29.4*b*.



Figura 29.10 Fascitis necrotizante (bacterias comedoras de carne). Infección de los tejidos blandos de un antebrazo humano por *Streptococcus pyogenes* del grupo A. La carne del brazo se ha abierto por la infección, y deja al descubierto la fascia muscular y los tejidos internos infectados.

hospedador, como el corazón, las articulaciones y los riñones, lo que provoca daños en estos tejidos. El más grave de estos síndromes es la **fiebre reumática**, causada por cepas reumatogénicas de *S. pyogenes*. Estas cepas contienen antígenos de superficie celular con una estructura similar a los de las válvulas del corazón y a las proteínas de las articulaciones. La fiebre reumática es, por tanto, una *enfermedad autoinmune* (↔ Sección 24.8), ya que los anticuerpos dirigidos contra los antígenos estreptocócicos presentan reacción cruzada contra los antígenos de las válvulas cardíacas y de las articulaciones, causando inflamación y destruyendo los tejidos del propio hospedador. El daño a los tejidos del hospedador puede ser permanente, y a menudo aumenta por infecciones estreptocócicas posteriores que originan ataques recurrentes de fiebre reumática. Otro síndrome estreptocócico es la *glomerulonefritis post-estreptocócica aguda*, una afección del riñón muy dolorosa. Esta enfermedad «de complejo inmune» se desarrolla de forma transitoria debido a que se forman complejos antígeno estreptocócico-anticuerpo en la sangre que se aloja en los glomérulos (membranas de filtración del riñón), y provocan inflamación, una afección denominada *nefritis*.

Streptococcus pneumoniae

Una segunda especie estreptocócica patógena importante para los humanos es *Streptococcus pneumoniae* (**Figura 29.11**), una especie que puede causar infecciones pulmonares invasivas, generalmente como infecciones secundarias a otros desórdenes respiratorios. Las cepas encapsuladas de *S. pneumoniae* son particularmente patógenas debido a que son muy invasivas. Las células invaden el tracto respiratorio inferior, donde la cápsula las capacita para resistir la fagocitosis, e inducen en el hospedador una fuerte respuesta inflamatoria. La función pulmonar reducida, denominada *neumonía*, es el resultado de la acumulación de células fagocíticas y de líquido. Las células de *S. pneumoniae* pueden extenderse después desde el foco de infección en forma de bacteriemia, ocasionando a veces infecciones en los huesos, en el oído medio y en las válvulas cardiacas (endocarditis). La infección por *S. pneumoniae* es, con frecuencia, la causa del fallecimiento de personas ancianas que mueren por «fallo respiratorio».

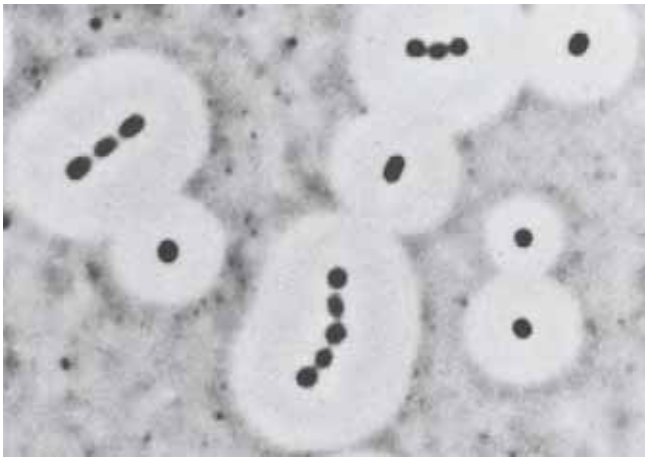

Isaac Shechmeister

Figura 29.11 ***Streptococcus pneumoniae.*** Tinción negativa con tinta china de células de *Streptococcus pneumoniae*. Una cápsula extensa rodea las células, que tienen un diámetro de 1,0-1,2 µm.

A diferencia de lo que sucede con *S. pyogenes*, existen vacunas efectivas para prevenir infecciones por las cepas más comunes de *S. pneumoniae*. La vacuna para individuos adultos contiene una mezcla de 23 polisacáridos capsulares (Figura 29.11) de las cepas patogénicas más comunes. La vacuna se recomienda a personas de más de 60 años, al personal sanitario, a individuos con inmunidad comprometida, y a cualquier otro grupo de población de alto riesgo. Las infecciones por *S. pneumoniae* suelen responder rápidamente a la terapia con penicilina pero, actualmente, hasta un 30 % de los patógenos aislados presentan resistencia a este medicamento. Algunas cepas también han desarrollado resistencia a los antibióticos eritromicina y cefotaxima pero, hasta el momento, todas las cepas presentan sensibilidad a la vancomicina, un antibiótico que se reserva para tratar la neumonía y otras enfermedades bacterianas graves que han desarrollado una amplia resistencia a los antibióticos.

MINIRREVISIÓN

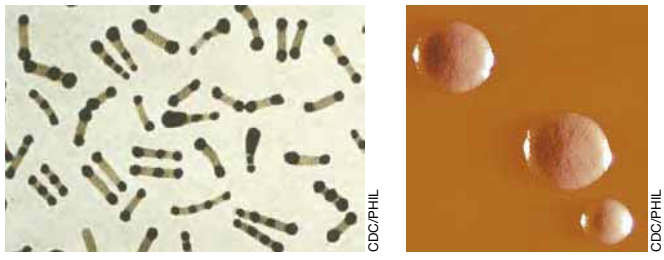
- ¿Cómo causa fiebre reumática una infección por *Streptococcus pyogenes*?
- ¿Cuál es el principal factor de virulencia de *Streptococcus pneumoniae*?

29.3 Difteria y tosferina

La *difteria* es una enfermedad respiratoria grave que afecta típicamente a la población infantil. Está causada por *Corynebacterium diphtheriae*, una bacteria grampositiva, inmóvil y aerobia, cuyos bacilos tienen forma de palo de golf, y que forma colonias pequeñas de aspecto delicado en placas de agar sangre (**Figura 29.12**). La tosferina, también llamada **tos convulsiva**, es una enfermedad respiratoria grave causada por la infección por *Bordetella pertussis*, un cocobacilo pequeño, gramnegativo y aerobio (véase Figura 29.14*a*). La tosferina afecta principalmente a la población infantil, pero también puede causar enfermedades respiratorias graves en individuos adultos. Tanto la difteria como la tosferina se pueden prevenir mediante la vacunación y se pueden curar con antibióticos.

Difteria

Las células de *C. diphtheriae* (Figura 29.12*a*) penetran en el hospedador por la ruta respiratoria, por medio de gotículas aéreas,


CDC/PHIL

(a) (b)

Figura 29.12 ***Corynebacterium* y difteria.** *(a)* Células de *Corynebacterium diphtheriae* mostrando su típica apariencia de porra. Estas células grampositivas miden 0,5-1 µm de diámetro, y pueden tener varias micras de longitud. *(b)* Colonias de *C. diphtheriae* cultivadas en un medio selectivo de agar sangre y telurito.

e infectan los tejidos de la garganta y las amígdalas. Los tejidos de la garganta responden a la infección por *C. diphtheriae* generando una característica lesión llamada *seudomembrana* (**Figura 29.13**) formada por células dañadas del hospedador y por células de *C. diphtheriae*. Las cepas patógenas de *C. diphtheriae* son portadoras de un bacteriófago lisogénico cuyo genoma codifica una potente exotoxina llamada *toxina diftérica*. Esta toxina inhibe la síntesis proteica en el hospedador, y por consiguiente, mata las células (↻ Figura 23.20). La muerte por difteria suele deberse a los efectos combinados de una asfixia parcial provocada por la seudomembrana, y de la destrucción tisular por la exotoxina diftérica. El diagnóstico de la difteria es el aislamiento de *C. diphtheriae* de la garganta. Se utilizan los frotis de nariz o de garganta para inocular medio de agar sangre con telurito (Figura 29.12*b*) o medio de Loeffler, un medio selectivo que inhibe el crecimiento de la mayor parte de otros patógenos respiratorios.

La prevención de la difteria se logra mediante una vacuna toxoide muy efectiva que forma parte de la vacuna *DTaP* (que contiene los toxoides de la *d*ifteria y del *t*étanos y una preparación *a*celular de *p*ertussis contra la tosferina) (↻ Sección 24.6). La difteria casi se ha erradicado completamente en los países desarrollados en los que se administra ampliamente esta vacuna. La penicilina, la eritromicina y la gentamicina son tratamientos generalmente eficaces, pero en casos de difteria potencialmente mortales, la antitoxina diftérica (un toxoide antisérico para la difteria producido en caballos) se puede utilizar en combinación con el tratamiento antibiótico.

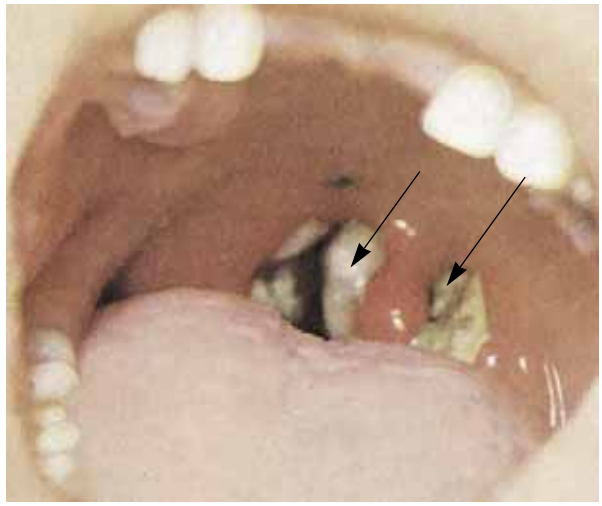
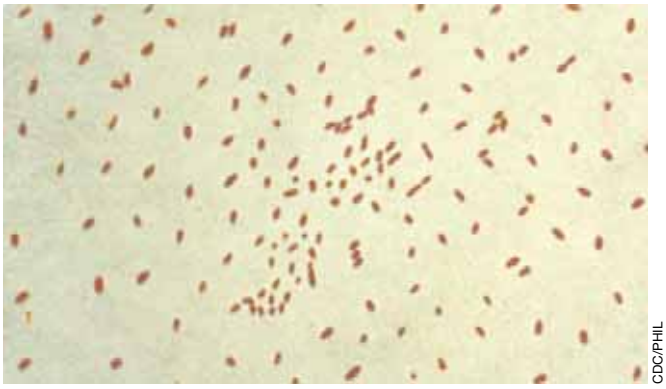

Franklin H. Top

Figura 29.13 Seudomembrana en un caso de difteria. La seudomembrana (flechas) en un caso activo de difteria restringe el flujo de aire y dificulta la deglución, y va asociada a un fuerte dolor de garganta.

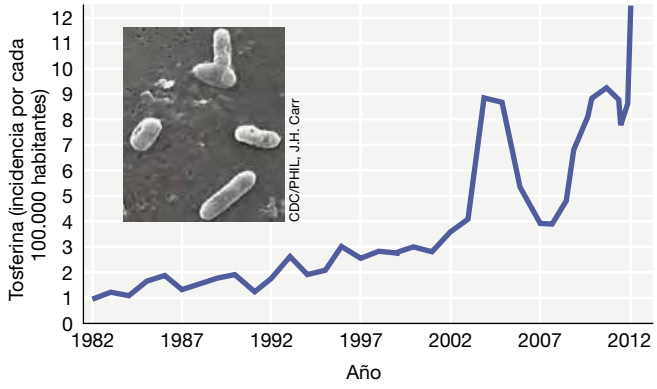
Tosferina

La tosferina (tos convulsiva) es una enfermedad respiratoria aguda y muy infecciosa. Los niños menores de 6 meses, que son demasiado jóvenes para ser vacunados con efectividad, presentan la mayor incidencia de la enfermedad y también los síntomas más graves. Las células de *Bordetella pertussis* (**Figura 29.14*a***) se unen a las células del tracto respiratorio superior y excretan *exotoxina de la tosferina*. Esta toxina es muy potente, e induce la síntesis de monofosfato de adenosina cíclico (AMP cíclico; ↻ Figura 7.14), que es responsable, al menos en parte, de los mecanismos que causan daño tisular en el hospedador. *B. pertussis* también produce una endotoxina (↻ Sección 23.10) que puede inducir algunos de los síntomas de la enfermedad. Clínicamente, la tosferina se caracteriza por una tos violenta y recurrente que puede durar hasta 6 semanas. La tos convulsiva da nombre a la enfermedad; un sonido estridente provocado por las profundas inspiraciones del paciente cuando intenta obtener el suficiente aire.

A nivel mundial, se presentan 50 millones de casos y más de 250.000 muertes al año por tosferina, sobre todo en países en vías de desarrollo. *B. pertussis* es endémica en todo el mundo y la tosferina continúa siendo un problema, incluso en los países desarrollados, generalmente debido a una inmunización inadecuada. En los Estados Unidos, desde la década de 1980, se registra una tendencia al aumento progresivo de tosferina, con picos de casos registrados en 2005, 2010 y 2012 (Figura 29.14*b*), muchos de los cuales se dieron en jóvenes adultos menores de 20 años. En los Estados Unidos, la tosferina causa menos de 20 muertes al año. Pero se trata de una enfermedad endémica clásica; su incidencia se eleva cíclicamente a medida que las


CDC/PHIL

(a) **Células de *Bordetella pertussis*, causantes de la tosferina, con tinción de Gram**



(b) **Incidencia de la tosferina en los Estados Unidos con un recuadro que muestra una imagen de SEM de células de *Bordetella* sp.**

Figura 29.14 *Bordetella* y tosferina. Las células de *B. pertussis* normalmente son cocobacilos de 0,2-0,5 µm de diámetro y aproximadamente 1 µm de largo. La incidencia de la tosferina ha experimentado un alza importante, llegando a registrarse más de 41.000 casos en 2012, la mayor cifra desde hacía 60 años. Datos de CDC.

UNIDAD 6

poblaciones se vuelven vulnerables y son expuestas al patógeno. La laxitud de los protocolos de vacunación, unida al hecho de que la tosferina es una enfermedad mucho más común que la difteria, ha provocado un aumento generalizado de la incidencia de la tosferina en los últimos años.

La tosferina se puede tratar con ampicilina, tetraciclina o eritromicina, aunque los antibióticos solos no parecen conseguir una cura completa ya que los pacientes siguen mostrando síntomas y siendo infectivos hasta 2 semanas después de haber comenzado el tratamiento antibiótico. Esto indica que la respuesta inmune puede ser tan importante como los antibióticos a la hora de eliminar el patógeno del organismo.

MINIRREVISIÓN

- Compare los síntomas de la difteria y los de la tosferina.
- ¿Qué medidas pueden tomarse para reducir la incidencia actual de tosferina en una población?

29.4 Tuberculosis y lepra

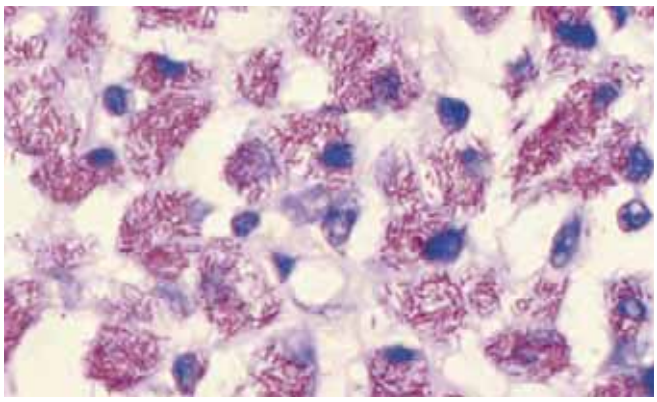
En 1882, el famoso microbiólogo pionero Robert Koch, fundador de la microbiología médica, aisló y describió el agente causal de la tuberculosis, *Mycobacterium tuberculosis* (↻ Sección 1.8). Una especie relacionada, *Mycobacterium leprae*, es la causante de la lepra (enfermedad de Hansen). Las micobacterias son bacterias grampositivas, y comparten la propiedad de ser *ácido-alcohol resistentes* debido al constituyente ceroso de ácido micólico en sus paredes celulares (↻ Sección 15.11). Los ácidos micólicos permiten a estos organismos retener el colorante rojo fucsina fenicada después de lavar un frotis de micobacterias con ácido clorhídrico al 3 % en alcohol. Las colonias de *M. tuberculosis* crecen lentamente en placas de cultivo, y presentan una morfología arrugada característica (**Figura 29.15**).

Tuberculosis

La tuberculosis (TB) se transmite fácilmente por vía respiratoria, y en otros tiempos llegó a ser la enfermedad infecciosa más importante en el ser humano. En todo el mundo, la tuberculosis todavía es responsable de casi 1,5 millones de muertes al año. Aproximadamente un tercio de la población mundial ha estado infectada por *M. tuberculosis*, aunque la mayoría de los individuos no han desarrollado la enfermedad porque la inmunidad celular (↻ Secciones 24.3, 24.8 y 25.1) desempeña un papel decisivo en la prevención de esta enfermedad tras la infección.

La tuberculosis puede presentar múltiples formas: puede ser una infección *primaria* (inicial) o una infección *posprimaria* (reinfección). La infección primaria suele ser el resultado de inhalar pequeñas gotas que contienen *M. tuberculosis*, tras lo cual, las bacterias se depositan y crecen en el pulmón. El hospedador organiza una respuesta inmune frente a *M. tuberculosis*, cuyo resultado es la formación de agregados de macrófagos activados, denominados *tubérculos*. Las bacterias se encuentran en los esputos de individuos con la enfermedad activa, y las zonas de tejido destruido se pueden apreciar en radiografías torácicas (**Figura 29.16**). Las micobacterias sobreviven y se multiplican dentro de los macrófagos de los tubérculos, formando granulomas, y si la enfermedad no se controla, puede ocasionar una destrucción masiva del tejido pulmonar. Si la enfermedad alcanza este estado, la infección suele ser fatal.

Sin embargo, en la mayoría de individuos infectados por *M. tuberculosis*, no se evidencia una infección aguda, sino que esta suele ser asintomática. No obstante, la infección hipersensibiliza al individuo frente a *M. tuberculosis* o sus productos y, generalmente, lo protege frente a infecciones posprimarias. Una prueba diagnóstica cutánea, llamada **prueba de la tuberculina**, puede detectar esta hipersensibilidad (↻ Figura 24.6), y muchos adultos sanos son *tuberculina positivos*, como consecuencia de infecciones previas o actuales asintomáticas. En la mayoría de casos, la respuesta inmune celular frente a *M. tuberculosis* sirve de protección para toda la vida. No obstante, algunos pacientes tuberculina positivos desarrollan tuberculosis posprimaria debido a la reinfección por bacterias que han permanecido latentes en los macrófagos del pulmón durante años. Por ese motivo, los individuos que dan positivo en la prueba de la tuberculina se suelen tratar con fármacos contra la tuberculosis durante períodos largos de tiempo, para asegurar la muerte de todas las micobacterias.



CDC/Dr. Edwin P. Ewing, Jr./PHIL

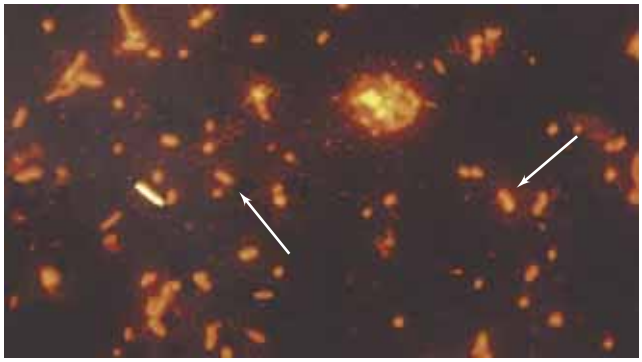
(a)



CDC/PHIL

(b)

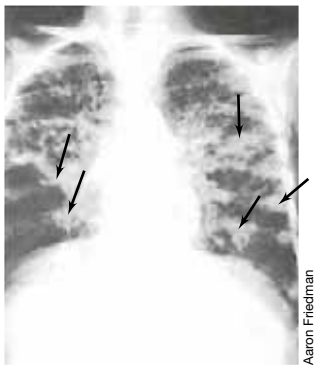
Figura 29.15 **Micobacterias.** *(a)* Biopsia de un nódulo linfático de procedente de un paciente con VIH/SIDA teñida con la técnica para la resistencia ácido-alcohol que muestra células de *Mycobacterium avium*, una micobacteria relacionada con *M. Tuberculosis*. Dentro de cada célula humana se observan múltiples bacilos teñidos de rojo con fucsina fenicada y tratados con ácido clorhídrico al 3 %. Cada bacilo mide alrededor de 0,4 μm de diámetro y hasta 4 μm de largo. *(b)* Colonias de *Mycobacterium tuberculosis*. La superficie arrugada es típica de las colonias de micobacterias.



(a)



(b)



(c)

Figura 29.16 Síntomas de la tuberculosis. *(a)* Muestra de esputo de un paciente con tuberculosis, teñida con naranja de acridina de Smithwick. Las células de *M. tuberculosis* son las estructuras con forma de palito de color amarillo anaranjado (flechas). *(b)* Radiografía torácica normal. Las tenues líneas blancas son arterias y otros vasos sanguíneos. *(c)* Radiografía torácica de un caso avanzado de tuberculosis pulmonar; las manchas blancas (flechas) indican las zonas con tubérculos que contienen células viables de *Mycobacterium tuberculosis*.

La terapia antimicrobiana de la tuberculosis ha sido uno de los principales medios para controlar la enfermedad. El primer antibiótico antituberculoso eficaz fue la estreptomicina, pero la verdadera revolución en el tratamiento de la tuberculosis llegó con el descubrimiento de la hidracida del ácido isonicotínico, llamada *isoniacida* (INH) (**Figura 29.17**). Este fármaco es muy eficaz y se absorbe rápidamente por vía oral. La isoniacida es un análogo del factor de crecimiento (↔ Sección 27.11) relacionado estructuralmente con la nicotinamida; en las micobacterias inhibe la síntesis de ácido micólico y compromete la integridad de la pared celular. Después del tratamiento con isoniacida, las micobacterias pierden su carácter ácido-alcohol resistente, en consonancia con el papel que desempeña el ácido micólico en estas propiedades de tinción.

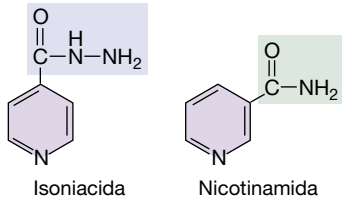


Figura 29.17 Estructura de la isoniacida (hidracida del ácido isonicotínico). La isoniacida es un agente quimioterapéutico eficaz para tratar la tuberculosis. Nótese la semejanza estructural con la nicotinamida.

Normalmente, el tratamiento de individuos tuberculina positivos consiste en dosis diarias de isoniacida y del antibiótico rifampicina durante 2 meses, seguido de dosis quincenales durante 9 meses. Este tratamiento elimina los remanentes de *M. tuberculosis* y evita la aparición de organismos resistentes a antibióticos. La terapia farmacológica múltiple reduce la posibilidad de que aparezcan cepas con resistencia a más de un compuesto. Pese a todo, la resistencia de *M. tuberculosis* a la isoniacida y a otros agentes antimicrobianos está aumentando, especialmente en pacientes con VIH/SIDA, en los que la tuberculosis es una infección frecuente (véase Figura 29.45*g*). El tratamiento de estas cepas, denominadas *cepas tuberculosas de resistencia múltiple*, requiere el uso de fármacos antituberculosos de segunda línea que, en general, son más tóxicos, menos eficaces y más caros que la rifampicina y la isoniacida.

Lepra

Mycobacterium leprae, una especie relacionada con *M. tuberculosis*, provoca *lepra*, conocida formalmente como *enfermedad de Hansen*. La forma más grave de la enfermedad de Hansen es la lepra *lepromatosa*, caracterizada por lesiones abultadas y con dobleces en el cuerpo, especialmente en regiones frías como la cara y las extremidades (**Figura 29.18**). Las lesiones, se deben al crecimiento de células de *M. leprae* en la piel, y contienen una gran cantidad de células bacterianas. Igual que las células de otras micobacterias (Figura 29.15*a*), las de *M. leprae* de las lesiones se tiñen intensamente de rojo con fucsina fenicada mediante el procedimiento de tinción para la resistencia ácido-alcohol, lo que demuestra definitivamente la existencia de una infección activa.

En casos graves de lepra no tratada, las lesiones desfigurantes llegan a destruir los nervios periféricos; los músculos se atrofian y se pierde la función motora. La pérdida de sensibilidad en las extremidades provoca heridas asintomáticas, como quemaduras y cortes. La descalcificación ósea provoca la lenta retracción de los dedos y su transformación hasta adquirir la apariencia de garras en las fases avanzadas de la lepra. La patogenia de la enfermedad se debe a una hipersensibilidad de tipo retardado (↔ Sección 24.8), combinada con la gran invasividad de *M. leprae*, que



Figura 29.18 Lesiones cutáneas de lepra lepromatosa. La lepra lepromatosa está causada por infecciones de *Mycobacterium leprae*. Las lesiones pueden contener hasta 10^9 células bacterianas por gramo de tejido, indicando una infección incontrolada y activa, con una mala prognosis.

crece dentro de macrófagos y forma las lesiones características (Figura 29.18). La lepra se transmite tanto por contacto directo como por vía respiratoria, pero no es tan contagiosa como la tuberculosis. Históricamente, esta patología se ha asociado con la pobreza, la malnutrición y las malas condiciones higiénicas y sanitarias. Estos factores, entre otros, afectan indudablemente a la capacidad de un individuo para resistir la infección.

Muchos pacientes de la enfermedad de Hansen manifiestan lesiones menos pronunciadas, de las que no se pueden obtener células bacterianas; estos individuos presentan la forma *tuberculoide* de la enfermedad. La lepra tuberculoide se caracteriza por una fuerte respuesta inmune y por una buena prognosis de recuperación espontánea. En cualquiera de sus formas, y en la sucesión de formas intermedias, la enfermedad de Hansen se trata con una terapia farmacológica múltiple que incluye el tratamiento prolongado, de hasta un año de duración, de alguna combinación con *dapsona* (4,4′-sulfonilbisbencenamina, un inhibidor de la síntesis del ácido fólico), *rifampicina*, un inhibidor de la RNA-polimerasa bacteriana, y *clofazimina*, un medicamento que ataca la respiración bacteriana y el transporte iónico.

En 2009 se registraron cerca de 250.000 nuevos casos de lepra, la mayoría en África, el subcontinente indio y Brasil. En los Estados Unidos, solo se detectan 200 casos al año, sobre todo entre inmigrantes. Hasta hace poco, el diagnóstico de la lepra se basaba en la identificación de células de *M. leprae* procedentes de lesiones. Sin embargo, actualmente se dispone de un método específico, rápido y barato de análisis de sangre, que debería ayudar a identificar la enfermedad en su fase inicial, la más fácil de tratar.

Además de *M. tuberculosis* y *M. leprae*, otras micobacterias son patógenos que afectan al ser humano. Entre ellos se encuentra, especialmente, *M. bovis*, muy relacionado con *M. tuberculosis*, y un patógeno muy común en las vacas lecheras. *M. bovis* puede desencadenar los síntomas clásicos de la tuberculosis en los seres humanos; sin embargo, la pasteurización de la leche y la eliminación del ganado vacuno enfermo han reducido significativamente la incidencia de la transmisión entre el ganado y las personas de este tipo de tuberculosis.

MINIRREVISIÓN

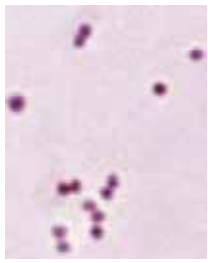
- ¿Por qué *Mycobacterium tuberculosis* es un patógeno respiratorio tan extendido?
- Describa tres características comunes de las micobacterias patógenas.

29.5 Meningitis y meningococemia

La **meningitis** es una inflamación de las meninges, las membranas que protegen el sistema nervioso central, es decir, la médula espinal y el cerebro. Diversos microorganismos, entre los que se incluyen virus, bacterias, hongos y protistas, pueden provocar meningitis. Aquí nos centramos en la forma bacteriana grave de enfermedad llamada *meningitis infecciosa*, causada por la bacteria *Neisseria meningitidis*.

Patógeno y síndromes de la enfermedad

Neisseria meningitidis, a menudo llamada *meningococo*, es un coco gramnegativo y aerobio obligado que mide aproximadamente 0,6-1,0 µm de diámetro (**Figura 29.19*a***); es un pariente de



(a)



(b)

Figura 29.19 ***Neisseria meningitidis.*** Este organismo causa meningitis y meningococemia. *(a)* Tinción de Gram de células de *N. meningitidis*. Los cocos individuales miden de 0,6-1 µm de diámetro. *(b)* Bebé de cuatro meses con gangrena en las piernas causada por meningococemia.

la bacteria causante de la gonorrea, *Neisseria gonorrhoeae*. La bacteria se transmite a un nuevo hospedador, generalmente por vía respiratoria desde un individuo infectado, y se fija a las células de la nasofaringe. Una vez allí, el organismo accede rápidamente al torrente sanguíneo, provocando una amplia diseminación (bacteriemia) y síntomas en el tracto respiratorio superior. La meningitis se caracteriza por un repentino dolor de cabeza acompañado de vómitos y rigidez de cuello, y puede progresar hasta el coma y la muerte en menos de un día. En vez de, o además de, provocar una meningitis en toda regla, la bacteremia por *N. meningitidis* provoca, a veces, una **meningococemia** fulminante, una afección caracterizada por coagulación intravascular y destrucción tisular (gangrena, Figura 29.19*b*), choque, y muerte en más del 10 % de los casos.

A menudo, la meningitis meningocócica se presenta en epidemias, generalmente en poblaciones que viven en espacios reducidos, como los barracones militares o las residencias de estudiantes. Cualquiera puede contraer una enfermedad meningocócica, pero su incidencia es mucho mayor en niños pequeños, niños en edad escolar y adultos jóvenes. Hasta un 30 % de las personas son portadoras de *N. meningitidis* en su nasofaringe, sin aparentes efectos perjudiciales, y se desconoce el desencadenante para pasar del estado de portador asintomático al de enfermo.

Diagnóstico, tratamiento y vacunación

La meningitis meningocócica se diagnostica de forma definitiva a partir de cultivos de *N. meningitidis* aislados de frotis nasofaríngeos, de sangre o de líquido cefalorraquídeo. Para aislar *N. meningitidis* se utiliza el medio Thayer-Martin (véase Figura 27.5), que es un medio selectivo para el crecimiento de *Neisseria* patógena, que incluye tanto *N. meningitidis* como *N. gonorrhoeae*, y después se examinan las colonias con diplococos gramnegativos (Figura 29.19*a*). No obstante, debido a la rápida aparición de síntomas potencialmente mortales en la meningitis infecciosa, el diagnóstico preliminar se basa a menudo en los síntomas clínicos y el tratamiento se inicia antes de que el examen de los cultivos confirme la infección con *N. meningitidis*. El tratamiento típico es con penicilina, y a menudo es necesaria su aplicación por vía intravenosa para acelerar la infusión antibiótica.

En la mayoría de los adultos, los anticuerpos adquiridos como consecuencia de infecciones subclínicas por *N. meningitidis*, son eficaces para evitar la meningitis infecciosa. Se dispone de vacunas consistentes en polisacáridos purificados o en polisacáridos obtenidos de las cepas infecciosas más

frecuentes para inmunizar a determinadas poblaciones vulnerables, como son los reclutas militares o los estudiantes alojados en residencias, sobre todo si ya se ha producido un brote. Además, el antibiótico rifampicina se emplea con frecuencia para eliminar el estado de portador el contagio de la enfermedad meningocócica por el contacto de individuos infectados.

MINIRREVISIÓN

- Identifique los síntomas y las causas de la meningitis.
- Describa la infección por *Neisseria meningitidis* y el consiguiente desarrollo de meningococemia.

II • Enfermedades víricas de transmisión aérea

29.6 Virus e infecciones respiratorias

Las infecciones humanas más frecuentes y más difíciles de tratar son las causadas por virus. Esto es debido a que los virus conservan su infectividad durante largos períodos de tiempo en mucus seco (Figuro 29.1) o en fómites, ya que necesitan las células del hospedador para replicarse. Por este motivo, matar el virus implica, a menudo, matar también la célula hospedadora.

La mayoría de las enfermedades víricas son infecciones agudas autolimitantes, pero algunas pueden ser problemáticas en adultos sanos. Comenzamos aquí la descripción del sarampión, la rubeola, las paperas y la varicela, todas ellas infecciones víricas comunes y endémicas, que se transmiten por el aire a través de pequeñas gotas infecciosas.

Sarampión y rubeola

El *sarampión* (denominado a veces *sarampión de 7 días*) afecta a niños vulnerables como una enfermedad aguda muy infecciosa y, en ocasiones, epidémica. El virus del sarampión (**Figura 29.20*a***) es un *paramixovirus*, un virus de RNA monocatenario y polaridad negativa (↔ Sección 9.9), que penetra por la nariz y la garganta por vía aérea, y desarrolla una rápida viremia sistémica. Los síntomas de la infección se inician con descargas nasales y enrojecimiento de los ojos. A medida que progresa la enfermedad, aparecen la fiebre y la tos, que se intensifican rápidamente, seguidas de una erupción cutánea característica (Figura 29.20*b, c*).

Por lo general, los síntomas del sarampión persisten durante 7-10 días, y no existen medicamentos para eliminarlos. Sin embargo, el virus del sarampión genera una fuerte respuesta inmune. Los anticuerpos circulantes contra el virus se detectan dentro de los 5 días posteriores a la infección. Estos anticuerpos séricos se combinan con los linfocitos T citotóxicos para eliminar los virus del hospedador. Después de la infección, pueden presentarse complicaciones como la infección del oído medio, neumonía y, en casos raros, encefalomielitis del sarampión.

Aunque fue una enfermedad infantil frecuente, actualmente el sarampión aparece en los Estados Unidos en brotes aislados poco frecuentes, gracias a los generalizados programas de inmunización que comenzaron en la década de los sesenta. Esos brotes se han producido en poblaciones que no han sido inmunizadas, o que han tenido una inmunización inadecuada. No obstante, continúa siendo una enfermedad endémica en todo el mundo, y ocasiona más de 400.000 muertes anuales, principalmente niños. La inmunización activa se logra con una preparación vírica atenuada que forma parte de la vacuna SPR (sarampión, paperas y rubeola), también llamada triple vírica (↔ Figura 24.15). Como la enfermedad es muy infecciosa, todos los sistemas de enseñanza pública en los Estados Unidos exigen una prueba de inmunización antes de la admisión. Haber sufrido el sarampión durante la infancia suele conferir inmunidad frente a la infección para toda la vida.

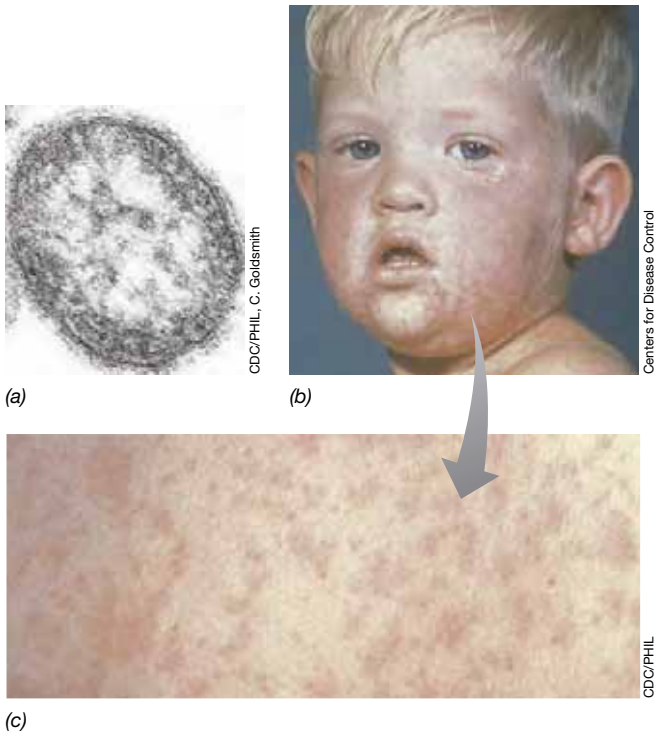


Figura 29.20 Sarampión en un niño. *(a)* Micrografía de microscopio electrónico de transmisión de un virión del virus del sarampión; cada virión mide aproximadamente 150 nm de diámetro. *(b, c)* Erupción del sarampión. La erupción rosada comienza en la cabeza y el cuello, y se puede extender al pecho, el abdomen y las piernas. Las pápulas individuales se unen formando manchas a medida que la erupción progresa durante varios días.

La *rubeola* (a veces llamada *sarampión alemán* o *sarampión de 3 días*) está causada por un virus de RNA monocatenario y polaridad positiva (↔ Sección 9.8). Los síntomas de la rubeola son semejantes a los del sarampión (**Figura 29.21**), pero generalmente solo afectan al torso superior. La rubeola es menos contagiosa que el sarampión y, por tanto, amplios sectores de la población no han sido infectados nunca. Sin embargo, durante los primeros tres meses de embarazo, el virus de la rubeola puede infectar al feto por transmisión placentaria y causarle un conjunto de graves malformaciones, entre las que se incluyen la muerte fetal, sordera, defectos cardíacos y oculares, y daño cerebral, que se denomina *síndrome de la rubeola congénita*. En

UNIDAD 6


CDC/PHIL

Figura 29.21 **Rubeola.** Erupción de rubeola (sarampión alemán) en la cara de un niño.

consecuencia, las mujeres no deben inmunizarse con la vacuna contra la rubeola ni contraer la infección durante el embarazo. Por ese mismo motivo se debe practicar la vacunación rutinaria contra la rubeola durante la infancia. Un virus de rubeola atenuado se administra como parte de la vacuna SPR o triple vírica. La baja incidencia de rubeola desde 2001, junto con el alto grado de protección proporcionado por la vacuna y la relativamente baja infectividad del virus, hacen que la rubeola sea muy rara en los Estados Unidos. Un activo programa mundial de vacunación contra la rubeola también está haciendo disminuir el número de casos de forma significativa. En 2009, el total de casos de rubeola activa registrados no alcanzó los 125.000, mientras que los casos de síndrome de rubeola congénita fueron 165.

Paperas

Como el sarampión, las paperas o parotiditis están producidas por un paramixovirus que es también muy infeccioso por transmisión aérea. Las paperas se transmiten por gotículas aéreas y la enfermedad se caracteriza por la inflamación de las glándulas salivares, generalmente de la glándula parótida, que es la de mayor tamaño, lo cual provoca un hinchamiento de las mandíbulas y del cuello (**Figura 29.22**). El virus se extiende por el torrente sanguíneo y puede infectar otros órganos, como los testículos y el páncreas, y puede ocasionar encefalitis en casos graves. Como sucede en el caso del sarampión, lo que cura un caso de paperas es más la respuesta inmunitaria del hospedador que el tratamiento farmacológico. La respuesta inmunitaria del hospedador produce anticuerpos contra las proteínas superficiales del virus, y esto conduce generalmente a una pronta recuperación y a una inmunización para toda la vida.

Existe una vacuna atenuada de las paperas (incluida en la SPR o triple vírica) muy eficaz para prevenir esta enfermedad. Por ello, la incidencia de las paperas en los países desarrollados es baja, y la enfermedad suele estar restringida a individuos que no han sido vacunados. No obstante, en 2006 se produjo un brote de paperas en el medio oeste de los Estados Unidos, con más de 5.000 casos registrados, una cifra muy superior a los 300 casos anuales detectados desde 2001. El brote afectó sobre todo a adultos jóvenes (18-34 años), y como consecuencia, las recomendaciones de inmunización se ampliaron a la población escolar, el personal sanitario y los adultos que no habían sufrido paperas previamente.


Centers for Disease Control

Figura 29.22 **Paperas.** Inflamación glandular característica de la infección por el virus de las paperas. Los síntomas suelen durar alrededor de una semana y el individuo es infeccioso tanto antes como durante las fases sintomáticas.

Varicela y herpes

La *varicela* es una enfermedad infantil común causada por el virus de la varicela-zóster (VZV), un herpesvirus de DNA bicatenario, (↔ Sección 9.7). Es una enfermedad leve pero muy contagiosa y se transmite por pequeñas gotas infecciosas, especialmente cuando los individuos vulnerables están en estrecho contacto. Entre la población escolar, por ejemplo, el confinamiento durante el invierno favorece la transmisión del VZV mediante pequeñas gotas de compañeros infectados, y a través del contacto con las ampollas producidas por la enfermedad o con fómites contaminados. El virus penetra por el tracto respiratorio, se multiplica y se disemina rápidamente por la sangre, originando una erupción papular sistémica (**Figura 29.23**) que cura pronto y que no suele dejar marcas. En los Estados Unidos se usa ahora una vacuna atenuada (Varivax), pero no está tan extendida como la vacuna SPR (triple vírica) que se usa para el sarampión, la rubeola y las paperas. Como consecuencia, la incidencia registrada de la varicela es de unos 40.000 casos anuales, cifra que supone solo el 25 % de los casos que se registraban antes de 1995, el año en que se autorizó la vacuna.


CDC/PHIL, A.D. Langmuir

Figura 29.23 **Varicela.** Erupción papular en el pie de un adulto. Las pápulas están asociadas a la infección por el virus de la varicela-zóster, el herpesvirus que causa la varicela.

El virus VZV establece una infección latente (permanente) en las células nerviosas. El virus puede permanecer latente de forma indefinida, pero en algunos individuos migra desde este reservorio a la piel, a menudo años o décadas más tarde, y ocasiona una dolorosa erupción conocida como *herpes (zóster)*. El herpes zóster normalmente afecta a individuos con inmunosupresión o a ancianos, y suele provocar la aparición de ampollas y una erupción en la cabeza, el cuello o el tórax. Para personas mayores de 50 años, está disponible una vacuna muy efectiva que contiene un concentrado del virus atenuado (Zostavax). Esta vacuna estimula la producción de anticuerpos y la inmunidad celular frente al VZV, evitando que el virus migre desde los ganglios nerviosos a las células de la piel y ocasione herpes.

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué se diferencian los genomas del virus del sarampión y de la rubeola?
- Describa las potenciales consecuencias graves de la infección por los virus del sarampión, las paperas, la rubeola y el VZV.
- Identifique los efectos de la inmunización sobre la incidencia del sarampión, las paperas, la rubeola y la varicela.

29.7 Resfriados

Los resfriados son las enfermedades infecciosas más comunes. Típicamente son infecciones víricas del tracto respiratorio superior que se transmiten por las gotitas diseminadas a través de la tos, los estornudos y las secreciones respiratorias. Los resfriados suelen durar poco, alrededor de una semana, y los síntomas son más leves que los de otras enfermedades respiratorias como la gripe. En la **Tabla 29.1** se comparan los síntomas característicos y la incidencia del resfriado y de la gripe.

Los síntomas del resfriado incluyen *rinitis* (inflamación de la región nasal, especialmente de las membranas mucosas), obstrucción nasal, moqueo, dolores musculares, y una sensación general de malestar, normalmente sin fiebre. Las causas más frecuentes de resfriados son *rinovirus* de RNA monocatenario con polaridad positiva, del grupo de los picornavirus (**Figura 29.24*a***) (↔ Sección 9.8). Se han identificado más de 100 rinovirus diferentes. Aproximadamente una cuarta parte de todos los resfriados se deben a otros virus, entre los que destacan los *coronavirus* (Figura 29.24*b*). En conjunto, los adenovirus, los virus de *Coxsackie*, los virus respiratorios sinciciales y los ortomixovirus son responsables tan solo de un pequeño porcentaje del total de los resfriados comunes.

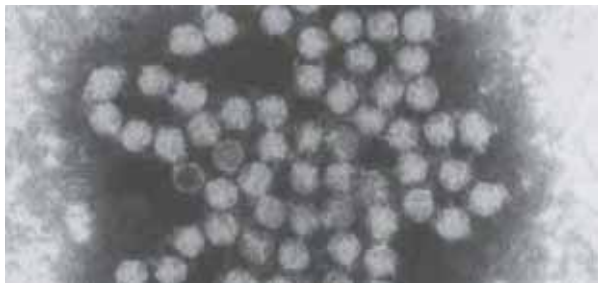
La vía más probable de transmisión de los resfriados es mediante aerosoles, aunque varios experimentos con voluntarios sugieren que tanto el contacto directo como el contacto indirecto a través de fómites son también importantes mecanismos de transmisión, quizás, incluso, más importantes que los aerosoles. La incidencia del resfriado común aumenta cuando las personas pasan los meses de invierno en espacios interiores, aunque es posible «pillar un resfriado» en cualquier época del año. La mayoría de los compuestos antivíricos son ineficaces contra el resfriado común, aunque algunos parecen ser eficaces para evitar la aparición de síntomas después de una exposición a rinovirus. Por otra parte, se están diseñando nuevos fármacos antivirales basados en el conocimiento de la estructura tridimensional de los virus del resfriado. Por ejemplo, se han desarrollado fármacos antirinovirales que se unen al virus y cambian sus propiedades superficiales de tal forma que se evita su fijación a las células del hospedador. Pero, hasta el momento, la mayoría de los «medicamentos para el resfriado» del mercado lo único que hacen es atenuar síntomas como la tos, el moqueo, el dolor de cabeza, y cosas así.

Como los resfriados son, en general, enfermedades poco graves y autolimitantes, los tratamientos se orientan a controlar los síntomas, especialmente el moqueo, mediante el uso de antihistamínicos y anticongestivos. Los virus del resfriado también inducen una respuesta inmune a través de anticuerpos. No obstante, el número

Tabla 29.1 Resfriados y gripe

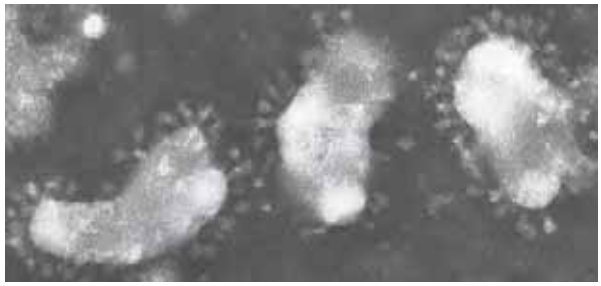
Síntomas	*Resfriado común*	*Gripe*
Fiebre	Rara	Frecuente (39-40 °C); aparición súbita
Dolor de cabeza	Raro	Frecuente
Malestar general	Ligero	Frecuente; a menudo bastante fuerte; puede durar varias semanas
Moqueo	Frecuente y abundante	Menos frecuente; generalmente poco abundante
Dolor de garganta	Frecuente	Menos frecuente
Vómitos y/o diarreas	Raros	Frecuentes en niños
Incidencia[a]	340	50

[a]Casos anuales/100 habitantes en los Estados Unidos. La incidencia del resto de enfermedades infecciosas en conjunto asciende a unos 30 casos anuales/100 habitantes.



B. Dowsett and D. Tyrell

(a)



Heather Davies and D. Tyrell

(b)

Figura 29.24 Micrografías de microscopio electrónico de transmisión de virus del resfriado común. *(a)* Rinovirus humanos; cada virión mide unos 30 nm de diámetro. *(b)* Coronavirus humanos; cada virión mide unos 60 nm de diámetro.

UNIDAD 6

de cepas inmunológicamente únicas que existe en cada tipo de virus del resfriado, hace improbable la inmunización frente al resfriado común por exposición previa. Por ello, el resfriado común es recurrente, y la severidad de los síntomas depende tanto del tipo de virus implicado como del estado de salud y bienestar general del individuo en el momento de la infección.

MINIRREVISIÓN

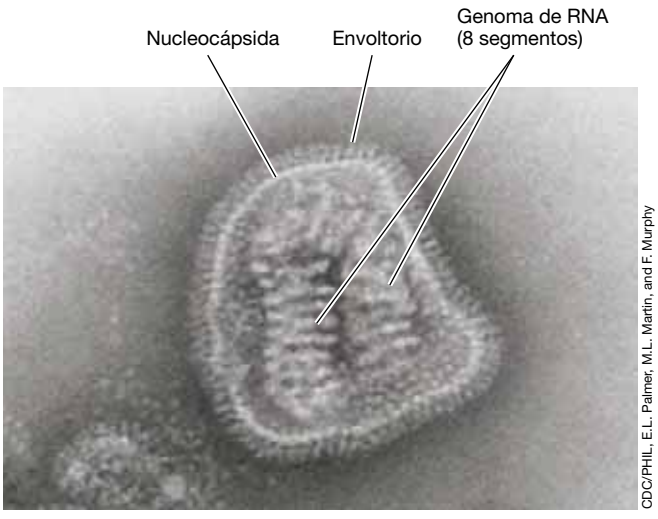
- Defina la causa y los síntomas del resfriado común.
- Argumente las posibilidades de conseguir un tratamiento y una prevención efectivos del resfriado común.

29.8 Gripe

La gripe es una enfermedad de origen vírico y muy infecciosa, que se transmite por vía respiratoria. El virus de la gripe tiene un genoma de RNA segmentado, monocatenario y con polaridad negativa que está rodeado por una envoltura formada por proteínas, una bicapa lipídica y glicoproteínas externas (**Figura 29.25**) (↻ Sección 9.9). Hay tres clases diferentes de virus de la gripe: virus de la gripe A, virus de la gripe B y virus de la gripe C. Aquí solo tratamos el virus de la gripe A porque es el patógeno humano más importante.

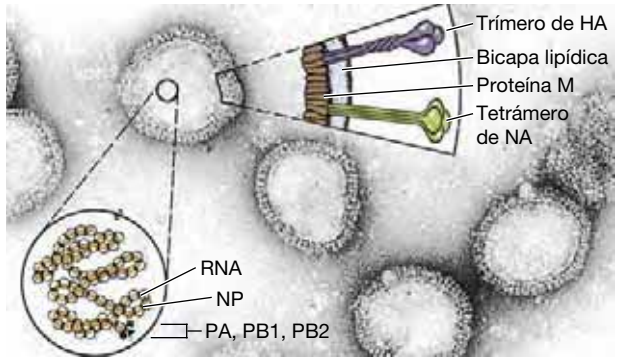
Deriva antigénica y salto antigénico

Cada cepa del virus de la gripe A se puede identificar por un único conjunto de glicoproteínas superficiales. Estas glicoproteínas son la *hemaglutinina* (HA o antígeno H) y la *neuraminidasa* (NA o antígeno N). Cada virus tiene un tipo de HA y uno de NA en la cápsida vírica. El antígeno H es importante en la *fijación* del virus de la gripe a las células del hospedador, mientras que el antígeno N es fundamental en la *liberación* del virus de las células del hospedador; cada antígeno está compuesto de varias proteínas individuales (**Figura 29.26**).



CDC/PHIL, E.L. Palmer, M.L. Martin, and F. Murphy

Figura 29.25 Virus de la gripe A. El virus contiene un genoma de RNA monocatenario de signo negativo dividido en ocho segmentos; cada virión mide alrededor de 100 nm de diámetro. Los principales factores del éxito del virus de la gripe como patógeno son la deriva antigénica y el salto antigénico (véase Figura 29.27).



Irene T. Schulze

Figura 29.26 Estructura del virus de la gripe. Las principales proteínas de cubierta vírica son: HA, hemaglutinina (tres copias forman la espícula de HA de la cubierta). NA, meuraminidasa (cuatro copias forman la espícula de NA en la cubierta). M, proteína de la cubierta. NP, nucleoproteína; PA, PB1, PB2, y otras proteínas internas, algunas de las cuales tienen funciones enzimáticas.

La infección o la inmunización con el virus de la influenza dan como resultado la producción de anticuerpos que reaccionan con las glicoproteínas HA y NA. Cuando esos anticuerpos se unen a la HA o a la NA, el virus se bloquea, ya no puede fijarse ni liberarse, y es neutralizado eficazmente, de manera que se interrumpe el proceso infeccioso. No obstante, con el tiempo, los genes del virus que codifican los antígenos H y N sufren pequeños cambios que alteran sus secuencias de aminoácidos y, por tanto, la estructura del antígeno. Mutaciones que alteran tan solo un aminoácido de la glicoproteína puede afectar al modo en que los anticuerpos se unen a estos antígenos. Esta sutil variación en la estructura de los antígenos superficiales del virus de la gripe está en el núcleo de un fenómeno de la biología del virus llamado **deriva antigénica**. Como consecuencia de estos sutiles pero importantes cambios, la inmunidad del hospedador frente a una determinada cepa vírica disminuye, y se puede producir una reinfección con la cepa mutada. Este fenómeno es la razón por la cual la vacuna de la gripe del año anterior puede tener una efectividad escasa contra las cepas del virus del año en curso (**Figura 29.27*a***).

Además de la deriva antigénica, existe una segunda característica de la biología del virus de la gripe que favorece su virulencia. El genoma de RNA monocatenario de los virus de la gripe es *segmentado*, con los genes dispuestos en ocho segmentos distintos (↻ Figura 9.19*b*). Durante la maduración del virus en la células del hospedador, los segmentos del RNA vírico se encapsidan al azar. Para ser infectivo, un virus tiene que encapsidarse de manera que contenga una copia de cada uno de los ocho segmentos de genoma. Sin embargo, en ocasiones, más de una cepa del virus de la gripe infecta a un animal al mismo tiempo. En tales casos, si dos cepas infectan a la misma célula, ambos genomas víricos se replican, y cuando se produce el encapsidamiento, los segmentos de las dos cepas se pueden mezclar. El resultado es un virus genéticamente único, que se convierte en una *nueva cepa vírica*. Esta mezcla de segmentos genéticos de diferentes cepas del virus de la gripe se llama *recombinación*.

Los *virus recombinantes* desencadenan el fenómeno conocido como **salto antigénico** (Figura 29.27*b*), un cambio importante en un antígeno superficial como consecuencia del reemplazamiento total de un segmento del RNA que lo codifica.

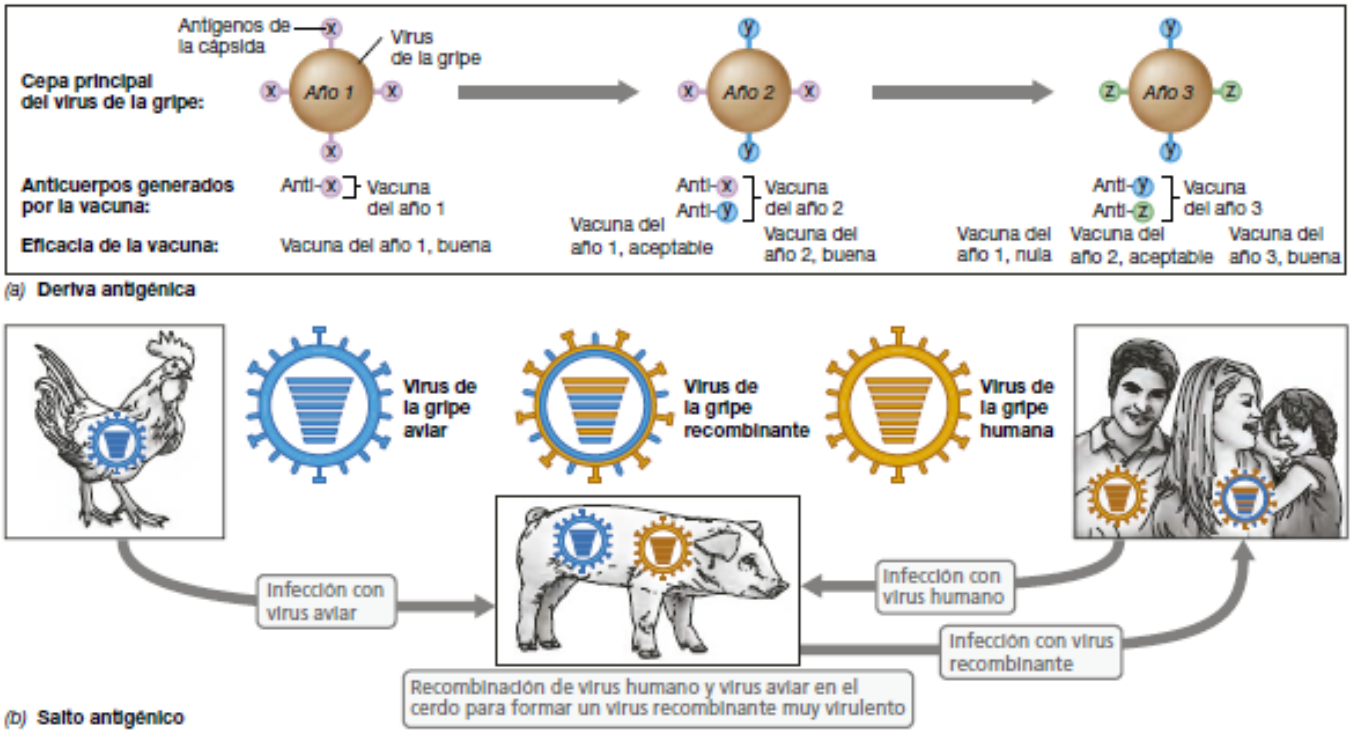


Figura 29.27 **Deriva antigénica y salto antigénico en la biología del virus de la gripe.** *(a)* Deriva antigénica. Cada año se prepara una vacuna contra la cepa principal del virus de la gripe que circula entre la población. No obstante, la eficacia de la vacuna disminuye a medida que aparecen antígenos superficiales inmunológicamente nuevos a partir de la mutación de los genes que codifican las proteínas de la superficie del virus. *(b)* Salto antigénico. Las cepas de la gripe surgidas en aves y en humanos también pueden infectar a los cerdos. Si un cerdo se infecta simultáneamente con virus aviares y humanos, los genomas víricos pueden mezclarse y formar virus recombinantes. Si estos virus, que ahora contienen varios antígenos únicos, infectan a los humanos, se pueden desencadenar pandemias de gripe (véase página 929).

El salto antigénico puede modificar completamente y de inmediato una o las dos principales glicoproteínas víricas H y N. Como consecuencia, los virus recombinantes resultan esencialmente irreconocibles para los elementos de respuesta inmunitaria generados como consecuencia de infecciones previas de gripe. Los virus recombinantes también muestran frecuentemente una o varias propiedades únicas de virulencia que ayudan a desencadenar síntomas clínicos inusualmente graves, y suelen ser catalizadores de *pandemias* de gripe, que a las cuales nos referiremos en seguida.

Síntomas y tratamiento de la gripe

El virus de la gripe humana se transmite por el aire de persona a persona, fundamentalmente en pequeñas gotas producidas durante la tos y el estornudo (Figura 29.1). El virus infecta las membranas mucosas del tracto respiratorio superior y ocasionalmente invade los pulmones. Los síntomas incluyen fiebre baja que dura hasta una semana, escalofríos, cansancio, dolor de cabeza y dolor muscular, tos y/o dolor de garganta y malestar generalizado (Tabla 29.1). La mayoría de las consecuencias graves de la gripe estacional no se debe a la enfermedad en sí misma, sino a infecciones bacterianas secundarias, sobre todo en personas cuya resistencia ha descendido a causa de la gripe. Por ejemplo, en la población infantil y en las personas ancianas, la gripe puede preceder a una neumonía bacteriana (Sección 29.2) que, en ocasiones, resulta mortal.

La mayoría de los individuos desarrolla inmunidad contra la cepa infectante del virus, lo cual imposibilita que esa misma cepa, u otra muy relacionada con ella, provoque una infección generalizada (epidemia) hasta que el virus encuentre otra población vulnerable. La inmunidad se logra gracias a las respuestas inmunes mediadas tanto por anticuerpos como por células se debe, sobre todo, a la producción de anticuerpos y a las respuestas inmunes del hospedador, dirigidas contra las glicoproteínas H y N. Las epidemias de gripe se pueden controlar por inmunización. Sin embargo, es complicado desarrollar una vacuna eficaz debido al gran número de cepas del virus de la gripe existente como resultado de la deriva antigénica y el salto antigénico (Figura 20.27). Mediante una cuidadosa vigilancia a nivel mundial, cada año se obtienen muestras de las principales cepas emergentes del virus de la gripe antes de la aparición de las epidemias estacionales, y se utilizan para preparar la vacuna de ese año. La mayoría de los años, este procedimiento proporciona una inmunización adecuada.

La mayor parte de los virus de la gripe humana responde a los tratamientos antivirales. Los derivados del adamantano (*amantadina* y *rimantadina*) son aminas sintéticas inhibidoras de la replicación vírica, y los inhibidores de la neuraminidasa *oseltamivir* (Tamiflu) y *zanamivir* (Relenza) (↪ Tabla 27.6), bloquean la liberación de viriones de la gripe humana recién replicados. Estos medicamentos suelen administrarse al principio de la infección para prevenir su desarrollo y gravedad, especialmente en personas con inmunidad comprometida y en ancianos.

Pandemias de gripe

Las pandemias de gripe (epidemias mundiales) son mucho menos frecuentes que los brotes y epidemias, y se producen en ciclos que oscilan entre los 10 y los 40 años (Tabla 29.2). Las pandemias de gripe son debidas al salto antigénico, y prácticamente todas se han debido a la recombinación del virus de la gripe aviar y de la gripe humana en el cerdo (Figura 29.27*b*), un animal que puede propagar ambos virus. El resultado de dicha recombinación es una cepa de la gripe muy virulenta, para la cual no existe inmunidad previa en la población humana.

La pandemia de la «gripe española» de 1918 fue la más catastrófica de todas las documentadas históricamente. Mató entre 20 y 50 millones de personas en todo el mundo, 2 millones en los Estados Unidos. Parece ser que la extrema virulencia del virus H1N1 de 1918 fue debida a que el patógeno desencadenó la producción y la liberación, por parte del hospedador, de cantidades inusualmente elevadas de sustancias inflamatorias, originando una inflamación sistémica y unos síntomas más graves que los de las típicas epidemias anuales de gripe. La de gripe asiática de 1957 también fue una pandemia memorable (Figura 29.28), comenzando en China y extendiéndose a los Estados Unidos y, poco después, a Europa y a Sudamérica. En este caso, la cepa pandémica era un virus H2N2 muy virulento, de composición antigénica distinta a la de cepas anteriores. No existía, por tanto, inmunidad contra esta cepa, lo que permitió que el virus se extendiera rápidamente por todo el mundo provocando cerca de 2 millones de muertes. No obstante, la detección temprana del virus de la gripe asiática y la sofisticación alcanzada en la fabricación de vacunas, hicieron que esta pandemia de gripe estuviera más controlada que la de 1918, cuando no se disponía de una vacuna efectiva.

Tabla 29.2 Pandemias de gripe

Año	*Nombre*	*Cepa*
1889	Rusa	H2N2
1900	Antigua de Hong Kong	H3N8
1918	Española	H1N1
1957	Asiática	H2N2
1968	De Hong Kong	H3N2
2009	Porcina	H1N1

El virus pandémico de la gripe A (H1N1) de 2009, también llamada «gripe porcina», se extendió incluso más rápidamente en 2009 que la gripe asiática de 1957, empezando en México y extendiéndose rápidamente a los Estados Unidos, Europa, Centroamérica y Sudamérica. El virus H1N1 fue un caso clásico de recombinación del genoma del virus de la gripe en el cerdo (Figura 29.27*b*), y del reservorio porcino, emergió un virus muy virulento que infectó a los humanos. Aunque el virus H1N1 se extendió rápidamente, la tasa de mortalidad generalizada fue muy inferior a la de la pandemia de gripe española, con valores de 0,1-0,2 %, cifras solo ligeramente superiores a la tasa de mortalidad de la gripe estacional.

La gripe A H5N1, conocida como «gripe aviar», apareció en Hong Kong en 1997, saltando directamente de su hospedador aviar a los humanos sin pasar por la fase de recombinación. El virus de la gripe A H5N1 se ha detectado ahora en aves en Asia, Europa, Oriente Medio y norte de África. Entre humanos, la propagación eficaz del virus H5N1 solo se da tras un prolongado y estrecho contacto y, por ello, esta cepa todavía no ha desencadenado una pandemia. Sin embargo, si este virus llegara a infectar a los cerdos y diera origen a un virus recombinante fácilmente transmisible que, posteriormente, saltase a los humanos (Figura 29.27*b*), ese virus podría desencadenar una importante nueva pandemia de gripe. Las autoridades sanitarias de todo el mundo han reconocido esta posibilidad, y han

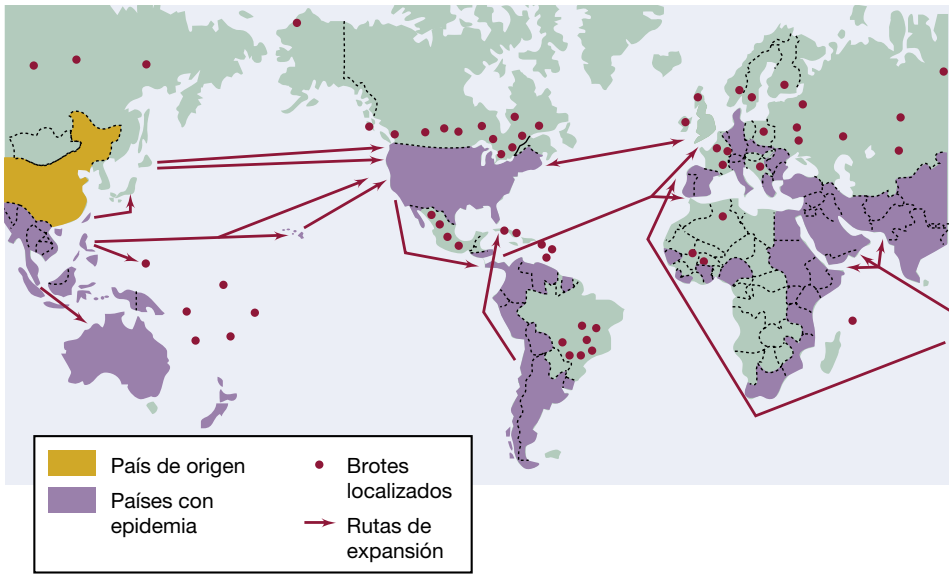


Figura 29.28 **Pandemia de gripe.** Ruta de expansión de la pandemia de la gripe asiática de 1957. Prácticas poco cuidadosas en la manipulación de aves y cerdos, unidas a la interacción humana con estos animales, favorecieron la recombinación de genomas de virus de la gripe de las tres especies hospedadoras, que produjo una nueva cepa para la cual no había memoria inmunitaria en los humanos (véase Figura 29.27*b* y página 929).

preparado planes para disponer de vacunas adecuadas y de apoyo para enfrentarse a potenciales pandemias iniciadas por este u otros virus emergentes de la gripe (ver página inicial de este capítulo).

MINIRREVISIÓN

- Distinga entre deriva antigénica y salto antigénico en la gripe.
- Argumente las posibilidades de llevar a cabo programas eficaces de inmunización contra la gripe, y compárelas con las de inmunización contra el resfriado común.

III • Enfermedades por contacto directo

Algunos patógenos se diseminan principalmente por contacto directo con una persona infectada o por contacto con su sangre o secreciones. Muchas de las enfermedades respiratorias que acabamos de tratar también pueden transmitirse por contacto directo, pero aquí nos centramos en las enfermedades que se transmiten sobre todo por contacto directo con individuos infectados, más que las que se transmiten por el aire. Entre ellas se encuentran las infecciones estafilocócicas, las úlceras y ciertos tipos de hepatitis.

29.9 Infecciones por *Staphylococcus aureus*

El género *Staphylococcus* contiene patógenos para el ser humano y para otros animales. Por lo general, los estafilococos infectan la piel y las heridas y también provocan neumonía. La mayoría de estas infecciones son consecuencia de la transferencia de estafilococos de la microbiota normal desde un individuo infectado asintomático a otro vulnerable. Otras son el resultado de la toxemia resultante de la ingestión de comida contaminada («por estafilococos», ↻ Sección 31.8).

Los estafilococos son cocos grampositivos no esporulantes de unos 0,5-1,5 µm de diámetro, que se dividen en diferentes planos para formar grupos irregulares (**Figura 29.29**). Son resistentes a la sequedad y toleran concentraciones salinas muy altas (hasta 10 % NaCl) cuando se cultivan en medios artificiales. Los estafilococos se dispersan con facilidad por partículas de polvo a través del aire y de las superficies. Hay dos especies importantes para el ser humano: *Staphylococcus epidermidis*, una especie no pigmentada que es frecuente en la piel o en las membranas mucosas, y *Staphylococcus aureus*, una especie con pigmentos amarillos (↻ Figura 29.31). Ambas son patógenos potenciales, pero *S. aureus* está relacionado con más frecuencia con enfermedades humanas. Las dos especies suelen estar presentes en la microbiota normal del tracto respiratorio superior y de la piel (Figura 29.2 y ↻ Figura 29.31*b*), por lo que muchas personas son potenciales portadoras.

Epidemiología y patogenia

Los estafilococos causan enfermedades como el acné, forúnculos, granos, impétigo, neumonía, osteomielitis, carditis, meningitis y artritis. Muchas de estas enfermedades son *piogénicas* (formadoras de pus) (**Figura 29.30*a***). Las cepas de *S. aureus* que causan enfermedades en humanos producen diversos factores de virulencia (↻ Tabla 23.5). Se han reconocido al menos cuatro *hemolisinas* diferentes (proteínas que lisan los glóbulos rojos, ↻ Figura 29.8), y una única cepa puede producir varias. Un importante factor clave de virulencia producido por *S. aureus* es la *coagulasa*, una enzima que convierte la fibrina en fibrinógeno, formando un coágulo localizado. La coagulación inducida por la coagulasa da como resultado la acumulación de fibrina alrededor de las células bacterianas, dificultando que las células inmunitarias del hospedador entren en contacto con la bacteria e inicien la fagocitosis. La mayoría de las cepas de *S. aureus* también producen *leucocidina*, una proteína que destruye los leucocitos. La producción de leucocidina en lesiones cutáneas como forúnculos y granos, ocasiona una considerable destrucción de células del hospedador y es uno de los factores responsables de la formación de pus (Figura 29.30). Algunas

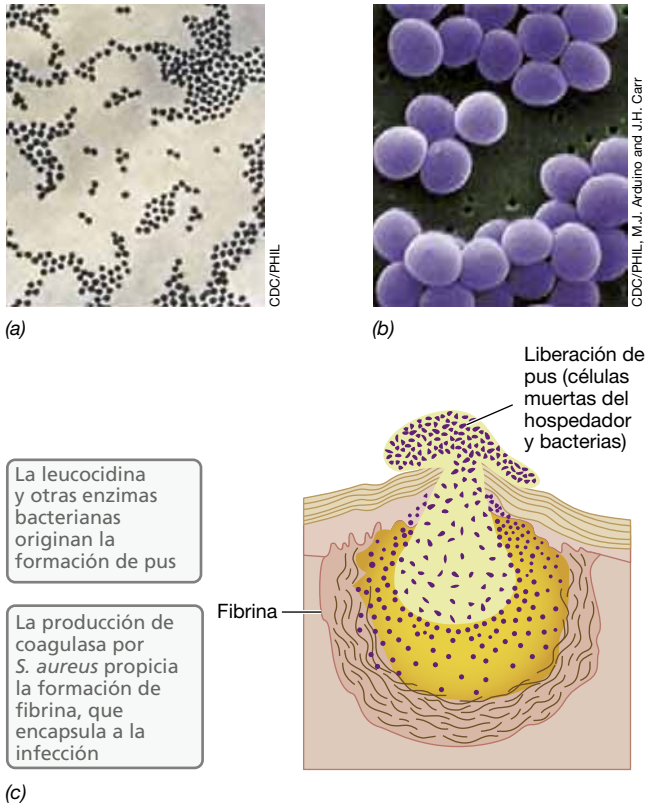


Figura 29.29 ***Staphylococcus aureus* e infecciones por *S. aureus*.** Las células se dividen en diferentes planos, formando acumulaciones semejantes a racimos de uva. *(a)* Tinción de Gram; cada coco mide aproximadamente 1 µm de diámetro. *(b)* Micrografía de las células mediante microscopía electrónica de barrido. *(c)* Estructura de un forúnculo. Los estafilococos inician una infección cutánea localizada, y quedan encapsulados por sangre coagulada y fibrina por la acción de la enzima coagulasa, un importante factor de virulencia. La rotura del forúnculo libera pus, formado por células muertas del hospedador y bacterias. Véase también Figura 29.30.



(a)



(b)

Figura 29.30 Heridas purulentas estafilocócicas. *(a)* Típica herida purulenta en una mano. El pus se encuentra justo debajo de la capa epidérmica. *(b)* Absceso en la mano causado por una cepa de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (cepa MRSA). Si no se administra un tratamiento para heridas purulentas o si se administra penicilina en primer lugar, las infecciones por MRSA pueden causar destrucción tisular generalizada, como se muestra aquí.

cepas de *S. aureus* también producen otras proteínas virulentas, como *hialuronidasa*, *fibrinolisina*, *lipasa*, *ribonucleasa* y *desoxirribonucleasa*.

Ciertas cepas de *S. aureus* causan el **síndrome del choque tóxico** (**TSS**, por el inglés *toxic shock syndrome*), una consecuencia grave de la infección estafilocócica caracterizada por fiebre alta, erupciones cutáneas, vómitos, diarreas y muerte. El TSS se observó primero en mujeres y se asoció al uso de tampones de gran absorción. Sin embargo, actualmente se ha detectado TSS tanto en hombres como en mujeres, y suele iniciarse por infecciones estafilocócicas postoperatorias. Los síntomas de TSS se deben a una exotoxina denominada *toxina-1 del síndrome del choque tóxico*. Esta potente toxina es un superantígeno (↪ Sección 24.9) liberado durante el crecimiento celular que atrae una gran cantidad de células T al lugar de la infección. Estas células, entonces, provocan una importante respuesta inflamatoria que resulta mortal en el 70 % de los casos. El TSS también puede estar causado por superantígenos de otros patógenos, incluido *Streptococcus pyogenes* (Sección 29.2).

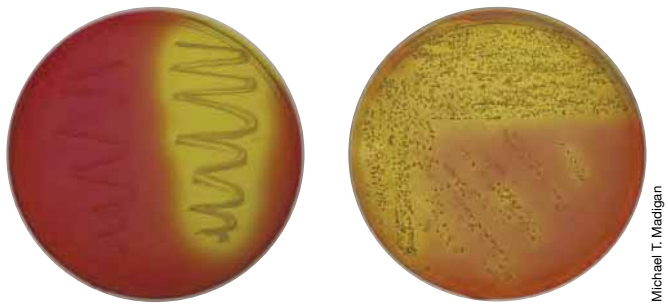
Diagnóstico y tratamiento

Para diagnosticar una infección por *S. aureus* mediante un cultivo de laboratorio, se cultiva un espécimen, normalmente procedente de una herida purulenta (Figura 29.30*a*), en un medio selectivo y diferencial que contenga un 7,5 % NaCl, manitol y rojo fenol, un indicador de pH (agar manitol salado, **Figura 29.31**). La sal inhibe el crecimiento de bacterias no halófilas, pero permite el crecimiento de los estafilococos. Además, como *S. aureus* fermenta el manitol, genera acidez y el color del medio cambia del rojo al amarillo; otros estafilococos, como *S. epidermidis*, no provocan este cambio de color (Figura 29.31).

En laboratorios clínicos importantes, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se usa para amplificar genes específicos de *S. aureus* a partir de DNA aislado de una muestra clínica, lo cual acelera el proceso de diagnosis (los resultados de un cultivo de laboratorio tardan 24 horas). Para identificar específicamente cepas de *S. aureus* resistentes a la meticilina (MRSA), existe un medio selectivo y diferencial especial, así como un protocolo PCR para identificar el gen *mecA*, el gen que codifica la resistencia a la meticilina en las cepas MRSA.

Históricamente, las infecciones por *S. aureus* se han tratado con diversos antibióticos de penicilina y cefalosporina. No obstante, el uso generalizado de estos antibióticos durante tantos años ha provocado la selección de cepas resistentes que predominan ahora, especialmente en entornos hospitalarios. Los pacientes quirúrgicos, por ejemplo, pueden contraer los estafilococos del personal sanitario, que es portador asintomático de cepas resistentes. Como consecuencia, la terapia apropiada contra *S. aureus* mediante fármacos antimicrobianos es un problema importante en los entornos sanitarios. El antibiótico clindamicina y diversos compuestos de tetraciclina se usan actualmente para tratar infecciones por MRSA.

Las infecciones por MRSA (Figura 29.30*b*) son cada vez más habituales. Por ejemplo, cada año se describen más de 100.000 casos de infección por MRSA en los Estados Unidos, pero el número de infecciones reales probablemente sea unas diez veces superior. Muchos de estos casos son infecciones nosocomiales (adquiridas en instalaciones sanitarias) por MRSA, pero muchos otros no lo son. Debido a la gravedad potencial de las infecciones por MRSA, es importante identificar rápidamente las cepas en especímenes clínicos para comenzar un tratamiento efectivo con la mayor celeridad posible. Retrasar el tratamiento de una infección por MRSA, ya sea por las dudas sobre



(a) (b)

Figura 29.31 Uso de agar manitol salado para aislar estafilococos. *(a)* El agar manitol salado (MSA) es selectivo y diferencial para los estafilococos. La presencia de 7,5 % de NaCl hace selectivo al MSA y el rojo fenol lo hace diferencial. A la izquierda, *Staphylococcus epidermidis*; a la derecha, *Staphylococcus aureus*. *(b)* Frotis nasal del autor de mayor edad de este libro que confirma la observación de que la mayoría de los humanos son portadores de *S. aureus*.

el tratamiento a emplear, o por el uso de un antibiótico ineficaz, puede causar daño tisular generalizado (Figura 29.30*b*).

La prevención de las infecciones estafilocócicas es virtualmente imposible, ya que muchos individuos son portadores asintomáticos de *S. aureus* tanto en la piel como en el tracto respiratorio superior (Figura 29.31*b*). No obstante, la identificación y el tratamiento o el aislamiento de personal sanitario portador de MRSA que trabaja en unidades de cirugía o de neonatología, han ayudado a limitar la transmisión de estas cepas tan agresivas. Al igual que sucede con numerosas enfermedades transmitidas por contacto directo, la transmisión de MRSA puede disminuir significativamente mediante unas buenas prácticas de higiene básica, evitando el contacto con objetos personales de otras personas (incluyendo la ropa y las toallas) y manteniendo las heridas cubiertas.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cuál es el hábitat normal de *Staphylococcus aureus*? ¿Cómo se transmite de persona a persona?
- ¿Qué es el MRSA y por qué es un problema sanitario?

29.10 *Helicobacter pylori* y las úlceras gástricas

Helicobacter pylori es una bacteria gramnegativa muy móvil y con morfología espiral (**Figura 29.32**) que está asociada a gastritis, úlceras y cánceres gástricos. Esta bacteria coloniza la mucosa estomacal no secretora de ácido y el tramo superior del intestino. Hasta el 80 % de los pacientes con úlcera gástrica tiene infecciones concomitantes por *H. pylori*, y hasta el 50 % de los adultos asintomáticos en países desarrollados están infectados de forma crónica. Aunque no se conocen reservorios no humanos de *H. pylori*, las infecciones tienen una elevada incidencia dentro de las familias, lo cual sugiere que se transmite de persona a persona. Ocasionalmente, las infecciones por *H. pylori* también se dan en grupos, lo que sugiere que también es posible que se transmita a través de fuentes comunes como los alimentos o el agua.

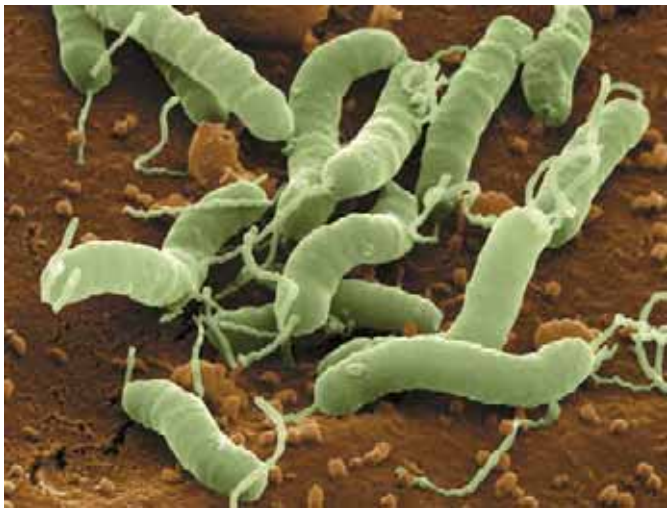


Figura 29.32 ***Helicobacter pylori.*** Micrografía de microscopio electrónico de barrido coloreada de las células adheridas a la mucosa estomacal. Las células miden entre 3 y 5 μm de largo y aproximadamente 0,5 μm de diámetro. Nótese la presencia de flagelos.

Helicobacter pylori es solo ligeramente invasivo y coloniza la superficie de la mucosa gástrica, donde la capa mucosa lo protege de los efectos de los ácidos estomacales. Después de la colonización, una combinación de factores de virulencia y de respuesta del hospedador origina inflamación, destrucción tisular y ulceración. Productos del patógeno como la citotoxina VacA (una exotoxina), la ureasa y una respuesta autoinmune desencadenada por lipopolisacárido de *H. pylori*, contribuyen conjuntamente en la destrucción tisular localizada y la ulceración. Los individuos que contraen *H. pylori* tienden a desarrollar infecciones crónicas a menos que sean tratados con antibióticos. El tratamiento es tan sencillo como importante, ya que la inflamación gastroduodenal crónica (gastritis) debida a una infección por *H. pylori* no tratada, pueden provocar el desarrollo de cánceres gástricos.

Los síntomas clínicos de la infección por *H. pylori* incluyen eructos y dolor estomacal (epigástrico). El diagnóstico definitivo requiere el aislamiento o la observación de *H. pylori* en la biopsia de una úlcera gástrica. Una sencilla prueba diagnóstica para la enzima ureasa de *H. pylori* se emplea para la diagnosis no invasiva. Para la prueba, el paciente ingiere una pequeña cantidad de urea ($H_2N–CO–NH_2$) marcada con ^{13}C- o ^{14}C-; si *H. pylori* está presente, la bacteria hidrolizará la urea, formando CO_2 marcado y amoniaco. Por este motivo, la presencia de CO_2 marcado en el aliento del paciente sugiere una elevada probabilidad de infección por *H. pylori*.

La mejor evidencia de una relación causal entre *H. pylori* y las úlceras gástricas procede del tratamiento de la enfermedad con antibióticos. El tratamiento continuado a base de antiácidos ayuda a aliviar temporalmente los síntomas de la úlcera gástrica, pero la mayoría de los pacientes recaen al cabo de un año. Sin embargo, al tratar la *causa* de la enfermedad en vez del *efecto*, se puede conseguir la cura real. La infección por *H. pylori* se trata normalmente con una combinación de fármacos, que incluye el compuesto antibacteriano metronidazol, un antibiótico como la tetraciclina o la amoxicilina, y un compuesto antiácido con bismuto. La administración del tratamiento combinado durante 14 días elimina la infección por *H. pylori*, y proporciona una cura duradera.

Por sus contribuciones a desvelar las conexiones entre *H. pylori* y las úlceras pépticas y duodenales, los científicos australianos Robin Warren y Barry Marshall recibieron el premio Nobel de Fisiología o Medicina en 2005.

MINIRREVISIÓN

- Describa la infección por *Helicobacter pylori* y el subsiguiente desarrollo de una úlcera.
- ¿Cómo se pueden diagnosticar las úlceras gástricas? ¿Y cómo se pueden curar?

29.11 Virus de la hepatitis

La **hepatitis** es una inflamación del hígado causada normalmente por un agente infeccioso. A veces, la hepatitis evoluciona a una enfermedad aguda denominada **cirrosis**, que consiste en

la destrucción de la anatomía funcional y celular del hígado. La hepatitis debida a una infección puede provocar una enfermedad crónica o aguda, y algunas formas conducen a la aparición de cáncer de hígado.

Aunque muchos virus y unas cuantas bacterias pueden provocar hepatitis, la enfermedad hepática se asocia a menudo con un restringido grupo de virus. Los virus de la hepatitis A, B, C, D y E son filogenéticamente diversos, pero comparten su capacidad para infectar el hígado (**Tabla 29.3**). Los virus de la hepatitis A y E, aunque ocasionalmente se transmiten de persona a persona, normalmente se transmiten por la comida (virus de la hepatitis A) o el agua (virus de la hepatitis E). Tratamos la hepatitis A en el Capítulo 31. Aquí nos centramos en los virus de la hepatitis que se transmiten por contacto directo.

La incidencia de las hepatitis A y B, las formas más comunes de la enfermedad, ha descendido significativamente los últimos 20 años debido a la existencia de vacunas eficaces (**Figura 29.33**) y al aumento de la vigilancia. En comparación con las hepatitis A y B, las infecciones por hepatitis C tienen una incidencia muy baja (Figura 29.33).

Epidemiología

La infección por el *virus de la hepatitis B* (HBV) se denomina a menudo *hepatitis sérica*, porque se transmite por la sangre o por los fluidos corporales que están en contacto con ella. El HBV es un hepadnavirus, un virus con DNA parcialmente bicatenario (↔ Sección 9.11). La partícula vírica madura que contiene el genoma vírico se llama *partícula de Dane* (**Figura 29.34**). El HBV causa una enfermedad aguda, a menudo grave, que puede provocar fallo hepático y muerte. La infección crónica por HBV puede acarrear cirrosis y cáncer hepático.

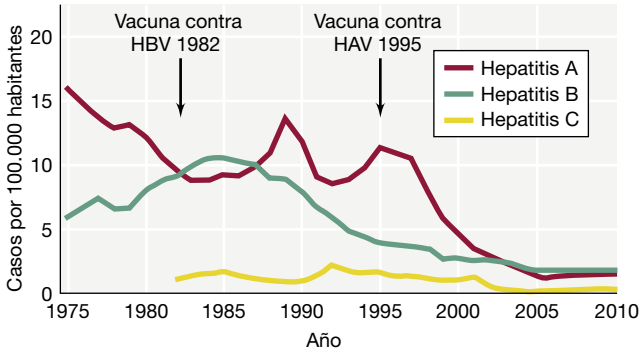


Figura 29.33 Hepatitis A, B y C en los Estados Unidos. En 2010 se describieron 1.670 casos de hepatitis A, 3.350 casos de hepatitis B, y 850 casos de hepatitis C. Datos obtenidos de CDC, Atlanta, Georgia, EE.UU.

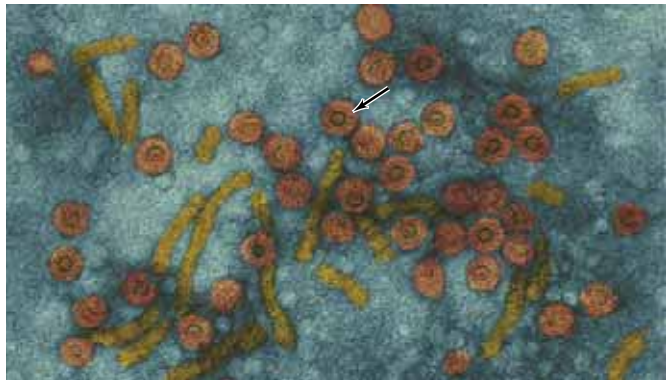


Figura 29.34 Virus de la hepatitis B (HBV). La flecha señala un virión completo de HBV, denominado partícula de Dane. Una partícula de Dane mide unos 40 nm de diámetro.

Normalmente el virus se transmite por *vía parenteral*, que significa «fuera del intestino». Los principales mecanismos de transmisión del HBV son las transfusiones de sangre, el contacto con la sangre infectada de una aguja hipodérmica, y el paso de madre a hijo durante el parto. El HBV también se puede contraer por intercambio de líquidos corporales durante la relación sexual. El número de infecciones nuevas por HBV se ha mantenido bajo y más o menos estable desde el año 2000 (Figura 29.33). Sin embargo, más de 100.000 personas en todo el mundo, y casi 5.000 en los Estados Unidos, mueren cada año por fallo hepático o por cáncer de hígado provocados por una infección crónica por el HBV.

El *virus de la hepatitis D* (HDV) es un *virus defectivo* (↔ Sección 10.7) que carece de genes para codificar su propia cápsida. El HDV también se transmite por vía parenteral, pero como es un virus defectivo, no puede replicarse ni crear un virión intacto a menos que la célula se infecte también con el HBV. El genoma del HDV se replica independientemente, pero depende de la producción de las proteínas de la cápsida por parte del HBV (ambos virus utilizan las mismas proteínas de cápsida) para formar viriones infecciosos. De este modo, las infecciones por HDV son siempre coinfecciones con HBV.

El *virus de la hepatitis C* (HCV) se transmite también de forma parenteral. Generalmente, el HVC produce inicialmente una enfermedad leve e incluso asintomática, pero posteriormente hasta el 85 % de las personas infectadas desarrollan hepatitis crónica, de las cuales hasta un 20 % deriva en enfermedad

Tabla 29.3 Virus de la hepatitis

Enfermedad	*Virus y genoma*	*Vacuna*	*Enfermedad clínica*	*Vía de transmisión*
Hepatitis A	*Hepatovirus* (HAV) RNA monocatenario	Sí	Aguda	Entérica (alimentos)
Hepatitis B	*Orthohepadnavirus* (HBV) DNA bicatenario	Sí	Aguda, crónica, oncogénica	Parenteral, sexual
Hepatitis C	*Hepacivirus* (HCV) RNA monocatenario	No	Crónica, oncogénica	Parenteral
Hepatitis D	*Deltavirus* (HDV) RNA monocatenario	No	Fulminante, solo con HBV	Parenteral
Hepatitis E	Familia *Caliciviridae* (HEV) RNA monocatenario	No	Fulminante en mujeres embarazadas	Entérica (agua)

hepática crónica y cirrosis. En el 3-5 % de los individuos infectados, la infección crónica por HCV provoca hepatocarcinoma (cáncer de hígado). El período de latencia para el desarrollo del cáncer puede durar varias décadas a partir de la infección inicial. Los nuevos casos detectados y registrados en los Estados Unidos (Figura 29.33) son solamente una fracción de las 25.000 nuevas infecciones anuales por HCV estimadas en los Estados Unidos. Cada año se produce un elevado número de muertes relacionadas con el HCV debido a infecciones crónicas que evolucionan hasta provocar cáncer de hígado. Las enfermedades hepáticas inducidas por el HCV suponen hasta 10.000 de las 25.000 muertes anuales debidas a cáncer de hígado, a otras enfermedades hepáticas crónicas y a cirrosis.

Otros aspectos de los síndromes de hepatitis

La hepatitis es una enfermedad aguda del hígado, un órgano vital que interviene en numerosos procesos metabólicos, como la síntesis de carbohidratos, de lípidos y de proteínas, además de la detoxificación y muchas otras funciones. Los síntomas de la hepatitis incluyen fiebre, ictericia (color amarillento de la piel y los ojos), hepatomegalia (aumento del hígado) y cirrosis. Todos los virus de la hepatitis provocan síntomas graves muy parecidos y no se pueden distinguir fácilmente basándose solo en los síntomas clínicos. Las infecciones crónicas de hepatitis, normalmente producidas por el HBV o el HCV, suelen ser asintomáticas o producen síntomas muy leves, pero pueden ser causa de enfermedades hepáticas graves, incluso en ausencia de cáncer de hígado.

El diagnóstico de la hepatitis se basa en una combinación de aspectos clínicos y pruebas de laboratorio que evalúan la función hepática, especialmente, las enzimas hepáticas clave. La cirrosis se diagnostica mediante el examen visual de biopsias del tejido del hígado. Para confirmar el diagnóstico también se emplean pruebas moleculares específicas para los virus, que permiten identifican el agente infeccioso y determinan la pauta de tratamiento; normalmente no se suele recurrir al aislamiento y el cultivo directo de los virus de la hepatitis.

Muchos de los instrumentos de diagnóstico inmunológicos y moleculares tratados en el Capítulo 27 se emplean para diagnosticar la hepatitis. Entre ellos, se encuentran las pruebas de enzimoinmunoanálisis, que identifican proteínas víricas o anticuerpos víricos en muestras de sangre, la inmunotransferencia (*Western blot*) y la inmunofluorescencia (microscópica). Las pruebas de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) también se emplean para detectar el genoma vírico en la sangre o en muestras tisulares del hígado obtenidas por biopsia.

La infección por HAV o HBV se puede evitar con vacunas efectivas. Se recomienda la vacunación contra el HBV y, en muchos casos, es obligatoria para los escolares en los Estados Unidos. No existen vacunas eficaces contra los otros virus de la hepatitis. Las personas no vacunadas deben seguir una serie de *precauciones generales* para evitar infectarse, como un alto nivel de vigilancia, la manipulación aséptica, y una serie de procedimientos especiales para tratar con los pacientes, con los fluidos corporales y con los materiales de desecho infectados (↪ Sección 27.1). La mayoría de los tratamientos de la hepatitis son de apoyo, y recomiendan descanso y tiempo para permitir que el sistema inmunitario ataque la infección y se repare el hígado. En algunos casos, especialmente en infecciones por HBV, existen fármacos antivirales que proporcionan un tratamiento efectivo.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué órgano atacan los virus de la hepatitis? ¿Cómo se transmiten los virus de la hepatitis A, de la hepatitis B y de la hepatitis C?
- Describa métodos potenciales de prevención y tratamiento para los virus de la hepatitis A, la hepatitis B y la hepatitis C.

IV • Infecciones de transmisión sexual

Las infecciones de transmisión sexual (**STI**, de *sexually transmitted infections*), también llamadas *enfermedades de transmisión sexual* (STD, de *sexually transmitted diseases*) o *enfermedades venéreas*, están causadas por una amplia variedad de bacterias, virus, protistas e incluso hongos (**Tabla 29.4**). A diferencia de los patógenos respiratorios, que pueden liberarse constantemente y en gran número por parte de un individuo infectado, los patógenos que se transmiten sexualmente, por lo general, solamente se encuentran en los fluidos del tracto genitourinario (en el caso del VIH, también en la sangre). Debido a que necesitan un ambiente protegido y húmedo para sobrevivir, estos patógenos colonizan preferentemente, y a veces exclusivamente, el tracto genitourinario.

Como la transmisión de STI se limita a la actividad sexual, su propagación se puede controlar con abstinencia sexual, y puede minimizarse mediante el uso de condones, que evitan el intercambio de fluidos corporales durante el acto sexual. Excepto el VIH/SIDA, la mayoría de las STI son curables y presentan síntomas leves. Esta circunstancia, combinada con el rechazo de algunos individuos infectados a seguir un tratamiento, convierten las STI en un reto permanente para la salud pública. Sin embargo, retrasar o eludir el tratamiento de STI solo sirve para mantener activas las vías de transmisión, y puede llevar a problemas a largo plazo, como infertilidad, cáncer, enfermedades cardíacas, enfermedades neurodegenerativas, defectos de nacimiento, aborto o destrucción del sistema inmune, todas ellas potencialmente mortales.

29.12 La gonorrea y la sífilis

Tanto la *gonorrea* como la *sífilis* son antiguas STI, pero debido a la disparidad de síntomas, sus patrones generales difieren considerablemente entre sí. En los Estados Unidos, los casos de gonorrea aumentaron después de la introducción de las píldoras anticonceptivas en la década de 1960, y esta enfermedad todavía es muy frecuente; la sífilis, por otra parte, tiene una incidencia mucho menor (**Figura 29.35**). Esto se debe, en parte, a que la sífilis muestra síntomas muy evidentes en sus fases iniciales, y los individuos infectados suelen buscar un tratamiento inmediato.

Tabla 29.4 Enfermedades de transmisión sexual y pautas de tratamiento

Enfermedad	*Organismo(s) causante(s)*[a]	*Tratamiento recomendado*[b]
Gonorrea	*Neisseria gonorrhoeae* (B)	Cefixima o ceftriaxona y azitromicina o deoxiciclina
Sífilis	*Treponema pallidum* (B)	Penicilina G con benzatina
Infecciones por *Chlamydia trachomatis*	*Chlamydia trachomatis* (B)	Doxiciclina o azitromicina
Uretritis no gonocócica	*C. trachomatis* (B) o *Ureaplasma urealyticum* (B) o *Mycoplasma genitalium* (B) o *Tricomonas vaginalis* (P)	Azitromicina o doxiciclina Metronizadol
Linfogranuloma venéreo	*C. trachomatis* (B)	Deoxiciclina
Chancro	*Haemophilus ducreyi* (B)	Azitromicina
Herpes genital	Herpes simple tipo 2 (V)	No se conoce cura; los síntomas se pueden controlar con diversos fármacos antivirales
Verrugas genitales	Virus del papiloma humano (HPV) (determinadas cepas)	Sin cura, las verrugas sintomáticas se eliminan por cirugía, compuestos químicos o crioterapia
Tricomoniasis	*Trichomonas vaginalis* (P)	Metronidazol
Síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA)	Virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)	No se conoce cura; puede detenerse la replicación vírica y retrasarse la evolución de la enfermedad con diversos medicamentos
Enfermedad pélvica inflamatoria	*N. gonorrhoeae* (B) o *C. trachomatis* (B)	Cefotetan y doxiciclina
Candidiasis vulvovaginal	*Candida albicans* (H)	Butoconazol

[a]B, bacteria; V, virus; P, protista; H, hongo.
[b]Recomendaciones del Departamento de Sanidad y Servicios Humanos, Servicio de Salud Pública, EE.UU.

Gonorrea

Neisseria gonorrhoeae, con frecuencia llamada *gonococo*, causa gonorrea. *N. gonorrhoeae* es un diplococo gramnegativo aerobio estricto, que está bioquímica y filogenéticamente relacionado con *Neisseria meningitidis* (Sección 29.5). Las células de *N. gonorrhoeae* mueren rápidamente por deshidratación, y por la luz solar y la luz ultravioleta y, por tanto, no suele sobrevivir fuera de las membranas mucosas de la faringe, la conjuntiva, el recto y el aparato genitourinario (**Figura 29.36**). Por este motivo, la gonorrea solo se puede transmitir por contacto directo íntimo entre personas. En la Sección 7.3, tratamos la microbiología clínica y el diagnóstico de la gonorrea.

Los síntomas de la gonorrea son muy diferentes en el hombre y en la mujer. En las mujeres, la gonorrea puede ser asintomática o presentar una leve vaginitis que es difícil distinguir de las infecciones vaginales causadas por otros organismos, de modo que la infección puede pasar fácilmente desapercibida. No obstante, las complicaciones surgidas por falta de tratamiento en las mujeres pueden conducir a una afección crónica conocida como *enfermedad pélvica inflamatoria* (PID, de *pelvic*

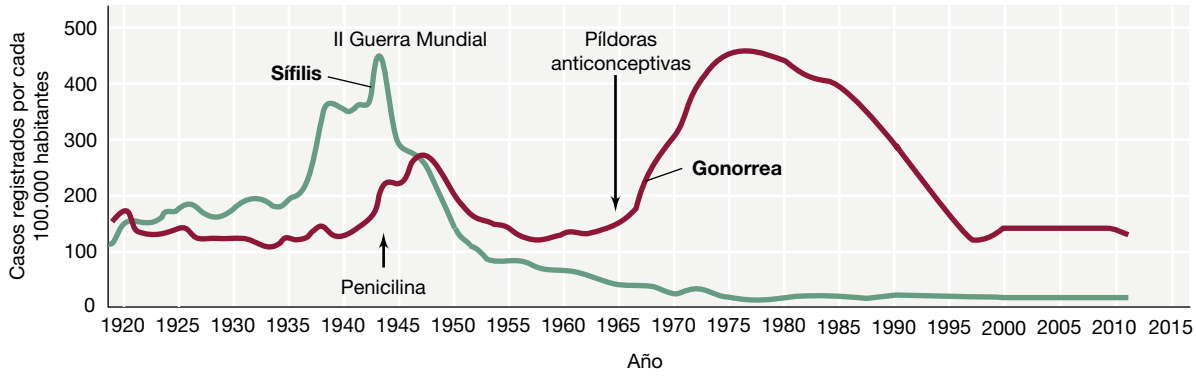
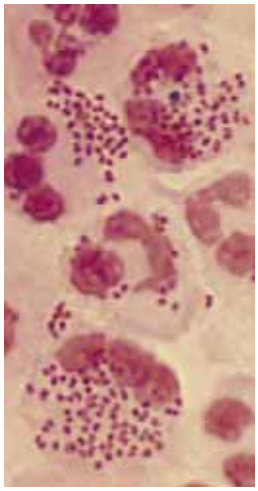


Figura 29.35 Casos de gonorrea y de sífilis registrados en los Estados Unidos. Nótese la tendencia descendente de la incidencia de las enfermedades tras la introducción de los antibióticos y la tendencia ascendente en la incidencia de la gonorrea tras la introducción de píldoras anticonceptivas. En 2011 hubo 321.849 casos nuevos de gonorrea y 46.042 casos nuevos de sífilis primaria y secundaria en los Estados Unidos.



(a)



(b)

Figura 29.36 ***Neisseria gonorrhoeae*, el agente causante de la gonorrea.** *(a)* Tinción de Gram de una descarga uretral. *(b)* Micrografía por microscopía electrónica de barrido de las microvellosidades de la mucosa de las trompas de Falopio humanas con células de *N. gonorrhoeae* adheridas a la superficie de las células epiteliales. Las células de *N. gonorrhoeae* tienen cerca de 0,8 µm de diámetro. Las especies de *Neisseria* son *Betaproteobacterias* (↻ Sección 15.2).

inflammatory disease) que puede provocar esterilidad. En el hombre, *N. gonorrhoeae* causa una dolorosa infección dolorosa del canal uretral y típicas descargas uretrales purulentas. La falta de tratamiento de la gonorrea puede ocasionar, tanto en el hombre como en la mujer, daño en las válvulas cardíacas y en los tejidos conectivos debido a la acumulación de complejos inmunes en dichas zonas. Además de causar gonorrea en adultos, *N. gonorrhoeae* también causa infecciones oculares en los recién nacidos. Los niños que nacen de madres infectadas pueden adquirir la infección ocular durante el parto. Por tanto, para evitar la infección gonocócica en los niños, suele ser preceptivo el tratamiento profiláctico de los ojos de todos los recién nacidos con una pomada a base de eritromicina.

El tratamiento con penicilina era el preferido para tratar la gonorrea hasta la década de 1980 cuando aparecieron cepas de *N. gonorrhoeae* resistentes a ese antibiótico. Las quinolonas ciprofloxacino, ofloxacino y levofloxacino también se utilizaban, pero hacia 2006, un porcentaje significativo de las cepas de *N. gonorrhoeae* aisladas en los Estados Unidos también habían desarrollado resistencia a estos medicamentos. Las cepas resistentes a la penicilina y a las quinolonas responden a una terapia antibiótica alternativa con una dosis única de cefixima o ceftriaxona, antibióticos β-lactámicos.

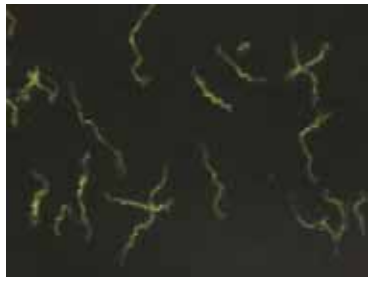
Aunque los medicamentos empleados todavía resultan eficaces para su tratamiento, la incidencia de la gonorrea se mantiene relativamente alta (Figura 29.35) por, al menos, tres motivos. En primer lugar, aunque durante una infección se producen anticuerpos anti-gonocócicos, estos son específicos para la cepa infecciosa, y no aportan inmunización contra otras cepas de *N. gonorrhoeae*. Como consecuencia, la reinfección por gonorrea es posible y muy común en las poblaciones de alto riesgo. Además, dentro de una misma cepa de *N. gonorrhoeae* pueden producirse cambios antigénicos que desactivan la respuesta inmunológica. Por ejemplo, una mutación puede alterar la estructura de las proteínas de los pili de *N. gonorrhoeae*, creando nuevos serotipos que desafían la respuesta inmunitaria. En segundo lugar, el uso de anticonceptivos orales causa un aumento del pH vaginal: cuando eso sucede, las bacterias lácticas que se encuentran normalmente en la vagina de una mujer adulta (↻ Figura 23.8*b*) no se desarrollan, lo que reduce la competencia y facilita la colonización de *N. gonorrhoeae*. Finalmente, y muy importante, los síntomas de gonorrea en la mujer suelen ser tan leves que la enfermedad puede pasar desapercibida.

Sífilis

La sífilis está causada por la espiroqueta *Treponema pallidum*, una célula espiral, larga y extremadamente fina (**Figura 29.37**). Como *N. gonorrhoeae*, *T. pallidum* es muy sensible a variaciones ambientales y a la deshidratación, por lo que la sífilis solo se transmite por contacto sexual íntimo, o de madre a hijo durante el embarazo. En la Sección 14.20 se trata la biología de las espiroquetas y del género *Treponema*.

Con frecuencia, la sífilis se transmite al mismo tiempo que la gonorrea, como coinfección. Sin embargo, la sífilis es potencialmente más grave que la gonorrea. Por ejemplo, la sífilis mata alrededor de 100.000 personas al año en todo el mundo, mientras que la gonorrea mata directamente solo a unas 1.000. No obstante, debido principalmente a la diferencia de los síntomas y de la patobiología de las dos enfermedades, la incidencia de la sífilis en los Estados Unidos es menor que la de la gonorrea. De todos modos, la incidencia de la sífilis ha aumentado los últimos años en los Estados Unidos, con más de 10.000 nuevas infecciones diagnosticadas cada año, por contraste con las 6.000 de 1997.

La espiroqueta de la sífilis (Figura 29.37) no traspasa la piel intacta, y probablemente la infección inicial ocurre a través de pequeñas fisuras de la capa epidérmica. En el hombre, la



(a)



(b)



(c)

Figura 29.37 **La espiroqueta de la sífilis, *Treponema pallidum*.** *(a)* Células con una técnica de anticuerpos fluorescentes. Cada célula de *T. pallidum* mide 0,15 µm de ancho y 10-15 µm de largo. *(b)* Preparación con tinción de plata (método Fontana) de una muestra procedente de un chancro sifilítico. *(c)* Micrografía electrónica de sombreado de una célula de *T. pallidum*. Los endoflagelos son típicos de las espiroquetas ↻ Sección 14.20).

infección inicial se presenta en el pene; en la mujer, suele aparecer en la vagina, el cuello del útero (cérvix) o la región perineal. En cerca del 10 % de los casos, la infección es extragenital, normalmente en la boca (Figura 29.38). Durante el embarazo, la espiroqueta se puede transmitir de la madre infectada al feto; la enfermedad adquirida de este modo se llama **sífilis congénita**.

La sífilis es una enfermedad muy compleja, y puede progresar hasta alcanzar fases graves. Siempre comienza con una infección localizada llamada *sífilis primaria*. En esta fase, *T. pallidum* se multiplica en el sitio de entrada inicial y se forma una lesión característica llamada *chancro* entre 2 semanas y 2 meses después de la infección (Figura 29.38*a, b*). Observados por microscopía, los exudados del chancro sifilítico revelan la presencia de espiroquetas activas móviles (Figura 29.37). En la mayoría de los casos, el chancro se cura espontáneamente y *T. pallidum* desaparece del lugar. Sin embargo, si la enfermedad no se trata, algunas células pueden desplazarse desde el sitio inicial a otras partes del cuerpo, como membranas mucosas, ojos, articulaciones, huesos y sistema nervioso central, donde se multiplica enormemente. A menudo se da una reacción de hipersensibilidad a los treponemas, que se revela por el desarrollo de un sarpullido generalizado, que es un síntoma clave de la *sífilis secundaria* (Figura 29.38*c*).

En ausencia de tratamiento, el desarrollo posterior de la enfermedad es muy variable. Alrededor de una cuarta parte de los individuos infectados se cura espontáneamente y no presentan más síntomas. Otra cuarta parte no muestra más síntomas, pero permanecen infectados de forma crónica y persistente. Aproximadamente la mitad de los pacientes sin tratar desarrolla *sífilis terciaria*, con síntomas que varían desde infecciones relativamente leves de la piel y de los huesos, hasta infecciones graves e incluso mortales del sistema cardiovascular y del sistema nervioso central. Esto puede suceder muchos años después de la infección primaria. El daño en el sistema nervioso puede causar parálisis generalizada u otras patologías nerviosas graves. Los individuos con sífilis terciaria presentan un número relativamente bajo de células de *T. pallidum*, y la mayoría de los síntomas probablemente son consecuencia de la inflamación debida a reacciones de hipersensibilidad retardada frente a las espiroquetas de la sífilis (↔ Sección 24.8). La sífilis terciaria todavía se puede tratar, generalmente mediante la administración prolongada de antibióticos por vía intravenosa, pero el daño neurológico causado previamente por la infección es típicamente irreversible.

En el Capítulo 27 se presentaron diversas pruebas de laboratorio usadas para el diagnóstico de la sífilis. No obstante, el síntoma clínico más importante y simple para diagnosticar la sífilis primaria, es el chancro (Figura 29.38*a, b*). Los individuos infectados solicitan generalmente tratamiento para la sífilis cuando se ven un chancro. La penicilina sigue siendo muy eficaz en la terapia contra la sífilis, y las fases primaria y secundaria de la enfermedad pueden controlarse generalmente con una única inyección de penicilina benzatina G.

MINIRREVISIÓN

- Explique, al menos, una posible razón de la elevada frecuencia de la gonorrea en comparación con la sífilis.
- Describa la evolución de la gonorrea y de la sífilis en ausencia de tratamiento. ¿Curan los tratamientos estas enfermedades?

29.13 Clamidiasis, herpes y virus del papiloma humano

Las STI causadas por *Chlamydia* (una bacteria) y los virus del herpes y del papiloma humano son muy frecuentes entre los adultos sexualmente activos, y a menudo son más difíciles de diagnosticar y tratar que la sífilis y la gonorrea.

Clamidiasis

Varias enfermedades de transmisión sexual se atribuyen a la infección por *Chlamydia trachomatis*, una bacteria estrictamente intracelular (Figura 29.39). Este organismo pertenece a un pequeño grupo de bacterias parásitas que forma un filo propio (*Chlamydiae*) dentro del dominio *Bacteria* (↔ Sección 15.15). Debido a que *C. trachomatis* se tiene que cultivar en células del hospedador (cultivo en tejido), su aislamiento e identificación no son tan sencillos como los de *Neisseria gonorrhoeae*.


Centers for Disease Control

(a)


S. Olansky and L. W. Shaffer

(b)


CDC/PHIL, Robert Sumpter

(c)

Figura 29.38 Sífilis primaria y secundaria. *(a)* Chancros en el labio y *(b)* en el pene en casos de sífilis primaria. El chancro es la lesión característica de la sífilis primaria en el lugar de infección por *Treponema pallidum*. *(c)* Erupción sifilítica en la parte inferior de la espalda de un paciente con sífilis secundaria.



(a)



(b)

Figura 29.39 Células de *Chlamydia trachomatis* (flechas) unidas al tejido de las trompas de Falopio humanas. *(a)* Células unidas a las microvellosidades de una trompa de Falopio. *(b)* Trompa de Falopio dañada, conteniendo una célula de *C. trachomatis* (flecha) en la lesión.

La incidencia total de las infecciones por *C. trachomatis* transmitidas sexualmente probablemente supera con mucho a la de la gonorrea. Cada año se describen más de un millón de casos en los Estados Unidos, pero debido a su naturaleza, frecuentemente asintomática, es posible que la cifra real de nuevas infecciones por *C. trachomatis* transmitidas sexualmente supere los 4 millones anuales. Por este motivo, la clamidiasis es la STI registrada con más frecuencia en los Estados Unidos. *C. trachomatis* también origina una enfermedad ocular grave llamada *tracoma*, pero las cepas de *C. trachomatis* responsables de las STI son distintas de las que causan el tracoma. Las infecciones por clamidias también pueden transmitirse de manera congénita a los recién nacidos en el canal del parto, dando lugar a conjuntivitis y neumonía.

La *uretritis no gonocócica* (NGU, del inglés *nongonococcal urethritis*) producida por *C. trachomatis* es una de las enfermedades de transmisión sexual más frecuentes en hombres y mujeres, pero a menudo es asintomática. En un pequeño porcentaje de casos, la NGU clamidial provoca complicaciones agudas graves, como hinchamiento testicular e inflamación de la próstata en los varones, y cervicitis, inflamación pélvica y daño en las trompas de Falopio en las mujeres. Durante la NGU, las células de *C. trachomatis* se unen a las microvellosidades de las trompas de Falopio, penetran, se multiplican y finalmente lisan las células (Figura 29.39*b*). Como consecuencia, una NGU no tratada puede originar esterilidad en la mujer. Las infecciones por el protista *Trichomonas vaginalis* pueden causar síntomas similares a los de la NGU producida por clamidias, y tratamos la tricomoniasis y otras infecciones parasitarias en el Capítulo 32.

La NGU clamidial aparece con frecuencia como una infección secundaria a la gonorrea. Tanto *Neisseria gonorrhoeae* como *C. trachomatis* se suelen transmitir al nuevo hospedador simultáneamente. No obstante, el tratamiento de la gonorrea no elimina la clamidiasis. Los pacientes, aunque curados de gonorrea, están aún infectados con clamidias, y eventualmente experimentan una aparente recurrencia de la gonorrea que, en realidad, es un caso de NGU clamidial. Por tanto, a los pacientes que siguen un tratamiento contra la gonorrea basado en cefixima o ceftriaxon, también se les suministra azitromicina o doxiciclina para tratar la posible coinfección con *C. trachomatis*.

Existe una gran variedad de técnicas clínicas para diagnosticar una infección por *C. trachomatis*, entre las cuales se encuentran los análisis inmunológicos y de ácido nucleico, pero a menudo se prescribe un tratamiento farmacológico aunque no se haya diagnosticado la enfermedad.

El *linfogranuloma venéreo (LGV)* es una enfermedad de transmisión sexual producida por diferentes cepas de *C. trachomatis* (LGV 1, 2 y 3). La enfermedad se presenta con más frecuencia en hombres, y se caracteriza por la infección e inflamación de los nódulos linfáticos en, y alrededor de, las ingles. Las clamidias pueden viajar de los nódulos linfáticos infectados al recto y causar una dolorosa inflamación de los tejidos rectales llamada *proctitis*. El linfogranuloma venéreo tiene la capacidad de dañar los nódulos linfáticos regionales y complicar la proctitis. Es la única infección clamidial que invade más allá de la capa de células epiteliales.

Herpes

Los herpesvirus son un grupo amplio de virus de DNA bicatenario (↻ Sección 9.7), muchos de los cuales son patógenos para el hombre. Los virus del herpes simple, es el responsable de los herpes labiales y de infecciones genitales.

El *virus del herpes simple tipo 1 (HSV-1)* infecta las células epiteliales de alrededor de la boca y los labios causando úlceras bucales (**Figura 29.40**). El HSV-1 se transmite por contacto directo con lesiones infecciosas o por la saliva. El período de incubación de las infecciones con HSV-1 es corto (3-5 días), y las lesiones se curan sin tratamiento en 2-3 semanas. No obstante, las infecciones latentes de herpes son frecuentes, ya que el virus persiste en bajo número en el sistema nervioso. Entonces, se pueden producir infecciones recurrentes agudas de herpes cuando el virus


Gordon A. Tuffli


CDC/PHIL, K.L. Hermann

(a) (b)

Figura 29.40 **Infecciones por virus del herpes simple tipo 1.** *(a)* Un caso grave de ampollas de herpes en la cara por infección con herpes simple tipo 1. *(b)* Detalle de ampollas de herpes en el ojo.

se activa debido a coinfecciones con otros patógenos o al estrés. El herpes bucal por HSV-1 es muy común y, aparentemente, no tiene efectos perjudiciales para el hospedador más allá de las molestias provocadas por las ampollas bucales.

Las infecciones por *virus del herpes simple tipo 2 (HSV-2)* se asocian fundamentalmente a la región anogenital, donde el virus produce ampollas dolorosas en el pene, el cuello del útero, la vulva o la vagina (**Figura 29.41**). Las infecciones por HSV-2 se transmiten generalmente por contacto sexual directo, y la enfermedad se transmite con más facilidad cuando existen ampollas activas, aunque también se puede transmitir durante los períodos asintomáticos, incluso cuando la infección parece latente. A veces, el HSV-2 infecta otras zonas, como las membranas mucosas de la boca, y puede transmitirse también al recién nacido por contacto con lesiones herpéticas del canal del parto durante el nacimiento. En el recién nacido, la enfermedad varía desde una infección latente sin daño aparente, hasta una enfermedad sistémica que provoca daños cerebrales e incluso la muerte. Para evitar las infecciones por herpes en los recién nacidos, se recomienda el parto por cesárea en mujeres embarazadas con infecciones genitales por herpes.

Los efectos a largo plazo de las infecciones por herpes genital no se conocen por completo. Sin embargo, hay estudios que indican una estrecha correlación entre las infecciones por herpes genital y el cáncer de útero en las mujeres. En la actualidad, las infecciones por herpes genital son incurables, aunque un número limitado de fármacos ha mostrado eficacia en el control del estado infeccioso en la fase de ampollas. El aciclovir, análogo de la guanina (**Figura 29.42**), en tratamiento oral o tópico, es particularmente eficaz para limitar la liberación de virus activos desde las ampollas y favorecer la curación de las mismas (Figura 29.41). Aciclovir, valaciclovir y vidarabina son análogos de nucleósidos que interfieren con la DNA polimerasa de los herpesvirus, inhibiendo la replicación del DNA vírico (↻ Sección 27.15).


CDC/PHIL, N.J. Fiumara and G. Hart


CDC/PHIL, Susan Lindsley

(a) (b)

Figura 29.41 **Infecciones por virus del herpes simple tipo 2.** Ampollas de herpes simple tipo 2 en *(a)* el pene y *(b)* la vulva. Como en el caso del herpes tipo 1, las infecciones agudas de herpes tipo 2 pueden parecer curadas y reaparecer más tarde por una infección persistente del virus (↻ Figura 8.22).

Virus del papiloma humano

Igual que los virus del herpes, los **virus del papiloma humano (HPV,** de *human papillomavirus***)** forman una familia de virus de DNA bicatenario. De las más de 100 cepas diferentes, unas 30 se transmiten sexualmente, y algunas de ellas causan verrugas genitales y cáncer cervical (↻ Capítulo 24, véase Explorando el mundo microbiano «Vacunas y salud pública»). En los Estados Unidos, cerca de 20 millones de personas están infectadas y hasta el 80 % de las mujeres mayores de 50 años han tenido al menos una infección con HPV. Más de 6 millones de personas contraen nuevas infecciones por HPV cada año, lo que provoca cerca de 10.000 casos de cáncer cervical y alrededor de 3.700 muertes.

La mayoría de las infecciones por HPV son asintomáticas, y algunas progresan hasta formar verrugas genitales. Otras causan neoplasias cervicales (anormalidades en las células del cuello del útero), y unas pocas provocan cáncer cervical. La mayor parte de las infecciones se solucionan espontáneamente pero, como sucede en muchas de las infecciones víricas, no existe tratamiento adecuado ni cura para las infecciones activas. Debido a que los virus del papiloma humano son potencialmente oncogénicos (provocadores de cáncer) se ha desarrollado una vacuna contra HPV que actualmente se recomienda a las mujeres de entre 11 y 26 años. La vacuna también se ha recomendado para hombres, puesto que, una vez inmunizados, dejan de ser portadores del HPV y de esta manera, ya no pueden infectar a las mujeres, y porque la infección de HPV en hombres puede provocar cáncer de ano y de pene.

MINIRREVISIÓN

- Describa los caracteres clínicos relevantes y los protocolos de tratamiento para la clamidiasis, el herpes, la tricomoniasis y el virus del papiloma humano.
- ¿Por qué son estas enfermedades más difíciles de diagnosticar que la gonorrea o la sífilis?

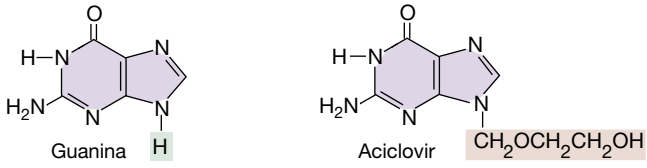


Figura 29.42 **Guanina y su análogo aciclovir.** El aciclovir se emplea en terapias de control de las ampollas del herpes genital (HSV-2) (Figura 29.41).

29.14 Síndrome de inmunodeficiencia adquirida: VIH/SIDA

El síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) está causado por el virus de la inmunodeficiencia humana VIH. En todo el mundo, se han infectado más de 80 millones de personas con VIH, y se producen alrededor de 3 millones de nuevas infecciones y más de 2 millones de muertes anuales por esta causa. Tratamos la epidemiología del SIDA en la Sección 28.9.

El VIH y una definición del SIDA

El VIH se divide en dos tipos, VIH-1 y VIH-2, pero puesto que más del 99 % de los casos de SIDA en todo el mundo se deben al VIH-1, aquí nos centramos en él. El VIH-1 es un retrovirus (↻ Secciones 8.10 y 9.11) que se replica en macrófagos y en células T del sistema inmunológico humano (Capítulos 24 y 25). La infección por VIH causa finalmente la destrucción de células clave del sistema inmunológico, paralizando, en gran medida, la respuesta inmunitaria del hospedador. La muerte por SIDA es el resultado de una infección secundaria, que suele deberse a uno o más **patógenos oportunistas**, patógenos potenciales que serían controlados normalmente por el sistema inmunitario en un individuo sano.

La definición actual de un caso de VIH/SIDA es la de un paciente que da positivo para VIH en las pruebas inmunológicas y/o de ácidos nucleicos, y que cumple por lo menos uno de los dos criterios siguientes:

1. Presencia de un número de células T CD4 menor de 200/µl en sangre completa (la concentración normal es de 600-1.000/µl) o un porcentaje de células T CD4 respecto a linfocitos totales menor del 14 %.
2. Presencia de un número de células T CD4 mayor de 200/µl y cualquiera de las siguientes enfermedades: candidiasis, coccidioidomicosis, criptococosis, histoplasmosis, isosporiasis, neumonía por *Pneumocystis jiroveci*, criptosporidiosis o toxoplasmosis cerebral (todas ellas infecciones fúngicas) (↻ Sección 32.2); tuberculosis pulmonar u otras infecciones micobacterianas, o septicemias recurrentes de *Salmonella* (enfermedades bacterianas); infección por citomegalovirus, encefalopatía relacionada con VIH, síndrome de desgaste por VIH, úlceras crónicas, o bronquitis debida a herpes simple (infecciones víricas); o determinadas enfermedades malignas como cáncer cervical invasivo, sarcoma de Kaposi, linfoma de Burkitt, linfoma cerebral primario, linfoma inmunoblástico, o neumonía recurrente debida a cualquier agente.

Patogenia del VIH/SIDA

El VIH infecta células que contienen la proteína superficial CD4. Los dos tipos de células infectadas con más frecuencia son los macrófagos y una clase de linfocitos denominados T-helper (Th), componentes importantes del sistema inmunitario en ambos casos (Capítulo 24). La infección suele iniciarse en los macrófagos. En la superficie celular del macrófago, la molécula CD4 se une a la proteína gp120/gp41 de la cápsida del VIH mientras el virus interacciona con el receptor CCR5 del macrófago (**Figura 29.43**). CCR5 es un correceptor para el VIH y, junto con CD4, forma el sitio de acoplamiento en el que la envoltura del VIH se fusiona con la membrana citoplasmática de la célula hospedadora; esto es necesario para que la nucleocápsida del virus penetre en la célula. Dentro del macrófago, el VIH se replica (↻ Figura 9.21) y produce una forma alterada de gp120 que reconoce un correceptor diferente, el CXCR4, en las células Th. Los viriones de VIH liberan desde los macrófagos, e infectan y se replican en los linfocitos Th; las células Th que producen VIH dejan de dividirse y acaban muriendo por agotamiento.

En algunos pacientes con VIH/SIDA, la infección no mata inmediatamente a las células inmunitarias. El VIH puede existir como provirus en estado latente; mediante transcripción inversa, el genoma del VIH, ya en forma de DNA, se integra DNA cromosómico de la célula hospedadora (↻ Figura 8.24). En este punto, la célula puede no mostrar signos externos de

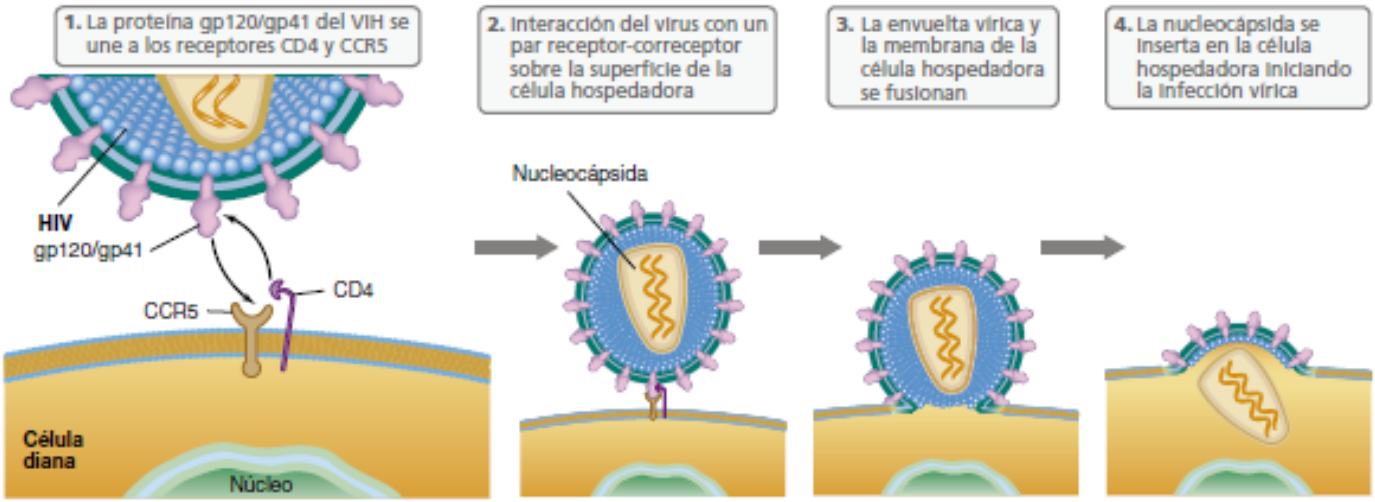


Figura 29.43 **Infección de una célula diana CD4 por VIH.** *(a)* Reconocimiento y unión del virus con los receptores CCR5 y CD4. *(b)* La nucleocápsida vírica entra finalmente en la célula. Los detalles de la replicación del genoma del VIH se muestran en las Figuras 8.24 y 9.21.

infección. De hecho, el DNA del VIH puede permanecer latente por largos períodos, replicándose solo cuando lo hace el DNA de la célula hospedadora. Sin embargo, tarde o temprano, el VIH empieza a replicarse y la célula infectada comienza a producir y a liberar nuevas partículas víricas.

Síntomas del SIDA

El desarrollo de la infección por VIH provoca un descenso progresivo en el número de células CD4. En un individuo sano, las células CD4 representan cerca del 70 % del total de células T. En un enfermo de VIH/SIDA, el número de células CD4 decrece constantemente y, en el momento en que aparecen infecciones oportunistas, las células CD4 pueden estar casi ausentes (**Figura 20.44**). El progreso de una infección por VIH no tratada hasta que se desarrolla SIDA sigue un patrón típico. Primero, hay una intensa respuesta inmunitaria al VIH, y la cifra de viriones disminuye drásticamente. Pero al final, la respuesta inmunitaria resulta desbordada, y los niveles de VIH aumentan lentamente a medida que disminuyen, también lentamente, las células T CD4. Cuando el número de células T cae por debajo de 200/mm^3 de sangre, se abre la puerta a las infecciones por patógenos oportunistas (Figura 29.44).

Las infecciones oportunistas causadas por protozoos, hongos, bacterias y virus normalmente benignos, son muy prevalentes en personas infectadas con VIH/SIDA, y suelen ser la causa real de la muerte (**Figura 29.45**). La enfermedad oportunista más habitual en pacientes de VIH/SIDA es la neumonía causada por el hongo *Pneumocystis jiroveci* (Figura 29.45*d*), pero también se producen infecciones por diversos tipos de mohos, levaduras, protistas y bacterias (Figura 29.45). Casi todos estos patógenos oportunistas son difíciles de tratar. Por ejemplo, muchos de los medicamentos empleados para tratar infecciones de hongos y de protistas (ambos *Eukarya*) tienen efectos secundarios negativos para el hospedador, y las infecciones por micobacterias suelen estar causadas por cepas que han desarrollado resistencia a los fármacos (Sección 29.4). Un tipo de cáncer frecuente en pacientes de VIH/SIDA es el *sarcoma de Kaposi*, un cáncer de las células que recubren los vasos sanguíneos, caracterizado por la aparición de manchas de color púrpura en la superficie de la piel, sobre todo en las extremidades (**Figura 29.46**). El sarcoma de Kaposi se debe a la coinfección de VIH y del herpesvirus humano tipo 8 (HHV-8), y raramente aparece en pacientes que no tienen SIDA.

Diagnóstico de VIH/SIDA

La infección por VIH se suele diagnosticar mediante la identificación de anticuerpos contra el patógeno en una muestra de sangre. La prueba inmunoenzimática del VIH (EIA, de *enzyme immunoassay*, ↻ Figura 27.15*b, c*) se emplea para análisis a gran escala, por ejemplo, de las donaciones de sangre. Un resultado positivo en una prueba EIA para VIH debe confirmarse por un segundo método denominado inmunotransferencia (*Western blot*, ↻ Figura 27.17), o por inmunofluorescencia (↻ Figura 27.14), para descartar la posibilidad de un falso positivo. También existen pruebas rápidas y baratas de VIH para el análisis preliminar de sangre en hospitales. Para una prueba de este tipo se necesita una sola gota de sangre del paciente, y en ella se detecta al antígeno superficial gp41 del VIH (Figura 29.43) mediante una reacción de aglutinación visible. En otra prueba se usa la saliva como fuente de anticuerpos contra el VIH y, si la reacción es positiva, aparece un producto coloreado. Sin embargo, por lo general, las pruebas rápidas no son tan sensibles o específicas como la prueba estándar EIA para VIH, y los resultados positivos deberían confirmarse con pruebas más sensibles y específicas. Por desgracia, independientemente de su sensibilidad o especificidad, estas pruebas no detectan individuos positivos que acaban de adquirir el VIH y que, por tanto, no presentan una cantidad de anticuerpos contra el VIH suficiente como para ser detectados; esta respuesta inmune puede requerir de un período superior a las 6 semanas desde la infección por VIH.

Existen pruebas de laboratorio que detectan directamente el número de viriones de VIH en una muestra de sangre. Estas pruebas usan una reacción en cadena de la polimerasa con

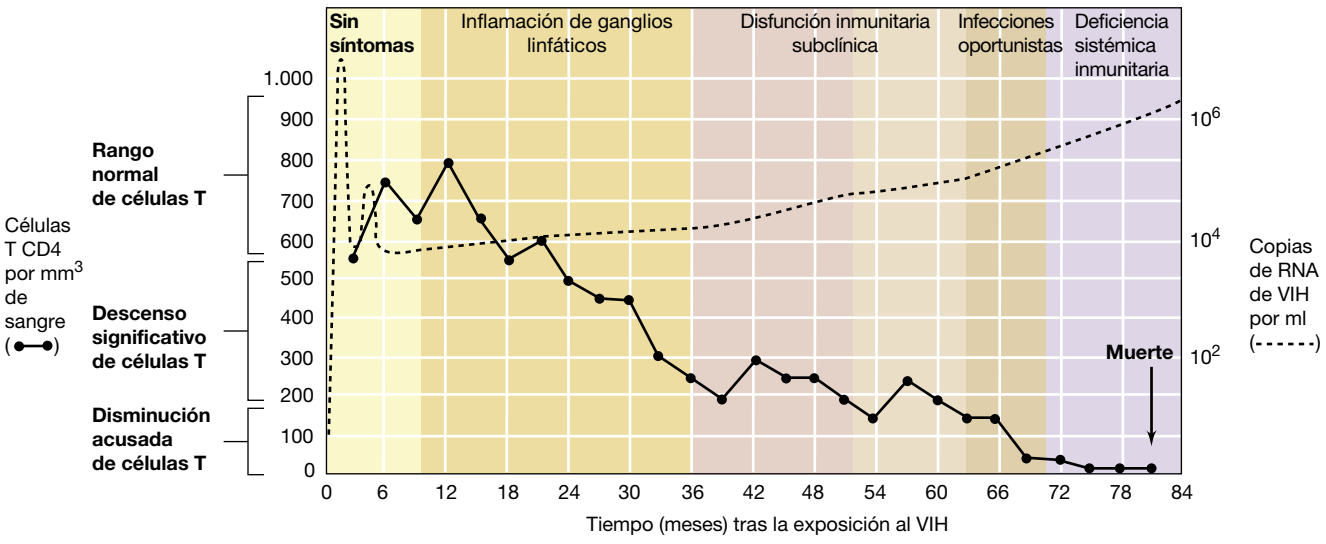


Figura 29.44 Descenso de los linfocitos T CD4 y progresión de la infección por VIH. Durante la progresión típica del SIDA no tratado, hay una pérdida gradual del número y de la capacidad funcional de las células T CD4, mientras que la carga vírica, medida como copias de RNA específico del VIH por mililitro de sangre, aumenta gradualmente después de un descenso inicial.

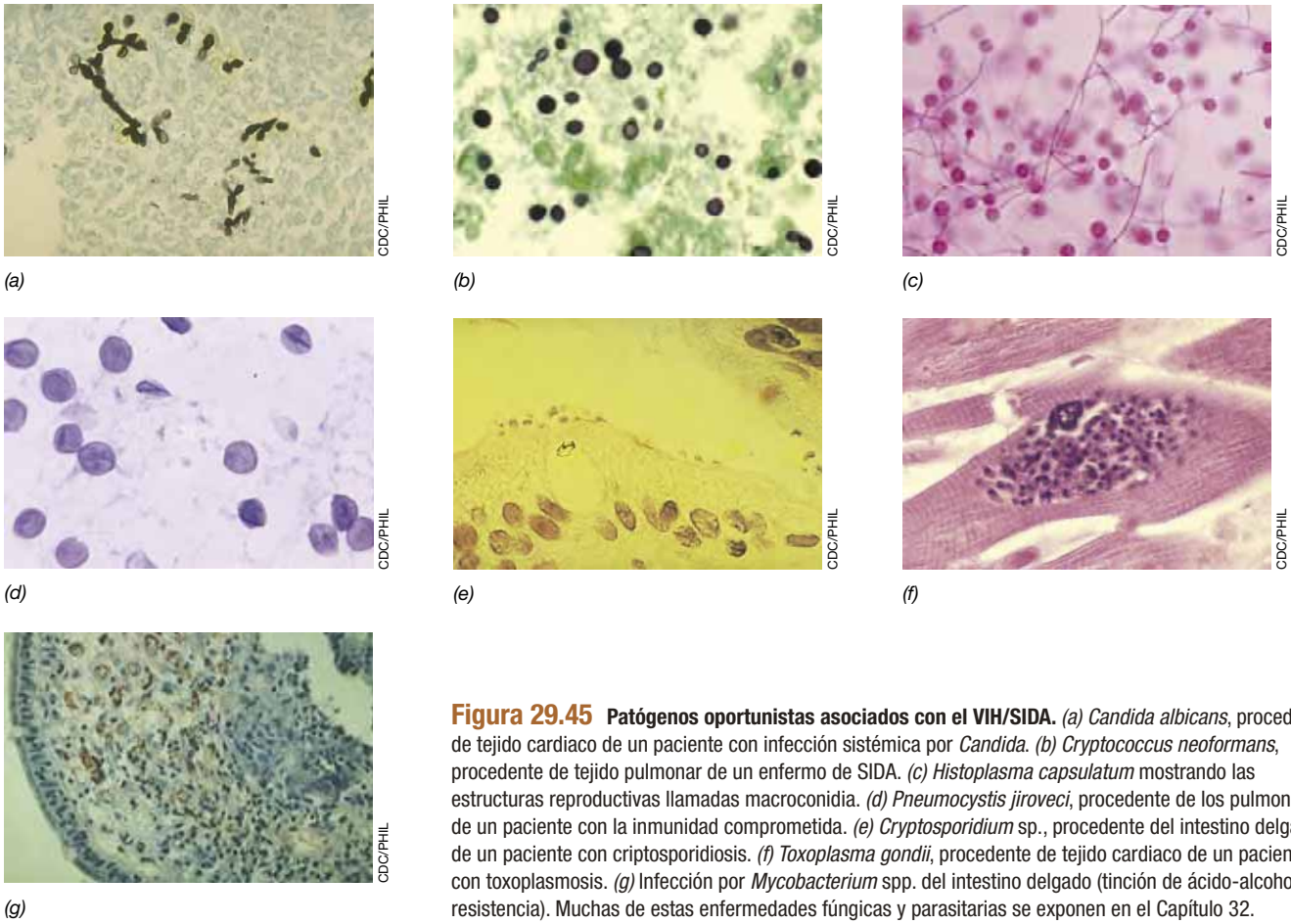


Figura 29.45 **Patógenos oportunistas asociados con el VIH/SIDA.** *(a) Candida albicans*, procedente de tejido cardiaco de un paciente con infección sistémica por *Candida*. *(b) Cryptococcus neoformans*, procedente de tejido pulmonar de un enfermo de SIDA. *(c) Histoplasma capsulatum* mostrando las estructuras reproductivas llamadas macroconidia. *(d) Pneumocystis jiroveci*, procedente de los pulmones de un paciente con la inmunidad comprometida. *(e) Cryptosporidium* sp., procedente del intestino delgado de un paciente con criptosporidiosis. *(f) Toxoplasma gondii*, procedente de tejido cardiaco de un paciente con toxoplasmosis. *(g)* Infección por *Mycobacterium* spp. del intestino delgado (tinción de ácido-alcohol-resistencia). Muchas de estas enfermedades fúngicas y parasitarias se exponen en el Capítulo 32.

transcriptasa inversa específica del virus (RT-PCR; ↬ Sección 11.3). La RT-PCR cuantifica el número de viriones presentes en la sangre; es decir, la **carga vírica**. La prueba RT-PCR no se emplea rutinariamente para analizar el VIH porque es costosa y técnicamente exigente. Sin embargo, después de un diagnóstico inicial de infección por VIH, la prueba RT-PCR se usa para determinar el progreso de dicha infección y la eficacia de la quimioterapia (**Figura 29.47**).



Figura 29.46 **Sarcoma de Kaposi.** Se muestran las lesiones tal como aparecen en *(a)* el talón y la parte lateral del pie, y *(b)* en la región distal de la pierna y el tobillo.

Tratamiento del VIH/SIDA

La prognosis para los individuos infectados con VIH y *no tratados* es mala, puesto que los patógenos oportunistas o las enfermedades malignas (Figuras 29.45 y 29.46) les acabarán provocando la muerte. Estudios de larga duración indican que la persona media, infectada por VIH, suele pasar por varias fases de disminución en la función inmunitaria, con pérdida de células T CD4 en sangre desde un valor normal de 600-1.000/mm^3 a casi cero, en un período de entre 5 y 7 años (Figura 29.44). Aunque la tasa de descenso en la inmunidad varía entre individuos infectados de VIH/SIDA, es raro que un individuo VIH-positivo viva más de 10 años sin algún tipo de terapia anti VIH.

Se han desarrollado varios compuestos que ralentizan la progresión del VIH/SIDA y que prolongan significativamente la vida de los infectados con VIH. La terapia intenta reducir la carga vírica por debajo de niveles detectables (Figura 29.44). La estrategia para lograr esto se denomina *terapia antiretroviral muy activa* (HAART, del inglés *highly active anti-retroviral therapy*), y se lleva a cabo administrando simultáneamente al menos tres fármacos antirretrovirales para inhibir la replicación del VIH e impedir el desarrollo de cepas resistentes del virus. No obstante, la terapia múltiple no cura la infección por VIH. Los individuos que tienen una carga vírica detectable después

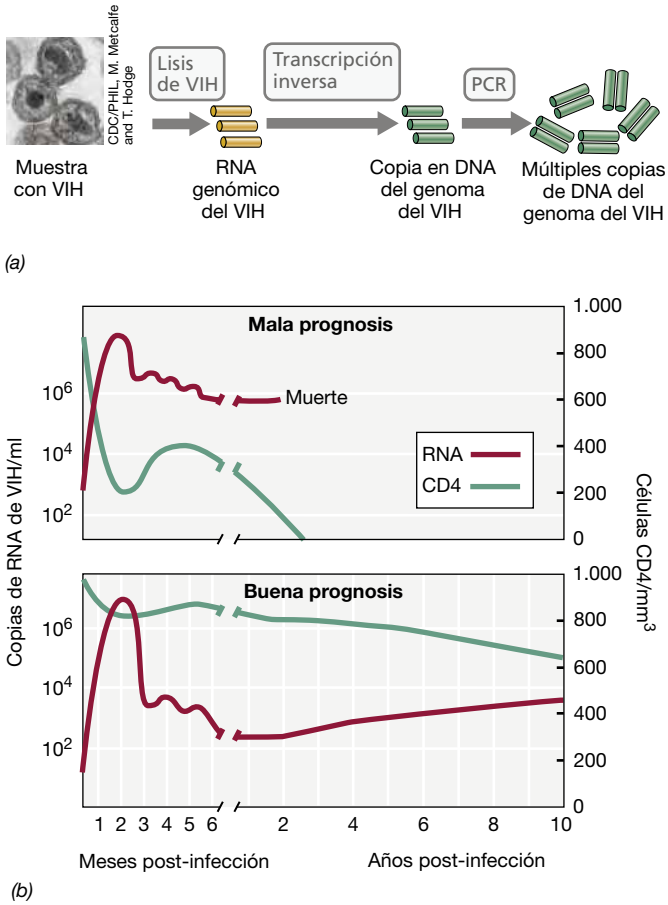


Figura 29.47 **Seguimiento de la carga vírica del VIH.** *(a)* Procedimiento de detección de VIH por las técnicas de transcripción inversa y reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR). *(b)* Evolución de la infección con VIH determinada por la carga vírica y el recuento de células T CD4. En el panel superior, una carga vírica superior a 10^4 copias/ml se correlaciona con un número de células CD4 por debajo del normal (normal = 600-1.500/mm^3), indicando una mala prognosis y la muerte próxima del paciente. En el panel inferior, una carga vírica inferior a 10^4 copias/ml se correlaciona con un número normal de células CD4, indicando una buena prognosis y la supervivencia prolongada del paciente. Datos adaptados del CDC, Atlanta, Georgia, Estados Unidos.

del tratamiento, vuelven a desarrollar altos niveles de virus si se interrumpe o no se continua con la terapia, o si aparece resistencia múltiple.

Los fármacos efectivos contra el VIH se clasifican en cuatro categorías, que incluyen dos clases de *inhibidores de la transcriptasa inversa*, varios *inhibidores de la proteasa*, *inhibidores de la fusión* e *inhibidores de la integrasa*. La transcriptasa inversa es la enzima que convierte el RNA monocatenario del genoma del VIH en DNA complementario, y después, en DNA bicatenario, y es esencial para la replicación del virus (↻ Secciones 8.10 y 9.11). Las células no tienen esta enzima y, por tanto, los inhibidores de la transcriptasa inversa son específicos contra el virus. La *azidotimidina* (AZT) es estructuralmente muy parecida al nucleósido timidina, pero carece del sitio correcto de unión a la base siguiente en la cadena de nucleótidos que se está replicando, lo que provoca la terminación de la cadena de DNA en crecimiento. Por tanto, AZT es un **inhibidor nucleosídico de la transcriptasa inversa** (**NRTI**, del inglés *nucleoside reverse transcriptase inhibitor*) (**Figura 29.48*a***). Por su parte, los **inhibidores no nucleosídicos de la transcriptasa inversa** (**NNRTI**, del inglés *nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors*), como por ejemplo, la *nevirapina* (Figura 29.48*b*), inhiben la actividad de la transcriptasa inversa de una forma distinta, interaccionando con la proteína y alterando la conformación del centro catalítico.

Otra categoría de compuestos anti-VIH la representan los **inhibidores de la proteasa** como el *saquinavir* (Figura 29.48*c*). Los inhibidores de proteasa son análogos de péptidos que inhiben el procesamiento de los polipéptidos retrovirales (↻ Figura 9.22) uniéndose al centro activo de la enzima responsable del procesamiento, la *VIH proteasa*; esto inhibe eficazmente la maduración del virus. El grupo de los **inhibidores de la fusión** incluye la *enfuvirtida*, un péptido sintético que funciona uniéndose a la proteína gp41 de las cápsidas de VIH (Figura 29.43); esto detiene la fusión de la envoltura viral con la membrana citoplasmática de las células CD4. Finalmente, están los **inhibidores de la integrasa** como *elvitegravir* y *raltegravir*. Estos fármacos atacan la VIH integrasa, que es la proteína que integra el genoma del VIH en el DNA de las células del hospedador. La interferencia en la integración del DNA vírico en el genoma de la célula hospedadora interrumpe así el ciclo de replicación del VIH.

Todos los fármacos anti-VIH hacen disminuir la carga vírica en poco tiempo cuando se suministran a individuos infectados

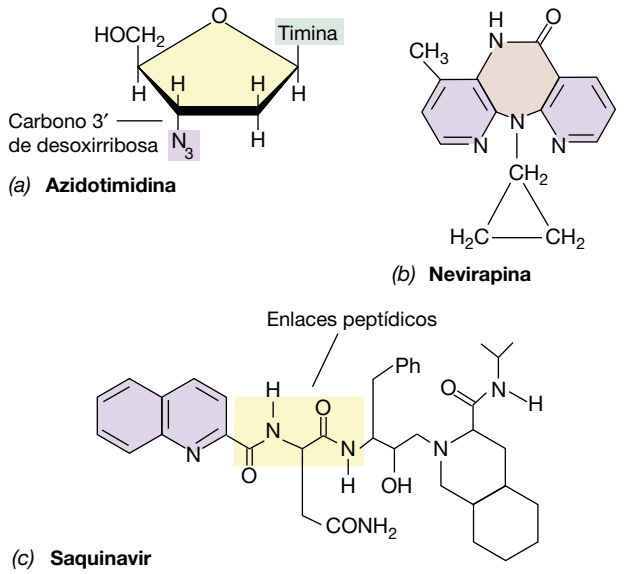


Figura 29.48 **Compuestos quimioterapéuticos contra VIH/SIDA.** *(a)* Azidotimidina (AZT) es un inhibidor nucleosídico de la transcriptasa inversa. Este análogo de los nucleósidos carece del grupo –OH en el carbono 3′, lo que provoca la terminación de la elongación de la cadena de nucleótidos cuando se incorpora, e inhibiendo la replicación del virus. *(b)* Nevirapina, un inhibidor no nucleosídico de la transcriptasa inversa, se une directamente al centro catalítico de la transcriptasa inversa del VIH, inhibiendo también la elongación de la cadena de nucleótidos. *(c)* Saquinavir, un inhibidor de proteasa, fue diseñado por ordenador para encajar en el sitio activo de la proteasa del VIH. Es un análogo peptídico: el área resaltada en dorado muestra la región análoga a los enlaces peptídicos. Al bloquear la actividad de la proteasa del VIH evita el procesamiento de las proteínas víricas y la maduración del virus.

con el VIH, pero las cepas resistentes del virus surgen si se suministra solamente un medicamento. Un protocolo HAART típico recomendado para el tratamiento de un individuo con una infección establecida de VIH incluye, al menos, un inhibidor de la proteasa o un inhibidor no nucleosídico de la transcriptasa inversa, más una combinación de dos inhibidores nucleosídicos de la transcriptasa inversa. Un virus resistente debería, por tanto, haber desarrollado resistencia a tres compuestos simultáneamente, y la probabilidad de que eso suceda es muy baja. El paciente tratado con esta terapia combinada se examina luego para seguir los cambios en la carga vírica (Figuras 29.44 y 29.47). Un protocolo HAART eficaz reduce la carga vírica a niveles indetectables en unos días. Entonces, la terapia farmacológica se continúa y el paciente se examina para determinar la carga vírica indefinidamente. Si la carga vírica alcanza de nuevo niveles detectables, el cóctel de fármacos se cambia, porque dicho incremento revela la aparición de VIH resistentes.

Además del desarrollo de resistencia a los fármacos, algunos medicamentos antirretrovirales son tóxicos para el paciente. En muchos casos, los análogos de nucleósidos no son bien tolerados, presumiblemente porque interfieren con funciones del hospedador tales como la división celular. En general, los inhibidores no nucleosídicos de la transcriptasa inversa y los inhibidores de la proteasa se toleran mejor porque interfieren solamente con funciones específicas del virus. Sin embargo, la resistencia a los fármacos y la toxicidad para el hospedador son problemas importantes en todas los tipos de terapia contra el VIH. Por esta causa, continuamente se están desarrollando, y adaptando a las necesidades de cada individuo, nuevos protocolos con agentes quimioterapéuticos y fármacos.

Prevención del VIH/SIDA

La educación pública sobre la transmisión del VIH/SIDA, la abstinencia sexual y el evitar comportamientos de alto riesgo, continúan siendo las mejores prácticas para evitar el VIH/SIDA. La transmisión del VIH está ligada a actividades sexuales promiscuas y a otras actividades que implican el intercambio de fluidos corporales y que incluyen no solo las prácticas homosexuales entre hombres, sino también la prostitución y el consumo de drogas por vía intravenosa con agujas compartidas. En algunos países, el mecanismo de transmisión de VIH que está creciendo con más rapidez es la práctica heterosexual. Por tanto, la prevención eficaz de la transmisión del VIH requiere evitar comportamientos de alto riesgo, independientemente del compañero sexual.

La Dirección General de Salud Pública de los Estados Unidos ha publicado recomendaciones específicas para evitar la infección por VIH. Estas recomendaciones incluyen, además de evitar el consumo intravenoso de drogas con agujas compartidas:

1. Evitar el contacto oral con el pene, la vagina o el recto.
2. Evitar toda actividad sexual que pueda causar cortes o arañazos en el recto, la vagina o el pene.
3. Evitar las actividades sexuales con individuos de grupos de alto riesgo. Estos incluyen personas que ejercen la prostitución (tanto hombres como mujeres); personas sexualmente promiscuas, especialmente hombres homosexuales y bisexuales; y consumidores de drogas por vía intravenosa.
4. Si una persona ha tenido relaciones sexuales con un miembro de un grupo de alto riesgo, se debería realizar un análisis de sangre para determinar si ha contraído la infección por VIH. La prueba debe repetirse periódicamente durante un año o más, debido al tiempo de demora en la respuesta inmunitaria. Si la prueba resulta positiva, las parejas del individuo VIH positivo deben protegerse usando un condón durante la actividad sexual.

MINIRREVISIÓN

- Revise la definición de VIH/SIDA. ¿Qué síntomas son comunes a todos los pacientes de VIH/SIDA?
- ¿Cómo actúa la enzima transcriptasa inversa y por qué es una buena diana para los fármacos anti-VIH?
- ¿Cuáles son las recomendaciones para prevenir la infección por VIH/SIDA? ¿Son eficaces?

IDEAS PRINCIPALES

29.1 • Los patógenos respiratorios bacterianos y víricos se transmiten por el aire. La mayoría de ellos se transfiere de persona a persona mediante aerosoles respiratorios producidos al estornudar, toser, hablar o respirar, o también por contacto directo o con fómites. Los patógenos respiratorios infectan tanto el tracto respiratorio superior como el inferior, y a veces, ambos.

29.2 • Las enfermedades estreptocócicas incluyen la faringitis estreptocócica y la neumonía neumocócica. Las infecciones por *Streptococcus pyogenes* pueden evolucionar hasta convertirse en enfermedades graves como la escarlatina y la fiebre reumática, y la neumonía neumocócica puede tener una elevada mortalidad. Ambos patógenos se pueden cultivar, y ambos se pueden tratar con fármacos antimicrobianos entre los que se incluye la penicilina.

29.3 • La difteria es una enfermedad respiratoria aguda causada por *Corynebacterium diphtheriae*. La inmunización en edad infantil es eficaz en la prevención de esta gravísima enfermedad respiratoria. La tosferina es una enfermedad endémica causada por *Bordetella pertussis*. La inmunización de niños, adolescentes y adultos puede controlar su propagación y expansión.

29.4 • La tuberculosis es una de las enfermedades infecciosas más peligrosas y prevalentes en el mundo. Su incidencia está aumentando en los países desarrollados debido, en parte, a la aparición de cepas resistentes de *Mycobacterium tuberculosis*. La patología de la tuberculosis y de otras enfermedades micobacterianas, como la enfermedad de Hansen (lepra), está influenciada por la respuesta celular inmunitaria.

29.5 • *Neisseria meningitidis* en un causante común de meningococemia y meningitis en adultos jóvenes, y se presenta en ocasiones en forma de epidemias en poblaciones cerradas. La meningitis y la meningococemia bacterianas tienen una elevada tasa de mortalidad, y existen estrategias de tratamiento y prevención, incluidas las vacunas.

29.6 • Las enfermedades víricas respiratorias son muy infecciosas y pueden causar graves problemas de salud, aunque la mayoría son controlables y no son mortales. La vacuna triple vírica (SPR) (contra el sarampión, las paperas y la rubeola) es muy eficaz en el control de estas enfermedades.

29.7 • Los resfriados son las enfermedades infecciosas víricas más frecuentes. Suelen estar causadas por un rinovirus y, por lo general, son enfermedades suaves y autolimitantes; los «fármacos para el resfriado» pueden ayudan a moderar los síntomas, pero no curan la infección. Cada infección produce inmunidad efectiva y específica, pero el gran número existente de virus del resfriado imposibilita una protección completa mediante la inmunización o las vacunas.

29.8 • La gripe está causada por un virus de RNA que contiene un genoma segmentado y que se transmite fácilmente por vía aérea. Los brotes de gripe ocurren anualmente debido a la plasticidad del genoma del virus. La deriva antigénica varía ligeramente la envoltura de los virus de la gripe, y causa epidemias de gripe estacionales. En cambio, el salto antigénico provoca cambios importantes en los virus, y puede desencadenar pandemias periódicas de gripe. Para controlar la gripe, se emplean la vigilancia y la inmunización.

29.9 • Los estafilococos suelen ser habitantes benignos del tracto respiratorio superior y de la piel, pero varias enfermedades importantes son el resultado de infecciones piogénicas o de la actividad de exotoxinas estafilocócicas como superantígenos. La resistencia a los antibióticos frecuente, incluso en las infecciones adquiridas en una comunidad. Las cepas MRSA de *Staphylococcus aureus* pueden ser muy difíciles de tratar, y causan importantes daños en los tejidos.

29.10 • La infección por *Helicobacter pylori* es la causa común de las úlceras gástricas. En la actualidad, estas úlceras se tratan con antibióticos, como una enfermedad infecciosa, y se logra una curación permanente.

29.11 • La hepatitis vírica puede ocasionar una enfermedad hepática aguda y desembocar en una enfermedad hepática crónica (cirrosis). En particular, los virus de la hepatitis B y C se transmiten por contacto directo, y pueden causar infecciones crónicas que desembocan en cáncer del hígado. Se dispone de vacunas contra los virus de la hepatitis A y B. La hepatitis vírica continúa siendo un importante problema de salud pública debido a la elevada infectividad de los virus y a la falta de tratamientos eficaces.

29.12 • La gonorrea y la sífilis, causadas por *Neisseria gonorrhoeae* y *Treponema pallidum*, respectivamente, son enfermedades de transmisión sexual con consecuencias potencialmente graves en ausencia de tratamiento. En los Estados Unidos, la incidencia de la gonorrea ha descendido en los últimos años, pero la incidencia de la sífilis han aumentado.

29.13 • La clamidiasis es la infección de transmisión sexual más prevalente, y si no se trata, puede provocar serias complicaciones tanto en hombres como en mujeres. Los virus del herpes simple provocan infecciones incurables por herpes 1 o herpes 2 que se transmiten, respectivamente, por contacto oral o genital. Los virus del papiloma humano (VPH) provocan infecciones de transmisión sexual muy extendidas que pueden producir cáncer cervical o de otro tipo, pero existen vacunas eficaces contra ellos.

29.14 • El VIH es un retrovirus que destruye el sistema inmunitario, provoca SIDA y, finalmente, los patógenos oportunistas matan al hospedador. No existe cura ni vacuna eficaz de la infección por VIH/SIDA, sin embargo, los fármacos antivirales pueden ralentizar o detener la evolución del SIDA. La prevención de la infección por VIH requiere educación y evitar comportamientos de alto riesgo que impliquen el intercambio de fluidos corporales.

MasteringMicrobiology®

Revise lo que sabe y descubra lo que ha aprendido con MasteringMicrobiology. Acceda a material de estudio, revisiones de los capítulos, animaciones y tutoriales de microbiología práctica en el Área de Estudio y asegúrese de que ha asimilado todo el contenido de este capítulo.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Carga vírica: determinación cuantitativa de la cantidad de virus en un organismo, normalmente, en la sangre.
Cirrosis: destrucción de la estructura normal del hígado que origina fibrosis.
Deriva antigénica: cambios menores en los antígenos del virus de la gripe, debidos a mutaciones génicas.
Escarlatina: erupción rojiza característica causada por una exotoxina producida por *Streptococcus pyogenes*.
Fiebre reumática: enfermedad inflamatoria autoinmune causada por la respuesta inmunitaria a la infección por *Streptococcus pyogenes*.
Hepatitis: inflamación del hígado causada, generalmente, por un agente infeccioso.
Infección de transmisión sexual (STI): infección que, normalmente, se contrae por contacto sexual.
Inhibidor de la fusión: polipéptido sintético que se une a glicoproteínas víricas, e inhibe la fusión entre las membranas víricas y las membranas celulares del hospedador.
Inhibidor de la integrasa: fármaco que interrumpe el ciclo de replicación del VIH interfiriendo con la integrasa, la proteína del VIH que cataliza la integración del DNA bicatenario del virus en el DNA de la célula hospedadora.
Inhibidor de la proteasa (IP): compuesto que inhibe la acción de la proteasa vírica uniéndose directamente al sitio catalítico y evitando el procesamiento de las proteínas víricas.
Inhibidor no nucleosídico de la transcriptasa inversa (NNRTI): compuesto no nucleosídico que inhibe la acción de la transcriptasa inversa retrovírica por unión directa al sitio catalítico.
Inhibidor nucleosídico de la transcriptasa inversa (NRTI): compuesto análogo a un nucleósido que inhibe la acción de la transcriptasa inversa retrovírica compitiendo con los nucleósidos.
Meningitis: inflamación de las meninges (tejido cerebral) causada a veces por *Neisseria meningitidis* y caracterizada por la aparición brusca de dolor de cabeza, vómitos y rigidez de cuello, que con frecuencia conduce al coma en cuestión de horas.
Meningococemia: enfermedad grave de evolución rápida causada por *Neisseria meningitidis* y caracterizada por septicemia, coagulación intravascular y choque.
Patógeno oportunista: organismo que causa enfermedad en ausencia de resistencia normal en el hospedador.
Prueba de la tuberculina: prueba cutánea para identificar infecciones previas por *Mycobacterium tuberculosis*.
Salto antigénico: cambios importantes en antígenos del virus de la gripe, debidos a recombinación génica.
Sífilis congénita: sífilis transmitida de la madre al feto durante el embarazo.
Síndrome del choque tóxico (TSS): choque sistémico agudo ocasionado por la respuesta del hospedador a una exotoxina producida por *Staphylococcus aureus*.
Tosferina (tos espasmódica): enfermedad causada por la infección del tracto respiratorio superior con *Bordetella pertussis*, caracterizada por una tos profunda y persistente.
Virus papiloma humano (HPV): virus transmitido sexualmente que ocasiona verrugas genitales, neoplasia de cuello uterino y cáncer.

PREGUNTAS DE REPASO

1. ¿Por qué las bacterias grampositivas causan enfermedades respiratorias con más frecuencia que las gramnegativas? (Sección 29.1)
2. ¿Cuáles son los síntomas típicos de una infección respiratoria estreptocócica? ¿Por qué las infecciones respiratorias deben tratarse con prontitud? (Sección 29.2)
3. Describa los agentes causales y los síntomas de la difteria y la tosferina. ¿Por qué ha disminuido la incidencia de la difteria en los Estados Unidos, mientras que la incidencia de la tosferina ha aumentado en la última década? (Sección 29.3)
4. Describa el proceso de infección por *Mycobacterium tuberculosis*. ¿La infección conduce siempre a tuberculosis activa? ¿Por qué? ¿Cómo se detecta la exposición a *M. tuberculosis* en seres humanos? (Sección 29.4)
5. Describa los síntomas de la meningococemia y de la meningitis. ¿Cómo se tratan estas enfermedades? ¿Cuál es la prognosis de cada una de ellas? (Sección 29.5)
6. Compare y diferencie entre sarampión, paperas y rubeola. Incluya una descripción de los patógenos, de los principales síntomas y de cualquier consecuencia potencial de estas infecciones. ¿Por qué es importante vacunar a las mujeres contra la rubeola antes de la pubertad? (Sección 29.6)
7. ¿Por qué son tan comunes los resfriados respiratorios? ¿Por qué no se emplean vacunas para prevenir los resfriados? (Sección 29.7)
8. ¿Por qué la gripe es una enfermedad respiratoria tan frecuente? ¿Cómo se escogen las vacunas contra la gripe? (Sección 29.8)
9. Distinga entre los estafilococos patógenos y los que forman parte de la microbiota normal. (Sección 29.9)
10. Describa las pruebas que relaciona a *Helicobacter pylori* con las úlceras gástricas. ¿Cómo se pueden curar estas úlceras? (Sección 29.10)
11. Describa los principales virus patógenos de la hepatitis. ¿De qué manera están relacionados? ¿Cómo se transmiten? (Sección 29.11)
12. ¿Por qué la incidencia de la gonorrea se elevó notablemente en la década de 1960, mientras que la de la sífilis disminuyó al mismo tiempo? (Sección 29.12)

13. Describa el organismo que causa cada una de las siguientes enfermedades de transmisión sexual: clamidiasis, herpes y virus del papiloma humano. Señale en cada caso si es posible el tratamiento y, en caso afirmativo, si supone una cura eficaz. Razone las respuestas. (Sección 29.13)

14. Describa cómo el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) destruye la inmunidad humoral y la inmunidad celular. ¿Qué es la terapia HAART? (Sección 29.14)

EJERCICIOS PRÁCTICOS

1. ¿Por qué tenemos un resfriado o dos cada año y, en cambio, solo podemos tener un episodio de sarampión a lo largo de nuestra vida?

2. ¿Por qué la tuberculosis activa conduce con frecuencia a una reducción de la capacidad pulmonar, mientras que la mayor parte de las otras enfermedades respiratorias solo causan problemas respiratorios temporales? A nivel mundial, la prevalencia de la infección por tuberculosis es muy elevada, pero la de la enfermedad activa es mucho menor. Explíquelo.

3. Su compañero de piso se va a su casa durante el fin de semana, vuelve muy enfermo y se le diagnostica meningitis bacteriana en un hospital local. Como estaba fuera, las autoridades universitarias no están al corriente de su enfermedad. ¿Qué debería hacer usted para protegerse de la meningitis? ¿Lo debería notificar a las autoridades sanitarias?

4. Compare la infección por VIH con una infección de cualquier otro patógeno vírico tratado en este capítulo, independientemente de su medio de transmisión. ¿Por qué los casos no tratados de VIH son inevitablemente mortales, mientras que los casos no tratados de varicela, gripe o hepatitis no suelen serlo?

5. Explique la biología molecular del salto antigénico en los virus de la gripe y comente las consecuencias inmunológicas para el hospedador. ¿Por qué el salto antigénico impide el desarrollo de una vacuna universal única, eficaz en el control de la gripe? Después, compare el salto antigénico con la deriva antigénica. ¿Cuál provoca el cambio antigénico mayor? ¿Cuál general los mayores problemas para el desarrollo de vacunas? ¿Cuál puede provocar una pandemia de gripe, y por qué?

6. Como director del grupo asesor de salud pública de su colegio mayor, se le ha encargado presentar un informe sobre clamidiasis, el herpes, la tricomoniasis (véase Capítulo 32), y la infección por el virus del papiloma humano, todas ellas STI. Además de en este libro, ¿dónde puede adquirir información fidedigna sobre las STI y qué información presentaría? Discuta los aspectos individuales y sanitarios que deben considerarse en cada una de estas enfermedades.

CAPÍTULO

30 · Enfermedades bacterianas y víricas y transmitidas por vectores (artrópodos) y por el suelo

microbiología **actual**

Los murciélagos vampiros y la rabia

La rabia es una enfermedad de los animales homeotermos —principalmente mamíferos— provocada por un virus de RNA. El virus de la rabia desencadena una encefalitis aguda y la eventual muerte del animal. Más de 55.000 personas, principalmente niños, mueren cada año de rabia en todo el mundo. La mayoría de las muertes por rabia están relacionadas con mordeduras de perros rabiosos. Son raros los casos de rabia humana provocados por mordeduras de animales salvajes como los zorros, los mapaches o las mofetas. En los Estados Unidos, la mayor parte de los casos de rabia en los humanos, con un promedio de unos tres al año, están asociados a mordeduras de murciélagos.

En los Estados Unidos y Canadá habitan al menos 47 especies de murciélagos. La mayor parte de ellas se alimenta de insectos o fruta. Un murciélago no nativo de esta parte de América del Norte es el vampiro —una especie que se alimenta de sangre (fotografía). Los vampiros son animales del Nuevo Mundo que viven en climas templados. Se distribuyen desde México hasta territorios tan meridionales como Argentina, y hasta 2010 no se había relacionado ningún caso de rabia humana en los Estados Unidos por una mordedura de vampiro. Sin embargo, en agosto de ese año, un trabajador inmigrante murió de rabia en Louisiana. El trabajador había sido mordido por un murciélago hacía dos semanas en México y había empezado a mostrar algunos de los síntomas neurológicos de la rabia. Acabó muriendo en menos de un mes y las muestras recogidas en la autopsia demostraron que estaba infectado por una cepa del virus de la rabia previamente asociado a los vampiros[1].

Esta muerte señala que podría darse una nueva manera grave de transmitir la rabia en los Estados Unidos. Con el cambio climático mundial, que empuja hacia el norte el clima subtropical ideal para los vampiros, es probable que estos murciélagos pronto comiencen a ocupar las regiones meridionales del país. Y como los vampiros se alimentan de sangre, se podrían convertir en nuevos e importantes vectores de la rabia, y transmitir la enfermedad al ganado y a otros animales que normalmente no están relacionados con la rabia.

[1]Balsamo, G., *et al.* (2011). Human rabies from exposure to a vampire bat in Mexico-Louisiana, 2010. *Morbidity and Mortality Weekly Report 60*:1050-1052.



I Enfermedades víricas transmitidas por animales 954

II Enfermedades bacterianas y víricas transmitidas por artrópodos 967

III Enfermedades bacterianas de transmisión edáfica 976

En este capítulo nos centramos en las bacterias y virus patógenos transmitidos a los humanos por animales, artrópodos, o por el suelo. Los patógenos transmitidos por animales tiene su origen en los vertebrados no humanos, y estas poblaciones de animales infectados pueden transmitir las infecciones a los humanos. Algunos artrópodos son vectores de enfermedades que diseminan los patógenos a nuevos hospedadores mediante una picadura. Los patógenos transmitidos por el suelo se transmiten a los humanos por el contacto directo con el suelo o bien por el contacto con el pelo o la piel de animales infectados. Unas pocas de las enfermedades que trataremos en este capítulo solo producen síntomas leves y son típicamente autolimitantes. Pero la mayoría son muy peligrosas, con síntomas potencialmente mortales y tasas de mortalidad elevadas. Entre ellas se incluyen enfermedades tan temibles como la rabia, los síndromes por hantavirus, la fiebre amarilla y la peste.

I • Enfermedades víricas transmitidas por animales

Una **zoonosis** es una enfermedad de animales transmisible a los humanos, generalmente por contacto directo, aerosoles o mordeduras. La inmunización y el cuidado veterinario controlan muchas enfermedades infecciosas en los animales domésticos, lo que reduce la transferencia de los patógenos zoonóticos a los humanos. Sin embargo, los animales silvestres no reciben cuidados veterinarios ni están inmunizados, lo que los convierte en una potencial fuente de zoonosis. Las enfermedades de los animales pueden ser **enzoóticas**, presentes de forma endémica en determinadas poblaciones, o **epizoóticas**, cuando la incidencia alcanza proporciones epidémicas. En este apartado nos centramos en dos enfermedades víricas típicamente enzoóticas que se pueden transmitir a los humanos: la rabia y los síndromes por hantavirus.

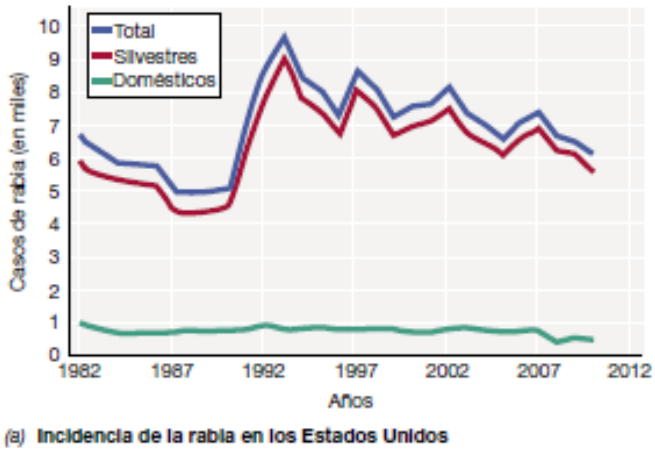
30.1 La rabia y el virus de la rabia

La **rabia** se da en los animales silvestres, y los principales reservorios enzoóticos del virus de la rabia en los Estados Unidos son los mapaches, las mofetas, los coyotes, los zorros y los murciélagos (véase página 885). En los animales domésticos también se produce cada año un pequeño número de casos de rabia (Figura 30.1).

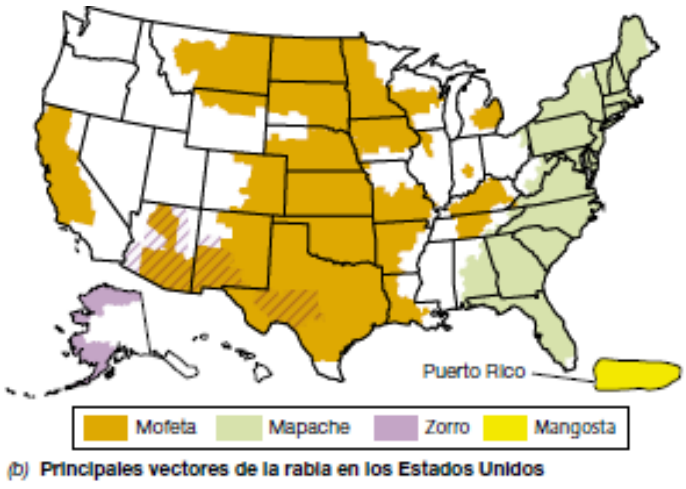
Síntomas y patología de la rabia

La rabia está causada por un rabdovirus, un virus con RNA monocatenario de sentido negativo (↻ Sección 9.9), que infecta las células del sistema nervioso central de la mayoría de los animales homeotermos y los conduce casi invariablemente a la muerte una vez que se han desarrollado los síntomas. El virus (Figura 30.2*a*) entra en el cuerpo con la saliva contaminada por el virus a través de la herida de una mordedura o por contaminación de las membranas mucosas. Entonces se multiplica en el sitio de la inoculación y de ahí se desplaza al sistema nervioso central. El período de incubación hasta que aparecen los síntomas es muy variable y depende del hospedador, del tamaño, localización y profundidad de la herida inoculante, y del número de viriones de la rabia transmitidos en la mordedura. En los perros, el período de incubación es de menos de dos semanas. En cambio, en los humanos pueden pasar 9 meses o más hasta que aparecen los síntomas.

El virus de la rabia prolifera en el cerebro, en especial en el tálamo y el hipotálamo, y la infección provoca fiebre, excitación, dilatación de las pupilas, exceso de salivación y ansiedad. Se desarrolla miedo a tragar (hidrofobia, una antigua

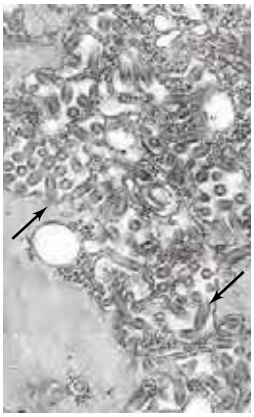


(a) Incidencia de la rabia en los Estados Unidos

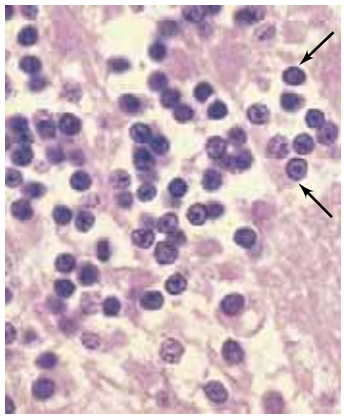


(b) Principales vectores de la rabia en los Estados Unidos

Figura 30.1 Casos de rabia en los animales silvestres y domésticos en los Estados Unidos. *(a)* Incidencia anual de la rabia. Se dan menos de 5 casos al año en los humanos. *(b)* Reservorios principales del virus de la rabia. En algunas áreas, por ejemplo, en el suroeste de Texas, las mofetas y los zorros son los reservorios principales. Más del 90 % de los casos de rabia registrados se producen en animales silvestres. Sin embargo, el número real es, probablemente, significativamente más alto que el mostrado en (a), debido a los casos sin diagnosticar y a los cadáveres de animales muertos de rabia que no se descubren. Los datos son de los centros para el control y la prevención de enfermedades de Atlanta, Georgia, Estados Unidos.



(a)



(b)

Figura 30.2 **Virus de la rabia.** *(a)* Los viriones de la rabia (flechas) mostrados en la imagen, tomada con microscopio electrónico de transmisión de un corte de tejido de un animal rabioso, tienen un tamaño aproximado de 75 × 180 nm. *(b)* Histopatología de la rabia en los humanos. En el tejido encefálico, el virus de la rabia forma las inclusiones citoplasmáticas características que se denominan corpúsculos de Negri (flechas), que contienen antígenos del virus de la rabia. Los corpúsculos de Negri tienen un diámetro de aproximadamente 2-10 µm.

denominación de la rabia) a consecuencia de los espasmos incontrolables de los músculos de la garganta, y finalmente sobreviene la muerte por parálisis respiratoria. En los humanos, una infección de rabia *sin tratar* en la que ya hayan comenzado los síntomas es casi siempre mortal. Por fortuna, tanto para los animales domésticos como para las personas, existe una vacuna muy eficaz contra la rabia que consigue mantener baja la incidencia de esta enfermedad en los animales domésticos (Figura 30.1*a*) y casi inexistente en los humanos.

Diagnóstico, tratamiento y prevención de la rabia

La rabia se diagnostica en el laboratorio por detección del virus en las muestras de tejidos. En una autopsia se utilizan anticuerpos fluorescentes que se fijan al virus de la rabia en los tejidos encefálicos para confirmar la enfermedad. Las inclusiones víricas, denominadas *corpúsculos de Negri*, se ven en el citoplasma de las células nerviosas teñidas para la microscopia óptica y también confirman la infección por el virus de la rabia (Figura 30.2*b*).

Como se trata de una enfermedad grave, se han establecido directrices estrictas para tratar la posible exposición humana a la rabia, cuyos detalles se pueden encontrar en el apartado de la rabia de la página web de la Organización Mundial de la Salud (http://www.WHO.int). En resumen, las directrices declaran que si se sospecha que un animal silvestre o abandonado tiene la rabia, hay que comprobar inmediatamente si tiene el virus. Si un animal doméstico, por lo general un perro, un gato o un hurón, muerde a un humano, sobre todo cuando no ha sido provocado, el animal se debe mantener en cuarentena durante 10 días para comprobar la aparición de signos de rabia. Si el animal muestra síntomas de la rabia, o no se puede realizar un diagnóstico definitivo de su enfermedad después de 10 días, hay que inmunizar pasivamente a la persona mordida con inmunoglobulinas contra la rabia (anticuerpos humanos purificados contra el virus de la rabia) inyectados tanto en el sitio de la mordedura como por vía intramuscular. El paciente también debe ser inmunizado activamente con una vacuna antirrábica. Como la progresión de la rabia es muy lenta en los humanos, esta combinación de terapia inmunitaria activa y pasiva (Sección 24.6) tiene una eficacia cercana al 100 % y detiene el inicio de la enfermedad.

La rabia se evita, en gran medida, mediante la inmunización. En los Estados Unidos se utiliza la vacuna con el virus inactivado para los humanos y los animales domésticos. La inmunización preventiva se utiliza con los individuos de alto riesgo, como veterinarios, personal de control de animales, investigadores que usan animales y personas que trabajan en los laboratorios que investigan la rabia o que producen la vacuna. El problema principal de la rabia radica en los animales silvestres (Figura 30.1), con los que no se pueden emplear los medios tradicionales de vacunación. Sin embargo, los ensayos experimentales con una vacuna oral contra la rabia administrada en «cebos» han reducido la incidencia y la propagación de la enfermedad en áreas geográficas concretas. Si la inmunidad de grupo (Sección 28.2) se pudiera establecer en algunos de los portadores clave de la rabia (Figura 30.1*b*), sería posible reducir considerablemente la incidencia de la enfermedad. Algunos estados y países, como Hawaii y Gran Bretaña, están libres de la rabia y cualquier animal que se importe se somete a cuarentena.

Aunque la rabia se puede prevenir con una vacuna, provoca la muerte de unas 55.000 personas al año, principalmente en los países en vías de desarrollo de Asia y África, donde la enfermedad es enzoótica en los animales domésticos debido a unas prácticas de vacunación inadecuadas. En todo el mundo, casi 14 millones de personas al año, de las que más de 20.000 están en los Estados Unidos, reciben tratamiento preventivo contra la rabia después de la exposición. En los Estados Unidos se notifican, cada año, menos de tres casos de rabia humana, casi siempre debido a mordeduras de animales silvestres. Como los animales domésticos a menudo están expuestos a los animales silvestres, por norma, los perros y los gatos se vacunan contra la rabia a partir de los 3 meses de edad. También es frecuente inmunizar contra la rabia a los animales de granja grandes, en especial los caballos.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cuál es el procedimiento para tratar a una persona mordida por un animal si no se puede encontrar al animal?
- ¿Qué ventaja importante tiene la vacunación oral sobre la parenteral (inyectada) para el control de la rabia en los animales silvestres?

30.2 Síndromes por hantavirus

Los hantavirus ocasionan dos enfermedades emergentes graves, el **síndrome pulmonar por hantavirus** (**HPS**, del inglés *hantavirus pulmonary syndrome*), una enfermedad cardíaca y respiratoria aguda, y la **fiebre hemorrágica con síndrome renal** (**HFRS**, del inglés *hemorrhagic fever with renal syndrome*), una enfermedad intensa y repentina que se caracteriza por choque y fallo renal. Ambas enfermedades están provocadas por

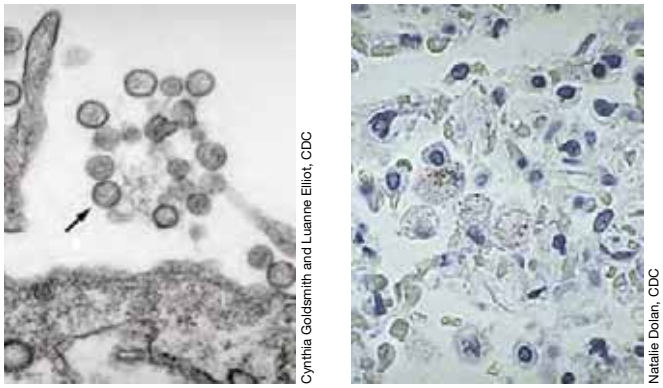
hantavirus transmitidos por roedores infectados. El hantavirus recibe este nombre por Hantaan, Corea, el lugar del brote de fiebre hemorrágica donde se descubrió por primera vez que el virus era un patógeno humano.

Síntomas y patología de los síndromes por hantavirus

Los hantavirus son virus con envoltura cuyo genoma es de RNA monocatenario segmentado de sentido negativo (**Figura 30.3**; ↔ Sección 9.9); están relacionados con otros virus productores de fiebres hemorrágicas, como el virus de la fiebre de Lassa y el virus ébola (↔ Sección 28.7). Los hantavirus infectan a roedores entre los que se incluyen ratones, ratas, lemmings y topillos, sin provocarles ninguna enfermedad. Desde estos reservorios, el virus se transmite a las personas por la inhalación de excretas de roedores contaminados con el virus. Los humanos son hospedadores accidentales y se infectan solo cuando entran en contacto con roedores, sus desechos o su saliva.

El HPS se caracteriza por una fiebre súbita, dolor muscular, trombocitopenia a la vez que leucocitosis y hemorragias. La muerte, de producirse, ocurre a los pocos días como resultado de un choque sistémico y complicaciones cardíacas precipitadas por un edema pulmonar, lo que provoca asfixia e insuficiencia cardíaca. Estos síntomas son típicos de los hantavirus, pero también son frecuentes otros, como la insuficiencia renal, según la cepa de virus que provoque la enfermedad. El HFRS se caracteriza por una cefalea intensa, dolor abdominal y dorsal, disfunción renal y diversas complicaciones hemorrágicas. Las cepas del HPS son más prevalentes en América, mientras que las del HFRS lo son en los brotes de hantavirus en Eurasia. Las cepas del HPS muestran típicamente una tasa de mortalidad significativamente más alta que la de las del HFRS.

Los hantavirus se pueden cultivar en el laboratorio, pero hay que manejarlos con precauciones de bioseguridad de nivel 4 (BSL-4; ↔ Sección 27.1). En el ámbito de las enfermedades infecciosas, los hantavirus y otros patógenos víricos clasificados como BSL-4 se consideran «lo peor de lo peor» y, por tanto, en los Estados Unidos los trata la División de Patógenos Especiales de los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades en Atlanta (Georgia, Estados Unidos) (Explorando el mundo microbiano, «Manejo de los virus de la fiebre hemorrágica vírica»).



(a) *(b)*

Figura 30.3 **Hantavirus.** *(a)* Imagen de microscopia electrónica del hantavirus Sin Nombre. La flecha señala uno de los viriones que tiene un diámetro de unos 100 nm. *(b)* Inmunotinción de los antígenos del hantavirus Andes en los macrófagos alveolares. Cada área granular teñida de azul oscuro indica la infección celular de un macrófago individual (cada célula tiene un diámetro de unos 15 μm).

Epidemiología, diagnóstico y prevención de los síndromes por hantavirus

En 1993 se produjo un brote importante de HPS en los Estados Unidos cerca de la región de Four Corners de Arizona, Colorado, Nuevo México y Utah. El brote se debió al rápido crecimiento de la población de ratones ciervo (*Peromyscus maniculatus*) durante la primavera de 1993. A un invierno suave le siguió una primavera muy lluviosa, lo que hizo aparecer una cantidad de alimento inusualmente alta para los ratones. El brote de HPS causó 32 muertes en 53 personas infectadas (mortalidad del 60 %), lo que ilustra el peligro potencial de los brotes debidos a los patógenos que se pueden transmitir directamente desde reservorios animales. Desde 1993 a 2011 se registraron 587 casos de HPS en los Estados Unidos, con 211 muertes (36 %), la mayoría en los estados occidentales. En 2012, en el Parque Nacional de Yosemite (California, Estados Unidos), se produjo un brote de HPS que afectó a 10 personas, de las que murieron tres. La incidencia de la infección con las cepas del HFRS es mucho mayor que con las cepas del HPS. Se estima que se producen 200.000 infecciones al año, principalmente en China, Corea y Rusia, pero la tasa de mortalidad es típicamente muy baja.

Los síndromes por hantavirus se pueden diagnosticar con técnicas inmunológicas que identifican los anticuerpos antihantavirus en una muestra de sangre. Estas pruebas incluyen análisis inmunológicos (Figura 30.3*b* y ↔ Sección 27.9) que detectan tanto la exposición al virus como la potencia de la respuesta inmunitaria. La presencia del genoma vírico de RNA en los viriones en circulación también se puede detectar por RT-PCR (↔ Secciones 11.3 y 27.10) en muestras de sangre o de tejido del paciente.

No hay ningún tratamiento específico ni vacuna para las enfermedades provocadas por hantavirus. El tratamiento implica aislamiento, reposo, rehidratación y alivio de otros síntomas. Se puede evitar la infección del hantavirus si se elimina el contacto con los roedores y su hábitat. Las únicas medidas que se muestran eficaces son la destrucción del hábitat de los ratones, el confinamiento de los alimentos (por ejemplo, conservándolos en contenedores herméticos) y las medidas agresivas de exterminio de roedores, ya que los estudios en animales han demostrado que, en las áreas que han sufrido un brote de hantavirus, una elevada proporción de ratones son portadores del virus.

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué se considera que los hantavirus son un problema de salud pública importante en los Estados Unidos?
- Describa la transmisión de los hantavirus a los humanos. ¿Qué medidas resultan eficaces para impedir la infección por hantavirus?

EXPLORANDO EL MUNDO MICROBIANO

Manejo de los virus de las fiebres hemorrágicas víricas

La división de patógenos especiales de los centros para el control y la prevención de enfermedades (CDC) está especializada en el manejo de un subgrupo de patógenos víricos peligrosos, los *virus de las fiebres hemorrágicas.* Estos virus son los agentes infecciosos más letales conocidos y provocan una serie de fiebres hemorrágicas víricas (FHV), como los síndromes por hantavirus y ébola.

Los virus de la fiebre hemorrágica se manejan con estándares de bioseguridad de nivel 4 (BSL-4) (**Figura 1**). El BSL-4 es el nivel más alto de contención biológica y se utiliza solo cuando se trabaja con muestras que suponen un alto riesgo de enfermedad potencialmente mortal y para la cual no existen vacunas eficaces ni ningún tratamiento. Los virus de las FHV entran definitivamente en esta categoría porque generan síntomas multiorgánicos graves y su tasa de mortalidad es elevada.

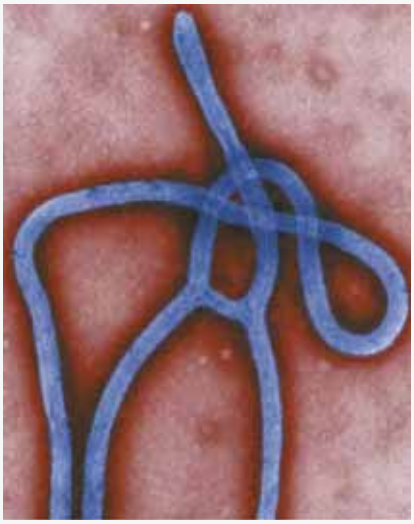


CDC/PHIL, James Gathany

Figura 1 Nivel de bioseguridad 4. Los microbiólogos se colocan un traje antes de entrar al laboratorio BSL-4 del CDC. El traje aporta aire filtrado y tiene presión positiva para impedir el retorno de aire o de partículas del laboratorio.

En los Estados Unidos, los únicos virus endémicos de fiebres hemorrágicas son los hantavirus. De ellos conocemos los vectores, los hospedadores y cómo evitar que infecten a los humanos. Sin embargo, se desconocen los vectores y los mecanismos de transmisión de muchos virus de fiebres hemorrágicas. Por ejemplo, el virus ébola (**Figura 2**) es endémico en las regiones rurales del África central y se puede propagar con rapidez entre los humanos. Se han producido siete brotes importantes de ébola en África desde 1976, el último en 2009, y los resultados han sido devastadores. Por ejemplo, de 1.748 casos confirmados de ébola, 1.162 resultaron mortales (mortalidad del 67 %). Obviamente, si el ébola llegara a infectar un área densamente poblada, provocaría una importante emergencia médica. El objetivo principal de la división de patógenos especiales consiste en conseguir que no ocurra algo así.

La tasa de mortalidad abrumadoramente alta de las FHV las convierte en unas de las enfermedades más temidas, por lo que se está investigando la producción de vacunas y tratamientos. Mientras tanto, la división de patógenos especiales del CDC se centra en el escenario actual de la enfermedad. Se encarga de tratar los pacientes con hantavirus en los Estados Unidos, desarrollar herramientas de diagnóstico para identificar los virus de FHV conocidos y emergentes, y conocer la biología, patología y transmisión de estos peligrosos patógenos. Un objetivo importante es ser capaces de predecir los brotes de FHV, identificarlos rápidamente cuando ocurren y aplicar las medidas adecuadas para detenerlos lo antes posible. Para más información sobre la división de patógenos especiales del CDC, consulte su página web en http://www.cdc.gov/.



CDC/PHIL, Cynthia Goldsmith

Figura 2 Virus ébola. Imagen coloreada de microscopia electrónica de transmisión con tinción negativa de una preparación de viriones del virus ébola. Un solo virión tiene un diámetro de unos 80 nm.

UNIDAD 6

II • Enfermedades bacterianas y víricas transmitidas por artrópodos

Los patógenos se pueden transmitir a nuevos hospedadores a partir de la picadura de un artrópodo infectado. En las enfermedades víricas y bacterianas que tratamos aquí —riquetsiosis, dengue, fiebre amarilla, enfermedad de Lyme y peste— los humanos son tan solo *hospedadores accidentales* del patógeno. El *reservorio* del patógeno es el artrópodo vector. No obstante, estas enfermedades pueden ser devastadoras y a menudo mortales.

30.3 Enfermedades causadas por rickettsias

Las **rickettsias** son unas *bacterias* pequeñas de existencia intracelular estricta y se relacionan con artrópodos hematófagos, como las pulgas, los piojos o las garrapatas. La biología de las rickettsias se trató en la Sección 15.1. Entre las enfermedades que pueden ocasionar a los humanos y a otros vertebrados, las

más importantes son *tifus*, *riquetsiosis maculosa* (fiebre maculosa de las Montañas Rocosas) y *erliquiosis*. No se ha logrado hacerlas crecer en medios de cultivo artificiales, pero sí en animales de laboratorio, en garrapatas y piojos, en células de mamíferos en cultivo de tejidos y en el saco vitelino de los embriones de pollo (véase la Figura 30.6*b*). En los animales, el crecimiento tiene lugar sobre todo en fagocitos, como los macrófagos.

Las rickettsias se dividen en tres grupos, relacionados vagamente con las enfermedades clínicas que provocan. Los grupos son (1) el *grupo del tifus*, como *Rickettsia prowazekii*; (2) el *grupo de la fiebre maculosa*, como *Rickettsia rickettsii*; y (3) el *grupo de la erliquiosis*, caracterizado por *Ehrlichia chaffeensis*.

El grupo del tifus: *Rickettsia prowazekii*

El tifus se transmite de una persona a otra mediante el piojo común de la cabeza o del cuerpo (**Figura 30.4*a***) y los humanos son el único mamífero hospedador que se conoce. Durante la I Guerra Mundial se propagó una epidemia de tifus por el este de Europa que provocó casi 3 millones de muertos. A lo largo de la historia, el tifus ha constituido un problema entre las tropas en tiempos de guerra a consecuencia de las deficientes condiciones sanitarias y del hacinamiento característicos de las operaciones militares, donde los piojos infectados propagan la enfermedad con facilidad entre los soldados, con resultados devastadores. Hasta la II Guerra Mundial, el tifus causó más muertes militares que el combate.

Las células de *R. prowazekii* se introducen por la piel cuando una punción debida a una picadura de piojo se contamina con las heces del piojo que contienen las rickettsias. Durante un período de incubación de 1-3 semanas, el microorganismo se multiplica dentro de las células que revisten los vasos sanguíneos pequeños. Comienzan entonces a aparecer los síntomas del tifus (fiebre, cefalea y debilidad general). Varios días después se observa una erupción característica en las axilas que se suele extender por todo el cuerpo, excepto por la cara, las palmas de las manos y las plantas de los pies. Las complicaciones del tifus sin tratar incluyen el daño al sistema nervioso central, pulmones, riñones y corazón. El tifus epidémico tiene una tasa de mortalidad que puede alcanzar el 30 %. La tetraciclina y el cloranfenicol son los fármacos que se utilizan con más frecuencia para controlar las infecciones causadas por *R. prowazekii*. *Rickettsia typhi*, el organismo que produce el tifus murino, es otro patógeno importante del grupo del tifus y también puede infectar a los humanos. Existe una vacuna contra el tifus, pero solo se suele administrar a los que viajan a las regiones endémicas del tifus.



(a)



(b)

Figura 30.4 Vectores artrópodos de riquetsiosis. *(a)* Las hembras de los piojos del cuerpo, de unos 3 mm de largo, pueden llevar *Rickettsia prowazekii*, el agente que provoca el tifus. Además, el piojo del cuerpo puede llevar *Borrelia recurrentis*, el agente de la fiebre recurrente, y *Bartonella quintana*, el agente de la fiebre de las trincheras (fiebre quintana). *(b)* La garrapata americana del perro portadora potencial de *Rickettsia rickettsii*, el agente causal de la riquetsiosis maculosa, mide 5 mm de largo, pero puede triplicar su tamaño cuando se llena de sangre.

El grupo de la fiebre maculosa: *Rickettsia rickettsii*

La **rickettsiosis maculosa**, también conocida como *fiebre maculosa o moteada de las Montañas Rocosas (RMSF,* del inglés *Rocky Mountain spotted fever)*, se descubrió por primera vez en el oeste de los Estados Unidos hacia el 1900, pero hoy en día es más prevalente en la región medio-sur y central (**Figura 30.5**). La RMSF está causada por *R. rickettsii* y se la transmiten a los humanos varias garrapatas, sobre todo la garrapata americana del perro (*Dermacentor variabilis*) (Figura 30.4*b*) y las garrapatas de la madera (*Dermacentor andersoni*). Más de 2.000 personas al año contraen la RMSF en los Estados Unidos, un incremento significativo desde el 2002, lo que probablemente se debe a que la actividad humana ha aumentado en las áreas infestadas de garrapatas. Los humanos adquieren el patógeno por la picadura de una garrapata cuyas glándulas salivales, y los ovarios en el caso de las hembras, están infectadas con células de rickettsias.

Las células de *R. rickettsii*, a diferencia de otras rickettsias, crecen tanto dentro del núcleo de la célula hospedadora como en su citoplasma (**Figura 30.6*a, c***). Después de un período de incubación de entre 3 y 12 días aparecen los síntomas característicos, entre ellos la fiebre y una cefalea intensa. Pocos días después aparece una erupción sistémica (Figura 30.6*d*), que suele venir acompañada de problemas gastrointestinales, como diarrea y vómitos. Si la RMSF no se trata, los síntomas clínicos persisten durante más de 2 semanas. La tetraciclina o el cloranfenicol suelen favorecer una pronta recuperación si se administran en las primeras fases la infección y los pacientes tratados presentan una mortalidad de menos del 1 %. La mortalidad en los casos sin tratamiento se parece a la del tifus, llegando al 30 %. En la actualidad no existe ninguna vacuna eficaz contra la RMSF.

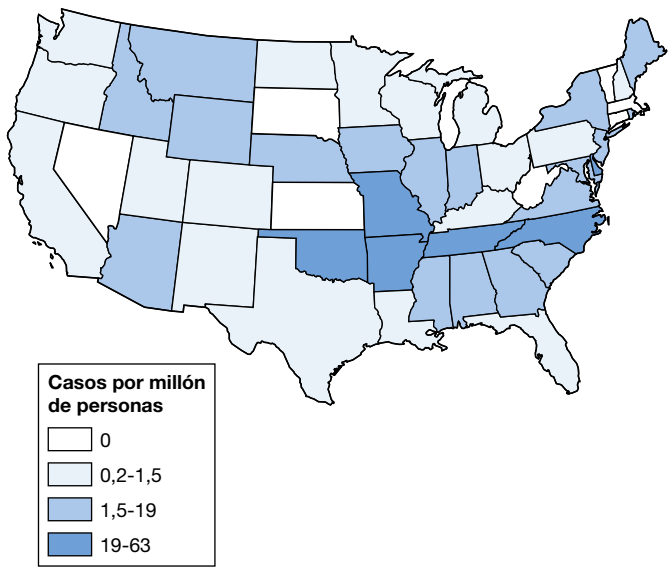


Figura 30.5 Riquetsiosis maculosa (fiebre maculosa de las Montañas Rocosas) en los Estados Unidos, 2010. A pesar del nombre, los casos de la riquetsiosis maculosa se concentran hoy día en los estados del este y de medio-sur hasta Oklahoma.

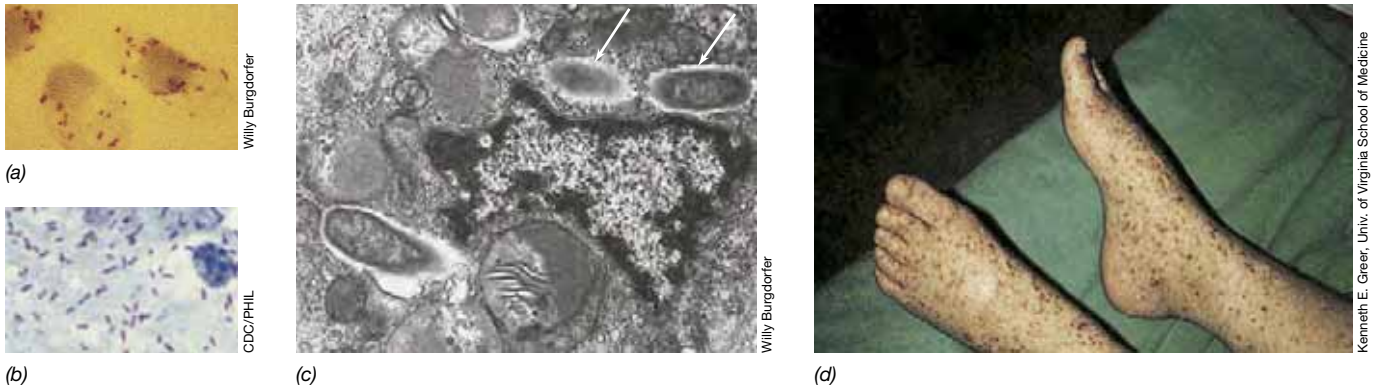


Figura 30.6 ***Rickettsia rickettsii* y riquetsiosis maculosa.** *(a)* Células de *R. rickettsii* creciendo en el citoplasma y el núcleo de hemocitos de garrapata y *(b)* en los sacos vitelinos de huevos de pollo; las células tienen un diámetro de unos 0,4 µm. *(c)* Imagen de microscopia electrónica de transmisión de *R. rickettsii* (flechas) en un hemocito granular infectado de la garrapata de la madera. *(d)* Erupción de riquetsiosis maculosa en los pies. La erupción por todo el cuerpo es indicativa de esta enfermedad y ayuda a distinguirla del tifus, en la que la erupción no afecta a todo el cuerpo.

Erliquiosis y anaplasmosis transmitida por garrapatas

El género *Ehrlichia* y otros relacionados (↔ Sección 15.1) son responsables de dos enfermedades emergentes transmitidas por garrapatas en los Estados Unidos: la *erliquiosis monocítica humana* (*HME*, del inglés *human monocytic ehrlichiosis*) y la *anaplasmosis granulocítica humana* (*HGA*, del inglés *human granulocytic anaplasmosis*). Los patógenos que producen la HME son *Ehrlichia chaffeensis* y *Rickettsia sennetsu*, y los de la HGA son *Ehrlichia ewingii* y *Anaplasma phagocytophilum*.

El inicio de estas riquetsiosis clínicamente indistinguibles presenta síntomas semejantes a los de la gripe, como fiebre, cefalea, malestar, cambios en el funcionamiento hepático y leucopenia. Los leucocitos de la sangre periférica tienen inclusiones visibles de rickettsias, un indicador diagnóstico de las enfermedades (**Figura 30.7**). Los síntomas, excepto por las inclusiones, son similares a otras riquetsiosis y pueden variar desde subclínicos a mortales. Las complicaciones a largo plazo para los casos que progresan sin tratamiento pueden incluir insuficiencia renal y respiratoria, y afectación neurológica grave.

La HGA y la HME las transmiten garrapatas de varias especies y los reservorios mamíferos de los patógenos incluyen el ciervo, algunos roedores y los humanos. En los Estados Unidos, la HGA se produce principalmente en el norte del medio oeste y la costa de Nueva Inglaterra, mientras que la HME se concentra en el sur del medio oeste y la costa este; en conjunto, se notifican casi 2.000 casos al año, con predominio de la HGA. El diagnóstico de los síndromes riquetsianos no es sencillo porque la erupción observada se puede confundir con otras enfermedades, como la escarlatina, o incluso el sarampión o la sífilis. La confirmación de una riquetsiosis requiere pruebas inmunológicas, por ejemplo, con anticuerpos fluorescentes o pruebas inmunológicas, o análisis por PCR que detecten el DNA del patógeno.

Lo mejor para prevenir la HGA y la HME consiste en evitar el hábitat de las garrapatas, o ponerse ropa a prueba de garrapatas y aplicarse repelentes de insectos con dietil-*m*-toluamida (DEET). También es una buena práctica examinarse despacio en busca de garrapatas después de haber caminado por un hábitat de garrapatas y eliminarlas inmediatamente, con cuidado de retirar todo su aparato bucal si esta ya se había fijado. La doxiciclina, una tetraciclina, es el antibiótico de elección para el tratamiento de la HGA y de la HME. Aún no existen vacunas para su prevención.

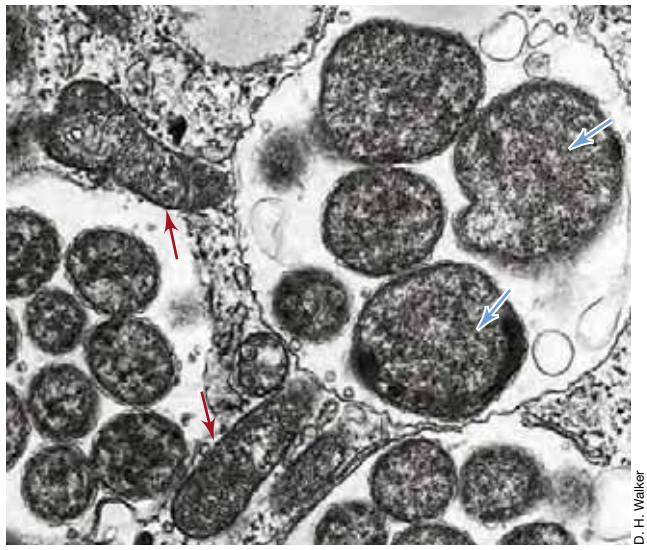


Figura 30.7 ***Ehrlichia chaffeensis*, el agente causal de la erliquiosis monocítica humana (HME).** La imagen de microscopia electrónica muestra inclusiones en un monocito humano que contiene gran cantidad de células de *E. chaffeensis*. Las flechas azules señalan dos de las muchas bacterias en cada inclusión. Las células de *E. chaffeensis* tienen un diámetro de 0,3-0,9 µm. Las mitocondrias se señalan con flechas rojas.

Fiebre Q

La *fiebre Q* es una infección semejante a la neumonía producida por el parásito intracelular estricto *Coxiella burnetti*, una bacteria relacionada con las rickettsias (↔ Sección 15.1). Aunque no se transmite a los humanos por la picadura de un insecto, las células de *C. burnetti* se transmiten a los animales, como las ovejas, las vacas y las cabras, mediante picaduras de insectos, y de estos reservorios pasa a los humanos. Los animales domésticos suelen tener infecciones asintomáticas, pero pueden diseminar grandes cantidades de células de *C. burnetti* por la orina, las heces, la leche y otros líquidos corporales. Los

animales infectados o sus productos, como lana, carne y leche, son potenciales fuentes de infección humana. La enfermedad resultante se parece a la gripe y puede evolucionar para incluir fiebre prolongada, cefalea, escalofríos, dolores de pecho, neumonía y endocarditis (inflamación del revestimiento interno del corazón). En los Estados Unidos, la fiebre Q es más prevalente en los estados rurales con una gran población de ganado o de animales de granja, y solo se notifican unos 150 casos al año.

Al igual que para las riquetsiosis, el diagnóstico de laboratorio de la infección por *C. burnetti* se suele hacer con pruebas inmunológicas orientadas a medir los anticuerpos del hospedador contra el patógeno. La fiebre Q responde bien a la tetraciclina y se debe iniciar lo antes posible el tratamiento de cualquier caso sospechoso para evitar la endocarditis y los daños en las válvulas del corazón. El agente causal de la fiebre Q también es un potencial agente de guerra biológica (↻ Sección 28.8).

MINIRREVISIÓN

- ¿Cuáles son los vectores artrópodos y los hospedadores animales para el tifus, la riquetsiosis maculosa, la erliquiosis y la anaplasmosis?
- ¿Qué precauciones se pueden tomar para evitar las infecciones con rickettsias?

30.4 Enfermedad de Lyme y *Borrelia*

La **enfermedad de Lyme** la transmiten las garrapatas, y afecta a los humanos y a otros animales. Debe su nombre a Old Lyme (Connecticut, Estados Unidos), la ciudad donde se descubrieron los primeros casos. En la actualidad es la enfermedad transmitida por artrópodos más prevalente en los Estados Unidos. Está provocada por la infección de una espiroqueta, *Borrelia burgdorferi* (**Figura 30.8**; ↻ Sección 14.20), transmitida por la picadura de una garrapata. Las garrapatas que transportan *B. burgdorferi* se alimentan de la sangre de aves, de animales domésticos, de varios animales silvestres y de personas. *B. burgdorferi* también tiene interés fuera de la medicina al ser una de las pocas *Bacterias* con un cromosoma lineal en vez de circular (cromosomas no lineales se conocen en *Archaea*) (↻ Sección 4.3).

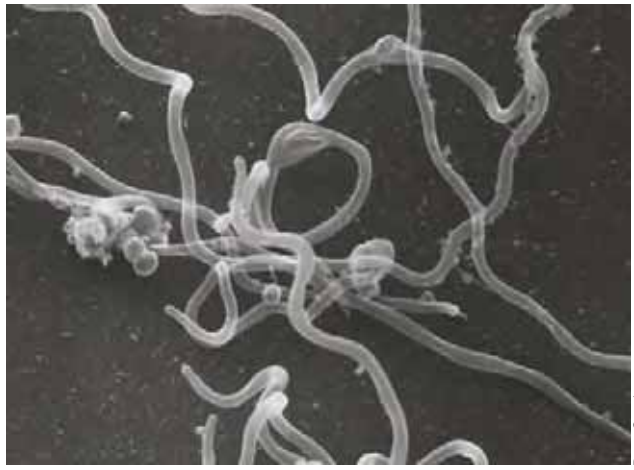

Dano Corwin

Figura 30.8 Imagen de microscopia electrónica de barrido de la espiroqueta causante de la enfermedad de Lyme, *Borrelia burgdorferi*. Cada célula tiene un diámetro aproximado de 0,4 μm.

Patología, diagnóstico y tratamiento de la enfermedad de Lyme

Las células de *B. burgdorferi* se transmiten a los humanos mientras la garrapata se está alimentando de sangre (**Figura 30.9*a***). Se desarrolla una infección sistémica que conduce a los síntomas agudos de la enfermedad de Lyme: cefalea, dolor de espalda, escalofríos y cansancio. En casi el 75 % de los casos, al cabo de una semana se forma una erupción circular concéntrica, o de «ojo de buey», en el lugar de la picadura (Figura 30.9*b, c*). Durante esta etapa aguda, la enfermedad de Lyme se trata con facilidad con tetraciclina o penicilina.

Los casos sin tratar pueden progresar a una fase crónica unas semanas o meses después de la picadura inicial, provocando artritis en casi la mitad de los infectados. También pueden aparecer complicaciones neuronales, como parálisis, debilidad en las extremidades y daño cardíaco. En los casos sin tratamiento, las células de *B. burgdorferi* que infectan el sistema nervioso central pueden permanecer latentes durante mucho tiempo


Pfizer Research

(a)


CDC/PHIL, James Gathany

(b)


Pfizer Research

(c)

Figura 30.9 Infección de la enfermedad de Lyme. *(a)* Transmisión desde una garrapata del ciervo que se está alimentando de sangre de una persona. *(b), (c)* Erupción típica de la enfermedad de Lyme, que comienza en el sitio de una picadura de garrapata y crece en círculos concéntricos *(b)* o en ojo de buey *(c)* durante varios días. Una erupción típica presenta un diámetro de unos 5 cm.

antes de ocasionar otros síntomas crónicos, entre ellos perturbaciones visuales y de los movimientos de los músculos faciales, o convulsiones. Resulta interesante que los síntomas de la enfermedad de Lyme crónica, en especial los síntomas neuronales, se parecen a los de la sífilis crónica, provocada por una espiroqueta diferente, *Treponema pallidum* (↻ Secciones 14.20 y 29.12). Sin embargo, a diferencia de la sífilis, la enfermedad de Lyme no se transmite de una persona a otra.

No se han identificado toxinas ni otros factores de virulencia importantes en la patogenia de la enfermedad de Lyme, pero el patógeno desencadena una respuesta inmunitaria intensa. Los anticuerpos contra *B. burgdorferi* aparecen de 4-6 semanas después de la infección y se pueden detectar con diferentes análisis inmunológicos. Sin embargo, como sigue habiendo anticuerpos contra los antígenos de *B. burgdorferi* muchos años después de la infección, su presencia no indica necesariamente una infección reciente. También se utiliza una prueba de PCR (↻ Sección 11.3) para detectar el DNA de *B. burgdorferi* en los líquidos y tejidos corporales. Sin embargo, en la práctica, la enfermedad de Lyme se diagnostica típicamente a partir de los síntomas clínicos y solo se confirma más tarde mediante pruebas bioquímicas. Si un paciente tiene los síntomas de la enfermedad de Lyme y otros problemas como tics faciales o artritis, o ha estado expuesto recientemente a garrapatas, o muestra la erupción característica de Lyme (Figura 30.9), se diagnostica provisionalmente la enfermedad de Lyme y se inicia el tratamiento con antibióticos.

La enfermedad de Lyme en una etapa temprana se suele tratar con doxiciclina o amoxicilina durante 20 o 30 días. A los pacientes con síntomas neuronales o cardíacos se les administra el antibiótico ceftriaxona por vía intravenosa porque este fármaco atraviesa la barrera hematoencefálica y puede así acabar con las espiroquetas del sistema nervioso central.

Epidemiología y prevención de la enfermedad de Lyme

Los ciervos y los ratones de pies blancos (*Peromyscus leucopus*) son los reservorios principales de *B. burgdorferi* entre los mamíferos del noreste de Estados Unidos, un foco importante de la infección (véase la Figura 30.11). Estos animales se infectan por la picadura de la garrapata del ciervo, *Ixodes scapularis* (**Figura 30.10**), aunque también la pueden transmitir otras garrapatas. La enfermedad de Lyme se ha identificado también en Europa y Asia. En esas regiones tanto la garrapata vector como la especie de *Borrelia* son diferentes a las de Estados Unidos, lo que demuestra que la enfermedad de Lyme tiene una amplia distribución geográfica. Pero en todos los casos está provocada por especies patógenas relacionadas de *Borrelia* transmitidas a los humanos por garrapatas.

La garrapata del ciervo es típicamente más pequeña que otras garrapatas, de modo que puede pasar desapercibida. Además, a diferencia de las que portan otras enfermedades transmitidas por garrapatas (Figura 30.4), un porcentaje muy alto de garrapatas del ciervo son portadoras de *B. burgdorferi*. Ambos factores (pequeñez del vector y alta incidencia del patógeno) contribuyen sin ninguna duda a que sea la enfermedad transmitida por vectores que se registra con más frecuencia en los Estados Unidos. La mayoría de los casos de la enfermedad de Lyme en los Estados Unidos se han descrito en el noreste y el medio oeste superior (regiones donde abundan los ciervos), pero se han observado casos en casi todos los estados (**Figura 30.11**). La incidencia de esta enfermedad en los Estados unidos es importante, con más de 30.000 casos registrados en 2011.

Como para cualquier infección transmitida por garrapatas, la prevención de la enfermedad de Lyme pasa por evitar entrar en contacto con el vector. Resultan útiles los repelentes de insectos con DEET o ponerse ropa ajustada, al igual que la exploración exhaustiva del propio cuerpo tras caminar por ambientes infestados de garrapatas. Existen hoy en día vacunas contra la enfermedad de Lyme para los animales domésticos, pero no para los humanos.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cuáles son los síntomas iniciales de la enfermedad de Lyme?
- ¿Dónde es más prevalente la enfermedad de Lyme en los Estados Unidos?
- Describa los métodos para prevenir la infección por *Borrelia burgdorferi*.



Figura 30.10 Garrapatas del ciervo, el principal vector de la enfermedad de Lyme. De izquierda a derecha, garrapatas adultas macho y hembra, ninfa y forma larvaria. Una hembra adulta mide unos 3 mm de largo. Aunque todas las formas se alimentan de los humanos, las hembras (tanto ninfas como adultas) son las principales responsables de transmitir *Borrelia burgdorferi*.

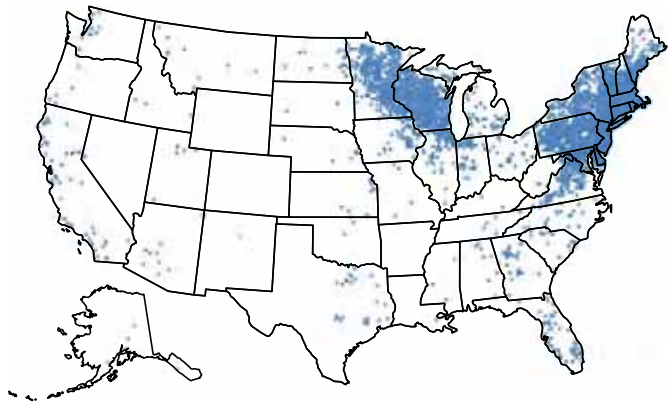


Figura 30.11 Enfermedad de Lyme en los Estados Unidos, 2011. Cada punto representa un caso confirmado. Entre los confirmados y los probables suman más de 36.000 casos, de los que un 96 % se localizan en 13 estados de las regiones superiores del medio oeste y la costa este. La enfermedad de Lyme la notifica el sistema nacional de seguimiento de enfermedades de declaración obligatoria de los centros para el control y la prevención de enfermedades de Atlanta, Georgia, Estados Unidos.

30.5 Fiebre amarilla y dengue

Los flavivirus son responsables de varias enfermedades transmitidas por artrópodos. Se trata de virus con RNA monocatenario de sentido positivo (↔ Sección 9.8) que se transmiten por la picadura de un artrópodo infectado. Debido a este modo característico de transmisión, dichos virus también se llaman *arbovirus* (por su nombre en inglés *ar*thropod-*bo*rne viruses).

Los arbovirus provocan muchas enfermedades humanas graves, entre ellas varios tipos de encefalitis y fiebres hemorrágicas. Aquí tratamos dos enfermedades por flavivirus potencialmente mortales que siguen siendo frecuentes en los países en vías de desarrollo: la fiebre amarilla y el dengue. Ambos virus los transmite el mismo vector, mosquitos infectados del género *Aedes* (**Figura 30.12**), y algunos de los síntomas son similares en ambas enfermedades.

Fiebre amarilla

La fiebre amarilla es una enfermedad endémica de los climas tropicales y subtropicales, en especial de Sudamérica y África. La mayor incidencia se registra en Brasil, Colombia, Venezuela y partes de Bolivia y Perú, junto con la mayoría de países del África central subsahariana. En los Estados Unidos no se da esta enfermedad, excepto en las personas sin vacunar que la contraen al viajar a una área endémica. El virus de la fiebre amarilla está relacionado con el virus del dengue (véase más adelante), el virus del Nilo Occidental (Sección 30.6) y algunos virus de encefalitis. La fiebre amarilla pertenece a un pequeño grupo de enfermedades infecciosas para las que se practica el aislamiento y la cuarentena (↔ Sección 28.5). Aunque la fiebre amarilla no se transmite de una persona a otra, el aislamiento de los casos activos impide que los mosquitos locales se alimenten con sangre del individuo infectado y transmitan la enfermedad a otros.

Tras la picadura de un mosquito infectado, el virus de la fiebre amarilla se replica en los ganglios linfáticos y en algunas células del sistema inmunitario, para luego desplazarse al hígado. Una vez infectada la persona, los síntomas oscilan entre ninguno y un fallo orgánico importante y la muerte. La mayoría de individuos infectados muestran una ligera fiebre con escalofríos, cefalea y dolor de espalda, náuseas y otros síntomas que no son útiles para el diagnóstico. Supuestamente son casos en los que el sistema inmunitario tiene la infección bajo control. Sin embargo, aproximadamente en uno de cada cinco casos de fiebre amarilla, la enfermedad entra en la fase tóxica, que se caracteriza por ictericia (de ahí el nombre *fiebre amarilla*) y por hemorragias orales, oculares y del tubo digestivo. Esto desencadena ataques de vómitos sangrientos y, si la hemorragia continúa, choque tóxico y fallo multiorgánico. Alrededor de un 20 % de los casos que alcanzan esta etapa resultan mortales. Los humanos y los primates no humanos son el principal reservorio del virus de la fiebre amarilla.

Existe una vacuna eficaz contra la fiebre amarilla que aporta protección total. En la década de 1930 se desarrolló una vacuna contra la fiebre amarilla que se administró al personal militar y de apoyo en los campos de batalla tropicales. Antiguamente, la enfermedad se controlaba mediante una combinación de vacunación y eliminación tanto de la población del vector (mosquito) con sustancias químicas como por desecación de los suelos donde viven los vectores mediante el drenaje de los pantanos y los humedales someros en las áreas endémicas.

La vacuna contra la fiebre amarilla está altamente recomendada para los que viajan a las áreas endémicas, y muchos países piden un certificado de vacunación a los que llegan procedentes de un país extranjero donde la fiebre amarilla es endémica. Además, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha iniciado un programa de vacunación en masa en África. A pesar de contar con una vacuna, la OMS estima que cada año se producen unos 200.000 casos de fiebre amarilla, la mayoría sin registrar, y que un 15 % de ellos son mortales. No se conoce ningún tratamiento contra la fiebre amarilla. Sin embargo, una vez diagnosticada la enfermedad, normalmente por detección de anticuerpos contra el virus en una muestra de sangre, se aísla al paciente y se le prescriben reposo y fármacos para controlar los síntomas. La recuperación sin entrar en la etapa de la toxemia se debe a la respuesta inmunitaria.

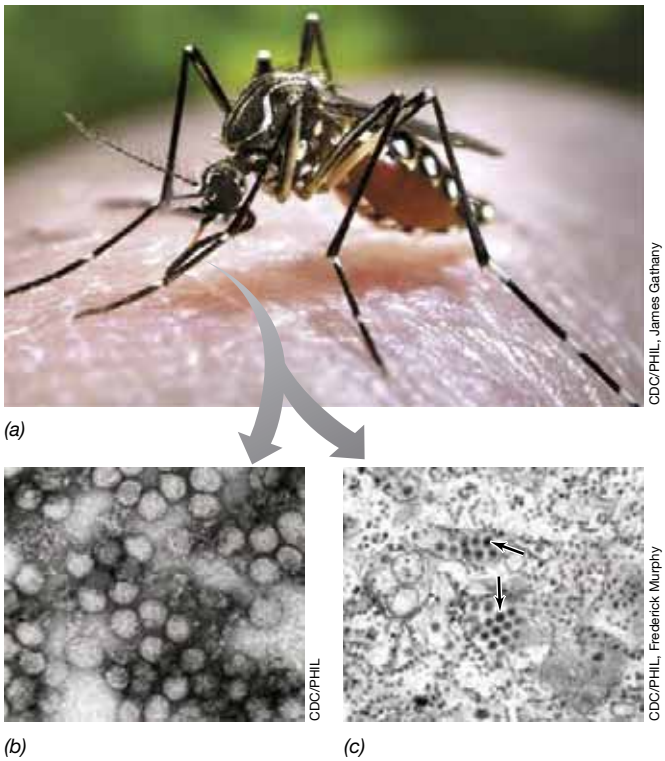


Figura 30.12 Fiebre amarilla y dengue. *(a)* Los virus de la fiebre amarilla y del dengue se transmiten mediante la picadura de un mosquito *Aedes aegypti* infectado. Imágenes de microscopia electrónica de transmisión de *(b)* virus de la fiebre amarilla y *(c)* virus del dengue (flechas, en una muestra de tejido). Ambos virus tienen un diámetro de unos 50 nm y son virus de RNA de sentido positivo que se replican mediante la formación de poliproteínas, como los poliovirus (↔ Figura 9.16).

Dengue

Al igual que la fiebre amarilla, el dengue se transmite por los mosquitos del género *Aedes* (Figura 30.12) y es una enfermedad de regiones tropicales y subtropicales. Se estima que, a escala mundial, se producen 100 millones de casos de dengue al año, sobre todo en México, Sudamérica, India, Indonesia y África (↔ Figura 28.11).

El dengue comienza con una fiebre alta y cefalea o dolores articulares y, en algunos pacientes, dolor ocular grave y una erupción sistémica. La mayoría de los infectados mejoran por sí

solos en una semana y no presentarán más síntomas, presumiblemente debido a la respuesta inmunitaria contra el virus del dengue. Pero, como sucede con la fiebre amarilla, la infección de dengue puede tomar un curso de acontecimientos más grave y acabar en un *dengue hemorrágico*. Esta afección se caracteriza por unos síntomas graves que incluyen hemorragia nasal y de las encías, vómitos y/o heces con sangre, dolor abdominal intenso, dificultad respiratoria y una sensación general de malestar. La tensión arterial de un paciente con dengue puede disminuir drásticamente durante la etapa de la fiebre hemorrágica, y un pequeño porcentaje de estos casos son mortales. El tratamiento contra el dengue consiste principalmente en aliviar los síntomas, sobre todo la deshidratación por la pérdida de sangre y de otros líquidos. A diferencia de la fiebre amarilla, no existe una vacuna eficaz contra el dengue y, por tanto, el único tratamiento eficaz pasa por el reposo y el alivio de los síntomas, incluso en los casos de dengue hemorrágico.

El dengue se puede evitar si se elimina el vector o bien el contacto con el vector. En los centros urbanos del sur de los Estados Unidos se fumigó exhaustivamente con insecticidas para erradicar los mosquitos y se mantuvo a raya el dengue durante el siglo xx. Sin embargo, hoy en día, los programas de fumigación son menos frecuentes y el cambio climático global está desplazando los patrones tropicales de temperatura hacia el norte. Como respuesta, el mosquito *Aedes* se ha atrincherado en el sur y el centro de los Estados Unidos. Además de *Aedes aegypti* (Figura 30.12), el mosquito tigre asiático (*Aedes albopictus*), que se está extendiendo con rapidez por el país, también es portador del virus del dengue. El drenaje de los charcos, como los que se crean en los neumáticos desechados u otros colectores de agua, elimina los lugares de cría de los mosquitos y reduce enormemente las posibilidades de un brote de dengue. La protección personal contra las picaduras de mosquito mediante repelentes eficaces y ropa adecuada también constituyen una forma segura de evitar la infección.

La OMS estima que se producen al año casi medio millón de casos de dengue, de los que unos 22.000 son mortales. En los Estados Unidos los casos de dengue son raros, y prácticamente todos los que se producen vienen importados de áreas endémicas. El dengue es un claro ejemplo de *enfermedad emergente* (↔ Sección 28.7), ya que los casos estaban restringidos geográficamente hasta mediados del siglo xx, cuando se cree que el comercio global diseminó las especies de mosquitos *Aedes* más allá de su área de distribución original.

MINIRREVISIÓN

- Identifique el vector y el reservorio para los virus de la fiebre amarilla y del dengue.
- Compare los procedimientos para prevenir la infección de la fiebre amarilla y del dengue.

30.6 La fiebre del Nilo occidental

El virus del Nilo Occidental (WNV, del inglés *West Nile virus*) causa la **fiebre del Nilo Occidental**, una enfermedad vírica humana que se transmite por la picadura de un mosquito y que, por tanto, es una enfermedad estacional. El WNV es un flavivirus, como los de la fiebre amarilla y del dengue (Sección 30.5) y tiene una cápsida con envuelta (**Figura 30.13*b***) que contiene un genoma de RNA monocatenario de sentido positivo (↔ Sección 9.8). El virus invade el sistema nervioso de sus hospedadores homeotermos, entre los que están algunas especies tanto de aves como de mamíferos.

Transmisión y patología del WNV

El WNV provoca la enfermedad activa en más de 100 especies de aves y se transmite a los hospedadores por la picadura de un mosquito infectado. Más de 40 especies de mosquitos pueden llevar el virus, entre ellas las del género *Culex* (Figura 30.13*a*), muy frecuente en el centro y este de los Estados Unidos, y en los núcleos urbanos a lo largo del país. Las aves infectadas sufren una infección vírica sistémica (viremia) que suele ser mortal. Los mosquitos que se alimentan de las sangre de aves con viremia acaban infectados y entonces pueden infectar a otras aves vulnerables, lo que renueva el ciclo. A diferencia de las aves, los humanos y otros animales son hospedadores terminales porque no desarrollan la viremia necesaria para infectar los mosquitos.

La tasa de mortalidad para la infección del WNV depende de la especie. Por ejemplo, para los humanos es del 4 %, mientras que para los caballos es significativamente más alta, casi del 40 %. La mayoría de infecciones humanas no se notifican por ser asintomáticas o leves. Después de un período de incubación de 3 a 14 días, cerca del 20 % de los infectados desarrollan la fiebre del Nilo Occidental, una enfermedad leve que dura de 3-6 días. La fiebre puede ir acompañada de cefalea, náuseas, mialgia, erupción, linfadenopatía (inflamación de los



CDC/PHIL, W. Brogdon, J. Gathany

(a)



CDC/PHIL, Cynthia Goldsmith

(b)

Figura 30.13 Virus del Nilo Occidental. *(a)* El mosquito *Culex quinquefasciatus*, que se muestra aquí succionando sangre humana, es un vector del virus del Nilo Occidental. *(b)* Imagen de microscopia electrónica del virus del Nilo Occidental. El virión icosaédrico tiene un diámetro de unos 40-60 nm.

ganglios linfáticos) y malestar general. Menos del 1 % de los individuos infectados manifiestan enfermedades neurológicas graves, como la *encefalitis del Nilo Occidental* o la *meningitis del Nilo Occidental* a partir de la replicación vírica en los tejidos neurales (**Figura 30.14**). Son más frecuentes en los adultos de más de 50 años y los efectos neurológicos pueden ser permanentes. Cerca del 5 % de los casos de la enfermedad que progresan a estas formas acaban siendo mortales. El diagnóstico de la enfermedad del WNV incluye la evaluación de los síntomas clínicos y la posterior confirmación con pruebas inmunológicas que detecten los anticuerpos contra el WNV en la sangre.

Control y epidemiología del WNV

La enfermedad del WNV en los humanos se identificó por primera vez en la región del Nilo occidental de África en 1937 y se extendió desde ahí hasta Egipto e Israel. En la década de los noventa hubo brotes del WNV en caballos, aves y humanos en los países europeos y africanos. En 1999 se describieron los primeros casos en el noreste de los Estados Unidos, alrededor de Nueva York. En tres años, esta enfermedad emergente había saltado desde la costa este al medio oeste, con un pico de casos registrados en Illinois, y un total de 4.156 casos a escala nacional. Poco después, la enfermedad se desplazó aún más al oeste y, en 2012, la mayoría de los 5.674 casos registrados se produjeron en las regiones del centro y del centro sur de los Estados Unidos y California (**Figura 30.15**). La encefalitis del Nilo Occidental es, hoy en día, enzoótica en la población de aves de los Estados Unidos, pero de poca incidencia en la población humana, su hospedador accidental.

Las medidas de control de la enfermedad del WNV son, en buena medida, las mismas que para otras enfermedades transmitidas por vectores: limitar la exposición a los mosquitos mediante repelentes de insectos o ropa muy ajustada. La fumigación de los mosquitos resulta poco eficaz, pero la retirada de las zonas de cría, en particular las charcas de agua estancada, sí que resulta útil para controlar su población. En los caballos se usa una vacuna veterinaria del WNV porque su tasa de mortalidad así lo exige, pero no se dispone de ninguna vacuna para las personas.

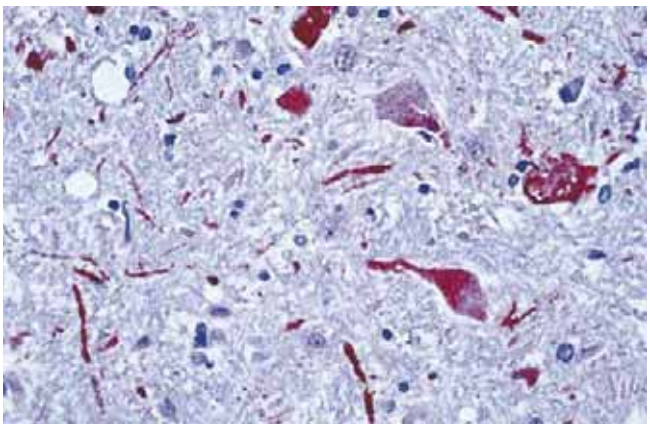


Figura 30.14 Encefalitis del Nilo Occidental. Corte del encéfalo de una víctima de la encefalitis del Nilo Occidental. Las áreas rojas del tejido son neuronas que contienen el virus detectado con una técnica de inmunotinción.

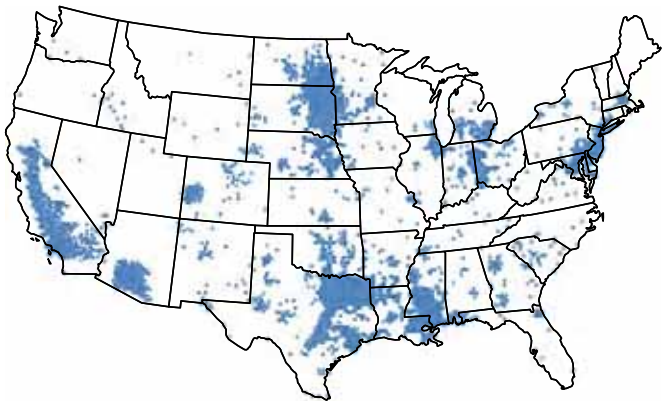


Figura 30.15 La encefalitis del Nilo Occidental en los Estados Unidos, 2012. El virus provocó 5.674 casos de enfermedad en humanos y 286 muertes. Hoy en día se considera que el virus del Nilo Occidental es endémico en los mosquitos y las aves por todos los Estados Unidos. Los datos proceden de los centros para el control y la prevención de enfermedades en Atlanta, Georgia, Estados Unidos.

MINIRREVISIÓN

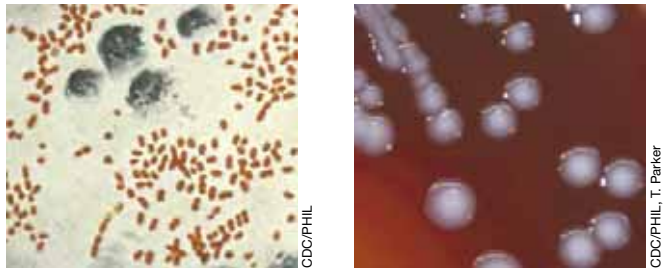
- Identifique el vector y el reservorio para el virus del Nilo Occidental.
- Describa la evolución del virus del Nilo Occidental en los Estados Unidos desde 1999.

30.7 Peste

La **peste** ha matado a más personas que ninguna otra enfermedad infecciosa, salvo la malaria y la tuberculosis (↔ Capítulo 1, Explore el mundo microbiano, «La muerte negra, descodificada»). Se trata inicialmente de una zoonosis de roedores silvestres, pero los humanos podemos convertirnos en hospedadores accidentales cuando la población de roedores sufre una drástica reducción. La peste está provocada por *Yersinia pestis*, una bacteria entérica gramnegativa, aerobia facultativa, con forma de bacilo y encapsulada (↔ Sección 15.3), que crece con facilidad en los cultivos de laboratorio (**Figura 30.16**).

Patología y tratamiento de la peste

La patogenia de la peste no se conoce del todo, pero las células de *Y. pestis* producen varios factores de virulencia que



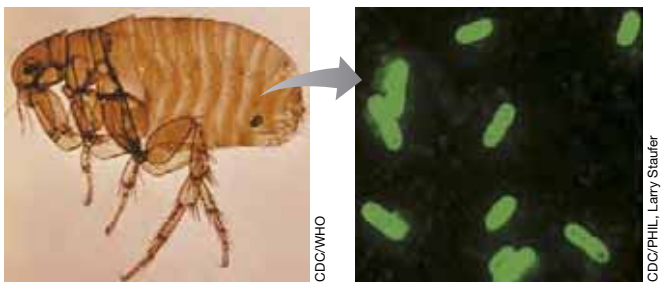
(a) (b)

Figura 30.16 *Yersinia pestis*. *(a)* Frotis de sangre con células de *Y. pestis* (rojo) y unos pocos leucocitos. Las células bacterianas tienen un diámetro de unos 0,8 µm. *(b)* Colonias de *Y. pestis* cultivadas en agar sangre.

contribuyen al proceso de la enfermedad. Los antígenos V y W de la pared celular de *Y. pestis* son complejos de proteínas y lipoproteínas que inhiben la fagocitosis por parte de las células inmunitarias. Las cepas virulentas de *Y. pestis* producen *toxina murina*, una exotoxina mortal para los ratones. Se trata de un inhibidor respiratorio que causa un choque sistémico, daños en el hígado y dificultades respiratorias en los ratones. Es probable que esta toxina también desempeñe algún papel en la peste humana, porque estos síntomas son comunes en los pacientes con la peste. *Y. pestis* produce otra endotoxina muy inmunógena que también podría intervenir en el proceso de la enfermedad.

La peste se manifiesta de varias formas (véase la Figura 30.19). La *peste selvática* es enzoótica entre los roedores silvestres y se transmite a través de distintas especies de pulgas, siendo una de las principales *Xenopsylla cheopis*, la pulga de la rata (**Figura 30.17*a***). Las pulgas ingieren células de *Y. pestis* al alimentarse de sangre y la bacteria se le multiplica en su intestino. Desde aquí, la pulga infectada transmite la enfermedad a los roedores o a las personas en la siguiente picadura. La forma más corriente de peste en los humanos es la *peste bubónica*. En este caso, las células de *Y. pestis* llegan a los ganglios linfáticos, donde se replican y provocan la inflamación. Los ganglios linfáticos regionales claramente inflamados se denominan *bubones* y la enfermedad recibe su nombre de estas estructuras (**Figura 30.18*a***). Los bubones se llenan de células de *Y. pestis* y la cápsula de la bacteria bloquea su fagocitosis y destrucción por parte de las células del sistema inmunitario. Se forman bubones secundarios en los ganglios linfáticos periféricos, y las células finalmente entran en el torrente circulatorio, lo que origina una septicemia. Las numerosas hemorragias locales producen manchas oscuras en la piel, lo que da a la peste su histórico nombre de «Muerte Negra» (Figura 30.18*b*). Si no se trata la infección con rapidez, los síntomas de la peste (inflamación de los ganglios linfáticos y dolor, postración, choque y delirio) van en aumento y ocasionan la muerte en unos 3-5 días.

La *peste pulmonar* o *peste neumónica*, se produce cuando las células de *Y. pestis* se inhalan directamente o llegan a los pulmones a través de la circulación sanguínea o linfática. Los síntomas importantes no suelen aparecer hasta el último o los dos



(a) (b)

Figura 30.17 La pulga de la rata, el principal vector de la peste. *(a)* La pulga de la rata, *Xenopsylla cheopis*, es portadora de células de *Yersinia pestis*. La bacteria se replica en el intestino de la pulga y *(b)* las células de *Y. pestis* se transmiten a un hospedador por la picadura. Fue el principal vector para las pandemias de peste que asolaron la Europa medieval en el siglo XIV. Las células en la parte (b) se tiñeron con un anticuerpo fluorescente preparado contra los antígenos de la superficie celular de *Y. pestis*.



(a) (b)

Figura 30.18 La peste en los humanos. *(a)* Bubón formado en la ingle. *(b)* Gangrena y piel esfacelada de la mano de una víctima de la peste. La peste humana se puede manifestar de tres formas diferentes: bubónica, pulmonar y septicémica (véase la Figura 30.19).

últimos días de la enfermedad, cuando se producen esputos sangrientos en gran cantidad. Casi el 90 % de los casos sin tratamiento mueren en menos de 48 h. Además, la peste pulmonar es muy contagiosa y se propaga con rapidez de una persona a otra si los infectados no se aíslan inmediatamente. La *peste septicémica* consiste en la diseminación rápida de *Y. pestis* por todo el cuerpo a través del torrente circulatorio, sin la formación de bubones. Es tan grave que suele provocar la muerte antes de que se pueda diagnosticar.

La peste bubónica se puede tratar con éxito con inyecciones de estreptomicina o gentamicina. Otra opción es la administración intravenosa de doxiciclina, ciprofloxacino o cloranfenicol. Si el tratamiento se comienza pronto, la mortalidad de la peste bubónica se puede reducir a menos del 5 %. La peste pulmonar y la septicémica también se pueden tratar, pero estas formas progresan con tanta rapidez que el tratamiento con antibióticos, incluso si se comienza cuando aparecen los primeros síntomas, suele llegar demasiado tarde. *Y. pestis* es un organismo que se podría utilizar para un ataque bioterrorista (↩ Sección 28.8), en cuyo caso se recomienda el tratamiento con doxiciclina y ciprofloxacino.

Epidemiología y control de la peste

La peste selvática es enzoótica en muchos roedores, como las ardillas terrestres, los perritos de las praderas, las ardillas listadas y los ratones; las ratas son los hospedadores primarios en las comunidades urbanas y eran típicamente los hospedadores en los episodios de peste selvática que desencadenaron las pandemias humanas durante la Edad Media. Las pulgas son hospedadores y vectores intermedios para la peste, y propagan la enfermedad entre los hospedadores roedores y humanos (**Figura 30.19**). La mayoría de las ratas infectadas u otros roedores mueren pronto en cuanto aparecen los síntomas, pero una pequeña proporción de supervivientes desarrolla una infección crónica, lo que proporciona un reservorio persistente de células de *Y. pestis* del que se abastecen los nuevos brotes.

La peste es endémica en los países en vías de desarrollo de África, Asia, América y el centro y sur de Eurasia; la mayoría de casos se dan en el África subsahariana. La peste pandémica estaba relacionada históricamente con entornos insalubres, un factor importante para que aparezcan grandes poblaciones de

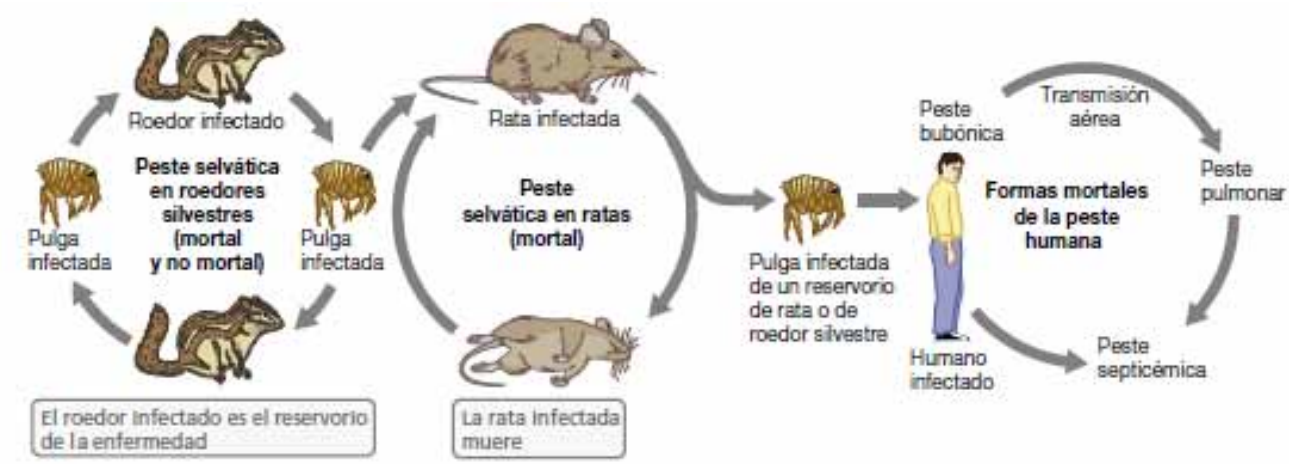


Figura 30.19 **Epidemiología de la peste.** En algunos roedores silvestres, la peste selvática solo provoca una infección leve, pero los animales enfermos siguen siendo un reservorio de *Yersinia pestis*. La peste a menudo resulta mortal en los roedores como las ratas, que actúan como hospedadores diseminadores, y en los humanos. Cuando el reservorio de roedores domésticos desaparece por una epidemia, las pulgas infectadas buscan hospedadores alternativos en los humanos.

ratas. En las áreas rurales poco pobladas no presenta tanto problema, porque la enfermedad sigue su curso cuando disminuye la población de roedores, dejando una escasez de hospedadores. Pero en los núcleos urbanos donde hay muchos hospedadores alternativos (humanos), un brote de peste selvática puede suponer la primera etapa de una epidemia de peste humana. En los Estados Unidos solo se diagnostican unos pocos casos de peste al año, la mayoría en los estados del suroeste, donde la peste selvática es enzoótica entre los roedores silvestres (Figura 30.19).

El control de la peste se lleva a cabo mediante buenas prácticas de higiene, la vigilancia y el control de los reservorios de los roedores y de los vectores (pulgas), el aislamiento de los casos activos, y la imposición de una cuarentena para los que hayan estado en contacto con personas enfermas. Las mejores prácticas de salud pública y el control de las poblaciones de roedores son las principales razones de que los brotes de peste sean muy escasos en los países desarrollados.

MINIRREVISIÓN

- Distinga entre la peste selvática, bubónica, septicémica y pulmonar.
- ¿Cuáles son el insecto vector, el reservorio natural y el tratamiento de la peste?

III • Enfermedades bacterianas transmitidas por el suelo

30.8 Carbunco

Algunas enfermedades humanas tienen su origen en microorganismos cuyo hábitat principal es el suelo, y el carbunco (también llamado ántrax maligno) es un magnífico ejemplo. Se trataron algunos aspectos de esta enfermedad en la Sección 28.8 en el contexto de su uso como potencial arma biológica y de bioterrorismo. Aquí nos centramos más en la biología del microorganismo y el proceso de la enfermedad.

Descubrimiento y propiedades del carbunco

El famoso pionero de la microbiología médica Robert Koch (↻ Sección 1.8) fue el primero que aisló el agente causal del carbunco, la bacteria formadora de endosporas *Bacillus anthracis* (**Figura 30.20*a***). Utilizando ratones silvestres como animales experimentales, Koch usó el carbunco para desarrollar sus principios que relacionan la causa y el efecto en la enfermedad infecciosa (los postulados de Koch) (↻ Figura 1.20). El carbunco provoca la muerte de los ratones con rapidez, pero en las personas puede adoptar varias formas diferentes, desde infecciones cutáneas leves o graves, hasta insuficiencia respiratoria y muerte.



(a) *(b)*

Figura 30.20 ***Bacillus anthracis.*** El patógeno del carbunco produce endosporas. *(a)* Imagen de microscopia óptica de la tinción con verde malaquita de un frotis de células de *B. anthracis* que muestran las endosporas de color azul verdoso. *(b)* Imagen coloreada de microscopio electrónico de barrido de las endosporas de *B. anthracis*. Las células de *B. anthracis* miden aproximadamente 1,2 µm de diámetro.

El carbunco es una enfermedad enzoótica de distribución mundial. *B. anthracis* vive como saprófito en el suelo, creciendo como quimiorganótrofo aerobio y formando endosporas (Figura 30.20*b*) cuando las condiciones así lo requieren. Desde el suelo, las células o esporas de *B. anthracis* se pueden adherir

al pelo, la piel u otros materiales animales, o se pueden ingerir, y entonces la enfermedad desarrollarse, permitiendo que las esporas de *B. anthracis* se transmitan a las personas. El carbunco se da sobre todo en los animales de granja domesticados, en particular vacas, ovejas y cabras, y desde ellos se transmite a los humanos.

Formas del carbunco humano

El carbunco se puede manifestar en una de estas tres formas: cutánea (en la piel), intestinal y pulmonar (carbunco por inhalación). En todas las formas, los síntomas de la enfermedad se deben a una serie de toxinas cuyo modo de acción se explicó cuando tratamos el carbunco como agente de bioterrorismo en la Sección 28.8. Las diferentes formas del carbunco muestran una gravedad creciente que depende principalmente del lugar del cuerpo en el que se excretan estas toxinas. La inusual cápsula proteica que rodea las células de *B. anthracis* (**Figura 30.21*a***) es también un factor de virulencia importante, ya que impide que los macrófagos destruyan la bacteria después de ingerirla. En su lugar, las células de *B. anthracis* crecen dentro del macrófago, al que acaban destruyendo para acceder al torrente circulatorio.

Casi todos los casos de carbunco humano son de *carbunco cutáneo*, en el que las esporas de *B. anthracis* entran por una lesión en la piel, germinan y acaban formando una pústula negra e inflamada que no duele (Figura 30.21*b*); esto en muy característico de la enfermedad y permite el diagnóstico seguro incluso a pesar de que se ve solo en contadas ocasiones en la medicina clínica. En el carbunco cutáneo, la bacteria suele permanecer localizada y la enfermedad se puede tratar con facilidad. Aunque el carbunco cutáneo es mortal para un 20 % de los que no reciben tratamiento, la mayoría de casos se tratan gracias a que los síntomas son manifiestos, por lo que los fallecimientos son raros. El *carbunco intestinal* es muy poco frecuente y se debe a la ingestión de esporas de *B. anthracis* (Figura 30.20*b*) con la carne poco hecha de animales enfermos. Los síntomas de la carbunco intestinal incluyen dolor abdominal, diarrea con sangre y lesiones parecidas a úlceras por todo el tubo digestivo. En esta etapa sigue siendo tratable, pero debido a su infrecuencia, es fácil que no se diagnostique bien. Como resultado, casi la mitad de los casos de carbunco intestinal resultan mortales.

El *carbunco pulmonar* es la forma más grave de la enfermedad y resulta mortal en casi todos los casos (Figura 30.21*c, d*). Se produce a partir de la inhalación de endosporas de *B. anthracis* y, junto con el carbunco cutáneo, es un riesgo laboral para los trabajadores agrícolas que procesan lana y pieles (el carbunco pulmonar también se conoce como «enfermedad del esquilador»). En el carbunco pulmonar, el microorganismo entra en el torrente circulatorio desde el polvo inhalado o las descamaciones cutáneas de los animales, y se multiplica para volverse sistémico. La toxemia galopante derivada de este crecimiento desbocado de *B. anthracis* desencadena el choque septicémico y la acumulación de líquido en los pulmones (Figura 30.21*c*), lo que puede acabar con la vida de un paciente en menos de un día.

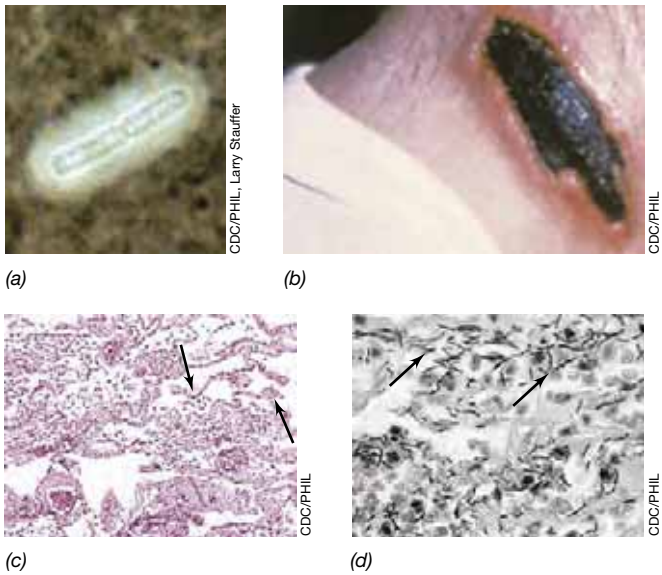


Figura 30.21 Patología del carbunco. *(a)* La cápsula proteica de las células de *Bacillus anthracis* constituye un factor de virulencia importante porque impide que los macrófagos las destruyan. *(b)* El carbunco cutáneo, con su típico aspecto de costra negra, en el cuello de un paciente. *(c, d)* Carbunco pulmonar. *(c)* El pulmón se llena de células bacterianas (flechas) y líquido (zonas vacías). *(d)* A partir de la infección sistémica, las células de *B. anthracis* se pueden encontrar casi en cualquier parte, incluido el revestimiento del sistema nervioso central (flechas).

Prevención y vacunas

El carbunco no se puede prevenir completamente porque el reservorio del microorganismo es el suelo. Sin embargo, se puede evitar limitando la exposición directa a los animales de granja y es fácil tratarlo con antibióticos. Para la forma cutánea este es el tratamiento rutinario, pero la terapia con antibióticos es menos eficaz contra la carbunco intestinal y especialmente contra la carbunco pulmonar. Cuando se consigue diagnosticar esta última, la enfermedad ha progresado hasta un punto en el que suele ser demasiado tarde para salvar al paciente. Existe una vacuna contra el carbunco, pero como la enfermedad es tan poco frecuente, solo se recomienda a las personas de alto riesgo, como los científicos que trabajan con el microorganismo, los ganaderos o los trabajadores de mataderos, y el personal militar (por razones bioarmamentísticas). También existe una vacuna eficaz y barata contra el carbunco con la que vacunar al ganado, sobre todo vacas, ovejas, cabras y caballos.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cuáles son los principales factores de virulencia de *Bacillus anthracis*?
- ¿Cuáles son las tres formas del carbunco y cuál es la más peligrosa?

30.9 Tétanos y gangrena gaseosa

El *tétanos* es una enfermedad grave que puede provocar la muerte. Aunque se puede prevenir por inmunización, todavía ocasiona más de 150.000 muertes al año, principalmente en los países de África y el sureste asiático. La *gangrena gaseosa* se debe a bacterias relacionadas con el patógeno del tétanos que crecen en los tejidos muertos, lo que conduce a una putrefacción gaseosa y a la pérdida de una extremidad infectada o la muerte por choque sistémico. Ambas enfermedades las provocan clostridios.

Biología y epidemiología del tétanos

El **tétanos** lo causa una exotoxina producida por *Clostridium tetani*, un bacilo anaerobio estricto que forma endosporas (Figura 30.22*a*; ↔ Sección 15.7). El reservorio natural de *C. tetani* es el suelo, donde es un residente ubicuo, aunque de vez en cuando aparece en el intestino de humanos sanos, como ocurre con otras especies de *Clostridium*.

Las células de *C. tetani* suelen entrar en el cuerpo a través de una herida contaminada por el suelo, generalmente un pinchazo profundo. En la herida se dan condiciones anóxicas alrededor del tejido muerto que permiten la germinación de las endosporas, el crecimiento del organismo y la producción de una potente exotoxina, la *toxina tetánica*. Esencialmente, *C. tetani* no es invasivo; su única manera de provocar una enfermedad es mediante la toxemia, y por eso se da solo como el resultado de lesiones tisulares profundas sin tratamiento. Los síntomas del tétanos tardan en aparecer de cuatro días a varias semanas, según el número de endosporas inoculadas en la herida.

Patogenia del tétanos

Ya hemos examinado la actividad de la toxina tetánica a nivel celular y molecular (↔ Sección 23.9). La toxina afecta directamente a la liberación de neurotransmisores inhibidores en el sistema nervioso. Estos neurotransmisores controlan la fase de «relajación» de la contracción muscular, por lo que su ausencia provoca una parálisis rígida de la musculatura voluntaria que suele empezar por los músculos de la mandíbula y de la cara, y por eso recibe el nombre de *trismo*. Antes del propio trismo, los síntomas del tétanos suelen incluir espasmos ligeros de los músculos faciales y de los músculos del cuello y la espalda. Después la parálisis se extiende al torso y a la parte inferior del cuerpo (Figura 30.22*b*). Cuando el tétanos resulta fatal, la muerte suele deberse a una insuficiencia respiratoria. La mortalidad es relativamente alta, en cerca del 10 % de los casos registrados y hasta el 50 % de los casos en los que el tratamiento se retrasa hasta que el tétanos ha colonizado todo el cuerpo.

Diagnóstico, control, prevención y tratamiento del tétanos

El diagnóstico del tétanos se basa en la exposición, los síntomas clínicos (Figura 30.22*b*) y, en raras ocasiones, en la identificación de la toxina en la sangre o en los tejidos del paciente. El reservorio natural de *C. tetani* es el suelo, con lo que las medidas de control se deben centrar en la prevención de la enfermedad en vez de en la eliminación del patógeno. La vacuna antitetánica es muy eficaz y, por tanto, casi todos los casos de tétanos se producen en las personas que no estaban bien inmunizadas.

Una segunda línea en la protección contra el tétanos consiste en prestar una atención médica adecuada en los casos de los cortes, laceraciones y punciones graves. Incluso aunque la vacunación contra el tétanos sea una práctica habitual, hay que limpiar a fondo cualquier herida grave y retirar el tejido dañado. Si no se sabe si la persona está vacunada contra el tétanos o si la última dosis de refuerzo del tétanos se administró hace más de 10 años, se recomienda la revacunación. Si una herida profunda es grave o ha quedado muy contaminada con suelo, el tratamiento podría también incluir la administración de una preparación antitetánica (antitoxina), en especial si se desconoce el estado de inmunización del paciente o no está actualizado.

El tétanos sintomático agudo (Figura 30.22*b*) se trata con antibióticos, normalmente penicilina, para detener el crecimiento y la producción de la toxina por parte de *C. tetani*, y se inyecta la antitoxina por vía intramuscular (o en la vaina que rodea la médula espinal, si fuera necesario) para impedir que la nueva toxina liberada se una a las células. Para controlar los efectos de la parálisis, podría necesitarse un tratamiento complementario, como la sedación, la administración de relajantes musculares y la respiración mecánica. El tratamiento no puede revertir los síntomas con rapidez porque no se puede neutralizar la toxina que se encuentra unida a los tejidos. Incluso con la administración de antitoxina, antibióticos y tratamiento complementario, los pacientes con tétanos tienen una mortalidad y morbilidad significativas. La recuperación completa del tétanos a menudo tarda muchos meses.

Gangrena gaseosa

La destrucción de tejido debido al crecimiento de clostridios proteolíticos que producen gas se denomina **gangrena gaseosa**. En esta afección, potencialmente mortal, los aminoácidos procedentes de la degradación de las proteínas musculares fermentan hasta convertirse en H_2 y CO_2 además de otros varios compuestos orgánicos pestilentes, como los ácidos grasos de cadena corta y otras moléculas fétidas; el amoníaco liberado durante la fermentación de los aminoácidos (↔ Sección 13.13) también se suma al hedor. Además, se producen una serie de toxinas bacterianas que aceleran la destrucción del tejido.

Aunque *C. tetani* es una especie de *Clostridium* proteolítica, no causa gangrena, aunque puede estar relacionada con casos de gangrena favorecidos por una herida profunda del tejido. Los causantes más habituales de gangrena son *Clostridium perfringens* (Figura 30.23*a*), que es también un causante habitual de enfermedades transmitidas por los alimentos que no están relacionadas con la gangrena, *C. novyi* y *C. septicum*. Estos organismos viven en el suelo y también forman parte de la microbiota intestinal normal de los humanos. Cuando estas especies penetran en los tejidos, típicamente por una invasión traumática, como una herida de guerra u otra herida por punción, o, de vez en cuando, por una cirugía gastrointestinal, las esporas y las células vegetativas de los clostridios proteolíticos se insertan en lo que ahora son tejidos muertos. A medida que crecen, las bacterias liberan enzimas que destruyen el colágeno y las



(a) (b)

Figura 30.22 **Tétanos.** *(a)* Células *Clostridium tetani* en esporulación con el aspecto de «baqueta» con sus endosporas terminales. Las células de *C. tetani* tienen un diámetro de unos 0,8 µm. *(b)* Paciente de tétanos que muestra la parálisis rígida característica del tétanos, que suelen comenzar por los músculos faciales (trismo) y desciende hasta las regiones inferiores del cuerpo.



(a)



(b)



(c)

Figura 30.23 **Gangrena gaseosa.** *(a)* Tinción de Gram de células de *Clostridium perfringens*, la causa más corriente de gangrena. *(b)* Tinción flagelar que muestra una célula de *Clostridium novyi*, que también provoca gangrena. *(c)* Un caso de gangrena gaseosa. Las células de *C. perfringens* y *C. novyi* tienen un diámetro de unos 1,2 µm.

proteínas del tejido, y también excretan una serie de toxinas. La *toxina alfa de C. perfringens* (Figura 30.23*a*), que es diferente de las toxinas que produce cuando hay intoxicación alimentaria por perfringens (↬ Sección 31.9), es un importante factor de virulencia de la gangrena, como lo es la capacidad general de los patógenos para crecer con rapidez en los entornos cálidos y húmedos creados por una lesión invasiva. La toxina alfa es una fosfolipasa que hidroliza los fosfolípidos de la membrana de las células hospedadoras, lo que conduce a lisis celular y a la típica acumulación de gas y líquidos que acompaña a la gangrena gaseosa (Figura 30.23*c*).

En casos graves de gangrena gaseosa, la toxemia puede llegar a ser sistémica y provocar la muerte. Se utilizan los antibióticos como medida preventiva, además del típico, aunque dramático, tratamiento: la amputación de la extremidad infectada. Los tejidos gangrenados están muertos y no se regenerarán, y la amputación impide que la infección alcance los tejidos sanos.

En algunos casos se trata la extremidad infectada con oxigenoterapia hiperbárica para intentar salvarla, ya que la elevada concentración de O_2 inhibe el crecimiento de los clostridios, anaerobios estrictos. Para el tratamiento hiperbárico el paciente permanece sentado en el interior de una cámara cerrada que contiene O_2 al 100 % a una presión doble que la atmosférica. Así se enriquece la sangre en O_2 y ayuda a que los vasos sanguíneos todavía vivos induzcan la formación de tejido nuevo. Se administran varios tratamientos hiperbáricos, que pueden ir acompañados de la retirada quirúrgica de parte del tejido muerto. Si se puede establecer un suministro de sangre adecuado a los tejidos dañados, se puede hacer también un injerto de piel para ayudar a conectar la zona regenerada y la dañada.

MINIRREVISIÓN

- Describa la infección por *Clostridium tetani* y la producción de la toxina tetánica.
- Describa las etapas necesarias para prevenir el tétanos en un individuo que ha sufrido una herida profunda.
- ¿Por qué la fisiología de *Clostridium perfringens* es la adecuada para que crezca en las heridas profundas?

IDEAS PRINCIPALES

30.1 • La rabia se produce principalmente en los animales silvestres, pero se transmite a los humanos y a los animales domésticos. En los Estados Unidos, la rabia se transmite principalmente desde el reservorio de animales silvestres a los animales domésticos o, muy rara vez, a los humanos. La vacunación de los animales domésticos resulta clave para controlar la rabia. La mayoría de muertes humanas por rabia se producen en los países en vías de desarrollo.

30.2 • Los hantavirus están presentes a escala mundial en las poblaciones de roedores y provocan enfermedades zoonóticas, como el síndrome pulmonar por hantavirus y la fiebre hemorrágica con síndrome renal en los humanos. Los hantavirus están relacionados con el ébola y son muy peligrosos porque provocan fiebres hemorrágicas. En América, la infección por hantavirus tiene una tasa de mortalidad de más del 30 %.

30.3 • Las rickettsias son bacterias parasitarias intracelulares estrictas que se transmiten a los hospedadores por vectores artrópodos. Varios factores aumentan la incidencia de la rickettsiosis maculosa y de otros síndromes rickettsianos. La mayor parte de las infecciones con rickettsias se pueden controlar mediante el tratamiento con antibióticos, pero es difícil reconocerlas y diagnosticarlas con rapidez.

30.4 • La enfermedad de Lyme la causa la espiroqueta *Borrelia burgdorferi* y es la enfermedad transmitida por artrópodos más prevalente en los Estados Unidos. Se transmite por garrapatas desde distintos vectores hospedadores mamíferos a los humanos. La prevención y el tratamiento de la enfermedad de Lyme son sencillos, siempre que el diagnóstico de la infección sea preciso y se haga a tiempo.

30.5 • La fiebre amarilla y el dengue están causados por flavivirus parecidos que se transmiten a los humanos por picaduras de mosquitos. Las dos enfermedades están generalizadas en los países tropicales y subtropicales, y ambas pueden mostrar desde síntomas de leves a muy graves, entre ellos las fiebres hemorrágicas. Se está usando una vacuna eficaz contra la fiebre amarilla, pero no hay ninguna vacuna para prevenir la infección por el virus del dengue.

30.6 • La encefalitis del Nilo Occidental es una enfermedad vírica transmitida por mosquitos. En el ciclo natural del patógeno, las aves se infectan con el virus del Nilo Occidental cuando les pican mosquitos infectados. Los humanos y otros vertebrados son hospedadores terminales ocasionales. La mayoría de las infecciones en humanos son asintomáticas y quedan sin diagnosticar, pero las complicaciones de algunas infecciones provocan una mortalidad en torno al 5 %.

30.7 • La peste se puede transmitir a individuos que han tenido contacto con poblaciones de roedores y sus pulgas parásitas, que son los reservorios enzoóticos para la bacteria de la peste, *Yersinia pestis*. Una infección sistémica o una infección pulmonar conducen a una muerte rápida, pero la forma bubónica se consigue tratar con antibióticos.

30.8 • El carbunco está causado por la bacteria formadora de endosporas *Bacillus anthracis* y puede tomar tres formas diferentes: cutáneo, intestinal o pulmonar. El carbunco cutáneo es el más corriente y, junto con el carbunco pulmonar, es un riesgo laboral para los que manejan ganado porque las endosporas de *B. anthracis* se pueden transmitir desde la piel de los animales a los humanos.

30.9 • *Clostridium tetani* es una bacteria del suelo que provoca el tétanos, enfermedad que puede ser mortal y que se caracteriza por toxemia y rigidez paralizante. El tratamiento del tétanos agudo incluye antibióticos e inmunización activa y pasiva. La enfermedad se puede prevenir mediante inmunización con el toxoide. La gangrena gaseosa se produce por el crecimiento de diversos clostridios proteolíticos en heridas traumáticas, lo que lleva a la formación de toxinas y gas.

MasteringMicrobiology®

Revise lo que sabe y descubra lo que ha aprendido con MasteringMicrobiology. Acceda a material de estudio, revisiones de los capítulos, animaciones y tutoriales de microbiología práctica en el Área de Estudio y asegúrese de que ha asimilado todo el contenido de este capítulo.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Enfermedad de Lyme: enfermedad transmitida por garrapatas y provocada por la espiroqueta *Borrelia burgdorferi*.

Epizoótica: enfermedad epidémica presente en una población animal.

Enzoótica: enfermedad endémica presente en una población animal.

Fiebre del Nilo Occidental: enfermedad neurológica causada por el virus del Nilo Occidental, un virus que transmiten los mosquitos de las aves a los humanos.

Fiebre hemorrágica con síndrome renal (HFRS): enfermedad aguda emergente que se caracteriza por choque e insuficiencia renal, causada por hantavirus de roedores.

Gangrena gaseosa: destrucción de tejidos debida al crecimiento de clostridios proteolíticos productores de gas.

Peste: enfermedad enzoótica de roedores debida a *Yersinia pestis*, que se puede transmitir a los humanos por la picadura de una pulga.

Rabia: enfermedad neurológica que suele ser mortal, causada por el virus de la rabia, que se suele transmitir por la mordedura o la saliva de un animal infectado.

Rickettsias: bacterias intracelulares estrictas del género *Rickettsia* que son responsables de enfermedades como el tifus, la riquetsiosis maculosa y la erliquiosis.

Síndrome pulmonar por hantavirus (HPS): enfermedad aguda emergente que se caracteriza por neumonía, causada por hantavirus de roedores.

Tétanos: enfermedad caracterizada por una rigidez paralizante de los músculos voluntarios, que está causada por una exotoxina producida por *Clostridium tetani*.

Tifus: enfermedad transmitida por piojos, y causada por *Rickettsia prowazekii*, que se caracteriza por fiebre, cefalea, debilidad, erupción y daños en el sistema nervioso central y los órganos internos.

Zoonosis: enfermedad animal que se puede transmitir a los humanos.

PREGUNTAS DE REPASO

1. Identifique los animales con más probabilidad de ser portadores de la rabia en los Estados Unidos. ¿Por qué la rabia es tan rara en los humanos y en los animales domésticos en los países desarrollados? (Sección 30.1)
2. Describa las condiciones que pueden determinar la aparición del síndrome pulmonar por hantavirus (HPS). ¿Cómo se puede evitar el HPS? (Sección 30.2)
3. Identifique las tres categorías principales de microorganismos que provocan enfermedades riquetsiales. Identifique el reservorio y el vector más frecuentes para el tifus, la riquetsiosis maculosa y la erliquiosis. (Sección 30.3)
4. Identifique el reservorio y el vector más frecuentes de la enfermedad de Lyme en los Estados Unidos. ¿Cómo se puede

controlar la propagación de esta enfermedad? ¿Cómo se puede tratar? (Sección 30.4)

5. ¿En qué se parecen la fiebre amarilla y el dengue? ¿En qué se diferencian? (Sección 30.5)
6. Describa la propagación de las infecciones por el virus del Nilo Occidental en los Estados Unidos. ¿Qué animales son los hospedadores principales? ¿Constituyen los humanos un hospedador alternativo productivo? (Sección 30.6)
7. En el caso de una enfermedad potencialmente grave como la peste bubónica, no se recomienda la vacunación sistemática de la población general; ¿por qué? Identifique las medidas de salud pública con las que se controla la peste. (Sección 30.7)
8. ¿Qué característica clave de la bacteria *Bacillus anthracis* le permite permanecer durante mucho tiempo en la piel de los animales u otros ambientes en los que no puede crecer? ¿Qué forma de carbunco es la más grave? (Sección 30.8)
9. Describa el mecanismo principal de la patogenia del tétanos y defina las medidas para la prevención y el tratamiento. ¿Por qué es posible que una herida traumática profunda pueda acabar provocando tanto el tétanos como la gangrena gaseosa? (Sección 30.9)

EJERCICIOS PRÁCTICOS

1. Describa secuencialmente las medidas que adoptaría si a su hijo lo mordiese (provocado o no) un perro callejero sin collar que no sabe si está inmunizado contra la rabia. Considere un supuesto en el que usted consiguiera capturar y retener al perro, y otro en el que se le escape. ¿En qué cambiaría el procedimiento si a su hijo le hubiera mordido un perro con collar y con una placa que documentase que la inmunización antirrábica estaba al día?
2. Señale al menos tres propiedades comunes de los agentes que producen la riquetsiosis maculosa, el tifus y la erliquiosis, y describa su proceso. ¿Por qué la erliquiosis aparece como una importante enfermedad provocada por rickettsias? Compare su emergencia con la de la enfermedad de Lyme.
3. Idee un plan para impedir la propagación del virus del Nilo Occidental entre las personas de su comunidad. Identifique los costes de tal plan, tanto a nivel individual como comunitario. Averigüe si en su comunidad existe un programa activo para acabar con los mosquitos. ¿Qué métodos, si los hay, se utiliza en su comunidad para reducir las poblaciones de mosquitos? ¿Con qué método sencillo se puede limitar el número de mosquitos en torno a su residencia?

CAPÍTULO

31 · Agua y alimentos como vehículos de enfermedades bacterianas microbiología actual

microbiología **actual**

El «pruno» de la cárcel esconde un cóctel mortal

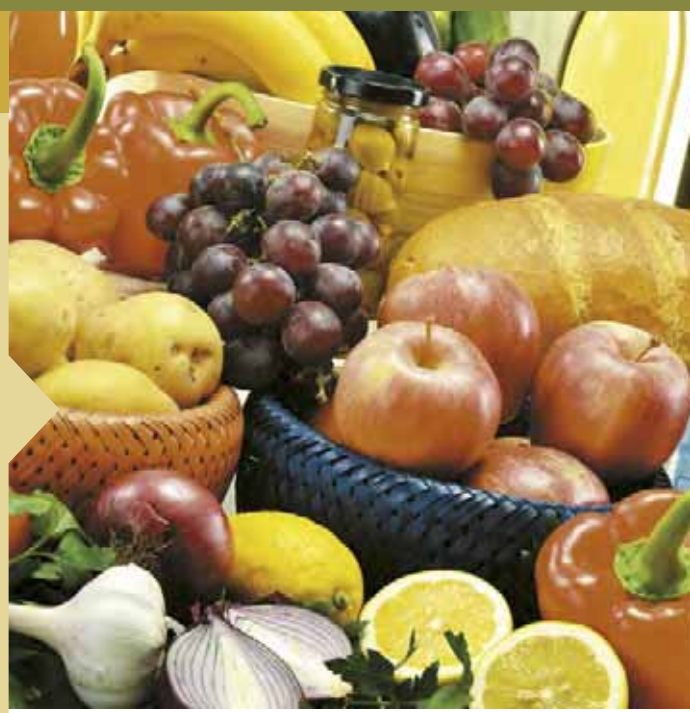
Las condiciones en el interior de las cárceles, a menudo, provocan situaciones extremas, como fabricar vino casero carcelario (una poderosa bebida llamada «pruno»). Sin embargo, aunque los prisioneros estén relegados a vivir detrás de los barrotes, no son inmunes a las enfermedades de origen alimentario. Eso pasa con el pruno, que puede provocar una enfermedad de origen alimentario que puede llevar a la muerte.

El pruno está hecho con una mezcla de naranjas, uvas, manzanas y azúcar, y a veces también se le añaden patatas, maíz o pan. Cada lote es único, como resultado de los ingredientes disponibles en cada momento. Los ingredientes (fotografía) se trituran en agua caliente, se guardan en una bolsa de plástico, y se deja que fermenten hasta 2 semanas. El producto fermentado se cuela por un calcetín o una funda de almohada para producir un zumo de color entre naranja amarillento y rojo (según los ingredientes) que contiene de un 2 a un 14 % de alcohol. Lo segundo equivale al contenido de alcohol de un vino tinto con todas las de la ley.

Desde 2011, el pruno carcelario se ha relacionado con, al menos, 20 casos de botulismo, una forma grave de intoxicación alimentaria. En 2012, ocho prisioneros del correccional de Arizona casi se mueren por beber un pruno que contenía la toxina botulínica[1]. A todos los reclusos afectados se les dio la antitoxina botulínica (anticuerpos que neutralizan la toxina botulínica) y varios necesitaron una sonda nasogástrica, un procedimiento médico utilizado para lavar el tubo digestivo. Todos los reclusos tuvieron la suerte de sobrevivir a lo que podría haber sido una muerte segura sin la intervención médica.

El botulismo está provocado por *Clostridium botulinum*, una bacteria grampositiva anaerobia formadora de endosporas, que suele vivir en el suelo. En el brote de Arizona y otros más, el ingrediente común de los lotes de pruno en mal estado eran las patatas crudas. Es probable que las esporas de *C. botulinum* entrasen en el pruno en fermentación con la tierra que llevan las patatas; el estado anóxico del brebaje aportó el ambiente perfecto para el crecimiento y la producción de la toxina.

[1] Briggs, G., *et al*. 2013. Botulism from drinking prison-made illicitit alcohol—Arizona, 2012. *Morbidity and Mortality Weekly Report. 62*: 88.



I El agua como vehículo de enfermedades 984

II Enfermedades transmitidas por el agua 986

III Los alimentos como vehículo de enfermedades 990

IV Intoxicaciones alimentarias 994

V Infecciones alimentarias 997

En este capítulo tratamos los patógenos microbianos que se transmiten por el agua o por los alimentos. Las enfermedades que provocan estos patógenos se denominan «de fuente común» porque se producen solo en quienes han bebido la misma agua contaminada o comido el mismo alimento contaminado. Las enfermedades transmitidas por el agua o los alimentos son enfermedades infecciosas corrientes en todo el mundo.

I • El agua como vehículo de enfermedades

El agua se utiliza en grandes cantidades, y su seguridad microbiológica está en las manos de los ingenieros y microbiólogos especializados en aguas residuales y aguas potables. De hecho, la calidad del agua es el factor individual más importante para garantizar la salud pública. En el Capítulo 21 examinamos los microorganismos de las aguas residuales, y como se puede limpiar el agua muy contaminada mediante la actividad microbiana y así reutilizarla con muchos fines, incluso para beber. Aquí vemos lo que puede ocurrir cuando el agua destinada al consumo humano se convierte en un vehículo de enfermedades.

Las enfermedades transmitidas por el agua comienzan como infecciones (u, ocasionalmente, como toxemias). El agua contaminada puede provocar una infección incluso aunque contenga muy poca cantidad de un patógeno concreto. Que la exposición al agua provoque o no una enfermedad depende de la virulencia del patógeno y de la capacidad del hospedador para resistir la infección.

31.1 Agentes y origen de las enfermedades transmitidas por el agua

Muchos microorganismos diferentes, entre los que se encuentran bacterias, virus y protistas parásitos, pueden provocar enfermedades infecciosas de transmisión hídrica; algunas de las principales se resumen en la Tabla 31.1. Aquí trataremos los patógenos bacterianos, con especial atención en el cólera, una enfermedad de transmisión hídrica de proporciones pandémicas. Las enfermedades parasitarias las tratamos en el Capítulo 32 y unos pocos patógenos víricos transmitidos por el agua, y que también se transmiten por los alimentos, las tratamos más adelante en este capítulo.

Comenzamos explicando el propio vehículo de la enfermedad: el agua. Las enfermedades de transmisión hídrica se pueden transmitir cuando se utiliza agua sin tratar, o tratada inadecuadamente, para beber o cocinar, o por el agua de las zonas de baño y piscinas (agua de uso recreativo). Las principales enfermedades de transmisión hídrica relacionadas con el agua de bebida o con las aguas recreativas suelen ser muy diferentes, y los distintos patrones se muestran en la Tabla 31.2.

Tabla 31.1 Principales patógenos transmitidos por el agua

Patógeno	*Enfermedad*
Bacterias[a]	
Vibrio cholerae	Cólera
Legionella pneumophila	Legionelosis
Salmonella enterica serovar Typhi	Fiebre tifoidea
Escherichia coli	Enfermedad gastrointestinal
Pseudomonas aeruginosa	Neumonía nosocomial, septicemia e infecciones cutáneas
Virus	
Norovirus	Enfermedad gastrointestinal
Virus de la hepatitis A	Hepatitis vírica
Parásitos[b]	
Cryptosporidum parvum	Criptosporidiosis
Giardia intestinalis	Giardiasis
Schistosoma	Esquistosomiasis

[a] Salvo *S. enterica* serovar Typhi, estas bacterias se han relacionado con los principales brotes de enfermedades transmitidas por el agua en los Estados Unidos en los últimos años, como son las bacterias *Shigella sonnei*, *Campylobacter jejuni* y *Leptospira* sp.
[b] Véase el Capítulo 32.

Agua potable

El suministro de agua en los países desarrollados suele cumplir rígidos estándares de calidad, lo que reduce enormemente la propagación de enfermedades. El agua de bebida, en particular, se somete a un tratamiento exhaustivo que incluye la filtración y cloración. Aunque la filtración retire la turbidez y muchos microorganismos, es la *cloración* lo que garantiza la salubridad del agua. El cloro gaseoso (Cl_2) es un fuerte oxidante capaz de oxidar tanto la materia orgánica disuelta en el agua como las propias células microbianas. Las estaciones de cloración de agua corriente le añaden suficiente cloro para permitir que permanezca en ella una concentración residual cuando le llega al consumidor. El agua adecuada para el consumo humano se denomina agua **potable** (↬ Secciones 21.6-21.9).

Tabla 31.2 Origen de los brotes de enfermedades gastrointestinales agudas en el agua de bebida y en las aguas de uso recreativo[a]

	Agua de bebida (%)	*Agua de uso recreativo (%)*
Bacterias	58	16
Legionella pneumophila	33	8
Otras	25	9
Parásitos	8	51
Virus	14	4
Sustancia química/ toxina	3	7
Sin identificar	11	22
Varias causas	5	1

[a] Los datos son de los Estados Unidos, 2007-2008. Todos los números están redondeados al porcentaje más cercano y se obtuvieron de los centros para el control de enfermedades transmitidas por el agua del sistema de vigilancia de brotes y enfermedades.

A pesar de la filtración y la cloración, agua potable provoca de vez en cuando brotes de enfermedades. En los Estados Unidos, se registran cada año una media de 25 brotes de enfermedades relacionados con el agua de bebida (un brote de transmisión hídrica se define como la aparición de dos o más casos de enfermedad específicamente relacionados con el consumo de la misma agua al mismo tiempo). Casi el 60 % de los brotes de enfermedades transmitidas por el agua de bebida se deben a patógenos *bacterianos*, más especialmente *Legionella*, el agente causal de la legionelosis (Tabla 31.2 y Sección 31.4).

Aguas de uso recreativo

Las aguas de uso recreativo incluyen sistemas acuáticos de agua dulce tales como estanques, arroyos y lagos, así como piscinas públicas y piscinas inflables. Estas aguas pueden ser el origen de enfermedades y provocan, de media, unos 20 brotes al año, que son menos que los debidos al agua de bebida. A diferencia de esta, donde los patógenos *bacterianos* son los más habituales, los brotes de enfermedad a partir de las aguas de uso recreativo están relacionados con más frecuencia con los patógenos *parásitos*. Además, las aguas de uso recreativo a menudo transmiten enfermedades digestivas de origen microbiano desconocido o que se deben a sustancias químicas u otros productos tóxicos (Tabla 31.2).

En los Estados Unidos, el funcionamiento de las piscinas públicas está regulado por los departamentos de salud estatales y locales. La Agencia de Protección Ambiental estadounidense (EPA, del inglés *Environmental Protection Agency*) establece los límites del número de bacterias tanto en el agua potable como en las aguas públicas de uso recreativo, pero las administraciones locales y estatales pueden establecer estándares por encima o por debajo de estas directrices para las aguas no potables. En cambio, la calidad de las aguas recreativas *privadas*, como piscinas, balnearios y jacuzzis, no está regulada en absoluto, lo que las convierte en los principales vehículos de los brotes de enfermedades de transmisión hídrica.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué es el agua potable?
- Compare los principales patógenos responsables de los brotes de enfermedad desde el agua corriente frente a las aguas recreativas.

31.2 Salud pública y calidad del agua

El agua de aspecto totalmente transparente todavía puede estar contaminada con una gran cantidad de microorganismos y suponer un riesgo de enfermedad. No resulta práctico analizar la presencia de cada microorganismo patógeno que pueda estar en el agua (Tablas 31.1 y 31.2) y, en consecuencia, tanto el agua potable como la de uso recreativo se analizan rutinariamente para detectar *organismos indicadores* específicos, cuya presencia señala un riesgo potencial de enfermedad.

Coliformes y calidad del agua

Un indicador muy utilizado para detectar la contaminación microbiana del agua es el grupo de las bacterias **coliformes**. Los coliformes son útiles porque muchos habitan en el tubo digestivo de los humanos y de otros animales. Así pues, su presencia en el agua indica una probable contaminación fecal. Los coliformes se definen como bacilos gramnegativos, aerobios facultativos, que no esporulan y que fermentan la lactosa con producción de gas en menos de 48 h a 35 °C. Sin embargo, esta definición incluye varias bacterias que no son necesariamente intestinales; por esta razón, los *coliformes fecales* son importantes en las valoraciones de salubridad del agua. *Escherichia coli*, un coliforme cuyo único hábitat es el intestino y que sobrevive solo un tiempo relativamente breve fuera de él, es el coliforme fecal clave. La presencia de células de *E. coli* en una muestra de agua se toma como prueba de contaminación fecal y significa que el agua no es apta para el consumo humano. Por el contrario, sin embargo, la ausencia de *E. coli* no garantiza que el agua sea potable, ya que podría contener todavía otras bacterias, virus o protistas patógenos.

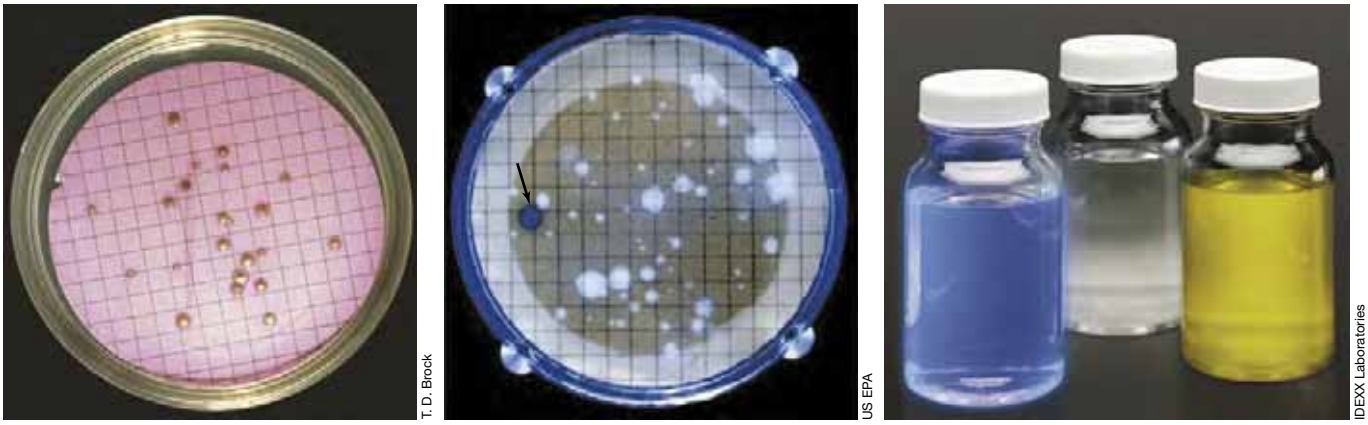
Pruebas para coliformes fecales y la importancia de *Escherichia coli*

Se utilizan por norma los métodos normalizados y bien desarrollados para detectar coliformes y coliformes fecales en las muestras de agua. Un método corriente es la *filtración por membrana* (*MF*, del inglés *membrane filter*), donde al menos 100 ml de agua recién recogida se hacen pasar por una membrana filtrante estéril que retiene las bacterias en la superficie del filtro. Este filtro se coloca luego en una placa de cultivo con eosina-azul de metileno (EMB del inglés *eosin-methylene blue*), un medio selectivo para las bacterias gramnegativas que consumen lactosa. El medio EMB es también diferencial, lo que permite que las especies muy fermentativas, como *E. coli,* se diferencien de las especies poco fermentativas, como *Proteus* (**Figura 31.1*a***).

También existen medios selectivos que no solo detectan los coliformes totales, sino que, simultáneamente, también identifican a *E. coli* de forma específica. Estos *análisis con sustrato definido* suelen ser más rápidos y más exactos que los basados en el EMB. Un análisis popular en placa se basa en la capacidad que tiene *E. coli,* pero no otras bacterias entéricas, para metabolizar una combinación de dos sustancias químicas específicas para formar un compuesto azul fluorescente (Figura 31.1b). Existe un método líquido muy utilizado que revela la presencia de coliformes y también detecta específicamente *E. coli* en la muestra de agua (Figura 31.1*c*).

En los sistemas de abastecimiento de agua de bebida adecuadamente regulados, los análisis de coliformes totales y de coliformes fecales deberían dar negativo. Un resultado positivo indica que el sistema de purificación o de distribución (o ambos) no ha funcionado correctamente. En los Estados Unidos, la calidad microbiológica del agua se especifica en la *Ley de calidad del agua de bebida* que administra la Agencia de Protección Ambiental (EPA). Las instalaciones de agua deben notificar cada mes los resultados de los análisis de coliformes a la EPA; en caso de que no cumplan las normas establecidas, esas instalaciones deben notificarlo públicamente y tomar medidas para solventar el problema.

Las principales mejoras de la salud pública en los Estados Unidos se implantaron a principios del siglo xx y se debieron, en buena medida, a la adopción de procedimientos de cloración y filtración del agua en las plantas de tratamiento a gran escala del agua de bebida y de las aguas residuales



(a) (b) (c)

Figura 31.1 Coliformes fecales y su detección en las muestras de agua. *(a)* Colonias que crecen en una membrana filtrante. Una muestra de agua se pasó a través del filtro y este se colocó en una placa de agar con eosina y azul de metileno (EMB, que es tanto selectivo como diferencial para los coliformes; las especies con más capacidad fermentativa forman colonias con centros más oscuros). *(b)* Coliformes totales y *Escherichia coli*. Un filtro expuesto a una muestra de agua corriente se incubó a 35 °C durante 24 horas en un medio que contiene compuestos especiales que emiten fluorescencia cuando se metabolizan. A continuación se examinó el filtro con luz UV. La única colonia de *E. coli* de la muestra emite fluorescencia azul oscura (flecha). Los coliformes que no metabolizan el compuesto forman colonias que emiten fluorescencia de blanca a azul claro. *(c)* El sistema de análisis de la calidad del agua Colilert de IDEXX. Cuando se añaden los reactivos específicos a las muestras de agua y se incuban 24 h, desarrollan un color amarillo si contienen coliformes (derecha). Las muestras que contienen *Escherichia coli* desarrollan un color amarillo, pero también emiten fluorescencia de color azul (izquierda). Las muestras negativas para los coliformes permanecen transparentes (centro).

(↻ Figura 28.7). Las enfermedades transmitidas por el agua son frecuentes en los lugares donde los estándares del agua de bebida no han alcanzado este nivel, en especial en los países subdesarrollados. Ahora nos centramos en estas enfermedades, comenzando por el cólera, la más generalizada y devastadora de todas las enfermedades transmitidas por el agua.

MINIRREVISIÓN

- ¿Por qué se utiliza *Escherichia coli* como organismo indicador en los análisis microbiológicos del agua?
- ¿Qué procedimientos se utilizan para garantizar la seguridad del abastecimiento de agua potable?

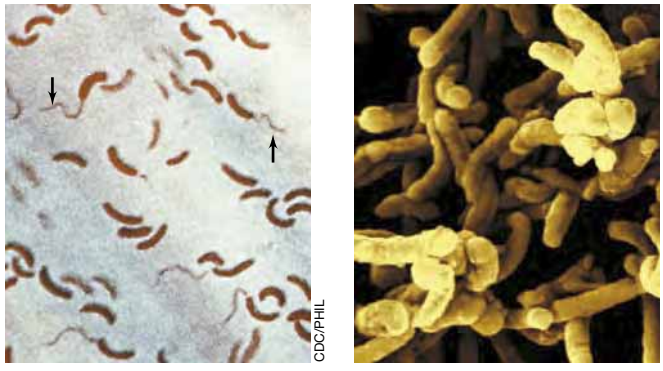
II • Enfermedades transmitidas por el agua

31.3 *Vibrio cholerae* y cólera

El cólera es una enfermedad gastrointestinal diarreica grave que en la actualidad está restringida fundamentalmente a los países en vías de desarrollo. Tiene su origen en la ingestión de agua contaminada con células de *Vibrio cholerae*, una especie de *Proteobacteria* gramnegativa curvada y móvil (**Figura 31.2**). También se puede contraer a través de alimentos contaminados, en especial el marisco mal cocinado.

Para que se produzca la enfermedad se debe ingerir un gran número de células de *V. cholerae* ($>10^8$). Las células ingeridas se adhieren a las células epiteliales del intestino delgado, donde crecen y liberan la *toxina colérica*, una potente enterotoxina (↻ Figura 23.23). Los estudios con personas voluntarias han demostrado que la enfermedad solo se inicia con un inóculo grande de células de *V. cholerae* debido a la acidez normal del estómago (en torno a pH 2). Los voluntarios que tomaron bicarbonato para neutralizar la acidez gástrica desarrollaron el cólera con tan solo 10^4 células. El número de células puede ser incluso más bajo si *V. cholerae* se ingiere con los alimentos, presumiblemente porque estos protegen a los vibrios de la destrucción por la acidez del estómago.

La enterotoxina colérica provoca una diarrea grave que conduce a la deshidratación y la muerte, a menos que el paciente reciba líquido y un tratamiento con electrólitos. La enterotoxina puede hacer perder al enfermo hasta 20 litros (20 kg) de líquido al día, lo que provoca una deshidratación grave. La tasa de mortalidad del cólera *sin tratamiento* oscila entre el 25-50 %, y puede



(a) (b)

Figura 31.2 *Vibrio cholerae*, el agente causal del cólera. *(a)* La tinción de Gram muestra las típicas células curvadas (con forma de vibrio) de esta bacteria y los flagelos polares (flechas). *(b)* Imagen coloreada de microscopia electrónica de barrido de las células de *V. cholerae*. Cada célula mide aproximadamente 0,5 × 2 µm.

ser incluso superior en condiciones de hacinamiento y desnutrición que se suelen dar en los campos de refugiados o en las regiones que han sufrido catástrofes naturales, como inundaciones, terremotos y similares. En estas situaciones, a menudo se produce un colapso casi total de las condiciones sanitarias, lo que provoca la contaminación del agua de bebida con las heces, y la rápida propagación del cólera.

Diagnóstico, tratamiento y prevención del cólera

Durante los grandes brotes de cólera, en los centros de tratamiento, cada paciente se coloca en una «camilla de cólera», que es una camilla plegable convencional con una abertura por la que las heces pueden ser evacuadas (**Figura 31.3*a***). Las heces de un paciente con cólera son más bien líquidas, y la confirmación de la enfermedad es sencilla, ya que el patógeno se cultiva con facilidad en un medio de agar selectivo (Figura 31.3*b-d*). El tratamiento del cólera es sencillo y eficaz. La administración oral (intravenosa, en los casos graves) de electrólitos y líquido es el método más efectivo. Se prefiere el tratamiento oral porque no necesita ningún equipo especial ni condiciones estériles. La solución de rehidratación es una mezcla de glucosa, sal (NaCl), bicarbonato de sodio ($NaHCO_3$) y cloruro de potasio (KCl). Si esta solución se administra rápidamente durante un brote, la mortalidad del cólera se puede reducir enormemente, ya que la rehidratación permite que los pacientes tengan tiempo para generar una respuesta inmunitaria.

Los antibióticos pueden acortar el curso de la infección del cólera y la propagación de las células viables, pero resultan poco eficaces si no se administra también el tratamiento para reponer electrólitos y líquidos. Medidas de salud pública, tales como el tratamiento adecuado de las aguas residuales, y agua de bebida limpia (potable), son claves para prevenir el cólera. *V. cholerae* se elimina con un tratamiento adecuado de las aguas residuales y con los procedimientos de purificación del agua de bebida (Capítulo 21). Para evitar el cólera, las personas que viajan a las zonas endémicas de cólera deben cuidar la higiene personal y evitar el agua o hielo sin tratar, los alimentos crudos, y el pescado o marisco crudos o poco hechos, que pueden haberse alimentado de plancton contaminado con *V. cholerae* (**Figura 31.4**).

Desde 1817, el cólera ha barrido el mundo en siete pandemias importantes, y probablemente haya empezado la octava (↪ Sección 28.10 y Figura 28.17). La Organización Mundial de la Salud estima que solo se registran entre el 5-10 % de los

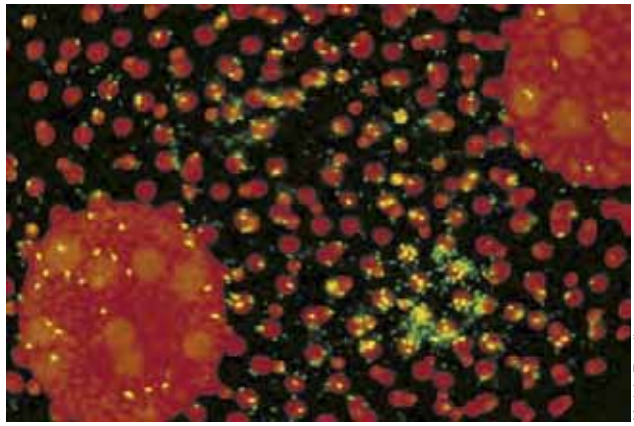


Figura 31.4 Células de *Vibrio cholerae* adheridas a la superficie de *Volvox*, un alga de agua dulce. La muestra se tomó de una zona endémica de cólera en Bangladesh. Las células de *V. cholerae* se tiñen de verde por un anticuerpo contra una proteína de su superficie celular marcado con fluorescencia. El color rojo se debe a la fluorescencia de la clorofila *a* del alga.



Figura 31.3 El cólera y su diagnóstico. *(a)* Una camilla de cólera. La camilla permite que una persona tumbada evacúe las heces directamente en un cubo. Estas camillas se utilizan durante los brotes de la enfermedad para tratar los casos activos mediante rehidratación. *(b)* Heces de un paciente con cólera. La deposición con aspecto de «agua de arroz» es casi líquida (el material sólido del fondo es mucosidad). *(c) Vibrio cholerae* se cultiva con facilidad en el medio TCBS, que es selectivo y diferencial. El TCBS contiene una gran concentración de sales biliares y citrato, que inhiben a las bacterias entéricas y a las bacterias grampositivas, y tiosulfato y sacarosa, que utilizan las células de *V. cholerae (d)* como fuente de azufre y de carbono, respectivamente.

casos de cólera, de modo que su incidencia mundial probablemente supere el millón de casos al año. En los Estados Unidos solo se registra un puñado de casos de cólera al año, que generalmente se deben al consumo, crudo o poco hecho, de marisco importado.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué organismo provoca el cólera y cuáles son los síntomas de la enfermedad?
- Describa cómo se puede prevenir y tratar el cólera.

31.4 Legionelosis

Legionella pneumophila, la bacteria que provoca la *legionelosis* (también llamada *enfermedad del «legionario»,* por la *American Legion*) es un importante patógeno de transmisión hídrica cuya propagación se relacionó, al principio, con los aerosoles de los refrigeradores por evaporación. Sin embargo, se sabe que *L. pneumophila* (**Figura 31.5**) también es un patógeno importante en las instalaciones domésticas de agua, donde el organismo se mantiene en biopelículas que se forman en la superficie de las tuberías de distribución de agua y también dentro de las células de determinados parásitos microbianos. En estos sitios, *L. pneumophila* está al abrigo del cloro presente en el agua corriente. Por tanto, las biopelículas y los parásitos infectados constituyen los reservorios desde los que la legionelosis se propaga por el agua (↪ Sección 21.9 y Figura 21.21).

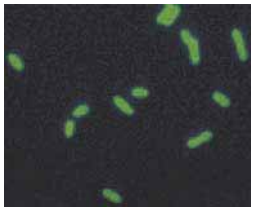
Patogenia, diagnóstico y tratamiento

Las células de *L. pneumophila* invaden los pulmones y crecen dentro de los macrófagos y de los monocitos. A menudo, las infecciones son asintomáticas o generan solo una tos leve, dolor de garganta, cefalea leve y fiebre; estos casos autolimitantes suelen remitir por sí solos al cabo de 2-5 días. Sin embargo, los ancianos, cuya resistencia puede estar reducida por la edad, y las personas con el sistema inmunitario comprometido, suelen contraer infecciones por *Legionella* más graves que acaban en neumonía. Antes de iniciarse la neumonía, suelen darse trastornos intestinales seguidos de fiebre alta, escalofríos y dolores musculares. Estos síntomas preceden a la tos seca y los dolores de pecho y abdomen típicos de la legionelosis. Hasta el 10 % de los casos que alcanzan esta etapa resultan mortales, normalmente debido a una insuficiencia respiratoria.

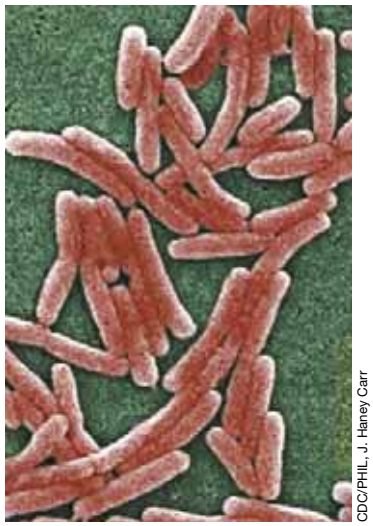
La detección clínica de una infección por *L. pneumophila* se suele hacer mediante el cultivo de los microorganismos procedentes de lavados bronquiales, líquido pleural, u otros líquidos o tejidos del cuerpo (Figura 31.5*a*). Con una serie de pruebas serológicas se detectan anticuerpos anti-*Legionella* o células de *Legionella* en estas muestras, y también en la orina del paciente, con lo que se confirman los diagnósticos (Figura 31.5*b*). La legionelosis se trata con los antibióticos rifampicina y eritromicina, y la administración intravenosa de eritromicina es el tratamiento preferido para los casos más graves.



(a)



(b)



(c)

Figura 31.5 ***Legionella pneumophila.*** *(a)* Tinción de Gram de las células de *L. pneumophila* en el tejido pulmonar de una víctima con legionelosis. *(b)* Las células de *L. pneumophila* se pueden identificar positivamente con anticuerpos fluorescentes anti-*L. pneumophila*. *(c)* Imagen coloreada de microscopia electrónica de barrido de células de *L. pneumophila*. Las células miden aproximadamente 0,5 × 2 µm.

Epidemiología

Legionella pneumophila es una gammaproteobacteria gramnegativa, aerobia estricta y con forma de bacilo (Figura 31.5) que posee unos requisitos nutricionales complejos entre los que se incluye una cantidad inusualmente elevada de hierro. El microorganismo se puede aislar tanto de entornos terrestres y acuáticos como de pacientes con legionelosis. En 1976 se determinó por primera vez que *Legionella pneumophila* era el patógeno causante de un brote de neumonía mortal en Filadelfia (Estados Unidos). Además de la legionelosis, la misma bacteria también puede ocasionar un síndrome más leve llamado *fiebre de Pontiac*.

Legionella pneumophila está presente en las aguas dulces y en el suelo. Es relativamente resistente al calor y al cloro, por lo que se puede propagar por los sistemas de abastecimiento de agua (↪ Sección 21.9). A menudo, se encuentra en gran cantidad en las torres de refrigeración y en los condensadores de evaporación mal desinfectados de los grandes sistemas de aire acondicionado. El patógeno crece en el agua y se propaga mediante los aerosoles. La infección de las personas se produce por las gotitas que van por el aire, pero no se transmite de una persona a otra.

Además de encontrarse en los refrigeradores por evaporación y en las instalaciones domésticas de agua, *L. pneumophila* también se ha detectado en los tanques de agua caliente y en los balnearios; en estos últimos se puede alcanzar una elevada concentración de células en las aguas calientes (35-45 °C) estancadas, sobre todo si no se mantiene la concentración de cloro (u otro desinfectante). Muchos brotes de legionelosis se han relacionado con las piscinas. *Legionella pneumophila* se puede eliminar de los suministros de agua mediante la hipercloración o el calentamiento del agua a más de 63 °C. Aunque la incidencia es máxima en los meses de verano, los estudios epidemiológicos indican que las infecciones por *L. pneumophila* se pueden producir en cualquier época del año, principalmente por los aerosoles que se generan en los sistemas de calefacción y refrigeración y en el uso de agua contaminada de los edificios

(↔ Sección 21.9) para ducharse o bañarse. En los Estados Unidos suelen notificarse unos pocos miles de casos de legionelosis al año.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cómo se transmite la legionelosis?
- Identifique las medidas específicas para el control de *Legionella pneumophila*.

31.5 Fiebre tifoidea y enfermedad por norovirus

Aunque el cólera sea la enfermedad de transmisión hídrica más extendida y peligrosa, el agua también puede transmitir otros patógenos que provocan enfermedades graves. Nos centramos aquí en los dos más importantes, el causante de la fiebre tifoidea (una bacteria) y de una enfermedad gastrointestinal por norovirus (un virus de RNA).

Fiebre tifoidea

Es muy probable que, a escala mundial, las bacterias patógenas de transmisión hídrica más importantes sean *Vibrio cholerae* (Sección 31.3) y *Salmonella enterica* serovar Typhi, el organismo que produce la fiebre tifoidea. *S. enterica* serovar *Typhi* es una bacteria gramnegativa con flagelos peritricos emparentada con *Escherichia coli* y otras bacterias entéricas (**Figura 31.6*a***). El organismo se transmite por el agua contaminada con heces, con lo que, al igual que el cólera, la fiebre tifoidea se limita principalmente a las zonas donde no hay tratamiento de aguas residuales ni medidas sanitarias generales, o las que hay son ineficaces. La fiebre tifoidea es hoy una enfermedad endémica muy arraigada en el África subsahariana, en el subcontinente indio y en Indonesia, y solo aparece de forma esporádica en América del Norte, Europa, el norte de Asia y Australia.

La fiebre tifoidea progresa por etapas. Las células del patógeno (Figura 31.6*a*) ingeridas con el agua contaminada (o a veces alimentos) alcanzan el intestino delgado, donde crecen y pasan al sistema linfático y al torrente circulatorio, desde donde pueden penetrar en muchos órganos diferentes. Una a dos semanas después aparecen los primeros síntomas de la fiebre tifoidea, que incluyen una fiebre leve, cefalea y malestar general. Durante este tiempo se produce la infección masiva del hígado y del bazo del paciente. Aproximadamente una semana después, la fiebre se hace más intensa (hasta 40 °C) y el paciente empieza a delirar; en esta etapa puede aparecer diarrea y el dolor abdominal puede ser intenso. Se puede complicar más, con hemorragia intestinal y perforación del intestino delgado. El intestino delgado libera grandes cantidades de células bacterianas al abdomen, lo que desemboca en una *sepsis* (infección sistémica e inflamación) y posiblemente en un choque séptico; ambas situaciones pueden acabar provocando la muerte (hasta un 40 % de los casos de sepsis resultan mortales). Tras, aproximadamente, una semana en este estado de crisis, los síntomas de la fiebre tifoidea comienzan a desvanecerse y se produce la recuperación.

En los Estados Unidos, se producen menos de 400 casos de fiebre tifoidea al año, aunque solía ser una amenaza sanitaria importante antes de que el agua se filtrase y clorase de forma rutinaria (↔ Figura 28.7). Sin embargo, un fallo en los métodos de tratamiento del agua, la contaminación del agua durante inundaciones, terremotos y otros desastres, o la contaminación de las tuberías de abastecimiento de agua por fugas en el alcantarillado, pueden propagar epidemias de fiebre tifoidea incluso en los países desarrollados.

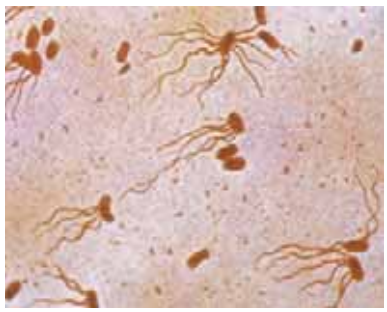
En algunos pacientes con fiebre tifoidea, el patógeno infecta la vesícula biliar. Si estos individuos tienen también cálculos biliares, las células de *S. enterica* serovar Typhi pueden colonizarlos y entonces actúan como reservorios a largo plazo a partir de los que el patógeno se libera continuamente en las heces y en la orina. Tales individuos son por lo demás «portadores» sanos de la fiebre tifoidea y pueden propagar la enfermedad durante mucho tiempo. La famosa cocinera «María, la Tifoidea» constituye el ejemplo clásico de portador de fiebre tifoidea (↔ Sección 28.4).

Enfermedad por norovirus

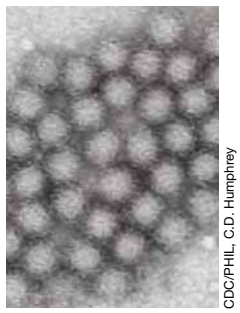
Los virus pueden transmitirse por el agua y provocar enfermedades en los humanos. El norovirus (Figura 31.6*b*) es uno de ellos y la causa habitual de una enfermedad gastrointestinal debida al agua contaminada (o los alimentos, Sección 31.14). Se trata de un virus de RNA monocatenario de sentido positivo (↔ Sección 9.8) que es el principal causante de enfermedades digestivas en todo el mundo (véase la Tabla 31.5).

Los síntomas de la infección por norovirus son vómitos, diarrea y malestar de una duración relativamente corta. La enfermedad no suele resultar mortal, aunque en individuos con inmunidad comprometida (muy jóvenes, ancianos o inmunodeficientes), la importante deshidratación que acompaña a los ataques recurrentes de vómitos y diarrea debidos al norovirus, pueden resultar fatales. Un diagnóstico clínico de enfermedad gastrointestinal por norovirus se realiza mediante una combinación de observación de los síntomas y de detección directa tanto de RNA vírico por RT-PCR (↔ Secciones 11.3 y 27.10) como de antígenos víricos mediante inmunoensayo enzimático en muestras de heces o vómitos.

La enfermedad por norovirus se transmite con facilidad de una persona a otra, o a los alimentos por vía fecal-oral. La dosis infecciosa es muy pequeña, la exposición a solo 10-20 viriones



(a)



(b)

Figura 31.6 Agentes bacterianos y víricos de enfermedades gastrointestinales graves transmitidas por el agua. *(a)* Células de *Salmonella enterica* serovar Typhi con tinción de flagelos que muestran flagelación peritrica. Cada célula mide aproximadamente 1 × 2 µm. *(b)* Imagen de microscopía electrónica de transmisión de viriones de norovirus. Cada virión tiene un diámetro de unos 30 nm.

de norovirus (Figura 31.6*b*) es suficiente para iniciar la enfermedad. Con mucha frecuencia, la fuente de los brotes del norovirus de transmisión hídrica son el agua de pozo o las aguas de uso recreativo que se han contaminado con aguas residuales. El norovirus también suele ser el culpable de las oleadas masivas de enfermedades gastrointestinales de fuente común en los cruceros, en los centros asistenciales para estancia de larga duración, u otros ámbitos grupales. En estas situaciones, el virus se puede transmitir de una persona a otra a través de los alimentos o del agua contaminados (lo normal son los alimentos) o mediante una combinación de ambos.

MINIRREVISIÓN

- Compare los agentes causales de la fiebre tifoidea y la enfermedad gastrointestinal por norovirus.
- ¿Qué condiciones sanitarias permiten los brotes de la fiebre tifoidea?

III • Los alimentos como vehículo de enfermedades

Los alimentos que comemos, tanto frescos como preparados o en conserva, rara vez están estériles. Bien al contrario, casi siempre están contaminados por microorganismos descomponedores de varias clases, y ocasionalmente con patógenos. La actividad microbiana resulta clave para la producción de algunos alimentos, como los fermentados, pero la mayoría de los microorganismos no son bien aceptados ni dentro ni sobre los alimentos porque disminuyen su calidad o su salubridad (o ambos). En esta unidad, exploramos los procesos opuestos de la conservación y el deterioro de los alimentos, cómo se evalúa su seguridad alimentaria y cómo se transmiten los patógenos en los alimentos. En los próximos dos apartados nos centramos en las principales enfermedades de origen alimentario.

31.6 Deterioro y conservación de los alimentos

Muchos alimentos proporcionan un medio excelente para el crecimiento de bacterias y hongos. Los alimentos almacenados de forma adecuada también se pueden deteriorar, pero no suelen ser un vehículo de enfermedades si suponemos que estaban libres de patógenos desde el inicio. Eso es debido a que, salvo raras excepciones, los microorganismos responsables del deterioro alimentario no son los mismos que los que causan las enfermedades de origen alimentario.

Deterioro de los alimentos

El **deterioro de los alimentos** consiste en cualquier cambio de apariencia, olor o sabor de un producto alimentario que lo hace inaceptable para el consumidor, se deba o no a un crecimiento microbiano. Los alimentos contienen mucha materia orgánica y sus características físicas y químicas determinan su susceptibilidad a la actividad microbiana. Respecto al deterioro, un alimento o producto alimenticio se clasifica en una de estas tres categorías: (1) **alimentos perecederos**, en la que se incluyen muchos alimentos frescos, como carnes y muchas verduras; (2) **alimentos semiperecederos**, que incluyen alimentos como las patatas, algunas manzanas y las nueces; y (3) **alimentos no perecederos**, como el azúcar y la harina. Los alimentos de estas categorías difieren principalmente por su *contenido de humedad*, que se mide por su actividad del agua (a_w, ↬ Sección 5.15). Los alimentos no perecederos tienen poca humedad y generalmente se pueden almacenar durante mucho tiempo sin que se estropeen. En cambio, los alimentos perecederos y semiperecederos suelen tener más humedad y, por tanto, se deben guardar en condiciones que inhiban el crecimiento microbiano.

Hay muchas bacterias y hongos diferentes que pueden estropear los alimentos frescos (Tabla 31.3). Las propiedades químicas de los alimentos son muy diferentes y cada uno se caracteriza por su humedad y los nutrientes que contiene, así como otros factores, como su acidez o alcalinidad. Como resultado, cada alimento deteriorable puede acabar estropeado por la acción

Tabla 31.3 Deterioro microbiano de los alimentos frescos[a]

Producto	*Tipo de microorganismo*	*Organismos deteriorantes habituales, por género*
Frutas y verduras	Bacterias	*Erwinia*, *Pseudomonas*, *Corynebacterium* (principalmente patógenos de verduras; rara vez estropean la fruta)
	Hongos	*Aspergillus, Botrytis, Geotrichum, Rhizopus, Penicillium, Cladosporium, Alternaria, Phytophthora*, levaduras
Carne fresca, aves de corral, huevos y marisco	Bacterias	*Acinetobacter, Aeromonas, Pseudomonas, Micrococcus, Achromobacter, Flavobacterium, Proteus, Salmonella, Escherichia, Campylobacter, Listeria*
	Hongos	*Cladosporium, Mucor, Rhizopus, Penicillium, Geotrichum, Sporotrichum, Candida, Torula, Rhodotorula*
Leche	Bacterias	*Streptococcus*, *Leuconostoc, Lactococcus, Lactobacillus, Pseudomonas, Proteus*
Alimentos ricos en azúcar	Bacterias	*Clostridium, Bacillus, Flavobacterium*
	Hongos	*Saccharomyces, Torula, Penicillium*

[a] Los organismos recogidos son los agentes deteriorantes que se encuentran con más frecuencia en los alimentos perecederos frescos. Muchos de estos géneros incluyen especies que son patógenos humanos (Capítulos 29, 30 y 32).

de un grupo específico de microorganismos. El tiempo necesario para que una población microbiana alcance un nivel significativo en un determinado producto alimentario depende tanto del tamaño del inóculo inicial como de la velocidad de crecimiento durante la fase exponencial. La cantidad inicial de microbios en un producto alimentario puede ser tan baja que no se observe ningún efecto medible, y que únicamente las últimas duplicaciones celulares produzcan un deterioro apreciable. Por tanto, una porción de un producto alimentario que es sabroso y comestible un día, puede estar muy estropeada al día siguiente.

El tipo de deterioro de los alimentos y la composición microbiana de la comunidad deteriorante (Tabla 31.3) varían según el producto alimentario y la temperatura de almacenamiento. Los microorganismos que estropean los alimentos a menudo son *psicrotolerantes*, lo que significa que aunque crecen mejor por encima de los 20 °C, también consiguen crecer a las temperaturas de refrigeración (3-5 °C) (↻ Sección 5.12). Sin embargo, a una determinada temperatura de almacenamiento, unas especies crecen más rápido que otras, por lo que la composición de la comunidad microbiana deteriorante para un mismo producto almacenado a diferentes temperaturas variará significativamente.

Conservación y fermentación de los alimentos

Los métodos de conservación y almacenamiento de los alimentos están diseñados para ralentizar o detener el crecimiento de los microorganismos que estropean los alimentos o que pueden provocar una enfermedad de origen alimentario. Los principales métodos para la conservación de los alimentos incluyen la variación de su temperatura, acidez o nivel de humedad, o su tratamiento con radiación o sustancias químicas que impiden el crecimiento microbiano.

La refrigeración ralentiza el crecimiento microbiano, pero un número importante de microorganismos, sobre todo bacterias, pueden crecer a temperaturas de refrigeración. El almacenamiento en el congelador doméstico reduce de forma considerable el crecimiento, pero puede darse un crecimiento lento en las bolsas de agua líquida atrapada dentro del alimento congelado. En general, una temperatura de almacenamiento más baja da lugar a un menor crecimiento microbiano y a que los alimentos se estropeen más lentamente, pero la conservación por debajo de −20 °C es demasiado cara para el uso cotidiano y también puede afectar negativamente el aspecto, la consistencia y sabor del alimento.

El calor reduce la carga bacteriana y llega a esterilizar un producto alimentario. Resulta especialmente útil para la conservación de los líquidos o de los alimentos con mucha humedad. El tratamiento limitado con calor de la **pasteurización** (↻ Sección 5.17) no esteriliza los líquidos, pero reduce la cantidad de microbios y elimina los patógenos. En cambio, el *enlatado* consigue esterilizar el alimento, pero requiere de un procesamiento cuidadoso en un contenedor hermético a la temperatura correcta durante el tiempo necesario. Si quedan microorganismos viables en una lata o en un bote de cristal, su crecimiento generará gases, lo que puede dar lugar a abombamientos o incluso explosiones (**Figura 31.7**). El ambiente dentro de una lata o bote herméticos es anóxico, y un género importante de bacterias anaerobias que pueden crecer en los alimentos enlatados

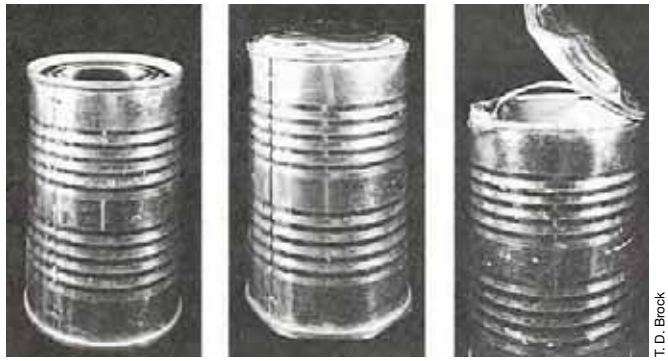


Figura 31.7 Cambios en las latas de conserva como consecuencia del deterioro microbiano. *(a)* Una lata normal. La parte superior de la lata está un poco retraída debido al ligero vacío normal del interior. *(b)* Hinchamiento debido a la producción de gas. *(c)* Se dejó caer la lata mostrada en *b* y la presión del gas originó una violenta explosión que separó la tapa.

es el esporulante *Clostridium*, una de cuyas especies provoca el botulismo (Sección 31.9).

Los alimentos se pueden secar bien mediante la eliminación física del agua o bien mediante la adición de solutos, como la sal o el azúcar. Los alimentos extremadamente secos o cargados de soluto ayudan a impedir el crecimiento bacteriano, pero aun así se pueden estropear, y cuando eso sucede se debe, normalmente, a los hongos. Muchos alimentos se conservan mediante la adición de una pequeña cantidad de sustancias químicas antimicrobianas. Estos compuestos, entre los que se incluyen nitritos, sulfitos, propionato y benzoato, junto a algunos otros, se emplean ampliamente en la industria alimentaria para realzar o conservar la textura, color, frescura o sabor del alimento. Aunque no esté muy extendido en muchos países, la *irradiación* de los alimentos con radiación ionizante también resulta un medio eficaz de reducir la contaminación microbiana.

Muchos alimentos y bebidas habituales se conservan gracias a la actividad metabólica de los microorganismos; son los *alimentos fermentados* (**Figura 31.8** y **Tabla 31.4**). La fermentación (Capítulos 3 y 13) produce una gran cantidad de conservantes



Figura 31.8 Alimentos fermentados. El pan, los embutidos de carne, los quesos, muchos derivados lácteos y las verduras encurtidas y fermentadas son productos alimenticios que se producen o mejoran por reacciones de fermentación catalizadas por microorganismos (véase también la Tabla 31.4).

UNIDAD 6

Tabla 31.4 Alimentos fermentados y microorganismos fermentadores

Categoría del alimento/conservante	*Principales microorganismos fermentadores*[a]
Derivados lácteos/ácido láctico, ácido propiónico	
Quesos	*Lactococcus, Lactobacillus, Streptococcus thermophilus, Propionibacterium* (queso suizo)
Leches fermentadas	
Suero lácteo y crema ácida	*Lactococcus*
Yogur	*Lactobacillus, Streptococcus thermophilus*
Bebidas alcohólicas/etanol	*Zymomonas*, *Saccharomyces*[b]
Pan de levadura/horneado	*Saccharomyces cerevisiae*[b]
Productos cárnicos/ácido láctico y otros ácidos	
Embutidos secos (chorizo, salchichón) y semisecos (mortadela, chóped)	*Pediococcus, Lactobacillus, Micrococcus, Staphylococcus*
Verduras/ácido láctico	
Col (chucrut)	*Leuconostoc*, *Lactobacillus*
Pepinillos (en vinagre)[c]	Bacterias acidolácticas
Vinagre/ácido láctico	*Acetobacter*
Salsa de soja/ácido láctico y muchas otras sustancias	*Aspergillus*[d], *Tetragenococcus halophilus*, levaduras

[a] A menos que se indique otra cosa, todas son especies de *Firmicutes,* excepto *Micrococcus* que se encuentra en las *Actinobacteria,* y *Zymomonas* y *Acetobacter*, que se encuentran entre las *Alphaproteobacteria*.
[b] Levadura. Se utilizan diferentes especies de *Saccharomyces* en las fermentaciones alchólicas. *S. cerevisiae* es la levadura habitual del pan.
[c] Los pepinillos sin fermentar están marinados en vinagre (ácido acético al 5-8 %).
[d] Moho.

químicos. Las principales bacterias importantes en la industria de los alimentos fermentados son las productoras de ácidos orgánicos, como las bacterias acidolácticas o bacterias del ácido láctico (en las leches fermentadas), las acetobacterias o bacterias del ácido acético (en los encurtidos) y las bacterias propiónicas o bacterias del ácido propiónico (en algunos quesos) (Tabla 31.4). La levadura *Saccharomyces cerevisiae* produce alcohol como conservante en la producción de bebidas alcohólicas. La elevada concentración de ácidos orgánicos o alcohol que generan estas fermentaciones impide tanto el crecimiento de organismos deteriorantes como de patógenos en el producto alimentario fermentado.

MINIRREVISIÓN

- Enumere los principales grupos de alimentos clasificados por su propensión al deterioro.
- Identifique los métodos físicos y químicos utilizados para la conservación de alimentos. ¿Cómo limita cada método el crecimiento de los microorganismos?
- Enumere algunos alimentos lácteos, cárnicos, bebidas y verduras producidos por la fermentación microbiana. ¿Cuál es el conservante en cada caso?

31.7 Enfermedades de origen alimentario y epidemiología de los alimentos

Las enfermedades de origen alimentario se parecen a las enfermedades transmitidas por el agua en que son enfermedades de *origen común*. La mayoría de los brotes de enfermedades de origen alimentario se deben a una incorrecta manipulación y preparación de los alimentos por parte de los consumidores domésticos; solo suelen afectar a unas pocas personas y rara vez se notifican. Sin embargo, los brotes ocasionales por fallos de seguridad en la manipulación y preparación de los alimentos en restaurantes o instalaciones de producción y distribución de alimentos pueden afectar a muchas personas en amplias áreas geográficas.

Enfermedades de origen alimentario y toma de muestras microbianas

Las enfermedades de origen alimentario más prevalentes en los Estados Unidos son las *infecciones alimentarias* y las *intoxicaciones alimentarias*; algunas enfermedades de origen alimentario caen en ambas categorías. Las afecciones de origen alimentario más frecuentes en los Estados Unidos son las infecciones alimentarias, responsables de cuatro de las cinco primeras enfermedades de origen alimentario. La **Tabla 31.5** recoge los principales microorganismos que provocan infecciones e intoxicaciones alimentarias en los Estados Unidos.

Ocho microorganismos concentran la gran mayoría de enfermedades de origen alimentario, hospitalizaciones y muertes en los Estados Unidos: especies de *Salmonella, Clostridium perfringens, Campylobacter jejuni, Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli* (todas bacterias); norovirus; y *Toxoplasma* (un protista) (Tabla 31.5). Cuatro de ellas (norovirus, *Salmonella, C. perfringens* y *Campylobacter*) concentran casi el 90 % de ellas, con el norovirus (Secciones 31.5 y 31.14) como responsable principal (60 %).

La **intoxicación alimentaria**, también denominada **envenenamiento alimentario**, se produce por la ingestión de alimentos contaminados con toxinas microbianas. Los microorganismos

Tabla 31.5 Principales patógenos transmitidos por los alimentos[a]

Organismo	*Enfermedad*[b]	*Alimentos*
Bacterias		
Bacillus cereus	Intx/Inf	Arroz y alimentos feculentos, alimentos azucarados, carnes, salsas, postres, leche en polvo
Campylobacter jejuni	Inf (4)[C]	Pollo, lácteos
Clostridium perfringens	Intx/Inf (3)[C]	Carne y verduras mantenidas a una temperatura de conservación inadecuada
Escherichia coli O157:H7	Inf	Carne, especialmente ternera picada, verduras crudas
Otras *Escherichia coli* enteropatógenas	Inf	Carne, especialmente ternera picada, verduras crudas
Listeria monocytogenes	Inf	Alimentos precocinados refrigerados
Salmonella spp.	Inf (2)[C]	Pollo, carne, productos lácteos, huevos
Staphylococcus aureus	Intx (5)[C]	Carne, postres
Streptococcus spp.	Inf	Lácteos, carne
Yersinia enterocolitica	Inf	Cerdo, leche
Resto de bacterias	Intx/Inf	
Protistas[d]		
Cryptosporidium parvum	Inf	Carne cruda y poco hecha
Cyclospora cayetanensis	Inf	Frutas y hortalizas frescas
Giardia intestinalis	Inf	Carne infectada o contaminada
Toxoplasma gondii	Inf	Carne cruda o poco hecha
Virus		
Norovirus	Inf (1)[C]	Marisco, otros muchos alimentos
Hepatitis A	Inf	Marisco y algunos otros alimentos consumidos crudos

[a] Datos de los centros para el control y la prevención de enfermedades, Atlanta, Georgia, Estados Unidos.
[b] Intx: intoxicación alimentaria; Inf: infección alimentaria.
[c] El número entre paréntesis indica el orden entre los cinco primeros patógenos transmitidos por los alimentos en los Estados Unidos.
[d] Todos estos protistas se explican en el Capítulo 32.

que producen las toxinas no tienen por qué crecer en el hospedador, e incluso pueden no estar vivos en el momento en que se consume el alimento contaminado; es la ingestión y la actividad de la toxina lo que produce la enfermedad. Se han explicado con anterioridad algunas de estas toxinas, en particular la exotoxina de *Clostridium botulinum* y las toxinas superantigénicas de *Staphylococcus* y *Streptococcus* (↔ Secciones 23.9 y 24.9). A diferencia de la intoxicación alimentaria, la **infección alimentaria** se produce por la ingestión de alimentos que contienen una cantidad suficiente de patógenos viables capaces de colonizar y crecer en el hospedador, lo que provoca, finalmente, la enfermedad.

Se han desarrollado métodos de diagnóstico rápido que no requieren el cultivo de un organismo para detectar patógenos alimentarios importantes, y muchos de ellos se describieron en el Capítulo 27. El aislamiento de los patógenos a partir de los alimentos normalmente requiere el tratamiento preliminar de los alimentos para extraer los microorganismos que llevan impregnados o que han quedado atrapados en ellos. Un método normalizado con este propósito emplea un mezclador llamado *homogeneizador* (**Figura 31.9**), en el que se procesan las muestras de alimentos dentro de bolsas estériles y herméticas. Las paletas del homogeneizador machacan, mezclan y homogeneizan las muestras de forma similar a como lo hacen los movimientos peristálticos del estómago, pero sin que se contamine la muestra. En las muestras homogeneizadas se analizan luego determinados patógenos o sus productos.



Figura 31.9 **Homogeneizador.** Las paletas del mezclador especializado baten la muestra de alimento en una bolsa estéril y hermética. La muestra se suspende primero en una solución estéril para formar una mezcla uniforme.

Además de identificar los patógenos del propio alimento, los investigadores también deben obtener el patógeno del propio paciente enfermo para establecer una correlación de causa y

efecto entre el patógeno y la enfermedad. De hecho, la identificación de la *misma cepa* de un patógeno concreto en los pacientes y en el alimento que se sospecha que está contaminado constituye la «prueba definitiva» para relacionar la causa y el efecto en un brote de enfermedad de origen alimentario. Existen muchas técnicas microbiológicas, inmunológicas y moleculares para ello (Capítulo 27).

Epidemiología de las enfermedades de origen alimentario

Se puede producir un brote de una enfermedad de origen alimentario en una vivienda, en la cafetería de la facultad, en un comedor universitario, en un restaurante, en un comedor militar o en cualquier lugar donde muchos individuos consuman un alimento contaminado. Además, las instalaciones centralizadas de procesamiento de alimentos y los centros de distribución de alimentos aumentan la probabilidad de que los alimentos contaminados provoquen brotes de la enfermedad lejos de donde este se procesó originalmente. El trabajo del epidemiólogo alimentario es rastrear estos brotes y determinar su origen, a menudo hasta el sitio exacto donde se contaminó el alimento.

Un buen ejemplo de rastreo eficaz de una enfermedad de origen alimentario es el brote de 2006 ocasionado por *Escherichia coli* O157:H7 (véase la Sección 31.11 y la Figura 31.14) en los Estados Unidos. Mediante cultivos y estudios moleculares, este brote se relacionó con el consumo de bolsas de espinacas contaminadas, y se rastreó con rapidez hasta un centro de procesamiento de alimentos en California. Las espinacas contaminadas se distribuyeron a escala nacional desde la planta de California, pero la mayoría de enfermos estaban en el medio oeste. En el verano de 2013 se produjo otro brote «embolsado» en el medio oeste, pero en este caso estaba relacionado con las lechugas y no con las espinacas, y con el parásito *Cyclospora cayetanensis* (↪ Sección 32.4) en vez de con la bacteria *E. coli*.

Para ser eficaces, los rastreadores de las enfermedades de origen alimentario deben trabajar con rapidez. Por ejemplo, cuando a finales de agosto apareció el primer caso del brote de las espinacas con *E. coli*, se tardó menos de un mes en conectarlo con el producto específico de espinacas. Como *E. coli* O157:H7 es un patógeno bien conocido, las autoridades sanitarias consiguieron identificar con rapidez la cepa que contaminó las espinacas embolsadas. Entonces, las autoridades siguieron la pista de esta cepa hasta la planta de procesamiento y, finalmente, identificaron que el origen del patógeno estaba en un campo de cultivo cercano a la planta de procesamiento. Aunque sigue sin aclararse cómo se contaminaron las espinacas, probablemente la fuente fue el estiercol de animales domésticos. Durante el brote, dos redes de seguimiento de enfermedades de origen alimentario fueron claves para la exposición y finalización de este brote: *FoodNet* (centros para el control y la prevención de enfermedades) y *PulseNet* (una red internacional de tipado molecular para enfermedades de origen alimentario).

La epidemia de *E. coli* de las espinacas, aunque grave e incluso mortal para algunos, se descubrió, se contuvo y se detuvo con mucha rapidez. Sin embargo, el incidente demuestra que las instalaciones centralizadas de procesamiento de alimentos pueden diseminar rápidamente enfermedades a poblaciones distantes. Debido a esto, se deben mantener unos estándares de higiene alimentaria y un seguimiento al más alto nivel posible en todo momento en los restaurantes y en las dependencias de los centros de distribución y procesamiento de los alimentos.

MINIRREVISIÓN

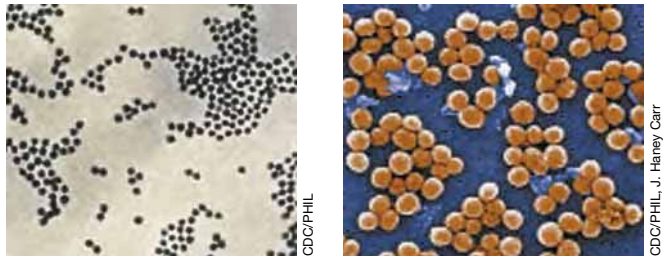
- Distinga entre infección alimentaria e intoxicación alimentaria.
- Describa los procedimientos para tomar muestras microbianas de alimentos sólidos como la carne.
- Describa cómo se sigue la pista de un brote de enfermedad transmitida por los alimentos.

IV • Intoxicaciones alimentarias

La intoxicación alimentaria la pueden provocar diferentes bacterias y unos pocos hongos. Aquí tratamos *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum* y *Clostridium perfringens*, las causas más habituales de intoxicación alimentaria por bacterias. Dos de ellas, *S. aureus* y *C. perfringens,* están entre las cinco primeras causas de enfermedades de origen alimentario (Tabla 31.5).

31.8 Intoxicación alimentaria por estafilococos

Una potente intoxicación alimentaria tiene su origen en las enterotoxinas producidas por la bacteria grampositiva *Staphylococcus aureus* (**Figura 31.10**; ↪ Sección 15.7), un microorganismo generalmente asociado a la piel y a las vías respiratorias superiores, que provoca con frecuencia el pus de las heridas (↪ Sección 29.9 y Figura 29.30). Puede crecer de forma aerobia o anaerobia en muchos alimentos habituales y produce enterotoxinas termoestables que, una vez consumidas, causan uno o varios síntomas digestivos, como náuseas, vómitos, diarrea y deshidratación. El comienzo de los síntomas es rápido, de 1-6 h después de la ingestión según la cantidad de enterotoxina consumida, pero los síntomas normalmente remiten en 48 h.



(a) *(b)*

Figura 31.10. ***Staphylococcus aureus.*** *(a)* Imagen al microscopio óptico con la tinción de Gram, donde se muestra el típico aspecto de «racimo de uvas» de los estafilococos. *(b)* Imagen coloreada al microscopio electrónico de barrido de las células de *S. aureus*. Cada célula tiene un diámetro aproximado de 0,8 µm.

Enterotoxinas estafilocócicas

S. aureus sintetiza diferentes enterotoxinas relacionadas entre sí. Muchas son bastante termoestables y todas resisten la acidez del estómago. La mayoría de cepas de *S. aureus* producen solo una o dos de estas toxinas y otras cepas no las producen. Sin embargo, cualquiera de las enterotoxinas estafilocócicas puede causar intoxicación alimentaria. Las toxinas pasan por el estómago para llegar al intestino delgado, donde desencadenan los síntomas de la enfermedad. Además de su actividad gastrointestinal normal, las enterotoxinas estafilocócicas son también *superantígenos* y pueden conducir a un síndrome de choque tóxico potencialmente mortal (↻ Secciones 23.9 y 24.9).

Las enterotoxinas de *S. aureus* se nombran con acrónimos que empiezan con «SE» (del inglés *staphylococcus enterotoxin*): SEA, SEB, SEC y SED, codificadas por los genes *sea*, *seb*, *sec* y *sed*. No todos estos genes se encuentran en el cromosoma de *S. aureus,* pero sus secuencias demuestran que están muy relacionados. Los genes *seb* y *sec* están codificados en el cromosoma bacteriano, *sea* en un bacteriófago lisogénico (↻ Sección 8.8) y *sed* en un plásmido. Los genes codificados por el plásmido y el fago pueden transferir la capacidad de sintetizar toxinas a las cepas no toxingénicas de *Staphylococcus* mediante transferencia horizontal (Capítulo 10). La SEA es la causa más habitual de intoxicación alimentaria por estafilococos en todo el mundo.

Propiedades y prevención de las enfermedades

Los alimentos pueden contener células de *S. aureus* por varios motivos. Uno es que el microorganismo estuviera presente en la propia fuente del alimento, por ejemplo, en un producto cárnico. Pero lo más corriente es que las células de *S. aureus* se introduzcan en el alimento por culpa del manipulador del alimento o por contaminación del producto alimenticio con carne cruda, o con una salsa o aliño contaminados. Una situación habitual para que se produzca un incidente de intoxicación alimentaria por estafilococos es cuando se introduce *S. aureus* en el alimento por las secreciones nasales, o por una herida cutánea descubierta o con un vendaje supurante, de un manipulador de alimentos. Si el alimento contaminado se conserva entonces a temperatura ambiente o algo más alta, se darán las condiciones para el crecimiento rápido de *S. aureus* y la producción de enterotoxinas estafilocócicas.

Cada año se estima que se producen casi 250.000 casos de intoxicación alimentaria estafilocócica en los Estados Unidos. Los alimentos que suelen provocarlas con más frecuencia son las pastas rellenas de crema o nata, la carne de ave, los huevos, la carne cruda y procesada, los budines y los aliños cremosos para ensaladas. Las ensaladas preparadas con condimentos a base de mayonesa o las que contienen marisco, pollo, pasta, atún, patata, huevos o carne también son vehículos corrientes. Los alimentos salados, como el jamón, pueden ser vehículos por la capacidad que tiene *S. aureus* para crecer rápidamente en los entornos salados (↻ Sección 29.9). Si alguno de estos alimentos está contaminado con *S. aureus,* pero se refrigera inmediatamente después de prepararlo, normalmente sigue siendo seguro porque el organismo crece mal a temperaturas bajas. Pero si ya se hubiera sintetizado la enterotoxina, el posterior calentamiento de la comida no le devuelve la seguridad, ya que las enterotoxinas estafilocócicas son estables hasta los 60 °C.

De nada sirve tratar con antibióticos una intoxicación alimentaria por estafilococos porque toda célula de *S. aureus* que se haya ingerido muere por la acidez del estómago y los antibióticos no tienen efecto sobre las enterotoxinas. Al igual que para otras enfermedades de origen alimentario, la intoxicación alimentaria estafilocócica se puede prevenir mediante saneamiento e higiene adecuados durante la producción, preparación y almacenamiento de los alimentos. En este sentido, los manipuladores de alimentos deben acostumbrarse a lavarse las manos a fondo y con frecuencia, a evitar que los alimentos entren en contacto con los tejidos y las secreciones nasales, y, por norma, a usar guantes desechables (y a cambiarlos con frecuencia) cuando manipulen productos alimentarios, en especial si tienen una herida vendada en la mano.

MINIRREVISIÓN

- Identifique los síntomas y el mecanismo de la intoxicación alimentaria por estafilococos.
- ¿Por qué el tratamiento con antibióticos no afecta al desenlace ni a la intensidad de la enfermedad por intoxicación alimentaria con estafilococos?

31.9 Intoxicación alimentaria por clostridios

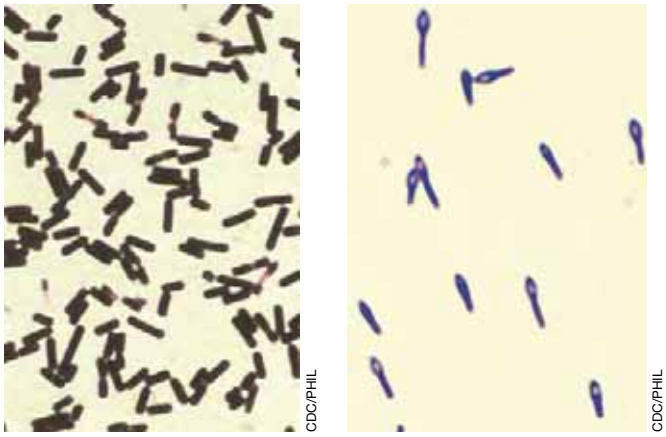
Las bacterias anaerobias formadoras de endosporas *Clostridium perfringens* y *Clostridium botulinum* (↻ Sección 15.8) provocan intoxicaciones alimentarias graves. Los procedimientos de enlatado y cocinado matan las células vegetativas de estas especies, pero puede que no maten a las endosporas. Si esto llega a ocurrir, las endosporas viables pueden germinar en el alimento y las células resultantes producirán toxinas.

Hay una clara diferencia en el proceso de la enfermedad entre la intoxicación alimentaria por *C. perfringens* y el botulismo. En el caso del botulismo, la toxina es una neurotoxina, y es su presencia la que produce la enfermedad; no es necesario que *C. botulinum* crezca en el cuerpo humano, pero podría darse, en particular en los casos de botulismo en los lactantes. En cambio, la intoxicación alimentaria por *C. perfringens* requiere la ingestión de gran número de células para que se sintetice la toxina, una enterotoxina en este caso.

Intoxicación alimentaria por *Clostridium perfringens*

Clostridium perfringens (**Figura 31.11*a***) se encuentra habitualmente en el suelo, pero puede encontrarse también en las aguas residuales porque vive en pequeña cantidad en el intestino de los humanos y de otros animales. *C. perfringens* es la tercera causa de intoxicación alimentaria más registrada en los Estados Unidos, por detrás de las enfermedades por norovirus (Secciones 31.5 y 31.14) y las infecciones por *Salmonella* (Sección 31.10 y Tabla 31.5). En 2011 se estimó que se habían producido cerca de 1 millón de casos de intoxicación por *C. perfringens* en los Estados Unidos.

C. perfringens es una bacteria proteolítica; cataboliza proteínas mediante fermentación (↻ Sección 13.13). La intoxicación alimentaria por *C. perfringens* requiere que se ingiera una gran dosis ($>10^8$) de células del microorganismo con los alimentos contaminados cocinados o crudos, normalmente alimentos de



(a) (b)

Figura 31.11 Intoxicación alimentaria por Clostridium. *(a)* Tinción de Gram de un cultivo en crecimiento de *Clostridium perfringens*, la bacteria que provoca la intoxicación alimentaria. Una célula mide aproximadamente 1 × 3 µm. *(b)* Tinción de Gram de un cultivo esporulante de *Clostridium botulinum*, el causante del botulismo. Cada célula mide aproximadamente 1 × 5 µm.

alto contenido proteico, como carne, pollo y pescado. *C. perfringens* crece en los platos de carne cocinados en grupo, donde la penetración de calor es a menudo insuficiente. También crece rápidamente en la comida, sobre todo si se deja enfriar a temperatura ambiente. La enterotoxina se sintetiza cuando comienza la esporulación. La toxina altera la permeabilidad del epitelio intestinal, lo que conduce a náuseas, diarrea y cólicos. La intoxicación alimentaria por *C. perfringens* comienza típicamente entre 7-15 h después del consumo del alimento contaminado y suele remitir en 24 h; su mortalidad es muy baja.

El diagnóstico de la intoxicación alimentaria por *C. perfringens* se hace a partir del aislamiento del microorganismo en las heces o, con más fiabilidad, mediante un inmunoensayo capaz de detectar la enterotoxina en las heces. La prevención de la intoxicación alimentaria por *C. perfringens* requiere que los alimentos cocinados no se contaminen con alimentos crudos y que todos se calienten lo necesario durante el cocinado y el enlatado casero. La enterotoxina de *C. perfringens* es termosensible, con lo que la que se haya podido sintetizar en un producto alimenticio se destruye con un calentamiento adecuado (75 °C). Los alimentos cocinados se deben refrigerar lo antes posible a baja temperatura para inhibir el crecimiento de las células de *C. perfringens* que queden con vida.

Botulismo

El **botulismo** es una intoxicación alimentaria grave, y potencialmente mortal, ocasionada por el consumo de alimentos contaminados con la exotoxina producida por *C. botulinum* (Figura 31.11*b* y véase la página 903). Esta bacteria suele vivir en el suelo o en el agua, pero tanto sus células como sus endosporas pueden contaminar los alimentos crudos y procesados. Si endosporas viables de *C. botulinum* permanecen en el alimento, podrán germinar y producir la toxina botulínica; la ingestión de una cantidad, por pequeña que sea, de esta toxina enormemente tóxica puede provocará una enfermedad grave o incluso la muerte.

La toxina botulínica es una neurotoxina que afecta al sistema nervioso autónomo, que controla las funciones claves como la respiración y el latido cardíaco; el resultado típico de esto es una parálisis flácida (↔ Sección 23.9). Se conocen, al menos, siete toxinas botulínicas diferentes. Como se destruyen con calor (80 °C durante 10 minutos), el alimento bien cocinado, incluso si está contaminado con la toxina, resulta inocuo. La mayoría de los casos de botulismo de origen alimentario se deben a conservas caseras que no se procesaron bien, en especial de los alimentos que no son ácidos, como el maíz y las judías. Cualquier endospora viable de *C. botulinum* que haya quedado en el interior de un frasco hermético (y ahora anóxico), podrá germinar durante el almacenamiento y producirá la toxina. Muchos de estos alimentos se utilizan sin cocinar cuando se preparan ensaladas frías y, por tanto, no se habrá destruido la toxina botulínica presente. Así pues, la prevención del botulismo de origen alimentario requiere de un esmerado cuidado durante el enlatado y otras prácticas similares de conservación de los alimentos.

Aunque los bebés se puedan intoxicar con alimentos contaminados con la toxina, la mayoría de los casos de botulismo en los lactantes se producen porque la toxina se sintetiza tras la *infección* real del lactante con *C. botulinum*. Este es el caso de los lactantes hasta cerca de los 2 meses de edad al carecer de una microbiota intestinal bien desarrollada que pueda competir con *C. botulinum*. Las endosporas de *C. botulinum* ingeridas germinan en el intestino del lactante, donde crecerán y sintetizarán la toxina. El botulismo por herida también se puede producir debido a una infección, presumiblemente por las endosporas presentes en el material introducido a través de una vía parenteral. El botulismo por herida se asocia con mucha frecuencia al consumo ilícito de drogas inyectables.

Todas las formas de botulismo son poco frecuentes. En los Estados Unidos se observan cada año unos 150 casos, de los que cerca del 70 % se dan en los lactantes, el 15 % son por herida y el 15 % es de origen alimentario. Sin embargo, su enorme gravedad procede de su elevada tasa de mortalidad cuando no se trata. Como la mayoría de casos se diagnostican y se tratan, la mortalidad no llega al 5 %. El botulismo se diagnostica cuando en el paciente (o en el alimento contaminado) se detectan la toxina *botulínica* o las células de *C. botulinum* junto con observaciones clínicas de parálisis localizada (pérdida de la visión y del habla) entre 18 y 24 h después de la ingestión del alimento contaminado. El tratamiento del botulismo consiste en la administración de la antitoxina botulínica si el diagnóstico es temprano, y en respiración mecánica si los signos de parálisis respiratoria ya han aparecido. Si la dosis de la toxina no es demasiado alta, el botulismo del lactante se suele autolimitar y la mayoría de los bebés se recuperan simplemente con tratamiento complementario, como la respiración asistida.

MINIRREVISIÓN

- Parecidos y diferencias entre la producción de la toxina y la toxemia en el botulismo y la intoxicación alimentaria por *C. perfringens*.
- Describa las diferencias entre la transmisión del botulismo en los adultos respecto a los lactantes.

V • Infecciones alimentarias

La infección alimentaria es el resultado de la ingestión de alimentos con una cantidad suficientemente alta de patógenos viables que permita el crecimiento del patógeno y que haga enfermar al hospedador. Las infecciones alimentarias son muy corrientes, con una cifra total de casos que, en los Estados Unidos, es diez veces superior a la de intoxicaciones alimentarias. En las Secciones 23.1 y 23.6-23.8 se revisa el proceso de infección y se resumen las etapas mediante las que los microorganismos (tanto amigos como enemigos) se adhieren y se establecen en los tejidos del hospedador.

31.10 Salmonelosis

La **salmonelosis** es una enfermedad gastrointestinal provocada por la ingestión de un alimento contaminado con *Salmonella* o por manipular animales o productos animales contaminados con *Salmonella* (**Figura 31.12**). En los Estados Unidos, la salmonelosis es la infección alimentaria bacteriana más frecuente y la segunda por el número total de casos, solo después del norovirus. Los síntomas comienzan después de que el patógeno (un bacilo gramnegativo aerobio facultativo emparentado con *Escherichia coli* (↬ Sección 15.3 y Figura 31.13) colonice el epitelio intestinal. Las especies de *Salmonella* suelen vivir en el intestino de los animales homeotermos y de muchos poiquilotermos (Figura 31.12), y son corrientes en las aguas residuales. Así pues, algunos casos de salmonelosis son infecciones de transmisión hídrica en vez de alimentaria, en especial en el caso de la fiebre tifoidea (Sección 31.5).


CDC/PHIL, Eric Grafman

(a)


CDC/PHIL, James Gathany

(b)


CDC/PHIL, James Gathany

(c)


Michael T. Madigan

(d)

Figura 31.12 **Algunas fuentes de *Salmonella*.** *(a)* El pollo contiene salmonelas en el intestino y en los excrementos. *(b)* Las salmonelas se puede transferir a los humanos a partir de *(b)* reptiles y *(c)* anfibios. *(d)* Carne pollo cruda y huevos.

El adjetivo de especie aceptado para las *Salmonella* patógenas es *enterica* y hay siete subespecies de *S. enterica*. La mayoría de las salmonelas humanas pertenecen al grupo de *S. enterica* subespecie *enterica*. Cada subespecie también se divide en *serovars* o serotipos (variantes serológicas). Así pues, hay *Salmonella enterica* serovar Typhi, *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, etc. Las *S. enterica* serovars Typhimurium y Enteriditis son las que con más frecuencia se relacionan con la salmonelosis de origen alimentario.

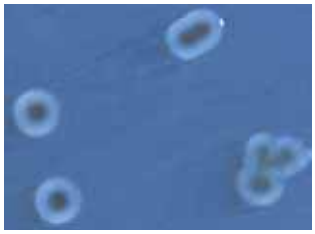
Patogenia y epidemiología

La forma más habitual de salmonelosis es la *enterocolitis*. La ingestión de alimento con células viables de *Salmonella* da lugar a la colonización del intestino grueso y delgado. Desde aquí, las células de *Salmonella* invaden los fagocitos, crecen dentro de ellos, y se propagan a las células adyacentes a medida que las células hospedadoras mueren. Tras la invasión, la *Salmonella* patógena despliega varios factores de virulencia que incluyen endotoxinas, enterotoxinas y citotoxinas que dañan y matan las células hospedadoras (↬ Secciones 23.9 y 23.10). Los síntomas de la enterocolitis aparecen típicamente entre 8-48 h después de la ingestión, e incluyen cefalea, escalofríos, vómitos y diarrea, seguidos de una fiebre que puede durar varios días. La enfermedad acaba remitiendo sin intervención al cabo de 2-5 días. Sin embargo, tras la recuperación, los pacientes pueden propagar el microorganismo por las heces durante varias semanas y algunos se convierten en portadores sanos. Unos pocos serotipos de *S. enterica* pueden causar también septicemia (la infección de la sangre) y fiebre entérica o tifoidea, una enfermedad potencialmente mortal caracterizada por una infección sistémica y fiebre alta durante varias semanas (Sección 31.5).

La incidencia de la salmonelosis en los Estados Unidos ha sido estable durante la última década, con alrededor de un millón de casos al año. *Salmonella* puede entrar por varias vías en el suministro de alimentos, como la contaminación fecal por los manipuladores de los alimentos. Los animales para la producción de alimentos, como pollos, cerdos y vacas, albergan serotipos de *Salmonella* que son patógenos humanos, y pueden llegar las personas a través de alimentos frescos, como huevos, carnes y productos lácteos (Figura 31.12). Las infecciones alimentarias de *Salmonella* a menudo parten de productos tales como natillas, pasteles de crema, merengues, tartas y ponches de huevo hechos con huevos crudos. Otros alimentos que suelen intervenir en los brotes de salmonelosis son las carnes y los productos cárnicos, en especial carne de ave, embutidos curados crudos, y otras carnes, leche y derivados lácteos. La simple manipulación de los animales contaminados con *Salmonella* (Figura 31.12) también puede contagiar la salmonelosis.

Diagnóstico, tratamiento y prevención

La salmonelosis de origen alimentario se diagnostica con una combinación de síntomas clínicos, antecedentes de consumo reciente de alimentos de alto riesgo y cultivo del microorganismo a partir de las heces. Se utilizan medios diferenciales selectivos para aislar la salmonela y discriminarla de otras enterobacterias gramnegativas (**Figura 31.13**). Las pruebas para detectar la presencia de *Salmonella* se llevan a cabo habitualmente en



(a)



(b)

Figura 31.13 Aislamiento de *Salmonella*. *(a)* Colonias de *S. enterica* serovar Typhimurium en agar de Hektoen, que contiene inhibidores de bacterias grampositivas, y lactosa y peptona como fuentes de carbono. La salmonela reduce el tiosulfato del medio a H_2S, que reacciona con el hierro y forma FeS negro. Las salmonelas forman colonias blancas (porque no fermentan la lactosa) con centros de FeS negros, un patrón único entre las bacterias entéricas. *(b)* Tinción de Gram de las células de *Salmonella*.



(a)



(b)

Figura 31.14 *Escherichia coli* patógena. *(a)* Tinción de Gram que muestra el típico aspecto gramnegativo en forma de bacilo de *E. coli*. *(b)* Imagen coloreada de microscopia electrónica de barrido de células de *E. coli* O157:H7. Las células miden aproximadamente 1 × 3 µm.

los alimentos de origen animal, como carne cruda, pollos, huevos y leche en polvo, e incluyen varias pruebas rápidas (Capítulo 27) que se basan en procedimientos de enriquecimiento para incrementar el número de células de *Salmonella* hasta una cantidad medible.

La enterocolitis no suele necesitar tratamiento, y la administración de antibióticos no acorta el curso de la enfermedad ni elimina el estado del portador. Los alimentos con salmonelas que se calienten por lo menos a 70 °C suelen volverse inocuos si se consumen inmediatamente, se mantienen a 50 °C o más, o se guardan rápidamente a 4 °C. En cualquier alimento contaminado por un manipulador de alimentos infectado podrá producirse el crecimiento de salmonelas si se guarda durante un tiempo suficientemente largo, en especial si no se guarda ni muy caliente ni refrigerado.

MINIRREVISIÓN

- Describa la infección alimentaria de la salmonelosis. ¿En qué se distingue una infección alimentaria de una intoxicación alimentaria?
- ¿Cómo se podría evitar que los animales para producción de alimentos se contaminen con *Salmonella*?

31.11 Cepas patógenas de *Escherichia coli*

La mayoría de cepas de *Escherichia coli* son habituales de la microbiota del colon humano y no son patógenas. Sin embargo, una cuantas cepas son potenciales patógenos alimentarios (y a veces también transmitidos por el agua) (**Figura 31.14**) y producen potentes enterotoxinas. Estas cepas patógenas se agrupan por el tipo de toxina que sintetizan y los síndromes patológicos específicos. Aquí nos centramos en la *E. coli* productora de la toxina de Shiga y tratamos brevemente algunas otras cepas toxinógenas de *E. coli*.

Aunque no se encuentran entre los «cinco primeros» patógenos de infecciones de origen alimentario (Tabla 31.5), las cepas de *E. coli* patógenas provocan síntomas de enfermedad tan graves que a menudo requieren la hospitalización. De hecho, las infecciones con *E. coli* patógenas pueden causar una enfermedad diarreica potencialmente mortal y dolor en las vías urinarias.

Escherichia coli productora de la toxina de Shiga (STEC)

Las cepas de *Escherichia coli* productoras de la toxina de Shiga (STEC, del inglés *Shiga toxin-producing Escherichia coli*) producen *verotoxina*, una enterotoxina parecida a la toxina de Shiga producida por *Shigella dysenteriae* (↬ Tabla 23.5), una pariente cercana de *E. coli*. Las cepas STEC de *E. coli* también se denominan *E. coli enterohemorrágicas* (EHEC, del inglés *enterohemorrhagic E. coli*). La STEC más ampliamente distribuida es *E. coli* O157:H7 (Figura 31.14*b*). Tras ingerir alimento o agua con STEC, las bacterias infectan el intestino delgado, donde crecen y producen la verotoxina, que provoca una diarrea hemorrágica e inicia los signos de insuficiencia renal.

Casi la mitad de las infecciones por STEC están causadas por el consumo de carne contaminada poco hecha o cruda, en particular la carne de vaca picada que se procesa en masa. *E. coli* O157:H7 suele estar presente en el intestino de las reses sanas y pasa a la cadena de alimentos humana si la carne queda contaminada con el contenido intestinal del animal durante el sacrificio y el procesamiento. Las cepas STEC también han estado implicadas en los brotes de infección alimentaria ocasionados por productos lácteos (en especial los derivados de la leche sin pasteurizar), fruta fresca y verduras crudas. La contaminación de los alimentos frescos por materia fecal, típicamente cuando el ganado es portador de cepas STEC, ha estado implicada en varios de estos casos (Sección 31.7).

Otras *Escherichia coli* patógenas

Los niños en los países en vías de desarrollo a menudo contraen enfermedades diarreicas provocadas por *E. coli*, que también puede ser la causa de la «diarrea del viajero», una infección corriente que causa una diarrea acuosa (a diferencia de la diarrea hemorrágica de las cepas STEC) en quienes viajan a países en vías de desarrollo. La causa principal son las *E. coli enterotoxinógenas* (ETEC, del inglés *enterotoxigenic E. coli*), que infectan el intestino delgado y sintetizan una de las dos enterotoxinas termosensibles inductoras de diarrea.

En los estudios con ciudadanos de los Estados Unidos que viajan a México, la tasa de infección con ETEC es a menudo mayor del 50 %. Los vehículos principales son los alimentos perecederos, como verduras frescas (por ejemplo, la lechuga para

ensaladas) y el abastecimiento público de agua. La población local suele ser resistente a las cepas de ETEC debido a que llevan mucho tiempo en contacto con el microorganismo. Otras cepas de *E. coli* patógenas incluyen cepas de *E. coli enteropatógenas* (EPEC) que provocan enfermedades diarreicas en los lactantes y en los niños pequeños, pero que ni provocan una enfermedad invasiva ni producen toxinas, y cepas de *E. coli enteroinvasivas* (EIEC, del inglés *enteroinvasive E. coli*), que invaden el colon y causan una diarrea acuosa y a veces una diarrea hemorrágica.

Diagnóstico, tratamiento y prevención

La pauta general establecida para el diagnóstico, tratamiento y prevención de la infección por STEC refleja los procedimientos que se utilizan hoy en día para todas las cepas de *E. coli* patógenas. El diagnóstico de laboratorio requiere el cultivo de las heces y la identificación de los antígenos O (lipopolisacárido) y H (flagelar) y de las toxinas mediante métodos inmunológicos. La identificación y el tipado también se pueden hacer con diferentes análisis moleculares.

El tratamiento de las infecciones por STEC incluye el tratamiento complementario contra la deshidratación y la vigilancia del funcionamiento renal, de la hemoglobina de la sangre, y de las plaquetas. Los antibióticos podrían resultar perjudiciales porque pueden favorecer la liberación de una gran cantidad de verotoxina desde las células de *E. coli* que mueren, que de otra manera se evacuarían intactas con las heces. Se administra un tratamiento complementario para otras infecciones de *E. coli* patógenas, y, para los casos graves y la enfermedad invasiva, se administran fármacos antimicrobianos para acortar y eliminar la infección.

La manera más eficaz de prevenir la infección con *E. coli* patógenas de cualquier tipo consiste en lavar a conciencia los alimentos crudos y asegurarse de que la carne, sobre todo la carne picada de vaca, se cocina a fondo, lo que significa que debe aparecer gris o marrón con jugos transparentes y haber alcanzado una temperatura de más de 70 °C. En general, una manipulación adecuada de los alimentos, la purificación del agua y una higiene adecuada también impiden la propagación de las *E. coli* patógenas. Durante los viajes, la diarrea por *E. coli* patógenas se puede evitar bebiendo solo agua embotellada y convenientemente precintada, y evitando los alimentos crudos.

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué se diferencian las cepas STEC de *Escherichia coli* de otras *E. coli* patógenas?
- ¿Por qué la carne constituye el vehículo principal para las *E. coli* patógenas? ¿Cómo se consigue que la carne contaminada se pueda comer con tranquilidad?

31.12 *Campylobacter*

Junto con la salmonelosis (Sección 31.10) y la intoxicación alimentaria por *C. perfringens* (Sección 31.9), las infecciones de origen alimentario por *Campylobacter* son las más frecuentes en los Estados Unidos (Tabla 31.5). Las células de *Campylobacter* son *Epsilonproteobacterias* gramnegativas con forma de espiral y móviles (↻ Sección 15.5) que crecen mejor en una presión parcial de oxígeno baja (microaerófilas). Se conocen

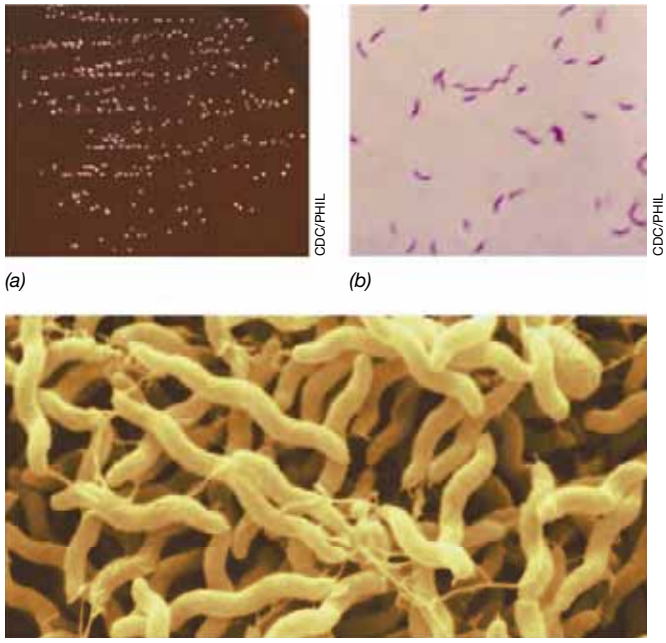


Figura 31.15 Campylobacter. *(a)* Colonias de *C. jejuni* crecidas en agar para *Campylobacter*, un medio selectivo. El medio contiene varios antibióticos a los que las especies de *Campylobacter* son resistentes de forma natural. *(b)* Tinción de Gram. *(c)* Imagen de microscopía electrónica de barrido de células de una especie de *Campylobacter*. Cada célula tiene un tamaño promedio de 0,4 × 2 µm.

varias especies de *Campylobacter*, pero *C. jejuni* y *C. fetus* (**Figura 31.15**) se suelen asociar con más frecuencia a las enfermedades humanas de origen alimentario.

Epidemiología y patología

Campylobacter se transmite a los humanos a través de alimento contaminado, con mucha frecuencia en la carne avícola o de cerdo poco hecha, marisco crudo o, de vez en cuando, en agua contaminada con heces de fuentes superficiales. *C. jejuni* vive con normalidad en el tubo digestivo de las aves de corral y, según el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, hasta el 90 % de las carcasas de pollo y pavo están contaminadas con *Campylobacter*. El cerdo también puede ser portador, mientras que muy rara vez aparece en la ternera. Las especies de *Campylobacter* también infectan a los animales domésticos, como los perros, causándoles una forma más leve de diarrea que la observada en los humanos. Las infecciones por *Campylobacter* en los lactantes suelen deberse a animales domésticos infectados, en especial los perros.

Después de la ingestión de células de *Campylobacter*, el microorganismo se multiplica en el intestino delgado, invade el epitelio y provoca una inflamación. Como *C. jejuni* es sensible a la acidez gástrica, se necesitan al menos 10^4 células para iniciar la infección. Sin embargo, este número se puede reducir a menos de 500 células si el patógeno se ingiere con el alimento o si la persona está tomando medicación para reducir la producción de ácidos gástricos. Los síntomas de la infección por *Campylobacter* son una fiebre alta (normalmente más de 40 °C), cefalea, malestar, náuseas, dolor abdominal y diarrea

acuosa que con frecuencia es sanguinolenta; los síntomas remiten al cabo de una semana, aproximadamente.

Diagnóstico, tratamiento y prevención

El diagnóstico de una infección alimentaria por *Campylobacter* requiere el aislamiento del microorganismo de las heces y su identificación mediante pruebas de cultivo, ensayos inmunológicos o análisis genómicos. Para aislar selectivamente este organismo se han elaborado medios de cultivo que contienen varios antibióticos a los que *Campylobacter* es resistente de forma natural (Figura 31.15*a*). También existen diferentes métodos inmunológicos para diagnosticar una infección por *Campylobacter*.

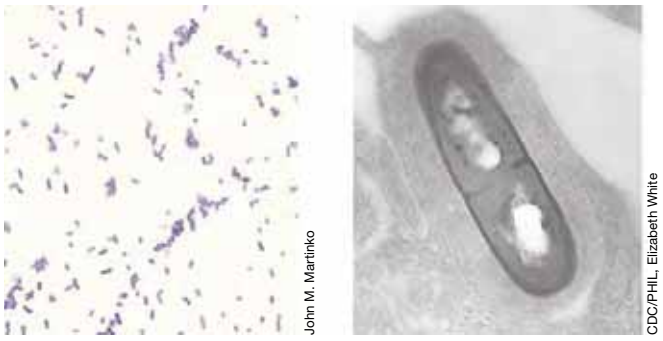
El tratamiento con antibióticos junto con azitromicina se aplica cuando se confirma un diagnóstico a partir del cultivo o de una prueba independiente del cultivo. Además, los casos graves de deshidratación por una infección por *Campylobacter* pueden requerir la perfusión intravenosa y la hospitalización. Las principales medidas para evitar estas infecciones son la higiene personal rigurosa, en especial en las instalaciones donde se preparan alimentos, el lavado adecuado de la carne cruda de ave (y cualquier utensilio que entre en contacto con ella) y un cocinado a fondo de la carne.

MINIRREVISIÓN

- Describa los síntomas de la infección alimentaria por *Campylobacter*. ¿Cuáles son los principales vehículos de este patógeno?
- ¿Cómo se podría controlar la contaminación por *Campylobacter* de los animales destinados a la producción de alimentos?

31.13 Listeriosis

Listeria monocytogenes causa la **listeriosis**, una infección alimentaria gastrointestinal que puede acabar en bacteriemia (bacterias en la sangre) y meningitis. *Legionella monocytogenes* es un cocobacilo grampositivo no esporulante (*Firmicutes*) que es tolerante al ácido, a la sal y al frío, y que es aerobio facultativo (**Figura 31.16**) (↻ Sección 15.7). Pese a que se trata de un patógeno menor de transmisión alimentaria por el número de casos observados al año, las infecciones por *Listeria* pueden ser muy graves y se estima que provocan un 20 % de todas las muertes por enfermedades de origen alimentario en los Estados Unidos.



(a) *(b)*

Figura 31.16 ***Listeria monocytogenes***. *(a)* Tinción de Gram, y *(b)* imagen de microscopia electrónica de transmisión, de células de *L. monocytogenes*, causante de la listeriosis. La célula de *Listeria* de *b* está dentro de los tejidos del hospedador (véase la Figura 31.17).

Epidemiología

Listeria monocytogenes está presente en el suelo y el agua, y aunque no suele estar en los alimentos y, aunque es poco frecuente en los alimentos, ninguna fuente alimentaria está a salvo de la posible contaminación por este microorganismo. El alimento se puede contaminar en cualquier momento durante su producción o procesamiento. Las carnes precocinadas, los quesos frescos, los derivados lácteos sin pasteurizar y la leche pasteurizada de manera inadecuada son los principales vehículos alimentarios para *Listeria*, incluso cuando estos alimentos se conservan adecuadamente a temperaturas de refrigeración (4 °C). La conservación refrigerada de los alimentos, que habitualmente impide el crecimiento de otros patógenos transmitidos por los alimentos, resulta ineficaz en el caso de *Listeria* porque el microorganismo es psicrotolerante. Las células de *L. monocytogenes* producen una serie de ácidos grasos de cadena ramificada que mantienen funcional la membrana citoplasmática a temperaturas bajas (↻ Sección 5.12).

Los resultados de los estudios con animales y la observación de los casos humanos de listeriosis, junto con la elevada frecuencia de contaminación de alimentos crudos y procesados con *L. monocytogenes,* sugieren que el microorganismo no es muy invasivo y que probablemente se requiera un gran inóculo para iniciar los síntomas de la enfermedad. La listeriosis se observa principalmente en los ancianos, las embarazadas, los recién nacidos y los adultos con sistemas inmunitarios debilitados. Lo normal es que se notifiquen al año menos de mil casos de listeriosis en los Estados Unidos, pero la mortalidad puede llegar al 25 % de los que presentan los síntomas.

Patología

La inmunidad contra *L. monocytogenes* la aportan las células inflamatorias Th1 (↻ Sección 25.6). Sin embargo, si el microorganismo las elude, como puede suceder en el caso de un paciente inmunodeficiente, el microorganismo acabará capturado por los fagocitos intestinales. Aunque pueda pensarse que esto es bueno desde el punto de vista de la defensa del hospedador, realmente no lo es, porque la fagocitación inicia el ciclo de infección por *Listeria*.

Los fagocitos engloban a las células de *Listeria* capturadas en una vacuola llamada el *fagosoma*, lo que desencadena la producción del factor principal de virulencia de *Listeria*, la toxina *listeriolisina O*, una proteína que lisa el fagosoma y libera a *L. monocytogenes* en el citoplasma (**Figura 31.17**). La bacteria se multiplica y produce el segundo factor principal de virulencia, *ActA*, una proteína que induce la polimerización de la actina de las células hospedadoras; la actina recubre la célula bacteriana y ayuda a trasladar el patógeno a la membrana citoplasmática de la célula hospedadora, donde forma unas protuberancias llamadas *filópodos*. Estos filópodos son, posteriormente, capturados por las células fagocíticas circundantes (Figura 31.17). La formación de los filópodos permite que las células de *L. monocytogenes* se desplacen por los tejidos del hospedador sin quedar expuestas a las principales armas del sistema inmunitario: anticuerpos, complemento y neutrófilos (Capítulos 24 y 25).

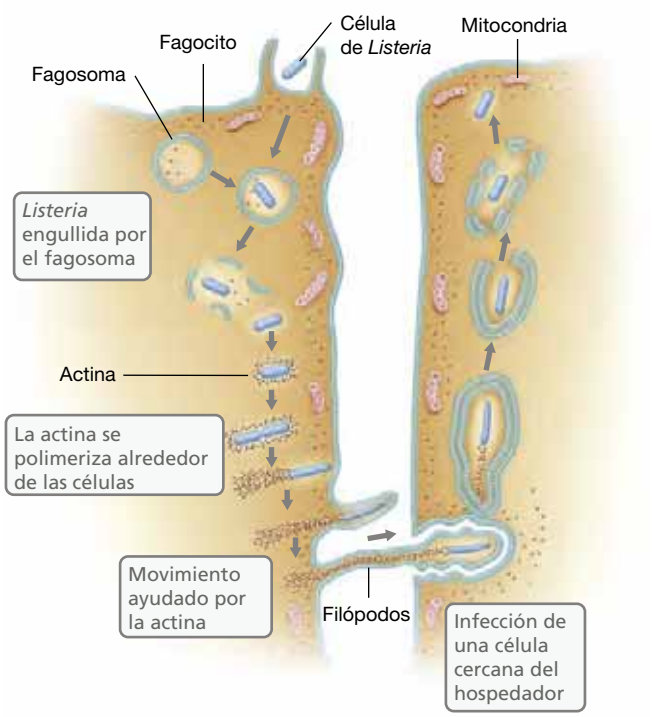


Figura 31.17 Transmisión de *Listeria* durante la listeriosis. Los fagocitos atrapan a las células de *Listeria* en los fagosomas. Estos, finalmente, son lisados mediante el factor de virulencia listeriolisina O y liberan las células de *Listeria*. A continuación, las células bacterianas se recubren de actina, que les ayuda a moverse hacia la periferia celular. Los filópodos facilitan la transferencia de las células de *Listeria* a las células hospedadoras cercanas, en las que se repite el ciclo.

Las células de *Listeria* atraviesan la barrera intestinal y son transportadas por la linfa y la sangre a otros órganos, en concreto al hígado, donde se multiplican del mismo modo que en los fagocitos intestinales (Figura 31.17). Desde ahí, pueden infectar el sistema nervioso central, donde crecen dentro de las neuronas y provocan la inflamación de las meninges (los tejidos que cubren el cerebro y la médula espinal), o sea, meningitis. Además de la listeriolisina O, que también permite que *Listeria* establezca infecciones crónicas en muchos tejidos del hospedador, hay otros factores importantes de virulencia, como las fosfolipasas que pueden destruir las membranas de las células hospedadoras, los antioxidantes que contrarrestan a los oxidantes de los fagocitos, y una matriz de «proteínas de estrés» comunes en muchas bacterias (↻ Sección 7.10).

Diagnóstico, tratamiento y prevención

La listeriosis se diagnostica con el cultivo de *L. monocytogenes* (Figura 31.16) de la sangre o del líquido cefalorraquídeo. *Legionella monocytogenes* se puede identificar en los alimentos mediante el cultivo directo o por métodos moleculares. Estos últimos se utilizan también para subtipar los aislados clínicos y seguirlos hasta el origen de la infección. En los casos invasivos de listeriosis se utiliza el tratamiento por vía intravenosa con antibióticos como penicilina, ampicilina o trimetoprima más sulfametoxazol.

Las medidas de prevención incluyen retirar del mercado los alimentos contaminados y tomar medidas para limitar la contaminación de *L. monocytogenes* en el sitio de procesamiento del alimento. Como *L. monocytogenes* es sensible al calor y a las radiaciones, el alimento crudo y el equipo que manipula los alimentos se pueden descontaminar con facilidad. Sin embargo, si no se pasteuriza ni se cocina el producto alimenticio final, no se puede eliminar el riesgo de contaminación debido a la amplia distribución del patógeno.

MINIRREVISIÓN

- ¿Cuál es el resultado más probable de la exposición de individuos sanos normales a *Listeria monocytogenes*?
- ¿Qué poblaciones son más propensas a sufrir una enfermedad grave debido a la infección por *L. monocytogenes*?

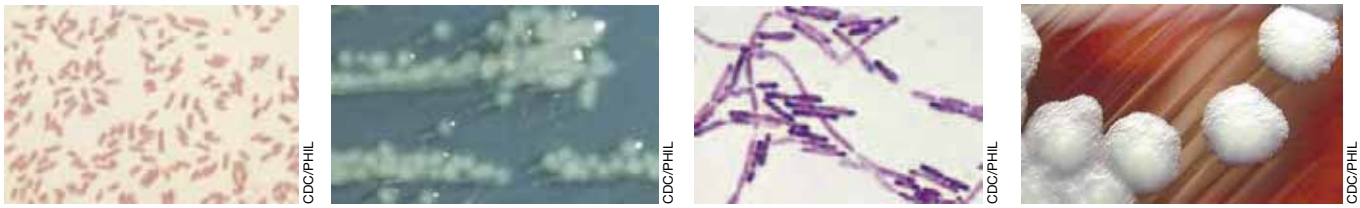
31.14. Otras enfermedades infecciosas de transmisión alimentaria

Más de 200 microorganismos, virus y otros agentes infecciosos ocasionan enfermedades transmitidas por los alimentos y, por tanto, hemos resumido aquí los principales. Ahora tratamos otros patógenos bacterianos que son poco habituales en comparación con las «cinco principales» (Tabla 31.5) y volvemos a abordar al norovirus (antes considerado un patógeno de transmisión hídrica, Sección 31.5) en su ambiente más frecuente como patógeno transmitido por los alimentos y la principal causa de enfermedades digestivas en los Estados Unidos.

Bacterias

Además de los principales patógenos *bacterianos* transmitidos por los alimentos que ya hemos tratado, hay otras bacterias que causan enfermedades gastrointestinales en los humanos. *Yersinia enterocolitica* es una bacteria entérica que se encuentra habitualmente en el intestino de los animales domésticos y provoca infecciones de origen alimentario debidas a derivados lácteos y carne contaminados. La consecuencia más grave de la infección por *Y. enterocolitica* es la *fiebre entérica*, una infección grave que puede acabar en muerte. Este microorganismo se puede aislar en el mismo medio selectivo/diferencial utilizado para aislar *Salmonella* (**Figura 31.18*a, b***), pero se diferencia de ella con facilidad en las placas (compárense las Figuras 31.13*a* y 31.18*b*).

Bacillus cereus es responsable de un número relativamente pequeño de casos de intoxicación alimentaria. Esta bacteria productora de endosporas (↻ Secciones 2.16 y 15.8) produce dos enterotoxinas que generan diferentes síntomas. En la *forma emética*, los síntomas son principalmente náuseas y vómitos. En la *forma diarreica* se observan diarrea y dolor gastrointestinal. *B. cereus* crece en alimentos como el arroz, la pasta, las carnes o las salsas que se han cocinado y luego dejado a temperatura ambiente para que se enfríen lentamente. La toxina se sintetiza cuando germinan las endosporas de esta bacteria. El recalentamiento puede acabar con las células de *B. cereus*, pero la toxina es termoestable y permanecerá activa. Este microorganismo se cultiva con facilidad y se puede identificar provisionalmente mediante observación microscópica y por el aspecto de sus colonias, típicamente grandes, granulares y diseminadas (Figura 31.18*c, d*).



(a) (b) (c) (d)

Figura 31.18 Patógenos bacterianos menos corrientes transmitidos por alimentos: *Yersinia enterocolitica* y *Bacillus cereus*. *(a)* Tinción de Gram de las células de *Y. enterocolitica*. *(b)* Colonias de *Y. enterocolitica* en agar Hektoen, un medio selectivo y diferencial (compárense estas con las colonias de *Salmonella* en agar Hektoen de la Figura 31.13*a*). *(c)* Tinción de Gram de las células de un cultivo de *B. cereus* en esporulación. *(d)* Colonias grandes de *B. cereus* de aspecto cristalino formadas en agar sangre. Las enfermedades de origen alimentario debidas a *Y. enterocolitica* o *B. cereus* son mucho menos corrientes que las enfermedades debidas a *Salmonella*, *Campylobacter* o *Clostridium perfringens*.

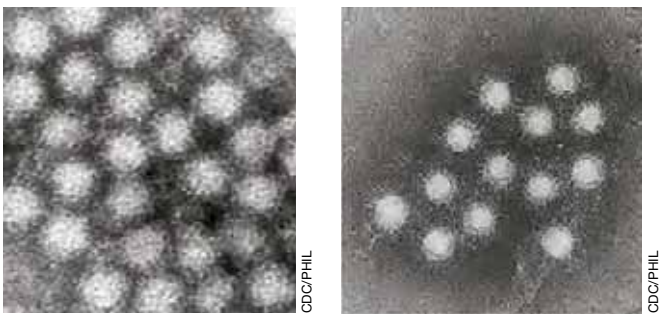
La enterobacteria *Shigella* causa la infección alimentaria denominada *shigelosis* y las especies de *Vibrio* también pueden provocar intoxicación alimentaria, principalmente por el consumo de marisco contaminado. La mayor parte de infecciones por *Shigella* se deben a la transmisión fecal-oral, pero el alimento y el agua son vehículos ocasionales. Ya explicamos la toxina de tipo Shiga que sintetizan algunas cepas patógenas de *Escherichia coli* en la Sección 31.11.

Virus

Alrededor del 70 % de las infecciones anuales de origen alimentario en los Estados Unidos están causadas por el norovirus (**Figura 31.19*a***) (Sección 31.5). Este virus, relacionado con los poliovirus, también se denomina *virus de Norwalk* y tiene un genoma de RNA monocatenario de sentido positivo (↻ Sección 9.8). En general, las enfermedades norovíricas transmitidas por los alimentos se caracterizan por diarrea, a menudo acompañada de náuseas y vómitos. La recuperación de las infecciones por norovirus suele ser espontánea y rápida, normalmente en 24-48 h (por ese motivo, la enfermedad a menudo se apoda «el microbio de las 24 h»).

Los rotavirus, astrovirus y el virus de la hepatitis A constituyen el grueso de las restantes infecciones *víricas* transmitidas por los alimentos. Estos virus habitan en el intestino y a menudo se transmiten en alimentos o agua contaminados con heces. El virus de la hepatitis A (HAV, Figura 31.19*b*) es un virus de RNA que, al igual que el norovirus, está emparentado con los poliovirus, pero que se replica en los hepatocitos. En la Sección 29.11 tratamos los virus de la hepatitis se transmiten principalmente por la sangre, pero el HAV es principalmente un virus alimentario. El HAV suele provocar síntomas leves, en muchos casos subclínicos, pero se pueden dar casos raros de hepatitis grave por HAV. Los vehículos alimentarios más significativos para el HAV son el marisco, normalmente las ostras o almejas crudas procedentes de aguas contaminadas por heces humanas. En los últimos años, el HAV también se ha visto en frutas y hortalizas frescas servidas en crudo.

La tendencia general de la incidencia de las hepatitis transmitidas por la sangre y por los alimentos ha seguido un curso continuamente descendente, y en la actualidad se encuentra en los niveles más bajos registrados, en parte debido a que hay vacunas eficaces contra el HAV y el HAB (↻ Figura 29.33). El HAV causa más casos de hepatitis vírica que cualquier otro virus de la hepatitis, y cerca del 30 % de los estadounidenses tienen anticuerpos contra el HAV en circulación, lo que prueba que hubo infecciones subclínicas en el pasado.



(a) (b)

Figura 31.19 Virus transmitidos por alimentos contaminados. *(a)* Imagen de microscopia electrónica de transmisión de norovirus; cada virión mide aproximadamente 30 nm de diámetro. *(b)* Imagen de microscopia electrónica de transmisión del virus de la hepatitis A; cada virión mide aproximadamente 27 nm de diámetro.

Protistas y otros agentes

Las enfermedades importantes de origen alimentario debidas a protistas se recogen en la Tabla 31.5. Los principales patógenos de este tipo incluyen *Giardia intestinalis*, *Cryptosporidium parvum* y *Toxoplasma gondii*. *G. intestinalis* y *C. parvum* se propagan por los alimentos cuando se utiliza agua contaminada para lavar, regar o pulverizar los cultivos. Los alimentos frescos, como las frutas, a menudo sirven de vehículo para estos protistas. *Toxoplasma gondii* es un protista que se propaga principalmente por las heces de los gatos, pero también se puede encontrar en la carne cruda o poco hecha, sobre todo de cerdo. En el Capítulo 32 se tratan las enfermedades giardiasis, criptosporidiosis y toxoplasmosis.

Existe al menos un agente de enfermedad transmitido por los alimentos que no es ni celular ni vírico; son los priones. Los *priones* son proteínas que adoptan nuevas conformaciones, que inhiben la función normal de las proteínas y que causan la degeneración de los tejidos neurales del hospedador (↻ Sección 9.13). Las enfermedades priónicas humanas se caracterizan por síntomas neurológicos, como depresión, pérdida de coordinación motora y, finalmente, demencia. Una enfermedad priónica humana de origen alimentario denominada *variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob* (vCJD, del inglés *variant Creutzfeldt-Jakob disease*) se ha relacionado con el consumo de productos cárnicos de reses afectadas por la *encefalopatía espongiforme bovina* (BSE, del inglés *bovine spongiform encephalopathy*), una enfermedad

provocada por un prión. Aunque se diagnosticaron varios miles de casos de vCJD en Gran Bretaña a mediados de la década de 1990, las prohibiciones sobre los piensos ganaderos elaborados con restos de reses han reducido enormemente la incidencia de la BSE en Europa y han mantenido la incidencia de la enfermedad muy baja en los Estados Unidos.

MINIRREVISIÓN

- ¿De qué dos formas puede manifestarse la intoxicación alimentaria por *Bacillus cereus*?
- Comparado con otros patógenos transmitidos por los alimentos o por el agua, ¿por qué son únicos los priones?

IDEAS PRINCIPALES

31.1 • Las aguas de uso recreativo y de bebida contaminadas constituyen la fuente de patógenos de transmisión hídrica. En los Estados Unidos, el número de brotes de enfermedades con este origen es relativamente pequeño en relación con la gran exposición que la población tiene al agua. A escala mundial, la falta de plantas adecuadas para el tratamiento del agua y la ausencia agua limpia contribuyen significativamente a la propagación de las enfermedades infecciosas.

31.2 • La calidad del agua potable se determina mediante el recuento de bacterias coliformes y coliformes fecales con técnicas normalizadas. La filtración y la cloración del agua disminuyen significativamente la cantidad de microbios. Los métodos de purificación del agua en los países desarrollados han sido un factor importante para mejorar la sanidad pública, aunque en los países en vías de desarrollo, las enfermedades de transmisión hídrica siguen siendo una fuente significativa de enfermedades infecciosas.

31.3 • La bacteria *Vibrio cholerae* provoca el cólera, una enfermedad diarreica aguda asociada a una deshidratación grave. El cólera se produce como una pandemia, principalmente en los países en vías de desarrollo, donde falta el saneamiento y el tratamiento de las aguas residuales. La rehidratación oral y la reposición de electrólitos consiguen tratar de manera eficaz el cólera y reducir enormemente su mortalidad.

31.4 • *Legionella pneumophila* es un patógeno respiratorio que provoca la fiebre de Pontiac y la legionelosis, una infección más grave que puede dar lugar a una neumonía. *Legionella pneumophila* crece en gran cantidad en las aguas calientes y se propaga a través de los aerosoles de las torres de aire acondicionado y en los sistemas domésticos de distribución de agua, donde la bacteria se desarrolla en biopelículas.

31.1 • La fiebre tifoidea, provocada por una especie de *Salmonella,* y la enfermedad por norovirus son enfermedades de transmisión hídrica importantes. La fiebre tifoidea es frecuente en los países en vías de desarrollo, mientras que la enfermedad por norovirus se observa a escala mundial. Ambas enfermedades se pueden controlar con un buen saneamiento y un tratamiento de aguas eficaz.

31.6 • El potencial deterioro de los alimentos debido a microorganismos depende de los nutrientes y la humedad del alimento. El crecimiento de los microorganismos en los alimentos perecederos se puede controlar mediante refrigeración, congelación, enlatado, encurtido, deshidratación, sustancias químicas e irradiación. Las fermentaciones microbianas se pueden utilizar para conservar de forma natural muchos alimentos, como derivados lácteos, carnes, frutas y verduras, y bebidas alcohólicas.

31.7 • La intoxicación alimentaria se debe a la actividad de las toxinas microbianas, mientras que las infecciones alimentarias se deben al crecimiento del patógeno dentro del cuerpo. La identificación de las características comunes entre los patógenos transmitidos por los alimentos y los brotes de origen alimentario aparentemente aislados, puede determinar con precisión el origen de la contaminación alimentaria y rastrear la diseminación de la enfermedad. Los cinco principales patógenos transmitidos por los alimentos en los Estados Unidos, en orden decreciente son: norovirus, *Salmonella* spp., *Clostridium perfringens*, *Campylobacter jejuni* y *Staphylococcus aureus*.

31.8 • La intoxicación alimentaria estafilocócica se produce por la ingestión de una enterotoxina estafilocócica preformada, un superantígeno producido por las células de *Staphylococcus aureus* a medida que crecen en el alimento. La preparación, manipulación y almacenamiento adecuados de los alimentos puede impedir la intoxicación alimentaria estafilocócica.

31.9 • La intoxicación alimentaria por *Clostridium* se debe a la ingestión de toxinas producidas por el crecimiento microbiano en los alimentos o del crecimiento microbiano seguido por la síntesis de la toxina en el cuerpo. La intoxicación alimentaria por *C. perfringens* es bastante corriente y suele ser una enfermedad gastrointestinal autolimitante. El botulismo es una enfermedad rara, pero grave, con una mortalidad significativa.

31.10 • En los Estados Unidos cada año se producen más de un millón de casos de salmonelosis. La infección se debe a la ingestión de células de *Salmonella* que estaban en los alimentos y que procedían principalmente de manipuladores de alimentos o de productos alimenticios de origen animal.

31.11 • Muchas infecciones alimentarias se deben a *Escherichia coli* toxinógenas, de las que las cepas STEC son las más graves. La contaminación de los alimentos por las heces animales puede propagar estas cepas patógenas de *E. coli*, pero unas buenas prácticas de higiene y unas medidas antibacterianas específicas, como la radiación o el cocinado total de la carne de ternera picada, su principal vehículo, pueden controlar los brotes de la enfermedad.

31.12 • La infección por *Campylobacter* es la tercera infección bacteriana de origen alimentario más prevalente en los Estados Unidos. Su principal vehículo es el pollo, pero no la ternera ni el cerdo. La preparación y cocinado adecuados de los pollos pueden prevenir la enfermedad por *Campylobacter*.

31.13 • *Listeria monocytogenes* es una bacteria ubicua que rara vez provoca infecciones en los individuos sanos. Sin embargo, en personas inmunodeprimidas, *Listeria* puede ocasionar enfermedades graves, ya que crece como patógeno intracelular e invade el sistema nervioso central. La *listeriosis* es poco corriente, pero su tasa de mortalidad es alta.

31.14 • Los virus, en especial el norovirus, son responsables de la mayoría de enfermedades de origen alimentario, mientras que las bacterias *Bacillus cereus* y *Yersinia enterocolitica* solo están relacionadas ocasionalmente con brotes de enfermedades de origen alimentario. El virus de la hepatitis A es también un patógeno grave transmitido por los alimentos. Algunos protistas y priones también provocan enfermedades de origen alimentario, pero distan mucho de ser tan frecuentes como las bacterias y los virus.

MasteringMicrobiology®

Revise lo que sabe y descubra lo que ha aprendido con MasteringMicrobiology. Acceda a material de estudio, revisiones de los capítulos, animaciones y tutoriales de microbiología práctica en el Área de Estudio y asegúrese de que ha asimilado todo el contenido de este capítulo.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Alimentos no perecederos: alimentos con baja actividad de agua que tienen una vida útil dilatada y que resisten el deterioro por microorganismos.

Alimentos perecederos: alimentos frescos que generalmente tienen una elevada actividad de agua y una vida útil muy corta debido al deterioro por el crecimiento de microorganismos.

Alimentos semiperecederos: alimentos con una actividad de agua intermedia que tienen una vida útil limitada debido al posible deterioro por el crecimiento de microorganismos.

Botulismo: intoxicación alimentaria debida a la ingestión de alimento que contiene la toxina botulínica producida por *Clostridium botulinum*.

Coliformes: bacilos gramnegativos y aerobios facultativos no esporulantes que fermentan la lactosa con formación de gas en menos de 48 horas a 35 °C.

Deterioro del alimento: cambio de apariencia, olor o sabor de un alimento, que lo hace inaceptable para el consumidor.

Infección alimentaria: infección microbiana debida a la ingestión de alimentos contaminados con patógenos y al posterior crecimiento del patógeno en el hospedador.

Intoxicación alimentaria (envenenamiento alimentario): enfermedad causada por la ingestión de un alimento que contiene toxinas microbianas.

Listeriosis: infección gastrointestinal provocada por *Listeria monocytogenes*, que puede acabar en bacteriemia y meningitis.

Pasteurización: calentamiento controlado para reducir la carga microbiana, incluidos los patógenos y los microorganismos descomponedores, en los líquidos termosensibles.

Potable: en la purificación del agua, que se puede beber; segura para el consumo humano.

Salmonelosis: enterocolitis, u otra enfermedad gastrointestinal, causada por cualquiera de las diversas especies de *Salmonella*.

PREGUNTAS DE REPASO

1. ¿Cuáles son las dos principales clases de agua y cómo se consigue que el agua de origen superficial, por ejemplo, de un lago, sea potable? (Sección 31.1)
2. Defina el término coliforme fecal y explique la prueba de los coliformes. ¿Por qué se utiliza la prueba de los coliformes para evaluar la pureza del agua de bebida? (Sección 31.2)
3. ¿Por qué son ineficaces los antibióticos para el tratamiento del cólera? ¿Qué métodos resultan útiles para el tratamiento de las víctimas del cólera? (Sección 31.3)
4. ¿Cuáles son los reservorios principales del patógeno que provoca la legionelosis? ¿Qué aspectos de la patogenia diferencian esta enfermedad de otras enfermedades transmitidas por el agua? (Sección 31.4)
5. Compare la fiebre tifoidea y la salmonelosis. ¿En qué se parecen y en qué se diferencian? ¿Cuál de ellas es más grave? (Secciones 31.5 y 31.10)
6. Identifique y defina las tres categorías principales de deterioro alimentario. ¿Por qué la leche es más perecedera

que el azúcar, aunque ambas sean ricas en materia orgánica? (Sección 31.6)

7. Identifique los principales métodos de conservación de alimentos y las principales categorías de alimentos fermentados. (Sección 31.6)
8. Diferencie entre infección alimentaria e intoxicación alimentaria y dé un ejemplo de cada una. (Sección 31.7)
9. ¿Qué origina los síntomas de la intoxicación alimentaria estafilocócica? ¿Por qué hay casos de intoxicación alimentaria estafilocócica que, a menudo, están relacionados con un manipulador de alimentos que tenga una herida abierta en la mano? (Sección 31.8)
10. Identifique los dos principales tipos de intoxicación alimentaria por clostridios. ¿Cuál es más prevalente? ¿Cuál es más peligrosa y por qué? (Sección 31.9)
11. ¿Cuáles son las posibles fuentes de *Salmonella* spp. que causan infecciones alimentarias? (Sección 31.10)
12. ¿Cómo acaba *Escherichia coli* O157:H7 en la carne picada? ¿A qué clase de *E. coli* patógena pertenece esta cepa? (Sección 31.11)
13. Diga un producto alimenticio en el que se podrían propagar simultáneamente tanto *Salmonella* como *Campylobacter*. ¿Cómo se puede hacer comestible con garantías este producto alimenticio? (Sección 31.12)
14. Identifique las fuentes alimentarias de las infecciones por *Listeria monocytogenes*. ¿Cómo consigue *Listeria* eludir el sistema inmunitario? (Sección 31.13)
15. Diga dos bacterias que provocan enfermedades de origen alimentario solo en raras ocasiones. ¿Cuál es el principal agente causante de enfermedades gastrointestinales? (Sección 31.14)
16. ¿Cuál es el principal agente causante de vCJD? ¿En qué se diferencia del agente que provoca la enfermedad transmitida por los alimentos con norovirus? (Sección 31.14)

EJERCICIOS PRÁCTICOS

1. Como visitante a un país en donde el cólera es una enfermedad endémica, ¿qué medidas específicas tomaría para reducir el riesgo de exposición al cólera? ¿Impedirían que contraiga otras enfermedades de transmisión hídrica? Si es así, ¿cuáles? Identifique las enfermedades de transmisión hídrica para las que sus precauciones no impedirían la infección.
2. Exponga un caso en el que una enfermedad de origen alimentario con *C. perfringens* se puede considerar tanto una intoxicación como una infección alimentarias.
3 Las ensaladas de patata manipuladas inadecuadamente a menudo son la fuente de intoxicación alimentaria estafilocócica y de salmonelosis. Enumere algunas razones por las que es así.

CAPÍTULO

32 · Patógenos eucariotas: enfermedades fúngicas y parasitarias

microbiología **actual**

Hongos mortales

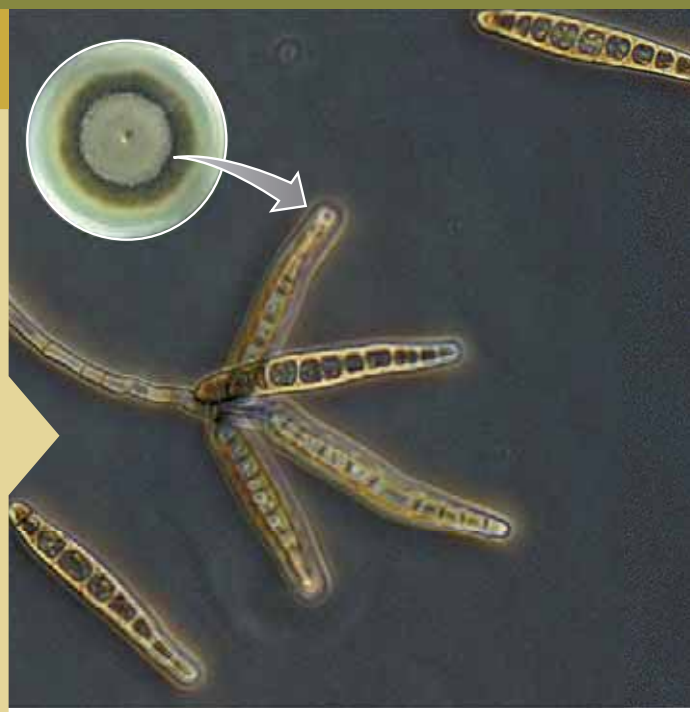
La gente suele asociar los hongos con materia orgánica en descomposición o, en el ámbito médico, con micosis superficiales, como el pie de atleta. Pero los hongos pueden ocasionar infecciones graves, incluso mortales, como nos lo recordó la aparición de un brote epidémico de meningitis por hongos patógenos en los Estados Unidos en 2012[1].

Se suelen recetar glucocorticoides, como la metilprednisolona, para aliviar el dolor, en especial en los adultos que padecen lumbalgia crónica. Lo normal es inyectar el fármaco directamente en la parte más externa del canal espinal (inyección epidural). Se halló que varios lotes de metilprednisolona formulada por una pequeña empresa farmacéutica en Massachusetts estaban contaminados con hongos, entre ellos *Exserohilum rostratum* (foto). Se trata de un moho del suelo capaz de infectar de forma natural varios tejidos humanos, en particular la córnea, los pulmones y el revestimiento del corazón (pericardio). A principios de diciembre de 2012 se produjeron 590 micosis (la mayoría meningitis) relacionadas con inyecciones del fármaco contaminado, de las que 37 fueron mortales.

Con las técnicas epidemiológicas estándares, los centros para la prevención y el control de enfermedades en Atlanta (Georgia, Estados Unidos) y un equipo de multiestatal respuesta especialmente formado, relacionaron con rapidez la medicación contaminada con la empresa de Massachusetts y, más en concreto, con determinados lotes del fármaco producidos por ella. Se halló *E. rostratum* en los viales sellados de metilprednisolona, y la levadura *Rhodotorula* y el moho *Rhizopus*, ninguno de ellos patógeno, también se encontraron en otros viales.

Este brote de enfermedades micóticas subraya lo importante que es garantizar que los fármacos estén estériles y sin contaminar con sustancias extrañas, sobre todo los fármacos inyectables. Además, la rápida actuación de las autoridades sanitarias a la hora de identificar la fuente de la enfermedad y de prevenir más infecciones, prueba la eficacia de esta rama del sistema sanitario de los Estados Unidos.

[1]Smith R. M. *et al.,* 2012. Fungal infections associated with contaminated methylprednisolone injections—Preliminary report. *N. Engl. J. Med. DOI: 10.1065/NEJMoa1213978.*



I Infecciones por hongos 1008

II Infecciones parasitarias de las vísceras 1012

III Infecciones parasitarias de tejidos y sangre 1015

En este capítulo nos centramos en los microorganismos patógenos eucariotas, que incluyen algunos hongos (tanto mohos como levaduras) y varios protistas parasitarios. Algunos gusanos pequeños también ocasionan enfermedades infecciosas y tratamos las más significativas en la sección final.

Al tratar las enfermedades ocasionadas por los patógenos eucariotas siempre aparece el problema de que el hospedador también es un eucariota. Esto frustra muchas estrategias terapéuticas y, a menudo, hace que estas enfermedades sean infecciones crónicas a largo plazo y muy refractarias al tratamiento. Esto es especialmente cierto en el caso de los hongos patógenos sistémicos.

I • Infecciones por hongos

Los hongos ocasionan muchas enfermedades humanas, algunas leves y autolimitadas, otras sistémicas y firmemente arraigadas. Comenzamos tratando algunos de los principales patógenos fúngicos y después describimos algunas enfermedades micóticas significativas: las micosis.

32.1 Hongos importantes desde el punto de vista médico y mecanismos patológicos

Los hongos incluyen las *levaduras*, que suelen crecer como células independientes, y los *mohos (hongos filamentosos)*, que forman filamentos ramificados denominados *hifas*, con o sin septos (paredes transversales); las hifas acaban entrelazándose para formar masas visibles denominadas *micelios*. La diversidad de mohos y levaduras se explicó en el Capítulo 17.

Hongos patógenos frecuentes

Por fortuna, la mayor parte de los hongos son inofensivos para los humanos. La mayoría crecen en la naturaleza como saprófitos sobre material orgánico muerto, lo que los convierte en catalizadores importantes del ciclo del carbono, en especial en los ambientes oxigenados del suelo. Los hongos son también importantes para la medicina tanto como agentes de enfermedades como para el tratamiento farmacológico (producción de antibióticos). Tan solo unas 50 especies de hongos causan enfermedades en los humanos y la incidencia de las infecciones fúngicas graves es baja en los individuos sanos, aunque algunas micosis superficiales (por ejemplo, el pie del atleta) son bastante corrientes. Sin embargo, las micosis pueden ser sistémicas en las personas inmunodeficientes, y alcanzar incluso los tejidos más internos. Tales infecciones pueden provocar problemas de salud e incluso la muerte.

Entre los hongos patógenos más frecuentes se incluyen tanto levaduras como los mohos (**Figura 32.1**). Sin embargo,

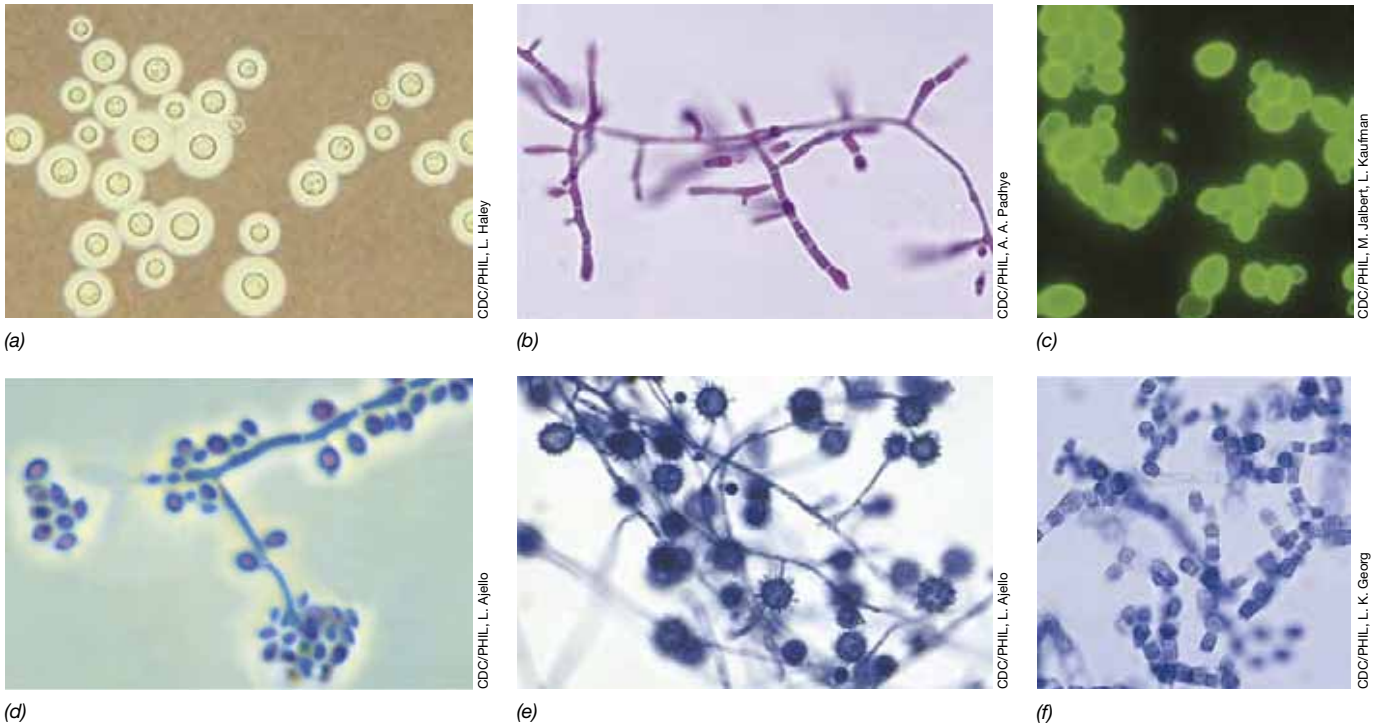


Figura 32.1. Hongos patógenos. Estos organismos tienen un diámetro que oscila entre 4 y 20 µm. *(a)* Células de la levadura *Cryptococcus neoformans* teñidas para revelar la cápsula. *(b)* Micelios y conidios de *Trichophyton* spp. *(c)* Células de la levadura *Candida albicans* teñidas con un anticuerpo fluorescente. *(d)* Micelios y conidios de *Sporothrix schenckii*. (*e*) Micelios y conidios grandes de *Histoplasma capsulatum*. *(f)* Conidios de *Coccidioides immitis*. Véanse los síntomas de las micosis en la Figura 32.5.

muchos hongos patógenos son *dimórficos*, esto es, pueden existir *tanto* en forma de levadura *como* en forma filamentosa. En *Histoplasma*, por ejemplo, las células cultivadas en el laboratorio forman hifas y micelios, o sea, están en forma de moho (Figura 32.1*a*). En cambio, cuando *Histoplasma* genera una histoplasmosis, las células crecen en el hospedador en forma de levadura (véase la Figura 32.5*a*). En la forma de moho se producen esporas, ya sean esporas asexuales (*conidios*) o bien esporas sexuales (↻ secciones 17.9 y 17.10). Cuando se cultivan los hongos filamentosos de una infección, la morfología de estas estructuras portadoras de esporas suele ser la clave principal para emitir un diagnóstico. Además de la microscopia, existe una gran variedad de herramientas clínicas, moleculares e inmunológicas, para diagnosticar las infecciones fúngicas (Figura 32.1*c*). La **Tabla 32.1** recoge algunos de los principales hongos patógenos y los tipos de infecciones que ocasionan.

Tipos de enfermedades micóticas y tratamiento

Los hongos provocan enfermedades a través de tres mecanismos principales: respuestas inmunitarias inadecuadas, producción de toxinas, y micosis. Algunos hongos disparan una respuesta inmunitaria que provoca reacciones alérgicas (hipersensibilidad) después de la exposición a determinados antígenos del hongo. La reexposición a los mismos hongos, tanto si crecen en el hospedador como en el ambiente, puede provocar síntomas alérgicos. Por ejemplo, *Aspergillus* spp. (**Figura 32.2*a***), un saprófito fácil de encontrar de forma natural en el mantillo, produce alérgenos potentes que desencadenan ataques de asma u otras reacciones de hipersensibilidad en los individuos sensibles.

Las enfermedades por hongos pueden deberse a la producción de *micotoxinas*, un grupo grande y diverso de exotoxinas fúngicas. Los ejemplos de micotoxinas que se conocen mejor son las *aflatoxinas* (Figura 32.2*b*) producidas por *Aspergillus flavus*, una especie que suele crecer en los alimentos secos almacenados inadecuadamente, como los cereales. Las aflatoxinas son muy tóxicas y carcinógenas, e inducen tumores en algunos animales, en especial en los pájaros que se alimentan de grano contaminado. Aunque se sabe que las aflatoxinas dañan el hígado humano y producen, por ejemplo, cirrosis e incluso cáncer hepático, los adultos no se ven afectados gravemente por una exposición baja a la aflatoxina. Sin embargo, la exposición crónica de los niños provoca daños hepáticos graves, además de otros efectos sobre la salud.

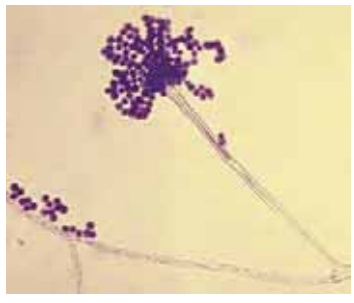
El mecanismo que acaba produciendo la enfermedad micótica pasa por la infección real del hospedador. El crecimiento de un hongo tanto dentro como fuera del cuerpo se denomina **micosis** y su gravedad oscila entre una infección superficial y una infección con riesgo de muerte. Las hay de tres clases (Tabla 32.1). Las **micosis superficiales** se producen cuando el hongo infecta solo las capas superficiales de la piel, el pelo o las uñas (véase la Figura 32.3). Las **micosis subcutáneas** aparecen cuando se infectan las capas más profundas de la piel (véase la Figura 32.4) y generalmente las producen unos hongos diferentes a los de las infecciones superficiales (Tabla 32.1). Las **micosis sistémicas** son la categoría más grave de micosis. Se caracterizan por el crecimiento del hongo en los órganos internos del cuerpo (véase la Figura 32.5) y pueden ser infecciones primarias o bien secundarias. Una infección *primaria* se produce cuando un individuo sano y normal queda infectado por el hongo patógeno; no son frecuentes. En cambio, una infección *secundaria* se produce en un hospedador con predisposición, debida a un tratamiento con antibióticos o a una inmunodepresión, que lo hace más vulnerable a la infección.

Las micosis superficiales y subcutáneas se suelen tratar con facilidad con fármacos tópicos, como el tolnaftato (de aplicación tópica), diferentes fármacos azólicos (de aplicación tópica u oral) y griseofulvina, un fármaco relativamente poco tóxico

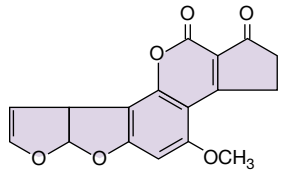
Tabla 32.1 Principales enfermedades por hongos patógenos[a]

Clase y enfermedad	*Organismo causal*	*Lugar*
Micosis superficiales		
Pie del atleta	*Epidermophyton, Trichophyton*	Entre los dedos, piel
Tiña inguinal	*Trichophyton, Epidermophyton*	Región genital
Tiña	*Microsporum, Trichophyton*	Cuero cabelludo, cara
Micosis subcutáneas		
Esporotricosis	*Sporothrix schenckii*	Brazos, manos
Cromoblastomicosis	*Phialophora verrucosa,* otros hongos	Piernas, pies, manos
Micosis sistémicas		
Aspergilosis	*Aspergillus* spp[b]	Pulmones
Blastomicosis	*Blastomyces dermatitidis*	Pulmones, piel
Candidiasis	*Candida albicans*[c]	Cavidad oral, tubo digestivo, vagina
Coccidioidomicosis	*Coccidioides immitis*[c]	Pulmones
Paracoccidioidomicosis	*Paracoccidioides brasiliensis*	Piel
Criptococosis	*Criptococcus neoformans*[c]	Pulmones, meninges
Histoplasmosis	*Histoplasma capsulatum*[c]	Pulmones
Neumonía neumocística	*Pneumocystis jiroveci*[c]	Pulmones

[a]Los síntomas de muchas de estas enfermedades se muestran en las Figuras 32.3 a 32.5.
[b]*Aspergillus* también causa alergias, toxemias e infecciones limitadas.
[c]Patógeno oportunista implicado con frecuencia en la patogenia del VIH/sida.



(a)



(b)

Figura 32.2. *Aspergillus* y aflatoxina. *(a)* Micelios y conidios de una especie de *Aspergillus*. *(b)* Estructura de la aflatoxina B1, una toxina del grupo de compuestos relacionados producidos por *Aspergillus flavus*.

que se puede tomar por vía oral, pero que pasa del torrente circulatorio a la piel para inhibir el crecimiento del hongo. El tratamiento farmacológico contra las micosis sistémicas es más difícil debido a los problemas de toxicidad para el hospedador (↻ Sección 27.16). Por ejemplo, la anfotericina B es uno de los antimicóticos más eficaces y habituales para tratar las micosis sistémicas, pero también afecta al funcionamiento del riñón y tiene otros efectos secundarios indeseados. Por tanto, el tratamiento eficaz de las micosis más graves es a veces muy difícil.

MINIRREVISIÓN

- Diferencie las micosis superficial, subcutánea y sistémica.
- ¿Qué es un hongo dimórfico?
- Diferencie entre una infección fúngica primaria y una secundaria.

32.2 Micosis

Los dos extremos de las infecciones por hongos son las micosis superficiales y las micosis sistémicas. Las *micosis superficiales* son muy frecuentes y la mayoría de las personas ha padecido al menos una en su vida. En cambio, las *micosis sistémicas* son mucho menos habituales y afectan principalmente a los ancianos o a los inmunodeficientes. A medida que las personas envejecen, la inmunidad celular desciende lentamente debido a operaciones quirúrgicas, trasplantes, tratamientos con inmunodepresores para el reúma y las enfermedades autoinmunitarias, y la aparición de otras afecciones, como el descenso en la función pulmonar, la diabetes o el cáncer. Cualquiera de ellas puede predisponer a los ancianos a la enfermedad. Las micosis sistémicas también afectan a personas de cualquier edad con inmunodespresión o incluso inmunosupresión, por ejemplo, por el VIH/SIDA (↻ Figura 29.45). Las micosis sistémicas son, pues, enfermedades causadas por **patógenos oportunistas**, o sea, microorganismos que provocan la enfermedad solo cuando las defensas inmunitarias ya no pueden combatirlos.

Micosis superficiales

La Tabla 32.1 recoge algunos de los hongos que ocasionan micosis superficiales; este conjunto de patógenos se denominan *dermatofitos*. En general, las micosis superficiales pueden ser infecciones molestas y a menudo recurrentes, pero no suponen un peligro serio para la salud. Hongos como *Trichophyton* (Figura 32.1*b*) provocan infecciones en los pies (pie de atleta) y otras superficies húmedas en la piel, y son muy frecuentes (**Figura 32.3*a***). Estas infecciones provocan descamaciones y escozor en la piel, y se transmiten con facilidad a través de las células o esporas del patógeno presentes en el suelo de duchas, gimnasios y vestuarios contaminados, en los artículos compartidos contaminados como toallas o ropa de cama, o por el contacto directo entre personas. Las micosis superficiales se pueden tratar con cremas antimicóticas tópicas o aerosoles líquidos, aunque podría tener que aplicarse de forma preventiva durante mucho tiempo si se está expuesto constantemente al patógeno (por ejemplo, a *Trichophyton* en el suelo de un vestuario).

Las micosis superficiales relacionadas incluyen la *tiña inguinal*, una infección que hace escocer la ingle, pliegues de la piel o el ano, y la *tiña* (Tabla 32.1). A pesar de su nombre, la tiña es una micosis que se localiza típicamente en el cuero cabelludo o en las extremidades; la infección provoca la caída del cabello y reacciones de tipo inflamatorio (Figura 32.3*b, c*). Estas micosis superficiales más graves se suelen tratar por vía tópica con miconazol o griseofulvina.

Micosis subcutáneas

Las micosis subcutáneas se deben a hongos que infectan capas de la piel más profundas que las de las micosis superficiales (Tabla 32.1). Una enfermedad de esta clase es la *esporotricosis* (**Figura 32.4*a***), una enfermedad laboral de agricultores, mineros, jardineros y cualquiera que esté continuamente en contacto con el suelo. El organismo causal, *Sporothrix schenckii* (Figura 32.1*d*), es un saprófito omnipresente en el suelo cuyas esporas pueden penetrar por un corte o abrasión e infectar los tejidos subcutáneos (Figura 32.4*a*). La *cromoblastomicosis* se debe al crecimiento del hongo patógeno *tanto* en las capas superficiales (cutánea) como subcutáneas de la piel, formando lesiones costrosas y verrucosas en las manos (Figura 32.4*b*) o en las piernas. La enfermedad es típica de los países tropicales y subtropicales, y se produce cuando el hongo se implanta bajo la piel por una herida punzante. Ambas enfermedades, esporotricosis y cromoblastomicosis, se pueden tratar con azoles vía oral.



(a)



(b)



(c)

Figura 32.3. Micosis superficiales ocasionadas por *Trichophyton* spp. *(a)* Pie de atleta. *(b)* Tiña en la cara de un niño y *(c)* en el dedo índice de un adulto. La tiña inguinal (o tiña crural) es otra infección frecuente por *Trichophyton* que se puede producir tanto en las mujeres como en los hombres.



(a)



(b)

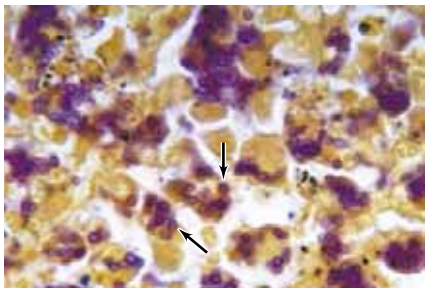
Figura 32.4. Micosis subcutáneas. *(a)* Esporotricosis, una infección subcutánea por *Sporothrix schenckii*. *(b)* Cromoblastomicosis en la mano ocasionada por el hongo *Phialophora verrucosa*. La cromoblastomicosis también pueden provocarla especies de hongos de los géneros *Fonsecaea* y *Cladosporium*.

Micosis sistémicas

Los hongos patógenos sistémicos viven normalmente en el suelo y los humanos se infectan al inhalar las esporas que están en el aire y que luego germinan y crecen en los pulmones. Desde ahí, el microorganismo migra por el cuerpo, lo que ocasiona infecciones profundas y arraigadas en los pulmones, en otros órganos y en la piel. En los Estados Unidos, las tres micosis sistémicas principales son, por orden decreciente de incidencia: histoplasmosis, coccidioidomicosis y blastomicosis. Su mortalidad es alta, en torno al 10 %.

La *histoplasmosis* (**Figura 32.5*a***) está ocasionada por *Histoplasma capsulatum* (Figura 32.1*e*) y la *coccidioidomicosis* (fiebre del Valle de San Joaquín, Figura 32.5*d*) está provocada por *Coccidioides immitis* (Figura 32.1*f*). La histoplasmosis es principalmente una enfermedad de las zonas rurales en el medio oeste de los Estados Unidos, en especial los valles de los ríos Ohio y Mississippi, mientras que la coccidioidomicosis se limita por lo general a las regiones desérticas del suroeste de los Estados Unidos. La *blastomicosis*, ocasionada por *Blastomyces dermatitidis*, es prevalente en los climas más tropicales (Figura 32.5*b*). La *paracoccidioidomicosis*, producida por el hongo *Paracoccidioides brasiliensis*, es principalmente una enfermedad subtropical que provoca lesiones en la cara (Figura 32.5*e*) o en las extremidades.

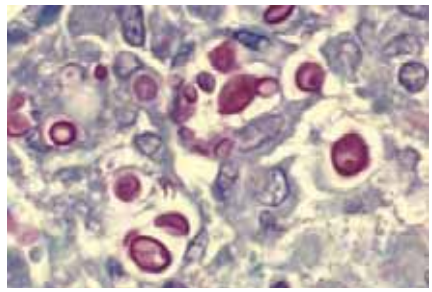
La *criptococosis* (Figura 32.5*c*), ocasionada por la levadura dimórfica *Cryptococcus neoformans* (Figura 32.1*a*), puede aparecer en casi cualquier órgano del cuerpo y es la principal micosis observada en los pacientes con el VIH/SIDA. La levadura dimórfica *Candida albicans* (Figura 32.1*c*) está a menudo presente como un componente menor de la microbiota humana normal. Sin embargo, este hongo puede provocar diversas enfermedades, entre ellas infecciones vaginales leves, infecciones orales más graves, como la candidiasis bucal (Figura 32.5*f*), y puede constituir una infección sistémica de casi cualquier órgano en quienes padecen el VIH/SIDA. Al igual que *Histoplasma* y *Coccidioides*, *Candida* y *Cryptococcus* son principalmente patógenos oportunistas, y rara vez ocasionan infecciones con riesgo para la vida en las personas que no están inmunodeprimidas.



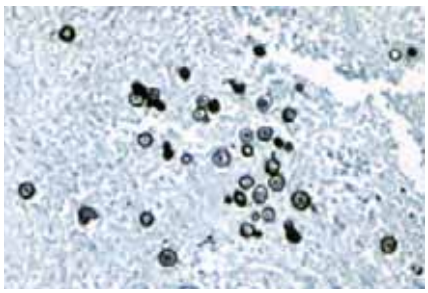
(a)



(b)



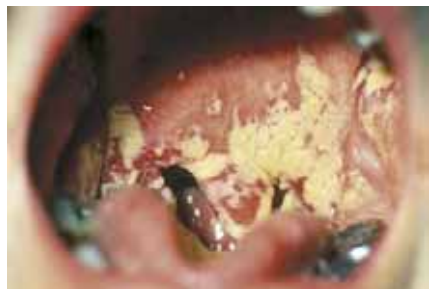
(c)



(d)



(e)



(f)

Figura 32.5 Micosis sistémicas. *(a)* Histoplasmosis; células con forma de levadura de *Histoplasma* (flechas) en tejido de bazo. *(b)* Blastomicosis cutánea en el brazo. *(c)* Criptococosis; células con forma de levadura (teñidas de azul oscuro) en tejido de pulmón. *(d)* Coccidioidomicosis; células con forma de levadura (teñidas de azul negruzco) en tejido de pulmón. *(e)* Lesiones por paracoccidioidomicosis en la cara. (*f*) Candidiasis bucal. La parte posterior de la garganta aparece revestida por masas de células de *Candida albicans* (amarillo). Véanse las microfotografías de cultivos de los patógenos que ocasionan la mayoría de estas micosis en la Figura 32.1.

Nuestra explicación transita ahora de los hongos a los parásitos patógenos. Al igual que los hongos, los parásitos son microorganismos eucariotas, pero a diferencia de ellos, atacan normalmente tejidos y órganos del cuerpo muy diferentes a los que suelen infectar los hongos patógenos.

MINIRREVISIÓN

- Dé un ejemplo de una micosis superficial, otra subcutánea y otra sistémica.
- ¿Por qué los hongos patógenos sistémicos se llaman «oportunistas»?

II • Infecciones parasitarias de las vísceras

El parasitismo es una relación simbiótica (negativa) entre dos organismos, el parásito y el hospedador (Capítulo 22). El parásito extrae nutrientes esenciales del hospedador y puede tener poco o ningún efecto perjudicial sobre él, pero en muchos casos acaba provocándole alguna enfermedad. Muchos grupos filogenéticos diferentes de protistas (Capítulo 17) provocan enfermedades parasitarias en los humanos y aquí examinamos algunas de las más importantes.

Las infecciones parasitarias puede ser viscerales (que inducen vómitos, diarrea y otros síntomas intestinales) o infecciones hemáticas y de los tejidos internos. Algunas de las principales enfermedades de la historia de la humanidad, por ejemplo la malaria, son enfermedades parasitarias. Comenzamos con los parásitos viscerales y a continuación trataremos los parásitos de la sangre y de los tejidos. La **Tabla 32.2** recoge algunas de las principales enfermedades parasitarias de los humanos.

32.3 Amebas y ciliados: *Entamoeba*, *Naegleria* y *Balantidium*

Los géneros *Entamoeba* y *Naegleria* pertenecen a los *Amoebozoa* (↻ Sección 17.8), un gran grupo de protistas que se mueven extendiendo seudópodos de forma lobulada. Ambos parásitos ocasionan infecciones graves, incluso mortales, aunque las infecciones por *Naegleria* son muy poco frecuentes. *Balantidium* es un ciliado del grupo de los alveolados (↻ Sección 17.5) y puede ser principalmente, una causa de enfermedad en los países tropicales.

Tabla 32.2 Principales enfermedades parasitarias de los humanos

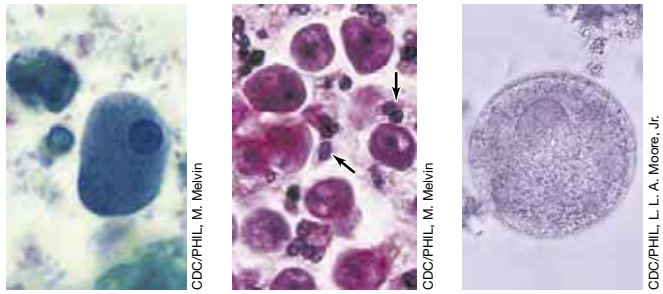
Enfermedades parasitarias según el sitio	*Organismo causal*[a]
Digestivas	
Amebiasis	*Entamoeba histolytica*
Giardiasis	*Giardia intestinalis*
Criptosporidiosis	*Cryptosporidium parvum*
Toxoplasmosis	*Toxoplasma gondii*
Sangre y tejidos	
Malaria	*Plasmodium* spp.
Leishmaniosis	*Leishmania* spp.
Tripanosomiasis (enfermedad del sueño)	*Trypanosoma brucei*
Enfermedad de Chagas	*Trypanosoma cruzi*
Esquistosomiasis	*Schistosoma mansoni*

[a] Todos son protistas (Capítulo 17), excepto *Schistosoma*, que es un helminto.

Entamoeba histolytica (**Figura 32.6*a***) se transmite por el agua contaminada o, de vez en cuando, por alimentos contaminados. *E. histolytica* es un anaerobio cuyos *trofozoítos* (la etapa activa y móvil de alimentación del parásito) carecen de mitocondrias. Al igual que otro patógeno frecuente de transmisión hídrica, *Giardia* (Sección 32.4), los trofozoítos de *E. histolytica* producen quistes, que es su manera de transmitirse. Los quistes ingeridos germinan para formar amebas que crecen sobre la mucosa intestinal y dentro de ella. Esto conduce a la invasión del tejido y a la ulceración que desencadena una diarrea y cólicos intestinales intensos.

Si la población de amebas sigue creciendo, pueden invadir la pared intestinal y provocar una afección llamada *disentería*, que se caracteriza por inflamación intestinal, fiebre y exudados intestinales con sangre y mucosidad. Si no se trata la infección, *E. histolytica* puede invadir el hígado, los pulmones e incluso el cerebro. El crecimiento en estos tejidos provoca abscesos que pueden resultar mortales. Unas 100.000 personas, principalmente de los países en vías de desarrollo donde se deja que las aguas residuales se mezclen con las aguas superficiales, mueren cada año de disentería amebiana invasiva. La amebiasis por *E. histolytica* se puede tratar con una serie de fármacos, pero el sistema inmunitario del hospedador también desempeña una función significativa en la recuperación. Sin embargo, la infección no proporciona ninguna inmunidad protectora, por lo que suelen producirse reinfecciones.

Naegleria fowleri causa amebiasis, pero de una naturaleza muy diferente a la de *E. histolytica*. *N. fowleri* es una ameba de vida libre presente en el suelo y en las corrientes de agua. Las infecciones por *N. fowleri* son resultado de nadar o bañarse en



(a) (b) (c)

Figura 32.6 Amebas y ciliados parásitos. *(a)* Fase de crecimiento (trofozoíto) de *Entamoeba histolytica* cuya longitud puede alcanzar los 60 µm. *(b)* Trofozoítos (flechas) de *Naegleria fowleri* en el tejido encefálico teñido y cortado; los parásitos tienen una longitud de 10-25 µm. *(c)* Quiste de *Balantidium coli* presente en una muestra fecal.

aguas contaminadas, como fuentes termales o lagos y arroyos durante el verano. *N. fowleri* entra en el cuerpo por la nariz y se dirige directamente al cerebro, donde se propaga y causa una hemorragia extensa y daños cerebrales (Figura 32.6*b*), afección que se denomina **meningoencefalitis**. El diagnóstico de una infección por *N. fowleri* requiere la observación de amebas en el líquido cefalorraquídeo. Si se hace rápidamente un diagnóstico definitivo, la administración del fármaco amfotericina B puede salvar al paciente; las infecciones sin tratar casi siempre resultan mortales.

Balantidium coli es un ciliado parásito del intestino porcino y humano que alterna entre las fases del trofozoíto y de quiste (Figura 32.6*c*); solo los quistes son infecciosos. *B. coli* es el único ciliado parásito que se conoce en los humanos. Los quistes, que se suelen propagar por el agua contaminada con heces, germinan en el colon e infectan los tejidos mucosos, lo que produce síntomas que se parecen a los de la amebiasis y hace que a veces se confundan ambas enfermedades. Un paciente infectado suele experimentar una recuperación espontánea, pero también puede convertirse en un portador asintomático, que vierte continuamente quistes de *B. coli* con las heces. En comparación con la amebiasis, las infecciones por *B. coli* son poco frecuentes y los casos no suelen provocar la muerte.

MINIRREVISIÓN

- Compare una infección por *Entamoeba* y por *Naegleria* en lo que respecta a los tejidos infectados y a los síntomas.
- Describa un escenario para contraer una infección por *Naegleria*.

32.4 Otros parásitos de las vísceras: *Giardia, Trichomonas, Cryptosporidium, Toxoplasma* y *Cyclospora*

Los protistas *Giarda intestinalis* y *Trichomonas vaginalis* son flagelados anaerobios parásitos que contienen mitosomas o hidrogenosomas en lugar de mitocondrias (↻ Secciones 2.21 y 17.3); los parásitos ocasionan infecciones intestinales y de transmisión sexual, respectivamente. El protista *Cryptosporidium* está relacionado con *Toxoplasma*, pero a diferencia de este, que se transmite principalmente mediante alimentos infectados, como el protista patógeno *Cyclospora*, *Cryptosporidium* se transmite principalmente por las aguas contaminadas. Vamos a explicar cinco de estos principales parásitos humanos.

Giardiasis

Giardia intestinalis (también llamada *Giardia lamblia*) se transmite a los humanos, generalmente, por el agua con contaminación fecal y provoca una gastroenteritis aguda, la *giardiasis*. Los trofozoítos de *Giardia* (**Figura 32.7*a, c***) producen quistes muy resistentes (Figura 32.7*b*) que sirven para su transmisión. Los quistes ingeridos germinan en el intestino delgado para formar los trofozoítos que viajarán hasta el intestino grueso, donde se adhieren a la pared intestinal y causan los síntomas de la giardiasis: una diarrea acuosa maloliente y explosiva, dolores

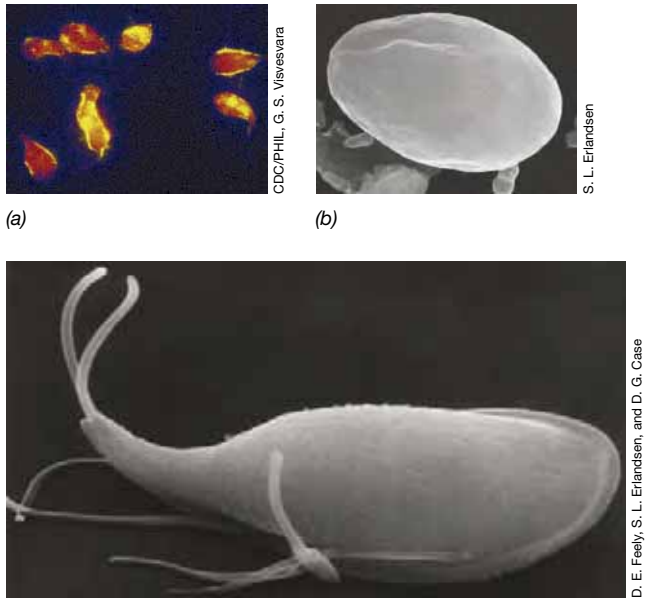


Figura 32.7 ***Giardia***. *(a)* Células de *Giardia intestinalis* teñidas con fluorescencia. (*b, c*) Imágenes de microscopia electrónica de barrido de *(b)* un quiste de *Giardia intestinalis* y *(c)* un trofozoíto móvil. El trofozoíto mide 15 μm de largo y el quiste unos 11 μm de ancho.

intestinales, flatulencia, náuseas, adelgazamiento y malestar general. El olor nauseabundo de la diarrea y la ausencia de sangre en las deposiciones diferencian la giardiasis de las diarreas por patógenos intestinales bacterianos o víricos.

Giardia intestinalis provoca un número significativo de brotes de enfermedades infecciosas transmitidas por el agua de bebida en los Estados Unidos. Los quistes tienen una pared gruesa que les confiere resistencia al cloro, y la mayoría de los brotes se han relacionado con sistemas de distribución de agua que solo la purifican por cloración. El agua sometida a una clarificación y filtración adecuadas, y que después se clora o recibe otras desinfecciones (↻ Sección 21.8), no suele contener quistes de *Giardia*. La mayoría de las aguas superficiales (lagos, estanques y arroyos) sí los contienen porque muchos roedores acuáticos, por ejemplo los castores y las ratas almizcleras, son portadores de este patógeno. Por eso nunca hay que beber de las aguas superficiales si no están tratadas, sino que hay que filtrarlas y desinfectarlas con yodo o cloro o, si no, filtrarlas y hervirlas. Los fármacos mepacrina, furazolidona y metronidazol son útiles para tratar la giardiasis aguda.

Tricomoniasis

Trichomonas vaginalis (**Figura 32.8**) causa una infección de transmisión sexual, la *tricomoniasis*. Este microorganismo no produce células latentes ni quistes, por lo que se suele transmitir directamente de una persona a otra, por lo general mediante las relaciones sexuales. No obstante, a diferencia de la mayoría de los patógenos bacterianos de transmisión sexual, las células de *T. vaginalis* pueden sobrevivir varias horas en las superficies húmedas, y hasta un día en la orina o en el semen. Por tanto, además de la transmisión de la enfermedad por el contacto íntimo, la tricomoniasis también se puede transmitir al sentarse en tazas de váter, bancos de saunas y papel higiénico contaminados.

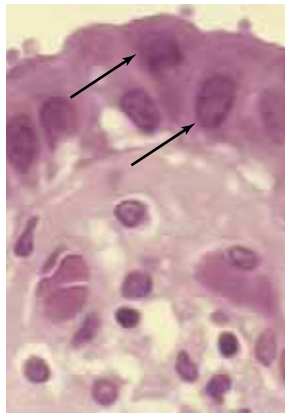


(a)



(b)

Figura 32.8 ***Trichomonas vaginalis***. *(a)* Microfotografía de microscopia óptica de células teñidas; el diámetro de las células oscila entre 10 y 20 µm. *(b)* Leucorrea de una mujer con tricomoniasis. Las células de *T. vaginalis* (flechas) aparecen junto a secreciones vaginales y células epiteliales.





(a) (b)

Figura 32.9 ***Cryptosporidium parvum***. *(a)* Las flechas señalan los trofozoítos intracelulares de *C. parvum* incluidos en el epitelio gastrointestinal humano. Los trofozoítos tienen un diámetro de unos 5 µm. *(b)* Los ooquistes de gruesas paredes de *C. parvum* tienen un diámetro de unos 3 µm en esta muestra fecal.

T. vaginalis infecta la vagina de las mujeres, la próstata y las vesículas seminales de los hombres, y la uretra tanto de hombres como de mujeres. La tricomoniasis suele ser asintomática en los hombres, mientras que en las mujeres se caracteriza por una leucorrea amarillenta (Figura 32.8*b*) que causa prurito y quemazón vaginales persistentes. Las mujeres se infectan con más frecuencia: las encuestas han demostrado que hasta el 25 % de las mujeres sexualmente activas tienen infecciones de *T. vaginalis,* mientras que solo un 5 % de los hombres están infectados. La tricomoniasis se diagnostica mediante la observación de protistas móviles en las preparaciones frescas de líquidos de los pacientes (Figura 32.8*b*). Se trata con eficacia con el fármaco antiprotozoario metronidazol.

Criptosporidiosis, toxoplasmosis y ciclosporiasis

Cryptosporidium, *Toxoplasma* y *Cyclospora* son géneros de coccidios parásitos (un grupo que se encuentra entre los alveolados, ↪ Sección 17.5). Estos parásitos se transmiten a los humanos por aguas o alimentos con contaminación fecal y desencadenan episodios graves de diarrea o, en el caso de *Toxoplasma*, daños graves en los órganos internos.

Cryptosporidium parvum infecta a muchos animales homeotermos, en particular, al ganado vacuno. El organismo forma células cocoides pequeñas que invaden las células epiteliales de la mucosa del estómago y del intestino y se reproducen en su interior (**Figura 32.9*a***), lo que da lugar a la enfermedad gastrointestinal llamada *criptosporidiosis*. *C. parvum* produce quistes muy resistentes de paredes anchas llamados *ooquistes* (Figura 32.9*b*), que llegan al agua con las heces de los animales infectados. A continuación, la infección se transmite a otros animales y a los humanos cuando consumen el agua con contaminación fecal.

Los ooquistes de *Cryptosporidium* son muy resistentes al cloro y, por esto, la sedimentación y la filtración constituyen el único modo fiable de retirarlos del abastecimiento de aguas. En un año normal, *Cryptosporidium* es responsable de la mayoría de los brotes de enfermedades transmitidas por aguas de uso recreativo en los Estados Unidos (Capítulo 31), pero solo de vez en cuando se relaciona con brotes originados por el agua de bebida. Sin embargo, *C. parvum* fue responsable del brote de mayores dimensiones para una enfermedad de transmisión hídrica jamás registrado en los Estados Unidos. En la primavera de 1993, la cuarta parte de la población de Milwaukee, Wisconsin (Estados Unidos) desarrolló criptosporidiosis al beber el agua del abastecimiento municipal. Las lluvias primaverales, y la escorrentía sucia con el estiércol del ganado de las granjas, desaguaron en el Lago Michigan (del que se capta el agua para el suministro de la ciudad), lo que sobrecargó el sistema de purificación de agua y condujo a la contaminación por *C. parvum*.

La criptosporidiosis suele provocar una leve diarrea autolimitada que no necesita tratamiento. Sin embargo, las personas inmunodeficientes, como las que padecen el VIH/SIDA, los más jóvenes o los más ancianos, pueden sufrir graves complicaciones con la infección de *C. parvum*. El principal método diagnóstico de laboratorio para la criptosporidiosis es la demostración de que hay ooquistes en las heces (Figura 32.9*b*). También existen herramientas inmunológicas y moleculares para una identificación más precisa de las cepas del patógeno cuando es necesario seguirles la pista.

Al igual que *C. parvum*, el parásito *Cyclospora cayetanensis* también forma ooquistes y provoca una gastroenteritis leve, que a veces se vuelve grave, y que se denomina *ciclosporiasis*. Sin embargo, a diferencia de *C. parvum*, *C. cayetanensis* se transmite principalmente por los alimentos, normalmente alimentos frescos, con contaminación fecal en vez de por el agua contaminada. La mayoría de casos de ciclosporiasis se han relacionado con frutas y verduras contaminadas. El mayor brote en los Estados Unidos se dio durante el verano de 2013, y estaba relacionado con las lechugas envasadas (↪ Sección 31.7).

La toxoplasmosis está ocasionada por *Toxoplasma gondii* (**Figura 32.10**). Este parásito infecta a muchos animales homeotermos y en torno a la mitad de los adultos en los Estados Unidos están infectados, aunque sean asintomáticos porque su

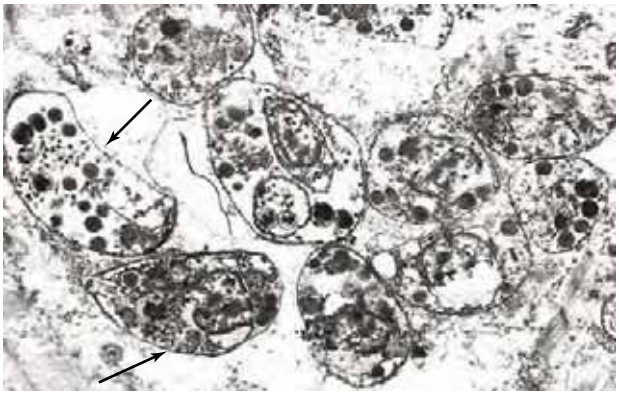


Figura 32.10 ***Toxoplasma***. Taquizoítos (células que crecen rápidamente) de *Toxoplasma gondii*, un parásito intracelular. En esta microfotografía de microscopia electrónica de transmisión, los taquizoítos (flechas) forman una estructura de tipo quiste en un cardiocito del hospedador. Los taquizoítos de *Toxoplasma* tienen una longitud de 4-7 µm.

sistema inmunitario mantiene el microorganismo bajo control. *T. gondii* se transmite típicamente a los humanos en forma de quistes presentes en carne poco hecha de vaca, cerdo o cordero, mediante la infección directa desde los gatos, que son los principales portadores de *T. gondii*, y ocasionalmente en el agua contaminada. En los felinos se completa una etapa clave en el ciclo de vida de *T. gondii*, por lo que son hospedadores estrictos, mientras que los humanos y otros animales son solo hospedadores accidentales. Así pues, la mayoría de las transmisiones a los humanos probablemente venga de los gatos.

La toxoplasmosis puede acarrear síntomas leves o graves. Cuando se ingieren los quistes de *T. gondii*, atraviesan la pared del intestino delgado. Esta infección inicial puede ser asintomática o presentar síntomas indistinguibles de los de un caso leve de gripe (cefalea, dolor muscular, malestar general). Sin embargo, en algunas personas infectadas, los quistes de *T. gondii* migran desde el intestino delgado y circulan por todo el cuerpo. Posteriormente, el parásito entra en las células nerviosas e infectan los tejidos encefálicos y los ojos. Aunque los síntomas de la enfermedad en los adultos sanos son poco frecuentes, en los individuos inmunodeprimidos la toxoplasmosis puede dañar los ojos, el cerebro y otros sistemas de órganos internos. Además, la primera infección con *T. gondii* de una mujer embarazada puede provocar malformaciones congénitas en los recién nacidos; por eso, las mujeres gestantes que no hayan estado en contacto con gatos deben evitarlos hasta después de dar a luz.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué síntomas de la giardiasis sugerirían que una gastroenteritis no se debe a un patógeno bacteriano?
- ¿Cómo se contrae la tricomoniasis? ¿Y la toxoplasmosis?
- ¿Qué peculiaridad de los ooquistes de *Cryptosporidium* facilita su transmisión por el agua?

III • Infecciones parasitarias de tejidos y sangre

Varios parásitos humanos infectan órganos y tejidos distintos del tracto digestivo y se transmiten normalmente mediante insectos vectores. Comenzamos tratando la malaria, también conocida como paludismo, la enfermedad parasitaria más devastadora y extendida, y que actualmente sigue constituyendo un problema importante de salud global.

32.5 *Plasmodium* y malaria

La **malaria** está causada por protistas del grupo de los alveolados (↔ Sección 17.5). Varias especies de protozoos del género *Plasmodium* provocan enfermedades parecidas a la malaria en hospedadores homeotermos; hasta 500 millones de personas por todo el mundo contraen malaria cada año, y cerca de 1 millón mueren a causa de la enfermedad. Así pues, se trata de una de las enfermedades infecciosas que más muertes provoca en todo el mundo y, desde luego, la más prevalente de las enfermedades parasitarias.

El complejo ciclo de vida del parásito de esta enfermedad requiere un mosquito como vector. Casi todos los casos de malaria en humanos suelen deberse a cuatro especies de *Plasmodium*: *P. vivax, P. falciparum, P. ovale* y *P. malarie*. La enfermedad más extendida está causada por *P. vivax*, mientras que la más grave se debe a *P. falciparum*. Los humanos somos el único reservorio de estas cuatro especies. Los protistas desarrollan parte de su ciclo de vida en el cuerpo humano y parte en el cuerpo de las hembras del mosquito *Anopheles*, el único vector que transmite los *Plasmodium* spp. El vector propaga el protista de una persona a otra.

Ciclo de vida de *Plasmodium*

El ciclo de vida de *Plasmodium* es complejo y tiene varias fases (**Figura 32.11**). Primero, el hospedador humano se infecta con los *esporozoítos* del plasmodio, que son células alargadas y pequeñas producidas en las glándulas salivales del mosquito. El mosquito (Figura 32.11, inserto) inyecta saliva con esporozoítos en una persona cuando se alimenta de su sangre. Los esporozoítos se desplazan hasta el hígado, infectan los hepatocitos y permanecen quiescentes en ellos por un tiempo indefinido, pero finalmente se replican y agrandan en una fase denominada *esquizonte* (véase la Figura 32.12*b*). Los esquizontes se segmentan entonces en muchas células pequeñas denominadas *merozoítos*, que abandonan el hígado y vuelven al torrente circulatorio. A continuación, algunos merozoítos infectan los glóbulos rojos (eritrocitos).

El ciclo de vida del plasmodio en los eritrocitos continúa con varias divisiones, crecimiento y liberación de merozoítos (**Figura 32.12**); el resultado es la destrucción de los glóbulos rojos del hospedador. El crecimiento del plasmodio en los glóbulos rojos se repite a intervalos sincronizados de 48 h. Durante estos períodos de 48 h, el hospedador sufre los síntomas clínicos que definen la malaria: escalofríos seguidos de fiebre alta

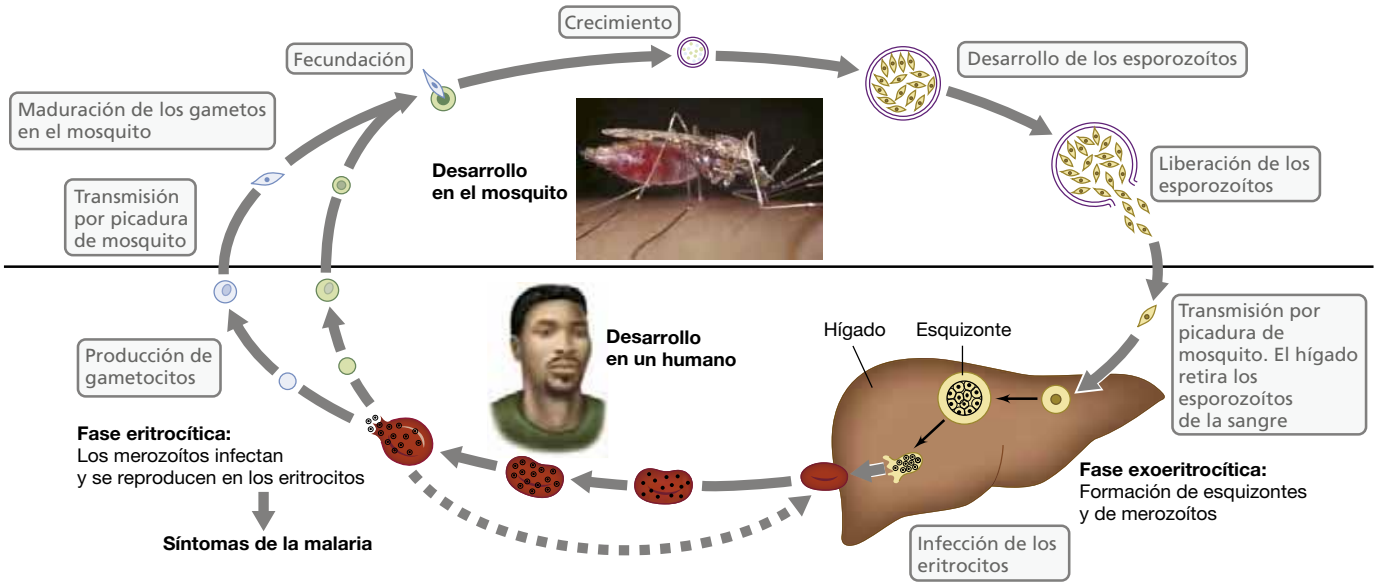
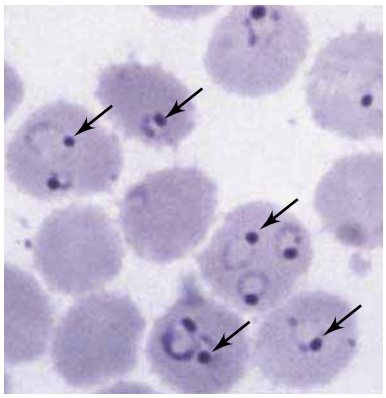


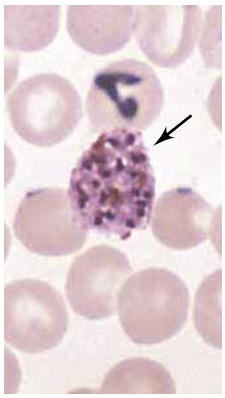
Figura 32.11 **El ciclo de vida de *Plasmodium*.** El ciclo de vida de *Plasmodium* requiere de un hospedador homeotermo y del mosquito vector. La transmisión del protista al hospedador homeotermo y su vuelta al mosquito se produce por la picadura del mosquito *Anopheles gambiae* (el insecto). La fotografía del mosquito es cortesía del CDC/PHIL, J. Gathany.

(hasta 40 °C). El patrón de escalofríos y fiebre coincide con la liberación de los merozoítos desde los eritrocitos durante el ciclo de reproducción sincronizada. Estos ciclos pueden ir acompañados de vómitos y cefalea intensa y, a más largo plazo, los síntomas característicos de la malaria se pueden alternar con periodos asintomáticos. Debido a la destrucción de los glóbulos rojos, la malaria suele provocar anemia y cierta inflamación del bazo (esplenomegalia).

Los merozoítos acaban convirtiéndose en *gametocitos*, unas células que infectan solo a los mosquitos. Estos los ingieren cuando un mosquito *Anopheles* se alimenta de la sangre de una persona infectada y maduran dentro del mosquito produciendo *gametos*. Dos gametos se fusionan para formar un cigoto, que, mediante un movimiento ameboide, migra hasta la pared externa del intestino del insecto, donde se agranda y forma varios esporozoítos. Estos se liberan y alcanzan la glándula salival del mosquito, desde donde se pueden transmitir a otro humano para reiniciar el ciclo (Figura 32.11).



(a)



(b)

Figura 32.12 ***Plasmodium* y malaria.** *(a)* Merozoítos de *Plasmodium falciparum* (flechas) que crecen dentro de los eritrocitos humanos. *(b)* Un esquizonte de *P. vivax* (flechas) junto a eritrocitos. Cuando se liberan desde el esquizonte, los merozoítos infectan a los eritrocitos (Figura 32.11). Los glóbulos rojos tienen un diámetro de unos 6 µm.

Epidemiología, diagnóstico, tratamiento y control

Los mosquitos *Anopheles* (Figura 32.11, inserto) viven predominantemente en los trópicos y subtrópicos, y son el vector de la malaria. El diagnóstico de malaria requiere la identificación de los eritrocitos infectados con *Plasmodium* en los frotis de sangre (Figura 32.12). También se utilizan las tinciones fluorescentes de ácidos nucleicos, las sondas de ácido nucleico, los ensayos por PCR y los diferentes métodos de detección de antígenos, para verificar las infecciones con *Plasmodium* o para distinguir entre infecciones con diferentes especies de *Plasmodium*.

El tratamiento típico de la malaria se lleva a cabo con *cloroquina*, que mata los merozoítos dentro de los eritrocitos, pero no mata los esporozoítos. La *primaquina*, un fármaco relacionado, elimina los esporozoítos de *P. vivax* y *P. ovale* que permanezcan en los hepatocitos. Así pues, el tratamiento con cloroquina y primaquina cura con eficacia la mayoría de los casos de malaria. Sin embargo, en algunos individuos, la malaria reaparece años después de la primera infección, cuando unos pocos esporozoítos que habían quedado en el hígado originan una nueva generación de merozoítos. Las cepas de *Plasmodium* resistentes a la quinina están muy extendidas, con lo que la *politerapia* (el uso simultáneo de varios fármacos) se ha acabado convirtiendo en forma más habitual de tratamiento.

La malaria se puede controlar con el drenaje de los humedales y otras zonas de reproducción, o bien con la eliminación del mosquito con insecticidas. Juntas, estas medidas han eliminado casi por completo la malaria en los Estados Unidos, ya que la mayoría de casos son importados. Están en desarrollo varias

vacunas que incluyen las basadas en péptidos sintéticos, en partículas recombinantes y en DNA (↔ Sección 24.7), pero hasta ahora no ha aparecido ninguna vacuna eficaz y fiable contra la malaria para usarla en los programas de vacunación masiva.

MINIRREVISIÓN

- ¿Qué fases del ciclo de vida de *Plasmodium* transcurren en los humanos y cuáles en el mosquito?
- ¿Cuáles son los reservorios naturales y los vectores de las especies de *Plasmodium*? ¿Cómo se puede prevenir o erradicar la malaria?
- ¿Qué fármacos se utilizan para tratar la malaria?

32.6 Leishmaniosis, tripanosomiasis y enfermedad de Chagas

Los parásitos del género *Leishmania* y *Trypanosoma* se transmiten mediante insectos hematófagos vectores. Estos parásitos son *hemoflagelados*, microorganismos que residen en la sangre o tejidos relacionados, como el hígado o el bazo, y que provocan enfermedades importantes en los humanos, sobre todo en los países tropicales y subtropicales.

Leishmaniosis

La **leishmaniosis** es una enfermedad parasitaria, con diferentes manifestaciones, causada por especies del género *Leishmania*, un protozoo flagelado emparentado con *Trypanosoma*, que se transmite a los humanos por la picadura de mosquitos flebótomos (*Phlebotomus* sp. y *Lutzomyia* sp.). La *leishmaniosis cutánea*, provocada por *L. tropica* o por *L. mexicana*, es la forma más corriente de la enfermedad. Después de que el mosquito transmita el parásito a un humano al alimentarse de su sangre (**Figura 32.13*a, b***), el parásito infecta y crece dentro de los macrófagos, lo que finalmente (semanas o meses más tarde) provoca la formación de un nódulo pequeño en la piel, que luego se ulcera y se puede agrandar hasta formar una lesión cutánea importante (Figura 32.13*c*) que contiene parásitos activos. En ausencia de infecciones bacterianas secundarias, que son habituales si el tejido ulcerado permanece expuesto, las lesiones se curan de forma espontánea al cabo de unos meses, pero pueden dejan una cicatriz permanente.

La leishmaniosis se ha tratado desde siempre con inyecciones de compuestos de antimonio pentavalente (Sb^{5+}). Aunque se desconoce su modo de acción, se cree que el Sb^{5+} estimula o activa de algún modo la respuesta inmunitaria para atacar mejor los parásitos de *Leishmania*. Sin embargo, muchas especies de *Leishmania* son hoy en día resistentes a los compuestos de antimonio, aunque se dispone de otros fármacos distintos para tratar las formas cutáneas resistentes de la enfermedad. Se estima que la prevalencia de la leishmaniosis cutánea en todo el mundo ronda el millón de casos.

La *leishmaniosis visceral* o calazar está provocada por *Leishmania donovani* y es la forma más grave de la enfermedad. En ella, el parásito viaja del lugar de la infección a los órganos internos, en particular al hígado, al bazo y a la médula ósea; si se deja sin tratar, la leishmaniosis visceral acaba siendo casi siempre mortal. Los síntomas habituales de la leishmaniosis visceral incluyen ciclos de fiebre y escalofríos, una reducción lenta del número de glóbulos rojos y blancos, y una hipertrofia significativa del bazo y del hígado, que pueden conducir a una distensión importante del abdomen. El tratamiento incluye inyecciones de antimonio (como para la enfermedad cutánea), largos periodos de reposo en cama y transfusiones de sangre en los casos agudos si el hemograma es peligrosamente bajo. La estimación de la prevalencia de la leishmaniosis visceral en todo el mundo está en torno a 300.000 casos.



Figura 32.13 Leishmaniosis. *(a)* El mosquito que transmite la leishmaniosis (del género *Phlebotomus*) propaga la enfermedad al alimentarse de sangre. *(b) Leishmania* spp son protozoos flagelados que causan la leishmaniosis. *(c)* Leishmaniosis cutánea que muestra una úlcera abierta en la mano. Es habitual que estas úlceras se infecten secundariamente con bacterias.

Tripanosomiasis y enfermedad de Chagas

Los protozoos flagelados del género *Trypanosoma* (↔ Sección 17.4) provocan dos tipos emparentados de **tripanosomiasis**. Dos subespecies de *Trypanosoma brucei* nativas de África, *T. brucei gambiense* (**Figura 32.14*a***) y *T. brucei rhodesiense*, provocan la *tripanosomiasis africana*, más conocida como la *enfermedad del sueño*. La especie *T. cruzi* provoca la *enfermedad de Chagas*, también conocida como *tripanosomiasis americana*. Estas enfermedades se transmiten por las picaduras de insectos, bien sean moscas o chinches.

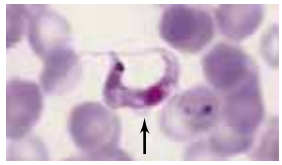
La enfermedad del sueño se transmite a través de la mosca tse-tsé (del género *Glossina*), un insecto nativo solo de las regiones tropicales de África cuyo tamaño es parecido al de la mosca común; la enfermedad del sueño, por tanto, es endémica solo en los países del África subsahariana. Comienza con fiebre intermitente, cefalea y malestar general. El parásito se multiplica en la sangre y más tarde infecta el sistema nervioso central y crece en el líquido cefalorraquídeo. Los síntomas neurológicos comienzan pronto, e incluyen patrones de sueño que no son circadianos. El parásito produce el alcohol aromático *triptofol*, un derivado del aminoácido triptófano, que provoca el sueño. Si no se trata, la infección progresa poco a poco hasta llegar al coma, insuficiencia multiorgánica, y a la muerte al cabo de meses o años, según el caso. Existen muchos fármacos contra



(a)



(b)



(c)

Figura 32.14 Tripanosomiasis africana y enfermedad de Chagas. *(a)* Dos células de *Trypanosoma brucei* (flechas), el agente causal de la enfermedad del sueño (tripanosomiasis africana) en un frotis de sangre. *(b)* La chinche besucona (*Triatoma infestans*), el vector de la enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana). *(c)* Una célula de *Trypanosoma cruzi* (flechas), el agente causal de la enfermedad de Chagas, en un frotis de sangre.

los tripanosomas para tratar la enfermedad del sueño; algunos se utilizan principalmente para tratar la infección en la sangre, mientras que otros se utilizan si la enfermedad ha progresado a la fase neurológica. Cada año se notifican unos 10.000 casos nuevos de enfermedad del sueño, pero se cree que la mayoría quedan sin registrar.

La enfermedad de Chagas, que recibe este nombre por el médico brasileño descubridor Carlos Chagas (1879-1934). Está provocada por *T. cruzi*, estrechamente emparentado con *T. brucei*, y se transmite por la picadura de los redúvidos (*Triatoma infestans*, *Rhodnius prolixus*), o vinchucas (Figura 32.14*b, c*). La enfermedad se da principalmente en los países sudamericanos. El parásito afecta varios órganos, entre ellos el corazón, el tubo digestivo y el sistema nervioso central, y provoca reacciones inflamatorias y destrucción de tejidos. La enfermedad aguda suele autolimitarse, pero si se desarrolla la enfermedad crónica, la cardiopatía es importante y acabará provocando una muerte prematura. Cada año se producen unas 20.000 muertes debido a la enfermedad de Chagas en los países sudamericanos donde es endémica.

Hoy en día no existen vacunas para la prevención de las tripanosomiasis, ni la africana ni la americana.

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué se parecen las tripanosomiasis y la malaria, y en qué se diferencian?
- ¿En qué se diferencian los síntomas de las leishmaniosis cutánea y la visceral?
- ¿Cómo se altera el ciclo del sueño en los casos de tripanosomiasis africana?

32.7 Helmintos parásitos: esquistosomiasis y filariosis

Algunas enfermedades parasitarias están provocadas por helmintos, unos diminutos gusanos que excavan en los tejidos del hospedador humano y provocan enfermedades debilitantes y la muerte. Aquí tratamos la más extendida, la esquistosomiasis y, de forma un poco más breve, otras dos infecciones menos corrientes provocadas también por helmintos.

Esquistosomiasis

La **esquistosomiasis**, también llamada *fiebre de los caracoles*, es una enfermedad parasitaria crónica causada por especies de trematodos (gusanos planos) del género *Schistosoma*; la principal especie es *S. mansoni* y los gusanos adultos pueden alcanzar hasta un centímetro de longitud (**Figura 32.15*a***). El ciclo de vida del parásito necesita como hospedadores tanto a los caracoles como a los humanos (u otros mamíferos). Los huevos de los esquistosomas (Figura 32.15*b*), liberados en medios acuáticos dulceacuícolas, eclosionan para generar *miracidios*, la forma del gusano que infecta los caracoles. En el caracol, los miracidios se transforman en *cercarias* (Figura 32.15*c*), la fase móvil del parásito, que se libera e infecta a los humanos.

Las cercarias penetran en la piel dejando una pequeña lesión en la superficie, (Figura 32.15*d*) y a continuación migran a los pulmones y al hígado; durante el proceso, el gusano establece una infección a largo plazo en los vasos sanguíneos. Desde el hígado, el parásito infecta la vejiga, los riñones y la uretra, y el gusano hembra produce una gran cantidad de huevos. Los



(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 32.15 Esquistosomiasis. *(a)* Gusano adulto de *Schistosoma mansoni*, que mide aproximadamente 1 cm de largo. *(b)* Un huevo de *S. mansoni*, de aproximadamente 0,15 mm de largo. La espícula lateral es característica de los huevos de esta especie. *(c)* Cercaria, la forma infecciosa de *S. mansoni*, teñida con fluorescencia. Desde la cabeza (arriba) a la cola bifurcada mide aproximadamente 1 mm. *(d)* Infección del antebrazo por cercarias. Resultan evidentes cinco sitios de infección (flechas).

huevos se expulsan con la orina y también pasan a través de la pared intestinal y se eliminan en las heces. También se queda atrapada una gran masa de huevos junto con líquidos en la vejiga, el hígado y otros órganos, lo que desencadena una respuesta inflamatoria y una importante distensión abdominal, una afección que se observa con frecuencia en los niños infectados (**Figura 32.16*a***). Otros síntomas incluyen sangre en la orina, diarrea y dolor abdominal. Los huevos, así como los gusanos adultos, pueden vivir durante muchos años en el cuerpo, provocando síntomas crónicos que pueden durar desde la juventud hasta la edad adulta.

La esquistosomiasis es una enfermedad de los países tropicales, principalmente los africanos, pero se pueden producir algunos casos en países subtropicales, como los de Sudamérica y la región caribeña. La enfermedad se puede tratar eficazmente con el fármaco prazicuantel, y el diagnóstico es relativamente fácil a partir de los síntomas y la observación de huevos del parásito en la orina y en las heces. La mortalidad es baja, aproximadamente del 0,1 %, pero, en términos de infecciones parasitarias totales en todo el mundo, solo la supera la malaria. En 2011 se trataron casi 250 millones de casos de la enfermedad, y muchos otros probablemente quedaron sin tratamiento.

Filariasis

Se conocen otras infecciones por helmintos parasitarios, entre las que cabe destacar las *filariasis*, infecciones por nematodos (nematelmintos o gusanos redondeados) parásitos. A diferencia del parásito de la esquistosomiasis, estos gusanos son claramente macroscópicos en la etapa adulta (varios centímetros de longitud, según la filariasis).



(a)



(b)

Figura 32.16 Síntomas de las infecciones por helmintos parásitos. *(a)* Esquistosomiasis en un niño pequeño. El abdomen hinchado por la acumulación de líquidos y huevos del gusano es característico de la infección. *(b)* Filariosis de Bancroft (elefantiasis). Las piernas hinchadas son el resultado de edemas debidos a la infección de los tejidos linfáticos por el nematodo *Wuchereria bancrofti*.

La filariosis de Bancroft (también llamada «elefantiasis») es una infección crónica del sistema linfático por *Wuchereria bancrofti*. El gusano se transmite a los humanos en forma de *microfilarias* diminutas mediante una picadura de mosquito. Una vez en el hospedador, las microfilarias se desarrollan en gusanos adultos que interrumpen el flujo linfático, lo que conduce una acumulación importante de líquidos (edema). La acumulación de líquidos en la parte inferior del cuerpo puede ocasionar un gran aumento de tamaño de las piernas (Figura 32.16*b*). Más de 120 millones de personas en los trópicos padecen infección por *W. bancrofti,* pero la fase de microfilaria de la enfermedad se puede tratar con facilidad.

La *oncocercosis* (también llamada *ceguera de río*) se debe a una infección crónica por el nemátodo parásito grande *Onchocerca volvulus*. Los humanos son el único hospedador conocido para este parásito, pero las moscas se convierten en vectores cuando quedan infectadas con microfilarias al alimentarse de sangre, y los transmiten a personas no infectadas a través de una picadura. Las microfilarias invaden la córnea, y desde ahí pasan al iris y a la retina, lo que desencadena una respuesta inflamatoria que provoca una cicatriz y la pérdida total o parcial de la visión. La infección por *O. volvulus* está por detrás solo del tracoma (↻ Sección 29.13) entre los causantes de ceguera infecciosa. Se estima que unos 20 millones de personas están infectadas con este parásito, principalmente en el África ecuatorial.

La enfermedad de la *triquinosis* (también llamada *triquinelosis*) la ocasionan especies de nemátodo parásito del género *Trichinella*. Este gusano suele infectar los tejidos musculares de los mamíferos silvestres y, de vez en cuando, infecta a los animales domésticos, en especial los cerdos; cada año se notifican unos 20 casos de triquinosis humana en los Estados Unidos, normalmente debido al consumo de carne de caza poco cocinada. La infección humana con *Trichinella* comienza cuando las larvas del gusano entran en las células de la mucosa intestinal, lo que conduce bien a una afección asintomática bien a una gastroenteritis leve. A medida que las larvas maduran y se reproducen, empiezan a circular nuevas larvas por el cuerpo y provocan reacciones inflamatorias sistémicas, como malestar general, tumefacción facial y fiebre. Los casos de triquinosis sin tratar acaban provocando síntomas orgánicos específicos más graves, entre ellos daño en el corazón, encefalitis, e incluso la muerte. Sin embargo, si se diagnostica bien, normalmente mediante pruebas inmunológicas, la triquinosis se puede tratar con diversos fármacos antihelmínticos.

MINIRREVISIÓN

- ¿En qué se diferencia el patógeno que provoca la esquistosomiasis de otros patógenos explicados en este capítulo?
- ¿Cuál es el origen de la mayoría de casos de triquinosis en los humanos?

IDEAS PRINCIPALES

32.1 • Entre los hongos se incluyen los mohos (hongos filamentosos) y las levaduras. Algunos son dimórficos, lo que significa que se pueden presentar una fase de micelio y otra de levadura. Las micosis superficial, subcutánea y sistémica, se refieren a infecciones micóticas de la superficie de la piel, subsuperficiales, y de órganos internos, respectivamente. Las infecciones micóticas pueden ser leves o graves, según la salud y el estado inmunitario de los infectados.

32.2 • Las micosis superficiales, como el pie de atleta o la tiña inguinal, son leves y fáciles de tratar, mientras que las micosis subcutáneas, como la esporotricosis o, en especial las micosis sistémicas, como la histoplasmosis, son más difíciles de tratar con eficacia. La capacidad que tienen los hongos causantes de micosis sistémicas para infectar órganos internos, hace que estos patógenos sean particularmente peligrosos para los ancianos o las personas inmunodeficientes.

32.3 • Los géneros *Entamoeba* y *Naegleria* son amebas parásitas de los humanos que provocan infecciones gastrointestinales y encefálicas, respectivamente. *Entamoeba* se transmite en aguas con contaminación fecal, mientras que *Naegleria* habita aguas termales contaminadas con suelo. *Balantidium* es un ciliado parásito intestinal que se transmite por el agua con contaminación fecal.

32.4 • Los protistas *Giardia intestinalis* y *Cryptosporidium parvum* son los principales parásitos patógenos de transmisión hídrica, mientras que *Toxoplasma gondii* es principalmente un parásito transmitido por los alimentos o por los gatos, y *Trichomonas vaginalis* es un parásito de transmisión sexual. El parásito patógeno *Cyclospora* se transmite principalmente en verduras frescas como las lechugas o las espinacas contaminadas con heces animales. Ninguno de estos parásitos ocasiona enfermedades con riesgo mortal en los individuos sanos, aunque *T. gondii* puede desencadenar infecciones graves e incluso mortales en los hospedadores inmunodeprimidos.

32.5 • Las infecciones con *Plasmodium* spp. provocan malaria, una enfermedad hemática extendida que transmite un mosquito, cuya morbilidad y mortalidad son importantes en las regiones tropicales y subtropicales del planeta. La malaria se puede tratar con quininas y otros fármacos, pero todavía no se puede prevenir mediante vacunación.

32.6 • La leishmaniosis es una enfermedad parasitaria causada por especies de *Leishmania*; la forma cutánea de la enfermedad es la más corriente. *Trypanosoma brucei* provoca la tripanosomiasis africana (enfermedad del sueño), mientras que su pariente cercano *Trypanosoma cruzi* causa la enfermedad de Chagas. Todas estas enfermedades se transmiten por la picadura de un insecto vector, ya sea una mosca o una chinche.

32.7 • La esquistosomiasis es una enfermedad parasitaria importante causada por un gusano microscópico, *Schistosoma mansoni*. El ciclo de vida del parásito necesita tanto caracoles como mamíferos. El gusano infecta el hígado y los riñones y produce grandes masas de huevos que se acumulan en el cuerpo, lo que conduce a una inflamación sistémica y a distensión abdominal. Otras enfermedades provocadas por gusanos parásitos, como la elefantiasis y la ceguera de río, también dejan signos de infección muy visibles.

MasteringMicrobiology®

Revise lo que sabe y descubra lo que ha aprendido con MasteringMicrobiology. Acceda a material de estudio, revisiones de los capítulos, animaciones y tutoriales de microbiología práctica en el Área de Estudio y asegúrese de que ha asimilado todo el contenido de este capítulo.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Esquistosomiasis: enfermedad crónica causada por un gusano parásito que produce daños en los órganos internos, y acumulación de líquido y de masas de huevos del gusano.

Leishmaniosis o leishmaniasis: enfermedad de la piel o de las vísceras causada por la infección con una especie de un protozoo flagelado parásito, *Leishmania*.

Malaria: enfermedad caracterizada por episodios recurrentes de fiebre y anemia, causada por el protista *Plasmodium* spp., que se suele transmitir entre los mamíferos a través de la picadura del mosquito *Anopheles*.

Meningoencefalitis: invasión, inflamación y destrucción de tejido encefálico por la ameba *Naegleria fowleri* u otros patógenos diferentes.

Micosis: cualquier infección causada por un hongo.

Micosis sistémicas: crecimiento de hongos en los órganos internos del cuerpo.

Micosis subcutáneas: infecciones micóticas de las capas más profundas de la piel.

Micosis superficiales: infecciones micóticas de las capas superficiales de la piel, cabello o uñas.

Patógenos oportunistas: organismos que causan enfermedades en ausencia de la resistencia normal del hospedador.

Tripanosomiasis: cualquier enfermedad parasitaria de la sangre y de los tejidos internos causada por especies del protozoo flagelado *Trypanosoma*; la enfermedad del sueño y la enfermedad de Chagas son las dos principales.

PREGUNTAS DE REPASO

1. ¿Qué son más habituales, las micosis superficiales o las sistémicas? ¿Ha padecido alguna de ellas? (Sección 32.1)
2. ¿Cuáles son las micosis sistémicas más habituales en los Estados Unidos y qué poblaciones son más sensibles a tales infecciones? (Sección 32.2)
3. Si fuera a padecer alguna de ellas, ¿qué preferiría, una infección por *Entamoeba* o una infección por *Naegleria*? (Sección 32.3)
4. A diferencia de la enfermedad causada por *Trichomonas*, ¿qué tienen en común la giardiasis y la criptosporidiosis? (Sección 32.4)
5. Los síntomas de la malaria incluyen fiebre seguida de escalofríos, que se deben a la actividad del patógeno. Describa las fases de crecimiento de *Plasmodium* spp. en el hospedador humano y relaciónelas con el patrón de fiebre y escalofríos. (Sección 32.5)
6. Compare la leishmaniosis con los dos tipos de tripanosomiasis en lo que respecta a agentes causales, síntomas y vectores de transmisión. (Sección 32.6)
7. Compare la esquistosomiasis con las otras infecciones parasitarias explicadas en este capítulo. ¿Cuáles son sus principales diferencias? (Sección 32.7)

EJERCICIOS PRÁCTICOS

1. La erradicación de la malaria ha sido un objetivo de los programas sanitarios durante al menos 100 años. ¿Qué factores nos impiden erradicarlo? Si se desarrollase una vacuna eficaz, ¿se podría erradicar?
2. En términos de salud pública, ¿cuál es el problema común a muchas de las infecciones parasitarias viscerales explicadas en este capítulo? ¿Cómo se podría abordar este problema? ¿Por qué son raras estas enfermedades en los países desarrollados?
3. Explique por qué la malaria, la leishmaniosis y la tripanosomiasis son principalmente enfermedades de las regiones tropicales. ¿En qué forma podríamos nosotros afectar a la futura distribución geográfica de estas enfermedades?
4. Explique por qué las infecciones micóticas sistémicas solo se suelen ver en algunos individuos a pesar de que mucha gente esté en contacto con el patógeno, mientras que un brote de giardiasis afecta a casi todos los que han estado en contacto con el patógeno.

Apéndice 1 Cálculos de energía en bioenergética microbiana

La información contenida en este Apéndice pretende servir de ayuda para calcular los cambios de energía libre que acompañan a las reacciones químicas que realizan los microorganismos. El apéndice comienza con las definiciones de los términos que se requieren para realizar dichos cálculos y muestra cómo conocer el potencial redox, el equilibrio atómico y de carga, y otros factores, necesarios para calcular adecuadamente problemas de energía libre.

I • Definiciones

1. ΔG^0 = cambio de energía libre estándar de la reacción bajo condiciones estándar (a 1 atm de presión y 1 M de concentración); ΔG = cambio de energía libre bajo las condiciones especificadas; $\Delta G^{0\prime}$ =cambio de energía libre bajo condiciones estándar a pH 7. La prima (′), a lo largo del apéndice indica a pH 7 (aproximadamente las condiciones celulares).
2. Cálculo de ΔG^0 para una reacción química a partir de la energía libre de formación, ΔG_f^0, de sustancias reactantes y productos:

$$\Delta G^0 = \Sigma \Delta G^0 \text{ (productos)} - \Sigma \Delta G_f^0 \text{ (reactantes)}$$

   Es decir, el sumatorio de ΔG_f^0 de los productos menos el sumatorio ΔG_f^0 de los reactantes.
3. Para las reacciones energéticas en las que están implicados H^+, se debe pasar de las condiciones estándar (pH 0) a las condiciones celulares (pH 7):

$$\Delta G^{0\prime} = \Delta G^0 + m\Delta G_f^0\,(H^+)$$

   donde *m*, es el número neto de protones en la reacción (*m* es negativo cuando se consumen más protones de los que se forman) y ΔG_f^0 (H^+) es la energía libre de formación de un protón a pH 7 (–39,87 kJ) a 25 °C.
4. Efecto de las concentraciones sobre ΔG: con sustratos solubles, la relación entre las concentraciones de los productos formados y de los sustratos exógenos consumidos es normalmente igual o menor que 10^{-2} al principio del crecimiento, e igual o mayor que 10^{-2} al final del crecimiento. A partir de la relación existente entre ΔG y la constante de equilibrio (véase el punto 8), se puede calcular que ΔG para la energía libre en estas condiciones difiere del de la energía libre en condiciones estándar en menos de 11,7 kJ, por tanto y como aproximación, se puede usar la energía libre estándar en la mayoría de los casos. Sin embargo, si H_2 es un producto, la presencia de bacterias consumidoras de H_2 mantiene la concentración de H_2 tan baja que el rendimiento de la energía libre se puede ver significativamente afectado. Por ejemplo, en la fermentación de etanol a acetato y H_2 por bacterias sintróficas ($C_2H_5OH + H_2O \rightarrow C_2H_3O_2^- + 2H_2 + H^+$), la $\Delta G^{0\prime}$ (a 1 atm de H_2) es +9,68 kJ, pero a 10^{-4} atm de H_2 es –36,03 kJ. Por consiguiente, en presencia de bacterias que consumen H_2, la fermentación de etanol por bacterias sintróficas convierte una reacción endergónica en exergónica (véase también el punto 9).
5. Potenciales de reducción: convencionalmente, las ecuaciones redox se escriben en la dirección oxidante + $ne^- \rightarrow$ reductor (es decir, como reducciones), donde *n* es el número de electrones transferidos. El potencial estándar de reducción (E_o) del hidrógeno, $2H^+ + 2\,e^- \rightarrow H_2$, se fija por definición a 0,0 V a 1,0 atm de presión de gas H_2 y 1,0 M H^+ a 25 °C. E_0' es el potencial estándar de reducción a pH 7. Véase también la Tabla A1.2.
6. Relación entre la energía libre y el potencial de reducción:

$$\Delta G^{0\prime} = nF\Delta E_0' \quad \text{o} \quad \Delta G^{0\prime} = -RT \ln K'_{eq}$$

   donde *n*, es el número de electrones transferidos; *F*, es la constante de Faraday (96,48 kJ/V), y $\Delta E_0'$ es el E_0' del par *aceptor* de electrones menos el E_0' del par *donador* de electrones. *R* y *T* son constantes (véase 8), y para K_{eq} véase 7.
7. Constante de equilibrio, K_{eq}. Para la reacción general $aA + bB \leftrightarrow cC + dD$,

$$K_{eq} = \frac{[C]^c[D]^d}{[A]^a[B]^b}$$

   donde A, B, C y D representan los reactantes y los productos; *a, b, c* y *d* representan el número de moléculas de cada uno; y los corchetes indican las concentraciones. Esto solo se cumple cuando el sistema químico está en equilibrio. K'_{eq} es K_{eq} a pH 7.
8. Relación entre la constante de equilibrio, K_{eq}, y el cambio de energía libre. A temperatura, presión y pH constantes,

$$\Delta G' = \Delta G^{0\prime} = + RT \ln K'_{eq}$$

   donde *R* es una constante (8,315 J/mol/Kelvin) y *T* es la temperatura absoluta (en Kelvin).
9. Dos sustancias pueden reaccionar en una reacción redox, incluso si sus potenciales estándar son desfavorables, cuando las concentraciones son las adecuadas.

   Supongamos que la forma reducida de A cede electrones a la forma oxidada de B. Sin embargo, si la concentración de la forma reducida de A fuera baja y la concentración de la forma reducida de B fuera alta, sería posible que la forma reducida de B cediera electrones a la forma oxidada de A. Por tanto, la reacción tendría lugar en dirección opuesta a la predicha a partir de los potenciales estándar. Un ejemplo práctico de esto es la utilización de H^+ como aceptor de electrones para producir H_2. Normalmente, la producción de H_2 por bacterias fermentadoras no es grande debido a que H^+ es un aceptor débil de electrones; el E_0' del par $2H^+/H_2$ es –0,41 V. Sin embargo, si la concentración de H_2 se mantiene baja porque se elimina continuamente (un proceso realizado por las *Archaea* metanogénicas, que utilizan $H_2 + CO_2$ para producir metano, CH_4, o por muchos otros anaerobios capaces de consumir H_2 anaeróbicamente), el potencial será más positivo, y entonces los H^+ servirán como aceptor de electrones.

II • Estado o número de oxidación

1. El estado de oxidación de un elemento en una sustancia elemental (por ejemplo H_2, O_2) es cero.
2. El estado de oxidación del ion de un elemento es igual al de su carga (por ejemplo, $Na^+ = +1$; $Fe^{3+} = +3$; $O^{2-} = -2$).
3. La suma de los números de oxidación de todos los átomos en una molécula neutra es cero. Así, H_2O es neutra porque tiene dos H con +1 cada uno, y un O con –2.
4. En un ion, la suma de los números de oxidación de todos los átomos es igual a la carga del ion. Así, en el ion OH^-, O(–2) + H(+1) = –1.
5. En compuestos, el estado de oxidación del O es casi siempre –2 y el de H es +1.
6. En compuestos del carbono simples, el estado de oxidación de C se puede calcular sumando los átomos de H y O presentes y usando los estados de oxidación de estos elementos como se indica en el punto 5, ya que en un compuesto neutro la suma de todos los números de oxidación debe ser cero. Por ejemplo, el estado de oxidación del carbono en el metano, CH_4, es –4 (4 H a +1 cada uno = +4); en el dióxido de carbono, CO_2, el estado de oxidación del carbono es +4 (2 O a –2 cada uno = –4).
7. En los compuestos orgánicos con más de un átomo de C, puede que no sea posible asignar a cada átomo de C un número de oxidación específico, pero es útil calcular el estado de oxidación del compuesto en su conjunto. Se utilizan las mismas convenciones. Por tanto, el estado de oxidación del carbono en la glucosa, $C_6H_{12}O_6$, es cero (12 H a +1 = 12; 6 O a –2 = –12) y el estado de oxidación del carbono en el etanol, C_2H_6O, es –2 cada uno (6 H a +1 = +6; un O a –2).
8. En todas las reacciones de oxidación-reducción hay un equilibrio entre los productos oxidados y reducidos. Para calcular un equilibrio de oxidación-reducción, se multiplica el número de moléculas de cada producto por su estado de oxidación. Por ejemplo, para calcular el equilibrio de oxidación de la fermentación alcohólica (glucosa $\longrightarrow$ 2 C_2H_6O + 2 CO_2), hay dos moléculas de etanol a –4 (con un total de –8) y dos moléculas de CO_2 a +4 (con un total de +8), de modo que el balance neto es cero. Cuando se diseñan reacciones modelo es útil calcular los equilibrios redox para estar seguros de que la reacción es posible.

III • Cálculo de la producción de energía libre en reacciones hipotéticas

La producción de energía puede calcularse a partir de las energías libres de formación de los reactantes y productos, o a partir de las diferencias parciales de los potenciales de reducción de las reacciones de donador y aceptor de los electrones.

Cálculos a partir de la energía libre

Las energías libres de formación se presentan en la **Tabla A1.1**. A continuación se indica el procedimiento para el cálculo de los valores de energía libre.

1. **Equilibrio de las reacciones**. En todos los casos, es esencial comprobar que la reacción de óxido-reducción acoplada está *equilibrada*. El equilibrio depende de tres cosas: (a) el *número total de átomos de cada clase* debe ser idéntico a ambos lados de la ecuación; (b) debe haber un *equilibrio iónico*, esto es, si se añaden iones positivos o negativos al lado derecho de la ecuación, la carga iónica total (positiva, negativa o neutra) debe estar equilibrada con la carga iónica del lado izquierdo de la ecuación; y (c) debe existir un *equilibrio en la oxidación-reducción*, de manera que, todos los electrones cedidos por una sustancia deben ser transferidos a otra sustancia. En general, cuando se equilibran las reacciones se sigue el orden inverso a los pasos indicados. Normalmente, si los pasos (c) y (b) se hacen de forma apropiada, el paso (a) es automáticamente correcto.
2. **Ejemplos**. (a) ¿Cuál es la reacción de equilibrio para la oxidación del H_2S a SO_4^{2-} en presencia de O_2? Primero, se calculará cuántos electrones están implicados en la oxidación de H_2S a SO_4^{2-}. Esto se puede deducir fácilmente a partir de los estados de oxidación de los compuestos, utilizando las reglas anteriormente mencionadas. Como el H tiene un estado de oxidación de +1, el estado de oxidación del S en H_2S es –2. Como el O tiene un estado de oxidación de –2, el estado de oxidación del S en SO_4^{2-} es +6 (como es un ion se deben utilizar las reglas 4 y 5 de la sección anterior). Por tanto, la oxidación de H_2 a SO_4^{2-} implica a una *transferencia de 8 electrones* (de –2 a +6). Como cada átomo O puede aceptar dos electrones (el estado de oxidación del O en O_2 es cero, pero en el H_2O es de –2), esto significa que se requieren dos moléculas de oxígeno molecular, O_2, para proporcionar la suficiente capacidad de aceptar de electrones. Hasta este punto, sabemos que la reacción requiere 1 H_2S y 2 O_2 en el lado izquierdo de la ecuación, y 1 SO_4^{2-} en el lado derecho. Para conseguir el equilibrio iónico debemos tener dos cargas positivas en el lado derecho de la ecuación para compensar las dos cargas negativas del SO_4^{2-}. Por tanto, se añadirán $2H^+$ al lado derecho de la ecuación, y la reacción global quedará del siguiente modo:

$$H_2S + 2O_2 \longrightarrow SO_4^{2-} + 2H^+$$

Puede comprobarse que esta ecuación también está equilibrada respecto al número total de átomos de cada clase en cada lado de la ecuación.

(b) ¿Cuál es la reacción equilibrada de la oxidación de H_2S a SO_4^{2-} con Fe^{3+} como aceptor de electrones? Acabamos de demostrar que en la oxidación de H_2S a SO_4^{2-} se necesita una transferencia de ocho electrones. La reducción de Fe^{3+} a Fe^{2+} solo necesita la transferencia de un electrón, por tanto se requerirán 8 Fe^{3+}. La reacción, en este punto, será como se indica a continuación:

$$H_2S + 8Fe^{3+} \longrightarrow 8Fe^{2+} + SO_4^{2-} \text{ (no equilibrada)}$$

En este caso, el equilibrio iónico no es correcto. Tenemos 24 cargas positivas en la parte izquierda de la ecuación y 14 cargas positivas a la derecha (16+ del Fe, 2– del sulfato). Para

Tabla A1.1 Energías libres de formación, G_f^0, para algunas sustancias (kJ/ml)[a]

Compuesto de carbono	*Compuesto de carbono*	*Metal*	*No metal*	*Compuestos de nitrógeno*
CO, –137,34	Glutamina, –529,7	Cu^+, +50.28	H_2, 0	N_2, O
CO_2, –394,4	Gliceraldehído, –437,65	Cu^{2+}, –64,94	H+, O a pH 0; –39,83 a pH 7 (–5,69 por unidad de pH)	NO, +86,57
CH_4, –50,75	Glicerato, –658,1	CuS, –49,02	O_2, 0	NO_2, +51,95
H_2CO_3, –623,16	Glicerol, –488,52	Fe^0, 0 Fe^{2+}, –78,87	OH^-, –157,3 a pH 14; –198,76 a pH 7; –237,57 a pH 0	NO_2^- –37,2
HCO_3–, –586,85	Glicine, –370,8	Fe^{3+}, –4,6	H_2O, –237,17	NO_3^-, –111,34
CO_3^{2-}, –527,90	Glicolato, –530,95	$FeCO_3$, –673,23	H_2O_2, –134,1	NH_3, –26,57
Acetaldehído, –139,9	Glioxalato, –468,6	FeS_2, –150,84 FeS, –100,4	PO_4^{3-}, –1.026,55	NH_4^+,–79,37
Acetato, –369,41	Guanina, +46,99	$FeSO_4$, –829,62	Se^0, 0	N_2O, +104,18
Acetona, –161,17	α-Cetoglutarato, –797,55	PbS, –92,59	H_2Se, –77,09	N_2H_4, +128
Alanina, –371,54	Lactato, –517,81	Mn^{2+}, –227,93	SeO_4^{2-}, –439,95	
Arginina, –240,2	Lactosa, –1.515,24	Mn^{3+}, –82,12	S^0, 0	
Aspartato, –700,4	Malato, –845,08	MnO_4^-, –506,57	SO_3^{2-}, –486,6	
Benzeno, +124,5	Manitol, –942,61	MnO_2, –456,71	SO_4^{2-}, –744,6	
Ácido benzoico, –245,6	Metanol, –175,39	$MnSO_4$, –955,32	$S_2O_3^{2-}$, –513,4	
n-Butanol, –171,84	Metionina, –502,92	HgS, –49,02	H_2S, –27.87	
Butirato, –352,63	Metilamina, –40,0	MoS_2, –225,42	HS^-, +12,05	
Caproato, –335,96	Oxalato, –674,04	ZnS, –198,60	S^{2-}, +85,8	
Citrato, –1.168,34	Ácido palmítico, –305			
o-Cresol, –37,1	Fenol, –47,6			
Crotonato, –277,4	*n*-Propanol, –175,81			
Cisteina, –339,8	Propionato, –361,08			
Dimetilamina, –3,3	Piruvato, –474,63			
Etanol, –181,75	Ribosa, –757.3			
Formaldehído, –130,54	Succinato, –690,23			
Formato, –351,04	Sacarosa, –370,90			
Fructosa, –951,38	Tolueno, +114,22			
Fumarato, –604,21	Trimetilamina, –37,2			
Gluconato, –1.128,3	Triptofano, –12,6			
Glucosa, –917,22	Urea, –203,76			
Glutamato, –699,6	Valerato, –344,34			

[a]Los valores de energía libre de formación para varios compuestos se pueden hallar en Dean, J. A. 1973. *Lange's Handbook of Chemistry,* 11.ª edición. McGraw-Hill, New York; Carrels, R. M. y C. L. Christ, 1965. *Solutions, Minerals and Equilibria.* Harper y Row, New York; Burton, K. 1957. En Krebs, H. A., y H. L. Komberg. Energy transfoations in living matter, *Ergebnisse der Physiologic* (apéndice). Springer-Verlag, Berlin; y Thauer, R. K., K. Jungermann y H. Decker. 1977. Energy conservation in anaerobic chemotrophic bacteria, *Bacteriol Rev 41:*100-180.

igualar las cargas, se deben añadir 10 H^+ a la derecha, de modo que la ecuación queda de esta forma:

$$H_2S + 8\ Fe^{3+} \longrightarrow 8\ Fe^{2+} + 10H^+ + SO_4^{2-} \text{ (no equilibrada)}$$

Para aportar los hidrógenos necesarios para H^+ y el oxígeno para el sulfato, se añaden 4 H_2O en la parte izquierda y ahora la reacción queda equilibrada:

$$H_2S + 4\ H_2O + 8\ Fe^{3+} \longrightarrow 8\ Fe^{2+} + 10\ H^+ + SO_4^{2-} \text{ (equilibrada)}$$

En general, en las reacciones microbiológicas, el equilibrio iónico se consigue añadiendo H^+ o OH^- al lado izquierdo o derecho de la ecuación, y como todas las reacciones tienen lugar en medio acuoso, se añaden tantas moléculas de H_2O como sean necesarias. La adición de H^+ o OH^- depende de si la reacción ocurre en condiciones ácidas o alcalinas.

3. **Cálculo de la producción de la energía para las ecuaciones equilibradas a partir de las energías libres de formación.** Una vez que una reacción ha sido equilibrada, la energía libre producida, puede calcularse mediante inserción de los valores de energía libre de formación de cada reactante y producto indicados en la Tabla A1.1 y utilizando la fórmula del punto 2 de la primera sección de este apéndice. Por ejemplo, en la ecuación

$$H_2S + 2\ O_2 \longrightarrow SO_4^{2-} + 2\ H^+$$

G_f^0 valores (–27,87) + (0) ⟶
(–744,6) + 2(–39,83) (si se supone pH 7)

$$\Delta G^{0'} = [(-744{,}6) + 2(-39{,}83)] - [(-27{,}87) + (0)]$$
$$= -796{,}39 \text{ kJ}$$

Los valores G_f^0 de los productos se suman (lado derecho de la ecuación) y se restan los valores G_f^0 de los reactantes (lado izquierdo de la ecuación), asegurándose de que los signos aritméticos son correctos. A partir de los datos de la Tabla A1.1 se puede calcular la energía libre producida en una gran variedad de reacciones de interés microbiológico.

Cálculo de la producción de energía libre a partir del potencial de reducción

En la **Tabla A1.2** se especifican los potenciales de reducción de algunos pares redox importantes. La cantidad de energía que se puede liberar de dos semireacciones acopladas puede calcularse a partir de las diferencias de los potenciales de reducción de las dos reacciones y del número de electrones transferidos. Cuanto mayor sea la diferencia entre las dos semirreacciones, y mayor sea el número de electrones transferido, mayor será la cantidad de energía liberada.

La conversión de la diferencia de potencial a energía libre viene determinada por la fórmula $\Delta G^{0\prime} = -nF\Delta E_0'$, donde n es el número de electrones, F es la constante de Faraday (96,48 kJ/V) y $\Delta E_0'$ es la diferencia de los potenciales. Por tanto, el par $2H^+/H_2$, tiene un potencial de –0,41 V y el par $1/2\ O_2/H_2O$ tiene un potencial de +0,82 V, de manera que la diferencia de potencial es 1,23 V, que es equivalente (porque hay dos electrones implicados) a una energía libre producida (ΔG^0) de –237,34 kJ. Por otro lado, la diferencia de potencial entre las reacciones $2H^+/H_2$ y NO_3^-/NO_2^- es menor, 0.84 V, que equivale a una energía libre producida de –162,08 kJ (véase Figura 3.9).

Como muchas reacciones bioquímicas son transferencias de dos electrones, suele ser útil dar las energías producidas para reacciones con dos electrones, aunque estén implicados más electrones. Por ejemplo, en el par redox SO_4^{2-}/H_2 están implicados ocho electrones, y la reducción completa de SO_4^{2-} con H_2 requiere 4 H_2 (equivalente a ocho electrones). A partir de la reducción de diferencia de potencial entre $2H^+/H_2$ y SO_4^{2-}/H_2S (0,19 V), se puede calcular una energía libre producida de –146,64 kJ, o –36,66 kJ por cada dos electrones. Por convención, los potenciales de reducción se dan para condiciones en que están presentes concentraciones iguales de formas oxidadas y reducidas. En la práctica real, las concentraciones de estas dos formas pueden ser bastante diferentes. Como se ha comentado (Sección I, punto 9), es posible acoplar semirreacciones, aunque la diferencia de potencial sea desfavorable, si las concentraciones de las especies reactantes son las adecuadas.

Tabla A1.2 Potenciales de reducción de interés microbiológico[a]

Par redox	E_0' (V)	*Par redox*	E_0' (V)
SO_4^{2-}/HSO_3^-	–0,52	Acrilil-CoA/propionil-CoA	–0,015
CO_2/formato	–0,43	Glicina/acetato$^-$ + NH_4^+	–0,010
$2H^+/H_2$	–0,41	$S_4O_6^{2-}/S_2O_3^{2-}$	+0,024
$S_2O_3^{2-}/HS^- + HSO_3^-$	–0,40	Fumarate^{2-}/succinate^{2-}	+0,033
Ferredoxina ox/red	–0,39	Citocromo *b* ox/red	+0,035
Flavodoxina ox/red[b]	–0,37	Ubiquinona ox/red	+0,113
NAD^+/NADH	–0,32	AsO_4^{3-}/AsO_3^{3-}	+0,139
Citocromo c_3 ox/red	–0,29	Dimetil sulfóxido (DMSO)/dimetilsulfuro (DMS)	+0,16
CO_2/acetate$^-$	–0,29	$Fe(OH)_3 + HCO_3^-/FeCO^3$ (Fe^{3+}/Fe^{2+}, pH 7)	+0,20
S^0/HS^-	–0,27	$S_3O_6^{2-}/S_2O_3^{2-} + HSO_3^-$	+0,225
CO_2/CH_4	–0,24	Citocromo c_1 ox/red	+0,23
FAD/FADH	–0,22	NO_2^-/NO	+0,36
SO_4^{2-}/HS^-	–0,217	Citocromo a_3 ox/red	+0,385
Acetaldehído/etanol	–0,197	Clorobenzoato$^-$ /benzoato$^-$ + HCl	+0,297
Piruvato$^-$/lactato$^-$	–0,19	NO_3^-/NO_2^-	+0,43
FMN/FMNH	–0,19	SeO_4^{2-}/SeO_3^{2-}	+0,475
Dihidroxiacetona fosfato/glicerolfosfato	–0,19	Fe^{3+}/Fe^{2+} (pH 2)	+0,77
$HSO_3^-/S_3O_6^{2-}$	–0,17	Mn^{4+}/Mn^{2+}	+0,798
Flavodoxina ox/red[b]	–0.12	O_2/H_2O	+0,82
HSO_3^-/HS^-	–0,116	ClO_3^-/Cl^-	+1,03
Menaquinona ox/red	–0.075	NO/N_2O	+1,18
Adenosine phosphosulfate/AMP + HSO_3^-	–0,060	N_2O/N_2	+1,36
Rubredoxina ox/red	–0,057		

[a] Datos tomados de Thauer, R. K., K. Jungermann, y K. Decker, 1977. Energy conservation in anaerobic chemotrophic bacteria. *Bacteriol. Rev.* 41:100-180.
[b] Se dan por separado los potenciales para cada transferencia de electrones, en su posible transferencia de dos electrones.

Apéndice 2

Manual de Bergey de bacteriología sistemática, segunda edición

Lista de taxones de orden superior[1]

Dominio *Archaea*[2]

Filo I. *Crenarchaeota*
- **Clase I. *Thermoprotei***
  - Orden I. *Thermoproteales*
  - Orden II. *Caldisphaerales*
  - Orden III. *Desulfurococcales*
  - Orden IV. *Sulfolobales*

Filo II. *Euryarchaeota*
- **Clase I. *Methanobacteria***
  - *Orden I. Methanobacteriales*
- **Clase II. *Methanococci***
  - *Orden I. Methanococcales*
- **Clase III. *Methanomicrobia***
  - *Orden I. Methanomicrobiales*
  - *Orden II. Methanosarcinales*
- **Clase IV. *Halobacteria***
  - *Orden I. Halobacteriales*
- **Clase V. *Thermoplasmata***
  - *Orden I. Thermoplasmatales*
- **Clase VI. *Thermococci***
  - *Orden I. Thermococcales*
- **Clase VII. *Archaeoglobi***
  - *Orden I. Archaeoglobales*
- **Clase VIII. *Methanopyri***
  - *Orden I. Methanopyrales*

Dominio *Bacteria*

Filo I. *Aquificae*
- **Clase I. *Aquificae***
  - *Orden I. Aquificales*

Filo II. *Thermotogae*
- **Clase I. *Thermotogae***
  - *Orden I. Thermotogales*

Filo III. *Thermodesulfobacteria*
- **Clase I. *Thermodesulfobacteria***
  - *Orden I. Thermodesulfobacteriales*

Filo IV. *Deinococcus–Thermus*
- **Clase I. *Deinococci***
  - *Orden I. Deinococcales*
  - *Orden II. Thermales*

Filo V. *Chrysiogenetes*
- **Clase I. *Chrysiogenetes***
  - *Orden I. Chrysiogenales*

Filo VI. *Chloroflexi*
- **Clase I. *Chloroflexi***
  - *Orden I. Chloroflexales*
  - *Orden II. Herpetosiphonales*
- **Clase II. *Anaerolineae***
  - *Orden I. Anaerolineales*

Filo VII. *Thermomicrobia*
- **Clase I. *Thermomicrobia***
  - *Orden I. Thermomicrobiales*

Filo VIII. *Nitrospirae*
- **Clase I. *Nitrospira***
  - *Orden I. Nitrospirales*

Filo IX. *Deferribacteres*
- **Clase I. *Deferribacteres***
  - *Orden I. Deferribacterales*

Filo X. *Cyanobacteria*
- **Clase I. *Cyanobacteria***

Filo XI. *Chlorobi*
- **Clase I. *Chlorobia***
  - *Orden I. Chlorobiales*

Filo XII. *Proteobacteria*
- **Clase I. *Alphaproteobacteria***
  - *Orden I. Rhodospirillales*
  - *Orden II. Rickettsiales*
  - *Orden III. Rhodobacterales*
  - *Orden IV. Sphingomonadales*
  - *Orden V. Caulobacterales*
  - *Orden VI. Rhizobiales*
  - *Orden VII. Parvularculales*
- **Clase II. *Betaproteobacteria***
  - *Orden I. Burkholderiales*
  - *Orden II. Hydrogenophilales*
  - *Orden III. Methylophilales*
  - *Orden IV. Neisseriales*
  - *Orden V. Nitrosomonadales*
  - *Orden VI. Rhodocyclales*
  - *Orden VII. Procabacteriales*
- **Clase III. *Gammaproteobacteria***
  - *Orden I. Chromatiales*
  - *Orden II. Acidithiobacillales*
  - *Orden III. Xanthomonadales*
  - *Orden IV. Cardiobacteriales*
  - *Orden V. Thiotrichales*
  - *Orden VI. Legionellales*
  - *Orden VII. Methylococcales*
  - *Orden VIII. Oceanospirillales*
  - *Orden IX. Pseudomonadales*
  - *Orden X. Alteromonadales*
  - *Orden XI. Vibrionales*
  - *Orden XII. Aeromonadales*
  - *Orden XIII. Enterobacteriales*
  - *Orden XIV. Pasteurellales*
- **Clase IV. *Deltaproteobacteria***
  - *Orden I. Desulfurellales*
  - *Orden II. Desulfovibrionales*
  - *Orden III. Desulfobacterales*
  - *Orden IV. Desulfarcales*
  - *Orden V. Desulfuromonales*
  - *Orden VI. Syntrophobacterales*
  - *Orden VII. Bdellovibrionales*
  - *Orden VIII. Myxococcales*
- **Clase V. *Epsilonproteobacteria***
  - *Orden I. Campylobacterales*

Filo XIII. *Firmicutes*
- **Clase I. *Bacilli***
  - *Orden I. Bacillales*
  - *Orden II. Lactobacillales*
- **Clase II. *Clostridia***
  - *Orden I. Clostridiales*
  - *Orden II. Halanaerobiales*
  - *Orden III. Thermoanaerobacterales*
- **Clase III. *Erysipelotrichi***
  - *Orden I. Erysipelotrichales*

Filo XIV. *Actinobacteria*
- **Clase I. *Actinobacteria***
  - *Orden I. Actinomycetales*
  - *Orden II. Bifidobacteriales*
  - *Orden III. Catenulisporales*
  - *Orden IV. Corynebacteriales*
  - *Orden V. Frankiales*
  - *Orden VI. Glycomycetales*
  - *Orden VII. Jiangellales*
  - *Orden VIII. Kineosporiales*
  - *Orden IX. Micrococcales*
  - *Orden X. Micromonosporales*
  - *Orden XI. Propionibacteriales*
  - *Orden XII. Pseudonocardiales*
  - *Orden XIII. Streptomycetales*
  - *Orden XIV. Streptosporangiales*

[1]El *Manual de Bergey de Bacteriología Sistemática*, segunda edición, consta de 5 volúmenes; aquí se presentan los filos y las clases de procariotas que se encuentran en esta referencia. Cada clase contiene uno o más órdenes, cada orden una o más familias, cada familia uno o más géneros y cada género una o más especies. El nombre del género de muchos procariotas importantes forma parte de los nombres de sus taxones de orden superior. Como la taxonomía bacteriana se encuentra en continua evolución, la lista se actualiza regularmente. Para acceder a la información más actualizada, consulte http://www.bacterio.net. Una visión general de la diversidad procariota se presenta en los Capítulos 14-16 de este texto. Determinados órdenes de *Bacteria* se describen en los Capítulos 14 y 15, incluyendo algunos que todavía no están en el *Manual de Bergey*.

[2]Los filos *Thaumarchaeota*, *Nanoarchaeota* y *Korarchaeota* (véase el Capítulo 16 y la Figura 16.1 de este libro) se han incorporado recientemente como taxones superiores de *Archaea* y deberán aparecer junto con *Crenarchaeota* y *Euryarchaeota* en una futura edición del *Manual de Bergey*.

Clase II. *Acidimicrobia*
Orden I. Acidimicrobiales
Clase III. *Coriobacteria*
Orden I. Coriobacteriales
Clase IV. *Rubrobacteria*
Orden I. Rubrobacterales
Clase V. *Thermoleophilia*
Orden I. Thermoleophilales
Orden II. Solirubrobacterales
Filo XV. *Planctomycetes*
Clase I. *Planctomycetacia*
Orden I. Planctomycetales
Orden II. Brocadiales
Filo XVI. *Chlamydiae*
Clase I. *Chlamydiae*
Orden I. Chlamydiales
Filo XVII. *Spirochaetes*
Clase I. *Spirochaetes*
Orden I. Spirochaetales
Filo XVIII. *Tenericutes*
Clase I. *Mollicutes*
Orden I. Mycoplasmatales
Orden II. Entomoplasmatales
Orden III. Acholeplasmatales
Orden IV. Anaeroplasmatales
Filo XIX. *Fibrobacteres*
Clase I. *Fibrobacteres*
Orden I. Fibrobacterales
Filo XX. *Acidobacteria*
Clase I. *Acidobacteria*
Orden I. Acidobacteriales
Clase II. *Holophagae*
Orden I. Holophagales
Orden II. Acanthopleuribacterales
Filo XXI. *Bacteroidetes*
Clase I. *Bacteroidia*
Orden I. Bacteroidales
Clase II. *Flavobacteria*
Orden I. Flavobacteriales
Clase III. *Sphingobacteria*
Orden I. Sphingobacteriales
Clase IV. *Cytophagia*
Orden I. Cytophagales
Filo XXII. *Verrucomicrobia*
Clase I. *Verrucomicrobiae*
Orden I. Verrucomicrobiales
Clase II. *Opitutae*
Orden I. Opitutales
Orden II. Puniceicoccales
Clase III. *Spartobacteria*
Orden I. Chthoniobacterales

Glosario

En este Glosario solo se incluyen los conceptos principales. Si un término no se encuentra en él, consúltese el Índice alfabético.

Absceso Infección localizada, caracterizada por la producción de pus.
Abundancia específica Proporción de cada especie en una comunidad.
Aceptor de electrones Sustancia que acepta electrones en una reacción de oxidación–reducción.
Acetógena Bacteria que lleva a cabo la acetogénesis.
Acetogénesis Metabolismo energético con producción de acetato, bien a partir de H_2 más CO_2, o bien a partir de compuestos orgánicos.
Acetótrofo Consumidor de acetato.
Ácido desoxirribonucleico (DNA) Polímero de nucleótidos unidos mediante un eje estructural formado por azúcares desoxirribosa-fosfato; material genético de las células y algunos virus.
Ácido dipicolínico Sustancia exclusiva de las endosporas que les confiere resistencia al calor.
Ácido graso Ácido orgánico que contiene un grupo ácido carboxílico y una cadena de hidrocarburos de longitud diversa; componente principal de los lípidos.
Ácido nucleico de sentido inverso (negativo; o cadena menos) Cadena de RNA o DNA que tiene el sentido opuesto al mRNA de un virus (sería complementaria).
Ácido nucleico de sentido positivo Cadena de RNA o DNA que tiene el mismo sentido que el mRNA de un virus.
Ácido nucleico Polímero de nucleótidos. *Véase* ácido desoxirribonucleico y ácido *ribonucleico*.
Ácido poli-β-hidroxibutírico (PHB) Material de almacenamiento común de las células procariotas, consistente en un polímero de β-hidroxibutirato (PHB) u otros ácidos β-alcanoicos (PHA).
Ácido ribonucleico (RNA) Polímero de nucleótidos conectados por medio de un eje ribosa-fosfato; implicado en la síntesis de proteínas o como material genético de algunos virus.
Ácido teicoico Polialcohol fosforilado que se encuentra en la pared celular de algunas bacterias grampositivas.
Acidófilo Organismo que crece mejor a valores de pH bajos.
Ácidos grasos volátiles (VFAs) Principales ácidos grasos (acetato, propionato y butirato) producidos durante la fermentación en el rumen.
Actinomicete Término utilizado para referirse a bacterias filamentosas aerobias del phylum *Actinobacteria*.
Actividad de agua (a_w) Expresión de la disponibilidad relativa de agua en una sustancia. El agua pura tiene una a_w de 1.000.
Adecuación («fitness») Capacidad de un organismo para sobrevivir y reproducirse en comparación con los organismos que compiten con él.
Adenosina trifosfato (ATP) Nucleótido que constituye la forma primaria en la que la energía química es conservada y utilizada en las células.
Adherencia Propiedad que permite a los microorganismos unirse a una célula o a su superficie.
Aerobio Organismo que crece en presencia de O_2; puede ser facultativo, obligado o microaerófilo.
Aerosol Suspensión de partículas en gotas de agua microscópicas que viajan por el aire.
Agente antimicrobiano Sustancia química que mata o inhibe el crecimiento de los microorganismos.
Agente bactericida Agente que mata las bacterias.
Agente bacteriostático Agente que inhibe el crecimiento bacteriano.
Agente fungicida Agente que mata los hongos.
Agente fungistático Agente que inhibe el crecimiento de los hongos.
Agente quimioterapéutico Agente antimicrobiano que puede usarse internamente.
Agente viricida Agente que para la replicación la actividad de los virus.
Agente virostático Agente que inhibe la replicación vírica.
Aglutinación Reacción entre un anticuerpo y un antígeno ligado a una partícula, que da lugar a un agregado de partículas visible.
Agua de distribución Agua que pasa al sistema de distribución tras su tratamiento.
Agua efluente Agua residual tratada que se vierte desde una instalación o estación de tratamiento de aguas residuales (EDAR).
Agua en estado natural Agua superficial o subterránea que no ha sido tratada de ninguna forma (también llamada *agua sin tratar*).
Agua influente Agua residual aún no tratada que entra en una instalación o estación de tratamiento de aguas residuales (EDAR).
Agua no tratada Agua superficial o subterránea que no ha sido tratada de ninguna forma.
Aguas residuales Líquidos derivados del alcantarillado doméstico o de fuentes industriales, que no pueden verterse sin tratar en los lagos o los ríos.
Aguas residuales Líquidos efluentes contaminados con materia fecal humana o animal.
Aislamiento En el contexto de una enfermedad infecciosa, separación de las personas que la padecen de aquéllas que están sanas. Compárese con *cuarentena*.
Alcalófilo Organismo que crece mejor a pH alto.
Alelo Cada una de las distintas formas que puede presentar un mismo gen, diferenciadas por su secuencia de nucleótidos.
Alergia Reacción inmunitaria perjudicial, normalmente causada por un antígeno externo procedente de los alimentos, el polen o las sustancias químicas, que tiene como resultado una hipersensibilidad inmediata o retardada.
Algas Eucariotas fotótrofos que no forman tejidos, y que incluyen tanto microorganismos como macroorganismos.
Alimentos no perecederos (estables) Alimentos con baja actividad de agua que tienen un período de conservación prolongado y son resistentes al deterioro por microorganismos.
Alimentos perecederos Alimentos frescos que generalmente cuentan con una gran actividad de agua, que tienen una vida corta debido a su potencial putrefacción por el crecimiento de microorganismos.
Alimentos semiperecederos Alimentos con actividad de agua intermedia, que tienen una vida limitada debido a la potencial putrefacción generada por el crecimiento de microorganismos.
Alineamiento de secuencia Inserción de huecos en una serie de secuencias moleculares organizadas en hileras, de forma que las posiciones homólogas se organizan en columnas verticales.

El alineamiento es necesario antes del análisis filogenético, porque las mutaciones de inserción y deleción causan variaciones en la longitud de las secuencias moleculares.

Aminoácido Uno de los veintidós monómeros distintos que forman las proteínas; químicamente es un ácido carboxílico de dos carbonos que contiene un grupo amino y un sustituyente característico en el carbono alfa.

Aminoacil-tRNA sintetasa Enzima que cataliza la unión del aminoácido correcto con el tRNA adecuado.

Aminoglicósido Un antibiótico tal como la estreptomicina, que contiene dos azúcares amino unidos por enlaces glicosídicos.

AMP cíclico Nucleótido regulador que participa en la represión de catabolito.

Amplificación de desplazamiento múltiple (MDA) Método para generar múltiples copias de DNA cromosómico de un solo organismo.

Anaerobio aerotolerante Microorganismo anaerobio cuyo crecimiento no es inhibido por el O_2.

Anaerobio Organismo que crece en ausencia de O_2; algunos incluso mueren por la presencia de O_2 (anaerobios obligados o estrictos).

Anafilaxis (choque anafiláctico) Reacción alérgica violenta causada por una reacción antígeno–anticuerpo.

Análogo de un factor de crecimiento Agente químico similar a un factor de crecimiento, que bloquea la incorporación o utilización de dicho factor.

Anamox Oxidación anóxica del amonio.

Anaplasmosis granulocítica humana (HGA) Riquetsiosis causada por *Ehrlichia ewingii* o *Anaplasma phagocytophilum*.

Anergia clonal Incapacidad de producir una respuesta inmunitaria ante antígenos específicos debido a la neutralización de las células efectoras.

Anergia Incapacidad de producir una respuesta inmunitaria frente a un antígeno específico, debida a la neutralización de las células efectoras.

Anión superóxido (O_2^-) Derivado del O_2 capaz de la destrucción oxidativa de componentes celulares.

Anóxico Libre de oxígeno. Generalmente se utiliza con referencia al hábitat microbiano.

Antibiograma Estudio de la sensibilidad de los microorganismos aislados clínicamente a los antibióticos de uso actual.

Antibiótico de amplio espectro Antibiótico que actúa tanto sobre las bacterias grampositivas como las gramnegativas.

Antibiótico Sustancia química producida por un microorganismo, que mata o inhibe el crecimiento de otro microorganismo.

Antibiótico β-lactámico Antibiótico tal como la penicilina, que contienen el anillo heterocíclico β-lactámico de cuatro átomos.

Anticodón Secuencia de tres bases en una molécula de RNA de transferencia que se aparea con un codón durante la síntesis de proteínas.

Anticuerpo fluorescente Molécula de anticuerpo covalentemente modificada con un colorante fluorescente, que hace que dicho anticuerpo sea visible bajo la luz fluorescente.

Anticuerpo monoclonal Un solo tipo de anticuerpo producido a partir de un solo clon de células B. Dicho anticuerpo tiene una especificidad y una estructura uniformes.

Anticuerpo Proteína soluble producida por los linfocitos B y las células plasmáticas, que interactúa específicamente con el antígeno; también denominado *inmunoglobulina*.

Anticuerpos policlonales Mezcla de anticuerpos formada por muchos clones de células B distintos.

Antígeno homólogo Antígeno que reacciona con el anticuerpo que ha inducido.

Antígeno Una molécula capaz de interactuar con componentes específicos del sistema inmunitario.

Antígenos de leucocitos humanos (HLA) Proteínas presentadoras de antígenos codificadas por los genes del complejo principal de histocompatibilidad en los humanos.

Antimicrobiano Dañino para los microorganismos, ya sea matando o inhibiendo el crecimiento.

Antiparalelo En relación a los ácidos nucleicos bicatenarios, las dos cadenas tienen sentidos opuestos; una va en sentido $5' \rightarrow 3'$ y la otra en sentido $3' \rightarrow 5'$.

Antiséptico (germicida) Agente químico que mata o inhibe el crecimiento de los microorganismos y es suficientemente poco tóxico para ser aplicado a tejidos vivos.

Antisuero policlonal Mezcla de anticuerpos de una variedad de antígenos o de una variedad de determinantes de un solo antígeno.

Antisuero Suero que contiene anticuerpos.

Antitoxina Un anticuerpo que interactúa específicamente con una toxina y la neutraliza.

Apolar Que posee características hidrofóbicas (repele el agua) y no es fácil de disolver en agua.

Apoptosis Muerte celular programada.

Árbol filogenético Diagrama que representa la historia evolutiva de un organismo; consiste en nodos y ramas.

Árbol universal de la vida Árbol filogenético que muestra las posiciones evolutivas de los representantes de todos los dominios de la vida celular. También denominado árbol filogenético universal.

Arbúsculo Estructura hifal ramificada o enrollada del interior de las células del córtex interno de las plantas que sufren una infección por micorrizas.

Archaea Procariotas filogenéticamente emparentados, distintos de los del dominio *Bacteria*. Las arqueas y las bacterias integran el grupo (no filogenético) de los procariotas.

Aspartamo Edulcorante no nutritivo compuesto por los aminoácidos aspartamo y fenilalanina, estando esta última en forma de metil éster.

Atenuación En un patógeno, la disminución o pérdida de virulencia. También, mecanismo que controla la expresión génica; típicamente, la transcripción se termina después de la iniciación pero antes de que se produzca el mRNA completo.

ATP Adenosina trifosfato; el principal transportador de energía de la célula.

ATPasa (ATP sintasa) Complejo enzimático multiproteico anclado en la membrana citoplasmática, que cataliza la síntesis de ATP acoplada a la fuerza protonmotriz.

Autoanticuerpo Anticuerpo que reacciona contra sus propios antígenos.

Autoclave Un esterilizador cerrado herméticamente que destruye los microorganismos con temperatura alta y vapor de agua bajo presión.

Autoinducción Mecanismo de regulación génica que implica moléculas señal pequeñas y difusibles que se producen en grandes cantidades al aumentar el tamaño de la población.

Autoinductor Molécula señal pequeña que participa en la señal de quórum.

Autoinmunidad Reacciones inmunitarias de un hospedador contra sus propios antígenos.

Autolisis Lisis celular producida por la actividad de la célula misma.

Autorradiografía Detección de radiactividad en una muestra, por ejemplo en una célula o un gel, poniéndola en contacto con una película fotográfica.

Autótrofo Organismo capaz de crecer con CO_2 como única fuente de carbono.

Auxótrofo Organismo que ha desarrollado un requisito nutricional mediante la mutación. Compárese con *protótrofo*.

Bacteria corineforme Bacilo grampositivo, aerobio e inmóvil, que posee la característica de formar agregados irregulares en forma de mazo o de V, típica de varios géneros de *Actinobacteria* unicelulares.

Bacteria Procariotas filogenéticamente emparentados, distintos de las del dominio *Archaea*.

Bacterias del ácido acético Microorganismos aerobios obligados que producen acetato a partir de los alcoholes; se utilizan para fabricar vinagre.

Bacterias del ácido láctico Bacterias fermentadoras que producen ácido láctico, se encuentran en los *Firmicutes*, y son importantes en la producción y conservación de los alimentos.

Bacterias del ácido propiónico Bacterias fermentadoras grampositivas, que generan propionato como producto final de una fermentación y son importantes para la producción de quesos.

Bacterias entéricas Gran grupo de bacterias gramnegativas en forma de bacilo, que se caracteriza por su metabolismo aerobio facultativo y por hallarse comúnmente en los intestinos de los animales.

Bacterias grampositivas con escasa GC Bacterias del filo *Firmicutes*.

Bacterias grampositivas ricas en GC Describe a las *Actinobacteria*.

Bacterias purpúreas del azufre Grupo de bacterias fototróficas anoxigénicas que contienen bacterioclorofila *a* o *b* y se caracterizan por su capacidad de oxidar el H_2S y almacenar azufre elemental dentro de las células (o, en los géneros *Ectothiorhodospira* y *Halorhodospira*, fuera de la célula).

Bacterias purpúreas no del azufre Grupo de bacterias fototróficas anoxigénicas que contienen bacterioclorofila *a* o *b*; crecen mejor como fotoheterótrofos y tienen una tolerancia relativamente baja al H_2S.

Bacterias verdes del azufre Fotótrofos anoxigénicos que contienen clorosomas, un fotosistema de tipo I, las bacterioclorofilas *c*, *d* o *e* como captadoras de la luz, y típicamente utilizan el H_2S como donante de electrones.

Bacterias verdes no del azufre Fotótrofos anoxigénicos que contienen clorosomas, un fotosistema de tipo II, bacterioclorofilas *a* y *c* como captadoras de la luz, y que crecen típicamente mejor como fotoheterótrofos.

Bacteriemia Presencia de bacterias en la sangre.

Bacteriocinas Agentes producidos por ciertas bacterias, que inhiben o matan a especies estrechamente emparentadas.

Bacteriocito Célula especializada de los insectos, en la cual residen simbiontes bacterianos.

Bacterioclorofila Pigmento de los organismos fotótrofos anoxigénicos, que consiste en tetrapirroles con magnesio sensibles a la luz.

Bacteriófago Virus que infecta las células procariotas.

Bacterioma Región especializada de varios grupos de insectos, que contiene bacteriocitos y sus correspondientes simbiontes bacterianos.

Bacteriorrodopsina Proteína que contiene retinal, que se encuentra en las membranas de ciertas arqueas halófilas extremas, y que está implicada en la síntesis de ATP mediante energía lumínica.

Bacteroide Célula hinchada y deformada de *Rhizobium*, que se halla en los nódulos radicales; es capaz de fijar nitrógeno.

Balanceo o Titubeo Con referencia a la síntesis de proteínas, una forma menos rígida de apareamiento de bases que solo se permite en el apareamiento codón–anticodón.

Barófilo extremo Organismo que requiere varios cientos de atmósferas de presión para su crecimiento.

Bebida alcohólica destilada Bebida que contiene alcohol concentrado por destilación.

Biblioteca genómica (biblioteca de DNA) Colección de fragmentos de DNA clonados, que contienen toda la información genética de un organismo en particular.

Biofuel Combustible fabricado por microorganismos a partir de la fermentación de materiales ricos en carbono.

Biogeoquímica El estudio de las transformaciones químicas de interés geoquímico mediadas por microorganismos, por ejemplo, los ciclos del nitrógeno o el azufre.

Bioinformática Uso de programas informáticos para analizar, almacenar y acceder a secuencias de DNA y proteínas.

Biología de sistemas Integración de los datos de la genómica y otras disciplinas «ómicas» para la construcción de una imagen general de un sistema biológico.

Bioluminiscencia Producción enzimática de luz visible por los organismos vivos.

Biopelícula Colonias microbianas englobadas en un material adhesivo y generalmente formado por polisacáridos, adheridas a una superficie.

Biorremediación Uso de microorganismos para eliminar o detoxificar sustancias químicas tóxicas o indeseadas de un ambiente.

Biosíntesis Producción de constituyentes celulares necesarios a partir de otras moléculas generalmente más simples.

Biotecnología Uso de organismos, por lo general genéticamente alterados, para su aplicación industrial, médica o agraria.

Botulismo Intoxicación alimentaria debida a la ingesta de alimentos que contienen la toxina botulínica producida por *Clostridium botulinum*.

Brote Aparición de una gran cantidad de casos de una enfermedad durante un corto periodo de tiempo.

Cadena conductora La nueva cadena de DNA que es sintetizada continuamente durante la replicación del DNA.

Cadena positiva Cadena de ácido nucleico que tiene el mismo sentido que el mRNA.

Caja de Pribnow Secuencia consenso TATAAT localizada aproximadamente a 10 bases en sentido ascendente a partir del lugar de inicio de la transcripción. Lugar de unión de la RNA polimerasa.

Calentamiento global Calentamiento predicho, y que está teniendo lugar, de la atmósfera y los océanos, atribuido a la liberación antropogénica de gases de efecto invernadero, principalmente CO_2, que atrapan la radiación infrarroja emitida por la Tierra.

Capa mucilaginosa Capa difusa de fibras de polímeros, típicamente polisacáridos, que forma la capa de la superficie externa de la célula.

Capa S Capa de la pared externa paracristalina compuesta de proteínas o glicoproteínas y se encuentra en muchos procariotas.

Cápsida Cubierta proteica que rodea el genoma de un virus.

Capsómero Subunidad de la cápsida de un virus.

Cápsula Capa de proteínas o polisacáridos, densa y bien definida, que rodea estrechamente a la célula.

Carboxisoma Inclusión celular poliédrica de ribulosa difosfato carboxilasa (RubisCO), enzima clave del ciclo de Calvin.

Carcinógeno Sustancia que causa el inicio de la formación de un tumor. Frecuentemente es un mutágeno.

Caries dental Deterioro dental resultante de una infección bacteriana.

Carotenoide Pigmento accesorio hidrofóbico presente, junto con la clorofila, en las membranas fotosintéticas.

Cassette de DNA Segmento de DNA artificialmente diseñado que generalmente exportador de un gen para la resistencia a un antibiótico o cualquier otro marcador conveniente, y está flanqueado por los sitios de restricción convenientes.

Catálisis Aumento de la tasa de una reacción química.

Catalizador Sustancia que promueve una reacción química sin haber sufrido cambios al final de la misma.

Cebador (o «primer») Segmento corto de DNA o RNA utilizado para iniciar la síntesis de una nueva cadena de DNA.

Célula asesina natural (NK) Linfocito especializado que reconoce y destruye las células extrañas o las células hospedadoras infectadas, de forma no específica.

Célula B de memoria Célula B de vida larga, responsable de un antígeno individual.
Célula B Linfocito que posee receptores superficiales de la inmunoglobulina, que puede presentar los antígenos a las células T, y puede formar células plasmáticas que producen inmunoglobulina.
Célula dendrítica Tipo de leucocito con propiedades fagocitarias y presentadoras de antígeno, que se encuentra en diversos tejidos corporales; transporta el antígeno a los nódulos linfáticos y el bazo.
Célula Hfr Célula con un plásmido F integrado en su cromosoma.
Célula madre Célula que se puede diferenciar en diversos tipos de células finales.
Célula plasmática Linfocito B grande, diferenciado y de vida corta, especializado en una producción de anticuerpos abundante (pero a corto plazo).
Célula presentadora del antígeno (APC) Macrófago, célula dendrítica o célula B que toma y procesa un antígeno y lo presenta a las células T.
Célula T citotóxica (Tc) Linfocito que interactúa con los complejos péptido-MHC I, a través de su receptor de células T, y produce citotoxinas que matan a la célula diana.
Célula T Linfocito que interactúa con los antígenos a través de un receptor celular T del antígeno; las células T se dividen en subclases funcionales, incluyendo a las células Tc (T citotóxicas) y las Th (T colaboradoras o *helper*). Las células Th se subdividen aún en Th1 (inflamatorias) y Th2, las que ayudan a las células B en la formación de anticuerpos.
Célula Unidad fundamental de la materia viva.
Células CD4 Células T cooperadoras. Son las dianas de la infección por el HIV.
Células gramnegativas Linaje filogenético principal de las células procariotas, que poseen una pared celular que contiene relativamente poco peptidoglicano, y una membrana externa compuesta de lipopolisacáridos, lipoproteínas y otras macromoléculas complejas; se tiñe de rosa mediante la tinción de Gram.
Células grampositivas Linaje filogenético principal de células procariotas, cuya pared celular está constituida principalmente por peptidoglicanos; se tiñen de violeta con la tinción de Gram.
Células mastoideas Células tisulares contiguas a los vasos sanguíneos de todo el cuerpo, que contienen gránulos con mediadores inflamatorios.
Células T colaboradoras (Th) Linfocitos que interactúan con los complejos péptido-MHC II a través de un receptor de células T, para producir citoquinas que actúan sobre otras células. Las subclases incluyen a las células **Th1** que activan a los macrófagos, las **Th2** que activan a las células B, las **Th17** que activan a los neutrófilos, y las células **Treg** que suprimen la inmunidad adaptativa.
Cenocítico Presencia de múltiples núcleos en las hifas fúngicas aseptadas.
Centro de reacción Complejo fotosintético que contiene una clorofila (o una bacterioclorofila) y otros componentes, dentro del cual tienen lugar las reacciones iniciales de transferencia de electrones de la fotofosforilación.
Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) La Agencia de Salud Pública de los Estados Unidos que hace el seguimiento de las enfermedades, proporciona información sobre ellas al público y a los profesionales de la salud, y establece normas públicas para la prevención e intervención de las mismas.
Cepa Población de células de una sola especie, descendientes todas ellas de una sola célula; un clon.
Cerveceo (*brewing*) Elaboración de la cerveza por la fermentación de cereales malteados.
Chaperona molecular Proteína que ayuda otras proteínas a plegarse y replegarse apropiadamente.
Chaperonina (chaperona molecular) Proteína que ayuda a otras proteínas a plegarse o replegarse partiendo de un estado parcialmente desnaturalizado.
Chimenea negra Fuente hidrotermal de las profundidades marinas, que emite agua sobrecalentada a 250-400 °C y minerales.
Chimeneas hidrotermales Manantiales que emiten agua caliente o supercalentada, asociados con los centros de extrusión de la corteza terrestre en los fondos marinos.
Chip génico Soporte sólido y pequeño en el que se fijan y ordenan espacialmente genes o porciones de genes según un patrón desconocido. También se denomina *microarray*.
Cianobacterias Procariotas fotótrofos oxigénicos que contienen clorofila *a* y ficobilinas.
Ciclo de Calvin Serie de reacciones biosintéticas mediante las cuales muchos organismos autótrofos convierten el CO_2 en compuestos orgánicos.
Ciclo del ácido cítrico Serie cíclica de reacciones que tiene como resultado la conversión del acetato en CO_2 y NADH. También se denomina ciclo de los ácidos tricarboxílicos o ciclo de Krebs.
Ciclo del glioxilato Serie de reacciones que incluyen a algunas de las del ciclo del ácido cítrico, que se utiliza para el crecimiento anaerobio a partir de ácidos orgánicos C_2 o C_3.
Ciclo inverso del ácido cítrico Mecanismo de autotrofía en las bacterias verdes del azufre y en otras pocas bacterias autótrofas, y también en algunas arqueas.
-cida Sufijo que indica matar; por ejemplo, un agente bactericida mata a las bacterias. Compárese con *-stático*.
Ciliado Protista caracterizado en parte por su rápida motilidad, producida por numerosos apéndices cortos llamados cilios.
Cilio Estructura filamentosa y corta que bate junto con otras muchas para producir el movimiento celular.
Cirrosis Destrucción de la estructura normal del hígado, que tiene como resultado la fibrosis.
Citocromo Porfirina con hierro que forma un complejo con proteínas, que funciona como transportador de electrones en un sistema de transporte electrónico.
Citoesqueleto Entrecruzamiento celular típico de las células eucariotas, en el que los microtúbulos, los microfilamentos y los filamentos intermedios definen la forma de la célula.
Citometría de flujo Técnica para contar y examinar partículas microscópicas, suspendiéndolas en una corriente o fluido y pasándolas por un dispositivo de detección electrónico.
Citoplasma Parte fluida de una célula, envuelta en una membrana celular.
Citoquina Proteína soluble de pequeño tamaño, producida por un leucocito, que modula las reacciones inflamatorias y la inmunidad.
Clarificador (depósito de coagulación) Reservorio en el cual los sólidos en suspensión del agua no tratada son coagulados y eliminados.
Clon En inmunología, copiado de un linfocito que reacciona ante un antígeno, generalmente en grandes cantidades. También, un número de copias de un fragmento de DNA obtenido al permitir que un fragmento de DNA insertado sea replicado por un fago o un plásmido.
Clonación aleatoria Fabricación de una biblioteca genómica clonando al azar fragmentos de DNA
Clonación génica *Véase clonación molecular*.
Clonación molecular Aislamiento e incorporación de un fragmento de DNA en un vector, donde puede ser replicado.
Cloración Tratamiento desinfectante muy efectivo para las aguas potables, que utiliza cloro gaseoso u otros componentes que contienen cloro.

Cloramina Producto químico purificador del agua, formado al combinar cloro con amoniaco en unas proporciones dadas.
Cloro Producto químico utilizado en estado gaseoso para desinfectar las aguas. Se conserva un nivel residual del mismo por todo el sistema de distribución hídrica.
Clorofila Pigmento de los organismos fotótrofos que consiste en tetrapirroles con magnesio sensibles a la luz.
Cloroplasto Orgánulo de los eucariotas fotótrofos que contiene clorofila.
Clorosoma Estructura, en forma de cigarro, encerrada por una membrana atípica, que contiene la bacterioclorofila captadora de luz (*c*, *d* o *e*) en las bacterias verdes del azufre y en *Chloroflexus*.
Coagulación Formación de partículas insolubles de gran tamaño a partir de partículas coloidales mucho menores, mediante la adición de sulfato de aluminio y polímeros aniónicos.
Coco Bacteria esférica.
Cocoide De forma esférica.
Código genético Correspondencia entre la secuencia de ácidos nucleicos y la secuencia de aminoácidos de las proteínas.
Codón de inicio Codón especial, generalmente AUG, que señala el inicio de una proteína.
Codón de parada Codón que señala el final de una proteína.
Codón de uso El uso no al azar de múltiples codones que codifican el mismo aminoácido.
Codón Secuencia de tres bases en el RNA mensajero, que codifica un aminoácido específico.
Codón sin sentido Sinónimo de *codón de parada*.
Coenzima Molécula de bajo peso molecular, que participa en una reacción enzimática aceptando y donando electrones o grupos funcionales. Ejemplos: NAD^+, FAD.
Coevolución Evolución que tiene lugar conjuntamente en un par de especies íntimamente asociadas, causada por los efectos que cada una de ellas tiene sobre la otra.
Coliforme Bacilo aerobio facultativo, gramnegativo, que no esporula y que fermenta la lactosa produciendo gas en 48 horas de incubación a 35 °C.
Colonia Población visible macroscópicamente de células que crecen sobre un medio sólido, provenientes de una sola célula.
Colonial Crecimiento de ciertos protistas y algas verdes, en el que varias células viven juntas y colaboran en la alimentación, motilidad o reproducción; forma temprana de multicelularidad.
Colonización Multiplicación de un microorganismo tras haberse unido a los tejidos u otras superficies del hospedador.
Columna de agua estratificada Masa de agua separada en capas que tienen distintas características químicas y físicas.
Columna de Winogradsky Columna de vidrio llena de barro a la que se ha añadido agua para imitar un ambiente acuático en el que se desarrollan varias bacterias durante un período de meses.
Comensalismo Tipo de simbiosis en la que solo se beneficia uno de los dos organismos de la relación.
Cometabolismo Transformación metabólica de una sustancia mientras que una segunda sustancia es usada como fuente de energía primaria o de carbono.
Competencia Capacidad para tomar el DNA exterior y transformarse genéticamente.
Complejo principal de histocompatibilidad (MHC) Región genética que codifica varias proteínas importantes para la presentación de antígeno y otras funciones de defensa del hospedador. Las proteínas MHC I se expresan en todas las células. Las proteínas MHC II se expresan únicamente en las células presentadoras de antígeno.
Complementarias Secuencias de ácidos nucleicos que pueden aparearse entre sí mediante sus bases.
Complemento Serie de proteínas que reaccionan secuencialmente con los complejos antígeno-anticuerpo, lectina que une manosa o proteínas alternativas de la vía de activación para amplificar o potenciar la destrucción de las células diana.
Composición de bases En el contexto de los ácidos nucleicos, la proporción de todas las bases que consiste en pares de bases de guanina más citosina o tiamina más adenina. Generalmente se expresa como el valor de guanina más citosina (GC), por ejemplo un 60 % GC.
Comunicación Interacciones entre las células, utilizando señales químicas.
Comunidad Dos o más poblaciones celulares que coexisten en una cierta área durante un tiempo dado.
Comunidad microbiana Dos o más poblaciones de células que coexisten e interactúan en un hábitat.
Concatámero Molécula de DNA consistente en dos o más unidades de molécula, unidas extremo con extremo para formar una estructura linear larga.
Concentración inhibitoria mínima (MIC) Concentración mínima de una sustancia necesaria para evitar el crecimiento microbiano.
Conidios Esporas asexuales de los hongos.
Conjugación Transferencia de genes de una célula procariota a otra mediante un mecanismo que implica un contacto de célula a célula.
Consorcio Cultivo (o unión natural) bacteriano de dos miembros (o más) en el que cada uno de los miembros se beneficia de los demás.
Contagioso Transmisible.
Control negativo Mecanismo para la regulación de la expresión génica, en el cual una proteína represora evita la transcripción de genes.
Control positivo Mecanismo para la regulación de la expresión génica, en el que la proteína activadora actúa promoviendo a los genes transcriptores.
Correceptor CD4 Proteína que se encuentra exclusivamente en las células Th, que interactuando con la MHC II, incide sobre una célula presentadora de antígeno.
Correceptor CD8 Proteína que se halla exclusivamente en las células Tc, que interactúa con la MHC I sobre una célula diana.
Corrosión en corona Destrucción de la mitad superior, o corona, de las cañerías de hormigón de las aguas residuales, debida al ácido sulfúrico producido por las actividades conjuntas de las bacterias reductoras de sulfatos y oxidadoras de sulfuros.
Corrosión microbiana Contribución de las actividades metabólicas microbianas a la aceleración de la corrosión de estructuras metálicas y de hormigón.
Córtex Región de una endospora situada en el interior de la cubierta de la espora, que rodea al núcleo.
Crecimiento En microbiología, aumento del número de células.
Crecimiento exponencial Crecimiento de una población microbiana en el que el número de células se duplica durante un período de tiempo fijo.
Crecimiento intercalar En la división celular, aumento del tamaño de la célula en diversos focos de crecimiento.
Crenarchaeota Filo de *Archaea* que contiene organismos tanto hipertermófilos como criófilos.
Cresta Membrana interna de una mitocondria; lugar de la respiración.
Cribado Procedimiento que permite la identificación de los organismos por su fenotipo o su genotipo, pero no inhibe ni potencia el crecimiento de un fenotipo o un genotipo en particular.
Cromogénico Que produce color; por ejemplo, una colonia cromogénica es una colonia pigmentada.
Cromosoma artificial de levadura (YAC) Cromosoma construido por ingeniería genética, con un origen de replicación y una secuencia de centrómero de levadura.

Cromosoma artificial humano (HAC) Cromosoma artificial con una ordenación de la secuencia humana del centrómero.
Cromosoma artificial Vector de una sola copia que puede contener insertos extremadamente largos de DNA, y que se utiliza ampliamente para clonar segmentos de genomas grandes.
Cromosoma bacteriano artificial (BAC) Cromosoma artificial circular con un origen de replicación bacteriano.
Cromosoma Elemento genético portador de genes esencial para la función celular. Típicamente los procariotas poseen un cromosoma único que consiste en una molécula de DNA circular. Los eucariotas suelen tener varios cromosomas, cada uno de los cuales contiene una molécula lineal de DNA.
Cuarentena Separación y restricción de movimientos de personas sanas que pueden haber estado expuestas a una enfermedad infecciosa, para ver si la desarrollan. Compárese con *aislamiento*.
Cuerpo basal Porción «motora» del flagelo bacteriano, incluido en la membrana y la pared citoplasmáticas.
Cuerpo fructífero Estructura reproductiva macroscópica producida por algunos hongos (por ejemplo, las setas) y algunas bacterias (por ejemplo, mixobacterias), cada uno de ellos distinto en cuanto a tamaño, forma y color.
Cultivo en batch Cultivo microbiano en sistema cerrado, de volumen fijo.
Cultivo puro Cultivo que contiene un solo tipo de microorganismo.
Cultivo Una cepa, o un tipo de organismo en particular, que crece en un medio de laboratorio.
Cutáneo Relativo a la piel

Dador de electrones Compuesto que dona electrones en una reacción de oxidación–reducción.
DAPI Tinte fluorescente inespecífico utilizado para teñir las células microbianas de una muestra natural para el cálculo del número total de células.
Decloración reductiva Respiración anaerobia en la que un compuesto orgánico clorado es utilizado como aceptor de electrones, generalmente con la liberación de Cl^-.
Degenerativo En relación con el código genético, el hecho de que más de un codón pueda codificar el mismo aminoácido.
Deleción clonal Referente a la selección de células T en el timo, la eliminación de los precursores inútiles o autorreactivos.
Deleción Supresión de una parte de un gen.
Demanda bioquímica de oxígeno (DBO) Cantidad de oxígeno disuelto consumido por los microorganismos, hasta la completa oxidación de la materia orgánica e inorgánica de una muestra de agua.
Deriva antigénica Pequeños cambios en las proteínas víricas (antígenos) del virus de la gripe, debidos a mutación génica.
Deriva genética Proceso que tiene como resultado un cambio en las frecuencias alélicas de una población, como consecuencia de cambios al azar en el número de descendientes de cada individuo a lo largo del tiempo.
Descontaminación Tratamiento que hace que un objeto o superficie inanimados se puedan manipular sin riesgo.
Desecación Pérdida de agua.
Desinfección Eliminación de patógenos de los objetos o las superficies inanimados.
Desinfección primaria Introducción de suficiente cloro u otro desinfectante en un agua filtrada y clarificada, para matar los microorganismos existentes e inhibir un crecimiento microbiano ulterior.
Desinfección secundaria Mantenimiento del suficiente cloro, u otro desinfectante residual, en el sistema de aguas de distribución, para inhibir el crecimiento microbiano.
Desinfectante Agente antimicrobiano usado únicamente sobre objetos inanimados.
Desnaturalización Destrucción irreversible de una macromolécula, por ejemplo, la destrucción de una proteína mediante el calor.
Desnitrificación Respiración anaerobia en la que el nitrato es reducido a gas nitrógeno (principalmente N_2) en condiciones anóxicas.
Desnitrificador Organismo que lleva a cabo la desnitrificación.
Desproporción Desdoblamiento de un compuesto químico en dos nuevos compuestos, uno más oxidado y uno más reducido que el original.
Deterioro alimentario Cualquier cambio de un producto alimentario, que lo hace inaceptable para el consumidor.
Diazótrofo Organismo que puede convertir N_2 en biomasa mediante la actividad de la enzima nitrogenasa.
Dideoxinucleótido Un nucleótido al que le falta el grupo hidroxilo 3′ en el azúcar desoxirribosa. Utilizado en el método Sanger de secuenciación del DNA.
Diferenciación Modificación de una célula en términos de su estructura y/o función, que tiene lugar durante el curso del crecimiento.
Diploide En los eucariotas, organismo o célula con dos dotaciones cromosómicas complementarias, una derivada de cada gameto haploide.
Disbiosis Alteración o desequilibrio del microbioma de un individuo con relación al normal, que se observa principalmente en la microbiota del tracto digestivo o de la piel.
Disrupción génica También llamada *knockout* génico. Inactivación de un gen por inserción de un fragmento de DNA que interrumpe la secuencia codificante.
Distancia evolutiva En los árboles filogenéticos, la suma de la distancia física que separa a los organismos en el árbol; dicha distancia es inversamente proporcional al parentesco evolutivo.
Diversidad funcional Componente de la diversidad biológica que trata de las formas y funciones de los organismos, en relación con sus diferencias fisiológicas y ecológicas. Compárese con *diversidad filogenética*.
Divisoma Complejo de proteínas que dirigen el proceso de división celular en las bacterias.
DNA Ácido desoxirribonucleico; material genético de las células y algunos virus.
DNA girasa Enzima que se encuentra en la mayoría de los procariotas e induce superenrollamientos negativos en el DNA.
DNA girasa inversa Topoisomerasa presente en todos los procariotas hipertermófilos, que induce el superenrollamiento positivo del DNA.
DNA helicasa Enzima que usa ATP para desenrollar la doble hélice de DNA.
DNA ligasa Enzima que sella las muescas en el eje estructural del DNA.
DNA polimerasa Enzima que sintetiza una nueva hebra de DNA en el sentido 5′ → 3′ utilizando una hebra antiparalela de DNA como molde.
DNA recombinante Molécula de DNA que contiene DNA originario de dos o más fuentes.
DNA sintético Molécula de DNA que se ha construido mediante un proceso químico en el laboratorio.
Dominio (1) El nivel más alto de clasificación biológica. Los tres dominios de los seres vivos son *Bacteria*, *Archaea* y *Eukarya*. (2) Región de una proteína que tiene una estructura y función definidas.
Drenaje ácido de las minas Agua ácida que contiene H_2SO_4 (ácido sulfúrico), procedente de la oxidación microbiana de minerales de sulfuro de hierro.

Ecología Estudio de las interrelaciones entre los organismos y su medio ambiente.
Ecología microbiana Estudio de los microorganismos en su medio ambiente natural.
Ecosistema Complejo dinámico de organismos y sus ambientes físicos, interactuando como una unidad funcional.
Ecotipo Población de células genéticamente idénticas que comparten un recurso particular dentro de un nicho ecológico.
EDAR Estación Depuradora de Aguas Residuales.
Edición del RNA Cambio de la secuencia codificante de una molécula de RNA mediante la alteración, la edición o la supresión de bases.
Ehrliquiosis De las enfermedades transmitidas por garrapatas, aquélla que es causada por riquetsias (o ricketsias)t del género *Ehrlichia*.
Ehrliquiosis monocítica humana (HME) Riquetsiosis causada por *Ehrlichia chaffeensis* o *Rickettsia sennetsu*.
Electroforesis en gel Técnica para separar las moléculas de ácido nucleico haciendo pasar una corriente eléctrica a través de un gel de agarosa o poliacrilamida.
Electroforesis en gradiente desnaturalizante (DGGE) Técnica electroforética capaz de separar fragmentos de ácidos nucleicos del mismo tamaño, que difieren en su secuencia.
Electroforesis Separación de moléculas cargadas en un campo eléctrico.
Electroporación Uso de un pulso eléctrico para permitir que las células capten DNA libre.
Elemento genético Estructura portadora de información genética, tal como un cromosoma, un plásmido o el genoma de un virus.
Elemento transponible Elemento genético con la capacidad de desplazarse (transponerse) de un lugar a otro en las moléculas de DNA del hospedador.
ELISA *Véase inmunoensayo enzimático*.
Empalme Paso, en el procesamiento del RNA, en el que se eliminan los intrones y se empalman los exones.
Empalme proteínico Supresión de las secuencias intermedias de una proteína.
Enantiómero Una forma de una molécula que es la imagen especular de otra forma de la misma molécula.
Encapsulado En referencia a los virus, poseedores de una membrana lipoproteica rodeando al virión.
Encefalopatía espongiforme transmisible (TSE) Enfermedad degenerativa del cerebro, causada por una infección por priones.
Encurtido Proceso de acidificar los alimentos, típicamente con ácido acético, para evitar el crecimiento microbiano y la putrefacción.
Endocitosis Proceso en el cual una partícula tal como un virus es absorbida intacta por una célula animal. La fagocitosis y la pinocitosis son dos tipos de endocitosis.
Endosimbiosis Absorción de una célula por otra célula de un tipo distinto, y la subsecuente asociación estable de ambas células
Endosimbiosis primaria Adquisición del ancestro alfaproteobacteriano de la mitocondria o del ancestro cianobacteriano del cloroplasto, por parte de otro tipo de células.
Endosimbiosis secundaria Adquisición, por parte de una célula eucariota que contiene mitocondrias, del cloroplasto de un alga verde o roja.
Endospora Célula diferenciada formada en el interior de las células de ciertas bacterias grampositivas, que es extremadamente resistente al calor, así como a otros agentes dañinos.
Endotoxina Porción lipopolisacárida de la envoltura celular de ciertas bacterias gramnegativas, que constituye una toxina cuando es solubilizada. Compárese con *exotoxina*.
Energía de activación Energía necesaria para producir moléculas de sustrato más reactivas; las enzimas funcionan haciendo disminuir la energía de activación.
Energía libre (G) Energía disponible para realizar un trabajo; $G^{0\prime}$ es la energía libre en condiciones estándar.
Enfermedad Daño efectuado a un organismo hospedador, causado por un patógeno u otro factor, que afecta a las funciones de dicho hospedador.
Enfermedad de Lyme Enfermedad causada por la espiroqueta *Borrelia burgdorferi* y transmitida por las garrapatas.
Enfermedad de transmisión sexual (ETS) Infección que generalmente se transmite por contacto sexual.
Enfermedad emergente Enfermedad infecciosa cuya incidencia ha aumentado recientemente, o cuya incidencia amenaza con aumentar en un futuro próximo.
Enfermedad endémica Enfermedad que está constantemente en una población, generalmente en pequeñas cantidades. Compárese con *epidemia*.
Enfermedad reemergente Enfermedad infecciosa que previamente estaba bajo control, y que produce una nueva epidemia.
Enlace covalente Enlace químico no iónico formado al compartirse electrones de dos átomos.
Enlace fosfodiéster Tipo de enlace covalente que une los nucleótidos formando un polinucleótido.
Enlace glicosídico Tipo de enlace covalente que une unidades de azúcar con un polisacárido.
Enlace peptídico Tipo de enlace covalente que reúne a los aminoácidos para formar un polipéptido.
Enlatado Proceso de almacenamiento de alimentos en recipientes cerrados y su calentamiento para destruir organismos vivos y sus endosporas.
Ensayo de reducción del acetileno Método para medir la actividad de la nitrogenasa mediante la utilización de acetileno en vez del sustrato natural de la enzima, el N_2. El acetileno se reduce a etileno o etano, en función del tipo de nitrogenasa implicada.
Enterotoxina Proteína que es liberada al exterior de la célula por un microorganismo cuando éste crece, y que produce daños inmediatos en el intestino delgado del hospedador.
Entropía Medida del grado de desorden de un sistema; la entropía siempre aumenta en un sistema cerrado.
Enzima Catalizador generalmente compuesto por una proteína, que promueve reacciones, o grupos de reacciones, específicas.
Enzima de modificación Enzima que altera químicamente las bases del interior del lugar de reconocimiento de una enzima de restricción, y por lo tanto evita que dicho lugar sea cortado.
Enzima inducida Enzima sujeta a inducción.
Enzima inmovilizada Enzima ligada a un soporte sólido sobre el cual se pasa el sustrato y se convierte en producto.
Enzimas de restricción (endonucleasas de restricción) Enzimas que reconocen y rompen secuencias específicas de DNA, generando extremos desafilados o monocatenarios (adhesivos).
Enzoótica Enfermedad endémica presente en una población animal.
Epidemia de hospedador a hospedador Epidemia que es el resultado de un contacto hospedador a hospedador, caracterizada por un aumento y caída graduales en la incidencia de la enfermedad.
Epidemia de origen común Epidemia que resulta de la infección de un gran número de personas a partir de una sola fuente contaminada.
Epidemia Enfermedad que tiene lugar generalmente en grandes cantidades de individuos de una población al mismo tiempo. Compárese con *enfermedad endémica*.
Epidemiología Estudio de la incidencia, distribución y sus determinantes de la salud y la enfermedad en una población.

Epilimnion Aguas superficiales más cálidas y menos densas de un lago estratificado.
Epítopo Porción de un antígeno que es reconocido por el receptor de una célula T o una inmunoglobulina.
Epizoótica Enfermedad epidémica presente en una población animal.
Escalado o cambio de escala Adaptación de un proceso industrial desde las condiciones de un pequeño laboratorio, a una fermentación a escala comercial.
Escarlatina Enfermedad caracterizada por fiebre alta y un sarpullido rojizo que es producida por una exotoxina de las células de *Streptococcus pyogenes*.
***Escherichia coli* O157:H7** Cepa enterotoxigénica de *E. coli* que se transmite por contaminación fecal de origen animal o humano a los alimentos y el agua.
Esferoplasto Célula esférica y osmóticamente sensible derivada de una bacteria por pérdida de parte pero no toda la pared celular rígida. Si ha perdido toda la pared rígida, la estructura se denomina *protoplasto*.
Especie En microbiología, conjunto de cepas que comparten las mismas propiedades principales y difieren en una o más propiedades significativas de otros conjuntos de cepas; filogenéticamente se define como un grupo monofilético y exclusivo basado en la secuencia de DNA.
Especificidad (1) Capacidad de una respuesta inmunitaria de interactuar con los antígenos individuales. (2) Capacidad de un test diagnóstico o de investigación de identificar un patógeno específico.
Espirilo Célula con forma espiralada.
Espiroqueta Bacteria gramnegativa, estrecha y fuertemente enrollada, caracterizada por poseer endoflagelos utilizados para la motilidad.
Espliceosoma Complejo de ribonucleoproteínas que puede catalizar la extracción de intrones de los transcritos primarios de RNA.
Espora Término general para las estructuras de reposo resistentes formadas por muchos procariotas y hongos.
Esporozoos Protozoos parásitos inmóviles.
Esquistosomiasis Enfermedad crónica causada por un gusano parásito que provoca daños en los órganos internos y acumulación de fluidos y de masas de huevos del gusano.
Estereoisómeros Formas especulares (o quirales) de dos moléculas que tienen las mismas formas estructurales y moleculares.
Estéril Libre de todos los organismos vivientes y virus.
Esterilización Matar o suprimir a todos los organismos vivientes y virus de un medio de cultivo.
Esterilizador (esporicida) Agente químico que destruye todos los tipos de vida microbiana.
Esteroles Estructuras hidrofóbicas de múltiples anillos que refuerzan la membrana citoplasmática de las células eucariotas y unas pocas procariotas.
Estroma Lumen del cloroplasto, rodeado por la membrana interna.
Estromatolito Tapete microbiano laminado, típicamente formado de capas de microorganismos filamentosos y de otro tipo; puede fosilizarse.
Estructura cuaternaria En las proteínas, el número y disposición de los polipéptidos individuales en la molécula de proteína acabada.
Estructura primaria En una molécula portadora de información, tal como un polipéptido o un ácido nucleico, la secuencia precisa de las unidades monoméricas.
Estructura secundaria Patrón inicial de plegado de un polipéptido o un polinucleótido, generalmente resultado de enlaces mediante puentes de hidrógeno.
Estructura terciaria Estructura final plegada de un polipéptido que previamente ha adoptado una estructura secundaria.
Eucariota Célula u organismo que posee un núcleo englobado en una membrana y generalmente otros orgánulos; miembro de los *Eukarya*.
Eukarya Dominio filogenético que comprende todos los organismos eucariotas.
Euryarchaeota Filo de *Archaea* que contiene principalmente metanógenos, halófitos extremos, *Thermoplasma* y algunos hipertermófilos marinos.
Evolución convergente Circunstancia por la cual un carácter o serie de caracteres que son similares en forma y/o función en dos organismos no se han heredado a partir de un ancestro común (es decir, caracteres que son muy similares pero no homólogos).
Evolución Descendencia con una o varias modificaciones; variación de la secuencia del DNA y herencia de dicha variación.
Exoenzima Enzima producida por un microorganismo, que luego es excretada al medio ambiente.
Exones Secuencias codificantes de un gen. Contrasta con los *intrones*, las regiones no codificantes intermedias.
Exotoxina Proteína liberada al exterior por un microorganismo, mientras se desarrolla y produce un daño inmediato a la célula hospedadora. Compárese con *endotoxina*.
Expresión Capacidad de un gen para funcionar dentro de la célula, de forma que se forme un producto génico.
Expresión génica Transcripción de un gen, seguida de la traducción del mRNA resultante en proteína(s).
Exteína Proporción de una proteína que permanece y tiene una acción biológica tras eliminación de las inteínas.
Extremófilo Organismo que crece de forma óptima bajo uno o más extremos físicos o químicos, tales como el pH o la temperatura, altos o bajos.

Factores Myc Oligosacáridos de lipoquitina producidos por los hongos con micorrizas, para iniciar la simbiosis con la planta.
Factores Nod Oligosacáridos producidos en las bacterias de los nódulos radicales, que ayudan a iniciar la simbiosis bacteria-planta.
Facultativo Indica que un organismo es capaz de crecer en presencia o ausencia de un factor ambiental (por ejemplo, «aerobio facultativo»).
Fago *Véase bacteriófago*.
Fagocito Célula que reconoce, ingiere y degrada a los patógenos y sus productos.
Fagocitosis Mecanismo para la ingesta de alimentos particulados, mediante el cual una parte de la membrana citoplasmática rodea la partícula y la conduce al interior de la célula.
FAME Éster metílico de ácido graso; técnica para identificar los microorganismos mediante sus ácidos grasos.
Familia génica Genes que están relacionados secuencialmente unos con otros como resultado de un origen evolutivo común.
Fase estacionaria Periodo del ciclo de crecimiento de una población microbiana durante el cual cesa el crecimiento.
Fase exponencial Período durante el ciclo de crecimiento de una población, en el que el crecimiento aumenta a una tasa exponencial.
Fase lag Tras la inoculación de un cultivo, período anterior al inicio del crecimiento.
Fenotipo Características observables de un organismo, tales como el color, la motilidad o la morfología. Compárese con *genotipo*.
Fermentación (industrial) Proceso microbiano a gran escala.
Fermentación Catabolismo anaerobio de un compuesto orgánico, en el que el compuesto sirve tanto de dador como aceptor de electrones, y en el cual el ATP suele ser producido por fosforilación a nivel de sustrato.

Fermentación secundaria Fermentación en la que los sustratos son los productos de fermentación de algún otro organismo.
Fermentador (1) Organismo que lleva a cabo el proceso de fermentación. (2) Tanque, generalmente de gran tamaño, utilizado para el cultivo de microorganismos para la fabricación de algún producto de valor comercial.
Ferredoxina Transportador de electrones de potencial de reducción muy negativo; proteínas de pequeño tamaño que contienen grupos hierro-azufre.
Ficobilina Componente de las ficobiliproteínas, de una cadena tetrapirrólica abierta, que capta la luz.
Ficobiliproteína Complejo pigmentario accesorio de las cianobacterias, que contiene ficocianina o ficoeritrina acoplada a las proteínas.
Ficobilisoma Agregado de ficobiliproteínas.
Fiebre Aumento anormal de la temperatura corporal.
Fiebre de las Montañas Rocosas *Véase* Riquetsias.
Fiebre del Nilo occidental Enfermedad neurológica causada por el virus del Nilo occidental, que se transmite de las aves a los humanos por medio de mosquitos.
Fiebre hemorrágica con síndrome renal (HFRS) Enfermedad aguda emergente, caracterizada por shock y fallo renal, causado por el hantavirus de los roedores.
Fiebre reumática Enfermedad autoinmunitaria inflamatoria desencadenada por una respuesta inmunitaria a una infección por *Streptococcus pyogenes*.
Fijación de nitrógeno Reducción del gas nitrógeno a amoniaco ($N_2 + 8\ H \rightarrow 2\ NH_3 + H_2$) mediante la enzima nitrogenasa.
Fijación del complemento Consumo de complemento en una reacción antígeno–anticuerpo.
Filamento de infección En la formación de los nódulos radicales, tubo de celulosa a través del cual viajan las células de *Rhizobium* para alcanzar e infectar las células de la raíz.
Filamento intermedio Polímero filamentoso de proteínas de queratina fibrosa, superenrollado formando fibras más gruesas, que funciona en el mantenimiento de la forma de la célula y en la localización de ciertos orgánulos en las células eucariotas.
Filamentoso En forma de bastoncillo muy largo, muchas veces más largo que ancho.
Filo Linaje principal de células en uno de los tres dominios de la vida.
Filogenia La historia evolutiva (natural) de los organismos.
Filotipo Uno o más organismos con la misma secuencia o con secuencias emparentadas de un gen marcador filogenético.
Filtración Eliminación de las partículas en suspensión en el agua, pasándola a través de una o más membranas o medios permeables (p. ej. arena, antracita o tierra de diatomeas).
Filtro HEPA Filtro de aire de gran eficacia, utilizado en los laboratorios y en la industria para extraer partículas, incluyendo microorganismos, de un flujo de aire de entrada o escape.
Fimbria Estructura corta y filamentosa de una célula bacteriana; a pesar de su estructura parecida a un flagelo, generalmente se encuentra en grandes cantidades y no está implicada en la motilidad. Tiene un papel en la adherencia a las superficies y en la formación de las películas. *Véase también pilus*.
FISH *Véase Hibridación por fluorescencia in situ*.
Fisión binaria División celular en la cual la célula crece de forma intercalar hasta alcanzar el doble de su tamaño mínimo, y luego se divide formando dos células.
Fitanil Hidrocarburo de cadena ramificada con 20 átomos de carbono, que se suele encontrar en los lípidos de *Archaea*.
Fitopatógeno Microorganismo que causa enfermedades vegetales.
Flagelación peritrica Referido a la distribución de los flagelos, tener flagelos unidos a muchos lugares de la superficie celular.
Flagelo Apéndice celular largo que rota (en las células procariotas) y es responsable de los movimientos natatorios.
Flagelos polares En cuanto a la disposición de los flagelos, aquellos que están unidos a uno o ambos extremos de la célula.
Flavoproteína Proteína que contiene un derivado de la riboflavina, que funciona como transportador de electrones en un sistema de transporte de electrones.
Floculación Proceso de tratamiento del agua que se aplica después de la coagulación, mediante una agitación suave para que las partículas en suspensión formen agregados (flóculos) de mayor tamaño.
Fluorescente Que tiene la capacidad de emitir luz de una cierta longitud de onda cuando es activado por luz de una longitud de onda distinta.
Fómites Objetos inanimados que cuando se contaminan con un patógeno viable pueden transmitir dicho patógeno al hospedador.
Forma replicativa Molécula bicatenaria de DNA que es un intermediario en la replicación de los virus de DNA monocatenarios.
Formación de bandas de hierro Rocas sedimentarias antiguas ricas en óxido ferroso, que contienen zonas de hierro férrico (Fe^{3+}) formadas por oxidación de Fe^{2+} mediante el oxígeno producido por las cianobacterias.
Fosfolípido Lípido que contiene un grupo fosfato sustituido y dos cadenas de ácido graso en un eje central de glicerol.
Fosforilación a nivel de sustrato Síntesis de enlaces de fosfato, ricos en energía, a través de una reacción enzimática de un fosfato inorgánico con un sustrato orgánico activado.
Fosforilación de transporte de electrones Síntesis de ATP que comprende un transporte de electrones asociado a la membrana, y la creación de una fuerza protonmotriz. También se denomina *fosforilación oxidativa*.
Fosforilación oxidativa (de transporte electrónico) Producción de ATP no fotótrofa a expensas de una fuerza protonmotriz creada por el transporte electrónico.
Fotoautótrofo Organismo capaz de utilizar la luz como única fuente de energía, y el CO_2 como su única fuente de carbono.
Fotofosforilación Síntesis de enlaces de fosfato del ATP, ricos en energía, utilizando la energía lumínica.
Fotoheterótrofo Organismo que utiliza la luz como fuente de energía y los compuestos orgánicos como fuente de carbono.
Fotosíntesis anoxigénica Utilización de la energía lumínica para sintetizar ATP mediante la fotofosforilación cíclica sin producción de O_2.
Fotosíntesis oxigénica Uso de la energía lumínica para sintetizar ATP y NADPH por fotofosforilación acíclica con producción de O_2 a partir del agua.
Fotosíntesis Serie de reacciones en la cual se sintetiza ATP mediante reacciones alimentadas por la luz, y se fija CO_2 para formar el material celular. *Véase también fotosíntesis anoxigénica* y *fotosíntesis oxigénica*.
Fototaxia Movimiento de una célula hacia la luz.
Fotótrofo aerobio anoxigénico Organismo aerobio heterótrofo que utiliza la fotosíntesis anoxigénica como fuente de energía suplementaria.
Fotótrofo Organismo que obtiene su energía de la luz.
Fraccionamiento isotópico Discriminación, mediante enzimas, del isótopo más pesado de entre varios isótopos del carbono o el azufre, lo que conduce a un enriquecimiento en isótopos más ligeros.
FtsZ Proteína que forma un anillo a lo largo del plano medio de división de la célula, que inicia la división celular.
Fuerza protonmotriz (pmf) Fuente de energía que es el resultado de la separación de protones de los iones hidroxilo a través de la membrana citoplasmática, generando un potencial de membrana.

Fusión de operón Fusión génica en la que una secuencia codificante que conserva sus propias señales de traducción se fusiona con las señales de transcripción de otro gen.
Fusión génica Estructura creada al juntar segmentos de dos genes separados, en particular cuando la región reguladora de un gen se une a la región codificante de un gen presentador.
Fusión proteínica Fusión génica en la cual dos secuencias codificantes se funden de manera que comparten los mismos sitios de la transcripción y la traslación.

Gametos En los eucariotas, células germinales haploides que son el resultado de la meiosis.
Gangrena gaseosa Destrucción del tejido humano debido al crecimiento de clostridios proteolíticos y productores de gas.
Gel Polímero inerte, generalmente de agarosa o poliacrilamida, utilizado para separar macromoléculas tales como ácidos nucleicos y proteínas mediante electroforesis.
Gen testigo Gen incorporado a un vector, debido a que el producto que codifica es fácil de detectar.
Gen Unidad de la herencia; segmento de DNA (o de RNA en algunos virus) que especifica una proteína o cadena polipeptídica en particular, o un tRNA o un rRNA.
Generación espontánea Hipótesis de que los seres vivos pueden originarse a partir de materia que no está viva
Género Grupo taxonómico compuesto por especies emparentadas.
Genes solapados Dos o más genes en los que una parte o la totalidad de uno de ellos se halla incluida en el otro.
Genética Herencia y variabilidad de los organismos.
Genoma básico («core») Parte de un genoma compartido por todas las cepas de una especie.
Genoma Compendio total de información genética de una célula o un virus.
Genómica Disciplina que comprende el mapeado, secuenciación, análisis y comparación de los genomas.
Genotipo Estructura genómica completa de un organismo; descripción completa de la información genética de las células.
Germicida (antiséptico) Agente químico que mata o inhibe el crecimiento de los microorganismos y es tan poco tóxico que puede ser aplicado a los tejidos vivos.
Glicocálix Compuestos polisacáridos que se hallan en el exterior de la pared bacteriana. Generalmente una red laxa de fibras de polímeros que se extiende hacia fuera desde la célula.
Glicólisis Reacciones de la vía Embden-Meyerhof-Parnas, en la que la glucosa se convierte en piruvato.
Gonococo *Neisseria gonorrhoeae*, el diplococo gramnegativo, que es causante de la gonorrea.
Gremio Poblaciones microbianas metabólicamente similares, que explotan los mismos recursos de forma parecida.
Grupo prostético Porción no proteínica y estrechamente unida de una enzima; no es lo mismo que *coenzima*.
Guerra biológica Uso de agentes biológicos para matar o incapacitar a una población.

HAART (terapia antirretroviral altamente activa) Tratamiento de la infección por HIV mediante dos o más fármacos antirretrovirales a la vez, para inhibir el desarrollo de la resistencia a los fármacos.
Hábitat Entorno parcial de un ecosistema, donde una comunidad microbiana podría residir.
Halófilo Organismo que requiere sal (NaCl) para crecer.
Halófito extremo Organismo cuyo crecimiento depende de grandes concentraciones de sal NaCl (generalmente > 9 %) para su crecimiento.
Halorrodopsina Bomba de cloro impulsada por la luz, que acumula Cl^- en el interior del citoplasma.
Halotolerante Capaz de crecer en presencia de NaCl, pero que no lo requiere.
Haploide Organismo o célula que contiene un solo juego de cromosomas.
Hapteno Sustancia de bajo peso molecular que no induce la formación de anticuerpos por sí misma, pero es capaz de combinarse con un anticuerpo específico.
Hebra negativa Hebra de ácido nucleico que tiene un sentido opuesto al mRNA (y es complementaria a él).
Hebra retrasada Nueva hebra de DNA que es sintetizada en pequeños trozos durante la replicación del DNA, que son unidos más tarde.
Hélice Estructura en espiral de una macromolécula, que contiene una secuencia repetida.
Heliobacterias Fotótrofos anoxigénicos que contienen bacterioclorofila *g*.
Hemaglutinación Aglutinación de eritrocitos o glóbulos rojos.
Hemolisinas Toxinas bacterianas capaces de lisar los eritrocitos.
Hemólisis Lisis de los glóbulos rojos.
Hepadnavirus Virus cuyo genoma de DNA se replica mediante un intermediario de RNA.
Hepatitis Inflamación del hígado, generalmente causada por un agente infeccioso.
Herpes simple El virus que causa tanto el herpes genital como el labial.
Heterocisto Célula cianobacteriana diferenciada, que lleva a cabo la fijación de nitrógeno.
Heterodúplex Doble hélice de DNA compuesto por hebras simples de dos moléculas de DNA distintas.
Heterofermentativo Describe a las bacterias del ácido láctico capaces de originar más de un producto de fermentación.
Heterótrofo Organismo que requiere carbono orgánico como fuente de carbono; también denominado quimioorganótrofo.
Hibridación Apareamiento de bases de hebras simples de DNA o RNA a partir de dos fuentes distintas (pero parecidas) para dar lugar a una doble hélice híbrida.
Hibridación DNA–DNA Determinación experimental de la similitud genómica, midiendo la extensión de la hibridación del DNA de un genoma de un organismo con el de otro.
Hibridación por fluorescencia in situ (FISH) Método que emplea un colorante fluorescente ligado covalentemente a una sonda de ácido nucleico específica para identificar y rastrear a los organismos presentes en un medio.
Hidrogenasa Enzima ampliamente distribuida entre los microorganismo anaerobios, capaz de añadir o quitar H_2.
Hidrogenosoma Orgánulo de origen endosimbiótico presente en ciertos eucariotas microbianos, que oxida el piruvato a H_2, CO_2 y acetato, y acopla dicho proceso con la síntesis de ATP.
Hidrólisis Ruptura de un polímero en unidades más pequeñas, generalmente monómeros, con adición de agua; digestión.
Higienizadores Agentes que reducen, pero puede que no eliminen, las cantidades de microbios hasta un nivel seguro.
Hipermutación somática Mutación de genes de la inmunoglobulina a tasas más altas que las observadas para otros genes.
Hipersensibilidad inmediata Respuesta alérgica mediada por productos vasoactivos liberados por los mastocitos celulares.
Hipersensibilidad Respuesta inmunitaria que causa daños en el hospedador, causada por reacciones antígeno–anticuerpo o procesos inmunitarios celulares. *Véase alergia*.
Hipersensibilidad retardada (DTH) Respuesta alérgica inflamatoria mediada por los linfocitos Th1.
Hipertermófilo Procariota que tiene una temperatura óptima de crecimiento de 80 °C o mayor.
Hipolimnion Aguas del fondo, más frías, más densas y a menudo anóxicas, de un lago estratificado.
Hipótesis endosimbiótica La idea de que una bacteria quimioorganótrofa y una cianobacteria se incorporaron de forma estable al interior de otro tipo de célula para dar lugar,

respectivamente, a una mitocondria y un cloroplasto de los eucariotas de hoy en día.

Histonas Proteínas básicas que protegen y compactan el DNA de los eucariotas y algunas arqueas.

Homoacetógenas Bacterias que producen acetato como único producto de la fermentación de la fermentación de carbohidratos a partir de $H_2 + CO_2$. También llamadas *acetógenas*.

Homofermentativas En referencia con las bacterias del ácido láctico, las que solo producen ácido láctico como producto de la fermentación.

Homología Compartición de un ancestro común.

Homólogos Genes relacionados en una secuencia, hasta el punto de que implican algún ancestro en común; incluye tanto a los ortólogos como a los parálogos.

Hongos Microorganismos eucariotas no fotótrofos con paredes celulares rígidas.

Horquilla de replicación El lugar del cromosoma donde tiene lugar la replicación del DNA, y donde las enzimas replicadoras del DNA están ligadas a un DNA monocatenario no enrollado.

Hospedador (o célula hospedadora) Organismo o célula capaz de mantener el crecimiento de un virus u otro parásito.

Humus Materia orgánica muerta.

Icosaedro Forma geométrica que tienen muchas partículas víricas, con 20 caras triangulares y 12 vértices.

Ictericia Producción y liberación del exceso de bilirrubina en el hígado, debida a la destrucción de las células hepáticas, lo que tiene como resultado el amarilleamiento de la piel y del blanco de los ojos.

In vitro En el cristal, fuera del organismo vivo.

In vivo En el cuerpo, en un organismo vivo.

Incidencia Número de nuevos casos de enfermedad que se han detectado en una población durante un periodo de tiempo dado.

Inducción Producción de una enzima en respuesta a una señal (a menudo la presencia del sustrato de la enzima).

Infección aguda Infección de corta duración, generalmente caracterizada por un comienzo brusco.

Infección alimentaria Infección microbiana resultado de la ingesta de alimentos contaminados por patógenos, seguida del crecimiento de los patógenos en el hospedador.

Infección Crecimiento de un organismo en el interior de un hospedador.

Infección crónica Infección de larga duración.

Infección hospitalaria (infección nosocomial) Infección contraída en las instalaciones de un centro de salud.

Infección nosocomial (infección hospitalaria) Infección contraída en un centro de salud.

Infección oportunista Infección que solo se suele observar en un individuo que padece una disfunción del sistema inmunitario.

Inflamación Reacción inespecífica ante estímulos nocivos tales como las toxinas y los patógenos, caracterizada por rojez (eritema), hinchazón (edema), dolor y calor, generalmente localizados en el lugar de infección.

Ingeniería de vía Montaje de una vía bioquímica nueva o mejorada, utilizado genes de uno o más organismos.

Ingeniería genética Uso de técnicas in vitro para el aislamiento, la manipulación, la alteración y la expresión del DNA o RNA y el crecimiento de organismos genéticamente modificados.

Inhibición En referencia con el crecimiento, la reducción del crecimiento microbiano debido a una disminución de la cantidad de organismos presentes o de alteraciones del ambiente microbiano.

Inhibición por retroalimentación Disminución de la actividad de la primera enzima de una ruta bioquímica, causada por la formación del producto final de dicha vía.

Inhibidor de fusión Polipéptido sintético que se une a las glicoproteínas víricas, inhibiendo la fusión de las membranas celulares del virus y el hospedador.

Inhibidor de la integrasa Fármaco que interrumpe el ciclo de replicación de HIV interfiriendo con la integrasa, la proteína del HIV que cataliza la integración del dsDNA vírico en el DNA de la célula hospedadora.

Inhibidor de la proteasa Compuesto que inhibe la acción de una proteasa vírica, uniéndola directamente al lugar catalítico y evitando el procesamiento proteínico vírico.

Inhibidor no nucleosídico de la transcriptasa inversa (NNRTI) Compuesto no nucleosídico que inhibe la acción de la transcriptasa inversa retrovírica uniéndose directamente al lugar catalítico.

Inhibidor nucleosídico de la transcriptasa inversa (NRTI) Compuesto análogo de un nucleósido que inhibe la acción de la transcriptasa inversa vírica compitiendo con los nucleósidos.

Inmune Capaz de resistir una enfermedad infecciosa.

Inmunidad activa Estado inmunitario logrado por la producción propia de anticuerpos. Compárese con la *inmunidad pasiva*.

Inmunidad adaptativa (inmunidad específica de antígeno) Es la capacidad adquirida de reconocer y destruir un patógeno en particular o sus productos; depende de la exposición previa al patógeno o a sus productos.

Inmunidad Capacidad de un organismo de resistir una infección.

Inmunidad de grupo La resistencia de un grupo a un patógeno, como resultado de la inmunidad de una gran proporción del grupo a dicho patógeno.

Inmunidad humoral Respuesta inmunitaria que implica anticuerpos.

Inmunidad innata (inmunidad inespecífica) Capacidad no inducible para reconocer y destruir un patógeno individual o sus productos, que no radica en la exposición previa al patógeno o sus elementos.

Inmunidad mediada por anticuerpos Inmunidad producida por la interacción directa del antígeno con los anticuerpos; también denominada *inmunidad humoral*.

Inmunidad mediada por células Respuesta inmunitaria generada por las interacciones con células T específicas de antígeno. Compárese con inmunidad mediada por anticuerpos.

Inmunidad pasiva Inmunidad resultante de la transferencia de anticuerpos o células inmunitarias de un individuo inmunizado a otro que no lo está.

Inmunización (vacunación) Inoculación de un hospedador con patógenos inactivos o debilitados, o productos del patógeno, para estimular la protección inmunitaria.

Inmunoblot (Western blot) Detección de proteínas específicas, separándolas mediante electroforesis, transfiriéndolas a una membrana y añadiendo anticuerpos específicos.

Inmunodeficiencia Sistema inmunitario que tiene una disfunción o es completamente afuncional.

Inmunoensayo enzimático (EIA) Test que utiliza anticuerpos para detectar antígenos o anticuerpos en los fluidos corporales. También se denomina ensayo inmunosorbente ligado a enzima (ELISA).

Inmunógeno Molécula capaz de desencadenar una respuesta inmunitaria.

Inmunoglobulina (Ig) Proteína soluble producida por células B y plasmáticas que interactúa con el antígeno; también llamada *anticuerpo*.

Inóculo Material celular utilizado para iniciar un cultivo microbiano.

Inserción Fenómeno genético en el cual un trozo de DNA es insertado en medio de un gen.

Integración Proceso mediante el cual una molécula de DNA se incorpora en otro genoma.

Integrasa La enzima que inserta cassettes en un integrón.
Integrón Elemento genético que reúne y expresa genes que se hallan en una cassette móvil.
Inteína Secuencia intercalada en una proteína; un segmento de proteína que puede escindirse a sí misma.
Interacciones hidrofóbicas Fuerzas de atracción entre moléculas, debidas a una posición cercana de las partes no hidrófilas de las dos moléculas.
Interactoma Serie total de interacciones entre las proteínas (u otras macromoléculas) en un organismo.
Intercambio genético Transferencia de genes o aceptación de genes entre células procariotas.
Interferencia de RNA (RNAi) Respuesta que es desencadenada por la presencia de un RNA bicatenario, y que tiene como resultado la degradación de ssRNA homólogos al inductor dsRNA.
Interferones Proteínas citoquinas producidas por células infectadas por virus, que inducen la transducción de señal en las células próximas, lo que tiene como resultado la transcripción de genes antivíricos y la expresión de proteínas antivíricas.
Interleucina (IL) Citoquina soluble o mediador quimiocina segregado por los leucocitos.
Intoxicación alimentaria Enfermedad causada por la ingesta de alimentos que contienen toxinas microbianas previamente formadas.
Intrón autoempalmante Intrón que posee una actividad de ribozima y se empalma a sí mismo.
Intrones Secuencias no codificantes que separan un gen. Compárese con los *exones*, las secuencias codificantes.
Invasión Capacidad de un patógeno de entrar en células o tejidos del hospedador, diseminarse y causar una enfermedad.
Ionóforo Compuesto que puede causar la liberación de iones a través de sus membranas.
Irradiación En la microbiología alimentaria, la exposición de los alimentos a radiaciones ionizantes para inhibir los microorganismos y las plagas de insectos, o para retardar el crecimiento o la maduración.
Isla cromosómica Región cromosómica bacteriana de origen externo que contiene genes agrupados que confieren algunas propiedades extra como la virulencia o la simbiosis.
Isla de patogenicidad Región de un cromosoma bacteriano, de origen foráneo, que contiene un grupo de genes de virulencia.
Isómeros Dos moléculas que tienen la misma fórmula molecular pero que difieren estructuralmente.
Isótopos Distintas formas del mismo elemento, que contienen el mismo número de protones y electrones, pero que difieren en el número de neutrones.

Julio (J) Unidad de energía igual a 10^7 ergios; 1.000 julios son un kilojulio (kJ).

Kilobase (kb) Fragmento de ácido nucleico de 1.000 bases. Un *par kilobase* (kbp) es un fragmento que contiene 1.000 pares de bases.
Korarchaeota Filo de *Archaea* que contiene al hipertermófilo *Korarchaeum cryptophilum*.

Leghemoglobina Proteína que toma el O_2 que se encuentra en los nódulos radicales.
Leishmaniasis Enfermedad de la piel o las vísceras causada por infección con especies de un protozoo flagelado parásito, *Leishmania*.
Leucocidina Sustancia capaz de destruir los fagocitos.
Leucocito Célula nucleada que se halla en la sangre; glóbulo blanco.
Leucocito polimorfonuclear (PMN) Glóbulos blancos móviles que contienen muchos lisosomas y que se especializan en la fagocitosis. Se caracterizan por un núcleo segmentado distintivo. También denominados *neutrófilos*.
Levadura Forma de crecimiento unicelular de diversos hongos.
Linfa Fluido parecido a la sangre que carece de glóbulos rojos y viaja por un sistema circulatorio separado (el sistema linfático), que contiene los nódulos linfáticos.
Linfocitos Subcategoría de leucocitos sanguíneos que están implicados en la respuesta inmunitaria adaptativa.
Liofilización (secado al vacío) Proceso de quitar toda el agua de un alimento congelado que está al vacío.
Lípidos Moléculas orgánicas insolubles en agua, importantes en la estructura de la membrana citoplasmática y (en algunos organismos) la pared celular. *Véase también fosfolípido*.
Lipopolisacáridos (LPS) Estructura lipídica compleja que suele contener carbohidratos y ácidos grasos, que se encuentra en la mayoría de bacterias gramnegativas, y constituye una estructura química de la membrana externa.
Liquen Un hongo y un alga (o una cianobacteria) que viven formando una asociación simbiótica.
Lisina Anticuerpo que induce la lisis.
Lisis Pérdida de la integridad celular con la liberación del contenido citoplasmático.
Lisogenia Tras una infección vírica, estado en el que el genoma vírico es replicado en forma de provirus junto con el genoma del hospedador.
Lisógeno Procariota que contiene un profago. *Véase también virus atemperado*.
Lisosoma Orgánulo que contiene enzimas digestivas para la hidrólisis de proteínas, grasas y polisacáridos.
Listeriosis Infección alimentaria gastrointestinal causada por *Listeria monocytogenes*, que puede conducir a bacteremia y meningitis.
Lixiviación microbiana Extracción de metales valiosos tales como el cobre de las menas de azufre, mediante actividades microbianas.
Lixiviación, o Escorrentía Pérdida de metales valiosos de las menas debida a la acción microbiana.
Lofotrico Que posee un penacho de flagelos polares.
Luminiscencia Producción de luz.

Macrófago Leucocito de gran tamaño que se encuentra en los tejidos, que tiene capacidades fagocitarias y de presentación de antígeno.
Macromolécula informativa Cualquier molécula polimérica de gran tamaño portadora de información genética, incluyendo al DNA, el RNA y las proteínas.
Macromolécula Molécula grande (polímero) formada por la conexión de varias moléculas pequeñas (monómeros); proteínas, ácidos nucleicos, lípidos y polisacáridos de una célula.
Magnetosoma Pequeña partícula de Fe_3O_4 presente en las células que tienen magnetotaxia (bacterias magnéticas).
Magnetotaxia Movimiento de las células microbianas dirigido por un campo magnético.
Malaria Enfermedad transmitida por insectos, que se caracteriza por episodios recurrentes de fiebre y anemia; la causan los protistas *Plasmodium* spp., generalmente transmitido entre mamíferos a través de la picadura de un mosquito *Anopheles*.
Maligno Con referencia a un tumor, el crecimiento metastásico infiltrante que ya no está bajo un control de crecimiento normal.
Mapa de restricción Mapa que muestra la localización de los lugares de corte de las enzimas de restricción en un segmento de DNA.
Mapa genético Disposición de los genes en un cromosoma.

MAR-FISH Técnica que combina la identificación de microorganismos con la medición de las actividades metabólicas (*véase microautorradiografía* y *FISH*).
Marco de lectura abierta (ORF) Secuencia de DNA o RNA que podría traducirse para dar un polipéptido.
Matriz extracelular (ECM) Proteínas y polisacáridos que rodean a una célula animal, en la cual esta está embebida.
Medio complejo Cualquier medio de cultivo cuya composición química exacta es desconocida. También denominado medio indefinido.
Medio de cultivo Solución acuosa de varios nutrientes, adecuada para el crecimiento de microorganismos
Medio definido Cualquier medio de cultivo del que se conoce su composición química exacta. Compárese con *medio complejo*.
Medio En microbiología, la solución o soluciones nutritivas utilizadas para cultivar microorganismos.
Medio para propósito general Medio de cultivo que es adecuado para el crecimiento de la mayoría de organismos aerobios estrictos y aerobios facultativos.
Medio selectivo Medio de crecimiento que estimula el desarrollo de ciertos organismos mientras que inhibe el de otros, debido a un componente añadido dicho medios.
Medios diferenciales Medios de cultivo que permiten la identificación de microorganismos basada en sus propiedades fenotípicas.
Medios enriquecidos Medios que permiten que organismos metabólicamente exigentes crezcan mediante la adición de factores de crecimiento específicos.
Médula ósea Órgano linfático primario que contiene las células precursoras pluripotentes de todas las células sanguíneas e inmunitarias, incluyendo las células B.
Megabase (Mb) Un millón de bases nucleotídicas (o pares de bases, abreviado Mpb).
Meiosis Forma especializada de la división nuclear que divide por la mitad el número diploide de cromosomas, teniendo como resultado un número haploide, para los gametos de las células eucariotas.
Membrana citoplasmática Barrera semipermeable que separa el interior de la célula (citoplasma) del medio.
Membrana Cualquier estrato o capa fina. *Véase* especialmente *membrana citoplasmática*.
Membrana externa Membrana que contiene fosfolípidos y polisacáridos, que se halla en el exterior de la capa de peptidoglicano en las células de las bacterias gramnegativas.
Membrana mucosa Capas de células epiteliales que interactúan con el medio externo.
Memoria (memoria inmunitaria) Capacidad de producir rápidamente grandes cantidades de células inmunitarias o anticuerpos específicos, tras una subsecuente exposición a un antígeno encontrado antes.
Memoria inmunitaria Capacidad de responder más rápida y vigorosamente a la segunda y subsiguientes exposiciones a un antígeno inductor.
Meningitis Inflamación de las meninges (tejido cerebral), a veces causada por *Neisseria meningitidis*, caracterizada por iniciarse con una jaqueca súbita, vómitos y rigidez del cuello, seguidas a menudo por un coma, al cabo de unas horas.
Meningococemia enfermedad fulminante causada por *Neisseria meningitidis*, caracterizada por septicemia, coagulación intravascular y shock.
Meningoencefalitis Invasión, inflamación y destrucción de tejido cerebral causada por la ameba *Naegleria fowleri* u otros patógenos distintos.
Mesófilo Organismo que vive en un rango de temperaturas cercano al de los homeotermos, y que generalmente tiene una temperatura de crecimiento óptima de entre 20 y 40 °C.
Metabolismo Todas las reacciones bioquímicas de una célula, tanto anabólicas como catabólicas.
Metabolito primario Metabolito excretado durante la fase de crecimiento exponencial.
Metabolito secundario Producto excretado por un microorganismo en la fase de crecimiento exponencial tardío y en la fase estacionaria.
Metaboloma Dotación total de las moléculas de pequeño tamaño e intermediarios metabólicos de una célula u organismo.
Metagenoma Dotación genética total de todas las células presentes en un medio en particular.
Metagenómica Análisis genómico de todo el DNA o RNA de una muestra ambiental, sin aislar o identificar primero los organismos individuales. También se denomina genómica ambiental.
Metanógena Especie de *Archaea* productora de metano.
Metanogénesis Producción biológica de metano (CH_4).
Metanótrofo Organismo capaz de oxidar el metano.
Metaproteómica Medición de la expresión de una comunidad total de proteínas, utilizando la espectrometría de masas para asignar péptidos a las secuencias de aminoácidos codificados por genes únicos.
Metatranscriptómica Medición de la expresión de una comunidad total de genes utilizando la secuenciación del RNA.
Metazoos Animales multicelulares.
Metilótrofo Organismo capaz de oxidar componentes orgánicos que no contienen enlaces carbono-carbono; si es capaz de oxidar el CH_4 también es un metanótrofo.
Micorriza Asociación simbiótica entre un hongo y las raíces de una planta.
Micosis Cualquier infección causada por hongos.
Micosis sistémica Crecimiento fúngico en diversos órganos internos del cuerpo.
Micosis subcutáneas Infecciones fúngicas de las capas más profundas de la piel.
Micosis superficiales Infecciones fúngicas de las capas superficiales de la piel, el cabello o las uñas.
Microaerófilo Organismo que requiere O_2, pero a niveles más bajos que los del aire.
Microambiente Alrededores físicos y químicos inmediatos que rodean a un microorganismo a nivel micrométrico.
Microautorradiografía (MAR) Medición de la captación de sustratos radiactivos mediante la observación visual de las células en una emulsión fotográfica que ha sido expuesta a ellas.
Microbiología industrial Uso a gran escala de los microorganismos, para fabricar productos de valor comercial.
Microbiota normal Microorganismos que generalmente están asociados con los tejidos corporales sanos.
Microchips Soportes sólidos de pequeño tamaño en los que se fijan y ordenan espacialmente genes o porciones de genes en un orden conocido (también llamados chips génicos).
Microfilamento Polímero filamentoso de la proteína actina, que ayuda a mantener la forma de una célula eucariota.
Micrómetro Millonésima parte de un metro, o 10^{-6} m (abreviatura μm); unidad utilizada para medir microorganismos.
Microorganismo Organismo microscópico que consiste en una o varias células; también se incluyen aquí los virus, que no son celulares.
Microsensor Pequeño sensor o electrodo de cristal para medir el pH o componentes específicos tales como O_2, H_2S o NO_3^- que pueden estar incluidos en un hábitat microbiano a intervalos de microescala.
Microtúbulo Polímero filamentoso de las proteínas α-tubulina y *β*-tubulina que tiene un papel en la forma y motilidad de la célula eucariota.
Mieloma Tumor maligno de células plasmáticas (células productoras de anticuerpos).
Mitocondria Orgánulo de las células eucariotas, responsable del proceso de respiración y la fosforilación del transporte electrónico.

Mitosis Forma normal de la división nuclear de las células eucariotas, en la que los cromosomas son replicados y repartidos entre dos núcleos hijos.
Mixótrofo Organismo que utiliza compuestos orgánicos como fuente de carbono, pero usa compuestos inorgánicos como donantes de electrones para el metabolismo energético.
Mohos Hongos filamentosos.
Mohos mucilaginosos Microorganismos eucariotas no fotótrofos que carecen de paredes celulares, que se agregan para formar estructuras fructificantes (mohos mucilaginosos celulares) o simplemente masas de protoplasma (mohos mucilaginosos acelulares).
Molécula Dos o más átomos que están unidos químicamente uno a otro.
Monocitos Glóbulos blancos circulantes que contienen muchos lisosomas y pueden diferenciarse formando macrófagos.
Monofilético En filogenia, un grupo que desciende del mismo ancestro.
Monómero Bloque estructural de un polímero.
Monotrico Que posee un solo flagelo polar.
Morbilidad La incidencia de una enfermedad en una población.
Morfología La forma de un organismo.
Mortalidad Incidencia de muertes en una población.
Motilidad Propiedad de una célula de moverse por sus propios medios.
Motivo Presentación de antígeno, secuencia de aminoácidos conservada que se encuentra en todos los péptidos antigénicos, que se unen a una proteína MHC dada.
Movimiento ameboide Un tipo de motilidad en la que la corriente citoplasmática impulsa al organismo hacia adelante.
Mucus Glicoproteína soluble segregada por las células epiteliales que reviste la membrana mucosa.
Mutación Cambio hereditario en la secuencia de bases del genoma de un organismo.
Mutación de falso sentido Mutación en la que está alterado un solo codón, de forma que el aminoácido de la proteína es reemplazado por otro distinto.
Mutación espontánea Mutación que ocurre «de forma natural», sin la intervención de agentes mutágenos o radiación.
Mutación inducida Mutación causada por agentes externos tales como los productos químicos mutágenos y la radiación.
Mutación por cambios del marco de lectura («*frameshift*») Inserción o eliminacion de una o pocas bases, de manera que todo el sistema de lectura por tripletes queda alterado.
Mutación por cambios en el marco de lectura Mutación en la que la inserción o deleción de los nucleótidos cambia los grupos de las tres bases con las que se lee el código genético en el mRNA; generalmente tiene como resultado un producto defectuoso.
Mutación puntual Mutación que afecta un solo par de bases.
Mutación silenciosa Cambio en la secuencia de DNA que no tiene efecto sobre el fenotipo.
Mutación sin sentido Mutación en la que el codón de un aminoácido determinado es cambiado por un codón de parada.
Mutagénesis de transposón Inserción de un transposón en un gen; éste inactiva al gen del hospedador, dando lugar a un fenotipo mutante, y también confiere el fenotipo asociado con el gen del transposón.
Mutagénesis específica dirigida Construcción in vitro de un gen con una mutación específica.
Mutagénesis por cassette Creación de mutaciones mediante la inserción del DNA de una cassette.
Mutágeno Agente que induce a la mutación, tal como la radiación o ciertas sustancias químicas.
Mutante Organismo cuyo genoma es portador de una mutación.
Mutualismo Tipo de simbiosis en la que ambos organismos de la relación salen beneficiados.

Nanoarchaeota Filo de *Archaea* que contiene al parásito hipertermófilo *Nanoarchaeum equitans*.
Naranja de acridina Colorante fluorescente inespecífico utilizado para la tinción de células microbianas de muestras naturales.
Neutralización Interacción de un anticuerpo con un antígeno, que reduce o bloquea la actividad biológica de dicho antígeno.
Neutrófilo Organismo que crece mejor a un pH de alrededor de 7.
Neutrófilo Tipo de leucocito con propiedades fagocitarias, un citoplasma granular (granulocito) y un núcleo multilobulado. También se denomina *leucocito polimorfonuclear (PMN).*
Nicho En teoría ecológica, residencia de un organismo en una comunidad, incluyendo tanto factores bióticos como abióticos.
Nicho fundamental Serie de ambientes en los que una especie puede mantenerse si los recursos no están limitados, tal como la que puede resultar de la competición con otras especies.
Nicho real Conjunto de los ambientes naturales los que puede mantenerse una especie cuando aparecen factores tales como la limitación de recursos, la predación o la competición de otras especies.
Nitrificación Oxidación microbiana del amoniaco a Nitrato (NH_3 a NO_3^-).
Nitrificantes Bacterias y arqueas quimiolitótrofas, que catalizan la nitrificación.
Nitrogenasa Complejo enzimático requerido para reducir N_2 a NH_3 en la fijación biológica de nitrógeno.
Nódulo de la raíz Crecimiento en forma de tumor de las raíces de ciertas plantas que contiene bacterias simbióticas fijadoras del nitrógeno.
Nódulos linfáticos Órganos que contienen linfocitos y fagocitos dispuestos para salir al encuentro de microorganismos y antígenos cuando éstos viajan por el torrente linfático.
Northern blot Procedimiento de hibridación en el que el RNA es el blanco en el gel, y el DNA y el RNA son las sondas. Compárese con *Southern blot* y con *inmunoblot*.
Núcleo Estructura de los eucariotas encerrada en una membrana, que contiene el material genético (DNA) organizado en cromosomas.
Nucleocápsida Conjunto completo de ácido nucleico y proteína empaquetados en una partícula vírica.
Nucleoide Masa agregada de DNA que conforma el cromosoma de las células procariotas.
Nucleósido Un nucleótido menos fosfato.
Nucleosoma Complejo esférico de DNA eucariota más histonas.
Nucleótido regulador Nucleótido que funciona más bien como una señal, en vez de ser incorporado a un RNA o DNA.
Nucleótido Unidad monomérica de ácido nucleico, que consiste en un azúcar, un fosfato y una base nitrogenada.
Número de reproducción básico (R_0) El número de transmisiones secundarias esperado a partir de un solo caso de enfermedad, en una población susceptible en su totalidad.
Nutriente Sustancia absorbida por una célula de su medio ambiente, y utilizada en reacciones catabólicas o anabólicas.

Obligado Se aplica a una condición que siempre es necesaria para el crecimiento (por ejemplo, «anaerobio obligado»).
Oligonucleótido Molécula corta de ácido nucleico, que se puede obtener de un organismo o sintetizarse químicamente.
Oligotrófico (1) Describe un hábitat en que los nutrientes están a muy bajas concentraciones. (2) Describe organismos que crecen mejor en lugares con concentraciones bajas de nutrientes.
Oligótrofo Organismo que solo crece o crece mejor a concentraciones muy bajas de nutrientes.
Oncogén Gen cuya expresión causa la formación de un tumor.

Operador Región específica del DNA en el extremo inicial de un gen, donde se une la proteína represora y bloquea la síntesis de mRNA.
Operón Uno o más genes transcritos a un solo RNA y bajo el control de un solo sitio de regulación.
Opsonización Estimulación de la fagocitosis debida a la unión de un anticuerpo o complemento a la superficie de un patógeno u otro antígeno.
Organismo genéticamente modificado (GMO) Organismo cuyo genoma ha sido alterado utilizando la ingeniería genética. El acrónimo GM también se utiliza en términos de las cosechas GM o los alimentos GM.
Organismo transgénico Planta o animal con DNA foráneo insertado en su genoma.
Órgano linfático secundario Órgano en el que los antígenos interactúan con los linfocitos y fagocitos presentadores de antígeno para generar una respuesta inmunitaria adaptativa; estos incluyen los nódulos linfáticos, el bazo y el tejido linfático asociado a la mucosa.
Órgano linfoide primario Órgano en el cual se desarrollan las células linfoideas precursoras, para formar linfocitos maduros.
Orgánulo Estructura envuelta en una doble membrana, como por ejemplo las mitocondrias de las células eucariotas.
Ortólogo Gen que se encuentra en un organismo, que es similar a un gen de otro organismo, pero que difiere de este debido a la especiación. *Véase también parálogo*.
Osmófilo Organismo que crece mejor en presencia de niveles altos de soluto, típicamente un azúcar.
Ósmosis Difusión del agua, a través de una membrana, desde una zona con una concentración de solutos baja, hacia otra de mayor concentración.
Óxico Que contiene oxígeno; aerobio. Generalmente se utiliza con referencia a un hábitat microbiano.
Oxidación Proceso mediante el cual un compuesto dona electrones (o átomos de H) y queda oxidado.
Oxidadores desasimiladores del azufre Microorganismos que obtienen energía para su crecimiento mediante la oxidación de compuestos reducidos de azufre.
Oxigenasa Enzima que cataliza la incorporación de oxígeno del O_2 a los compuestos orgánicos o inorgánicos.

Palíndromo Secuencia de nucleótidos de una molécula de DNA en la que se encuentra la misma secuencia en cada hebra, pero en sentido opuesto.
Pandemia Epidemia a nivel mundial.
Pangenoma Totalidad de genes presentes en las distintas cepas de una especie.
Papilomavirus humano (HPV) Virus que se transmite sexualmente y causa verrugas genitales, neoplasia cervical y cáncer.
Parálogo Gen de un organismo cuya similitud con uno o más genes del mismo organismo es resultado de la duplicación génica (compárese con *ortólogo*).
Parasitismo Relación simbiótica entre dos organismos, en la cual el hospedador sufre perjuicios.
Parásito Organismo capaz de vivir sobre un hospedador o en su interior, causándole una enfermedad.
Pared celular Capa rígida que existe por fuera de la membrana citoplasmática, que le confiere a la célula fuerza estructural y protección frente a la lisis osmótica.
Pasteurización Uso de calor controlado para reducir la carga microbiana, incluyendo a los organismos productores de enfermedades y los microorganismos de la putrefacción, en líquidos sensibles al calor.
Patogenicidad Capacidad de un patógeno de causar una enfermedad.
Patógeno Microorganismo causante de una enfermedad.
Patógeno oportunista Organismo que causa una enfermedad en ausencia de una resistencia normal del hospedador.
Patrón molecular asociado al patógeno (PAMP) Componente de estructura repetitiva de una célula microbiana o un virus, que es reconocido por un receptor de reconocimiento de patrón.
Penicilina Clase de antibióticos que inhiben la síntesis de la pared de la célula bacteriana; se caracterizan por poseer un anillo de β-lactamo.
Penicilina natural Estructura natural de la penicilina, producida por cultivos de *Penicillium* sin adición de precursores de cadenas laterales.
Penicilina semisintética Penicilina natural que ha sido químicamente alterada.
Peptidoglicano Capa rígida de la pared celular de *Bacteria*, una fina capa compuesta de *N*-acetilglucosamina, ácido *N*-acetilmurámico, y unos pocos aminoácidos.
Percepción de quórum Sistema regulador que monitoriza el tamaño de la población y controla la expresión génica basándose en la densidad de células.
Periplasma Zona entre la membrana citoplasmática y la membrana externa de las bacterias gramnegativas.
Peroxisoma Orgánulo que funciona para liberar la célula de sustancias tóxicas tales como los peróxidos, los alcoholes y los ácidos grasos.
Peste Enfermedad endémica de los roedores causada por *Yersinia pestis*, que ocasionalmente pasa a los humanos a través de la picada de una pulga.
pH Logaritmo negativo de la concentración de ion hidrógeno (H^+) de una solución.
Piezófilo Organismo que vive óptimamente a una presión hidrostática alta.
Piezotolerante Organismo capaz de tolerar una presión hidrostática alta, pero que crece mejor a 1 atmósfera.
Pigmentos antena Clorofilas o bacterioclorofilas que captan la luz en fotocomplejos que envían la energía al centro de reacción.
Pilus (plural, pili) Estructura filamentosa que se extiende desde la superficie de una célula y, dependiente de su tipo, facilita la fijación de la célula, el intercambio genético o la motilidad mediante contracciones.
Pinocitosis En los eucariotas, la fagocitosis de moléculas solubles.
Pinzas de láser Dispositivo utilizado para obtener cultivos puros atrapando ópticamente una sola célula mediante un haz de láser y sacándola de entre las células circundantes para ponerla en un medio de cultivo estéril.
Piogénico Formador de pus; causante de abscesos.
Pirimidina Una de las bases nitrogenadas de los ácidos nucleicos, que contiene un solo anillo; citosina, timina y uracilo.
Pirita Mena común del hierro, FeS_2.
Pirogénico Inductor de la fiebre.
Placa dental Células bacterianas encastradas en una matriz de polímeros extracelulares y productos salivares, que se sitúa sobre los dientes.
Placa Zona de lisis o inhibición del crecimiento causada por una infección vírica en una capa de células hospedadoras.
Plaqueta Estructura discoidea no celular que contiene protoplasma y se encuentra en grandes cantidades en la sangre, y funciona en el proceso de la coagulación sanguínea.
Plasma Porción líquida de la sangre que contiene proteínas y otros solutos.
Plásmido Elemento genético extracromosómico que no es esencial para el crecimiento y carece de forma extracelular.
Plásmido Ti Plásmido conjugativo de la bacteria *Agrobacterium tumefaciens* que puede transferir genes a las plantas.
Plásticos microbianos Polímeros que consisten en sustancias producidos por microbios (y por tanto biodegradables), tales como los polihidroxialcanoatos.

Población Grupo de organismos de la misma especie que se encuentran en el mismo lugar al mismo tiempo.
Polar Que posee características hidrófilas y es generalmente soluble en agua.
Poligenia Existencia de múltiples copias de genes emparentados funcional, estructural, genética y evolucionariamente.
Polímero Una gran molécula formada por la polimerización de unidades monoméricas. En la purificación del agua, un producto químico en forma líquida utilizado como coagulante para producir la floculación en el proceso de clarificación.
Polimorfismo En una población, la existencia de múltiples alelos para un locus génico, a una frecuencia mayor de lo que cabría esperar por mutaciones recientes al azar.
Polinucleótido Polímero de nucleótidos ligados entre sí mediante un enlace fosfodiéster.
Polipéptido Varios aminoácidos unidos mediante enlaces peptídicos.
Poliproteína Proteína de gran tamaño expresada a partir de un solo gen y subsecuentemente partida para formar diversas proteínas individuales.
Polisacárido Larga cadena de monosacáridos (azúcares) unidos por enlaces glicosídicos.
Porcentaje de bases GC En el DNA (o RNA) de un organismo, el porcentaje de ácido nucleico total que consiste en las bases guanina más citosina (expresado en mol % GC).
Porinas Canales proteínicos de la membrana externa de las bacterias gramnegativas, a través de las cuales pueden pasar moléculas de tamaño mediano o pequeño.
Portador Individuo con una infección subclínica, que puede propagar una enfermedad.
Postulados de Koch Serie de criterios para demostrar que un microorganismo concreto causa una enfermedad dada.
Potable En la purificación del agua, bebible; apto para el consumo humano.
Potencial de reducción (E_0') Tendencia inherente, medida en voltios, del componente oxidante de un par redox, para convertirse en reducido.
Precipitación Reacción entre un anticuerpo y el antígeno soluble, que tiene como resultado complejos visibles de antígeno–anticuerpo.
Prevalencia Número total de casos de enfermedad, nuevos y preexistentes, contabilizados en una población durante un periodo de tiempo dado.
Primasa Enzima que sintetiza el cebador («primer») de RNA utilizado en la replicación del DNA.
Prión Proteína infecciosa cuya forma extracelular no contiene ácido nucleico.
Probiótico Microorganismo vivo que, cuando se administra a un hospedador, puede conferir beneficios en su salud.
Procariota Célula u organismo que carece de núcleo o de otros orgánulos encerrados en membranas, y que generalmente tiene su propio DNA en forma de molécula circular. Miembros de *Bacteria* y *Archaea*.
Procesamiento del RNA Conversión de un RNA precursor en su forma madura.
Proclorófito Protótrofo bacteriano oxigénico que contiene las clorofilas *a* y *b*, pero carece de ficobilinas.
Productor primario Organismo que sintetiza material orgánico nuevo a partir de CO_2 y obtiene energía de la luz o de la oxidación de compuestos inorgánicos. También llamado *autótrofo*.
Productos químicos comerciales Productos tales como el etanol, que tienen un escaso valor monetario y por tanto se venden principalmente a granel.
Profago Estado del genoma de un virus atemperado, cuando se está replicando en sincronía con el de su hospedador procariota, típicamente integrado en el genoma del hospedador. Probacteriófago.
Profiláctico Tratamiento, generalmente inmunitario o quimioterapéutico, diseñado para proteger a un individuo de futuros ataques por parte de un patógeno.
Profundidades marinas Aguas marinas por debajo de los 1000 m.
Promotor Lugar del DNA donde se une la RNA polimerasa y empieza la transcripción.
Prosteca Extrusión citoplasmática unida a la pared celular, tal como un tallo, una hifa o un brote.
Proteína activadora Proteína reguladora que se une a sitios específicos del DNA activando la transcripción; implicada en el control positivo.
Proteína alostérica Enzima que contiene dos sitios de combinación, un sitio activo para unirse al sustrato y un sitio alostérico para ligarse a una molécula efectora tal como el producto final de una ruta bioquímica.
Proteína de fusión Proteína que es el resultado de fundir dos proteínas distintas fusionando sus secuencias codificantes para formar un solo gen.
Proteína fluorescente Una del gran grupo de las proteínas que emiten fluorescencia de distintos colores, incluyendo la *proteína fluorescente verde (GFP)* para rastrear a los organismos modificados genéticamente y determinar las condiciones que inducen la expresión de los genes específicos.
Proteína fluorescente verde (GFP) Proteína que emite una fluorescencia verde y que se usa mucho en los análisis genéticos. *Véase también proteína fluorescente*.
Proteína intermedia Proteína con función catalítica o estructural sintetizada después de las proteínas tempranas durante una infección vírica.
Proteína MHC de clase I Molécula presentadora de antígeno que se encuentra en todas las células nucleadas de los vertebrados.
Proteína MHC de clase II Molécula presentadora de antígeno que se encuentra en los macrófagos, los linfocitos B y las células dendríticas de los vertebrados.
Proteína Polímero que consiste en uno o más polipéptidos.
Proteína reguladora de respuesta Uno de los miembros de un sistema de dos componentes; proteína reguladora que es fosforilada por una proteína sensor (*véase proteína quinasa sensor*).
Proteína represora Proteína reguladora que une lugares específicos de un DNA y bloquea la transcripción; implicada en el control negativo.
Proteína sensora de quinasa Uno de los miembros de un sistema de dos componentes; una quinasa que se encuentra en la membrana celular, que se fosforila a sí misma en respuesta a una señal externa y que luego le pasa el grupo fosforilo a una proteína reguladora de respuesta (*véase proteína reguladora de respuesta*
Proteína tardía Proteína sintetizada después de una infección vírica, tras la replicación de genoma del virus.
Proteína temprana Proteína sintetizada muy pronto tras una infección vírica y antes de la replicación del genoma del virus.
Proteínas de choque térmico Proteínas inducidas por altas temperaturas (o por determinados tipos de estrés) que protegen contra las altas temperaturas, especialmente replegando las proteínas desnaturalizadas en parte o degradándolas.
Proteobacteria Gran filo de *Bacteria*, que incluye a muchas de las bacterias gramnegativas, incluyendo a *Escherichia coli*.
Proteoma Conjunto total de las proteínas codificadas por un genoma, o el complemento proteínico total de un organismo.
Proteómica Estudio a gran escala, o a escala genómica, de la estructura, función y regulación de las proteínas de un organismo.
Proteorrodopsina Proteína que contiene retinal de alta sensibilidad a la luz que se encuentra en algunas bacterias marinas y que alimenta una bomba de protones que produce ATP.

Protistas Microorganismos eucariotas unicelulares; pueden ser flagelados o no, protótrofos o no, y la mayoría carecen de paredes celulares; incluye los grupos de las algas y los protozoos.
Protoplasma El contenido celular completo, la membrana citoplasmática, el citoplasma y el núcleo/nucleoide de una célula.
Protoplasto Una célula a la que se le ha quitado la pared.
Protótrofo Progenitor del cual ha derivado un mutante auxótrofo. Compárese con *auxótrofo*.
Protozoos Microorganismos eucariotas unicelulares que carecen de paredes celulares.
Provirus Genoma de un virus animal latente o atemperado, cuando se está replicando a la vez que el cromosoma del hospedador.
Pseudomonadas Término usado para referirse a cualquier bacilo gramnegativo, aerobio y provisto de flagelo polar, capaz de utilizan fuentes diversas de carbono.
Psicrófilo Organismo capaz de crecer a bajas temperaturas, y que tiene una temperatura óptima de crecimiento <15 °C.
Psicrotolerante Capaz de crecer a bajas temperaturas, pero con una temperatura óptima de crecimiento >20 °C.
Puente de hidrógeno Enlace químico débil entre un átomo de hidrógeno y otro elemento más electronegativo, generalmente un átomo de oxígeno o nitrógeno.
Purina Una de las bases nitrogenadas de los ácidos nucleicos que contiene dos anillos fusionados; adenina y guanina.

Quimiocina Proteína soluble de pequeño tamaño, producida por diversas células, que modula las reacciones inflamatorias y la inmunidad.
Quimiolitótrofo Organismo que obtiene su energía a partir de la oxidación de compuestos inorgánicos.
Quimioorganótrofo Organismo que obtiene su energía por la oxidación de compuestos orgánicos.
Quimiósmosis Uso del gradiente iónico, especialmente de los gradientes protónicos, a través de las membranas para la producción de ATP.
Quimiostato Aparato que permite el cultivo continuo, controlado por la concentración de nutrientes limitantes y la tasa de dilución.
Quimiotaxis Movimiento de acercamiento o alejamiento a una sustancia química.
Quimioterapia Tratamiento de una enfermedad infecciosa mediante productos químicos o antibióticos.
Quinasa Enzima que añade un grupo fosforilo, generalmente procedente del ATP, a un compuesto.
Quinolonas Componentes antibacterianos sintéticos, que interactúan con la DNA girasa para evitar el superenrollamiento del DNA bacteriano.
Quiste Estado de reposo formado por algunas bacterias y protistas, en el cual toda la célula queda rodeada por una cubierta de gruesas paredes resistente química y físicamente; no es lo mismo que una espora o una endospora.
Quitina Polímero de *N*-acetilglucosamina que suele encontrarse en las paredes celulares de los hongos.

Rabia Enfermedad neurológica generalmente fatal causada por el virus de la rabia, que generalmente es transmitido por el mordisco o la saliva de un carnívoro infectado.
Radioisótopo Isótopo de un elemento que sufre una desintegración espontánea liberando partículas radiactivas.
Rasgo falciforme Rasgo genético que confiere resistencia a la malaria, pero que causa una reducción de la capacidad de transporte de oxígeno en sangre, reduciendo la expectativa de vida de los glóbulos rojos afectados.
Reacción de Stickland Fermentación de un par de aminoácidos en el que uno sirve como donante y el otro como aceptor de electrones.
Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) Amplificación artificial de una secuencia de DNA por ciclos repetidos de separación y replicación de cadena.
Reacción endergónica Reacción química que para tener lugar requiere una entrada de energía.
Reacción exergónica Reacción química que tiene lugar con liberación de energía.
Reacción oxidación–reducción (redox) Un par de reacciones en el cual un compuesto se oxida mientras otro se reduce y toma los electrones liberados en la reacción de oxidación.
Reacciones anabólicas (anabolismo) Los procesos bioquímicos implicados en la síntesis de los constituyentes celulares a partir de moléculas más simples, que generalmente requieren energía.
Reacciones catabólicas (catabolismo) Procesos bioquímicos implicados en la descomposición de componentes orgánicos o inorgánicos, que generalmente lleva a la producción de energía.
Recalcitrante Resistente al ataque microbiano.
Receptor de células B (BCR) Anticuerpo de la superficie celular que actúa como receptor antigénico en una célula B.
Receptor de las células T Proteína receptora específica de antígeno de la superficie de los linfocitos T.
Receptor de reconocimiento de patrón (PRR) Proteína de una membrana fagocitaria que reconoce al patrón molecular asociado al patógeno (PAMP), tal como un componente de la estructura superficial de la célula microbiana.
Receptor similar a Toll (TLR) Miembro de una familia de receptores de reconocimiento de patrón (PRRs) que se encuentra en los fagocitos, y que está estructural y funcionalmente emparentado con los receptores Toll de *Drosophila*, que reconocen un patrón molecular asociado a patógeno (PAMP).
Recombinación Reordenación o reorganización de los fragmentos de DNA que tiene como resultado una nueva combinación de secuencias.
Recuento de placa Método de recuento en el que el número de colonias de una placa se utiliza como medida del número de células.
Recuento viable Medida de la concentración de células vivas en una población microbiana.
Redox *Véase reacción oxidación–reducción.*
Reducción Proceso mediante el cual un componente acepta electrones para convertirse en reducido.
Reductores desasimiladores del azufre Microorganismos anaerobios que obtienen energía mediante la reducción de S^0, pero que no pueden reducir el SO_4^{2-}.
Reductores desasimiladores del sulfato Microorganismos anaerobios que obtienen energía mediante la reducción de SO_4^{2-}.
Región determinante de la complementariedad (CDR) Secuencia variable de aminoácidos de los dominios variables de las inmunoglobulinas o receptores de las células T donde tienen lugar la mayoría de los contactos moleculares con el antígeno. También se denomina región hipervariable.
Regulación Procesos que controlan las tasas de síntesis de proteínas, tales como la inducción y la represión.
Regulón Serie de operones que son controlados por la misma proteína reguladora (represora o activadora).
Reloj molecular Secuencia de DNA, tal como un gen de un RNA ribosómico, que puede utilizarse como medida comparativa temporal de la divergencia evolutiva.
Reparación SOS Sistema de reparación del DNA activado por daños al DNA.
Replicación por círculo rodante Mecanismo de replicación del DNA circular utilizado por algunos plásmidos y virus, que comienza con el corte y desenrollado de una cadena. Para

los genomas bicatenarios, la cadena desenrollada es utilizada como molde para la síntesis de DNA; para el genoma de una sola cadena, la otra cadena, aún circular, se utiliza como molde para la síntesis del DNA.

Replicación semiconservativa Síntesis de DNA que produce nuevas dobles hélices, formada, cada una de ellas por una cadena progenitora y una cadena descendiente.

Replicación Síntesis de DNA utilizando DNA como molde.

Represión Impedimento de la síntesis de una enzima en respuesta a una señal.

Represión por catabolito Supresión de rutas catabólicas alternativas mediante una fuente preferida de carbono y energía.

Reservorio Fuente de agentes infecciosos viables a partir de la cual pueden infectarse los individuos.

Resistencia a los fármacos antimicrobianos Capacidad adquirida de un microorganismo que le permite resistir los efectos de los fármacos antimicrobianos, a los cuales normalmente es susceptible.

Resistencia al ácido Propiedad de las especies de *Mycobacterium*; las células teñidas con fucsina básica resisten a la decoloración con alcohol-ácido.

Resolución En microbiología, la capacidad de distinguir dos objetos como distintos y separados bajo el microscopio.

Respiración anaeróbica Uso de un aceptor de electrones distinto del O_2 en una oxidación basada en el transporte de electrones, que produce una fuerza protonmotriz.

Respiración Reacciones catabólicas productoras de ATP en las que los componentes orgánicos o inorgánicos son donantes de electrones y los componentes orgánicos o inorgánicos son los últimos aceptores de electrones.

Respuesta al choque térmico Respuesta a temperaturas altas, que incluye la síntesis de proteínas de choque térmico, junto con otros cambios de la expresión génica.

Respuesta inmunitaria adaptativa primaria Producción de anticuerpos o células inmunitarias T durante la primera exposición a un antígeno; la mayoría de anticuerpos son de la clase IgM.

Respuesta inmunitaria adaptativa secundaria Producción enfatizada de anticuerpos o células T inmunitarias durante la segunda y subsecuentes exposiciones a un antígeno; los anticuerpos suelen ser de la clase IgG.

Respuesta primaria de anticuerpos Anticuerpos fabricados durante la primera exposición al antígeno; principalmente de la clase IgM.

Respuesta restrictiva Control regulador global que es activado por agotamiento de aminoácidos o deficiencia energética.

Respuesta secundaria de los anticuerpos Anticuerpos fabricados en una segunda exposición (o subsecuentes) al antígeno; la mayoría son de la clase Ig.

Retículo endoplasmático Extenso conjunto de membranas internas de los eucariotas.

Retrovirus Virus cuyo genoma de RNA tiene a un DNA intermediario como parte de su ciclo de replicación.

Reversión Alteración del DNA que invierte los efectos de una mutación anterior.

Ribosoma Estructura compuesta por RNA y proteínas, sobre la que se fabrican las nuevas proteínas.

«Riboswitch» Dominio de RNA, generalmente de una molécula de mRNA, que puede unir una pequeña molécula específica y alterar así su estructura secundaria; ello a su vez controla la traducción del mRNA.

Ribotipado Forma de identificar los microorganismos a partir de un análisis de los fragmentos de DNA generados a partir de la digestión mediante una enzima de restricción de los genes que codifican su RNA ribosómico.

Ribozima Molécula de RNA que puede catalizar una reacción química.

Riquetsias Bacterias intracelulares obligadas que causan enfermedades, incluyendo el tifus, la fiebre de las Montañas Rocosas y la ehrliquiosis.

Riquetsiosis Enfermedad transmitida por garrapatas, causada por *Rickettsia rickettsii*, caracterizada por fiebre, cefalea, urticaria y síntomas gastrointestinales; anteriormente llamada fiebre maculosa de las Montañas Rocosas.

Riqueza específica Número total de especies distintas presentes en una comunidad.

Rizosfera Región inmediatamente adyacente a las raíces de una planta.

RNA Ácido ribonucleico; funciona en la síntesis de proteínas como RNA mensajero, RNA de transferencia y RNA ribosómico.

RNA corto de interferencia (siRNA) Molécula corta de RNA de doble cadena que desencadena la interferencia del RNA.

RNA de la subunidad pequeña (SSU RNA) RNA ribosómico de la subunidad ribosómica 30S de *Bacteria* y *Archaea* o la subunidad ribosómica 40S de los eucariotas; es decir, el RNA 16S o 18S ribosómico, respectivamente.

RNA de transferencia (tRNA) Pequeña molécula de RNA utilizada en la traslación que posee un anticodón en un extremo y el aminoácido correspondiente ligado a su otro extremo.

RNA mensajero (mRNA) Molécula de RNA que contiene la información genética para codificar uno o más polipéptidos.

RNA no codificante (ncRNA) Molécula de RNA que no es traducida a una proteína.

RNA polimerasa Enzima que sintetiza el RNA en el sentido $5' \rightarrow 3'$ utilizando la cadena de DNA antiparalela $3' \rightarrow 5'$ como molde.

RNA replicasa Enzima que puede producir RNA a partir de un molde de RNA.

RNA ribosómico (rRNA) Los tipos de RNA que se encuentran en un ribosoma; algunos rRNA participan activamente en el proceso de la síntesis de proteínas.

rRNA 16S Polinucleótido de gran tamaño (aproximadamente 1500 bases) que funciona como parte de la subunidad pequeña del ribosoma de *Bacteria* y *Archaea*, y de cuya secuencia pueden obtenerse las relaciones evolutivas; es el homólogo procariótico del rRNA de 18S.

RubisCO Acrónimo de la ribulosa bifosfato carboxilasa–oxigenasa, enzima clave del ciclo de Calvin.

Rumen Primer compartimiento del estómago de los animales rumiantes, en el cual tiene lugar la digestión de la celulosa.

Ruta del acetil-CoA Ruta de fijación autotrófica del CO_2 y oxidación de acetato muy extendida entre anaerobios obligados, tales como los metanógenos, acetógenos, varios clostridios y bacterias reductoras del sulfato.

Salmonelosis Enterocolitis u otra enfermedad gastrointestinal causada por una de las diversas especies de la bacteria *Salmonella*.

Salto antigénico Grandes cambios en las proteínas víricas (antígenos) del virus de la gripe, debidos a reclasificación de genes.

Salud pública Salud de la población como un todo.

Secuencia consenso Secuencia de ácido nucleico en la que una base situada en una posición dada es la base que se encuentra más comúnmente cuando se comparan muchas secuencias determinadas de forma experimental.

Secuencia de inserción (IS) El tipo más simple de elemento transponible, que solo lleva genes implicados en la transposición.

Secuencia de Shine-Dalgarno Corta secuencia de nucleótidos de una molécula de mRNA procariota, en sentido ascendente a partir del lugar de inicio de la traducción, que se une al RNA ribosómico y, por tanto, lleva el ribosoma al codón de

iniciación del mRNA. También denominada sitio de unión ribosómico.

Secuencia mutadora Secuencia mutante en la que la tasa de mutación está aumentada.

Secuencia señal Secuencia *N*-terminal especial de aproximadamente 20 aminoácidos que señala que una proteína debería ser exportada a través de la membrana citoplasmática.

Secuenciación aleatoria Secuenciación al azar del DNA de pequeños fragmentos previamente clonados de un genoma, seguida por métodos computacionales de reconstrucción de la secuencia genómica completa.

Secuenciación Con referencia a los ácidos nucleicos, deducción del orden de los nucleótidos en una molécula de DNA o RNA.

Sedimento (1) En la potabilización del agua, la tierra, arena, minerales u otras partículas de gran tamaño que se encuentran en el agua sin tratar. (2) En grandes bolsas de agua (lagos, océanos), los materiales (barro, rocas y similares) que forman la superficie del fondo.

Selección clonal Teoría según la cual, cada linfocito B o T, cuando es estimulado por un antígeno, se divide para formar un clon de sí mismo.

Selección Colocación de organismos bajo unas condiciones que favorecen o inhiben el crecimiento de aquellos con un fenotipo o genotipo en particular.

Selección negativa En la selección de células T, la deleción de aquellas que interactúan con los propios antígenos en el timo. *Véase deleción clonal*.

Selección positiva En la selección de células T, la estimulación del crecimiento y el crecimiento de células T que interactúan con el péptido auto-MHC en el timo.

Sensibilidad La menor cantidad de antígeno que puede detectarse mediante un test diagnóstico.

Sentido hacia abajo Se refiere a las secuencias de ácido nucleico situadas en el lado 3' de un sitio dado en la molécula de DNA o RNA. Compárese con *sentido hacia arriba*.

Sentido hacia arriba Se refiere a las secuencias de ácido nucleico situadas en la parte 5' de un determinado lugar en una molécula de DNA o RNA. Compárese con *sentido hacia abajo*.

Septicemia (sepsis) Infección sistémica transportada por la sangre.

Serología Estudio in vitro de las reacciones antígeno-anticuerpo.

Sesgo de enriquecimiento Un problema de los cultivos enriquecidos, en los cuales tienden a dominar las especies «maleza» en el lugar del enriquecimiento, a menudo a costa de la exclusión de organismos más abundantes o ecológicamente significativos del inóculo.

Seta Cuerpo fructífero que sobresale del suelo, o basidiocarpo, de un hongo basidiomicete.

Sideróforo Agente quelante de hierro que puede enlazar el hierro presente en muy bajas concentraciones.

Sífilis congénita Sífilis contraída por un bebé, contagiada de su madre durante el embarazo.

Simbiosis Relación íntima entre dos organismos, que a menudo se desarrolla por una prolongada asociación y coevolución.

Síndrome del choque térmico (TSS) Choque sistémico agudo que es el resultado de la respuesta del hospedador a una exotoxina producida por *Staphylococcus aureus*.

Síndrome pulmonar por hantavirus (HPS) Enfermedad vírica aguda emergente, caracterizada por neumonía, causada por el hantavirus de los roedores.

Sintrofia Cooperación de dos o más organismos para degradar anaeróbicamente una sustancia que ninguno de ellos puede degradar por sí solo.

Sistema binomial Sistema diseñado por Linneo para nombrar los organismos, otorgándoles un nombre de género y un epíteto de especie.

Sistema de distribución Cañerías de agua, recipientes de almacenamiento, tanques y otros medios utilizados para la distribución de agua potable a los consumidores, o para almacenarla antes de distribuirla.

Sistema de transporte simple Transportador que consiste en solo una proteína de membrana y que generalmente es impulsado por la energía de la fuerza protonmotriz.

Sistema regulador de dos componentes Sistema regulador consistente en una proteína sensor y una proteína reguladora de respuesta (*véase proteína sensor de quinasa* y *proteína reguladora de respuesta*).

Sistemática Estudio de la diversidad de organismos y sus relaciones; incluye la taxonomía y la filogenia.

Sistémico Una infección ampliamente diseminada por todo el cuerpo, no en un lugar determinado.

Sitio activo La parte de una enzima que está directamente implicada en la unión con el sustrato.

Sólido en suspensión Pequeña partícula de sólido contaminante que resiste la separación por los medios físicos ordinarios.

Solutos compatibles Compuestos orgánicos (o iones potasio) que sirven como solutos citoplasmáticos para equilibrar las relaciones hídricas de las células que crecen en medios con gran cantidad de sal o azúcares.

Sonda de isótopo estable (SIP) Método para caracterizar a un organismo que incorpora un sustrato particular, cuando se administra dicho sustrato con ^{13}C o ^{15}N; luego se aísla el DNA enriquecido con isótopos pesados y se analizan los genes.

Sonda *Véase sonda nucleica*.

Southern blot Procedimiento de hibridación en el que el DNA es la diana en el gel y el RNA o el DNA es la sonda. Compárese con *Northern blot* e *inmunoblot*.

-stático Sufijo que indica la inhibición del crecimiento. Por ejemplo, un agente bacteriostático inhibe el crecimiento bacteriano. Compárese con *-cida*.

Suero Parte líquida de la sangre, tras extraerle las células sanguíneas y los materiales responsables de la coagulación.

Sulfatara Entorno caliente, rico en azufre y generalmente ácido, comúnmente habitado por las arqueas hipertermófilas.

Superantígeno Un producto patógeno capaz de desencadenar una fuerte respuesta inmunitaria inapropiada, estimulando un número de células T mayor que el normal.

Superenrollamiento Forma muy enrollada del DNA circular.

Superfamilia génica de inmunoglobulinas Familia de genes que están emparentados evolutiva, estructural y funcionalmente con las inmunoglobulinas.

Supresora Mutación que restaura un fenotipo de tipo silvestre sin alterar la mutación original, generalmente por mutación en otro gen.

Sustrato La molécula que tiene una reacción específica con una enzima.

Talasemia Rasgo genético que confiere resistencia a la malaria pero que causa una reducción en la eficacia de los glóbulos rojos, alterando una enzima de los eritrocitos.

Tallo Estructura alargada, ya sea celular o excretada, que ancla una célula a una superficie.

Tapete microbiano Comunidad diversa, gruesa estratificada alimentada por la luz en un medio ambiente hipersalino o un ambiente acuático extremadamente caliente, y en el cual son esenciales las cianobacterias. O bien quimiolitótrofos que crecen en la superficie de los sedimentos marinos ricos en azufre.

Tasa de crecimiento La tasa a la cual tiene lugar el crecimiento, generalmente expresada como tiempo de generación.

Taxia Movimiento de acercamiento hacia, o alejamiento de, un estímulo.

Taxonomía Ciencia de la identificación, clasificación y nomenclatura de los seres vivos.

T-DNA Segmento del plásmido Ti de *Agrobacterium* que es transferido a las células vegetales.
Técnica aséptica Manipulación de los instrumentos o los medios de cultivo estériles de forma que mantengan su esterilidad.
Técnica de cultivo enriquecido Uso de medios de cultivo y condiciones de incubación selectivos para aislar microorganismos específicos de las muestras naturales.
Técnica del número más probable (MPN) Dilución seriada de una muestra natural, a fin de determinar la mayor dilución que produce crecimiento.
Tejido linfoide asociado a mucosas (MALT) Parte del sistema linfático que interactúa con los antígenos y microorganismos que entran en el cuerpo a través de las membranas mucosas, incluyendo los tejidos intestinales, los del tracto genitourinario y los bronquiales.
Telomerasa Complejo enzimático que replica el DNA en el extremo de los cromosomas eucariotas.
Temperaturas cardinales Las temperaturas mínima, máxima y óptima de crecimiento de un organismo dado.
Terapia génica Tratamiento de una enfermedad causada por una disfunción génica, mediante la introducción de una copia del gen, que funciona normalmente.
Terminación Parada de la elongación de una molécula de RNA en un lugar específico.
Termoclina Zona de agua de un lago estratificado en la que la temperatura y la concentración de oxígeno caen bruscamente con la profundidad.
Termófilo Organismo con un óptimo de temperatura de crecimiento de entre 45 y 80 °C.
Termosoma Complejo proteínico de choque de calor (chaperonina) de los hipertermófilos, que funciona replegando las proteínas parcialmente desnaturalizadas por el calor.
Test de la tuberculina Test cutáneo para saber si ha existido una infección previa con *Mycobacterium tuberculosis*.
Tétanos Enfermedad que implica una parálisis rígida de los músculos voluntarios, causada por una exotoxina producida por *Clostridium tetani*.
Tetraciclina Miembro de una clase de antibióticos caracterizada por un anillo de naftaleno de cuatro miembros.
Th1, Th2, Th17 *Véase Células T colaboradoras (Th).*
Thaumarchaeota Filo de *Archaea* que contiene especies muy diseminadas, capaces de la oxidación aerobia del amoniaco.
Tiempo de generación Tiempo requerido para que una población celular se duplique. También llamado tiempo de duplicación.
Tifus Enfermedad transmitida por las pulgas, causada por *Rickettsia prowazekii*, que causa fiebre, cefalea, debilidad, erupción cutánea y daños en el sistema nervioso central y los órganos internos.
Tilacoide Capa de una membrana que contiene los pigmentos fotosintéticos de los cloroplastos de las cianobacterias.
Timo Órgano linfático primario, responsable del desarrollo de las células T.
Tinción de Gram Técnica de tinción diferencial mediante la cual las células se tiñen de rosa (las gramnegativas) o de violeta (las grampositivas), dependiendo de su conformación estructural.
Tipado de secuencia multilocus (MLST) Herramienta taxonómica para la clasificación de organismos en base a variaciones de la secuencia génica en varios genes constitutivos o de mantenimiento.
Tipo silvestre Cepa de microorganismos aislada de la naturaleza, o no usada como progenitora en la investigación genética. La forma usual o nativa de un gen u organismo.
Título (1) En inmunología, la cantidad de anticuerpo presente en una solución. (2) En virología, el número de viriones infecciosos en una suspensión vírica.
Tolerancia Incapacidad adquirida de producir una respuesta inmunitaria a un antígeno específico.
Tos ferina (tos espasmódica) Enfermedad causada por una infección del tracto respiratorio superior por *Bordetella pertussis*, que se caracteriza por una tos profunda y persistente.
Toxicidad Capacidad de un organismo de causar una enfermedad produciendo una toxina que inhibe la función de la célula hospedadora o la mata.
Toxicidad selectiva Capacidad de un componente de inhibir o matar a los microorganismos patógenos sin consecuencias adversas para el hospedador.
Toxigenicidad Grado hasta el cual un organismo es capaz de provocar síntomas de toxicidad.
Toxina Sustancia microbiana capaz de infligir daños a la célula hospedadora.
Toxoide Toxina modificada de tal manera que ya no es tóxica pero aún es capaz de inducir la formación de anticuerpos.
Tracto respiratorio inferior La tráquea, los bronquios y los pulmones.
Tracto respiratorio superior La nasofaringe, la cavidad oral y la garganta.
Transcripción inversa Proceso de copia de información del RNA al DNA.
Transcripción Síntesis de una molécula de RNA complementaria a una de las dos cadenas de la molécula de DNA bicatenaria.
Transcriptasa inversa Enzima retrovírica que realiza una copia de DNA utilizando RNA como molde.
Transcriptoma Conjunto de todos los RNA producidos en un organismo bajo una serie de condiciones específicas.
Transcrito primario Molécula de RNA no procesada que es el producto directo de la transcripción.
Transducción de señal Transmisión indirecta de una señal externa a una diana de la célula (*véase sistema regulador de dos componentes*).
Transducción Transferencia de los genes del hospedador de una célula a otra mediante un virus.
Transfección Transformación de una célula procariota por el DNA o RNA de un virus. Se utiliza también para describir el proceso de transformación genética en las células eucariotas.
Transferencia génica horizontal Transferencia unidireccional de información genética entre organismos no emparentados, en oposición a la herencia vertical a partir de un organismo u organismos parentales. También denominada *transferencia génica lateral*.
Transferencia génica lateral Transferencia de genes de una célula a otra que no es su descendiente. También denominada *transferencia génica horizontal*.
Transferencia interespecífica de hidrógeno Proceso mediante el cual la materia orgánica se degrada por la interacción de diversos grupos de microorganismos en los cuales la producción y el consumo de H_2 están íntimamente acoplados.
Transformación (1) Transferencia de información genética por vía de DNA libre. (2) Proceso, a veces iniciado por la infección por ciertos virus, mediante el cual una célula animal normal se convierte en una célula cancerosa.
Transición Mutación en la cual una base pirimidina es reemplazada por otra pirimidina, o una purina es reemplazada por otra purina.
Translocación de grupo Sistema de transporte dependiente de energía, en el cual la sustancia transportada es modificada químicamente durante el proceso de ser transportada por una serie de proteínas.
Transpeptidación Formación de enlaces peptídicos entre los péptidos cortos presentes en un peptidoglicano, el polímero de la pared celular de *Bacteria*.
Transportador ABC (cassette de unión de ATP) Sistema transportador de membrana que comprende tres proteínas, una que hidroliza ATP, una que se une al sustrato y otra que actúa como canal de transporte a través de la membrana.

Transportadores Proteínas de membrana que funcionan transportando sustancias hacia dentro y hacia fuera de la célula.
Transporte activo Proceso, que necessita aporte de energía, mediante el que se transportan sustancias hacia el interior de la célula o viceversa, sin que las sustancias transportadas cambien químicamente.
Transporte electrónico inverso Movimiento de electrones contra el gradiente termodinámico, dependiente de energía, para formar un donante de electrones fuerte a partir de un donante de electrones débil.
Transposasa Enzima que cataliza la inserción de segmentos de DNA a otras moléculas de DNA.
Transposón Tipo de elemento transponible que transporta a otros genes además de los que están implicados en la transposición; a menudo, dichos genes confieren fenotipos seleccionables tales como la resistencia a los antibióticos.
Transversión Mutación en la cual una base pirimidínica es reemplazada por una purínica o viceversa.
Traslación Síntesis de una proteína utilizando la información genética del RNA mensajero como molde.
Tratamiento primario de aguas residuales Separación física de los contaminantes del agua residual, generalmente por separación y decantado.
Tratamiento secundario aerobio de aguas residuales Reacciones metabólicas llevadas a cabo por microorganismo en condiciones aerobias, para tratar aguas residuales que contienen niveles bajos de materia orgánica.
Tratamiento secundario aerobio de aguas residuales Reacciones oxidativas llevadas a cabo por microorganismos, en condiciones aerobias, para el tratamiento de aguas residuales que contienen bajos niveles de materiales orgánicos.
Tratamiento secundario anaerobio de aguas residuales Reacciones metabólicas, digestivas y fermentativas, llevadas a cabo por los microorganismos en condiciones anóxicas, para el tratamiento de las aguas residuales que contienen altos niveles de compuestos orgánicos insolubles.
Tratamiento secundario anóxico de aguas residuales Reacciones de degradación y fermentación llevadas a cabo por microorganismos en condiciones anóxicas para tratar las aguas residuales que contienen niveles altos de materia orgánica insoluble.
Tratamiento terciario de aguas residuales Procesado fisicoquímico o biológico de las aguas residuales para reducir los niveles de nutrientes inorgánicos.
Treg *Véase células T colaboradoras (Th).*
Turbidez Medida de los sólidos suspendidos en el agua.

Vacuna de DNA Vacuna que utiliza el DNA de un patógeno para producir una respuesta inmunitaria.
Vacuna Patógeno atenuado o inactivado, o un producto inocuo de un patógeno, usado para inducir la actividad inmunitaria artificial.
Vacuna polivalente Vacuna que inmuniza contra más de una enfermedad.
Vacuna vector Vacuna fabricada insertando genes de un virus patogénico en otro virus transportador relativamente inocuo.
Vacunación (inmunización) Inoculación de un hospedador con patógenos inactivos o debilitados, o productos del patógeno, que estimulan la inmunidad activa protectora.
Vacuola Pequeño espacio en el interior de una célula, que contiene fluido y está rodeada por una membrana. En contraste con una vesícula, la vacuola no es rígida.
Vector (1) Molécula de DNA autorreplicante que transporta segmentos de DNA entre los organismos y puede usarse como vector de clonación para llevar los genes clonados u otros segmentos de DNA en la ingeniería genética. (2) Agente vivo, generalmente un insecto u otro animal, capaz de transportar patógenos de un hospedador a otro.
Vector de ácido nucleico Hebra de ácido nucleico que puede ser etiquetada y usada para hibridar una molécula complementaria de una mezcla de otros ácidos nucleicos. En microbiología clínica o ecología microbiana, oligonucleótido corto de secuencia única usado como vector de hibridación para la identificación de genes específicos.
Vector de expresión Vector de clonación que contiene las secuencias reguladoras necesarias que permiten la transcripción y traducción de un gen o genes clonados.
Vector de integración Vector de clonación que puede insertarse en el cromosoma de un hospedador.
Vector de reemplazo Vector de clonación, tal como un bacteriófago, en que parte del DNA del vector puede ser reemplazado por DNA foráneo.
Vector filogenético En una secuencia, oligonucleótido, a veces convertido en fluorescente ligándolo a un tinte, complementario a alguna secuencia señal del RNA ribosómico.
Vector lanzadera Vector de clonación que puede replicarse en dos o más organismos distintos; usado para trasladar DNA entre organismos no emparentados.
Vectores de clonación Elementos genéticos en los que los genes pueden ser recombinados y replicados.
Vehículo Fuente no viviente de patógenos que transmite dichos patógenos a una gran cantidad de individuos; vehículos comunes son los alimentos y el agua.
Vesícula de gas Estructura formada por proteínas y llena de gas; confiere flotabilidad a una célula cuando se halla presente en su citoplasma en grandes cantidades.
Vía de la ribulosa monofosfato Serie de reacciones de ciertos metilótrofos, en la cual el formaldehido es asimilado como material celular utilizando ribulosa monofosfato como molécula aceptora C_1.
Vía de la serina Serie de reacciones de ciertos metilótrofos, en la que se asimila formaldehido en el material celular mediante el aminoácido serina.
Vía de las pentosas fosfato Vía metabólica principal para la producción y catabolismo de las pentosas (azúcares C_5).
Vía del hidroxipropionato Ruta autotrófica que tiene lugar en *Chloroflexus* y unas pocas arqueas.
Vía lisogénica Tras una infección vírica, serie de pasos que llevan a un estado (lisogenia) en el cual el genoma vírico es replicado en forma de provirus junto con el genoma del hospedador.
Vía lítica Serie de pasos que siguen a una infección vírica, que llevan a la replicación del virus y a la destrucción (lisis) de la célula hospedadora.
Viable Vivo; capaz de reproducirse.
Vida de RNA Hipotética forma de vida antigua en la que faltaban el DNA y las proteínas y en la que el RNA tenía ambas funciones, la codificante genética y la catalítica.
Vigilancia Observación, reconocimiento y notificación de una enfermedad cuando esta se da.
Virión Partícula de un virus; ácido nucleico vírico rodeado por una cubierta de proteínas y en algunos casos de otros materiales.
Viroide RNA monocatenario, circular y de pequeño tamaño que causa ciertas enfermedades vegetales.
Virulencia Capacidad relativa de un patógeno de causar una enfermedad.
Virus atemperado Virus cuyo genoma es capaz de replicarse junto con el de su hospedador, sin causar la muerte celular, en un estado denominado lisogenia.
Virus auxiliador Virus que proporciona algunos componentes necesarios a un virus defectivo.
Virus de cadena positiva Virus con un genoma monocaternario, que tiene la misma complementariedad que el mRNA vírico.

Virus de hebra negativa Virus de genoma de una sola cadena, que tiene el sentido opuesto al mRNA vírico (y es complementaria él).
Virus defectivo Virus que depende de otro virus, el virus auxiliador, que le proporciona algunos de sus componentes.
Virus Elemento genético que contiene RNA o DNA y que se replica únicamente en el interior de células hospedadoras; tiene una forma extracelular.
Virus latente Virus presente en una célula, que aún no causa ningún efecto detectable.
Virus virulento Virus que lisa o mata de cualquier otra forma a la célula hospedadora tras la infección; virus no atemperado.

Western blot *Véase inmunoblot.*

Xenobiótico Compuesto sintético no producido por los organismos en la naturaleza.
Xerófilo Organismo adaptado a crecer a potenciales de agua muy bajos.

Zigoto En los eucariotas, la célula diploide resultante de la unión de dos gametos haploides.
Zona de mínimo de oxígeno (OMZ) En la columna de agua marina, región en la que se ha agotado el oxígeno, a profundidad intermedia.
Zoonosis Cualquier enfermedad que se da primordialmente en los animales, que a veces se transmite los humanos.

Créditos de las fotografías

Inicio AU.1: Nancy L. Spear; AU.2: Mary Heer; FM.3: Dusan Kostic/ Fotolia.

Capítulo 1 Figura de inicio de capítulo: Alison E. Murray arriba, Peter Glenday; abajo izquierda, Emanuele Kuhn; abajo derecha, Christian H. Fritsen y Clinton Davis; 1.1: Paul V. Dunlap; 1.2a: John Bozzola y Michael T. Madigan; 1.2b: Reinhard Rachel y Karl O. Stetter, Archives of Microbiology 128:288-293 (1981). ©1981 Springer-Verlag GmbH & Co. KG; 1.2c: Samuel F. Conti y Thomas D. Brock; 1.4a: Imagen producida por M. Jentoft-Nilsen, F. Hasler, D. Chesters (NASA/Goddard) y T. Nielsen (Univ. of Hawaii)/NASA Headquarters; 1.5a: Norbert Pfennig y Michael T. Madigan; 1.5b: Norbert Pfennig, University of Konstanz, Germany; 1.5c: Thomas D. Brock; 1.7a: Douglas E. Caldwell, University of Saskatchewan; 1.7b: De R. Amann, J. Snaidr, M. Wagner, W. Ludwig, y K.-H. Schleifer, 1996. In situ visualization of high genetic diversity in a natural bacterial community. Journal of Bacteriology 178:3496-3500, Fig. 2b. © 1996 American Society for Microbiology. Foto: Jiri Snaidr; 1.7c:Steve Gschmeissner/ Photo Researchers; 1.9a: Joe Burton; 1.10.1: Scimat/Photo Researchers, Inc; 1.11.1: mylisa/Fotolia; 1.11.2: M.T. Madigan; 1.11.3: Vankad/ Shutterstock; 1.11.4: Pearson Education; 1.12a (arriba): Stephen Ausmus/USDA Agricultural Research Service; 1.12a (abajo): lola1960/Shutterstock; 1.12b: U.S. Department of Energy;1.13: Library of Congress; 1.14a: Thomas D. Brock; 1.14b: Library of Congress; 1.14c: Brian J. Ford; 1.15: Dibujo de Ferdinand Cohn, publicado originalmente en Hedwigia 5:161-166 (1866); 1.16a: CDC/ PHIL; 1.18a: Pearson Education; 1.18b: M.T. Madigan; 1.19: Imagenes de la Historia de la Medicina, The National Library of Medicine; 1.21:Walter Hesse, 1884. "Uber quantitative Bestimmung der in der luft enthaltenen Mikroorganismen," in H. Struck (ed.), Mittheilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte. Verlag August Hirschwald; 1.22: Robert Koch, 1884. "Die Aetiologie der Tuberkulose." Mittheilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte 2:1-88; 1.23a: Fotografía de Lesley A. Robertson for the Kluyver Laboratory Museum, Delft University of Technology, Delft, The Netherlands; 1.23b: Dibujos de Henriette Wilhelmina Beijerinck, fotografiados por Lesley A. Robertson para el Kluyver Laboratory Museum, Delft University of Technology, Delft, The Netherlands; 1.24a: De Sergei Winogradsky, Microbiologie du Sol, parte de la Lámina IV. Paris, France: Masson et Cie Editeurs, 1949. Reproducida con permiso de Dunod Editeur, Paris, France; 1.24b: Sergei Winogradsky, Microbiologie du Sol. Paris, France: Masson, 1949; 1.EMW.1: CDC; 1.EMW.2: CDC/ William Archibald.

Capítulo 2 Figura de inicio de capítulo: Laboratorio de microscopía electrónica, Berkeley; 2.1a (arriba): Marie Asao y M.T. Madigan; 2.1a (abajo): LEO Microscopía electrónica; 2.2a: Thomas D. Brock; 2.2b: Norbert Pfennig, University of Konstanz, Germany; 2.3.1: LEO Microscopía electrónica; 2.3.2: Marie Asao y M.T. Madigan; 2.4b: Leon J. Le Beau, University of Illinois at Chicago; 2.4c: Sondas Moleculares; 2.5: M.T. Madigan; 2.6a, b: Richard W. Castenholz, University of Oregon; 2.6c: Nancy J. Trun, National Cancer Institute; 2.7: Linda Barnett y James Barnett, University of East Anglia, U.K; 2.8a: Subramanian Karthikeyan, University of Saskatchewan; 2.8b: Gernot Arp, University of Gottingen, Gottingen, Germany, y Christian Boker, Carl Zeiss Jena, Germany; 2.9: ZELMI, TU-Berlin, Germany; 2.10a: Stanley C. Holt, University of Texas Health Science Center; 2.10b: Robin Harris; 2.10c: F. Rudolf Turner, Indiana University; 2.11.1-2.11.3: Norbert Pfennig, University of Konstanz, Germany; 2.11.4: Ercole Canale-Parola, University of Massachusetts; 2.11.5: Norbert Pfennig, University of Konstanz, Germany; 2.11.6: Thomas D. Brock; 2.12a: Esther R. Angert, Cornell University; 2.12b: Heide Schulz-Vogt/University of CA Davis; 2.14c: Gerhard Wanner, University of Munich, Germany; 2.24b: Leon J. Le Beau, University of Illinois at Chicago; 2.24c: J.L. Pate; 2.24d: Thomas D. Brock y Samuel F. Conti; 2.24e, f: Akiko Umeda y K. Amako; 2.26a: Leon J. Le Beau, University of Illinois at Chicago; 2.29b: Terry J. Beveridge, University of Guelph, Guelph, Ontario; 2.29c: Georg E. Schulz; 2.31: Susan F. Koval, University of Western Ontario; 2.32a: Elliot Juni, University of Michigan; 2.32b: M.T. Madigan; 2.32c: Frank B. Dazzo y Richard Heinzen; 2.33: J.P. Duguid y J.F. Wilkinson; 2.34: Charles C. Brinton, Jr., University of Pittsburgh; 2.35b1: Michael T. Madigan; 2.35b2: Mercedes Berlanga e International Microbiology; 2.36a: M.T. Madigan; 2.36b: Norbert Pfennig, University of Konstanz, Germany; 2.37: CNRS, Karim Benzerara & Stephan Borensztajn; 2.38a: Stefan Spring, Technical University of Munich, Germany; 2.38b: Richard Blakemore y W. O'Brien; 2.38c: Dennis A. Bazylinski, Iowa State University; 2.39: Thomas D. Brock; 2.40a: A.E. Walsby, University of Bristol, Bristol, England; 2.40b: S. Pellegrini y Maria Grilli Caiola; 2.41a: Reproducido de A.E. Konopka et al., Isolation and characterization of gas vesicles from *Microcyclus aquaticus*. Archives of Microbiology 112: 133-140 (March 1, 1977). © 1977 Springer-Verlag GmbH & Co. KG; 2.42: Hans Hippe, Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig, Germany 2.43: Hans Hippe, Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig, Germany; 2.44: Judith F.M. Hoeniger y C.L. Headley; 2.45a: H.S. Pankratz, T.C. Beaman, y Philipp Gerhardt; 2.45b: Kirsten Price, Harvard University; 2.48: Elnar Leifson; 2.49: Carl E. Bauer, Indiana University; 2.50a: R. Jarosch; 2.50b: Norbert Pfennig, University of Konstanz, Germany; 2.51a: David De Rosier; 2.52: Ken F. Jarrell; 2.55a, b: Richard W. Castenholz, University of Oregon; 2.55c, d: Mark J. McBride, University of Wisconsin, Milwaukee; 2.58: Nicholas Blackburn, Marine Biological Laboratory, University of Copenhagen, Denmark; 2.59a: Norbert Pfennig, University of Konstanz, Germany; 2.59b: Carl E. Bauer, Indiana University; 2.61: E. Guth, T. Hashimoto, y S.F. Conti; 2.62: Elisabeth Pierson, FNWI-Radboud University Nijmegen, Pearson Education; 2.63: Don W. Fawcett, M.D., Harvard Medical School; 2.64: Helen Shio y Miklos Muller, The Rockefeller University; 2.65a: Thomas D. Brock; 2.65b: A. Wellma/NaturimBild/Blickwinkel/ age footstock; 2.65c: T. Slankis y S. Gibbs, McGill University; 2.66: SPL/Photo Researchers; 2.67a: Rupal Thazhath y Jacek Gaertig, University of Georgia; 2.67b: Michael W. Davidson/The Florida State University Research Foundation; 2.67c: Ohad Medalia & Wolfgang Baumeister; 2.68: Melvin S. Fuller.

Capítulo 3 Figura de inicio de capítulo: Daniel H. Buckley; 3.2, 3.4: James A. Shapiro, University of Chicago; 3.7: Richard J. Feldmann, National Institutes of Health; 3.15: Pearson Education; 3.17b: Richard J. Feldmann, National Institutes of Health; 3.21b: Siegfried Engelbrecht-Vandre; 3.32a, b: Wael Sabra, German Research Centre for Biotechnology, Braunschweig, Germany; 3.32c: Alicia M. Muro-Pastor; 3.T02: Cheryl L. Broadie y John Vercillo, Southern Illinois University at Carbondale.

Capítulo 4 Figura de inicio de capítulo: Somenath Bakshi y James Weisshaar; 4.5: Stephen P. Edmondson y Elizabeth Parker; 4.6e: S. B. Zimmerman, J. Struct. Biol. 156:255 (2006); 4.9: Huntington Potter y David Dressler; 4.20: Sarah French; 4.21: Dr. Katsu Murakami, The Pennsylvania State University; 4.35b: Reproducido con el permiso de M. Ruff et al., Class II aminoacyl transfer RNA synthetases: crystal structure of yeast aspartyl-tRNA synthetase complexed with tRNA(Asp). Science 252:1682-1689 (1991). © 1991, American Association for the Advancement of Science. Foto de Dino Moras; 4.43: Thomas C. Marlovits y Lisa Konigsmaier.

Capítulo 5 Figura de inicio de capítulo: Patricia Dominguez-Cuevas; 5.2b: T. den Blaauwen y Nanne Nanninga, University of Amsterdam, The Netherlands; 5.5b: Alex Formstone; 5.5c: Christine-Jacobs Wagner; 5.6b: Akiko Umeda y K. Amako; 5.16: Deborah O. Jung y M.T. Madigan; 5.21a-c: John Gosink y James T. Staley, University of Washington; 5.21d: Michael T. Madigan; 5.22a: Katherine M. Brock; 5.22b, 5.23: Thomas D. Brock; 5.24: Nancy L. Spear; 5.28a: Deborah O. Jung y Michael T. Madigan; 5.28b: Coy Laboratory Products; 5.31: Thomas D. Brock; 5.33, 5.34: John M. Martinko; 5.36: Thomas D. Brock; 5.37: John M. Martinko; 5.38a: Carlos Pedros-Alio y Thomas D. Brock; 5.38b: Janice Carr y Rob Weyant, HIP, NCID, CDC; 5.40: Thomas D. Brock; 5.MS.1: Deborah Jung; 5.MS.2: Soren Molin.

Capítulo 6 Figura de inicio de capítulo: Jose de la Torre y David Stahl; 6.2b: Michael T. Madigan;

6.15: Jonathan Eisen (PLoS Biol. 2006 Jun;4(6):e188. Metabolic complementarity and genomics of the dual bacterial symbiosis of sharpshooters. The Institute for Genomic Research, Rockville, Maryland, USA); 6.18a: GeneChip® Human Genome U133 Plus 2.0 Array, Affymetrix; 6.18b: Affymetrix; 6.20: Jack Parker.

Capítulo 7 Figura de inicio de capítulo: Todd Ciche; 7.2: T. Doan, R. Losick, y D. Rudner; 7.4b(izquierda): Stephen P. Edmondson, Southern Illinois University at Carbondale; 7.4b(derecha): Fenfei Leng; 7.10: Reproducido con el permiso de S. Schultz et al., Crystal structure of a CAP-DNA complex: The DNA is bent by 90 degrees. Science 253:1001-1007 (1991). © 1991 the American Association for the Advancement of Science. Foto de Thomas A. Steitz y Steve C. Schultz; 7.21: Timothy C. Johnston, Murray State University; 7.23: Olga E. Petrova y Karin Sauer 2009. PLoS Pathogens 5(11): e1000668; 7.26: C. Fernandez-Fernandez y J. Collier; 7.28: Alicia M. Muro-Pastor.

Capítulo 8 Figura de inicio de capítulo: CDC/PHIL, Dr. Fred Murphy, Sylvia Whitfield; 8.3: John T. Finch, Medical Research Council/Laboratory of Molecular Biology, Cambridge, U.K.; 8.4c: W.F. Noyes; 8.4d: Timothy S. Baker y Norman H. Olson, Purdue University; 8.5a: P.W. Choppin y W. Stoeckenius; 8.5b: CDC; 8.8b: Jack Parker; 8.9(izquierda): Paul Kaplan; 8.9(derecha): Thomas D. Brock; 8.16: A. Dale Kaiser, Stanford University; 8.18: Lanying Zeng; 8.20: M. Wurtz; 8.25: Jed Fuhrman, University of Southern California.

Capítulo 9 Figura de inicio de capítulo: Mark Young; 9.4: Dr. D. Raoult, CNRS, Marseille, France; 9.9: F. Grundy y Martha Howe; 9.10a, b: Mark Young; 9.10c: Claire Geslin; 9.10d: David Prangishvili, Institut Pasteur; 9.11: CDC/Dr. Fred Murphy; Sylvia Whitfield; 9.12: CDC/Dr. G. William Gary, Jr; 9.13: Alexander Eb y Jerome Vinograd; 9.14: CDC/Fred Murphy, Sylvia Whitfield; 9.15: R.C. Valentine; 9.16a: CDC/Dr. Joseph J. Esposito; F. A. Murphy; 9.16b: Arthur J. Olson, Molecular Graphics Laboratory, Scripps Research Institute; 9.17, 9.18: CDC; 9.19: CDC/C. S. Goldsmith, y T. Tumpey; 9.20: Timothy S. Baker y Norman H. Olson, Purdue University; 9.23: CDC; 9.24: Biao Ding & Yijun Qi; 9.27: CDC/Teresa Hammett.

Capítulo 10 Figura de inicio de capítulo: A.B. Westbye, P.C. Fogg, J.T. Beatty; 10.1a: Thomas D. Brock; 10.1b: S. R. Spilatro, Marietta College, Marietta, OH; 10.1c: Shiladitya DasSarma, Priya Arora, Lone Simonsen; 10.2: Derek J. Fisher; 10.6: Thomas D. Brock; 10.17: Charles C. Brinton, Jr., University of Pittsburgh; 10.18: A. Babic, M. Berkmen, C. Lee, y A. D. Grossman; 10.23: Masaki Shioda y S. Takayanago.

Capítulo 11 Figura de inicio de capítulo: Dinesh Chandra y Claudia Gravekamp; 11.2a: Elizabeth Parker; 11.2b: Jack Parker; 11.3a: Laurie Ann Achenbach, Southern Illinois University at Carbondale; 11.3b: M. Kempher; 11.4: Alex Valm y Gary Borisy, Marine Biological Lab, Woods Hole, MA; 11.11: Jason A. Kahana y Pamela A. Silver, Harvard Medical School; 11.14: Daniel L. Nickrent; 11.16 (izquierda): Norbert Pfennig, University of Konstanz, Germany; 11.16 (centro): Hans Hippe, Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig, Germany; 11.16 (derecha): Michael T. Madigan; 11.20: Jack Parker; 11.29: Stephen R. Padgette, Monsanto Company; 11.30: Kevin McBride, Calgene; 11.31: Aqua Bounty Technologies; 11.33 (arriba): Klagyi/Shutterstock; 11.33 (centro): Puchan/Shutterstock; 11.33 (abajo): Karen Lau/Shutterstock; 11.35: Aaron Chevalier y Matt Levy.

Capítulo 12 Figura de inicio de capítulo: Yan Boucher; (inset): Phil Kirchberger; 12.2: Frances Westall, Lunar and Planetary Institute; 12.3: Anna-Louise Reysenbach y Woods Hole Oceanographic Institution; 12.6a, b: Malcolm R. Walter, Macquarie University, New South Wales, Australia 12.6c: Dan Buckley; 12.6d: Thomas D. Brock; 12.6e: Malcolm R. Walter, Macquarie University, New South Wales, Australia; 12.7: J. William Schopf, University of California at Los Angeles; 12.8: John M. Hayes; 12.14 (arriba): Norbert Pfennig, University of Konstanz, Germany; 12.14 (abajo): Jennifer Ast y Paul V. Dunlap; 12.21: Kazuhito Inoue; 12.28: Carl A. Batt, Cornell University; 12.29: Jennifer Ast y Paul V. Dunlap; 12.T03: Norbert Pfennig, University of Konstanz, Germany.

Capítulo 13 Figura de inicio de capítulo: Kenneth H. Williams; 13.1 (derecha, centro): Norbert Pfennig, University of Konstanz, Germany; 13.1 (izquierda): Thomas D. Brock; 13.4: Simon Scheuring; 13.5: Yuuji Tsukii, Servidor de Protistas, (protist.i.hosei.ac.jp); 13.6: Michael T. Madigan; 13.7: Niels Ulrik Frigaard; 13.10a: Susan Barns y Norman R. Pace, University of Colorado; 13.10c: Kaori Ohki, Tokai University, Shimizu, Japan; 13.11a: George Feher, University of California at San Diego; 13.11b: Marianne Schiffer y James R. Norris, Argonne National Laboratory; 13.15: Yehuda Cohen y Moshe Shilo; 13.18: Jessup M. Shively, Clemson University; 13.21: Thomas D. Brock; 13.23a: William Strode; 13.23b: Thomas D. Brock; 13.25: Reproducido de Armin Ehrenreich y Friedrich Widdel, Applied and Environmental Microbiology 60:4517-4526 (1994), con permiso de la American Society for Microbiology. 13.28a: Marc Strous, University of Nijmegen, The Netherlands; 13.28b: John A. Fuerst, University of Queensland, Australia; 13.38: H.J.M. Harmsen; 13.46: John A. Breznak, Michigan State University; 13.48: Thomas D. Brock; 13.53: Dianne K. Newman y Stephen Tay, previamente publicado en Applied and Environmental Microbiology 63:2022-2028 (1997); 13.61: Antje Boetius y Armin Gieseke, Max Planck Institute for Marine Microbiology, Bremen, Germany.

Capítulo 14 Figura de inicio de capítulo: Katharina Ettwig; (círculo): Laura van Niftrik y Mingliang Wu; 14.2a: Susan Barns y Norman R. Pace, University of Colorado; 14.2b-e: Daniel H. Buckley; 14.4: M.R. Edwards; 14.5: Daniel H. Buckley; 14.6: Thomas D. Brock; 14.7a: Rachel Foster; 14.7b, c: Angel White; 14.8: Daniel H. Buckley; 14.9a:Thomas D. Brock; 14.9b: Jorg Overmann, University of Munich, Germany; 14.9c: Douglas E. Caldwell, University of Saskatchewan; 14.10ac: Norbert Pfennig, University of Konstanz, Germany; 14.10d: Johannes F. Imhoff, University of Kiel, Germany; 14.11a: Charles C. Remsen, University of Wisconsin at Milwaukee; 14.11b: Jeffrey C. Burnham y Samuel F. Conti; 14.12, 14.13a-e: Norbert Pfennig, University of Konstanz, Germany; 14.13f: Peter Hirsch, University of Kiel, Germany; 14.14: Norbert Pfennig, University of Konstanz, Germany 14.15: F. Rudolph Turner y Michael T. Madigan; 14.16: Deborah O. Jung; 14.17a, d: Douglas E. Caldwell, University of Saskatchewan; 14.17b, c: Jorg Overmann, University of Munich, Germany; 14.18a: Michael T. Madigan; 14.18b: Vladimir M. Gorlenko, Institute of Microbiology, Russian Academy of Sciences; 14.18c: Charles A. Abella, University of Girona, Girona, Spain; 14.18d: Deborah Jung; 14.20a: F. Rudy Turner y Howard Gest, Indiana University; 14.20b, c: John Ormerod y Michael T. Madigan; 14.21a: Don Bryant; 14.21b: Amaya Garcia Costas y Donald A. Bryant; 14.23a, b, f: Norbert Pfennig, University of Konstanz, Germany; 14.23c-e: Friedrich Widdel, Max Planck Institute for Marine Microbiology, Bremen, Germany; 14.23g: Matt Sattley y Deborah O. Jung; 14.24a: Michael F. McGlannan, Florida International University; 14.24b: Andreas Teske; 14.25a: Jessup M. Shively, Clemson University; 14.25b: Hans-Dietrich Babenzien, Institute of Freshwater Ecology y Inland Fisheries, Neuglobsow, Germany; 14.26a: Verena Salman; 14.26b: Michael F. McGlannan, Florida International University; 14.27a: Michael Richard, Colorado State University; 14.27b: Markus Huttel, Max Planck Institute for Marine Microbiology, Bremen, Germany; 14.28: Verena Salman; 14.29: Tom Fenchel; 14.31: J.-H. Becking, Wageningen Agricultural University, Wageningen, Netherlands; 14.32: Harold L. Sadoff, Michigan State University; 14.33: S.W. Watson; 14.34: Holger Daims; 14.35: Derek R. Lovley; 14.36a: William C. Ghiorse, Cornell University; 14.36b: Reproducido con permiso de W.C. Ghiorse, Biology of iron- and manganesedepositing bacteria. Annual Review of Microbiology 38:515-550 (1984), Fig. 1. © 1984 Annual Reviews, Inc. Foto: William C. Ghiorse, Cornell University; 14.37: Frank Mayer, University of Gottingen, Germany; 14.38: Douglas W. Ribbons, Technical University of Graz, Austria; 14.39: Charles R. Fisher, Pennsylvania State University; 14.40: Thomas D. Brock 14.41: Susan Koval y Ryan Chanyi; 14.42: Susan F. Koval, University of Western Ontario; 14.43: Hans Reichenbach, Gesellschaft fur Biotechnologische Forschung mbH, Braunschweig, Germany; 14.45: Herbert Voelz; 14.46: Hans Reichenbach, Gesellschaft fur Biotechnologische Forschung mbH, Braunschweig, Germany; 14.47: P.L. Grillone; 14.48a: Hans Reichenbach, Gesellschaft fur Biotechnologische Forschung mbH, Braunschweig, Germany; 14.48b: David White, Indiana University; 14.49, 14.50: Ercole Canale-Parola, University of Massachusetts; 14.51a: Noel R. Krieg, Virginia Polytechnic Institute and State University; 14.51b: Stanley L. Erlandsen, University of Minnesota Medical School; 14.51c: H.D. Raj; 14.52: A. Ryter; 14.53a: Reproducido de B.J. Paster y E. Canale-Parola, *Treponema saccharophilum* sp. nov., a large pectinolytic spirochete from the bovine rumen. Applied and Environmental Microbiology 50:212-219 (1985), con permiso de la American Society for Microbiology; 14.53b: Susan F. Koval y George Chaconas; 14.56a: Peter Hirsch, University of Kiel, Germany; 14.56b: Samuel F. Conti y Peter Hirsch; 14.57a: Elnar Leifson; 14.57b, c: Germaine Cohen-Bazire; 14.58a: J.L. Pate; 14.58b: James T. Staley, University of Washington; 14.58c: Heinz Schlesner, University of Kiel, Germany; 14.60: Reproducido con permiso de W.C. Ghiorse, Biology of iron- and manganese-depositing bacteria. Annual Review of Microbiology 38:515-550 (1984), Fig. 7. © 1984 Annual Reviews, Inc. Foto: William C. Ghiorse, Cornell University; 14.61a: Thomas D. Brock; 14.61b, c: Judith F.M. Hoeniger;

14.62: Richard Blakemore, University of New Hampshire; 14.63: Kenneth H. Nealson, University of Wisconsin.

Capítulo 15 Figura de inicio de capítulo: Matthew Stott; 15.4: Odile Berge; 15.5a: Willy Burgdorfer, Rocky Mountain Laboratories Microscopy Branch, NIAID, NIH; 15.5b: G.J. Devauchelle, INRA-URA CNRS, Saint Christol-les-Ales, France; 15.6: Richard Stouthhamer y Merijn Salverda; 15.8: James A. Shapiro, University of Chicago; 15.9a: CDC; 15.9b: Thomas D. Brock; 15.11: Arthur Kelman, University of Wisconsin-Madison; 15.12: Cheryl L. Broadie y John Vercillo, Southern Illinois University at Carbondale; 15.13a: Daniel E. Snyder; 15.13b: James A. Shapiro, University of Chicago; 15.14: Cheryl L. Broadie y John Vercillo, Southern Illinois University at Carbondale; 15.15: Arthur Kelman, University of Wisconsin-Madison; 15.18a, b: Otto Kandler, University of Munich, Germany; 15.18c: V. Bottazi; 15.19a: Bryan Larsen, Des Moines University; 15.19b, c: Thomas D. Brock; 15.20a: Akiko Umeda, Kyushu University School of Medicine, Fukuoka, Japan; 15.20b: Susan F. Koval, University of Western Ontario; 15.21: Terry J. Beveridge, University of Guelph, Guelph, Ontario; 15.22: Hans Hippe, Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig, Germany; 15.23: James R. Norris; 15.24: Dieter Claus, University of Gottingen, Germany; 15.25: Alan Rodwell; 15.26: Thomas D. Brock; 15.27: David L. Williamson; 15.28, 15.29: Terry A. Krulwich, Mount Sinai School of Medicine; 15.30: Hans Veldkamp; 15.32a: N. Rist; 15.32b: Victor Lorian; 15.32c: CDC; 15.34: Hubert y Mary P. Lechevalier; 15.35a: Peter Hirsch, University of Kiel, Germany; 15.35b: Hubert y Mary P. Lechevalier; 15.38a: Michael T. Madigan; 15.38b: David A. Hopwood, John Innes Centre, U.K.; 15.39a: Eli Lilly y Company. Con permiso; 15.39b: David A. Hopwood, John Innes Centre, U.K.; 15.42: Hans Reichenbach, Gesellschaft fur Biotechnologische Forschung mbH, Braunschweig, Germany; 15.44: Morris D. Cooper, Southern Illinois University School of Medicine; 15.45: Robert R. Friis, Tiefenau Laboratory, Bern, Switzerland; 15.46: John A. Fuerst, University of Queensland, Australia; 15.47: John Bauld, Australian Geological Survey Organisation; 15.48: Heinz Schlesner, University of Kiel, Germany; 15.49: Reinhard Rachel y Karl O. Stetter, University of Regensburg, Germany; 15.50: Friedrich Widdel, Max Planck Institute for Marine Microbiology, Bremen, Germany; 15.51a: David Ward; 15.51b: Michael T. Madigan; 15.51c: Reinhard Rachel y Karl O. Stetter, University of Regensburg, Germany; 15.52a, b: Diane Moyles y R.G.E. Murray, University of Western Ontario; 15.52c: Michael T. Madigan.

Capítulo 16 Figura de inicio de capítulo: Carmody McCalley; 16.2a: Thomas D. Brock; 16.2b: NASA Headquarters; 16.2c: Michael T. Madigan; 16.2d: Francisco Rodriguez-Valera, Universidad Miguel Hernandez, San Juan de Alicante, Spain; 16.3: Mary C. Reedy, Duke University Medical Center; 16.5: Alexander Zehnder, Swiss Federal Institute for Environmental Science and Technology, Dubendorf, Switzerland; 16.6: J. Gregory Zeikus y V.G. Bowen; 16.7a, c: Helmut Konig y Karl O. Stetter, University of Regensburg, Germany; 16.7b: Reinhard Rachel y Karl O. Stetter, University of Regensburg, Germany; 16.7d: Stephen H. Zinder, Cornell University; 16.8a: Thomas D. Brock; 16.8b: A. Segerer y Karl O. Stetter, University of Regensburg, Germany; 16.9: T. D. Brock; 16.11a: Helmut Konig y Karl O. Stetter, University of Regensburg, Germany; 16.11b: G. Fiala y Karl O. Stetter, University of Regensburg, Germany; 16.12: Karl O. Stetter, University of Regensburg, Regensburg, Germany; 16.13: Reinhard Rachel y Karl O. Stetter, University of Regensburg, Germany; 16.14: Martin Konneke; 16.15: Edward DeLong, Monterey Bay Aquarium Research Institute; 16.16: Reinhard Rachel; 16.17: K. O. Stetter, University of Regensburg, Germany, y reproducido con permiso de la National Academy of Sciences de Elkins, J.G. et al., A korarchaeal genome reveals insights into the evolution of the Archaea. Proc. Natl. Acad. Sci. 105: 8102-8107 (2008); 16.18: Thomas D. Brock; 16.19a: Thomas D. Brock; 16.19b: Helmut Konig y Karl O. Stetter, University of Regensburg, Germany; 16.20a: Helmut Konig, University of Regensburg, Germany; 16.20b: Helmut Konig y Karl O. Stetter, University of Regensburg, Germany; 16.20c: Reinhard Rachel y Karl O. Stetter, University of Regensburg, Germany; 16.21a, b: Helmut Konig y Karl O. Stetter, University of Regensburg, Germany 16.21c: Karl O. Stetter y Reinhard Rachel, University of Regensburg, Germany; 16.21d: Kazem Kashefi; 16.22a: Helmut Konig y Karl O. Stetter, University of Regensburg, Germany; 16.22b: Reinhard Rachel y Karl O. Stetter, University of Regensburg, Germany; 16.23: Helmut Konig y Karl O. Stetter, University of Regensburg, Germany; 16.24: Anna-Louise Reysenbach y Woods Hole Oceanographic Institution; 16.26: Gertraud Rieger, R. Hermann, Reinhard Rachel, y Karl O. Stetter, University of Regensburg, Germany; 16.27: Suzette L. Pereira, Ohio State University.

Capítulo 17 Figura de inicio de capítulo: Christine Oesterhelt y Gerald Schonknecht; 17.1: Jian-ming Li y Nancy Martin, University of Louisville School of Medicine; 17.4a: Michael Abbey/Photo Researchers; 17.4b: Steve J. Upton, Kansas State University; 17.5: Blaine Mathison, CDC; 17.6a: M. I. Walker/ Science Source; 17.6b: Biophoto Associates/ Science Source; 17.7a: Michael T. Madigan; 17.7b: Sydney Tamm; 17.8: Steve J. Upton, Kansas State University; 17.9: Irena Kaczmarska-Ehrman, Mount Allison University; 17.10a: Rita R. Colwell, National Science Foundation; 17.10b, c: North Carolina State University Center for Applied Ecology; 17.11a: Mae Melvin, CDC; 17.11b: Silvia Botero Kleiven, The Swedish Institute for Infectious Disease Control; 17.12a: Jorg Piper; 17.12b-d: Irena Kaczmarska-Ehrman, Mount Allison University; 17.13a: GERD GUENTHER/Science Source; 17.13b: EpicStockMedia/Fotolia; 17.13c: Michael Plewka; 17.14a: Andrew Syred/Photo Researchers; 17.14b: Eye of Science/Science Source; 17.15: M. Haberey; 17.16: Stephen Sharnoff (sharnoffphotos.com); 17.17: Kenneth B. Raper; 17.19: MYCOsearch, Inc; 17.20a: Cheryl L. Broadie, Southern Illinois University at Carbondale; 17.20b: CDC; 17.21: M. T. Madigan; 17.22: J. Forsdyke/SPL/Photo Researchers; 17.24: Forest Brem; 17.25a: Alena Kubatova (http://botany.natur.cuni.cz/cs/sbirka-kultur-hubccf); 17.25b: Hossler/Custom Medical Stock Photo; 17.26: Thomas D. Brock; 17.28: Samuel F. Conti y Thomas D. Brock; 17.30a: Shutterstock; 17.30b: U.S. Department of Agriculture; 17.30c: Ed Reschke/Getty Images; 17.31: Patrick J. Lynch/ Science Source; 17.32: Richard W. Castenholz, University of Oregon; 17.33a: Arthur M. Nonomura, Scripps Institution of Oceanography; 17.33b: Bob Gibbons/Alamy; 17.33c: Thomas D. Brock; 17.33d: Ralf Wagner (dr-ralfwagner.de); 17.33e: NaturimBild/blickwinkel/Alamy; 17.33f: Dr. Aurora M. Nedelcu; 17.33g: Arthur M. Nonomura; 17.34a: Guillaume Dargaud (www.gdargaud.net); 17.34b: Yuuji Tsukii, Información de protistas en el servidor (protist.i.hosei.ac.jp), Hosei University, Japan.

Capítulo 18 Figura de inicio de capítulo: Vaughn Iverson y Ginger Armbrust; 18.2b: Norbert Pfennig, University of Konstanz, Germany; 18.3a: James A. Shapiro, University of Chicago; 18.3b: Marie Asao, Deborah O. Jung, y Michael T. Madigan; 18.6a, b: Marc Mussman y Michael Wagner; 18.6c: Willm Martens-Habbena; 18.7: Sondas Moleculares; 18.8: Preston Garcia y Dan Gage; 18.9a: Reproducido con permiso de la American Society for Microbiology en A.T. Nielsen et al., Identification of a novel group of bacteria in sludge from a deteriorated biological phosphorus removal reactor. Applied Environmental Microbiology 65:1251-1258 (1999), fig. 5B. Imagen: Alex T. Nielsen, Technical University of Denmark, Lyngby, Denmark. 18.10: Norman R. Pace, University of Colorado; 18.11a: David A. Stahl, Northwestern University; 18.11b: De R. Amann, J. Snaidr, M. Wagner, W. Ludwig, y K.-H. Schleifer, 1996, In situ visualization of high genetic diversity in a natural bacterial community. Journal of Bacteriology 178:3496-3500, Fig. 2b. © 1996 American Society for Microbiology. Foto: Jiri Snaidr; 18.12: Marc Mussmann y Michael Wagner; 18.14a, b: Jennifer A. Fagg y Michael J. Ferris, Montana State University; 18.14c: Gerard Muyzer; 18.17: Alexander Loy y Michael Wagner; 18.24: Niels Peter Revsbech; 18.28: Jennifer Pett-Ridge, Peter K. Weber; 18.30: Michael Wagner; 18.31: Colin J. Murrell; 18.EMW.01: Excellent backgrounds/Shutterstock; 18.EMW.02: Steve Giovannoni.

Capítulo 19 Figura de inicio de capítulo: Andreas Teske; 19.1: Hans Paerl; 19.4a: Frank B. Dazzo, Michigan State University; 19.4b: Thomas D. Brock; 19.5a: C.-T. Huang, Karen Xu, Gordon McFeters, y Philip S. Stewart; 19.5b: Cindy E. Morris, INRA, Centre de Recherche d'Avignon, France. Previamente publicada en Applied and Environmental Microbiology 63:1570-1576; 19.5c: J. M. Sanchez, J. Lidel Lope y Ricardo Amils; 19.6: Rodney M. Donlan y Emerging Infectious Diseases; 19.8: Tim Tolker-Nielsen y Wen-Chi Chang; 19.9a: Jesse Dillon y David A. Stahl; 19.9b: David M. Ward, Montana State University. Reproducido con permiso de la American Society for Microbiology; 19.10: Andreas Teske y Markus Huettel; 19.11: Michael T. Madigan; 19.13: Jayne Belnap; 19.15a: Esta van Heerden; 19.15b: Terry C. Hazen; 19.17b: Thomas D. Brock; 19.19: NASA foto procesada por Otis Brown y Robert Evans, obtenida de Dawn Cardascia, Earth Science Support Office; 19.20a: U.S. Coast Guard; 19.20b: NASA; 19.21: Penny Chisholm; 19.21(inset): Alexandra Z. Worden y Mya E. Breitbart, Scripps Institution of Oceanography, University of California at San Diego; 19.22a: Hans W. Paerl, University of North Carolina at Chapel Hill; 19.22b: Alexandra Z. Worden y Brian P. Palenik, Scripps Institution of Oceanography, University of California at San Diego; 19.23: Vladimir Yurkov; 19.25: Daniela Nicastro; 19.26: Jed Fuhrman, Jennifer R. Brum, Ryan O. Schenck, N. Solonenko y Matt Sullivan; 19.30: Hideto Takami, Japan Marine Science and Technology Center, Kanagawa, Japan; 19.31a: Douglas Bartlett; 19.32a, b: Andreas Teske; 19.35: Woods Hole Oceanographic Institution; 19.36: Deborah Kelley,

University of Washington; 19.37: Christian Jeanthon, Centre National de la Recherche Scientifique, France.

Capítulo 20 Figura de inicio de capítulo: Karen Elna Thomsen (TEM); Mingdong Dong (ilustración); Jie Song, Nils Risgaard-Petersen, y Lars Peter Nielsen (SEM); 20.3: Evan Solomon; 20.6a: John A. Breznak, Michigan State University; 20.6b, c: Monica Lee y Stephen H. Zinder; 20.12: J. M. Sanchez, J. Lidel Lope y Ricardo Amils; 20.13: David Emerson (panels A, B, C, D, G), Clara Chan (panel F), por cortesia de Woods Hole Oceanographic Institution (panel E); 20.14a: Jorg Bollmann; 20.14b: M.L. Cros Miguel y J.M. Fortuno Alos; 20.15: Jorg Piper; 20.EMW.1: Eye of Science/ Photo Researchers.

Capítulo 21 Figura de inicio de capítulo: Norman Pace; 21.1: Thomas D. Brock; 21.3: Ashanti Goldfields Corp., Ghana; 21.4a: Ravin Donald, Northern Arizona University; 21.4b, 21.5: Thomas D. Brock; 21.6: Ken Williams 21.7a, b: U.S. Environmental Protection Agency Headquarters; 21.7c: Bassam Lahoud, Lebanese American University; 21.8: Thomas D. Brock; 21.9: WimL/Fotolia; 21.12: Dr. Helmut Brandl, University of Zurich, Switzerland; 21.14: Michael T. Madigan; 21.15: Thomas D. Brock; 21.16a: John M. Martinko y Deborah O. Jung; 21.16c: Michael T. Madigan; 21.17: Richard F. Unz, Penn State University; 21.19: Louisville Water Company; 21.21: CDC/Don Howard; 21.22: Shawna Johnston y Gerrit Voordouw.

Capítulo 22 Figura de inicio de capítulo: Tjisse van der Heide, Marjolijn J. A. Christianen, y Laura L. Govers; 22.1a: Thomas D. Brock; 22.1b: Michael T. Madigan; 22.2: Thomas D. Brock; 22.4: J. Overmann y H. van Gemerden; 22.5: Gerhard Wanner y Jorg Overmann, Ultrastructural Characterization of the Prokaryotic Symbiosis in "Chlorochromatium aggregatum." Journal of Bacteriology, May 2008, pp. 3721-3730, Vol. 190, No. 10. © 2008, American Society for Microbiology. Reproducido con permiso; 22.7: Joe Burton; 22.8: Ben B. Bohlool, University of Hawaii; 22.9: Joe Burton; 22.11a: Ben B. Bohlool, University of Hawaii; 22.11b-d: Reproducido con permiso de G. Truchet et al., Sulphated lipooligosaccharide signals of *Rhizobium meliloti* elicit root nodule organogènesis in alfalfa. Nature 351:670-673 (1991). © 1991 Macmillan Magazines Limited. Foto de Jacques Vasse, Jean Denarie, y Georges Truchet; 22.16: B. Dreyfus, Institut de Recherche pour le Developpement (ORSTOM), Dakar, Senegal; 22.17, 22.18: J.-H. Becking, Wageningen Agricultural University, Wageningen, Netherlands 22.19: Jo Handelsman, University of Wisconsin at Madison; 22.22a: Foto de Jacob R. Schramm; 22.22b: D.J. Read, University of Sheffield, England; 22.25: S.A. Wilde; 22.27.1: gallas/Fotolia; 22.27.2: Bernard Swain; 22.27.3: Nancy L. Spear; 22.27.4: D and D Photo Sudbury/ Shutterstock; 22.28: Sharisa D. Beck, Southern Illinois University at Carbondale; 22.36: Amparo Latorre; 22.37: Michael Pettigrew/ Shutterstock; 22.39a: Chris Frazee y Margaret J. Mcfall-Ngai, University of Wisconsin; 22.39b: Margaret J. Mcfall-Ngai, University of Wisconsin; 22.40a: Dudley Foster, Woods Hole Oceanographic Institution; 22.40b: Carl Wirsen, Woods Hole Oceanographic Institution; 22.41a: Reproducido de C.M. Cavanaugh et al., Prokaryotic cells in the hydrothermal vent tube worm *Riftia pachyptila* Jones: Possible chemoautotrophic symbionts. Science 213:340-342 (July 17, 1981), Fig. 1b. © 1981 American Association for the Advancement of Science. Foto de Colleen M. Cavanaugh, Harvard University; 22.41b: Reproducido con permiso de Nature 302:58-61, Fig. 3a. © 1983 Macmillan Magazines Limited. Foto: Colleen M. Cavanaugh, Harvard University; 22.42a: Michele Maltz y Jorg Graf; 22.43: Jorg Graf; 22.44: Kazuhiko Koike y Kiroshi Yamashita; 22.45: Ernesto Weil; 22.EMW.01: Michael Poulsen y Cameron Currie.

Capítulo 23 Figura de inicio de capítulo: CDC/PHIL; (inset): CDC/PHIL, Janice Haney Carr; 23.4: Thomas J. Lie, University of Washington; 23.6: Dwayne C. Savage y R.V.H. Blumershine; 23.8: John Durham/Photo Researchers; 23.11: Larry Stauffer, Oregon State Public Health Laboratory, CDC; 23.12a: J. William Costerton, Montana State University; 23.12b: Edward T. Nelson, J.D. Clemments, y R.A. Finkelstein; 23.13a: CDC/PHIL, M. Miller; 23.13b: CDC/PHIL; 23.13c: CDC/PHIL, Dr. Richard Facklam; 23.14: James A. Roberts; 23.15a: CDC/PHIL, Dr. Richard Facklam; 23.15b: Isaac L. Schechmeister y John J. Bozzola, Southern Illinois University at Carbondale; 23.16: C. Lai, Max A. Listgarten, y B. Rosan; 23.18a: Thomas D. Brock; 23.18b: Leon J. Le Beau, University of Illinois at Chicago; 23.19: 2-methyl-2, 4-pentanediol induces spontaneous assembly of staphylococcal α-hemolysin into heptameric pore structure. Tanaka, Y. Hirano, N., Kaneko, J., Kamio, Y., Yao, M., Tanaka, I. (2011) Protein Sci. 20: 448-456; 23.23: Zang, R.G., Scott, D.L., Westbrook, M.L., Nance, S., Spangler, B.D., Shipley, G.G., Westbrook, E.M. Journal: (1995) J.Mol. Biol. 251: 563-573; 23.24: Arthur O. Tzianabos y R.D. Millham; 23.EMW.1: Deborah O. Jung y John Martinko.

Capítulo 24 Figura de inicio de capítulo: Dr. P. Marazzi/Science Source; 24.6: CDC 24.10a: CDC/ PHIL; 24.10b: James V. Little; 24.13.1:CDC/PHIL; 24.13.2: US WPA/Library of Congress; 24.13.3: CDC/PHIL, D. Jordan, M.A.; 24.13.4: CDC/PHIL, Edward J. Wozniak, D.V.M, PH.D; 24.18: CDC/PHIL/ Emory University, T.F. Sellers, Jr.; 24.19, 24.20, 24.EMW.1: CDC/ PHIL; 24.T01: John M. Martinko y Michael T. Madigan.

Capítulo 25 Figura de inicio de capítulo: CDC/PHIL, Amanda Mills; 25.1a: John M. Martinko y Michael T. Madigan; 25.1b: Division of Parasitic Diseases, NCID, CDC; 25.1c: Behnsen et al. PLoS Pathogens, doi:10.1371. ppat.0030013; 25.1d: John M. Martinko y Michael T. Madigan; 25.2: J.G. Hirsch; 25.16a: Richard J. Feldmann, National Institutes of Health; 25.16b: Reproducido con permiso de A.G. Amit et al., Three-dimensional structure of an antigen-antibody complex at 2.8 A resolution. Science 233:747-753 (August 15, 1986), Fig. 3. © 1986 American Association for the Advancement of Science. Imágenes: Roberto J. Poljak; 25.23: E. Munn.

Capítulo 26 Figura de inicio de capítulo: Arco Images GmbH/ Alamy; 26.5a: Don C. Wiley, Howard Hughes Medical Institute; 26.5b: Aideen C.M. Young, Albert Einstein College of Medicine, Bronx, New York; 26.5c: Reproducido con permiso de J.H. Brown et al., Three-dimensional structure of the human class II histocompatibility antigen HLA-DR1. Nature 364: 33-39 (1993). © 1993 Macmillan Magazines Limited. Imagen de Don C. Wiley, Harvard University; 26.EMW.1: Jarmo Holopainen.

Capítulo 27 Figura de inicio de capítulo: CDC/PHIL; 27.1: CDC/ PHIL; 27.5a: Theodor Rosebury; 27.5b: Leon J. Le Beau, University of Illinois at Chicago; 27.6a, b: CDC/ PHIL, Dr. Todd Parker; 27.6c: John M. Martinko y Cheryl L. Broadie; 27.7, 27.8a: Leon J. Le Beau, University of Illinois at Chicago; 27.8e, f: CDC; 27.8g: AB BIODISK; 27.10: Norman L. Morris, American Red Cross Blood Services; 27.11: John M. Martinko y Cheryl L. Broadie; 27.13a: Wellcome Research Laboratories; 27.13b: CDC; 27.14a: Dharam V. Ablashi y Robert C. Gallo, National Cancer Institute, Bethesda, Maryland; 27.14b: CDC/ PHIL, H.C. Lyerla; 27.14c: CDC/ PHIL, P.M. Feorino; 27.17b: Victor Tsang, Division of Parasitic Diseases, National Center for Infectious Diseases, CDC; 27.T04.1-5: CDC/ PHIL, Janice Haney Carr; 27.T04.6: CDC/PHIL, Peta Wardell; 27.T04.7: CDC/PHIL, Erskine Palmer; 27.T04.8: CDC/PHIL, A. Harrison y P. Feorino; 27.T04.9: CDC/PHIL, Frederick Murphy; 27. T04.10: CDC/ PHIL, Janice Haney Carr; 27.T04.11: CDC/PHIL, Charles D. Humphrey; 27.T04.12: CDC/PHIL, Janice Haney Carr.

Capítulo 28 Figura de inicio de capítulo: CDC/PHIL, Maureen Metcalfe; Azaibi Tamin; 28.12a: CDC/PHIL; 28.12b: Larry Stauffer, Oregon State Public Health Laboratory, CDC/PHIL; 28.13a: James H. Steele, CDC; 28.13b: CDC; 28. EMW.1: C.S. Goldsmith/T.G. Ksiazek/S.R. Zaki, CDC.

Capítulo 29 Figura de inicio de capítulo: CDC/PHIL, Cynthia Goldsmith; 29.1: Thomas D. Brock; 29.3: Eye of Science/Science Source; 29.4: Michael T. Madigan; 29.5: CDC/PHIL; 29.6: Franklin H. Top, Jr; 29.7: Thomas F. Sellers, CDC; 29.8: Michael T. Madigan; 29.9: Franklin H. Top, Jr; 29.10: Biomedical Communications Custom Medical Stock Photo/Newscom; 29.11: Isaac L. Schechmeister, Southern Illinois University at Carbondale; 29.12: CDC/PHIL; 29.13: Franklin H. Top, Jr; 29.14a: CDC/PHIL; 29.14b: CDC/PHIL, J.H. Carr; 29.15a: CDC/ PHIL, Edwin P. Ewing, Jr; 29.15b: CDC/PHIL; 29.16a: CDC/PHIL, R. W. Smithwick; 29.16b, c: Aaron L. Friedman, M.D., University of Wisconsin Medical School; 29.18: Jorge Adorno/Reuters/Corbis; 29.19: CDC/PHIL; 29.20a: CDC/ PHIL, C. Goldsmith; 29.20b, c-29.22: CDC/PHIL; 29.23: CDC/PHIL, A. D. Langmuir; 29.24a: B. Dowsett y D. Tyrell; 29.24b: Heather Davies y David A.J. Tyrrell; 29.25: CDC/ PHIL, E.L. Palmer, M.L. Martin, y F. Murphy; 29.26: Irene T. Schulze, Saint Louis University School of Medicine; 29.29a: CDC/PHIL; 29.29b: CDC/PHIL, J. H. Carr; 29.30: Gregory Moran; 29.31: Michael T. Madigan; 29.32: Juergen Berger/ Science Source; 29.34: Eye of Science/Photo Researchers; 29.36a: CDC/PHIL, Joe Millar; 29.36b: Morris D. Cooper, Southern Illinois University School of Medicine; 29.37a: CDC/PHIL, H. Russell; 29.37b, c: CDC/ PHIL; 29.38a: CDC; 29.38b: Sidney Olansky y L.W. Shaffer; 29.38c: CDC/PHIL, Robert Sumpter; 29.39: Morris D. Cooper, Southern Illinois University School of Medicine; 29.40a: Gordon A.Tuffli, University of Wisconsin Medical School; 29.40b, 29.41, 29.45, 29.46: CDC/PHIL; 29.47: CDC/ PHIL, M. Metcalfe y T. Hodge.

Capítulo 30 Figura de inicio de capítulo: Barry Mansell/ Nature Picture Library; 30.2, 30.3: CDC/ PHIL; 30.4a: CDC/PHIL, James Gathany; 30.4b: CDC/PHIL; 30.6a: Willy Burgdorfer, M.D., Rocky Mountain Laboratories Microscopy Branch, NIAID, NIH; 30.6b: CDC/PHIL; 30.6c: S.F. Hayes y Willy Burgdorfer, Rocky Mountain Laboratories Microscopy

Branch, NIAID, NIH; 30.6d: Kenneth E. Greer, University of Virginia School of Medicine; 30.7: Reproducido de David H. Walker y J. Stephen Dumler, Emergence of the ehrlichioses as human health problems. Emerging Infectious Diseases 2:1 (January-March 1996), Fig. 3. Foto de Vsevolod Popov, University of Texas Medical Branch at Galveston; 30.8: Dano Corwin, Rocky Mountain Laboratories Microscopy Branch, NIAID, NIH; 30.9a: Pfizer Central Research; 30.9b: James Gathany, CDC/PHIL; 30.9c: Pfizer Central Research; 30.10: Pfizer Central Research; 30.12a: CDC/PHIL, James Gathany; 30.12b: CDC/PHIL; 30.12c: CDC/ PHIL, Frederick Murphy; 30.13, 30.14, 30.16a: CDC/PHIL; 30.16b: CDC/PHIL, T. Parker; 30.17a: CDC/WHO; 30.17b: CDC/PHIL, Larry Stauffer; 30.18: CDC/PHIL; 30.20a: CDC/PHIL, Larry Stauffer; 30.20b: CDC/PHIL, Janice Haney Carr; 30.21a: CDC/PHIL, Larry Stauffer; 30.21b-d, 30.22, 30.23a, b: CDC/PHIL; 30.23c: Biophoto Associates/Science Source; 30.EMW.1: CDC/PHIL, James Gathany; 30.EMW.2: CDC/PHIL, Cynthia Goldsmith.

Capítulo 31 Figura de inicio de capítulo: monticello/ Shutterstock; 31.1a: Thomas D. Brock; 31.1b: U.S. Environmental Protection Agency Headquarters; 31.1c: IDEXX Laboratories; 31.2a: CDC/PHIL; 31.2b: Stem Jems/Photo Researchers; 31.3a: Kimberley Seed, Tufts University School of Medicine; 31.3b-d: CDC/PHIL; 31.4: Mark L. Tamplin, Anne L. Gauzens, y Rita R. Colwell; 31.5a, b: CDC/PHIL; 31.5c: CDC/PHIL, Janice Haney Carr; 31.6a: CDC/PHIL; 31.6b: CDC/PHIL, Charles D. Humphrey; 31.7: Thomas D. Brock; 31.8: John M. Martinko y Cheryl Broadie; 31.9: International PBI S.p.A., Milano, Italy; 31.10a: CDC/PHIL; 31.10b: CDC/PHIL, Janice Haney Carr; 31.11: CDC/PHIL; 31.12a: CDC/PHIL, Eric Grafman; 31.12b, c: CDC/PHIL, James Gathany; 31.12d: Michael T. Madigan; 31.13, 31.14a: CDC/PHIL; 31.14b: CDC/PHIL, Janice Haney Carr; 31.15a, b: CDC/PHIL; 31.15c: Medical-on-Line/Alamy; 31.16a: John M. Martinko; 31.16b: CDC/PHIL, Elizabeth White; 31.18, 31.19: CDC/PHIL.

Capítulo 32 Figura de inicio de capítulo: CDC/PHIL; (recuadro): CDC/PHIL, L. Ajello; 32.1a: CDC/PHIL, Leanor Haley; 32.1b: CDC/PHIL, A.A. Padhye; 32.1c: CDC/PHIL, M. Jalbert, L. Kaufman; 32.1d, e: CDC/PHIL, L. Ajello; 32.1f: CDC/PHIL, L. Georg; 32.2: CDC/PHIL; 32.3a: Gordon C. Sauer; 32.3b, c: CDC/PHIL; 32.4a: Gordon C. Sauer; 32.4b: CDC/PHIL, L.K. Georg; 32.5a: CDC/PHIL, M. Hicklin; 32.5b: CDC/PHIL, L.K. Georg; 32.5c: CDC/PHIL, E.P. Ewing, Jr; 32.5d: CDC/PHIL, M. Hicklin; 32.5e: CDC/PHIL, M. Castro, L.K. Georg; 32.5f: CDC/PHIL; 32.6a, b: CDC/PHIL, M. Melvin; 32.6c: CDC/PHIL, L.L.A. Moore, Jr; 32.7a: CDC/PHIL, G.S. Visvesvara; 32.7b: Stanley L. Erlandsen, University of Minnesota Medical School; 32.7c: Dennis E. Feely, Stanley L. Erlandsen, y David G. Case; 32.8a: Steve J. Upton, Kansas State University; 32.8b, 32.9: CDC/PHIL; 32.10: CDC/PHIL, Edwin P. Ewing, Jr; 32.11: CDC/PHIL, Jim Gathany; 32.12a: Steven Glenn, CDC; 32.12b: CDC/PHIL, M. Melvin; 32.13a: CDC/PHIL, F. Collins, J. Gathany; 32.13b: CDC/PHIL, M. Melvin; 32.13c: CDC/PHIL, D.S. Martin; 32.14a: CDC/PHIL, Myron G. Schultz; 32.14b: CDC/PHIL, WHO; 32.14c: CDC/PHIL, M. Melvin; 32.15a: CDC/PHIL, S. Maddison; 32.15b: CDC/PHIL; 32.15c: CDC/PHIL, A.J. Sulzer; 32.15d, 32.16: CDC/PHIL.

Índice

+1-Metilpentilsuccinato, 453-454
1,2-Dialcoholes, 473-474
1,3-Bisfosfoglicerato, 89-90, 90-92, 426, 448-449
16S rRNA, 375-376, 377, 379, 381-383, 382-384, 392, 393-394, 394-395, 397-398, 400-401, 511, 512, 513, 516-517, 523-524, 537-538, 541, 542-543, 564-566, 567-568, 620-621, 622-628, 636-637, 657-658, 657-658, 664-665, 726-727, 739-740
  microbioma de la piel fúngica, 763
  microbioma humano inferido de, 742-743, 743-745
18S rRNA, 381-383, 585, 599-600, 620-621
2,3-difosfoglicerato potásico cíclico, 577-578
2,4-D, 706-707
2,4,5-T, 706-707
23S rRNA, 620-621, 622-623, 625-626
28S rRNA, 620-621
3-Fosfoglicerato, 102-103
3-Hidroxi-4(1H)-piridona y 2, 3-dihidroxipiridina (DHP), 741
3,4-DHP, tóxico, 741
454 pirosecuenciador, 194-195, 195-196
5-Bromodeoxiuridina, 360-361
5-Bromouracilo, 313-314
5-Fluorocitosina, 887-888, 889-890
5-Hidroximetilcitosina, 264-265, 265-266, 267-270
5-Oxitetraciclina, 861, 885-886
5,7,3′4′-Tetrahidroxiflavona, 730-731
5,7,4′-Trihidroxiisoflavona, 730-731
7-Clortetraciclina, 885-886
α-Cetoglutarato, 99, 98-100, 102-103, 103-104, 234-235, 246, 414-416, 726-727
α-Galactosidasa, 769, 771
α-Glucosidasa, 769, 771
α-Glucosilglicerol, 175-176
α-Toxina, 778, 777, 779-781
Abecuosa, 46-47
Abejas, antibióticos, 861
Abiotrofia, 767-768
Abomasum, 738-739
Aborto espontáneo, 786-787
Absceso, 819-821
  cultivo de una muestra de absceso, 868-869
Absorbancia, 164-165
Abundancia de especies, 644-646, 677-678
Abuso de drogas, intravenoso, 921
Acanthamoeba, 283-284, 715-716
Acatoacetil-CoA, 103-104
Accumulibacter phosphatis, 712-713
Aceites de pino, 184-185
Aceptor de electrones, 86-89, 109, 447-449
  compuestos halogenados como, 447, 448
  metabolismo quimiolitotrófico en las fuentes hidrotermales submarinas, 675-676
  orgánico, 447, 448
  respiración anaerobia, 98-101, 436-437, 447-449
  terminal, 88-89, 90-92, 435-436
Aceptor final, 135-136
Aceptor orgánico de electrones, 448
Aceptor terminal de electrones, 88-89, 90-92, 435-436
Acetato, 68-70, 432-433, 453-455, 475-476, 476-477, 547-548, 559-561, 560-561, 561-562
  conversión a metano, 445-446, 560-561, 681-682, 682-683
  descomposición anóxica, 683-684
  fuente de carbono y energía, 534-535
  metanogénesis, 445-446
  oxidación, 442-444, 447
    bacterias reductoras de sulfato, 439-441
  producción, 490-493
  producto de fermentación, 426-428, 430-431, 431-432, 433-434, 519-520, 528-530, 529-531, 683-684, 684-685, 748, 750
  rumen, 738-739, 739-740, 741, 742-743
Acetil-ACP, 103-104
Acetil-CoA, 69-70, 89-90, 98-100, 426, 427-428, 430-431, 431-432, 439-440, 450, 452-453
  carboxilación, 414-416, 416-417
  ciclo del ácido cítrico, 97-98, 99
  síntesis, 451-452, 452-453
Acetilasas, 889-891
Acetilcolina, 780-782
Acetileno, 427-428
Acetilfosfato, 89-90, 426, 427-428, 428-429, 439-440
Acetitomaculum ruminis, 442
Acetoanaerobium noterae, 442
Acetobacter, 492-493, 513, 514-515, 516-517, 612, 991-992
Acetobacter aceti, 492-493
Acetobacterium, 427-428
Acetobacterium wieringae, 442
Acetobacterium woodii, 442
Acetogénesis, 440-444, 457-458, 492-493, 659, 681-682, 683-684, 684-685
  conservación de la energía, 443-444
Acetogenium kivui, 442
Acetógeno, 490-492, 492-493, 496-498, 508-509
Acetoína, 428-430, 526-527
Acetona, 427-428
  Producto de fermentación, 427-428, 430-431, 528-530
Acetosiringona, 733-734
Acholeplasma, 531-532
Achromatium, 477-478, 478-479
Achromatium oxaliferum, 36-37
Achromobacter, 990-991
Aciclovir, 886-887, 954-955
Acidaminococcus fermentans, 427-428
Acidez, 172-173, 173-174
  Barrera a la infección, 785-786
  conservación de los alimentos, 990-991
Acidianus, 287-288, 416-417, 477-478, 569, 571, 570-572, 571, 573
Acidianus convivator, 288-289
Acidianus infernus, 572-573, 578-579
Acidificación, océano, 696-697
Acidithiobacillales, 518-519
Acidithiobacillus, 105, 486-487, 513, 518-519, 687-688, 694-695
Acidithiobacillus ferrooxidans, 173-174, 420-421, 421-423, 478-479, 562-563, 610-611, 689-690, 700-701, 701-702, 702-703
Acidithiobacillus thiooxidans, 419-421, 702-703, 717-718
Ácido 3-fosfoglicérico (PGA), 449
Ácido 6-aminopenicilánico, 883-884
Ácido-alcohol resistencia, 533-534, 550
Ácido ascórbico, producción comercial, 492-493
Ácido aspártico
  biosíntesis de pirimidina, 103-104
  código genético, 133-134
Ácido butírico, 430-431
Ácido caproico, 47-48
Ácido carbónico, 692-693
Ácido D-glutámico, 44-45, 45-46
Ácido deoxiribonucleico. *Véase* DNA
Ácido diaminopimélico (DAP, 44-45, 45-46, 155-156
Ácido dipicolínico, 56-57, 57-58, 74-75, 474-475
Ácido fólico, 79-80, 103-104, 445, 881-882, 882-883
Ácido fosfoglicérico (PGA), 414-415
Ácido fosfonofórmico (Foscarnet), 886-887
Ácido hialurónico, 776-777
Ácido hipocloroso, 819-821
Ácido inosínico, 102-103, 103-104
Ácido isobutírico, 529-531
Ácido isovalérico, 529-531
Ácido láctico, 523-524
Ácido Láurico, 47-48
Ácido lipoico, 79-80
Ácido lipoteicoico, 46-47, 774-775, 775-776, 795-796
Ácido liquénico, 725
Ácido micólico, 533-534, 935-936, 937-938
Ácido mirístico, 47-48
Ácido *N*-acetilmurámico, 44-45, 45-46, 48-49, 154
Ácido N-acetiltalosaminurónico, 48-49, 49-50
Ácido nalidíxico, 115, 881-882, 882-883
Ácido nicotínico (niacina), 79-80
Ácido nitroso, 313-314
Ácido oleico, 729-730
Ácido orótico, 103-104
Ácido oxálico, 717-718
Ácido *p*-aminobenzoico , 880-882, 882-883
Ácido palmítico, 47-48, 729-730
Ácido pantoténico, 79-80, 445
Ácido peroxiacético, 184-185
Ácido poli-β-hidroxibutírico, 51-52
Ácido propiónico, 431-432, 533-534
Ácido ribonucleico. *Véase* RNA.
Ácido siálico, 296-297
Ácido tartárico, 14-15, 15-16
Ácido teicoico, 46-47, 74-75
Ácido tolerancia, modelo para, 562-563
Acidobacteria, 378-380, 462, 463, 474-475, 485-486, 492-493, 547-548, 657-658, 657-658, 662-663, 668-669, 673-674
Acidobacterium capsulatum, 547-548
Acidófilo extremo, 174-175, 175-176, 188, 381-383, 554, 555-559, 580-581
  balance hídrico, 557-558
  componentes citoplasmáticos, 557-558
  definición, 555-556
  fisiología, 556-558
  hábitat, 555-557, 557-558
  Síntesis de ATP mediada por la luz, 557-559
  taxonomía, 556-558
Acidófilo, 9-10, 172-173, 173-174, 188, 554, 689-690, 691-692, 703-704
  estricto, 381-383
Acidófilos extemos, 381-383
Ácidos biliares, 768-769, 769, 771
Ácidos graso de número impar de átomos de carbono, 105
Ácidos grasos
  Análisis FAME, 396-398
  Cadena impar de átomos de carbono, 105
  cadena larga, 498-499
  cadena ramificada, 105
  clases, en *Bacteria,* 396-397
  Efectos de las elevadas presiones, 670-671
  estructura, 103-105
  insaturado, 105, 170, 172-173
  oxidación, 475-476, 477-478
  poliinsaturados, 170
  saturado, 170, 172-173
  volátil, 738-739, 739-740, 741, 742-743, 744-745, 761-762
Ácidos grasos de cadena larga, 498-499
Ácidos grasos insaturados, 105, 170, 172-173
Ácidos grasos poliinsaturados, 170
Ácidos grasos ramificados, 105
Ácidos grasos saturados, 170, 172-173
ácidos grasos volátiles, 738-739, 739-740, 741, 742-743,
Ácidos nucleicos, 112-113, 145-146
  componentes, 112-113
  hibridación. *Véase* hibridación
  síntesis, 102-103, 887-888
Acidosis, 741
Acidovorax, 487-488, 610-611
Acil-homoserina lactonas, 238-239, 240-241, 504-505, 649-650
Acineto, 466-467
  código genético, 133-134
  estructura, 132-133
  fermentación de la alanina, 430-431, 431-432
  síntesis, 102-103
Acinetobacter, 50-51, 319-320, 765-766, 767-768, 864-865, 865-866, 990-991
  reistencia antimicrobiana, 891-892
Acné, 944-945, 945-946
Aconitato, 99, 427-428
Acontecimientos naturales anormales alteran a veces el equilibrio habitual entre el hospedador y el patógeno, 916-917
Acridina, 313-315
Acrilato, 687-688
Actina, 70-71, 71-72
  proteína procariótica similar a, 153-154, 154
Actinobacteria, 378-380, 380-381, 462, 482-483, 486-487, 488-489, 512,

523-524, 532-538, 657-658, 657-658, 662-663, 667-668, 668-669, 673-674, 742-743, 743-744, 744-745, 745-746, 749, 750-751, 765-766, 767-768, 768-769. *Véase también* bacterias grampositivas de elevado GC
filamentoso, 534-538
Mycobacterium, 533-535
principales órdenes, 524-525
Actinobacteridae, 662-663
Actinomicetes filamentosos, 534-538
Actinomicina, 881-882, 883-884
Actinomyces, 524-525, 534-535, 745-746, 765-766, 776-777
Actinomycetales, 524-525, 532-533
Actinomycetes, 534-538
Actinorodopsina, 662-663
Activación de motivos de la tirosina con base inmunológica, 844-845
Actividad de agua, 174-175
alimentos, 174-175, 990-991
crecimiento y, 174-175
definición, 188-189
suelo, 655-656
Actividad microbiana
en el suelo, 654-655
en la naturaleza, 610, 613
tasas, 644-645
tipos, 644-645
Acuífero, 657-658
Adamantanos, 943-944
Adaptación microbiana, 915-916, 916-917
Adaptación, 237-238
molecular, vida a elevadas temperaturas, 575-579
Adaptador, DNA, 341-342
Adenil ciclasa, 783-784
Adenilato ciclasa, 233-234
Adenililación, 252-253
Adenina, 112-113, 115
Adenosina difosfoglucosa (ADPG), 101-102
Adenovirus, 270-271, 289-291, 874-875, 941-942
genoma, 289-290
Adherencia, 771-773, 773-776, 777, 779, 788-789
Adherencia, biopelícula, 649-650, 650-651
Adición enzimática de CCA, 135-136
Adyuvante, vacuna, 817
Aerobactina, 916-917
Aerobio, 7-8, 83-84, 175-176, 188
estricto, 176-177
facultativo, 83-84, 175-176, 176-177, 179
hábitat, 176-177
técnicas de cultivo para, 176-178
Aeromonadales, 518-519
Aeromonas, 486-487, 518-519, 990-991
Aeromonas veronii, 756-757
Aeropyrum, 571, 573
Aerotaxia, 64-65, 65-66, 238-239
Afinidad de la unión del antígeno, 831-832
Aflatoxina, 1009
África, enfermedades infecciosas en, 912-914, 915-916, 922-923
Agalla de corona, 357-358, 732-734
Agar, 17-18, 20, 18, 20, 20-21, 81-82, 82, 603-604. *Véase también* Tipos específicos
de tubos con agar fundido, 476-477
ensayo de virus en placa de agar semisólido superpuesto, 262-263
Agar chocolate, 866-867, 867-868, 869-870
Agar CHROM, 870-872
Agar eosina-azul de metileno (EMB), 867-868, 868-869, 869-872, 985-986
Agar Hektoen, 997-998
Agar manitol salino, 945-946
Agar para enterobacterias, 867-868
Agar sangre, 866-867, 867-868, 868-869
Agar Thayer-Martin, 866-867, 867-868, 938-939
modificado (MTM), 869-870
Agaricus, 602-603
Agarosa, 337-338
Agente alquilante, 313-314
Agente antimicrobiano, 183-184, 188. *Véase también* Antibiótico
efecto en el crecimiento, 183-184
eficacia, 186
medición de la actividad antimicrobiana, 183-185
tipos, 183-184, 184-185
uso externo, 184-186
utilizados in vivo, 880-890
Agente bactericida, 183-184, 188
Agente bacteriolítico, 183-184
Agente bacteriostático, 183-184, 188
Agente específico de terminación de la cadena, 194-195
Agente estático, 183-184
Agente fotoprotector, 407-408
Agente fungicida, 183-184, 188, 705-706
Agente fungistático, 183-184, 188
Agente intercalante, 313-315
Agente quimioterapéutico, 885-887
Agente reductor, 176-177, 476-477
Agente viricida, 183-184, 188-189
Agente viristático, 183-184, 188-189
Agentes antigripales, 886-887
Agentes de enfermedad, 8-11
Agentes de transferencia génica, 307, 749-748, 750
Agentes seleccionados, armas biológicas, 917-918
Agentes subvíricos, 298, 300-302
Aglutinación, 873-874, 895-896
directa, 873-874
Aglutinación directa, 873-874
Aglutinación pasiva , 873-874
Agricultura,
microbiología, 9-12, 22-23
plantas transgénicas, 357-360
uso de antibióticos en, 889-891
Agrobacterium, 119, 732-734
Agrobacterium rhizogenes, 732-733
Agrobacterium tumefaciens, 357-358, 358-359, 514-515, 732-733, 733-734
Agua
aguas subterráneas, 657-661
como vehículo de enfermedad, 984-987
división, 412-413
en la fotosíntesis oxigénica, 412-413
en suelos, 654-655
permeabilidad de las membranas a, 38-39
tierra primigenia, 370-372
Agua de bebida segura, 986-987
Agua no tratada (pura), 713-714, 720-721
Agua potable (agua de bebida), 986-987
enfermedades transmitidas a través del agua, 713-714, 715-716, 984-985, 1013-1014
estándars, 651-652, 703-705
microbiología, 22-23
purificación y estabilización, 713-715
sistema de distribución, 714-716
corrosión por microorganismos, 700-701, 715-717
Agua potable, 713-714, 720-721, 1004-1005
el agua como fuente de enfermedades, 984-985
Agua pura (no tratada), 713-714, 720-721
Agua subterránea, 657-661
contaminación por uranio, 703-704, 703-705
microbiología de la subsuperficie profunda, 657-658
Agua terminada, 713-714, 714-715, 720-721
Aguas de recreación, enfermedades transmitidas por el agua, 984-986, 1014-1015
Aguas dulces, ciclo del hierro y manganeso, 688-689
Aguas residuales industriales, 707-708, 708-709
Aguas residuales urbanas, 707-708, 708-709
Aguas residuales, 707-713, 720-721
brote de cólera, 923-924
corrosión de la corona del acantarillado de hormigón, 717-718
Aguas residuales, 707-708, 720-721. *Véase también* tratamiento de aguas residuales
domésticas, 707-708, 708-709
industriales, 707-708, 708-709
Aire acondicionado, 715-716
Aislamiento, 610, 613, 925-926
de una sola célula, 615-618
distinción entre nicho fundamental y nicho efectivo, 616
en cultivo puro, 614-618
Albugo, 591-592
Alcaligenes, 105, 119, 516-517
Alcalinidad, 172-173, 173-174
Alcalófilo, 9-10, 173-174, 188
Alcanivorax borkumensis, 703-705
Alcohol(es), 427-428. *Véase también* etanol
antiséptico, 184-185
desinfectantes, 184-185
esterilizantes, 184-185
producto de fermentación, 683-684
Aldolasa, 90-92, 91-92, 428-429
Alelo, 386, 394-395, 400-401
Alérgeno, 808-810
desensibilización, 791
dosis sublinguales, 791
Alergia, 808-810, 832-833, 1009
cacahuete, 791
Alergias alimentarias, 791
Alfavirus, 917-918
Algas, 3-4, 603-607, 607-608
arrecifes de coral, 756-759
béntica, 660-661
blanca, 168-169
colonial, 604-605, 605-606
coralino, 603-605
degradación de hidrocarburos, 703-705
dorada, 591-592, 593-594
filamentosas, 603-604, 604-605, 605-606
líquen, *Véase también* Lichen
marrón, 591-592, 593-594
microfosil, 373-374, 374-375
nieves, 168-169
proliferaciones masivas, 661-662
psicrofílico, 168-169
roja, 583, 584-585, 585, 586, 590-591, 603-605
solutos compatibles, 174-175, 175-176
unicelular, 603-604, 604-605
verde, 69-70, 167-168, 168-169, 584-585, 585, 586, 589-590, 603-604, 604-607
Alginato liasa, 357-358
Algoritmo, 383-384
Alicyclobacillus, 527-529
Alicyclobacillus acidocaldarius, 527-529
Aliivibrio fischeri, 174-175, 238-239, 239-240, 504-505, 752-754
Aliivibrio, 518-519, 521-522
Alilamina, 881-882, 887-888
Alimento
actividad de agua, 174-175, 990-991
alteración, 10-12, 180-181, 476-477, 600-601, 989-991, 1004-1005
cólera, 986-987, 987-988
como vehículo de enfermedad, 989-994
congelado, 10-12, 990-991
conservación química, 991-992
conservación, 990-992
contenido en humedad, 990-991
desecado, 990-992
en lata, 996-997
enlatado, 10-12, 990-991
esterilización por radiación, 182
fermentado, 991-992
irradiado, 991-992
no perecedero, 990-991, 1004-1005
perecedero, 989-990, 1004-1005
probiótico, 770
salado, 555-556, 990-991, 995-996
semiperecederos, 989-991, 1004-1005
Alimiamiento de secuencias, 381-383, 382-384, 400-401
Aliso, 731-733
Allochromatium vinosum, 469-470
Allochromatium warmingii, 397-398
Allomyces, 600-601
Almacenamiento de polímero, 89-92, 647-648
Almacenamiento de productos nitrogenados, 466-467
Almejas gigantes, 754-755
Almidón, 90-92, 92-93, 101-102
degradación, 739-740, 741, 742-743
Alnus glutinosa, 731-732
Aloficocianina, 407-408, 410-411
Alteración de los alimentos, 10-12, 180-181, 476-477, 600-601, 989-991, 1004-1005
Alternaria, 990-991
Alteromonadales, 518-519, 668-669, 673-674, 675-676
Aluminio, adyuvante en vacunas, 817
Aluminio, drenaje ácido de minas, 702-703
Alveolados, 378-380, 584-585, 586, 589-592
Alveolos, 589-590
Alvinella, 523-524
Amanita, 599-600, 602-603, 603-604
Amantadina, 943-944
Ambiente, 646-649
efecto en el crecimiento, 164-179
microambientes, 646-648, 677-678
Ambiente aguas dulces, 660-663
Ambiente anóxico de aguas dulces, 660-661, 661-662
Ambiente clínico, 862-866
Ambiente extremo, 1, 167-173, 467-469
tolerancia, 7-9
Ambiente hospitalario, 862-865, 865-866, 903-904, 945-946
Ambiente óxico, 647-648
ambiente de aguas dulces, 661-662
Ambiente terrestre, 6-7, 653-661
Ambientes acuáticos, 660-676
Ambientes fríos, 167-170
Ambientes termales, 170
Amebiasis, 876-877, 913-914, 1012-1013
Amebocitos, 783-784, 783-785
Amebozoo, 378-380, 586, 594-596, 1012-1013

Ames, Bruce, 312-313
Amikacina , 881-882
Amilasa, 92-93
Aminoácido, 80-81, 145-146
  aromático, síntesis, 251-252
  captación, 557-559
  enantiómeros, 131-132
  esencial, 744-745, 747-748
  esqueleto carbonado, 102-103
  estructura, 131-133
  familias, 102-103, 131-132
  fermentación, 92-93, 427-428, 430-432, 528-530, 529-531
  grupo amino, 102-103, 103-104
  grupo R, 132-133
  no polar, 131-132, 132-133
  secuencia, 211-212
  síntesis, 102-103
Aminoácidos esenciales, 744-745, 747-748
Aminoacil-AMP, 136
Aminoacil-tRNA sintetasa, 135-136, 136, 145-146
Aminoglicósido, 882-883, 884-885, 895-896
  resistencia, 889-891
Aminotransferasa, 102-103
Ammonifex, 477-478
Amoeba, 592-593, 594-595
  hongo mucilaginoso, 595-596
Amoeba proteus, 594-595
Amoebae, parásitas, 1012-1013
Amoebobacter purpureu, 467-469
Amonificación, 685-686
Amonio, 417-418, 481
  donador de electrones, 422-423
  fermentación de aminoácidos por clostridios, 430-431
  fuente de energía, 100-101
  reducción desasimilativa del nitrato a, 631-632, 685-686
Amonio anhidro, 686-687
Amonio monooxigenasa, 422-423, 423-424, 484-485, 628-629
Amoxicilina, 947, 970-971
AMP cíclico (cAMP), 254-255
  agregación de hongos mucosos, 595-596
  estructura, 233-234
  pertussis, 935-936
  represión por cacatabolito, 233-234
  toxina colérica, 783-784
Amphibacillus, 527-529
Ampicilina, 883-884, 894-895, 935-936
  resistencia, 346-347
Amplicón, 624-625
  visualización, 879-880, 880-882
Amplificación de ácidos nucleicos, 879-882
Amplificación genómica por desplazamiento múltiple (MDA), 214-215, 637-638, 640
Amplificación, ácidos nucleicos, 879-882
Anabaena, 54-55, 105, 106, 243-244, 244-245, 246, 464-465, 466-467, 467-468, 467-469, 634-635, 724
Anabaena azollae, 731-732
Anabaena variabilis, 465-466, 482-483
Anaerobacter, 527-529
Anaerobio, 7-8, 83-84, 175-177, 188
  aerotolerante, 175-177, 179, 188, 523-524
  cultivo, 176-178, 869-870
  Entamoeba histolytica, 1012-1013
  estricto, 176-177, 188-189, 423-424, 425, 436-437, 492-493, 537-538, 558-559, 562-563, 567-568, 568-569
  hábitat, 176-177
  intestinal, 768-769
  rumen, 739-740, 741, 742-743
Anaeroplasma, 531-532
Anafilatoxinas, 834-836
Anafilaxis, 791, 808-809
Análisis automatizado del espacio intergénico ribosómico (ARISA), 622-625, 625-626
Análisis bayesiano, 383-384
Análisis de genoma completo, 395-396
Análisis de la comunidad, 610, 613-631
  aislamiento, 614-618
  cultivo de enriquecimiento, 610, 613-615
  filochips, 625-627
  FISH, 620-621
  genómica ambiental, 627-629
    ensamblaje de genomas, 609
    método de un único gen frente a la genómica ambiental, 627-628
  métodos de tinción, 617-620
  reacción en cadena de la polimerasa, 621-626
  tecnología de secuenciación de última generación, 624-625, 626-627
  vínculo de genes específicos a organismos concretos, 621-622
Análisis de la curva de fusión, 880-882
Análisis de la secuencias multigénicas, 394-395, 395-396
  análisis filogenético, 394-395
Análisis de las secuencias de RNA, 209-211
Análisis de micromatrices con filochip, 664-665
Análisis de secuancias, 393-394, 622-623, 624-625, 626-627
  gen, 393-394, 394-395
  produndo, 624-625
  siguiente generación, 624-625, 626-627
Análisis de secuencia de genes. *Véase* Análisis
Análisis dependiente de cultivo, 610, 613-618
Análisis fenotípico, 392, 396-398
Análisis filogenéticos, 392
  alimeamiento de secuencias, 381-383, 382-384
  diversidad procariota en las fuentes hidrotermales, 675-676, 676
  diversidad procariota en sedimentos marinos, 672-674
  diversidad procariota marina, 668-670
  diversidad procariotaen suelos, 655-658
  diversidad procariótica en aguas dulces, 661-663
  genes empleados en, 381-383
  obtención de secuencias de DNA, 381-383, 382-384
Análisis genotípico, 392
Análisis independiente de cultivo, 610, 613, 616, 617-631
Análisis multiparamétrico, citometría de flujo, 634-636
Análisis profundo de las secuencias, 624-625
Análogo de base, 313-314
Análogo de nucleósido, 881-882, 885-887, 894-895, 958-959
Análogo del pirofosfato, 886-887
Análogos de bases nucleotídicas, 313-314
Análogos de los ácidos nucleicos, 881-882, 887-888, 889-890
Análogos de nucleótidos, 886-887
Anammoxoglobus, 425
Anamox, 422-423, 423-425, 457-458, 686-687
  ecología, 425
  zonas con mínimos de oxígeno, 664-665
Anamoxoma, 423-425, 542-543
Anaplasma phagocytophilum, 969-970
Anaplasmosis, 911-912
  transmitido por una garrapata, 968-970
Anaplasmosis granulocícita humana (HGA), 968-970
Ancalomicrobium, 500, 502
Ancalomicrobium adetum, 501
Ancestro común universal, último, 5-6, 6-7, 372-373, 378-380
Ancestro común. *Véase* Ancestro común universal
Anclaje, 501, 500, 502
Ancylobacter aquaticus, 54-55, 496-498
Anemia perniciosa, 810-811
Anemia, perniciosa, 810-811
Anergia clonal, 853-855, 857-858
Anergia, 853-855, 857-858
Anfotericina B, 537-538, 887-888, 1009
Anginas, 775-776, 877-878, 931-932, 932-933
Anhidrasa carbónica, 79-80, 414-416
Anillo β-lactámico, 883-884
Anillo C, 58-60, 61-62
Anillo de fase, 30-31
Anillo FtsZ, 150-152, 154
Anillo L, 58-60, 60-61, 61-62
Anillo MS, 58-60, 60-61, 61-62
Anillo P, 58-60, 60-61, 61-62
Anillo pirrol, 94-95
Animálculos, 13-15
Animales, 378-380
Animales con ciego (intestino), 737-738
Anión superóxido, 178, 179, 819-821
Anotación, 197-199
Antibiograma, 871-872, 895-896
Antibióticos, 184-185, 326-327, 882-886, 895-896. *Véase también* Compuestos específicos
  abejas, 861
  alimentación animal, 889-891
  amplio espectro, 882-883, 884-885, 895-896
  aromático, 887-888
  β-lactámicos, 883-885, 892-893, 895-896
  biopelícula, 166, 649-650, 650-651
  búsqueda de nuevos antibióticos, 892-895
  combinado con compuestos que inhiben la resistencia a los antibióticos, 894-895
  de estrecho espectro de acción, 882-883
  efecto en las mitocondrias y los cloroplastos, 584-585
  efecto sobre la microbiota intestinal, 770
  efecto sobre la RNA polimerasa, 883-884
  espectro reducido, 882-883
  inhibición de la DNA girasa, 115
  macrólidos, 884-885
  modo de acción, 883-884
  natural, 882-886
  péptido, 131-132
  producción, 527-529, 536-538, 884-886
  producción anual mundial y uso, 882-883
  producción comercial, 537-538
  productos naturales como, 893-895
  prueba de susceptibilidad, 870-872, 871-872
  semisintéticos, 882-883, 883-884, 884-885, 885-886
  síntesis de proteínas, 882-883
  tratamiento del carbunco, 920
  uso inapropiado de, 889-892
  uso no médico, 889-891
  usos agrícolas, 889-891
Anticoagulantes, 792-793
Anticodón, 133-134, 135-136, 140, 145-146
Anticonceptivos orales, 949-951
Anticuerpo, 792-793, 794-795, 795-796, 796-797, 797-800, 812-814, 819-821, 821-822, 847-851. *Véase también* Inmunoglobulina (Ig)
  activación del complemento, 834-837
  aglutinación, 873-874, 895-896
  control genético, 832-833
  detección, 876-877, 878-879
  diversidad, 847-848, 848-851
  especificidad, 822-823
  fluorescente. *Véase también* Prueba con anticuerpos fluorescentes
  inmunidad, 828-837
  otros tipos, 831-833
  producción, 832-834
    citocinas y, 855-856
  reacción antígeno-anticuerpo, 834-835, 835-836, 872-873
  título, 804-806, 833-834, 872-873
  transferidos a los recien nacidos, 802-803
  unión al antígeno, 822-823, 848-850, 854-855
Anticuerpos fluorescentes, 895-896
Antígeno, 342-343, 526-527, 792-793, 812-814, 821-826, 837-838
  diversidad de receptores, 832-834
  heterólogo, 822-823
  homólogo, 822-823
  polisacárido, 806-807
  superantígeno, 808-809, 810-812
  unión peptido-antígeno, 846-848
Antígeno capsular Vi, 777, 779
Antígeno H, 777, 779
Antígeno leucocitario humano (HLA), 823-824, 846-847, 857-858
  complejo HLA, 844-845
  homínidos ancestrales, 839
  mapa génico, 845-846
Antígeno M1, 807-808
Antígeno O, 777, 779
Antígeno protector (PA), 778, 916-917, 918-919
Antígenos de polisacárido, 806-807
Antígenos propios, 822-823, 851-855
Antihistaminas, 808-810
Antiporter sodio-protón, 558-559
Antiporter, 42-43
Antiséptico, 184-185, 186, 188
Antisuero, 802-803, 830-831
Antitoxina, 798-799, 802-803
Antitoxina diftèrica, 935-936
Añil, modificación genética en la producción de, 363-364
Apareamiento, 601-603
Apareamiento con balanceo, 204-205
APC, 748, 750. *Véase también* Células presentadoras de antígeno
  Áfido
  importancia nutricional de los simbiontes estrictos, 747-748
  simbiontes primarios y secundarios, 746-747
Apertura numérica, 29
Apicomplexans, 584-585, 585, 589-590, 590-592
Apicoplasto, 590-591
Apilamiento de lixiviación, 700-701, 701-702
Aplicación de la ciencias biológicas, microbiología como, 2
Apoplasto, 735-736
Apoptosis, 824-826, 853-855

APS quinasa, 439-440
APS reductasa, 419-421, 439-440, 440-441, 487-488
APS. *Véase también* Fosfosulfato de adenosina
Aquabacterium, 487-488
Aquaporinas, 38-39
Aquaspirillum, 49-50, 492-494
Aquifex aeolicus, 193, 545-546
  genoma, 199-200
Aquifex, 7-8, 414-416, 477-478, 544-545, 545-546
Aquifex pyrophilus, 544-545, 575-576
Aquificae, 378-380, 462, 477-478
Arabidopsis, 206-207, 212-213, 216-217
Arabidopsis thaliana, 206
Árbol de la vida universal, 377-378, 400-401
Árbol filogenético, 4-5, 6-7, 7-8, 375-376, 377-378, 382-386, 400-401, 622-623
  construcción, 382-384
  eucariótico, 585-588
  limitaciones, 383-386
  multigen, 381-383
  nódulos y ramas, 382-384, 383-384
  sin raíz y con raíz, 382-384, 383-384
  universal, 378-380
Árbol, micorrizas, 733-734
Arbovirus, 911-912, 971-973
Arbúsculos, 730-731, 734-735, 735-736, 760-761
Archaea, 3-4, 5-6, 370, 377, 379, 400-401
Archaea reductoras del azufre, 477-478
  alcalofílico, 173-174
  árbol filogenético, 6-7, 7-8
  calentamiento global, 553
  desnitrificación, 485-486
  distribución génica, 200-202
  diversidad, 675-676, 676
  diversidad procariota en sedimentos marinos, 672-673, 673-674
  evolución, 5-6, 6-7, 574-580
  filogenia, 378-380, 380-383, 554
  flagelos, 59-60
  genómica y nuevos, 191
  halófilos extremos, 555-559
  hipertermófilos, 170, 172-173, 562-565, 567-568, 568-575
  mar abierto, 666-668
  membrana citoplasmática, 38-39
  metabolismo, 372-374, 374-375, 554
  metabolismo energético, 554
  metanogénico, 558-562
  morfología celular, 153-154
  Nanoarchaeum, 191, 483-485. *Véase también* Nitrificación en *Nanoarchaeum*
  Thaumarchaeota y, 564-567
  oxidadores de amonio, 423-424, 484-485, 663-664
  pared celular, 45-46, 46-47, 48-50
  piezófilos, 669-671
  piezotolerantes, 669-670
  Principales características funcionales a través de los principales filos, 462
  procariotas de las fuentes termales
  propiedades fenotípicas, 380-381
  reducción del sulfuro, 477-478
  respuesta al choque térmico, 241-242
  RNA polimerasa, 126
  secuencias intermedias, 130
  sedimentos profundos marinos, 643
  semejanzas con *Eukarya,* 375-377, 380-381
  sin pared celular, 561-563
  sistema CRISPR, 328-330
  transcripción, 129-130
    control de, 234-235
  transferencia de genes, 326-327
  virus, 287-289
Archaeoglobales, 564-566
Archaeoglobus, 439-440, 476-477, 554, 564-566, 569, 571, 570-572, 686-687
Archaeoglobus fulgidus, 564-565
Arcillas, 653-654
Arcobacter, 522-523, 675-676, 676
Área costera, 663-664, 665-666
Área de la superficie, 36-38
Arena, 653-654
Arenavirus, 270-271, 917-918
Arginina
  cianoficina, 466-467
  código genético, 133-134
  estructura, 132-133
  fermentacion, 431-432
  síntesis, 102-103, 229-230
ARISA, 622-625, 625-626
Armas biológicas, 917-920
  candidatos, 917-918
  características, 917-918
  distribución, 920
  prevención y respuesta, 920
Armatimonadetes (OP10), 511
Arquea oxidadoras de amonio, 423-424, 484-485, 663-664
Arrecife de coral, 604-605, 696-697
  ecosistemas, 756-759
Arrecifes de coral, 756-759
Arrozal, 731-732
Arseniato, 447
  reducción, 547-548
Arsénico, 701-702, 702-703
Arsenito, 447
Arthrobacter, 524-525, 532-534
Arthrobacter crystallopoietes, 532-533
Arthrobacter globiformis, 533-534
Arthrospira, 464-465
Arthrospira maxima, 465-466
Artritis, 526-527, 864-865, 944-945
Artritis reumatoide, 810-811
Ascas, 601-602
Ascomicetos, 598-599, 599-600, 601-603
Ascospora, 599-600
Asimilación de compuestos de un carbono, 451-453
Asma, 746-747, 808-809
Asociaciones patogénicas, 724
Asparagina, 731-732
  código genético, 133-134
  estructura, 132-133
  síntesis, 102-103
Aspartamo
  estructura, 132-133
  síntesis, 102-103, 103-104
    de purina, 103-104
Aspergillus, 14-15, 598-599, 599-600, 601-602, 990-991, 991-992, 1009
  hongos intestinales, 214-216
Aspergillus flavus, 1009
Aspergillus fumigatus, 598-599
Aspergillus nidulans, 206
Aspergillus niger, 182
Aspergilosis, 1009
Asterolampra, 591-592
Asteroleplasma, 531-532
Asticcacaulis, 500, 502, 513
Asticcacaulis biprosthecum, 501
Astrovirus, 1002
Atenuación, 248-250, 254-255, 773-774, 788-789
Atenuador, 248-250
Aterrizaje en el fondo del mar, 631-632, 632-633
Atmósfera
  acumulación de oxígeno, 372-373, 373-375
  tierra primitiva, 373-375
ATP, 83-84, 89-90, 112-113. *Véase también* Energía libre de hidrólisis en la mitocondria, 89-90
  fijación de nitrógeno, 106, 107
  produccion
    acetogénesis, 442
    acetógenos, 443-444
    bacterias del azufre, 419-421, 420-421
    bacterias nitrificantes, 422-423
    bacterias oxidadoras del hidrógeno, 418-419
    bacterias oxidadoras del hierro, 421-422
    bacterias reductoras del sulfato, 439-440
    células primitivas, 372-373
    descarboxilación de ácidos orgánicos, 432-433
    fermentación, 90-94, 426, 427-428
    fosforilación oxidativa, 97-98
    fotosíntesis, 404, 409-410, 410-412, 412-413
    fotosíntesis oxigénica, 412-413
    fuerza protonmotriz, 96-98, 100-101
    glicólisis, 90-93, 93-94
    halófilos extremos, 557-559
    metanogénsis, 442
    metanógenos, 446-447
    quimiolitotrofia, 417-418
    respiración, 93-94
    sintrofía, 434-435, 435-436
    sistema de transporte de electrones, 95-98
  estructura, 89-90
  síntesis, tipo de fermentación descarboxilativa, 433-434
ATP sintasa, 96-98, 109, 203-204, 412-413
  reversible, 97-98
ATP sulfurilasa, 439-440
ATPasa. *Véase también* ATP sintasa.
Atrayente, 63-64, 64-65, 65-66, 236-237, 237-238
Atrazina, 706-707
ATV, 287-289
Aumento, 28, 29
Aureomicina. *Véase también* Clortetraciclina
Autoanticuerpo, 810-811, 812-814
Autoclave, 81-82, 180-181, 180-181, 188
Autoensamblaje, virus, 258-259, 266-267, 293-294
Autofluorescencia, 31-32, 445
Autofosforilación, 235-236
Autoinducción, 504-505, 508-509
Autoinductor, 238-239, 239-240, 254-255
Autoinmunidad, 808-810, 810-811, 812-814, 853-855
Autolisina, 154, 155-156, 319-320
Autolisis, 154
Autotrofía, 414-415
  aquifex, 545-546
  arqueas oxidadoras de amonio, 423-424
  bacterias anamox, 425
  bacterias del hidrógeno, 418-419
  bacterias oxidadoras del hierro, 421-422
  bacterias verdes del azufre, 414-417, 471-472, 473-474
  fotoautotrofia, 404
  metanógenos, 446
  rutas autotróficas, 414-417
  Thaumarchaeota, 564-566, 566-567
  uso de la vía del acetil-CoA y, 440-441
Autótrofo, 21-22, 79-80, 100-101, 109, 404, 457-458
  evolución, 372-373, 373-374
  fijación del dióxido de carbono, 414-416, 416-417
  fotoautótrofo, 100-101, 411-412, 472-474, 630-631
  oxidación de fosfito, 440-441
  ruta de la acetil-CoA, 442
Auxófrofos para la histidina, 309-310
Auxotrofía nutricional, 308-310
Auxótrofo, 308-310, 331-332
Avances tecnológicos, contribución a la emergencia de patógenos, 915-916
Avidez, inmunoglobulina, 831-832
Azidotimidina (AZT), 885-887, 957-958, 958-959
Azitromicina, 884-885, 949-950, 952-953
Azoarcus, 516-517
Azol, 881-882, 887-888, 1009
Azolla, 731-732
Azolla pinnata, 731-732
Azomonas, 105
Azorhizobium, 513, 514-515, 727-728
Azorhizobium caulinodans, 728-729, 730-731, 731-732
Azospirillum, 105, 482-483, 513, 514-515, 516-517
Azospirillum brasilense, 482-483
Azotobacter, 20-21, 105, 482-484, 513, 610, 613-611, 612, 685-686
Azotobacter chroococcum, 21-22, 483-484
Azotobacter vinelandii, 106, 483-484
AZT. *Véase* Azidotimidina (AZT)
Azúcar
  biosíntesis, 101-102
  conservación de los alimentos, 990-991
  entrada, 42-43, 42-44
  fermentación, 91-93, 310-311, 428-429, 430-431
  fosforilado, 42-43
  metabolismo, 102-103
Azufre
  aceptor de electrones, 562-563, 567-568, 569, 571, 570-572
  compuestos orgánicos de azufre, 687-688
  desproporcionado, 440-441, 686-687
  donador de electrones, 417-418, 570-572
  elemental. *Véase* Azufre elemental
  estados de oxidación, 475-476
  estudios con fraccionamiento de isótopos estables, 632-634
  metabolismo desasimilativo del azufre, 475-481
  oxidación, 419-421, 568-569, 569, 571, 646-647, 687-688
    a sulfato, 419-421
    bioquímica y energética, 419-421
  reducción, 372-373, 440-441
  requerimientos celulares, 78, 79-80
Azufre elemental, 52-53, 89-90, 420-421
  aceptor de electrones, 438-439, 554, 562-563, 564-565, 567-568
  desproporción, 440-441
  donador de electrones, 411-412, 413-414, 417-418, 419-421
  oxidación-reducción, 687-688
Azul de metileno, 29
β-1,3-Glucanasa, 887-888
β-2 Microglobulina, 842-844, 845-846
β-Caroteno, 407-408, 407-408, 409-410
β-Galactosidasa, 92-93, 229-230, 230-231, 232-233, 233-234, 345-346, 346-347, 348, 352-353, 364, 365, 769, 771, 876-877
β-Glucocerebrosidasa, 357-358
β-Glucosidasa, 769, 771
β-Glucuronidasa, 769, 771
β-Hemólisis, 526-527, 931-932, 932-933, 933-934
β-Isorrenierateno, 409-410

β-Lactamasa, 883-884, 884-885, 889-890, 889-891
β-Toxina, 778
Babesiosis, 911-912
Bacillaceae, 750-751
Bacillales, 524-525, 526-527, 526-527, 739-740, 750-751
Bacillus, 13-15, 55-58, 319-320, 485-486, 526-527, 527-530, 612, 685-686, 770, 882-883, 990-991
  características, 527-529
  esporulación, 55-56, 56-57, 57-58, 243-244, 252-253
  estructura de la endóspora, 55-57
  expresión génica durante la esporulación, 226-227, 227-228
  formación de endósporas y germinación, 55-56, 56-58
Bacillus anthracis, 16-18, 50-51, 119, 193, 527-529, 773-774, 778, 874-875, 881-882, 916-917, 917-918, 918-919, 920, 975-977
Bacillus brevis, 49-50
Bacillus cereus, 30-31, 527-529, 618-619, 622-623, 778, 777, 779, 992-994, 1001-1002, 1002
Bacillus circulans, 527-529
Bacillus coagulans, 527-529
Bacillus firmus, 173-174
Bacillus globigii, 337-338
Bacillus licheniformis, 527-529
Bacillus macerans, 527-529
Bacillus megaterium, 56-57, 527-529, 619-620, 622-623, 819-820
Bacillus polymyxa, 612
Bacillus sphaericus, 527-529
Bacillus subtilis, 153-154, 182, 192-193, 318, 319-320, 323-324, 527-529, 622-623, 862-865, 889-891
  división binaria, 150-151
  esporulación, 56-57, 57-58
  formación de la endóspora, 243-244, 244-245
  genoma, 193, 200-201
  hospedador de clonación, 349-350
Bacillus thuringiensis, 358-360, 527-530
Bacilos formadores de endósporas, 527-531
Bacilos gramnegativos, aerobios facultativos, 518-519
Bacitracina, 527-529, 881-882
Bacteremia, 538-539, 775-776, 788-789, 867-869, 895-896
Bacteria (dominio), 3-4, 5-6, 370, 377, 379, 400-401. *Véase también* Bacerias nitrificantes
  biomasa, 8-9
  desnitrificación, 485-486
  distribución de genes, 200-202
  diversidad procariota en fuentes hidrotermales, 675-676, 676
  diversidad procariota en sedimentos marinos, 672-674
  evolución, 5-6, 6-7
  fósil, 373-374
  metabolismo, 372-374
  pared celular, 42-49
  principales características funcionales cartografiadas en los filos más importantes, 462
  producción de antibióticos, 884-885
  semejanzas con los eurariotas, 375-377, 380-381
  sistema CRISPR, 328-330
  tipos de ácidos grasos, 396-397
  transferencia de genes, 315-326
Bacteria celulolítica, 683-684
Bacteria con apéndices, 34-35, 35-36, 498-499, 499-500, 502, 542-543, 543-544
Bacteria del fosfito, 417-418
Bacteria dentro de otra bacteria, simbiosis, 747-748
Bacteria donadora (macho), 293-294
Bacteria oxidadoras del hierro desasimiladoras, 486-488
Bacteria quimiotrófica, diversidad funcional de, 475-496
  acetógenos, 490-492, 492-493, 496-498, 508-509
  bacterias del ácido acético, 490-493, 508-509, 991-992
  bacterias metabolizadoras del hidrógeno, 487-489
  bacterias metanotrofas y metilotrofas, 488-492
  bacterias predadoras, 492-496
  en el ciclo del nitrógeno, 481-486
  metabolismo desasimilador de azufre, 475-481
  oxidadores de hierro desasimiladores, 486-488
  reductores de hierro desasimiladores, 485-487
Bacteria similar a *Rikenella,* 756-757
Bacterias acidofilas aeróbicas oxidadoras de hierro, 486-487
Bacterias acuáticas, descubriendo su metabolismo mediante los análisis de secuencias, 403
Bacterias carboxidotróficas, 488-489
bacterias comedoras de carne, 933-934
Bacterias con prosteca. *Véase* Bacterias pedunculadas
Bacterias con vaina, 502-503
Bacterias corineformes, 532-534, 550
Bacterias de forma bacilar. *Veáse también Bacillus,* 34-35, 35-36, 36-37.
Bacterias del ácido acético, 490-493, 508-509, 991-992
  suboxidantes, 492-493
Bacterias del ácido láctico heterofermentativas, 428-430, 523-524
Bacterias del ácido láctico homofermentativas, 428-429, 428-430, 523-524, 533-534
Bacterias del ácido láctico, 79-80, 91-92, 92-93, 523-524, 550, 949-951, 991-992
  cultivo de enriquecimiento, 612
  diferentiación, 523-524
  heterofermentativa, 428-430, 523-524
  homofermentativa, 428-429, 428-430, 523-524, 533-534
  leche alterada (hecharse a perder), 157-158
  ribotipado, 395-396
Bacterias del ácido propiónico, 431-432, 533-534, 550, 612, 991-992
Bacterias del azufre, 21-22, 51-53, 417-418
  ácido tolerantes o acidófila, 419-421
  energética, 419-421
  sin color, 419-421
Bacterias del hidrógeno, 417-418, 487-489. *Véase también* Bacterias oxidadoras del hidrógeno
  autotrofía en, 418-419
  cultivo de enriquecimiento, 610-611
Bacterias del hierro, 417-418
Bacterias entéricas, 427-428, 518-521, 550, 868-869, 869-872
  características, 518-519
  identificación, 518-519
  patrones de fermentación, 428-430, 518-520
Bacterias filamentosas oxidadoras de azufre, 479-480, 653-654
Bacterias filamentosas, 34-35, 35-36
Bacterias fototróficas, diversidad funcional de, 463-475
  acidobacteria, 474-475
  anoxigénico, 463
  bacterias rojas del azufre, 467-470
  bacterias rojas no del azufre, 470-471
  bacterias verdes del azufre, 471-473
  bacterias verdes no del azufre, 472-474
  cianobacterias, 464-469
  fototrófos anoxigénicos aerobios, 470-472
  generalizaciones, 463
  heliobacterias, 474-475
Bacterias fusiformes, 768-769
Bacterias gramnegativas, 29, 30-31, 42-44, 44-45, 74-75
  clamidias, 540-543
  membrana externa, 46-48, 48-49
  movilidad por deslizamiento, 61-63
  pared celular, 42-46, 49-50
  Planctomycetes, 542-544
  secreción de moléculas en, utilización del sistema tipo III «inyectisoma», 143
  sistema de transporte ABC, 42-44
  test de diagnóstico depenciente de crecimiento, 868-869
  transpeptidación, 155-156
Bacterias grampositivas de bajo contenido GC, 523-524, 550. *Véase también* Firmicutes, 523-524, 550
Bacterias grampositivas de elevado contenido en GC, 523-524, 550. *Véase* Actinobacteria
Bacterias grampositivas, 7-8, 29, 30-31, 42-44, 74-75, 523-538, 741, 765-766, 767-768, 768-769
  Actinobacteria, 532-538
    filamentosa, 534-538
  autoinductor, 238-239
  de bajo contenido GC, 523-524, 550
  de elevado contenido GC, 523-524, 550
  Firmicutes, 513, 523-531
  pared celular, 42-44, 44-45, 45-47, 47-48
    síntesis, 154
  principales órdenes, 524-525
  sistema de transporte ABC, 42-44
  transformación, 319-320
Bacterias incoloras del azufre, 419-421
Bacterias luminiscentes, 504-506
Bacterias magnetotácticas, 502-504
Bacterias metabolizadoras del hidrógeno, 487-489
Bacterias nitrificantes, 417-418, 422-424, 483-486, 620-621, 647-648
  cultivo de enriquecimiento, 484-485
  ecología, 484-485
  energética, 422-424
  metabolismo del carbono, 423-424
Bacterias oxidadoras anaerobias del hierro, 487-488
Bacterias oxidadoras de ácidos grasos, producción de hidrógeno, 434-435, 435-436, 683-684
Bacterias oxidadoras de amonio, 422-423, 647-648
Bacterias oxidadoras de azufre, 687-688, 717-718
  desasimilativo, 477-481, 508-509
  diversidad ecológica y estrategias, 479-481
  diversidad fisiológica, 477-479
  filamentosas, 479-480, 653-654
  fuentes hidrotermales, 753-755, 755-756
Bacterias oxidadoras de metano, 484-485
Bacterias oxidadoras de nitrito, 422-424, 484-486, 647-648
Bacterias oxidadoras de sulfuro, dievrsidad ecológica y estategias, 479-481
Bacterias oxidadoras del hidrógeno, 418-419
  características, 487-489
  ecología, 488-489
  fisiología, 488-489
  metabolismo energético, 487-488
Bacterias oxidadoras del hierro aerobicas neutrofilas, 486-488
Bacterias oxidadoras del hierro ferroso, 716-717
Bacterias oxidadoras del hierro, 420-423, 645-646, 691-692, 691-692
  a pH neutro, 420-422
  acidofilo aerobio, 486-487
  acidofilo, 420-421, 421-422
  anaerobio, 487-488
  desasimilativa, 486-488
  energía a partir del hierro ferroso, 421-423
  fototrófo anoxigéncio, 422-423
  lixiviación de las menas de cobre de baja ley mediante, 700-701
  neutrofilos aerobios, 486-488
Bacterias pectinolíticas, 496-498, 498-499
Bacterias pedunculadas, 499-500, 501, 500, 502
  Planctomyces, 542-544
Bacterias predadoras, 492-496
Bacterias reductoras de clorato, 612
Bacterias reductoras de hierro férrico, 716-717
Bacterias reductoras del azufre desasimilativo, 476-478, 508-509
  fisiología y ecología, 477-478
Bacterias reductoras del hierro desasimiladoras, 485-487
  ecología, 486-487
  fisiología, 485-487
Bacterias reductoras del hierro, desasimilativa, 485-487
Bacterias reductoras del perclorato, 448
Bacterias rojas, 5-6, 6-7, 405, 407, 406, 409-412. *Véase también* Proteobacterias
  aparato fotosintético, 413-414
  azufre. *Véase* Bacterias rojas del azufre
  centro de reacción, 412-413, 413-414
  flujo de electrones, 409-412, 412-413
Bacterias rojas del azufre, 52-53, 487-488, 508-509
  composición isotópica del carbono, 633-634
  cultivo de enriquecimiento, 610-611
  diversidad funcional, 467-470
Bacterias rojas no del azufre, 470-471, 487-488, 508-509, 517-518, 610-611
Bacterias sulfato resuctoras, 438-441, 449, 453-454, 453-455, 455, 610-614, 614-615, 646-647, 663-664, 683-684, 689-690
  acetato oxidadoras, 439-441, 475-476
  aislamiento, 476-477
  análisis polichip, 626-627
  autotrófico, 442
  ciclo del azufre, 687-688
  corrosión de metal, 716-718
  desasimilación, 475-477, 508-509
  desproporción, 440-441
  ecología, 476-477
  estudios con fraccionamiento isotópico del azufre, 633-634
  fisiología, 475-477
  oxidación de fospfito, 440-441
  oxidación del lactato por, 630-631

transformaciones del mercurio, 694-695
Bacterias verdes del azufre, 405, 407, 406, 407-408, 409-410, 508-509
autotrofía, 414-416, 416-417
centro de reacción, 413-415
composición isotópica del carbono, 633-634
consorcio, 472-473, 725-727
cultivo de enriquecimiento, 610-611
diversidad funcional, 471-473
ecología, 472-473
flujo de electrones, 411-412, 412-413, 413-414
pigmentos, 471-473
Bacterias verdes no del azufre, 373-374, 405, 407, 407-408, 407-408, 409-410, 508-509
autotrofía, 414-417
diversidad funcional, 472-474
Bacteriocina, 119, 145-146
Bacteriocito, 746-747, 760-761
Bacterioclorofila, 404-405, 407, 457-458, 471-472
estructura, 406
Bacteriobacterioclorofila *c,* 406, 407-408, 471-472, 473-474, 474-475
Bacterioclorofila *cs,* 406
Bacterioclorofila *d,* 406, 407-408, 471-472
Bacterioclorofila *e,* 406, 407-408, 471-472
Bacterioclorofila *g,* 406, 474-475
Bacteriocloropfila *a,* 65-66, 405, 407-410, 469-470, 471-472, 473-474, 474-475, 666-667, 731-732
Bacteriocloropfila *b,* 406, 469-470
Bacteriofago, 258-259, 276-277. *Véase también* bacteriófago Lambda; T4
agentes de transferencia génica, 307, 749-748, 750
atemperado, 221, 267-270
bacteriófago de doble cadena de DNA, 286-288
cabeza y cola, 258-261, 269-271, 274
ciclo de vida, 263-270
controles de transcripción, 351-352
conversión fágica, 321-323
DNA monocatenario, 284-286
DNA filamentoso, 284-286
ensayo en placa, 262-263
Escherichia coli, 286-287, 291-292
factores de virulencia, 916-917
fago b, 322-323, 779-781
ingeniería genética, 284-286
lisogénico, 934-936
marino, 668-669
MS2, 291-294
Mu, 263-264, 269-270, 286-288, 327-328
receptores, 263-264
RNA, 291-294
T7, 269-270, 280, 286-287, 351-352
transducción, 274
Bacteriófago atemperado, 221, 267-270
ciclo de replicación, 267-268
Mu, 263-264, 269-270, 286-288, 327-328
Bacteriofago β, 322-323, 779-781
Bacteriófago ε^{15}, 321-322
Bacteriófago f1, 263-264
Bacteriófago fd, 263-264, 269-270
Bacteriofago filamentoso, 284-286
Bacteriófago ϕX174, 263-264, 269-270, 281-282
genoma, 192-193, 284-286
mapa genético, 284-285
transcripción y traducción, 284-285
Bacteriófago Lambda, 258-259, 263-264, 267-269, 269-270, 281-282
genoma, 267-269
integración, 268-269
interruptor genético, 269-270
lisis vs. lisogenización, 268-270,
replicación, 267-269
transducción, 321-322
vector de clonación, 352-353
vía lítica, 267-269, 269-270
Bacteriófago lisogénico, 934-936
Bacteriófago M13, 263-264, 269-270, 284-286
Bacteriófago MS2, 263-264, 269-270, 280, 291-294
Bacteriófago Mu, 263-264, 269-270, 286-288, 327-328
crecimiento lítico, 287-288
integración, 287-288
rango de hospedadores, 287-288
replicación, 287-288
represor, 287-288
Bacteriófago P1, 320-321
Bacteriófago P22, 320-321
Bacteriófago T1, 263-264
Bacteriófago T2, 269-270
Bacteriófago T3, 263-264, 269-270
Bacteriófago T4, 260-261, 262-263, 263-268, 269-270, 281-282, 286-287
estructura, 269-271
genoma, 264-266
penetración, 263-265
proteínas intermedias, 265-266, 266-267
proteínas tardías, 265-266, 266-267
proteínas tempranas, 265-266, 266-267
replicación, 265-267
transcripción y traducción, 265-267
unión, 263-264, 264-265
Bacteriófago T4, 265-266, 266-267
Bacteriófago T7, 263-264, 269-270, 351-352
replicación, 286-287
Bacteriófagos cabeza y cola, 258-261, 269-271, 274
Bacteriofeofitina, 409-410, 410-411, 411-412
Bacterioma, 746-747, 747-748, 760-761
Bacteriorrodopsina, 555-556, 557-559, 580-581, 667-668
Bacterioruberina, 555-556, 557-558
Bacteriuria, 868-869
Bacteroidales, 537-539
Bacteroide, 728-729, 729-730, 730-731, 731-732, 761-762
Bacteroides, 427-428, 537-539, 742-743, 764, 765-766, 767-768, 768-769, 868-869
Bacteroides thetaiotaomicron, 538-539, 744-745
Bacteroidetes, 204-205, 214-215, 378-380, 380-381, 462, 488-489, 492-494, 512, 537-540, 657-658, 657-658, 662-663, 667-668, 668-669, 673-674, 675-676, 739-740, 743-744, 744-745, 745-746, 756-757, 765-766, 767-768, 768-769
Bactoprenol, 154, 155-156
Baculovirus, 349-350
Balance rédox, 426-428, 428-429
Balanceo (codón-anticodón), 133-134, 146-147
Balances
ciclo rédox para, 681-682
de carbono, 682-683
en células, 78, 79-80
estudios de fraccionamiento de isótopos estables, 632-634
micorrizas arbusculares, 735-736
nutriente, 83-84
prueba de isótopos estables, 636-637
reservorios, 680-682
Balantidium coli, 589-590, 1012-1013
*Bal*I, 337-338
Baltimore, David, 280
Banda de pared, 154
Barófilo, 9-10
Barrera de protección, laboratorio, 862-865
Bartonella, 513, 514-516
Bartonella quintana, 514-515, 968-969
Bartonelosis, 514-515
Basal, 586
Base nitrogenada, 112-113
Basidio, 599-600, 603-604
Basidiocarpo, 598-599, 603-604
Basidiomicetes, 595, 597, 598-599, 599-600, 602-604
Basidióspora, 598-599, 599-600, 603-604
Bathycoccus, 665-666
Bathymodiolus puteoserpentis, 754-755
Batrachochytrium, 599-600
Batrachochytrium dendrobatidis, 600-601
Baumannia cicadellinicola, 204-205
Bazo, 792-793, 794-795, 796-797, 833-834, 853-855
Bdelloplasto, 492-493, 492-494
Bdellovibrio, 492-493, 492-495, 522-523
Bdellovibrio bacteriovorus, 193, 492-494
Bdellovibrionales, 522-523, 657-658
Bebida alcohólica, 10-13, 492-493, 991-992
Beggiatoa, 13-15, 14-15, 21-22, 36-37, 419-421, 477-479, 479-480, 513, 518-519, 653-654, 686-687
Beijerinck, Martinus, 20-22, 610, 613
Beijerinckia, 482-483, 483-484, 513, 514-515
Beijerinckia indica, 482-483
Benceno, 451-452, 453-455, 664-665
Benceno epóxido, 451-452
Benceno monooxigenasa, 451-452
Bencenodiol, 451-452
Benstonita, 52-53
Benzatina penicilina g, 949-950, 952-953
Benzilpenicilina, 883-884
Benzoato, 427-428, 448, 453-455, 636-637, 991-992
donador de electrones, 449
fermentación, 683-684, 684-685
Benzoil-CoA, 453-455
Beta oxidacion, 450, 453-454, 453-455
Beta-2 microglobulina ($\beta 2m$), 823-824
*Bgl*II, 337-338
Biblioteca genómica (biblioteca de DNA), 194-195, 223, 342-343, 352-354, 366-367
Bicapa fosfolipídica, 37-38, 38-39, 372-373
Bicapa lipídica, 372-373, 578-579
Bicapa lipídica. *Véase* Bicapa de fosdfolípidos
Bifenilo clorado (PCB), 706-707
Bifenilos policlorados (PCBs), 705-706, 706-707
descloración reductora, 448
Bifidobacteriales, 524-525
Bifidobacterium, 524-525, 765-766, 768-769
Bifitanil, 39-41
Bigelowiella natan nucleomorfo, 206
Bilina, 407-408
Biodeterioro de la piedra y el cemento, 717-718
Biodiversidad, 610, 613. *Véase también* Análisis de la comunidad
estudio mediante enriquecimiento y aislamiento, 610, 613-618
genómica ambiental, 627-629
Bioenergética, 84-86
Biofuel, 12-13
Biogeografía, 726-727
Biogeoquímica, 646-647, 677-678
Bioinformática, 197-198, 217-218, 223
Biología de sistemas, 212-214, 223
Biología molecular, 22-23
Biología sintética, 364-365
Bioluminiscencia, 504-506, 508-509
regulación, 238-239, 239-240
Biomarcadores, 742-743
Biomasa, 2, 8-9
Biomineralización, 52-53, 53-54, 448
Bioparte, 364
Biopelícula, 50-51, 164-165, 166, 186, 188, 240-241, 648-652, 677-678, 773-774, 987-988
boca humana, 745-746
control, 650-652
estructura, 649-650
etapas de la formación, 166
formación, 649-650
pigmentado de color rosa, 514-515
razones para la formación, 650-651
sistema de distribución de aguas urbanas, 714-716
Biopelículas (*biofilms*) en las tuberias, 651-652
Bioquímica microbiana, 22-23
Biorreactor, 708-709, 710
Biorremediación, 12-13, 448, 703-708, 719-720
contaminantes emergentes, 712-713
contaminantes inorgánicos, 703-705
contaminantes orgánicos, 703-708
definidos, 703-704
hidrocarburos, 703-706
sphingomonas, 516-517
Biosfera
diversificación metabólica y, 372-374
rara, 624-625, 626-627
Biosíntesis, 100-107
ácidos grasos y lípidos, 103-105
aminoácidos, 102-103
azúcares y polisacáridos, 101-103
ciclo del ácido cítrico, 9-10
nucleótidos, 102-103
Biotecnología, 12-13, 22-23, 354-365, 366-367. *Véase también* Ingeniería genética; Microbiología industrial
biología sintética, 364-365
expresión de genes de mamífero en bacterias, 354-357
genomas mínimos, 362-363
ingeniería de rutas, 363-364, 367-368
liberación de agentes anticancerígenos mediante cepas de *Listeria monocytogenes,* 335
organismos transgénicos en agricultura y acuicultura, 357-361
planta, 357-360, 733-734
somatotropína y otras proteínas de mamíferos, 356-358
utilización de hipertermófilos, 192-193
vacunas, 289-290, 360-362
Bioterrorismo, 785-786, 918-919, 920, 975-976
Biotina, 79-80
Blanqueamiento del coral, 757-759
BLAST (herramienta de búsqueda de alineamiento local), 198-199
Blastobacter, 499-500, 500, 502
Blastomicosis, 810-811, 1009, 1011
Blastomyces dermatitidis, 1009, 1011
Blochmannia, 748, 750
Boca, 589-590
BOD. *Véase* Demanda bioquímica de oxígeno

Bolo alimenticio, 738-739
Bomba biológica, 692-693, 696-697
Bomba de protones, 449
Bomba de sodio, 442, 443-444
Bombardeo de microproyectiles, 358-360
Bombardeo de partículas, 358-359
Bootstrapping, 383-384
Bordetella, 219, 516-517
Bordetella bronchiseptica, 219
Bordetella pertussis, 50-51, 219, 778, 803-804, 931-932, 934-935, 935-936
Boro, 79-80
Borrelia burgdorferi, 496-499, 876-877, 914-915, 915-916, 969-972
  genoma, 192-193, 193
  plásmidos, 118
Borrelia, 496-497, 496-499, 776-777
Borrelia recurrentis, 968-969
Borreliosis, 496-497
Botryococcus braunii, 604-606
Botrytis, 990-991
Botulismo, 529-531, 778, 779-782, 786-787, 911-912, 917-918, 983, 995-997, 1004-1005
  diagnosis, 996-997
  especificidad de tejido, 786-787
  herida, 996-997
  incidencia en los Estados Unidos, 996-997
  infante, 996-997
  prevención, 996-997
  tratamiento, 996-997
Botulismo infantil, 996-997
Botulismo por heridas, 996-997
Brachyspira, 496-497
Bradyrhizobium, 105, 482-483, 513, 514-515, 685-686, 727-728
Bradyrhizobium elkanii, 728-729
Bradyrhizobium fotosintético, 731-732
Bradyrhizobium japonicum, 193, 200-201, 482-483, 727-728, 728-729
  fotosintético, 731-732
BRE (Elemento de reconocimiento B), 129
Brevibacterium albidum, 337-338
Brevinema, 496-497
Brocadia, 685-686, 686-687
Brocadia anammoxidans, 423-424, 425, 542-543
Brocadiales, 541, 542-543
Brock, Thomas, 545-546, 546-547
Bromoperoxidasa, 79-80
Bromuro de etidio, 313-314, 314-315, 337-338
Brote, 901-902, 906-908, 911-912, 912-913, 915-916, 925-926
  cólera, en Hiatí, 922-924
  fuente común, 905-906
  reciente, 914-915, 915-916, 916-917
Brucella, 514-515, 917-918
Brucella abortus, 756-757, 786-787
Brucelosis, 180-181, 810-811, 908-909, 911-912, 917-918
Bubón, 974-975, 975-976
buche, sanguijuela, 755-757
Buchnera aphidicola, 193, 746-747
Buchnera, 747-748, 748, 750
Bunyavirus, 270-271, 876-877
Burkholderia, 482-483, 516-517, 706-707, 727-728, 867-868
Burkholderia cepacia, 516-518, 864-865
Burkholderia mallei, 917-918
Burkholderia nodosa, 482-483
Burkholderia pseudomallei, 917-918
Burkholderiales, 516-518, 657-658, 668-669, 673-674
Butanodiol, 428-430
Butanol, 427-428, 430-431, 528-530
Butirato, 427-428, 430-431, 442
  fermentación, 684-685
  producción en el rumen, 738-739, 741
  producto de la fermentación, 427-428, 430-431, 528-530, 529-531, 683-684
  sintrofia, 434-435, 435-436
Butiril fosfato, 426
Butiril-CoA, 426, 430-431
Butoconazol, 949-950
Butyrivibrio, 739-740
Butyrivibrio fibrisolvens, 741
C-terminal, 132-133
C3 convertasa, 834-835, 835-836, 836-837
Caballo, digestión, 736-738
Cabeza, virión, 258-261, 264-265, 266-267
Cabina de seguridad biológica, 182-183
Cadaverina, 431-432, 529-531
Cadena avanzada, 121-124, 145-146
Cadena J, 831-832, 832-833
Cadena ligera, inmunoglobulina, 847-848, 848-850
  dominio constante, 830-831
  dominio variable, 830-831, 831-832
  unión al antígeno, 848-850
Cadena negativa, 304
Cadena pesada, inmunoglobulina, 830-831, 847-848, 848-850
  unión antígeno, 848-850
  dominio constante, 830-831, 831-832
  dominio variable, 830-831, 831-832
Cadena positiva, 304
Cadena retardada, 121-124, 145-146
Cadenas antiparalelas de DNA, 145-146
Caenorhabditis elegans, 206, 206-207
Caída de dientes. *Véase* Caries dental
Caja *Pribnow*, 126, 127-128
Calamar Hawaiano, 752-754
Calamar– *Aliivibrio* simbiosis, 752-754
Calcio, 79-80
  ciclo, 691-692, 691-693
Calciviridae, 948-949
Caldivirga, 571, 573
Caldo de tioglicolato, 176-177
Calentamiento del Ártico, 553
Calentamiento del mar, 695-697
calentamiento del mar, 696-697
Calentamiento global, 681-682, 697-698
  Archaea, 553
  dióxido de carbono, 695-697
  liberación de metano a partir de los hidratos de metano, 681-683
  zonas de oxígeno mínimo, 664-665
Calidad del agua, 985-987
Callo (planta), 732-733
Calothrix, 464-465, 467-468, 467-469
Calyptogena magnifica, 481, 748, 750, 754-756
Calyptogena okutanii, 748, 750
Cámara anóxica con guantes, 178, 869-870
Cámara de contaje de Petroff-Hausser, 160-161
Cámara de recuento, 160-161
Cambio climático. *Véase* Calentamiento global
  contribución a las enfermedades emergentes, 916-917
  transmisión de la rabia, 963
Cambio de clase, 833-834, 855-856
Cambio genético, 350-351
  lambda, 269-270
Campana de flujo laminar, radiación UV para desinfectar, 180-181, 182
Campylobacter, 513, 522-523, 523-524, 868-869, 990-991
  infección por alimentos, 998-1000
Campylobacter fetus, 998-999
Campylobacter jejuni, 889-891, 984-985, 991-992, 992-994, 998-999, 999-1000
  interactoma de las proteínas de la motilidad, 211-213
Campylobacterales, 522-523
Cáncer
  de colon, 746-747
  Cepa de *Listeria* destructora de tumores, 335
  de cuello uterino, 807-808, 954-955
  de hígado, 948-949
  de vulva, 807-808
  HPV y, 807-808
  pancreatitis, 335
  vaginal, 807-808
  virus y, 273
Candida, 214-216, 238-239, 601-602, 765-766, 766-767, 771-773, 876-877, 887-888, 889-890, 914-915, 956-957, 990-991, 1011
Candida albicans, 601-602, 769, 771, 873-874, 891-892, 892-893, 949-950, 956-957, 1008, 1009, 1011
Candidatus Moranella endobia, 747-748, 748, 750
Candidatus Tremblaya princeps, 747-748, 748, 750
Candidiasis, 914-915, 954-955, 1009
Candidiasis bucal, 1011
Candidiasis vulvovaginal, 949-950
Capa de ozono, 374-375
Capa mucosa, 50-51, 766-767, 773-774, 774-775, 776-777, 788-789
Capa S, 49-50, 74-75
  paracristalina, 567-568, 568-569
Capa superficial paracristalina, 567-568, 568-569
Capacidad biosintética, requerimientos nutritionales, 81-82
Capacidades autocrinas, 855-856
Capnocytophaga, 765-766
Caproato, 528-530, 529-531
  producto de la fermentación, 427-428
  producción en el rumen, 741
Caproil-CoA, 426
Cápsida, virus, 257, 258-259, 276-277, 283-284, 298, 300
Capsómeros, 258-259, 276-277
Cápsula de ácido poli-D-glutámico, 916-917
Cápsula, 50-51, 74-75, 773-775, 788-789, 819-821, 931-932, 934-935, 976-977
Caquexia crónica, 301-302
Carbamil fosfato, 426
Carbapenemas, 881-882
Carbenicilina, 883-884
Carbohidrato, 528-530. *Véase también* Polisacárido fermentación por clostridios
Carbonato, 98-100
Carbonato cálcico, 692-693
Carbonco como arma biológica, 918-920
Carboxisoma, 414-416, 457-458, 477-478, 478-479, 508-509
Carbunco, 15-16, 16-18, 773-774, 778, 785-786, 881-882, 911-912, 917-918, 918-920, 975-976
  biología y crecimiento, 918-919
  cepas armamentísticas, 918-920
  descubrimiento y propiedades, 975-977
  formas mortales de la peste humana, 976-977
  infección y patogénesis, 918-919
  patología, 976-977
  tratamiento, 920
  vacuna, 803-804, 920, 976-977
Carbunco cutáneo, 918-919, 920, 976-977
Carbunco gastrointestinal, 918-919
Carbunco intestinal, 976-977
Carbunco pulmonar, 918-919
Carcinógeno, Test de Ames, 312-313. *Véase también* Cáncer
CARD-FISH, 620-621, 634-635
Carditis, 944-945
Carga microbiana, 180-181, 180-181
Carga vírica, 961-962
  sida, 957-959
Caries dental, 524-525, 651-652, 745-746, 776-777, 786-787, 788-789
Carnívoros, 736-737
Carnobacteriaceae, 739-740
Carófitos, 604-605
Carotenoide, 405, 407, 407-408, 457-458, 469-474, 489-491, 494-496, 534-535, 540, 556-557, 557-558, 591-592, 819-821
  estructura, 407-408, 409-410
Carreras, movilidad, 63-64, 64-65, 65-66, 237-238
Carsonella, 204-205
Carsonella ruddii, 193
Cascada cinasa, 840-842, 844-845
Casete de DNA, 344-345, 366-367
Casete de unión de ATP. *Véase también* Sistema de transporte ABC
Casete Kan, 344-345
Casos esporádicos, 901-902
Casos iniciales, 911-912
Caspofungina, 887-888
Catabolismo, 83-84
Catalasa, 79-80, 178-179, 518-519, 527-529
Catálisis, 85-87, 109
Catecol, 451-452
Catecol 1,2-dioxigenasa, 451-452
Catecol dioxetano, 451-452
Caulobacter, 174-175, 216-217, 243-244, 498-499, 499-500, 500, 502, 513, 514-515, 516-517, 542-544
  células nadadoras, 153-154
  ciclo de vida, 244-245
  diferenciación, 244-245
  fisión binaria, 150-151
  modelo de ciclo celular para eucariotas, 244-245
Caulobacter crescentus, 153-154, 193
Caulobacterales, 513, 514-515, 516-517, 657-658
Cavidad oral, 931-932
  comunidad microbiana en humanos, 745-746
  microbiota normal, 765-766, 766-768
CCL2 (MCP-1), 855-856, 857
cDNA. *Véasetambién* DNA Complementario
Cebador de oligonucleotido, mutagénsesis dirigida, 343-344
  técnica de la PCR, 339-340, 395-396
Cebador de RNA
  replicación, 120-122, 123, 124, 125
  replicación de lambda por el círculo rodante, genoma, 268-269
Cebador, 145-146, 193, 223, 621-622, 622-623, 624-625, 625-626
  RNA. *Véase* cebador de RNA.
Cebadores de ácidos nucleicos, 879-880
Cefalosporina, 881-882, 883-884
  estructura, 884-885
  modo de acción, 883-884
Cefixima, 949-950, 949-951, 952-953
Cefotaxima, 934-935
Cefotetano, 949-950
Ceftriaxona, 883-884, 884-885, 889-891, 949-950, 949-951, 952-953, 970-971

Ceguera del río (oncocercosis), 1018-1019
Ceguera, infección, 1018-1019
Célula donadora, conjugación, 322-323
Célula Hfr, 323-325, 331-332
Célula hospedadora, 258-259, 276-277, 301-302
  Rickettsias, 515-516
Célula, 2-7
  actividades, 4-6
  ancestro universal común, 5-6, 6-7, 372-373, 378-380
  compartimentalización, 542-543
  estructura, 2-5
  evolución, hipótesis de, 257
  origen, 573-574
  primigenia
    fuente de carbono, 372-373
    energía, 372-374
    primer eucariota, 375-377
    metabolismo, 372-374
    origen del DNA como material genético, 371-373
    síntesis proteica, 371-372, 372-373
    el mundo del RNA, 371-373
  tasas de crecimiento, relación superficie-volumen, 36-38
Célula madre, 792-793, 793-794, 814-815
Célula permisiva, 264-265
Célula plasmática, 793-794, 808-809, 808-810
Célula receptora, conjugación, 322-323
Célula viable, 161-162, 188-189
Células B, 793-794, 794-795, 795-796, 796-797, 812-814, 819-821
  activación, 827-829, 853-855
  auto-reactivos, 853-855
  funciones, 797-799
  interacciones entre las células B y T, 832-833
  memoria, 832-833, 833-834, 837-838, 854-855
  producción de anticuerpos, 832-834
  reordenación génica de las inmunoglobulinas, 848-850, 849-850
  tolerancia inmunitaria, 853-855
  transducción de señales en linfocitos reactivos a antígenos, 842-845
Células blancas de la sangre. *Véase* leucocitos
Células citocidas naturales, 824-827, 837-838
Células con pedúnculo, 595-596
Células de la inflamación, 800-801
Células de la sangre rojas. *Véase* Eritrocitos.
Células de mamíferos, hospedador de clonación, 349-350, 352-353
Células de memoria, 833-834
  células B de memoria, 832-833, 833-834, 837-838, 854-855
Células dendríticas, 793-794, 812-814, 818, 819-820
  presentación de antígeno, 817
Células diana, 824-825, 824-826, 826-827
Células epiteliales ciliadas, 771-772, 785-786
Células epiteliales, 764
Células hija, 150-151, 152
Células hospedaoras no permisivas, SV40, 290-291
Células hsopedadoras *permisivas*, SV42-43, 290-291
Células microbianas en la subsuperficie, 8-9
Células nadadoras, hongos mucosos, 594-595
Células NK. *Véase* Células naturalmente asesinas
Células plamáticas, 793-794, 794-795, 797-798, 798-799, 808-809, 814-815, 833-834
Células planctónicas, 648-649
  formación de biopelículas, 649-650
Células precursoras de mieloides, 793-794
Células precursoras linfoides, 793-794
Células presentadoras de antígeno (APC), 793-794, 796-797, 812-814, 823-828, 842-844, 844-845, 845-846, 853-855, 854-855
Células T autorreactivas, 851-855
Células T citotóxicas, 796-797, 797-798, 824-825, 824-826, 837-838, 842-844
Células T cooperadoras (Th), 796-798, 824-826, 826-829, 837-838, 842-844, 853-855, 854-855, 954-955
  activación de macrófagos, 855-857
  antígeno-específico, 817
  células Treg, 828-829, 837-838
  hipersensibilidad retrasada, 808-811, 812-814
  HIV/sida y disminución de, 802-803
  Th1, 826-828, 837-838, 855-857
  Th17, 827-828, 828-829, 837-838
  Th2, 827-829, 837-838
Células T efectoras, 826-827
Células T, 793-794, 794-795, 795-796, 814-815, 819-821, 821-822, 823-824
  activación, 810-812, 853-855, 854-855
  anergia, 853-855
  antígeno-específico, 796-798
  autorreactivo, 851-855
  CD4, 787-788, 824-825, 824-826, 954-955, 955-956, 957-958
  CD8, 824-825, 824-826, 837-838
  citotóxica. *Véase* Desarrollo de las células T citotóxicas
    selección negativa, 853, 853-855, 858-859
    selección positiva, 853, 853-855, 858-859
  colaboradoras. *Véase* células T colaboradoras (Th)
  identificación de antígenos foráneos, 823-825
  infección por HIV, 954-956, 957-958
  presentación de antígeno, 796-797, 823-825
  tolerancia, 851-855
  transducción de señales en antígeno reactivo, 842-845
  vírgenes, 853-855, 854-855, 855-856, 857
Células Th. *Véase* Células cooperadoras (Th)
Células tumorales, activación de macrófagos, 826-828
Celulasa, 92-93, 540, 739-740
Celulitis, 958-959
Celulosa, 92-93, 736-737
  degradación, 511, 538-540, 595, 597, 683-684, 739-740
    termitas, 748, 750-751
  producción bacteriana, 492-493
Cenarchaeum, 554
Centro de reacción, 405, 407, 406, 407-408, 412-413, 457-458, 463
  bacterias rojas, 409-412, 412-413, 413-414
  bacterias verdes del azufre, 413-415
Centrómero, 352-354
Centros para el control y prevención de enfermedades (CDC), 911-912, 913-914, 917-918, 920, 925-926, 1007
Cepa, 125, 571, 573, 572-573, 573-574, 575-576
Cepa atenuada, 773-774, 803-806
Cepa F^{+}, 323-324, 323-325, 325-326
Cepa F^{-}, 323-324, 323-325, 325-326
Cepa Hfr, 323-326
  formación y comportamiento, 323-326
Cepa mutadora, 315-316, 332-333
Cepa tipo salvaje, 308-309, 309-310, 310-311, 312-313, 332-333
Cepa tipo, 398-399
Cepas de tuberculosis multirresistentes, 937-938
Cephalosporium, 883-884
Cercaria, 1017-1019
Cercozoos, 378-380, 586, 592-594
Cerebrósidos, 538-539
Cervarix, 807-808
Cerveza, 492-493
Cervicitis, 952-953
Cetoconazol, 887-888
Cetodeoxioctonato (KDO), 46-47, 47-48
CFA. *Véase* Factor antigénico de la colonización
Chamaesiphon, 464-465
Chancro, 951-952, 952-953
Chancroide, 778, 911-912, 949-950
Chaperona molecular, 141-142, 145-146, 241-242, 355-356
Chaperona. *Véase* Chaperona molecular
Chaperonina, 141-142, 145-146, 577-578
Chara, 605-606
Chimenea, fuentes termales, 572-573, 575-576, 673-674, 674-675
Chimeneas de las fuentes hidrotermales, 572-573, 575-576, 673-674, 674-675
Chips de genes, 208-210, 223
Chlamydia, 199-200, 512, 541, 542-543, 952-954
  ciclo infectivo, 541
  enfermedades infecciosas epidémicas emergentes y reemergentes, 914-915
  transferencia génica horizontal, 217-218
Chlamydia trachomatis, 542-543, 868-869, 869-870, 911-912, 949-950, 952-954
  genoma, 217-218
Chlamydiae, 378-380, 462, 540-543, 767-768
  ciclo de vida, 541
  géneros destacados, 541-543
  principales órdenes, 541
  propiedades moleculares y metabólicas, 542-543
Chlamydiales, 540, 541
Chlamydomonas, 405, 407, 604-605
Chlamydomonas nivalis, 168-169
Chlamydophila, 541, 542-543
Chlamydophila pneumoniae, 542-543
Chlamydophila psittaci, 542-543, 917-918, 931-932
Chloracidobacterium, 547-548
Chloracidobacterium thermophilum, 474-475
Chlorella, 757-758
Chlorobaculum, 471-472
Chlorobaculum tepidum, 193, 407-408
Chlorobium, 105, 404, 405, 407, 414-416, 471-472, 482-483
Chlorobium chlorochromatii, 726-727
Chlorobium clathratiforme, 471-472
Chlorobium ferrooxidans, 487-488
Chlorobium limicola, 471-472, 482-483, 613-614
Chlorobium phaeobacteroides, 471-472
Chlorobium tepidum, 471-472, 472-473
Chlorochromatium aggregatum, 472-473, 725-727
Chlorochromatium glebulum, 725
Chlorochromatium lunatum, 725
Chlorochromatium magnum, 725
Chloroflexus, 373-374, 405, 407, 409-410, 412-413, 416-417, 449, 472-474, 652-653
  autotrofía, 414-417
Chloroflexus aurantiacus, 173-174, 473-474
Chlorogloeopsis, 464-465
Chlorogloeopsis fritschii, 465-466
Chloronema, 473-474
Chondromyces crocatus, 492-494, 494-496
Choque anafiláctico, 808-809
Choque por superantígeno, 811-812
Choque séptico, 800-802, 989-990
Chromatiales, 467-469, 518-519, 673-674
Chromatium, 105, 422-423, 467-469, 469-470, 478-479, 482-483, 518-519
Chromatium okenii, 21-22, 469-470, 613-614
Chromobacterium, 516-517, 517-518
Chromobacterium violaceum, 517-518
Chroococcales, 464-465, 465-466
Chroococcidiopsis, 464-465, 655-656
Chryseobacterium, 537-538
Chrysiogenes arsenatis, 547-548
Chrysiogenetes, 547-548
Chthonomonas calidirosea, 511
Chucrut, 10-12, 991-992
Chytridiomycetes (cítridos), 599-601
Cianobacterias, 5-6, 6-7, 31-32, 105, 106, 370, 372-373, 373-375, 375-376, 378-380, 462, 463, 464-469, 482-483, 508-509, 512, 603-604, 644-645, 662-663, 668-669, 673-674, 685-686, 756-757, 757-758
  biomineralización, 52-53, 53-54
  cianoficina, 466-467
  clasificación, 464-466
  composición isotópica del carbono, 633-634
  costras biológicas del suelo (CBS), 655-656
  cultivo de enriquecimiento, 610-611
  diversidad funcional, 464-469
  ecología, 467-469
  endolítico, 606-607
  evolución de la fotosíntesis oxigénica, 372-373, 373-374, 374-375, 413-415
  fijación de nitrógeno, 244-247, 465-466, 466-468, 467-469, 731-732
  filamentos ramificados, 464-465
  filamentos sin heterocistes, 464-465
  filamentoso, 52-53, 244-245, 464-465, 465-466, 466-467, 467-468, 467-469
  filogenia, 465-466
  fisiología, 465-467
  géneros y agrupación, 464-465
  heterocisto, 244-247, 464-465, 466-468
  movilidad por deslizamiento, 62-63
  movilidad y estructuras celulares, 466-467
  neurotoxina, 467-469
  oxigenación de la atmósfera, 5-6
  proliferaciones masivas, 53-54, 467-469, 661-662
  solutos compatibles, 175-176
  termofílico, 172-173
  unicelular, 464-465
  vesículas de gas, 53-55, 466-467

Cianobacterias en tapetes microbianos, 651-653
Cianobacterias filamentosas, 244-245, 464-469
  movimiento deslizante, 61-63
Cianoficina, 466-467
Cianoteca, 464-465, 466-468
Ciclo de Calvin, 68-70, 74-75, 414-416, 418-419, 457-458, 469-470, 470-471, 477-478, 478-479, 754-756
  bacterias del azufre, 420-421
  bacterias nitrificantes, 423-424
  bacterias oxidadoras de hierro, 421-423
  enzimas, 414-415, 414-416
  estequiometría, 414-416
Ciclo de crecimiento, población, 157-159
Ciclo de las pentosas reductivo. *Véase* Ciclo de Calvin.
Ciclo del ácido cíclico inverso, 414-416, 416-417, 457-458, 471-472, 545-546, 754-755
Ciclo del ácido cítrico, 68-70, 97-100, 109, 448, 451-452, 453-454, 453-455
  esqueleto de carbono de los aminoácidos, 102-103
  inverso, 414-416, 416-417, 457-458, 471-472, 545-546, 754-755
Ciclo del azufre, 646-647, 686-688
  diversidad funcional bacteriana y, 475-481
Ciclo del carbono, 646-647, 680-683
  bombas biológicas, 692-693
  ciclo del calcio y, 691-693
  ciclo del nitrógeno y, 682-683
  impactos humanos, 695-697
Ciclo del Glioxilato, 98-100, 109
Ciclo del hierro, 687-692
Ciclo del manganeso, 687-692
Ciclo del mercurio, 694-695
Ciclo del nitrógeno, 646-647, 684-687
  ciclo del carbono y, 682-683
  diversidad bacteriana en, 481-486
  impactos antropogénicos, 696-697
Ciclo del sílice, 691-692, 692-695
Ciclo día-noche, 652-653
Ciclo lítico
  bacteriófago, 263-270
  Caulobacter, 500, 502
  Chlamydia, 541
  fago atemperado, 267-268
  hongo, 595, 597
  Hyphomicrobium, 499-500
  mixobacteria, 493-496
  Plasmodium, 1015-1017
  Saccharomyces cerevisiae, 601-602, 602-603
Ciclo NAD/NADH, 87-89
Ciclo propagación, 702-703
Ciclo Q, 96-98
Ciclo redox
  azufre, 686-687, 687-688
  carbono, 681-682
  hierro, 688-689
  manganeso, 688-689
  mercurio, 694-695
  nitrógeno, 685-686
Ciclo ribulosa monofosfato, 489-491
Ciclo, replicación de adenovirus
Cicloheximida, 881-882
Ciclos aclopados, 682-683, 691-692, 696-697
Ciclos biogeoquímicos, 646-647
Ciclos de los nutrientes, 679-698
  acoplado, 682-683, 691-692, 696-697
  aporte humano, 694-697
  azufre, 646-647, 686-688
  calcio, 691-692, 691-693
  carbono, 646-647, 680-683, 695-697
  fósforo, 691-692
  hierro, 687-692
  impactos antropogénicos, 695-697
  manganeso, 687-692
  nitrógeno, 646-647, 684-687, 696-697
  sílice, 691-692, 692-695
  sintrofía y metanogénesis, 682-685
Cicloserina, 881-882
Ciclosporiasis, 911-912, 1014-1015
Cidofovir, 886-887
Ciego (intestino), 736-738, 768-769
Ciencia biológica básica, tal como la microbiología, 2
Ciliados, 584-585, 585, 589-590, 607-608
  endosimbiontes de, 589-590
  parasitarias, 1012-1013
  rumen, 589-590, 742-743
Cilindro protoplasmático, espiroquetas, 496-497
Cilios, 589-590, 785-786
  eucariota, 71-72
Cinara cedri, 746-747
Cinasa sensora, 235-236, 236-237, 237-238
Cinetoplastidios, 588-589
Cinetoplasto, 588-589
Ciprofloxacina, 115, 881-882, 882-883, 889-891, 891-892
Circovirus, 280
Circulina, 527-529
Cirrosis, 947, 948-949, 949-950, 961-962
cis,cis-Muconato, 451-452
Cisteína, 140-141
  código genético, 133-134
  estructura, 132-133
  síntesis, 102-103
Cisto, 714-715
  Azotobacter, 483-484
  Balantidium coli, 1012-1013
  Cryptosporidium, 1014-1015
  Entamoeba, 1012-1013
  Giardia, 1013-1014
  Toxoplasma gondii, 1014-1015
Citocina, 792-793, 796-798, 798-799, 800-802, 808-810, 811-812, 812-814, 824-829, 886-887, 933-934
  producción de anticuerpos, 855-856
  proinflamatoria, 800-802, 840, 842, 855-856, 857
Citocinas proinflamatorias, 800-802, 857
Citocininas, 728-729
Citocromo, 93-94, 94-95, 409-411, 412-413, 413-414, 452-453
  asociado a superficie, 691-692
Citocromo *a,* 95-97, 96-98, 557-558
Citocromo *a*3, 95-97, 96-98
Citocromo *aa*3, 421-422, 422-423
Citocromo *b,* 447, 448, 449, 557-558
Citocromo *c* oxidasa, 79-80
Citocromo *c,* 94-95, 95-98, 419-421, 420-421, 421-422, 422-423, 423-424, 557-558
Citocromo *c*2, 409-411, 411-412
Citocromo *c*3, 439-440, 440-441, 449
Citoesqueleto de la célula, 70-71, 71-72
Citomegalovirus humana, 281-282
Citomegalovirus, 290-292, 954-955
Citometría de flujo, 615-617, 616, 637-638, 639-640
  análisis multiparamétricos, 634-636
Citómetro de flujo, 160-161
Citoplasma, 3-4, 23-24
  halófilo, 557-558
Citosesqueleto, 70-71, 71-72, 74-75
Citosina, 112-113, 113, 115, 289-290, 290-291
Citotoxina, 778, 777, 779-781, 783-785
Citrato liasa, 414-416, 416-417
Citrato potásico, 792-793
Citrato sintasa, 414-416
Citrato, 99, 98-100, 388-389
  fermentación, 427-428
  metabolismo, 98-100
Citrobacter, 519-520
Citromicrobium, 666-667
Ciudad Perdida, 673-675, 675-676
civeta, 906-907
Cladosporium, 990-991, 1010-1011
Clarificador, 713-714, 719-720
Claritromicina, 884-885
Clasificación de Baltimore, 280-282
Clasificación, 397-398
  cianobacterias, 464-466
  espiroquetas, 496-497
  metanotrofos, 489-491
  virus animal, 270-273
Clindamicina, 537-538, 881-882, 945-946
Clofazimina, 937-938
Clonación al azar, 194-196, 342-343, 367-368
Clonación de un gen. *Véase* Clonación
Clonación molecular. *Véase* Complejidad
Clonación, 284-286, 338-339, 341-344
Clones (linfocitos), 795-797, 812-814, 851-852
Cloración, 713-715, 719-720, 984-985, 1013-1014
Cloramina, 714-715, 719-720
Cloranfenicol, 380-381, 881-882, 882-883, 889-890, 967-968, 968-969
  producción, 537-538
  resistencia, 889-890, 889-891
Cloraracniofitos, 585, 592-593
Clorato, 447, 448
Cloro, 184-185, 713-715
  potabilización del agua, 714-715, 715-716
Cloro gas, 184-185
Cloro residual, 714-715, 715-716
Clorobacteno, 409-410
Clorobenzoato, 448, 706-707
Clorobios, 378-380, 462, 463, 482-483, 487-488, 662-663, 725
Clorofila *a,* 404-405, 407, 410-411, 411-412, 412-413, 465-467, 469-470, 591-592, 603-604, 604-605, 664-665, 665-666
Clorofila *b,* 466-467, 469-470, 603-604, 604-605, 664-665, 665-666
Clorofila, 68-70, 69-70, 404-408, 407-408, 457-458, 603-604
  centro de reacción, 405, 407, 406
  distribucion en el noroeste del océano Atlántico, 663-664
  espectro de absorción, 404-405, 407, 406
  estructura, 405, 407
  fotosistema I y fotosistema II, 412-413, 413-414
  pigmentos antena, 405, 407, 406, 457-458
Clorofila *c,* 591-592
Clorofila P680, 412-413, 413-414
Clorofila P700, 412-413, 413-414
Clorofitos. *Véase* Algas verdes
Cloroflexi, 378-380, 462, 463, 472-473, 482-483, 512, 657-658, 662-663, 673-674, 675-676, 767-768
Cloroformo, 706-707
Cloroplasto, 3-4, 29, 66-67, 68-70, 74-75, 405, 407, 407-408, 412-413, 603-604, 604-605
  efectos da los antibióticos, 584-585
Cloroquina, 1016-1017
Clorosis, 727-728
Clorosoma, 405, 407-408, 407-408, 457-458, 471-473, 473-474, 474-475, 508-509
Clortetraciclina, 537-538
Cloruro de polivinilo, 707-708
Cloruro, 38-39
Clostridiales, 524-525, 526-527, 526-527, 739-740, 743-744, 750-751
Clostridio sacarolítico, 428-431, 528-530
Clostridios proteolíticos, 430-431, 529-531
Clostridium, 56-57, 105, 119, 176-177, 427-428, 428-432, 442, 482-483, 524-525, 526-527, 527-529, 528-531, 612, 685-686, 765-766, 768-769, 868-869, 882-883, 906-908, 990-991
  análisis secuencias de RNA, 210-211
  clostridios proteolíticos, 430-431, 529-531
Clostridium aceticum, 427-428, 442, 528-530
Clostridium acetobutylicum, 427-428, 430-431, 482-483, 528-530
Clostridium acidurici, 528-530
Clostridium bifermentans, 527-529, 528-530
Clostridium botulinum, 182, 528-530, 529-531, 778, 779-782, 786-787, 916-917, 917-918, 983, 992-994, 994-995, 995-997
Clostridium butyricum, 92-93, 427-428, 528-530
Clostridium cadaveris, 527-529
Clostridium cellobioparum, 528-530
Clostridium chauvoei, 874-875
Clostridium difficile, 770, 769, 771, 864-865, 869-870
Clostridium formicaceticum, 442, 528-530
Clostridium histolyticum, 528-530, 622-623
Clostridium kluyveri, 427-428, 431-432, 528-530
Clostridium ljungdahlii, 442
Clostridium lochheadii, 741
Clostridium methylpentosum, 528-530
Clostridium novyi, 978-979
Clostridium pascui, 55-56
Clostridium pasteurianum, 21-22, 528-530, 612
Clostridium perfringens, 528-530, 529-531, 778, 777, 779, 779-781, 917-918, 977-979, 991-992, 992-994, 995-996
  toxina alfa, 978-979
Clostridium propionicum, 427-428, 528-530
Clostridium putrefaciens, 528-530
Clostridium septicum, 874-875, 978-979
Clostridium sordellii, 864-865
Clostridium sporogenes, 430-431, 527-529, 528-530, 529-531
Clostridium tetani, 430-431, 528-530, 529-531, 778, 779-781, 781-782, 785-786, 786-787, 802-803, 902-903, 977-978
Clostridium tetanomorphum, 528-530, 612
Clostridium thermocellum, 528-530
Clotrimazol, 887-888
CMI (concnetración mínima inhibitoria), 183-184, 188-189, 870-872, 871-872, 895-896
Cnidarios, arrecifes de coral, 756-758
Coagulación, 713-714, 719-720
Coagulación de la fibrina, 776-777, 944-945, 945-946
Coagulasa, 119, 776-777, 778, 916-917, 944-945, 945-946
Cobalamina. *Véase* Vitamina B12-13
Cobalto, 79-80, 446
Cobre, 79-80
  recuperación por lixiviado, 700-701, 701-702
Coccidioides, 1011

Coccidioides immitis, 931-932, 1008, 1009, 1011
Coccidioidomicosis, 810-811, 911-912, 954-955, 1009, 1011
Coccidios, 590-591, 1013-1014
Coccidiosis, 590-591
Cochinilla, 747-748, 748, 750
Coco, 34-35, 35-36
Cocolitoforos, 691-692, 692-693
  calcificación, 696-697
Cocos formadores de endósporas, 527-529, 529-531
Código degenerado, 133-134
Código genético, 132-135, 145-146
  burbuja, 133-134
  degenerativo, 133-134, 310-311, 354-355
  Mycoplasma, 134-135
  propiedades, 133-135
  variabilidad en, 204-205
Código genético de la Treonina, 133-134
Código genético degenerativo, 310-311, 354-355
Código Internacional de Nomenclatura Bacteriana, 397-399
Codón, 113, 132-135, 135-136, 137-140, 145-146
Codón de inicio, 134-135, 137-139, 146-147, 197-198, 198-199
Codón de parada, 134-135, 140, 146-147, 197-198, 198-199, 204-205, 310-312, 312-313
Codón de uso, 351-353, 354-355
Codon sin sentido. *Véase* Codón de parada
Coenzima, 79-80, 85-86, 87-89, 109, 564-566
  de la metanogénesis, 443-445
  NADPH, 101-102
  rédox, 443-444, 445
Coenzima A, 89-90
Coenzima B (CoB), 444, 445
Coenzima F420, 444, 445
Coenzima F430, 444, 445
Coenzima M, 444, 445
Coenzima Q, 95-97
Coevolución, 724, 754-755, 761-762
  hospedador y parásito, 902-904
Cofactor hierro-molibdeno. *Véase* Co-FEMo
Cohn, Ferdinand, 13-15, 14-15
Cola poli-A, mRNA, 131-132
Cola, virus, 264-265
Colagenasa, 776-777, 778
Colección de cultivos, 397-398, 398-399
Cólera aviar, 15-16
Cólera, 20-21, 369, 521-522, 651-652, 707-708, 778, 786-787, 904-905, 905-906, 911-912, 914-915, 915-916, 916-917, 984-985, 986-988
  biología, 986-987
  cólera aviar, 15-16
  diagnóstico, 986-987, 987-988
  epidemiología, 922-923
  pandemias, 922-924, 987-988
  patogénesis, 986-987
  tratamiento y prevención, 986-988
Colicina, 119
Coliforme, 985-987, 1004-1005
Coliformes fecales, ensayos del agua para, 985-987
Colina, 438-439
Colitis, 769, 771
Colitosa, 46-47
Colon, 768-769, 769, 771
  microorganismos en, 9-11, 10-12
Colonia rugosa, 310-311
Colonia, 81-82
  aislamiento de una colonia, 17-18, 20-18, 20
Colonización, 764, 775-776, 788-789
  coevolución del hospedador y el patógeno, 902-904
  endolítico, epilítico, e hipolítico, colonizadores, 655-656
  resistencia, 783-785, 785-786
  superficie de los dientes, 766-767
Colonizadores endolíticos, 655-656
Colonizadores epilíticos, 655-656
Colonos hipolíticos, 655-656
Colorante, tinción de células, 29
Colorante, tinciones, 617-620. *Véase también* Tinciones específicas, 617-620
  anticuerpos fluorescentes, 657-658
  cápsular, 50-51
  endospora, 56-57
  filogenético, 619-620, 620-621, 657-658
  muestras naturales, 617-620
  negativo, 32-33, 34-35
  para el microscopio, 29-31
    microscopía de láser confocal, 32-33
    microscopio electrónico, 32-35
  procedimientos, 29-31
  proteína de fluorescencia verde como etiqueta celular, 618-620
  tinción de viabilidad, 618-619
  tinción fluorescente, 617-620
    utilización de DAPI, 617-619
Colpophyllia natans, 759
Columna de agua, estratificada, 660-662, 662-663, 677-678
Columna de Winogradsky, 610-614, 640
Colwellia, 664-665, 670-671
Combinación EIA, 876-877, 877-878
Combustible fósil, 694-695
Combustion, inutilización de la autocombustión del carbón, 561-562, 562-563
Comensales, 770
Comensalismo, 724
Cometabolismo, 706-707
Comité Internacional de Sistemática de Procariotas (ICSP), 398-399
Compartimento intermidio, *Ignicoccus,* 573-574
Competencia entre los microorganismos, 618-619, 647-648
Competencia-proteína específica, 319-320
Competencia, 319-320
Complejo C3bBbP, 836-837
Complejo calcio-ácido dipicolínico, 56-58
Complejo citocromo (Hmc), 439-440, 440-441
Complejo citocromo *bc*1, 94-95, 95-98, 409-410, 411-412
Complejo citocromo oxidasa, 203-204
Complejo de ataque de membrana (MAC), 834-835, 835-836, 836-837
Complejo de Golgi, 3-4, 66-67, 70-71
Complejo de iniciación, 137-139
Complejo enterotoxina, 778
Complejo enzima-sustrato, 85-86
Complejo enzimático metil reductasa, 445
Complejo HLA, 844-845
Complejo Hmc, 439-440, 440-441
Complejo NADH deshidrogenasa, 203-204
Complejo peptídico MHC, 796-798, 807-808
Complejo proteico principal de histocompatibilidad (MHC), 796-798, 810-811, 814-815, 842-844, 844-847
  clase I, 796-797, 797-798, 807-808, 823-826, 826-827, 837-838, 839, 842-844, 844-845, 845-846, 847-848
  clase II, 796-797, 797-798, 811-812, 823-826, 827-828, 828-829, 837-838, 842-848
  complejo peptídico TCR:MHC I, 850-851
  complejo peptídico-MHC, 796-798, 807-808
  Correptores CD4 y CD8, 824-825, 824-826
  estructura proteica, 845-846
  estructura, 823-824
  funciones, 823-824
  genética, 823-824, 845-846, 846-847
  polimorfismo y unión peptídica, 846-848
  presentación de antígeno, 796-797
  variaciones estructurales, 846-847
Complejo succinato deshidrogenasa, 95-97, 96-98
Complementación, 318
Complemento, 798-799, 799-800, 833-836, 837-838
  activación, 834-836, 840-841
  no dependiente de la activación por anticuerpo, 835-837
Componente de secreción, inmunoglobulina A, 832-833
Comportamiento humano, contribución a la emergencia de patógenos, 915-916
Composición microbiana del intestino posterior de las termitas inferido de, 750-751
  comunidad microbiana del rumen inferido de, 739-740
Compuesto, 170
Compuesto de amonio cuaternario, 184-185
Compuesto de arsénico, aceptor de electrones, 447, 448
Compuesto de plomo, 892-893
Compuesto fenólico, 184-185
Compuestos aromáticos, 683-684, 684-685
  fermentación, 93-94
  metabolismo, 427-428
Compuestos aromáticos, síntesis, 102-103
Compuestos de antimonio, 1016-1018
Compuestos de azufre orgánico, 687-688
Compuestos de cloro, 184-185
Compuestos de estrógenos sintéticos, 712-713
Compuestos de metil, metanogénesis, 445-446
Compuestos del petróleo, genes utilizados para la evaluación de la degradación, 621-622
Compuestos inorgánicos, metabolismo de la energía, 83-84
Compuestos orgánicos,
  metabolismo energético, 83-84
  tierra primigenia, 371-372
Compuestos ricos en energía, 88-92, 426
Comunicación eléctrica entre células bacterianas, 689-690
Comunicación, 4-5, 23-24
Comunidad, 4-5, 6-7, 24, 610, 613, 644-645, 645-646, 677-678
  boca humana, 745-746
  endolítico, 717-718
  estacional, 662-663
  hipótesis de la Reina Negra y la evolución de la dependencia en, 391
  hospedador, 902-904
  intestino humano, 742-745
  leech, 755-757
  piel humana, 745-746
  sedimento profundo, 643
  simbiosis entre microorganismos, 724-727
Comunidades endolíticas, 717-718
Comunidades microbianas de la boca humana, 745-746
  microbiota normal, 765-766, 766-768
  Paramecium, 589-590
Comunidades microbianas de la piel, 745-746
Comunidades microbianas de los sedimentos de las profundidades marinaas, 643
Comunidades microbianas. *Véase* Análisis de la comunidad
Concatámero, 276-277
  DNA, 264-265, 265-266, 267-269, 286-287, 291-292
Concatemérico, 264-265, 265-266, 267-269, 286-287, 291-292
  circular covalentemente cerrado, 584-585
  de la secuencia de replicación, 338-339
    vectores de clonación para, 352-354
  de muesca, 316-317
  definición, 145-146
  desenrollado, 126
  desnaturalización, 121
  detectado en hábitats naturales, 213-214
  diana, 392, 393-394
  doble hélice, 113-115
  en océanos, 213-214
  enlances de hidrógeno, 113, 115
  estabilidad a elevadas temperaturas, 577-578
  estructura toroidal, 547-548
  estructura, primaria, 113
  eucariota, 4-5, 67-68
  Extremos cohesivos, 336-337, 341-342
  gel de electroforesis, 337-339
  glucosilado, 265-266
  hipertermófilo, 577-578, 578-579
  historia de la vida, 377-386
  interaciones con proteínas, 113, 114
  lineal, 264-265, 267-268, 286-287, 287-288, 498-499
  macromoléculas de información, 112-113, 114
  metilación, 264-265, 337-338
  métodos para manipular, 336-346
  mitocondrial, 117, 584-585
  móvil, 219, 327-329
  mutaciones. *Véase también* Mutación
  origen como material genético, 371-373
  origen de los virus, hipótesis, 282-284
  palindrómico, 336-337
  procariota, 4-5
  radiación ultravioleta, 180-181
  RecA-independente, 547-548
  recombinante, 341-343, 367-368
  relajado, 115, 116
  repeticiones invertidas, 127-128, 128-129, 227-228, 327-328
  repeticiones terminales invertidas, 327-328
  replicación. *Véase* Determinación
  señalización, alumbre, 817
  sintético, 341-342, 343-344
  superenrollada, 114-115, 116, 118
  surco mayor, 113, 114, 115, 227-228
  surco menor, 114, 115
  tamaño de, 114
  terminaciones redundantes, 264-265

terminaciones repetidas, 264-265, 286-287
invertido, 289-290, 290-291
Concentración de nutrientes limitantes, 159-160
tasa de dilución, 159-160
usos experimentales, 159-161
Concentración mínima inhibitoria (CIM), 183-184, 188-189, 870-872, 871-872, 895-896
Concepto de especie filogenética, 392
Concepto de especie, 392-394
Conceptos ecológicos, 644-646
Condiciones anóxicas, 487-488, 647-648, 666-667
Conducción directa, 684-685
Conducto torácico, 792-793
Conejo
conejos australianos y virus de mixoma, 902-903
digestión, 736-738
Congelación, 170
Conidio, 1008, 1009
estreptomicetos, 535-537
fúngico, 595, 597-599, 607-608
Conidioforos, 595, 597, 598-599, 601-602
Conjugación bacteriana, 51-52, 119, 315-316, 316-317, 322-325, 331-332
descubrimiento, 322-323
mapa genético, 322-323
mobilización cromosómica, 323-326
transferencia de DNA, 322-325, 325-326
Conjugación en *Archaea,* 326-327
Conservación de la energía, 83-92
acetogénesis, 443-444
ciclo del ácido cítrico, 98-100
fermentación y respiración, 90-101
membrane citoplasmática, 38-39, 40-42
metanogénesis, 446-447
opciones metabólicas para, 83-84
Conservación química de los alimentos, 991-992
Conservantes, química de los alimentos, 991-992
Conservas en lata, 996-997
Consideraciones globales sobre la salud, 912-914
Consorcio, 453-455, 455, 472-473, 508-509, 725-727, 761-762
filogenia y metabolismo, 726-727
Construcción de una librería genética y secuenciación, 624-625
aislamiento y fragmentación del DNA, 341-342
en plantas, 357-359
encontrar el clon deseado, 342-343
detección de proteínas por anticuerpos, 342-343
expresión de genes foráneos en el hospedador, 342-343
sondas de ácidos nucleicos para un gen, 342-343
gen humano de la insulina, 355-356, 356-357
genes de mamíferos en bacterias, 354-355, 355-356
inserción de un fragmento de DNA en un vector de clonación, 341-342
molecular, 367-368, 621-622
múltiples sitios de clonación, 346-347, 348, 350-351, 352-353, 355-356
pasos, 341-343
secuenciación al azar, 194-196, 342-343, 367-368
secuenciación de genomas, 194-196
transferencia de DNA a un hospedador, 341-343
Contaminación fecal, 708-709, 985-987
Contaminante, 81-82, 82
Contaminantes
biorremediación de inorgánico, 703-705
biorremediación de orgánico, 703-708
contaminantes de interés emergente, 712-713
inorgánicos, biorremediación, 703-705
orgánicos, biorremediación, 703-708
Contención biológica, 862-865
Contención, 703-704
Control antimicrobiano
búsqueda de nuevos antimicrobianos, 892-895
físico, 179-183
hongos, 887-890
químico, 183-186
virus, 885-887
Control de la muerte celular, 630-631
Control de la traducción, 248-250, 345-346
Control de los mosquitos, 909-910, 973-974, 1016-1017
Control de plagas, simbiontes de insectos, 747-748
Control del crecimiento. *Véase* Esterilización
física, 179-183
química, 183-186
Control físico del crecimiento, 179-183
Control global, 232-235
represión por catabolito, 232-234, 240-241, 241-242, 254-255
percepción de quórum, 238-241, 254-255, 319-320, 504-505, 506, 649-650, 650-651, 753-754
Control negativo, 229-231, 254-255
Control positivo, 230-233, 254-255
Control químico del crecimiento, 183-186
Control, crecimiento. *Véase* control del crecimiento
Convención sobre Armas Biológicas y Tóxicas (1972), 920
Conversión fágica, 321-323, 779-781
Conversión lisogénica, 267-268
Cooperación metabólica, 647-648
Cooperación, entre microorganismos, 647-648
Copias silenciosas de genes, 601-602, 602-603
Copolímero, 707-708
Coprococcus, 743-744
Coptotermes formosanus, 750-751
Coriobacteriales, 524-525
Coriobacterium, 524-525
Corismato, 102-103
Coronavirus, 270-271, 280, 293-295, 295-296, 899, 906-907, 941-942
Corrección de errores, DNA polimerasa III, 124
Correceptor CCR5, 785-786, 954-955, 955-956
Correceptor CD4, 824-825, 824-826, 837-838
Correceptor CD8, 824-825, 824-826, 837-838
Correceptor CXCR4, 954-955
Correceptores, 824-825, 824-826, 837-838
Correpresor, 229-231
Corrientes citoplasmáticas, 594-595
Corrinoide, 446
Corrinoide, proteina, 446
Corrosion, 651-652
Corrosión corona, 717-718, 720-721
Corrosión de metales, 716-718
Corrosión del acero, 716-717
Corrosión influida por microorganismos, 700-701, 715-718, 720-721
Corte (mella), 116
Córtex, endóspora, 56-57, 57-58
Corynebacterium, 524-525, 532-534, 765-766, 990-991
Corynebacterium diphtheriae, 321-323, 532-533, 778, 779-781, 780-781, 786-787, 912-913, 916-917, 931-932, 934-936
Cósmido, 352-354
Costras biológicas del suelo, 655-656
Covelita, 701-702
Coxiella burnetii, 917-918, 931-932, 969-970
Crecimiento, 24
características celulares, 4-5
control de, 150-151
críptico, 158-159
definición, 150-151, 188
diaúxico, 232-233
efecto de los agentes antimicrobianos, 183-184
endospora, 55-56, 56-57
Crecimiento celular. *Véase* desarrollo de las inclusiones celulares, 51-54
Crecimiento colonial, 607-608
Crecimiento críptico, 158-159
Crecimiento de la población, 155-161
ciclo de crecimiento, 157-159
Crecimiento diaúxico, 232-233
Crecimiento equilibrado, 150-151
Crecimiento exponencial, 155-158, 188
consecuencias, 156-158
matemático, 156-157
Crecimiento intercalar, 498-499
Crecimiento microbiano. *Véase* Crecimiento
Crecimiento polar, 498-499
Cremallera de leucina, 227-228
Crenarchaeota, 378-380, 380-381, 462, 477-478, 485-486, 554, 564-566, 568-575, 580-581, 657-658, 657-658, 662-663, 668-669, 669-670, 673-674, 675-676, 676
hábitats, 568-569, 571
volcán submarino, 571, 573-575
volcan terrestre, 569, 571-572
metabolismo energético, 568-569, 571
virus, 287-288, 288-289
Crenarqueol, 38-39, 39-41, 566-567
Crescentina, 153-154
Crioprotector, 170
Criptococcosis, 954-955, 1009, 1011
Criptosporidiosis, 911-912, 954-955, 956-957, 984-985, 1012-1013, 1013-1014, 1014-1015
en países en vías de desarrollo, 922-924, 986-987
brotes, 714-715, 984-985, 985-986
enfermedad por norovirus, 864-865, 984-985, 989-990, 992-994, 1001-1002, 1002
fiebre tifoide, 988-990
fuentes, 707-708, 715-716, 984-986
legionelosis (Enfermedad de los Legionarios), 715-716, 987-989
Crisófitos, 591-592
CRISPR RNAs (crRNAs), 330
Cristae, 68-70, 74-75
Cristispira, 496-498, 498-499
Criterios de optimalidad, 383-384
Criterios estándar del agua, bebida, 651-652
Crocosphaera, 464-465, 466-468
Cromatofore, 405, 407, 407-408
Cromatografía líquida de elevada presión, 211-212
Cromatografía líquida, alta presión (HPLC), 211-212
Cromoblastomicosis, 1009, 1011
Cromóforo, 877-878, 878-879
Cromosoma, 115, 145-146
artificial de levadura (YAC), 352-354, 367-368
bacteriano, 117, 318
dominios superenrollados, 115, 116
duplicación, division celular vs., 124
eucariota, 66-67, 116
procariota, 115, 116, 117, 318
Cromosomas artificiales, 352-354, 366-367
Cromosomas bacterianos artificiales (BACs), 352-354, 362, 363, 366-367
Crotonato, 434-436
CRP, 231-232, 233-234
Cryptococcus, 603-604, 1011
Cryptococcus neoformans, 956-957, 1008, 1009, 1011
Cryptosporidium, 713-714, 714-715, 916-917, 956-957, 984-985, 1013-1014
Cryptosporidium parvum, 206, 917-918, 984-985, 992-994, 1002, 1012-1013, 1014-1015
CtrA, 244-245, 244-245
Cuarentena, 909-910, 911-912, 925-926
Cuarta generación de secuenciación, 194-195, 196-198
Cuerpo basal, flagelo, 59-60, 60-61, 74-75, 588-589
Cuerpo elemental, 541
Cuerpo fructifero, 493-495
hongo (seta), 598-599, 603-604
hongos mucosos, 594-595, 595-596
mixobacterias, 492-494, 493-496
Cuerpo parabasal, 587-588
Cuerpo parasporal, 527-530
Cuerpo reticulado, 541, 542-543
Cuerpos de inclusión, 355-356
Cuerpos de Negri, 965-966
Culex, 972-973
Culex quinquefasciatus, 973-974
Cultivo
aeróbico/anaeróbico, 176-178
amplitud y profundidad de la cobertura, 616
anaerobios, 869-870
axénico (puro), 17-18, 20, 18, 20, 20-21, 24, 81-82, 610, 613, 614-618
continuo, 158-161
discontinuo, 157-158, 158-159, 159-160, 188
enriquecimiento. *Véase* Cultivo de enriquecimiento, consorcio de bacterias verdes, 472-473
Cultivo axénico. *Véase* cultivo puro
Cultivo continuo, 158-161
Cultivo de enriquecimiento, 20-21, 23-24, 470-471, 610, 613-615, 639-640, 866-867, 895-896
aislamiento en cultivo puro para, 614-618
bacterias nitrificantes, 484-485
bacterias sulfato reductoras, 476-477
citofagas, 540
Hyphomicrobium, 499-500
Korarchaeum cryptofilum, 567-568, 568-569
para bacterias fototróficas y quimiolitotrofas, 610-611
para bacterias quimioorganotrofas y anaerobias estrictas, 612
resultados, 610-611
Cultivo de heces, 868-869
Cultivo de microorganismos en el laboratorio, 78-82
macronutrientes, 78, 79-80
medio y, 80-82
micronutrientes, 78, 79-80
química de la célula, 78-80
Cultivo de tejidos, virus animal, 262-263

Cultivo del tracto urinario, 868-869
Cultivo discontinuo, 157-158, 158-159, 159-160, 188
Cultivo puro, 17-18, 20, 18, 20, 20-21, 24, 81-82, 610, 613, 614-618
  criterios, 614-617
Cultivos de garganta, *Streptococcus pyogenes*, 933-934
Cultivos de viables, 398-399
Cultivos genéticamente modificados (GM crop), 358-359
Cupriavidus, 727-728
Curva de crecimiento de una sola etapa, 261-262
Curva de crecimiento, 157-158, 158-159
Curva de muerte de la radiación ionizante, 182
Curva estándar, medición de la turbidez, 164-165
Cutícula o cubierta de la espora, 56-57
CXCL8, 800-801, 855-856, 857
Cyanidiales, 604-605
Cyanidioschyzon, 604-605
Cyanidioschyzon merolae, 604-605
Cyanidium, 604-605
Cycloclasticus, 664-665
Cyclospora, 1013-1014
Cyclospora cayetanensis, 992-994, 994-995, 1014-1015
Cylindrospermum, 464-465
Cytophaga, 62-63, 537-538, 538-539, 540, 612
Cytophaga columnaris, 540
Cytophaga hutchinsonii, 538-539, 540
Cytophaga psychrophila, 540
Cytophagales, 537-538, 538-540
d-Alanina, 44-45, 45-46, 46-47, 155-156
D-Aminoiácido, 131-132
δ-Toxina, 778
DAHP sintetasa, 251-252
Daño celular, 834-836
DAP. *Véase* Ácido diaminopimélico
DAPI, 31-32, 161-162, 566-567, 639-640
  tinción fluorescente utilizando, 617-619
Dapsona, 937-938
Daptobacter, 492-494
Daptomicina, 881-882, 885-886
Darwin, Charles, 370, 377-378, 381-383, 386
dATP, 120
dCTP, 120
DDT, 706-707, 909-910
Decloración aeróbica, 706-707
Decloración reductiva, 436-437, 448, 457-458, 706-707, 720-721
Decoloración, del coral, 757-759
Dedo de zinc, 227-228
DEET, 969-970, 971-972
Defectos genéticos, inmunidad, 801-803
Defensa, biopelículas, 650-651
Defensa del hospedador, 796-808. *Véase también* Sistema inmunitario; inmunidad
  inespecífica, 785-787
  inflamación, 799-802
  inmmunidad activa artifical (cavunación), 801-802, 803-808, 814-815
  inmunidad natural, 801-803
  inmunidad pasiva artificial, 801-802, 802-803
  resistencia natural (innata), 785-786
Defensinas, 785-786, 840, 842
Deferribacter, 512, 547-548
Deferribacteres, 477-478, 485-486, 547-548
Degradación anoxigénica de, 453-455
  metabolismo, 451-452
Degranulación, 793-794, 808-809, 824-826, 832-833
Dehalobacterium, 448, 449
Dehalococcoides, 448, 449, 472-473, 612
Dehalorespiración, 448
Deinococcales, 546-547
Deinococcus radiodurans, 182, 193
  reparación DNA, 547-548
  resistencia a la radiación, 546-547, 547-548
Deinococcus-Thermus, 378-380, 462, 477-478, 485-486, 512, 546-547
Deleción clonal, 853, 853-855, 857-858
Deleción, 311-312, 313-314, 386. *Véase también* Microdeleción
  dinámica de los genomas microbianos, 390
  tendencia de las mutaciones hacia, 390, 391
Delftia acidovorans, 492-493
Deltavirus, 948-949
Demanda bioquímica de oxígeno (BOD), 661-662, 677-678, 707-708, 708-709, 719-720
Demanda química de oxígeno, 661-662
Demografía, contribución a la emergencia de patógenos, 913-916
Denisovans, 839
Densidad celular, quimiostato, 159-160
Deoxiribonucleasa, 945-946
Deoxiribonucleotido, 120, 196-197
Deoxiribosa, 101-102, 112-113, 124
Dependencia en comunidades microbianas hipótesis de la Reina Negra, 391
Depirimidinación (pérdida de un nucleótido), 577-578
Depredadores periplasmáticos, 492-494
Deriva antigénica, 296-297, 923-924, 941-943, 943-944, 961-962
Deriva genética, 386, 386-387, 390, 400-401
Deriva, 586
Dermatitis atópica, 746-747
Dermatitis por contacto, 808-810
Dermatitis
  atópica, 746-747
  contacto, 808-810
Dermatofitos, 1010-1011
Dermocarpa, 464-465
Dermocarpella, 464-465
Derxia gummosa, 483-484
Derxia, 513
Desagüe de aguas residuales, 661-662
Desaminación de la citosina, 747-748
Desarrollo económico, contribución de la emergencia de patógenos, 915-916
Desarrollo industrial, contribución a la emergencia de patógenos, 915-916
Desasimilación de oxidadores del azufre, 477-481, 508-509
Desasimilación de reductores del azufre, 476-478, 508-509
Desasimilación de sulfato reductores, 475-477, 508-509
Desbastado, 633-634, 634-635
Descarboxilación de ácidos orgánicos, 432-433
Descomponedor de succinato, 741
Descomponedores de almidón, 741
Descomponedores de celulosa, 741
Descomponedores de lactato, 741
Descomposición
  anóxica, 426, 681-682, 682-685
  ciclo del carbono, 681-682, 683-684
  de la pectina, 741
Descontaminación, 179, 188
Desensibilización, 791, 808-810
  sublingual, 791
Desertificación, 655-656, 696-697
Desinfección, 184-185, 186, 188-189
Desinfección primaria, 713-715, 720-721
Desinfección secundaria, 714-715, 720-721
Desinfectante, 179, 184-185, 186, 188
Desnaturalización, 141-142, 145-146, 179
  DNA, 121
  proteínas, 141-142, 577-578
Desnitrificación, 380-381, 436-439, 457-458, 696-697, 697-698
  ciclo del nitrógeno, 685-686
  genes utilizados para evaluar, 621-622
  oxidación del metano y, 461
  zonas con mínimo oxígeno, 664-665
Desnitrificadores, 438-439, 481, 483-484, 485-486, 508-509
  Archaea, 485-486
  bacterias, 435-436, 438-439, 453-454, 453-455, 455, 485-486
Desorden del complejo inmunitario, 808-810, 810-811
Desove por diseminación, 757-758
Desulfacinum, 475-476
Desulfarculales, 522-523
Desulfitobacterium, 449, 477-478, 527-529
Desulfobacter, 475-476, 522-523, 686-687
Desulfobacter postgatei, 476-477
Desulfobacterales, 522-523, 672-673, 673-674, 675-676
Desulfobacterium, 475-476
Desulfobotulus, 475-476
Desulfobulbaceae, 689-690
Desulfobulbus, 475-476
Desulfobulbus propionicus, 476-477
Desulfococcus, 475-476
Desulfofustis, 475-476
Desulfomicrobium, 475-476
Desulfomonas, 475-476
Desulfomonile, 448, 449, 475-476
Desulfonema, 475-476
Desulfonema limicola, 476-477
Desulfopila corrodens, 716-717
Desulforhabdus, 475-476
Desulforhopalus, 475-476
Desulforudis audaxviator, 659
Desulfosarcina, 475-476, 513
Desulfosarcina variabilis, 476-477
Desulfosporosinus, 475-476
Desulfotignum phosphitoxidans, 440-441
Desulfotomaculum, 105, 448, 475-476, 476-477, 527-529, 612
Desulfotomaculum auripigmentum, 448
Desulfotomaculum orientis, 442
Desulfovibrio, 98-100, 320-321, 438-439, 439-440, 475-476, 476-477, 482-483, 513, 522-523, 544-545, 612, 686-687, 703-705
  Desulfovibrio desulfuricans, 438-439, 476-477
Desulfovibrio gigas, 482-483
Desulfovibrio magneticus, 503-504
Desulfovibrio oxyclinae, 476-477
Desulfovibrio sulfodismutans, 440-441
Desulfovibrionales, 522-523
Desulfurella, 477-478, 522-523
Desulfurellales, 522-523
Desulfurilación, 686-687
Desulfurobacterium, 477-478
Desulfurococcales, 571, 573, 572-575
Desulfurococcus, 554, 570-572, 571, 573, 572-574
Desulfurococcus saccharovorans, 574-575
Desulfuromonadales, 522-523
Desulfuromonales, 657-658
Desulfuromonas, 477-478, 485-486, 522-523, 612, 686-687
Desulfuromonas acetoxidans, 440-441, 476-477
Desulfuromusa, 485-486, 522-523
Detección de anticuerpos, 878-879
Detector de luz, 364-365
Detergente catiónico, 184-185, 186
Dethiosulfovibrio, 477-478
Devosia, 514-515, 727-728
Dextrano, 774-775, 775-777, 786-787
Dextransacarosa, 786-787
DGGE, 624-625
dGTP, 120
Di-guanosina monofosfato cíclico (c-di-GMP), 240-241, 649-650, 650-651
Di-mio-inositol fosfato potásico, 577-578
Diabetes
  infantil (juvenil), 810-811
  tipo-2 (insulina no dependiente), 746-747
Diabetis juvenil, 810-811
Diacetil, 526-527
Diaponeurosporeno, 409-410
Diarrea del viajero, 998-999
Diatomea, 167-168, 591-592, 592-593, 692-695, 757-758
Diazotrofos, 481, 482-483, 508-509
  simbiótico, 482-483
  vida libre, 482-484
Dicloroetileno, 449
Diclorometano, 706-707
Dictyostelium, 206, 595-596
Dictyostelium discoideum, 70-71, 206, 594-596
Dideoxihexosas, 46-47
Dideoxinucleótidos, secuenciación Sanger, 193, 194-195
Dientes, anatomia, 766-767, 767-768
Dieta, susceptibilidad a las enfermedades infecciosas, 786-787
Diferenciación, 4-5, 23-24
Diferenciación celular, 56-57
Difosfato de adenosina (ADP), 427-428
Difteria, 778, 786-787, 908-909, 909-910, 911-912, 912-913, 916-917
  epidemiología, patología, prevención y tratamiento, 934-936
  número de reproducción básica, 905-906
Difusión, 38-39, 39-41, 40-42
Digestión con proteasa, 356-357
Digestor de lodos (fangos), 708-709, 710, 711-712
Diglicerol tetraéter, 38-39, 39-41
Dihidrouridina, 135-136
Dihidroxi-indol, 363
Dihidroxiacetona fosfato, 90-92, 91-92
Dilución seriada, 162-163, 614-615
Dímero, 227-228, 227-228
Dímero de pirimidina, 313-314, 314-315
Dímero de proteína, 227-228, 227-228
Dimethyl sulfuro, 447, 448, 489-491, 559-561, 687-688
Dimetil disulfuro, 687-688
Dimetil guanosina, 135-136
Dimetil sulfóxido (DMSO), 170, 447, 448, 686-687, 687-688
Dimetilamina, 559-561
Dimetilmercurio, 694-695
Dimetilsulfoniopropionato, 174-175, 175-176, 687-688
dinB, 314-315
Dinitrogenasa, 105, 107, 244-245
Dinitrogenasa reductasa, 106, 107, 244-245
Dinitrógeno, utilización biológica. *Véase tambien* Fijación de nitrógeno
Dinobryon, 591-592, 593-594
Dinoflagelado, 584-585, 585, 589-591
  arrecifes de coral, 757-758, 759
Dinoflagelados tóxicos, 590-591
Dióxido de azufre, 438-439, 686-687
Dióxido de carbono, 559-561, 560-561

aceptor de electrones, 436-437, 440-441
acetogénesis, 440-441, 442
agujeros en el queso suizo, 431-432, 533-534
atmosférico, 680, 692-693, 695-696, 757-758
calentamiento global, 695-697
concentraciones en el aire por encima del océano
del ciclo del ácido cítrico, 97-100
en la fotosíntesis, 404
fuente de carbono, 100-101
producción en el rumen, 738-739, 739-740, 741
producto de la fermentación, 91-92, 93-94, 428-429, 428-430, 518-519, 519-520, 523-524, 683-684
sitios superficiales, 695-696
Dióxido de nitrógeno, 437-438
Dioxigenasa, 450, 451-452, 706-707
Dioxigenasas secuenciales, 451-452
Dipéptido, 131-132
Dipicolinato cálcico, 180-181
Diploide, 67-68, 318, 325-326
Diplomónada, 378-380, 586, 587-588
Diptericina, 840, 842
Disacáridos, fermentación, 91-93
Disbiosis, 745-746, 761-762
Discosphaera tubifera, 692-693
Disentería amebiana, 594-595
Disentería bacilar, 519-520
Disentería porcina, 496-497
Disentería, 519-520, 589-590, 594-595, 778, 1012-1013. *Véase también* Amebiasis
Diseño de cebadores, 381-383
Diseño de drogas por computación, 892-894
Diseño de drogas, ordenador, 892-894
Disinfección, 179, 188
agua, 713-715
primaria, 713-715, 720-721
secundaria, 714-715, 720-721
Dismutación, azufre, 440-441, 686-687
Disrupción génica, 344-345, 366-367
Distancia filogenética, patrones de intercambio genético y, 390
Disulfuro de carbono, 687-688
Diversidad catabólica, 98-101
Diversidad de la región-N, 851-852
Diversidad de plantas, 735-737
Diversidad ecológica, 463
Diversidad filogenética, 462
Diversidad fisiológica, 463
Diversidad funcional, 461-509
bacterias fototróficas, 463-475
bacterias quimiotróficas, 475-496
ciclo del azufre, 475-481
ciclo del nitrógeno, 481-486
concepto, 462-463
diversidad morfológica, 496-506
Diversidad genética, morfología y, 619-620
Diversidad metabólica 403-459, 644-645. *Véase también* Autotrofía; Quimiolitotrofía; Quimioorganotrofía; Fijación de nitrógeno; fototrófo
consecuencias para la biosfera de la Tierra, 372-374
Diversidad microbiana, 5-7, 7-8, 392-394. *Véase también* Diversidad funcional; Diversidad metabólica; Diversidad morfológica
aumento de, 20-22
en eucariotas, 583-608
procariotas, 557-561, 655-658, 675-676, 676
Diversidad morfológica, 463, 496-506
bacterias con vaina, 502-503
bacterias magnetotácticas, 502-504
bacterias que forman yemas, con prostecas y pedunculadas, 498-503
bioluminiscencia bacteriana, 504-506, 508-509
espiroquetas y espirilos, 496-499, 508-509
División, agua, 412-413
División celular
bacterias gemadoras y prostecadas/pedunculadas, 498-503
Caulobacter, 501, 500, 502
duplicación del cromosoma vs., 124
eucariota, 67-70
evolución, 154
productos desiguales, 499-500
productos iguales, 499-500
proteínas Fts y, 150-154
síntesis del peptidoglicano y, 154-156
División por fractura, 532-533
Divisoma, 150-151, 188
DMSO-TMAO reductasa, 79-80
DMSO. *Véase* Dimetil sulfóxido
DNA bacteriofago, 284-288
DNA complementario (cDNA), 208, 209-210, 340-342, 354-355, 356-357, 879-880
DNA cromatina, 817
DNA de transferencia (T-DNA), 732-734
DNA diagnóstico, cebadores, 879-880
DNA diana, 392, 393-394
DNA endosimbiosis secudaria, 584-585, 586, 587-588
DNA estructura, 68-70
DNA evolución, 375-377, 381-383
DNA filogenia, 584-585
DNA genoma, 203-204
DNA girasa, 115, 116, 120, 121, 122, 123, 145-146, 881-882, 889-891
inhibición, 115, 880-882
inversa, 577-578, 580-581
DNA girase inversa, 577-578, 580-581
DNA helicasa, 120-121, 122, 123, 145-146
DNA ligasa, 121, 122, 145-146, 341-342
DNA lineal, 264-265, 267-268, 286-287, 287-288, 498-499
DNA marcador, 338-339
DNA móvil, 219, 327-329
DNA poliacrilamida en dos dimensiones, 210-212
DNA polimerasa, 113, 114, 120, 145-146, 194-195, 196-197, 298, 300, 339-340, 340-341, 343-344
actividad de corrección de pruebas, 124, 340-341
amplificación múltiple desplazada, 214-215, 637-638, 640
Pfu, 340-341
taq, 171-173, 340-341, 546-547
DNA polimerasa I, 120, 121, 122
DNA polimerasa III, 120-124, 124
DNA recombinante, 341-343, 367-368
DNA ribosoma, 69-70, 584-585
DNA Sintético, 341-342, 343-344
DNA superenrollado, 114-115, 118
superenrollado negativo, 115, 116
superenrollado positivo, 115
DNA-DNA hibridación, 392, 393-394, 400-401
DNA, 3. *Véase* también Transcripción
cadenas antiparalelas, 113, 115, 145-146
cadenas complementarias, 113, 115
circular, 115, 116, 118, 122, 123, 267-269, 284-285, 287-289
cloroplasto, 117, 584-585
complementariedad, 208, 209-210, 354-355, 356-357, 879-880
cromatina, 817
Extremos cohesivos, 267-268
extremos romos, 336-337, 341-342
marcado con ^{13}C, 636-637
mplificadora, 339-341
amplificación múltiple desplazada, 214-215, 637-638, 640
permutación circular, 264-265, 265-266
secuencia de bases, 113
DnaA, 120, 121, 123, 244-245, 244-245
DnaB, 120, 121
DnaC, 192-193, 120, 121
dnaQ gen, 315-316
DNasa I, humana, 357-358
DNase I humana, 357-358
Doble enlace conjugado, 407-408
Doble enlace, 105
conjugado, 407-408
Doble hélice, 113-115
Dogma central de la biología molecular, 113
Dominio (proteína), 211-212, 227-228, 837-838, 840-842
Dominio (taxonomía), 5-6, 6-7, 7-8, 23-24, 34-35, 254-255, 377, 379, 400-401, 586
análisis de genes, 217-218
características, 380-381
características moleculares del árbol, 376-377
Dominio de unión nucleótido, 211-212
Dominio superenrollado, cromosoma, 115, 116
Dominios de una proteína, 211-212, 227-228, 840-842
Dominios de unión a metales, 211-212
Donador de electrones, 86-89, 109, 409-410, 411-412, 413-414
fuente de energía, 86-87
inorganico, 417-419
metanogénesis, 445, 446
primario, 88-89
Dorea, 743-744
Dos componentes del sistema regulatorio, 235-237, 254-255
ejemplos, 235-236
reguladores múltiples, 235-237
Dosis de inmunógeno, 822-823
Dosis de radiación absorbida, 180-182
Dosis de refuerzo, 803-804, 804-806, 833-834
Dosis letal, 182, 771-773
Doxiciclina, 949-950, 952-953, 969-970, 970-971
Dracunculiasis, 912-913
Dracunculus medinensis, 912-913
Drenaje ácido de las minas, 420-421, 421-422, 547-548, 562-563, 645-646, 702-704, 719-720
Droga, interferencia con la división celular bacteriana, 152
Droga sulfa, 880-882, 882-883
Drogas antimicrobianas naturales, 882-886. *Véase también* Antibiótico
Drogas antimicrobianas sintéticas, 880-883
Drogas antimicrobianas, 880-890. *Véase también* Antibióticos
antifúngicos, 887-890
antiviral, 885-887, 941-942, 943-944
modo de acción, 881-882
natural, 882-886
Drosomicina, 840, 842
Drosophila melanogaster
genoma, 206
receptores toll, 840, 842
dTTP, 120
Dulbecco, Renato, 280
Dunaliella, 175-176, 556-557, 604-605, 605-606
Duodeno, 767-768, 768-769
Duplicación de genes, 214-218, 386
EBPR, 711-713
Ecología microbiana, 7-8, 22-23, 24, 274, 610, 613, 632-634, 640, 644-647
fraccionamiento isotópico, 632-634
métodos, 609-640
recuento de células en el microscopio, 160-162
Ecología vírica, 274
*Eco*RI, 336-337, 337-338, 344-345
*Eco*RV, 336-337, 337-338
Ecosistema, 6-8, 23-24, 643-678
ambientes acuáticos, 660-676
biogeoquímica y ciclos de los nutrientes, 645-647, 677-678
definido, 644-645
conceptos ecológicos, 644-646
entrada de energía, 645-647
ambientes y microambientes, 646-649, 677-678
tapetes microbianos, 651-654
superficies y biopelïculas (biofilm), 648-652
ambientes terrestres, 6-7, 653-661
Ecosistema acuático, 6-7
Ecosistema de las praderas marinas, 723
Ecosistema marino, 660-661, 662-676
cominidades microbianas de estación, 662-663
zonas de oxígeno mínimo, 664-665, 677-678, 696-697
Ecotipo, 664-666
Ectoina, 175-176
Ectomicorrizas, 598-599, 733-734, 735-736
Ectothiorhodospira, 407-408, 469-470, 556-557
Ectothiorhodospira mobilis, 469-470
Edad,
microbiota normal de la piel, 766-767
susceptibilidad a las enfermedades infecciosas, 786-787
Edema, 799-800, 800-801, 801-802
Efecto de la glucosa, 232-233
Efecto invernadero, 695-696
Efector, 229-230, 230-231, 235-236, 252-253
Eficiencia en placas, 263-264
Efluente de agua, 707-708, 708-709, 711-712, 712-713, 720-721
Ehrlichia, 513, 515-516, 968-969
Ehrlichia chaffeensis, 966-968, 969-970
Ehrlichia ewingii, 969-970
Ehrlichiosis monocítica humana (HME), 968-970
Ehrlichiosis, 911-912, 966-968, 968-970
EIA directo, 876-877, 877-878
EIA indirecta, 876-877, 877-878
EIA. *Véase* Inmunoensayo enzimático
Eikenella, 765-766
Eimeria, 590-591
Ejes de simetría, 258-259
El mundo del RNA, 248-250, 371-373
virus y transición hacia el mundo del DNA a partir de, 282-284
El Tiempo, microbiota normal de la piel, 766-767
Elaboración de pan, 93-94
Electroforeseis en gel de poliacrilamida, dos-dimensiones, 210-212
Electroforesis de gel desnaturalizante en gradiente (DGGE), 621-623, 624-625, 639-640
Electroforesis. *Véase* Gel de electroforesis
Electroporación, 319-320, 346-347, 349-350

Elefantiasis (filariasis de Bancroft), 1018-1019
Elemento transponible, 116, 117, 146-147, 219, 286-288, 311-312, 327-329, 332-333
  bacteriófago Mu. *Véase* bacteriófago MU
Elementos genéticos, 112-113, 115-119, 145-146
  no cromosómicos, 115-116, 117, 118-119
Elementos traza, 775-776. *Véase también* Micronutrientes
Elevada presión, efectos moleculares de, 670-673
Elevada temperatura ambiental, 170-173
Eliminación biológica de fósforo
ELISA. *Véase* Inmunoensayo enzimático (EIA)
Elongación del RNA, 881-882
Elongación, traducción, 137-139, 138, 140
Elvitegravir, 957-958
EMB agar. *Véase* Agar eosina-metileno azul
Embarazo,
  microbiota intestinal y aumento de la grasa corporal, 744-745
  rubeola, 939-940
Emiliania huxleyi, 692-693
En buena forma (mejoran), 386, 390, 400-401
  Experimento de evolución a largo término en Escherichia coli (LTEE), 388-389, 388-389
  hip*ótesis de la Rein*a Negra, 391, 567-568
Enanismo, 356-357
Enanismo en plantas de maiz, 531-532
Enantiómero, 145-146
Encaperuzamiento de mRNA, 131-132
Encapsulación de cápsida llena, 264-265
Encefalitis, 911-912, 913-914, 917-918
  alérgico, 810-811
  California, 903-905
  equina de Venezuela, 917-918
  espongiforme bovina, 909-910
  vacuna para los japoneses, 803-804
Encefalomielitis, sarampión, 939-940
Encefalopatía espongiforme bovina, 301-302, 302, 1002
Encefalopatía espongiforme transmisible, 301-302
Encephalitozoon, 586, 600-602
  genoma de, 601-602
Encephalitozoon cuniculi, 206, 206-207
Encephalitozoon intestinalis, 600-601
Encía, 766-767
Encurtido, 10-12, 991-992
Endocarditis, 864-865
Endocelulasas, 540
Endoflagelos, 496-497, 496-498
Endomicorriza, 598-599, 601-602, 733-734, 734-735
Endosimbiontes, 746-747
  de ciliados, 589-590
  genomas, 199-200
Endosimbiosis, 69-70, 375-377, 584-585
  primaria, 584-585, 585, 586, 587-588, 603-604
  secundaria, 584-585, 586, 587-588, 590-591, 603-604, 607-608
  simbiontes metanogénicos y acetogénicos en termitas, 684-685
Endosimbiosis primaria, 584-585, 585, 586,
Endosimbiosis secundaria, 584-585, 586, 587-588, 590-591, 603-604, 607-608
Endóspora, 54-58, 74-75, 380-381
  activación, 55-56, 56-57
  central, 55-56
  crecimiento, 55-56, 56-57
  células vegetativas vs., 55-56, 56-57, 57-58
  desarrollo, 243-244, 244-245
  estructura, 55-57
  formación, 55-56, 56-58
  germinación, 55-56
  heliobacterias, 474-475
  resistencia al calor, 13-15, 55-56, 56-57, 57-58, 180-181
  subterminal, 55-56
  terminal, 55-56
  tinción, 55-56
Endotoxina, 47-48, 519-520, 783-785, 788-789
  Ensayo de *Limulus*, 783-785
  estructura y biología, 783-785
  propiedades, 783-785
  Yersinia pestis, 974-975
Energía, 84-85
  activación, 85-86, 109
  de formación, 84-85
  de mantenimiento, 90-92
  libre, 84-85, 87-88, 109
    cambio del estándar vs., presente, 84-85
    de formación, 84-85
    torre rédox y cambio en el estándar, 87-88
  entradas en el ecosistema, 645-647
  células primitivas, 372-374
  almacenamiento, 89-92
  oxidación del azufre, 420-421
Enfermedad, 764, 771-773, 788-789. *Véase también.* Enfermedades infecciosas; enfermedades persona a persona; enfermedades específicas
  cambios en el microbioma humano, 745-747
  función que desempeña la cápsula en, 50-51
  hongo, 598-599
  por biopelículas y, 166
  prión, 301-302, 302
  viroide, 301-302
Enferemedad de Newcastle, 360-361
Enferemedad estreptocócica, 931-935
  diagnóstico, 932-934
Enfermedad autoinmunitaria, 810-811, 933-934
Enfermedad cíclica, 904-905
Enfermedad Creutzfeldt-Jakob, 301-302
  Nueva variante (nvCJD), 301-302, 1002
Enfermedad de Addison, 810-811
Enfermedad de Chagas, 588-589, 876-877, 912-913, 1012-1013, 1017-1018
Enfermedad de declaración obligatoria. *Véase* enfermedad notificable
Enfermedad de Hansen. *Véase* Lepra
Enfermedad de Hashimoto, 810-811
Enfermedad de las raíces en cabellera, 732-733, 733-734
Enfermedad de las vacas locas. *Véase tambien* Encefalopatía espongiforme bovina
Enfermedad de Lyme, 192-193, 496-497, 498-499, 911-912, 913-914, 914-915, 915-916, 969-972, 979-980
  epidemiología y prevención, 970-972
  erupción, 970-971
  incidencia y geografía, 970-972
  patología, diagnóstico, y tratamiento, 970-971
  transmisión, 970-971
Enfermedad de Woolsorter. *Véase* Inhalación carbunco
Enfermedad del arañazo gato, 514-515
Enfermedad del corazón, plasminógeno tejido activador, 356-357
Enfermedad del letargo, 532-533
Enfermedad del mosaico del tabaco, 20-21
Enfermedad del sueño africana (tripanosomiasis africana), 206, 588-589, 1012-1013, 1017-1018, 1020-1021
Enfermedad del sueño, 1017-1018
Enfermedad del tizón tardío, 591-592
Enfermedad diarreica, 519-520, 770, 769, 771, 775-776, 779-781, 781-782, 783-784, 783-785, 807-808, 901-902, 903-904, 986-987, 989-990, 1013-1014, 1014-1015, 1018-1019
  Campylobacter, 999-1000
  Diarrea del viajero 998-999
Enfermedad emergente, 913-918, 925-926, 972-973
  reconocimiento e intervención, 916-918
Enfermedad endémica viral, 938-939
Enfermedad endémica, 899, 900-902, 925-926
Enfermedad enzoótica, 964, 979-980
Enfermedad epizoótica, 964, 979-980
Enfermedad genética, hospedador comprometido, 787-788
Enfermedad infantil, en adultos, 909-910
Enfermedad infecciosa por priones, 301-302
enfermedad infecciosa, 914-915
Enfermedad inflamatoria intestinal, 214-216, 745-747
Enfermedad inmunitaria, 808-812
Enfermedad lechosa en larvas, 527-529
Enfermedad meningocócica, 804-806, 911-912
Enfermedad notificable, 911-912
Enfermedad pélvica inflamatoria, 949-950, 949-951, 952-953
Enfermedad periodontal, 548, 651-652, 745-746
Enfermedad pertinaz de los cítricos, 531-532
Enfermedad por clamidias, 542-543
Enfermedad por contacto directo, 944-950
Enfermedad por *Flavobacterium columnare,* 540
Enfermedad por rickettsia, 966-970
  control, 967-968
  diagnóstico, 969-970
  enfermedades infecciosas epidémicas emergentes y reemergentes, 914-915
Enfermedad reemergente, 913-918, 925-926
Enfermedad transmitida por alimentos, 904-906, 908-909, 915-916, 920, 991-1002, 1014-1015
  epidemiología, 992-995
  muestras microbiológicas, 992-994
Enfermedad transmitida por el agua, 713-714, 715-716, 904-906, 908-909, 984-990, 908-909, 984-990
  amebiasis, 876-877, 913-914
  cólera, 707-708, 984-985, 986-988
Enfermedad transmitida por garrapatas, 498-499, 914-915, 915-916, 968-972
  prevención de la unión de la garrapata, 969-970, 971-972
Enfermedad transmitida por piojos, 966-969
Enfermedades bacterianas y víricas transmitidas por artrópodos, 966-976
Enfermedades estafilocócicas, 944-947
enfermedades infecciosas de fuente común transmitidas por los alimentos, 991-1002
  por el agua, 707-708, 713-714, 715-716, 984-990
  América y África, 912-914
  emergente, 899, 913-918, 925-926
  fases clínicas, 901-903
  infecciosas, 8-10
  infecciosas en las Américas, 912-914
  inmunoensayo, 872-874
  mortalidad, 901-902, 912-913, 925-926
  notificadas, 911-912
  número básico de reproducción e inmunidad de grupo necesrios para la protección de la comunidad, 905-908
  postuados de Koch, 16-21
  prevención, 803-808
  reemergente, 913-918, 925-926
  reservorio, 901-902, 906-909, 909-910
  salud pública, 908-913
  tasas de muerte en Estados Unidos, 9-10
  tejido específico, 785-786, 786-787
  teoría microbiana de la enfermedad, 15-16, 16-18, 20
  transmisión. *Véase* Transmisión de enfermedades a través del agua, 713-714, 715-716, 904-906, 908-909, 984-990
Enfermedades microbianas de persona a persona, 903-904, 906-908, 929-962
  transmisión por contacto directo, 944-950
  transmisión por el aire, 903-904, 904-905, 930-945
    enfermedades bacterianas, 930-939
    enfermedades víricas, 938-945
  transmitidas sexualmente, 496-497, 542-543, 807-808, 869-870, 905-906, 949-959, 1013-1014
Enfermedades transmitidas por el suelo, 975-979
Enfermedades transmitidas por un vector, 902-904, 905-906, 963-976
  enfermedades bacterianas y víricas transmitidas por artrópodos, 966-976
  enfermedades víricas transmitidas por animales, 964-968
Enfermedades víricas transmitida por animales, 964-968
Enfermedades víricas,
  transmisión por el aire, 938-945
  transmitidas por animales, 964-968
  transmitidas por artrópodos, 971-975
Enfuvirtida, 886-887, 957-958
Enjambre celular, 153-154, 244-245, 501, 500, 502, 502-503, 503-504, 543-544
Enlace de hidrógeno
  DNA, 113, 115
  proteína, 140-141
Enlace disulfuro, 140-141
Enlace doble, 105
Enlace fosfato, rico en energía, 88-90
Enlace fosfodiéster, 112-113, 113, 145-146
Enlace peptídico, 131-132, 132-133, 137-139, 138, 140, 140-141, 145-146
Enlace químico. *Véase* Enlace
Enlace tioéster, 89-90
Enlaces cruzados tetrapeptídicos, pared celular, 45-46
Enlaces tioéster, 89-90

Enlatado, 10-12, 990-991
Enolasa, 91-92
Enriquecimiento, 610, 613-615
Ensamblaje, genoma, 197-198
Ensayo de aglutinación de perlas de látex, 873-874
Ensayo de coliformes mediante filtros de membrana, 985-986
Ensayo de dilución del antibiótico, 870-872, 871-872
Ensayo de lisado de amebocitos de *Limulus,*
Ensayo en placa, virus, 262-264
Ensayo inmunológico, 871-879
Ensayo químico, 630-631
Ensayos de actividad antimicrobiana, 183-185
Ensilaje, 170, 524-525
Entamoeba, 586, 594-595
Entamoeba histolytica, 206, 594-595, 1012-1013
Enterobacter aerogenes, 428-430, 519-520, 520-521
Enterobacter, 427-428, 518-519, 519-520, 520-521, 612, 765-766, 869-870
Enterobacteria, 768-769
Enterobacteriaceae, 746-747, 865-866
  resistenete al carbapenema, 864-865
Enterobacteriales, 518-521, 657-658
Enterococcaceae, 743-744
Enterococcus, 524-525, 765-766, 768-769, 865-866, 868-869
  resistente a la vancomicina (VRE), 864-865
Enterococcus faecalis
  resistencia a la vancomicina, 891-892
  resistencia a los antimicrobianos, 891-892, 892-893
Enterococcus faecium resistente a la vancomicina (VRE), 891-892
Enterococcus resistente a la vancomicina (VRE), 864-865
Enterocolitis, inducida por *Salmonella*, 997-998
Enterotipos, 744-745
Enterotoxina, 119, 519-520, 778, 777, 779, 779-781, 781-784, 783-785, 788-789, 916-917
  estafilocócica, 994-995, 995-996
  perfringens, 995-996
  colérica, 783-784, 986-987
Entomoplasma, 531-532
Entomoplasmatales, 524-525
enzima *Bam*HI, 344-345
Enzima, 4-5, 23-24, 85-87, 109, 131-132, 145-146
  activa en frío, 168-170
  catálisis, 85-87
  constitutiva, 226-227
  destrucción tóxica del oxigeno, 178-179
  en viriones, 258-259, 260-262
  especificidad, 85-86
  estructura, 85-86
  extracelular (exozimas), 540
  inducción, 229-231, 231-232
  isozima, 251-252
  metales traza, 79-80
  modificación covalente, 252-253
  piezófilo, 670-671
  principal, RNA polimerasa, 125, 127-128
  reacción reversible, 85-86
  regulación de la actividad, 251-253
  regulación de la síntesis, 226-236
  replicación DNA, 119-122
  represión, 229-231
  sitio activo, 85-86, 86-87
  tampones para ensayo in vitro, 173-174
  termófilo y hipertermófilo, 171
  Tral, 323-324
Enzimas activas en frío, 168-170
Enzimas constitutivos, 226-227
Enzimas de modificación, 337-338, 367-368
Enzimas de restricción, 264-266, 336-339, 341-342, 346-347, 348, 367-368
  secuencia de reconocimiento, 336-337, 337-338
Enzimas digestivas, 70-71, 589-590
Enzimas hidrolíticas, 47-48
Epibionte, 472-473, 725-727, 753-754
Epidemia de fuente común, 904-906, 915-916, 925-926
Epidemia de hospedador a hospedador, 904-905, 905-906, 925-926
Epidémico, 900-912, 913-917, 925-926
  control, 909-912
  fuente común, 904-906, 915-916, 925-926
  hospedador-hospedador, 904-905, 905-906, 925-926
Epidemiología, 899-927
  principios, 900-909
  salud pública, 908-914
  terminología, 900-902
  VIH/sida, 921-923
Epidermophyton, 1009
Epilimnion, 660-661, 662-663, 677-678
Episoma, 323-325
Epítopo, 822-823, 837-838, 848-850, 850-851
Epitopos conformacionales, 822-823
Epitopos lineales, 822-823
Epulopiscium fishelsoni, 35-37
Equilibrio hídrico en halófilos extremos, 557-558
Equilibrio oxidación-reducción, 426-428, 428-429
Equilibrio positivo de agua, 174-175
Equinocandinas, 881-882, 887-888
Equipamiento de protección, seguridad en el laboratorio, 862-863, 862-865
Erisipela, 932-933
Eritema, 799-800, 800-801
Eritrocitos, 792-793
Eritromicina, 881-882, 884-885, 934-935, 935-936, 988-989
  producción, 537-538
  resistencia, 889-891
Eritropoyetina, 357-358
Eritrosa-4-fosfato, 251-252
Eructo, rumiantes, 738-739
Erwinia, 119, 519-520, 990-991
Erwinia cartovora, 518-519
Erysipelotrichales, 739-740, 743-744
Erythrobacter, 471-472, 513, 516-517, 666-667
Escefalitis del este del Nilo o meningitis, 973-974
Escherichia, 174-175, 320-321, 427-428, 513, 518-519, 519-520, 612, 765-766, 768-769, 783-785, 990-991
  endotoxina, 47-48
Escherichia coli, 31-32, 119, 192-193, 209-210, 341-342, 358-359, 448, 518-519, 519-520, 635-636, 777, 779, 795-796, 796-797, 862-865, 867-868, 868-869, 991-992
  16S rRNA, 377, 379
  aceptores de electrones anaerobio respiración, 98-100
  acuaporina AqpZ, 38-39
  ataque por Bdellovibrio, 492-494
  *aten*uación, 250
  bacteriófago, 263-268, 286-287, 291-292
  biosíntesis de aminoácidos aromáticos, 251-252
  capa K-12, 388-389, 394-395
  catabolismo de la maltosa, 230-232, 232-233
  chaperonas en, 141-142
  codones, 133-134
  colicinas, 119
  control del choque térmico (calor), 241-242
  control global, 240-241, 241-242
  crecimiento diaúxico, 232-233
  cromosoma, 117, 123
  cultivos líquidos, 166
  diferenciación de cepas, 339-340
  división celular, 150-151
  DNA, 116
  DNA polimerasas, 120
  electroforesis de proteínas en gel de poliacrilamida, 210-211
  endonucleasas de restrictión, 336-337
  enterohemorrágica, 519-520
  enteroinvasiva, 998-999
  enteropatogénica, 519-520, 774-775, 779-781, 786-787, 876-877, 992-994, 998-999
  enterotoxigénica, 775-776, 778, 998-999
  experimento de evolución a largo término, 388-389, 388-389
  factores de adhesion, 774-775, 775-776
  factores sigma, 126-128
  fermentación ácido mixta, 519-520
  fimbrias, 774-775, 775-776
  fisión binaria, 150-151
  flagelos, 59-60
  fotografía bacteriana, 364-365
  FtsZ, 151
  gasto de energía para la síntesis de ATP, 89-90
  genoma, 193, 199-200, 200-201, 203
    de naturaleza dinámica, 388-390
    tamaño, 114
  hospedador de clonación, 349-350, 356-357, 357-358
  identificación, 868-869, 869-870
  inducciuón enzimática, 229-230
  infección nosocomial, 903-904
  intestino, 768-769
  intestino humano, 743-744
  islas de patogenicidad, 221
  Lac permeasa, 42-43
  mapa genético, 117
  *medi*o de cultivo, 80-81, 81-82, 869-870
  modelo procariota, 112-113
  mutación hisC, 308-309
  neutrófilo, 173-174
  número de genes, 4-5
  O157:H7, 388-389, 394-396, 519-520, 873-874, 915-916, 917-918, 992-994, 997-998, 998-999
    espinacas, 992-995
  pangenoma, 220-221
  pared celular, 44-45, 45-46, 48-49
  patogénica, 221
  patógeno nosocomial, 864-865, 865-866
  periplasma, 48-49
  pili, 51-52
  plásmido F, 322-323, 323-325, 352-354
  plásmidos, 118
  preferencia de codones, 198-199
  producción de añil, 363
  productoras de toxina shiga (anteriormente enterohemorrágicas), 779-781, 911-912, 997-999
  promotor, 350-351
  proteína de unión a la maltosa, 355-356
  proteínas de choque al frío, 170
  proteínas de quimiotaxis de aceptores de metilo, 237-238
  quimiotaxis, 63-64
  reducción del nitrato, 437-438, 438-439
  regulación de las proteínas de membrana externa, 236-237
  regulón de la maltosa, 231-233
  replicación, 122, 123
  replicación del genoma, 152
  requerimiento de oxígeno, 176-177
  RNA polimerasa, 125
  sensibilidad a la rediación, 182
  sistema de reparación SOS, 314-315
  sistema de transporte de electrones, 95-97, 437-438, 438-439
  sistema fosfotransferasa, 42-44
  subunidades ribosómicas, 137-139
  tamaño, 36-37
  temperaturas cardinales, 167
  tiempo de duplicación, 122
  tiempo de generación, 647-648
  tinción de Gram, 30-31
  transmitida por los alimentos, 992-995, 997-999
  unidades de transcripción del rRNA, 128-129
Esclerosis múltiple, 357-358, 810-811
Escobillón (hisopo), 865-866, 866-867
Escobillón nasofaríngeo, 866-867
Escobillón rectal, 867-868
Escotocromogénesis, 534-535
Escotofobotaxis, 65-66, 725
Escovopsis, 749
Esferoidenona, 409-410
Esfingobacterias, 538-539, 657-658, 662-663
Esfingolípidos, 538-539
Esfingomielina, 538-539
Esfingosina, 538-539
Esmalte, diente, 766-767, 767-768, 776-777
Esófago, 768-769
espaciador transcrito, 622-623, 625-626
Espaciadores, 328-330
Especiación
  alopática, 657-658
  bacteriana, 393-394
  diversidad en hábitats microbianos, 644-646
  reloj molecular, 388-389
Especias, esterilización por radiación, 182
Especies, 400-401
  descripción de nuevas, 397-398
  diversidad microbiana, 392-394
  monofiléticas, 392
Especificidad, 795-796, 814-815, 819-822, 865-866, 872-873, 897
  test de diagnóstico, 865-866, 872-873
Especificidad de tejido, patógeno, 774-775, 785-786, 786-787
Especimen
  aislamiento de patógenos, 866-875
  colección, 865-866, 866-867
  manipulación segura, 862-863
Espectinomicina, 537-538, 881-882
Espectro de absorción, 404-405, 407, 406, 407-408
Espectro de actividad, 881-882
  sintético, 880-883
Espectrofotometría, 163-165
Espectrometría de masas, 211-212
  análisis del metaboloma, 212-213, 213-214
Espectrometría de masas de iones secundarios, 633-635
Espermidina, 577-578
Espinacas, *E. coli* O157:H7-enfermedad asociada, 992-995

Espinillas, 526-527, 777, 779, 904-905, 944-945, 945-946
Espirilos magnetotácticos, 503-504
Espiriloxantina, 409-410
espiroplasma de la «proporción de sexos», 532-533
Espiroplasmosis de la abeja melífera, 532-533
Espiroqueta, 34-35, 35-36, 496-499, 508-509, 765-766
  características, 496-497
  clasificación, 496-497
  movilidad, 496-497, 496-498
  oral, 496-498
  rumen, 498-499
Espliceosoma, 130, 131-132, 146-147
Espora
  actinomicetos, 534-535
  endospore. *Véase también* Endospora
  Estreptomicetos, 535-536, 536-537
  hongos, 595, 597-599, 599-600
  hongos mucosos, 594-596
Esporangio, 600-601
Esporicidas, 184-186
Esporóforo, 535-536
Esporotricosis, 529-531, 612
Esporozoito, 590-591, 591-592, 1015-1016
Esporulación en Firmicutes, 526-531. *Véase también* Endospora
Esporulación, 54-55, 55-56
  Bacillus, 55-56, 56-57, 57-58, 243-244, 252-253
  bacteriana, 56-57, 57-58
Esquema Z, 412-413, 413-414
Esquistosomiasis, 876-877, 984-985, 1012-1013, 1017-1019, 1020-1021
Esquitosoma, 984-985, 1017-1018
Esquizonte, 1015-1016, 1016-1017
Esreptolisina O, 778, 779-781
Estabilización de la hélice, 227-228
Estacionalidad, enfermedades infecciosas, 903-905
Estado de equilibrio, 158-159, 159-160, 160-161
Estafilocinasa, 916-917
Estafilococo, 765-766
Estanque de coagulación, 713-714
Estanques, 651-652
Estela (rastro) mucoso, 493-495, 494-496, 595-596
Esterasa, 363
Esterilidad, 7-8, 15-16, 24
Esterilización, 15-16, 179, 188-189
  calor, 179-181, 990-991
  filtro, 182-183
  infección de los machos por Wolbachia, 747-748
  medio de cultivo, 81-82
  radi*ación*, 180-182
Esterilización en frío, 184-185
Esterilización por filtración, 182-183
  tipos de filtros, 182-183
Esterilización por temperatura (calor), 179-181, 990-991
  medición, 179-181
Esterilizante (esterilizador) (esporicida), 184-186, 188-189
Esteroide, 769, 771
Esterol, 37-38
  membrana, 37-38, 489-491, 529-531, 531-532
Estómago, 767-768
  barrera contra la infección, 785-786, 786-787
  microbiota normal, 767-768, 768-769
Estomatitis vesicular, 295-296
Estornudo, 904-905, 930, 940-941
Estramenópilos, 378-380, 584-585, 586, 591-593
Estratificación de la columna de agua, 660-662, 662-663, 677-678
Estratificación, calentamiento del mar y, 695-697
Estreptocinasa, 776-777, 778
Estreptococo grupo A. *Véase Streptococcus pyogenes*
Estreptococos homofermentadores, 533-534
Estreptomicetos, 535-536, 536-538
Estreptomicina, 380-381, 881-882, 882-883, 884-885, 889-890
  producción, 537-538
  resistencia, 889-891
Estreptovaricina, 881-882, 883-884
Estrés oxidativo, 241-242
Estrés, susceptibilidad a las enfermedades infecciosas, 786-787
Estrógeno, sintético, 712-713
Estroma, 68-70, 69-70, 74-75, 405, 407, 407-408
Estromatolito, 373-374, 400-401
Estructura en lazo,
  mRNA, 250
  RNA, 127-128, 128-129, 250
Estructura cristalina, molusco, 496-497
Estructura cuaternaria, proteínas, 140-141, 145-146
Estructura primaria, 113, 145-146
  DNA, 113
  proteína, 132-133
  RNA, 125
Estructura secundaria, 125, 145-146
  proteína, 140-141
  RNA, 125
Estructura terciaria, 140-141, 146-147
  proteínas, 140-141, 146-147
Estructura y función celular, 27-76
Estructura y función de la ATP sintasa reversible (ATPasa), 97-98
  dominios superenrollados, 115
  dos componentes reguladores, 235-236, 236-237
  en agua, 985-987
  enfermedades transmitidas por el agua, 984-985, 985-987
  factores de virulencia, 916-917
  inflamación sistémica, 800-801
  operón del triptófano, 248-250
  peso de, 78
  tracto urogenital, 771-772
  transcripción, 125
    transducción, 320-321
  transformación, 319-320
  transpeptidación, 155-156
  virus T4, 260-261, 263-268
Estructuras de la superficie celular, 50-52
Estudio de series temporales en la zona Atlántica de las Bermudas (BATS), 662-663
Estudios del bioma, metagenómica y, 214-216
Etanol, 10-12, 12-13, 427-428, 438-439. *Véase también* Bebidas alcohólicas
  fermentación, 434-435
  producto de fermentación, 91-92, 93-94, 427-432, 492-493, 518-519, 519-520, 523-524, 528-530, 683-684
Eteno, 448, 449
Etileno, 107, 706-707
Etilmetanosulfonato, 313-314
Eubacterium, 765-766, 768-769
Eubacterium limosum, 442
Eucariota amitocondrial, 586
Eucariota, 5-6, 23-24, 66-67
  cromosomas, 66-67, 116, 117
  cromosomas artificiales, 352-354
  diversidad, 583-608
  division celular, 67-70
  DNA, 4-5
  endosimbiosis y origen, 375-377, 584-585
  estructura celular, 3-4, 66-67
  evolucion, 375-377, 586-588
  extemofílico, transferencia horizontal de genes, 583
  flagelos y cilios, 71-72
  hospedador de clonación, 349-350
  retículo endoplasmático, 70-71
  sin mitocondria, 586
  temprano, 586
  vector de clonación, 352-353
Euglena, 588-590
Euglenoide, 584-585, 585, 588-590
Euglenozoo, 378-380, 586, 588-590
Eukarya, 3-4, 5-6, 370, 376-377, 377, 379, 400-401
  evolución, 5-6, 6-7
  filogenia, 378-380, 381-383, 585-588
  principa*les caracteristica*s del grupo Bacteria, Archaea y, 380-381
  propiedades fenotípicas, 380-381
  árbol filogenético, 6-7, 7-8
Euprymna scolopes, 752-754
Euryarchaeota, 378-380, 380-381, 462, 554-566, 580-581, 657-658, 657-658, 662-663, 668-670, 673-674, 675-676, 676, 739-740, 750-751, 767-768
  halófilos extremos, 555-559
  hipertermófilo, 562-566
  lípidos de membrana, 38-39
  metanógenos, 558-562
  Thermoplasmatales, 561-563
  virus, 287-288, 288-289
Eutroficación, 696-697
Evapotranspiración, 655-656
Eventos catalíticos en una célula, 4-5
EEvolución, 3-4, 4-5, 5-7, 23-24, 369, 386-391, 400-401. *Véase también* Célula
  Archaea, 6-7, 574-580
  autótrofo, 372-373, 373-374
  *car*acterísticas celulares, 4-5
  cloroplasto, 375-377, 381-383
  convergente (homoplasia), 383-385, 400-401, 463, 508-509
  células, teoría de, 257
  diversidad filogenética, 462
  eucariotas, 375-377, 586-588
  Experimento de evolución a largo término en Escherichia coli (LTEE), 388-389, 388-389
  familias de genes y duplicaciones, 214-218
  fotosíntesis, 372-373, 373-375, 413-415
  genoma, 214-221, 388-390
  hipótesis Reina Negra, 391, 567-568
  mitocondria, 134-135, 375-377, 378-380, 381-383
  mu*taciones* y, 37-38
  patogenicidad, 369
  procesos, 386-389
  proteínas de unión de antígeno, 842-844
  relación superficie-volumen y, 36-38
  rRNA, 377, 379-380
  tasa de mutación y cambios, 314-316
  Tierra y diversificación de la vida, 370-377
  Vibrio marinos, 369
  virulencia, 220-221
  virus de arqueas, 274
  vírico, 282-284
  árbol universal filogenético, 378-380
Exantema vírico de las manos, pies y boca, 914-915
Exclusión alélica, 848-850
Exocelulasas, 540
Exoenzima, 540
Exoesqueleto, calcáreo, 691-692
Exón, 130, 131-132, 145-146
Exonucleasa, 122
  de corrección de errores, 124
Exosporio, 56-57
Exotoxina, 778, 777, 779-784, 788-789, 931-932
  A, 778, 779-781
  B. pertussis, 935-936
  exotoxina pirogénica (SpeA, SpeB, SpeC, SpeF), 933-934
  neutralización, 798-799, 799-800
  pertussis (tosferina), 935-936
  propiedades, 783-785
  superantígenos, 810-812
  toxoide, 803-804
  tétano, 977-978
Experimento de evolución a largo término (LTEE), *E. coli*, 388-389, 388-389
Exploración, 308-309, 332-333, 342-343
  auxótrofos nutricionales, 309-310
Explosión respiratoria, 819-821
Exposición a patógenos, 771-773
Expresión de genes, 192-193, 211-212, 226-227, 254-255. *Véase también* Regulación
  análisis de las secuencias de RNA, 210-211
  análisis metatranscriptómico, 629-630
  biopelículas, 166
  CARD-FISH, 620-621
  DNA chips para ensayo, 209-210
  eucariotas, 247
  procariotas, 235-236, 247
  sistema regulador de dos componentes control, 235-236
Expulsión, 889-891
Exserohilum rostratum, 1007
Extinciones del Permiano-Triásico, 682-683
Extravasación, 794-795
Extremofilo, 8-9, 9-10, 23-24, 167-168, 554, 580-581, 583
Extremos repetidos invertidos, DNA, 289-290, 290-291
Extremos repetidos largos (LTR), 299, 298, 300
Exxon Valdez, 703-705
ϕ6, 269-270
Factor 2 de elongación, 779-781, 780-781
Factor *a,* 601-603
Factor α, 601-603
Factor análogo del crecimiento, 880-882, 895-896
Factor antigénico de la colonización, 774-775, 775-776
Factor cuerda, 534-535
Factor de colonización de los pili, 916-917
Factor de crecimiento del nervio, 357-358
Factor de crecimiento epidérmico, 357-358
Factor de crecimiento, 79-80
Factor de elongación, 137-139
Factor de liberación, 137-139
Factor de necrosis tumoral, 357-358
Factor de resistencia al suero, 916-917
Factor de virulencia, 220-221, 776-777, 779, 916-917, 978-979
  reguración de la percepción de quórum, 238-241
Factor edema, 778, 916-917, 918-919
Factor estimulador de la colonia, 357-358
Factor kappa B nuclear, 840-842
Factor letal (LF), 778, 916-917, 918-919
Factor sigma RpoH, 241-242, 252-253

Factor sigma, 125, 126-128
  alternativo, 126, 127-128, 226-227, 227-228
  codificado en T4, 265-266
  desarrollo de la endospora, 243-244, 244-245
Factor-α de crecimiento transformante (TGF-α), 828-829
Factor-a de necrosis tumoral, 800-801, 826-827, 855-856, 857
Factores antisigma, 265-266
Factores de adherencia, 916-917
Factores de coagulación, 357-358, 776-777
Factores de invasión celular, 916-917
Factores de la esporulación, 243-244
Factores de la traducción, 113
Factores de transcripción, 129
Factores del hospedador a la infección, 786-788
Factores Myc, 729-730, 730-731, 761-762
  vía de señalización, 730-731
Factores Nod, 729-731, 761-762
  vías de señalización, 730-731
FAD, 94-95, 96-98, 97-98, 99, 244-245
Faecalibacterium, 743-744
Fago auxiliador, 321-322
Fago. *Véase* Bacteriófago
Fagocito, 777, 779, 792-793, 793-794, 795-797, 798-799, 799-800, 800-801, 801-802, 814-815, 818-821
  inhibición, 819-821
  inmunidad adaptativa, 795-796, 796-797
  patrones de reconocimiento de receptores, 795-796, 800-801, 814-815, 819-821, 840-842
  reconocimiento del patógeno, 819-821
  respuesta innata inmunitaria, 818-821
  señal de transducción, 840, 842-842
Fagocitosis, 589-590, 594-595, 607-608, 774-775, 793-794, 795-800, 819-820, 834-835, 835-836, 840-842
  defensa contra, 819-821
  en protistas, 589-590
Fagolisosoma, 818, 819-821, 824-825, 824-826
Fagosoma, 818, 824-825, 824-826
FAME, 396-398, 400-401
Familia de genes, 223
  evolución, 214-218
Familia *Methylophilaceae*, cepa htcc2181, 193
Faringitis, 931-932, 932-933
Fármacos antifúngicos, 887-890
Fármacos antirinovirales, 941-942
Fármacos antivirales, 885-887, 941-942, 943-944
Fascitis necrotizante, 933-934
Fase de maduración, replicación vírica, 261-262
Fase de muerte, 158-159
Fase estacionaria, 158-159
Fase exponencial, 157-159, 990-991
Fase lag, 157-158, 158-159
Fauna ediácara, 375-376
FeMo-co, 105, 106, 244-245, 246
Fenilalanina
  código genético, 133-134
  estructura, 132-133
  síntesis, 102-103, 251-252
Fenotipo, 308-309, 332-333, 396-397, 400-401
  designación, 308-309
Feofitina *a*, 412-413
Fermentación 2,3-butanodiol, 428-430, 518-520, 520-521
Fermentación acetogénica, 92-93, 427-428
Fermentación ácido-mixta, 92-93, 427-428, 428-430, 518-519, 519-520
Fermentación alcohólica, 14-15, 92-93, 93-94, 492-493
Fermentación de butanol, 92-93
Fermentación del ácido butírico, 92-93, 427-428
Fermentación del ácido láctico, 428-430
Fermentación del ácido propiónico, 92-93, 427-428, 431-433
Fermentación del caproato/butirato, 92-93
Fermentación en el intestino anterior, 736-737, 737-738
Fermentación heteroláctica, 92-93, 427-428
Fermentación homoláctica, 92-93, 427-428
Fermentación secundaria, 431-432, 457-458, 533-534
Fermentación, 10-13, 14-15, 90-92, 109, 426-436, 457-458, 681-682, 683-684, 684-685, 991-992. *Véase también* Tipos
  de alcohólica, 14-15, 427-428, 492-493
  clostridios, 428-430, 430-432
  reacciones acopladas, 434-435. *Véase también* Sintrofía
  diversidad, 92-94, 427-434
  energética, 426-428
  rendimiento energético de los organismos fermentadores, 426-428
  esenciales para, 426
  glicólisis, 90-93
  ácido láctico, 428-430, 523-524, 524-525
  en intestino de mamífero, 736-738
    intestino anterior, 736-737, 737-738
    intestino posterior, 736-738
  ácido mixto, 92-93, 427-428, 428-430, 518-519, 519-520
  ácido propiónico, 431-433
  consideraciones redox, 426-428
  rumen, 738-739
  secundario, 431-432, 457-458, 533-534
  fosforilación sin sustrato, 432-434
  azúcar, 91-93, 310-311, 428-429, 430-431
  levadura, 91-92, 92-93, 93-94
Fermentador primario, 683-684, 684-685
Fermentador secundario, 683-684
Fermentadores del intestino inferior, 736-738
Fermentadores en el ciego, 737-738
Ferredoxina, 94-95, 107, 411-412, 412-413, 414-416, 416-417, 426, 427-428, 430-431, 449
Férrico
  aceptor de electrones, 569, 571, 689-690
  lixiviado microbiano, 701-702
  reducción, 485-486
Ferrimonas, 486-487, 518-519
Ferroglobus, 564-566, 570-572
Ferroglobus placidus, 564-565, 578-579
Ferroplasma, 420-421, 554, 561-562, 562-563, 703-704
Fertilizante, nitrógeno, 685-686, 686-687, 696-697
Ferulato, 733-734
Fibra, 736-737
Fibras de la cola, virus, 260-261, 264-265, 266-267, 270-271
Fibrina, 792-793
Fibrinolisina, 916-917, 945-946
Fibrobacter, 662-663
Fibrobacter succinogenes, 739-740, 741
Fibrobacteres, 378-380, 462, 547-548, 548, 739-740, 750-751
Fibrosis cística, 166, 357-358, 517-518, 650-651
Ficobilina, 407-408, 410-411, 465-467, 508-509, 664-665, 665-666
Ficobiliproteina, 407-408, 410-411, 457-458, 603-604, 604-605
Ficobilisoma, 407-408, 410-411, 457-458, 603-604
Ficocianina, 407-408, 410-411, 465-466, 466-467
Ficocianobilina, 364-365
Ficodnavirus, 283-284
Ficoeritrina, 407-408, 465-466, 603-604, 604-605
Fiebre amarilla, 911-912, 913-914, 914-915, 971-973
  fase tóxica, 972-973
Fiebre de Dengue, 747-748, 911-912, 913-914, 914-915, 915-916, 971-972, 972-973
Fiebre de las montañas Rocosas (fiebre manchada rickettsiosis), 515-516, 911-912, 966-968, 968-969, 979-980
Fiebre de las trincheras, 514-515
Fiebre de Lassa, 917-918
Fiebre de Pontiac, 988-989
Fiebre del caracol. *Véase* Esquistosomiasis.
Fiebre del este del Nilo, 972-973, 973-974, 980-981
Fiebre del heno, 808-809, 808-810
Fiebre del valle de San Joaquin. *Véase* Cocidioidomicosis
Fiebre del valle del Rift, 914-915, 915-916
Fiebre escarlatina, 775-776, 778, 811-812, 932-933, 933-934, 961-962
Fiebre hemorrágica con síndrome renal (HFRS), 965-966, 966-968, 979-980
Fiebre hemorrágica del Ébola, 901-902, 905-906, 911-912, 913-914, 967-968
Fiebre hemorrágica, 914-915, 915-916
  viral, 911-912, 917-918, 967-968
Fiebre maculada ricketsiosis (fiebre maculada de la Montañas Rocosas), 515-516, 911-912, 966-968, 968-969, 979-980
Fiebre paratifoide, 778
Fiebre Q, 180-181, 911-912, 917-918, 969-970
Fiebre reumática, 775-776, 932-933, 933-934, 961-962
Fiebre tifoide, 180-181, 519-520, 778, 872-873, 908-909, 911-912, 984-985, 988-990, 997-998
  estadios, 988-990
Fiebre vírica hemorrágica, 911-912, 917-918, 967-968
Fiebre, 783-785, 800-801, 857
Fiebres recurrentes, 496-497, 911-912
Fijación de nitrógeno, 9-11, 21-22, 79-80, 105-107, 109, 380-381, 482-483, 488-489, 610, 613-611, 659, 696-697, 727-728
  aerobios de vida libre, 105
  anaerobios de vida libre, 105
  *bac*terias del nódulo radical, 727-733
  bioquímica, 730-731
  cianobacterias, 244-247, 466-468, 467-469
  ciclo del nitrógeno, 684-686
  ciclos aclopados y, 682-683
  Clostridium, 528-530
  costras biológicas del suelo, 655-656
  detección, 107
  diazotrofos de vida libre, 482-484
  diversidad funcional en bacterias fijadoras de nitrógeno, 482-484
  flujo de electrones, 106-107
  genes utilizados para evaluar, 621-622
  inhibición por oxígeno, 106, 244-245
  intestino de termitas, 750-752
  por simbiosis, 105, 685-686
  regulación, 234-235, 244-247
  simbiosis con las leguminosas, 727-733
  simbiosis en las no leguminosas, 731-733
  simbiótico, 105, 685-686
  Sondas con isótopos estables para estudiar, 636-637
Fijación del complemento, 834-835
Fijación del dióxido de carbono, 681-682
  autotrofo, 414-416, 416-417
  bacterias del azufre, 420-421
  bacterias fototrofas, 463
  bacterias nitrificantes, 423-424
  fotosíntesis anoxigénica, 411-412
  ruta de la acetil-CoA, 425, 442-444
Filamentos intermediarios, 71-72, 74-75, 154
Filariasis, 1018-1019
Filiariasis de Bancroft («elenfantiasis»), 1018-1019
Filo, 380-381, 400-401
Filo OP10, 511
Filochips, 209-210, 625-627
Filogenia, 6-7, 377-378, 400-401
  Archaea, 554
  basado en el gen S*SU rRNA*, 377, 379-383
  cloroplasto, 584-585
  Eukarya, 585-588
  hipertermófilo, 578-579
  mitocondria, 584-585
  molecular, 377-386
    secuencias moleculares, 381-386
    árbol de la vida y, 377-383
  organísmica, 386
  viral, 283-284
Filópodos, 1001-1002
Filotipos, 380-381, 512, 621-623, 624-625, 625-626, 626-627, 627-628, 640, 657-658, 672-674, 676
  biopelícula, 648-649
Filovirus, 914-915, 915-917, 917-918
Filtración de membrana, 182-183
Filtración, purificación (potabilización) del agua, 713-714, 720-721
Filtraciones de gas, 754-755
Filtro de aire de alta eficacia en retener partículas (HEPA), 182-183, 188-189
Filtro de profundidad, 182-183
Filtro HEPA (Filtro de aire de alta eficacia en retener partículas), 182-183, 188-189
Filtro Nucleopore, 182-183
Filtro percolador o de goteo, 710, 711-712
Fimbrias, 50-51, 51-52, 774-776, 777, 779
  P, 775-776
  tipo I, 774-775
Fiologenia molecular, 377-386
  árbol de la vida y, 377-383
  secuencias moleculares, 381-386
Firmicutes, 214-215, 378-380, 380-381, 434-435, 449, 462, 463, 474-475, 482-483, 485-486, 486-487, 488-489, 492-493, 512, 523-531, 622-623, 657-658, 657-658, 668-669, 673-674, 675-676,

739-740, 742-743, 743-744, 744-745, 750-751, 756-757, 767-768, 999-1000
bacteria reductoras de azufre, 477-478
formadoras de *endósporas (espo*rulación), 526-531
Lactobacillales, 523-527
no esporuladoras, 526-527
principales órdenes, 524-525
Firmucutes formadores de endósporas, 526-531
Fischerella, 464-465, 467-468
Fischerella major, 465-466
FISH, 339-340, 566-567, 568-569, 619-621, 639-640, 675-676
con deposición catalizada del reportero (CARD-FISH), 620-621, 634-635
con SIMS y NanoSIMS, 634-635
elemental (EL-FISH), 634-635
MAR-FISH, 635-637, 639-640
Fisiología microbiana, 22-23
Fisión binaria, 150-151, 188, 498-499
desigual, 500, 502
Fístula, 738-739
Fitanil, 38-39, 39-41, 544-545, 564-565, 580-581
Fitopatógeno, 521-522, 591-592
Flagelación
anfitrica, 58-59
lofotrica, 58-59, 59-60, 60-61
peritrica, 58-59, 60-61, 61-62, 63-64, 492-493, 518-519, 520-521
polar, 58-59, 60-62, 64-65, 74-75, 492-493, 496-497, 496-498, 503-504, 520-521, 521-522
Flagelación anfitrica, 58-59, 59-60
Flagelación lofotrica, 58-59, 60-61
Flagelación peritrica, 58-59, 60-61, 61-62, 63-64, 74-75, 492-493, 518-519, 520-521
Flagelación polar, 58-59, 60-62, 74-75, 492-493, 496-497, 496-498, 503-504, 520-521, 521-522
quimiotaxis, 64-65
Flagelina, 58-59, 59-60, 60-61, 61-62, 795-796
Flagelo, falgelos, 51-52, 58-62, 66-67, 74-75
Archaea, 59-60
bacteriano, 58-60
control, 237-238, 238-239
espiroqueta, 496-497
estructura, 58-60
eucariótico, 71-72, 588-589, 590-591
longitud de onda, 58-59
movimiento, 59-60
peritrico, 520-521
síntesis, 59-61
velocidad y movimiento celular, 60-62
Flasco de Pasteur, 15-16, 16-18
Flato, 769, 771
Flavín mononucleótido. *Véase* FMN
Flavín-adenina dinucleótido. *Véase* FAD
Flaviviruses, 971-972
Flavobacteria meningosepticum, 540
Flavobacteriales, 62-63
Flavobacteriales, 537-538, 540, 765-766
Flavobacterias, 657-658, 662-663
Flavobacterium, 62-63, 537-538, 540, 990-991
Flavodoxina, 106, 107, 246
Flavonoide, 730-731
Flavoproteína, 93-95, 96-98, 452-453
Flebótomo (tipo de mosquito), 588-589, 1016-1017
Flectobacillus, 538-539
Fleming, Alexander, 883-884
Flexibacter, 537-538, 540
Flexirubinas, 540
Floculatión, 517-518, 713-714, 720-721
Flóculos, 710, 711-712, 713-714
Floroglucina, 427-428
Floydiella terrestris, 203
Fluconazol, 887-888
Flujo de información
biológica, 113, 114
pasos, 113
Flujos del amonio, 685-686
Fluoresceína isotiocianato, 874-875, 876-877
Fluorescencia, 30-32
fluoroacetato deshalogenasa, 741
Fluoroquinolonas, 881-882, 882-883, 889-891, 891-892
FMN, 94-95, 96-98
Fómite, 904-905, 905-906, 906-907, 925-926, 930
Fonsecaea, 1010-1011
Food-Net (CDC), 994-995
FoodExpert-ID, 209-210
Foraminifera, 691-692
calcificación, 696-697
Foraminíferos, 592-593, 593-594
Forma celular, 34-36, 42-44
en procariotas, 153-154
evolución, 154
Forma replicativa (RF), 269-270, 276-277, 280, 284-285, 284-286, 304
Formaciones bandeadas de hierro (BIF), 374-375, 400-401
Formaciones de hierro, bandas, 374-375
Formaldehído, 183-184, 184-185, 451-452, 452-453, 499-500
esterilización en frío, 184-185
Formalina, 630-631
Formamida, 621-622
Formato deshidrogenasa, 79-80
Formato, 499-500, 559-561, 560-561
donador de electrones, 448, 449
producción en el rumen, 738-739, 741
producto de fermentación, 426, 427-428, 428-430
Formiato-deshidrogenasa, 428-430, 519-520
Formilmetionina tRNA, 137-139
Forúnculos, 526-527, 775-776, 778, 777, 779, 819-821, 904-905, 944-945, 945-946
Fosfatasa, 235-236, 236-237, 818
Fosfatasa alcalina, 648-649, 876-877
Fosfatidilcolina, 777, 779
Fosfatidiletanolamina, 38-39
Fosfito, 417-418
Fosfoadenosina fosfosulfato (PAPS), 439-440
Fosfocetolasa, 428-429
Fosfoenolpiruvato (PEP), 40-42, 42-43, 42-44, 88-90, 91-92, 101-102, 102-103, 426, 452-453
Fosfoenolpiruvato (PEP) carboxilasa, 98-100
Fosfoglicerocinasa, 91-92
Fosfogliceromutasa, 91-92
Fosfolipasa, 777, 779, 779-781
Fosfolípido, 37-38, 38-39
Fosfonatos, 440-441, 691-692
Fosforibulocinasa, 414-415, 414-416, 755-756
Fosforilación a nivel de sustrato, 90-92, 92-93, 99, 100-101, 109, 420-421, 426, 428-430, 430-431, 431-432, 434-435, 440-441, 442, 443-444, 449, 523-524
fermentaciones sin, 432-434
Fosforilación oxidativa, 90-92, 97-98, 99, 100-101, 109, 203-204, 434-435
Fosforilación, 252-253
a nivel de sustrato, 90-92, 92-93, 99, 100-101, 109, 420-421, 426, 428-430, 430-431, 431-432, 434-435, 440-441, 442, 443-444, 449, 523-524
oxidativa, 90-92, 97-98, 99, 100-101, 109, 203-204, 434-435
Fosforilasa, 889-891
Fósforo, 78, 79-80
asimilación, 629-630
biológico mejorado eliminación (EBPR), 711-713
ciclo, 691-692
eliminación biológica mejorada del fósforo, 711-713
Ruta entre la planta y los hongos formadores de microrrizas arbusculares, 735-736
Fosfosulfato de adenosina (APS), 426, 439-440, 440-441
Fosfosulfato de adenosina reductasa, 419-421, 439-440, 440-441
Fósil, 371-372
conchas de foraminíferos, 593-594
eucariota, 591-592
vida, 377-386
fósil, 374-375, 375-376
asociación simbiótica con bacteria del azufre, 481
complejo de Golgi, 70-71
esteroles, 37-38
expression génica, 247
filamentos intermediarios, 71-72
frecuencia de intrones, 206-207
genomas, 206-207, 583
genomas de orgánulos, 203-206
genética, 113
lisosomas, 70-72
microfilamentos y microtúbulos, 71-72
núcleo, 66-68
orgánulos, 584-585
orgánulos respiratorios, 68-70
ribosomas, 67-68
RNA polimerasa, 126
RNA procesamiento, 130-132
transcripción, 113, 129-132
transfección, 349-350, 358-359
Fotoautotrofo, 100-101, 411-412, 472-474
medidas en la naturaleza, 630-631
Fotoautrotofia, 404
Fotocomplejos, 405, 407
Fotocromogénesis, 534-535
Fotofosforilación, 100-101, 109, 410-412, 457-458, 471-472
cíclica, 410-411, 412-414
no cíclica, 412-414
Fotografía bacteriana, 364-365
Fotoheterotrofia, 404, 465-466, 666-667
Fotoheterotrófo, 100-101, 404, 470-471, 472-473, 474-475
Fotolitografía, 208
Fotorreceptor, 65-66
Fotosíntesis anoxigénica, 83-84, 386-387, 404, 405, 407, 457-458, 463, 467-469, 471-472, 621-622, 666-667
flujo de electrones, 409-413
fototrófos oxigénicos, 412-415
oxidación del hierro, 422-423
Fotosíntesis oxigénica, 83-84, 372-373, 373-374, 404, 412-415, 457-458, 463, 681-682. *Véase también Cyanobacteria*
Fotosíntesis, 203, 206-207, 380-381, 404-408, 457-458, 580, 585
anoxigénico, 83-84, 386-387, 404, 405, 407, 409-413, 422-423, 457-458, 463, 467-469, 471-472, 666-667
genes utilizados para evaluar, 621-622
Bacteria rojas, 409-412, 413-414
ciclo del carbono, 680, 681-682
evolución, 372-373, 373-375, 413-415
flujo de electrones, 409-413
fotofosforilación, 410-412
Fósforo como nutriente limitante, 691-692
medidas en la naturaleza, 630-631
mutaciones que afectan, 386-389
oxigénico, 83-84, 372-373, 373-374, 404, 412-415, 457-458, 463, 681-682
pigmentos, 404, 405, 407-408
pigmentos accesorios, 407-408, 410-411
producción de energía, 404
Fotosistema I, 412-413, 413-414, 414-415, 463
Fotosistema II, 412-413, 413-414, 414-415, 463
Fotosistema tipo I, 412-413, 413-414, 414-415, 463
Fotosistema tipo II, 412-413, 413-414, 414-415, 463
Fototaxis, 63-64, 65-66, 74-75, 238-239
Fototrofía, 404-417
anoxigénica, 513
límite superior de temperatura para el metabolismo energénico, 578-579
Fototrófo, 5-6, 6-7, 83-84, 100-101, 109, 373-374, 404, 457-458, 646-647, 681-682
anoxigénico, 5-6, 463, 467-475, 513, 660-661
aeróbico, 470-472, 508-509, 666-667
comunidades endolíticas, 605-607
euariotas flagelados, 588-589
medidas en la naturaleza, 634-636
oxigénico, 412-415
pelágico, 664-667
proclorofitos, 464-465, 466-467
Fototrófos anoxigénicos aeróbicos, 5-6, 463, 467-475, 508-509, 513, 660-661, 666-667
aerobios, 470-472, 508-509, 666-667
Fototrófos endolíticos, 605-607
Fraccionamiento isotópico, 632-634, 639-640
Fragmentos de Okazaki, 121
Francisella tularensis, 867-868, 917-918
Francotiradores, 748, 750
Frankia, 105, 482-483, 685-686, 731-732, 732-733
Frankia alni, 482-483
Fructosa-1,6-bisfosfato, 90-92, 91-92, 452-453
Fructosa-6-fosfato, 90-92, 91-92, 414-416
Fructosa, producto de fermentación, 427-428
Frústula, 591-592, 592-593, 692-693
FtsA, 151
FtsI, 155-156
FtsK, 151, 152
FtsZ, 124, 150-154, 188, 542-543
Fucoxantina, 591-592, 593-594
Fucsina básica, 533-534
Fucus, 591-592
Fuente de carbono, 79-80
cianobacterias, 465-466
células primitivas, 372-373
medio de cultivo, 80-81
Fuente de energía, 86-87
compuestos químicos inorgánicos, 100-101, 417-418
hidrógeno como primitiva, 578-580
represion por catabolito, 232-233, 233-234
Fuente de nitrógeno, 79-80, 102-103
Fuentes hidrotermales, 167, 170, 472-473, 477-478, 523-524,

544-545, 545-546, 564-565, 564-566, 566-567, 568-569, 571, 573, 574-575, 575-576, 578-579, 580-581, 673-676, 677-678, 753-754
asociaciones simbióticas, 481
caliente (abrasador), 754-755
hipótesis del origen celular de la vida, 371-372
invertebrados marinos a, 753-756
la nutrición de animales cerca, 754-755, 755-756
metabolismo quimiolitotrofo, 674-675, 675-676
procariotas, 674-676
submarinas. *Véase* Fuentes hidrotermales
tapetes hierro oxidadores, 691-692, 691-692
tipos, 673-675
Fuentes sulfurosas, 467-469, 568-569, 569, 571
Fuentes templada, 754-755
Fuentes termales de Yellowstone, se han encontrado segmentos del genoma de Virus de RNA, 279
Fuentes termales, 167, 170, 171, 467-469, 472-473, 486-487, 544-545, 545-546, 546-547, 547-548, 567-568, 568-569, 569, 571, 604-605, 652-653
gradiente térmico, 171
hipertermófilos, 170, 171
Fuerza motriz de protones, 38-39, 40-42, 42-43, 59-60, 60-61, 62-63, 95-98, 109, 405, 407, 409-414, 420-421, 421-422, 422-423, 435-436, 439-440, 440-441, 442, 447, 448, 452-453, 453-454, 557-558, 558-559, 569, 571
conservación de la energía de, 96-98
diversidad catabólica y, 100-101
formación ATP, 96-98
generación, 95-97, 96-98
Fuerza motriz de sodio, 432-433, 442, 443-444, 446, 447
Fumarato, 99, 98-100, 431-433, 438-439, 447, 448, 449, 453-454
bioquímica de la fijación del nitrógeno, 730-731
metabolismo, 98-100
Funarato succinato, 87-88
Furanonas, 651-652
Furazolidona, 1013-1014
Fusión de genes, 344-345, 345-346, 366-367
Fusión de proteínas, 345-346, 367-368
Fusobacteria, 378-380, 462, 547-548, 548, 767-768
Fusobacterium, 745-746, 765-766, 768-769, 776-777
Fusobacterium nucleatum, 548
γ-Caroteno, 409-410
γ-Toxina, 778
gag gen, 273, 298, 300
Galdieria sulphuraria, 583
Galdieria, 604-605
Gallionella ferruginea, 421-422, 487-488, 691-692
Gallionella, 487-488, 500, 502, 513, 516-517, 691-692
Gametangios, 599-600, 600-601
Gameto, 68-70, 1015-1016
Gametocito, 591-592, 1015-1016
Gancho, flagelar, 58-59, 60-61, 61-62
Ganglиósido, 538-539
Ganglиósido GM1, 783-784
Gangrena gaseosa, 529-531, 776-777, 778, 977-979, 979-980
peste, 974-975
Gardama (*Spodoptera exigua*), 359-360
Gardasil, 807-808
Garrapata de la madera, 968-969
Garrapata del ciervo, 970-972
Garrapata del perro, 968-969
Gas intestinal, 769, 771
Gas invernadero, 461, 485-486, 553, 664-665
dióxido de carbono, 680-682
metano, 553, 681-682
Gas natural. *Véase* Metano
Gas nervioso Sarín, 920
Gases traza, 695-696
Gastritis, 523-524, 947
Gastroenteritis, 519-520, 521-522, 529-531, 778, 864-865
Géiser, 167
Gel electroforesis, 366-367
en gradiente desnaturalizante, 621-623, 624-625, 639-640
Gemación
Gemella, 767-768
Gemmata, 542-543, 543-544
Gemmata obscuriglobus, 543-544
Gemmatimonadetes, 378-380, 462, 657-658
Gen *alkB,* 621-622
Gen *amoA,* 621-622, 629-630
Gen *amoB,* 629-630
Gen *amoC,* 629-630
Gen *apsA,* 621-622
Gen C, 848-850
Gen cat, 352-354
Gen D, 848-850, 850-852
Gen de la cadena pesada, activo, 848-850, 849-850
Gen de la cedena ligera, activo, 848-850, 849-850
Gen de la inmunoglobulina, 848-850
Gen de la timidina cinasa, 360-361
Gen *dsrAB*, 621-622
Gen env, 273, 298, 300-298, 300-301
Gen *gfp,* 618-619, 619-620
Gen *invH,* 777, 779
Gen lacZ, 345-346, 346-347, 349-350, 352-353, 355-356,
Gen mcrA, 621-622
Gen *mecA*, 945-946
Gen *nahA,* 621-622
Gen *napa*, 629-630
Gen *napb*, 629-630
Gen *napc*, 629-630
Gen *napd*, 629-630
Gen *napf*, 629-630
Gen *napg*, 629-630
Gen *naph*, 629-630
Gen *narb*, 629-630
Gen *narg*, 621-622, 629-630
Gen *narh*, 629-630
Gen *nari*, 629-630
Gen *narj*, 629-630
Gen *nark*, 629-630
Gen *nasa*, 629-630
Gen *nasd*, 3-4, 629-630
Gen *nasf*, 629-630
Gen *nifd*, 629-630
Gen *nifh*, 482-483, 621-622, 629-630
Gen *nifk*, 629-630
Gen *nirb*, 629-630
Gen *nirk*, 621-622
Gen *nirs*, 621-622
Gen *norB*, 621-622
Gen *nosz*, 621-622
Gen *oriS*, 352-354
Gen *phoA*, 629-630
Gen *phoD*, 629-630
Gen *phoR*, 629-630
Gen *phoU*, 629-630
Gen *phoX*, 629-630
Gen *pitA*, 629-630
Gen *pmoA*, 621-622
Gen *pol*, 298, 300
retrovirus, 273, 298, 300
Gen *ppk*, 629-630
Gen *pstA*, 629-630
Gen pstC, 629-630
Gen *pstS*, 629-630
Gen *pufM*, 621-622
Gen *rbcL*, 203
Gen *rbcLS*, 203
Gen *recA*, 393-394
Gen *repE*, 352-354
Gen *sopA*, 352-354
Gen sopB, 352-354
Gen T, 848-850, 850-852
Gen *tox*, 779-781
Gen *umuCD,* 314-315, 315-316
Gen *uvA*, 315-316
Gen V, 848-850, 850-852
Gen, 3-5, 112-113, 145-146
componenetes de la bacteria, 226-227
definición, 145-146
duplicación, 386
filogenia, 384-386
flujo de información, 113
genes constitutivos, 369, 393-395
homólogo, 214-216, 381-383
número por célula, 4-5
pauta de lectura abierta, 134-135
reportero, 227-228, 345-346, 367-368, 618-620
resistencia, 889-891
solapados, 269-270, 276-277, 284-285, 290-291, 291-292,
uniendo genes específicos y funciones para organismos determinados, 633-638
GenBank, 198-199
Generación espontánea, 13-15, 14-16, 16-18, 24
Generación, 150-151, 156-157
Genes «huérfanos», 628-629
Genes (*che*) quimiotaxia, 201-202
Genes constitutivos, 369, 393-395
Genes de mamíferos
aislamiento del gen mediante el mRNA, 354-355
búsqueda de genes por las proteínas, 354-356
clonados y expresados en bacterias, 354-357
síntesis del gen completo, 354-356
Genes de resistencia, 889-891
Genes diana en minería, 363
Genes homólogos, 214-216, 223, 381-383
Genes integrones, 369
Genes Inv, 777, 779
Genes *mer,* 694-695
Genes *nod*, 729-731
Genes *onc*, 733-734
Genes reporteros, 227-228, 345-346, 367-368, 618-620
genes *se*, *Staphylococcus aureus*, 994-995
Genes *vir*, 732-734
Genética microbiana. *Véase* Genética
Genética
eucariotas, 113
microbiana, 22-23
procariota, 113
procesos moleculares relacionados con el flujo de información, 113
Genisteína, 730-731
Genoma esencial, 219-221, 223, 388-389, 390, 400-401
Genoma nuclear, 206
Genoma segmentado, 295-296, 296-297, 941-942, 942-943
Genoma vírico. *Véase* Virus
Genoma, 3-5, 24, 112-113, 145-146, 192-193, 223
adenovirus, 289-290
análisis, 199-200, 390
análisis del genoma *complete basa*do en las secuencias, 395-396
Archaeoglobus, 54-55
bacteriófago lambda, 267-269
biología sintética, 364
características compartidos por los tres dominios, 376-377
cloroplasto, 203-204
complemento mínimo de genes necesarios, 22-23
ensamblaje, 197-198
«gráfico de conexión», 609
esencial, 219-221, 223, 388-389, 390, 400-401
estabilidad, transferencia horizontal y, 217-219
estructura bacteriana, 112-119
eucariota, 206-207, 583
evolución, 214-221, 388-390
elementos móviles, 219
hepadnavirus, 298, 300, 298, 300-301
Korarchaeum cryptofilum, 568-569
levadura, 206, 206-207
Methanocaldococcus jannaschii, 561-562
micoplasma, 529-531, 531-532
minería, 362-363
mitocondrial, 203-204
*Na*noarchaeum, 566-567, 567-568
naturaleza dinámica, 388-390
nuclear, 206
orgánulos, 203-206
pan, 219-221, 223, 388-389, 390, 400-401
parabasalidos, 587-589
procariótico, 192-202
procesos que incrementan la estabilidad genómica, 257
reducción, 747-749
registro, 197-199
reovirus, 296-297
replicación en T7, 286-287
retrovirus, 271-273, 297, 298, 300
RNA, 297
secuenciado, 192-198
múltiples desplazamientos en la amplificación, 214-215, 637-638, 640
segmentado, 295-296, 296-297, 941-942, 942-943
simbiontes de insectos, 747-748, 750
SV40, 290-291
Systema CRISPR y preservación de la integridad, 328-330
tamaño, 199-200, 529-531, 531-532
categorías de genes en function de, 200-201, 203
tasa de mutación y, 257
Thermoplasma, 562-563
virus, 258-259, 258-259, 260-261, 274, 280-284
evolución, 282-284
tamaño y estructura, 280-282
T4, 264-266
virus humano de la hepatitis B, 298, 300
Genomas cerrados, 197-198
Genomas procariotas, 192-202
bioinformática y anotación de genomas, 197-198
contenido de genes de, 200-203
tamaños, 193, 198-201
Genómica, 12-13, 22-23, 24, 192-193, 223
comparación, 211-212, 214-216, 217-218, 395-396
introducción, 192-193
ambiental (metagenómica), 210-211, 213-216, 223, 279, 363, 403, 609, 617-618, 627-629, 639-640, 664-665, 667-668

micromatrices (chips DNA), 208-210, 223, 625-627
muerte negra vinculada a la peste, 19
nuevas Archaea y, 191
simbiosis en fuentes hidroter*males,* 754-756
Genómica de una sola célula, 214-215, 637-638
Genómica funcional, 206-216. *Véase también* Metagenómica
metabolómica y biología de sistemas, 212-214, 223
microchips y el transcriptoma, 206-211, 223
proteómica e interactoma, 210-213, 223
Genotipo, 308-309, 331-332
designación, 308-309
recombinación homóloga, 318, 325-326
Genotoxina, 778
Gentamicina, 881-882, 884-885
Geobacillus stearothermophilus, 167, 527-529, 575-576
Geobacter metallireducens, 482-483
Geobacter sulfurreducens, 689-690
Geobacter, 98-100, 448, 477-478, 485-486, 486-487, 522-523, 612, 657-658, 688-690, 703-705
Geobacteraceae, 485-486
GeoChip, 626-627
Geosmina, 467-469, 536-537
Geospirillum, 612
Geothrix fermentans, 547-548
Geothrix, 485-486
Geotrichium, 765-766, 990-991
Geovibrio, 477-478, 485-486, 547-548
Geranilgeraniol, 564-565
Germicida (antiséptico), 184-185, 186, 188
Germinación, endospora, 55-56, 57-58
GFP. *Véase* Proteína verde fluorescente
Giardia, 586, 587-588, 714-715
Giardia intestinalis, 206, 587-588, 984-985, 992-994, 1002, 1012-1013, 1013-1014
Giardiasis, 587-588, 911-912, 984-985, 1012-1013, 1013-1014
Gimnamebas, 594-595
Glaciar, 167-168, 168-169
Glándula sebácea, 765-766, 785-786
Gleomargarita, 52-53, 53-54
Glicano tetrapéptido, 44-45, 45-46
Gliceraldehíde-3-fosfato deshidrogenasa, 90-92
Gliceraldehído-3-fosfato, 90-92, 91-92,
Glicerato, 452-453
Glicerol, 38-39, 38-39, 39-41, 170, 473-474, 538-539, 544-545
diéter, 38-39, 39-41
estructura, 175-176
fermentación, 427-428
soluto compatible, 174-176
Glicina, 452-453, 781-782
betaína, 174-175, 175-176
código genético, 133-134
estructura, 132-133
fermentación, 430-431, 431-432
síntesis, 102-103
síntesis de purina, 103-104
Glicocálix, 773-774, 788-789
Glicógeno, 51-52, 89-90, 101-102, 771-773
Glicolípido, 38-39
Glicólisis, 90-93, 109, 428-429, 428-430, 448-449
esqueleto de carbono de los aminoácido, 102-103
Glicoproteína
pared celular, 556-557, 557-558
virus-específico, 295-296
Glicosidasa, 769, 771
Glicosilación, 70-71, 362
Glioxilato, 427-428, 452-453
Globobulimina pseudospinescens, 438-439
Glóbulos de azufre, 52-53, 53-54
Gloeobacter, 464-465
Gloeobacter violaceus, 465-466
Gloeocapsa, 464-465
Gloeothece, 464-465
Glomeribacter, 482-483
Glomeromicetos, 599-600, 600-601, 601-602
Glomeromycota, 734-735
Glomerular, 933-934
Glomerulonefritis aguda postestreptocócica, 933-934
Glomerulonefritis, agudo, 932-933, 933-934
Glomus, 599-600, 601-602
Glomus intraradices, 729-730
Glosopeda, 182
vacuna, 806-807
Glucocorticoides, 1007
Gluconeogénesis, 101-102, 102-103
Gluconobacter, 513
Gluconobacter, 492-493, 514-515, 516-517, 612
Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, 88-90, 90-92, 91-92, 102-103
Glucosa, 101-102
entrada, 42-44
fermentación, 90-93, 428-429, 683-684, 684-685
permeabilidad de las membranas a, 38-39
respiración, 97-98
Glucosilación, DNA, 265-266
Glutamato, 234-235
soluto compatible, 175-176
codigo genético, 133-134
estructura, 132-133
síntesis, 102-103
Glutamato deshydrogenasa, 102-103, 103-104
Glutamato sintasa, 103-104
Glutamina sintetasa, 102-103, 103-104, 234-235,
adenililación, 252-253
Glutamina, 730-731, 731-732
código genético, 133-134
estructura, 132-133
síntesis, 102-103, 103-104
Glutaminil-tRNA sintetasa, 136
Glutaraldehído, 184-185
GM-CSF, 826-827, 855-857
Gonococo. *Véase Neisseria gonorrhoeae*
Gonorrea, 517-518, 774-775, 786-787, 872-873, 877-878, 889-891, 891-892, 904-905, 911-912, 949-950, 949-952, 952-953
casos notificados en Estados Unidos, 949-951
cultivo, 869-870
diagnóstico, 865-867
Gonyaulax, 590-591
Gotas infecciosas, 930
Gradiente, 63-64, 64-65, 65-66
fuente hidrotermal, 675-676
Gradiente temporal, 63-64
Gradiente térmico, fuentes termales, 171
Gráfico de conexión, 609
Gramicidina, 527-529
Gran evento de oxidación, 370, 374-375, 564-566
Gran Lago Salado en Utah, 555-557
Grana (plural de grano), 405, 407, 407-408
Granulicatella, 767-768
Gránulo de volutina. *Véase* Polifosfato
Granulocitos, 793-794, 808-809
Gránulos de azufre, 413-414, 419-421
Granzimas, 796-797, 824-826, 826-827
Grasa, papel que desempeñan los microorganismos intestinales obesidad, 214-215, 744-746
Grasa. *Véase* Lípidos
Gray (unidad de radiación), 182
Gremio, 645-646, 677-678
Grietas gingivales, 766-767, 767-768
Gripe, 785-786, 786-787, 876-877, 877-878, 905-906, 911-912, 913-914, 914-915, 940-941, 941-945
H3N2, 914-915
número básico de reproducción, 905-906, 906-908
pandémica, 923-925, 943-945
futuro, 924-925, 929
pandemia de H1N1 2009, 913-914, 915-916, 917-918, 923-925, 943-945
síntomas y tratamiento, 943-944
Gripe A (H1N1) pandémica 2009, 913-914, 917-918, 923-925, 943-945
Gripe asiática (virus H2N2), 923-924, 943-944, 944-945
Gripe aviar, 943-944
Gripe aviar. *Véase* Virus de la gripe aviar
Gripe española (1999-1000 virus H1N1), 943-944, 944-945
Gripe porcina, 923-925, 943-945
H1N1 pandémico, 913-914, 915-916, 917-918, 923-925, 943-945
Gripe. *Véase* Influenza
Griseofulvina, 887-888, 1009, 1010-1011
Grupo amino, 102-103, 103-104, 131-132, 132-133
Grupo cruzado de inoculación, 727-728, 728-729
Grupo de genes, 117
Grupo de translocación, 40-42, 42-44, 74-75
Grupo del ácido carboxílico, 131-132, 132-133
Grupo intergubernamental de expertos sobre cambio climático, 553
Grupo monofilético, 392, 400-401
Grupo prostético, 85-86
Grupo R, aminoácido, 132-133
Grupo sanguíneo ABO, 873-874
Grupo SAR11, 662-663, 667-668, 668-669
Grupo SAR86, 668-669
Grupos celulares con forma en V, 532-533
Grupos terroristas, armas biológicas, 917-918, 920
GTP, 112-113
en la síntesis de proteínas, 137-139, 138
hidrólisis de FtsZ, 152
Guanina, 112-113, 113, 115, 954-955
Guanosina monfosfato cíclico (cyclic GMP), 233-234
Guanosina oxidación, 747-748
Guanosina tetrafosfato (ppGpp), 233-234
Guerra biológica, 917-918, 918-920, 925-926, 969-970
Guías de onda cero, 196-197
Gusanos tubícolas, 748, 750, 753-755, 755-756
*gyr*B gen, 393-394, 394-395
H5N1, 903-904, 914-915, 924-925, 929, 944-945
HAART, 894-895, 957-959
Hábitas del suelo, 200-201
Hábitat, 6-7, 7-8, 24, 644-645, 646-649, 677-678. *Véase también* Hábitats específicos
ambientes extremos, 7-9
efecto de los organismos en, 7-8
insectos como, 746-752
invertebrados acuáticos como, 752-759
mamíferos como, 736-747
metanógenos, 558-559, 559-561
plantas como, 726-737
propiedades químicas, 6-7
suelo, 200-201
Hábitat geotérmico, 568-569, 569, 571
Hábitat salino, 555-557
Hábitat volcánico, 569, 571-575
submarino, 571, 573-575
Hábitats microbianos anóxicos, 176-177, 426
Hábitats microbianos antárticos y microorganismos, 167-169
Haeckel, Ernst, 377-378, 377, 379
Haemophilus ducreyi, 778, 891-892, 949-950
Haemophilus haemolyticus, 337-338
Haemophilus influenzae, 192-193, 319-320, 337-338, 803-804, 804-806, 806-807, 911-912, 931-932
genoma, 203
resistencia antimicrobiana, 891-892
Haemophilus, 319-320, 745-746, 765-766
HAI. *Véase* Infecciones asociadas con el cuidado de la salud (infecciones nosocomiales)
Haití, brote de cólera, 922-924
Halanaerobium, 556-557
Haloalcalófilos, 555-556, 556-557
Haloarcula, 556-557
Haloarcula marismortui, 193
Halobacterium, 59-60, 119, 174-175, 175-176, 309-310, 326-327, 554, 556-559, 667-668
Halobacterium salinarium, 174-175, 193, 556-557, 557-559
Halobacteroides, 556-557
Halobaculum, 556-557
Halococcus, 49-50, 174-175, 554, 556-557
Haloferax, 326-327, 555-556, 556-557
Halófilo, 7-8, 9-10, 174-175, 188, 554
extremo. Véase Halófilo extr*emo*
pared celular, 49-50
Halogeometricum, 556-557
Haloquadratum, 556-557
Halorhodospira, 469-470, 556-557
Halorodopsina, 558-559, 580-581
Halorubrum, 556-557
Haloterrigena, 556-557
Halothiobacillus neapolitanus, 414-416, 478-479
Halotolerancia, 174-175, 175-176, 188
Hambruna irlandesa, 591-592
Hamiltonella, 747-748
Hansenula wingei, 602-603
Hantavirus, 872-873, 914-915, 915-916, 916-917, 917-918, 965-968
Hantavirus Sin Nombre, 966-968
Hapalosiphon, 464-465
Haploide, 67-68
Hapteno, 821-823
Hartmannella, 715-716
HBLV. *Véase* Virus humano B linfotrófico
Heartland virus, 914-915
Hebra de infección, 728-729, 729-730, 730-731, 761-762
Heces, 769, 771
Hedor a sulfuro, 476-477
Helicasa, 120-121, 122, 123, 145-146, 316-317
Hélice de reconocimiento, 227-228
Helicobacter, 154, 522-523, 523-524, 768-769
Helicobacter pylori, 523-524, 767-768, 947

diagnóstico y tratamiento, 947
epidemiología, 947
Heliobacillus, 474-475
Heliobacillus mobilis, 474-475
Heliobacterias, 406, 409-410, 411-412, 412-413, 414-415, 474-475, 508-509, 610-611
Heliobacterium, 474-475, 524-525, 527-529
Heliobacterium gestii, 474-475
Heliobacterium modesticaldum, 3-4, 52-53
Heliomonas, 474-475
Heliophilum, 474-475, 527-529
Heliophilum fasciatum, 474-475
Heliorestis, 474-475, 527-529
Heliothrix, 473-474
Hemaglutinación, 873-874
Hemaglutinina, 295-297, 941-942, 942-943
Hemicelulosa, 742-743
Hemo, 85-86, 94-95
Hemocitos, sanguijuela, 756-757
Hemofilia, 357-358
Hemoflagelados, 1016-1017
Hemoglobina, 777, 779
Hemolinfa, 746-747
Hemolisina, 777, 779, 916-917, 944-945
Hemólisis, 524-527, 778, 777, 779, 779-781
Hepacivirus, 948-949
Hepadnavirus, 270-271, 297, 298, 300-301, 304
genoma, 298, 300, 298, 300-301
replicación, 298, 300-301
Heparina, 792-793
Hepatitis, 864-865, 901-902, 947-950, 961-962
A, 911-912, 948-949
B, 911-912, 948-949
C, 357-358, 911-912, 948-949
D, 948-949
E, 948-949
epidemiología, 948-949
patología y diagnosis, 948-950
prevención y tratamiento, 949-950
Hepatocarcinoma, 948-949
Hepatovirus, 948-949
Herbaspirillum, 516-517
Herbicida, 705-706
biodegradación, 706-707
herbívoros, 736-743
Herida por picadura, 964
rabia, 963
Herpes, 290-291, 940-941
Herpes genital, 949-950, 953-955
Herpes labial, 290-291, 953-954
Herpes venéreo. *Véase* Herpes genital
Herpes virus humano, 8-9, 956-957
Herpes, genital. *Véase tambien* Herpes genital
Herpesvirus, 270-271, 271-273, 290-292, 953-955
infección latente, 291-292
mRNA tardío, 291-292
mRNA temprano inmediato, 291-292
mRNA temprano retrasado, 291-292
Herpetosiphon aurantiacus, 635-636
Hesse, Walter, 17-18, 20, 20-21
Heterocisto, 106, 244-245, 466-468, 731-732, 732-733
formación, 244-247, 252-253
Heterodímero, 842-844, 845-846, 847-848, 851-852
Heterodisulfuro reductasa, 447
Heterofermentativo, 457-458, 550
Heterótrofo, 83-84, 109, 630-631
fotoheterotrofia, 404, 465-466, 666-667
fotoheterótrofo, 100-101, 404, 470-471, 472-473, 474-475
Hexaclorofeno, 184-185
Hexosa, 101-102
fermentación, 427-428
metabolismo, 101-102
Hexulosa fosfato sintasa, 452-453
Hexulosa-6-P isomerasa, 452-453
*Hha*I, 337-338
Hialuronidasa, 776-777, 778, 945-946
Hibridación, 223, 338-340, 366-367. *Véase también* Detección por sondas de ácidos nucleicos
DNA-DNA, 392, 393-394, 400-401
fluorescencia in situ (FISH), 339-340, 566-567, 619-621, 634-635, 635-637, 639-640
FISH-MAR, 635-637, 639-640
genómica, 392, 393-394
micromatrices, 208-210, 223, 626-627
ácido nucleico, 338-340, 392
Hibridación colonial, 342-343
Hibridación de ácidos nucleicos, 338-340, 392
Hibrización in situ de halógenos-SIMS (HISH-SIMS), 634-635
Hidratos de metano, 681-683
Hidrazina, 425
Hidrazina deshidrogenasa, 425
Hidrazina hidrolasa, 425
Hidrocarburos, 536-537
aromático, 451-452, 453-455
biorremediación, 703-706
contaminación, catástrofe en el horizonte del agua profunda, 663-665
degradación, 664-665
microorganismos oxidadores de hidrocarburos, 612
para analizar el genoma de una sola célula, 214-215
almacenamiento de hidrocarburos, 705-706
descomposición, 703-705
metabolismo aeróbico, 450
oxidación anóxica, 453-455
Hidrocarburos alifáticos, metabolismo, 450, 453-454, 684-685
Hidrocarburos aromáticos, 451-452
Hidrofobia, 964
Hidrogenasa, 79-80, 418-419, 426, 427-428, 439-440, 440-441, 457-458, 487-488, 488-489
Hidrógeno, 78
donador de electrones, 417-418, 438-439, 440-441, 442, 448, 449, 487-488, 578-580, 682-683, 716-717, 754-755
fuente, para las células primitivas, 372-373, 373-374
fuente de energía, 100-101
hidrógeno utilizado por los acetógenos, 492-493
hipótesis del origen celular de la vida, 371-372
macronutriente, 79-80
metanogénesis, 445
oxidación, 418-419, 487-489
producto de la fermentación, 426, 427-428, 434-435, 518-519, 519-520, 683-684
Hidrogenosoma, 68-70, 69-70, 74-75, 584-585, 586, 587-588, 600-601, 742-743
Hidrotaxis, 65-66
Hidroxiclorofila *a,* 411-412
Hidroxilamina, 313-314, 422-423, 423-424, 484-485
Hidróxido férrico, 420-421, 421-422, 500, 502, 502-503
Hidroxilamina oxidoreductasa, 422-423, 423-424
Hidroxipiruvato, 452-453
Hidroxiprolina, 431-432
ciclo 3-Hidroxipropionato/4-hidroxibutirato, 566-567
Hiedra venenosa, 808-810
Hielo marino, 167-168, 168-169
Hierro, 483-484, 775-776
citocromos, 94-95, 95-97
corrosión, 716-717
función celular, 79-80
oxidación, 417-418, 420-423, 564-565, 564-566, 687-692
reducción, 687-688, 688-692
reducción de hierro férrico, 447-448
requerimentos celulares, 79-80
Hifa cenocítica, 591-592, 595, 597, 607-608
Hifas
bacterianas, 499-500, 500, 502
coenocítico, 591-592, 595, 597
estreptomiceto, 534-535
fúngica, 595, 597-602, 1008
Higiene personal, microbiota normal, 766-767
*Hin*dIII, 337-338
Hipermutación somática, 832-833, 849-851, 851-852, 858-859
Hipersensibilidad inmediata, 808-810, 812-814, 832-833
Hipersensitividad, 808-811, 812-814
inmediata, 808-810, 812-814, 832-833
tipo retrasada, 808-809, 808-811, 812-814, 872-873
Hipertermófilo, 9-10, 167, 170-173, 180-181, 188-189, 199-200, 326-327, 380-381, 448, 544-546, 554, 567-568, 568-575, 580-581, 675-676
anaerobios obligatos, 568-569
aplicaciones biotecnólogicas, 192-193
características, 571, 573
estabilidad al calor de las membranas y proteínas, 171-173
Euryarchaeota, 562-566
evolución, 574-580
filogenia, 578-579
hábitas volcánicos, 569, 571-575
lípidos, 578-579
macromoleculas, 577-578
quimiolitotrofo, 568-569, 569, 571, 570-572
quimioorganotrofo, 562-563, 568-569, 570-572
rendimiento energético de las reacciones, 570-572
usos comerciales, 171-173
virus, 287-289
área volcánica submarina, 571, 573-575
Hipolimnion, 660-661, 677-678
Hipótesis de la reina negra, 391, 567-568
Hipótesis del hidrógeno, 375-376, 376-377
Hirudo verbana, 755-756, 756-757
HISH-SIMS, 634-635
Histamina, 808-810
Histidina, 308-309
cinasas, 235-236
código genético, 133-134
estructura, 132-133
fermentación, 431-432
Histona, 66-67, 67-68, 74-75, 562-563, 577-578, 578-579
Histoplasma, 1008, 1011
Histoplasma capsulatum, 956-957, 1008, 1009, 1011
Histoplasmosis, 598-599, 810-811, 954-955, 1008, 1009, 1011
HIV inmunotransferencia, 878-879, 956-957
HLA (antígenos de leucocitos humanos), 857-858
Hodgkinia, 199-200, 204-205
Hodgkinia cicadicola, 193
Holoenzima, RNA polimerasa, 126
Holophaga foetida, 547-548
Homínidos, inmunidad actual y antigua, 839
Homo sapiens, genoma, 206
Homoacetógenos, 492-493, 612
Homofermentativa, 457-458, 550
Homogeneizador, 992-994
Homología, 381-383, 400-401
Homólogos (genes homólogos), 214-216, 223, 381-383
Homoplasia, 383-385, 400-401, 463, 508-509
Hongo, 3-4, 378-380, 586, 595, 597-604, 607-608
ascomicetos, 598-599, 601-603
basidiomicetos, 595, 597, 598-599, 602-604
biodeterioro de la piedra, 717-718
de aguas residuales, 502-503
degradores de la madera, 595, 597
dimórfico, 1008
drogas antifúngicas, 887-890
endolítico, 717-718
enfermedades de notificación, 911-912
epidemias emergentes y reemergentes enfermedades infecciosas, 914-915
estructura y crecimiento, 595, 597
filamentoso. Véase también Mic*robiota*
*filo*genia, 598-599, 1008-1009
fúngica (mohos) de la piel, 763
glomeromicetes, 600-601, 601-602
Hormigas cortadora*s de hojas*, 749
hábitat, 595, 597-599
Liquen. Véase también Liquen
macroscópico, 595, 597, 598-599, 599-600
micobioma, 214-216
micorrizas, 730-731, 733-737
morfología, 595, 597-599
nutrición y fisiología, 595, 597
paredes celulares, 595, 597-599
quitridiomicetos, 599-601
reproducción, 599-600, 601-603
rumen, 742-743
setas, 598-599
simbiosis, 598-599
unicelular, 600-602
zigomicetos, 600-601
ácido tolerancia, 172-173
Hongo mucoso, 594-596, 607-608
acelular, 594-595
celular, 594-596
hábitat, 594-595
Hongos blancos descomponedores, 595, 597
Hongos descomponedores de madera, 595, 597
Hooke, Robert, 13-15
Hopanoide, 37-38
Horizonte A, 654-655
Horizonte aguas profundas, 663-665, 705-706
Interfase petóleo-agua, 705-706
Horizonte B, 654-655
Horizonte C, 654-655
Horizonte del suelo, 654-655
Horizonte O, 654-655
Hormiga carpintera, 748, 750
Hormogonia, 466-467
Hormona estimuladora del folículo, 357-358
Hormonas, por ingenieria genética, 354-356, 356-357
Horquilla de replicación, 120-122, 145-146

múltiple, 152
Hospedador, 764, 771-773, 788-789, 902-907
alternativo, 904-905
clonación. *Véase* Hospedador de clonación, 342-343, 349-350
eucariota, 349-350
genes foráneos expresados en, 342-343
procariotas, 349-350
coevolución hospedador-parásito, 902-904
virus, 258-259
receptores, 263-264
restricción y modificación por el hospedador, 264-266
HPV. *Véase* Papillomavirus humano (HPV)
HTCC2181, 199-200
Huella de DNA, 395-396
Huella genómica, 395-396
Humanos, 742-747
Humus, 680, 688-689, 689-690, 697-698
Hydrogenobacter thermophilus, 517-518
Hydrogenobacter, 545-546
Hydrogenophilales, 516-517, 517-518
Hydrogenophilus, 516-517
Hyperthermus, 570-572, 571, 573
Hyphomicrobium, 489-491, 499-500, 501, 500, 502, 513, 514-515, 612
Hyphopodium, 734-736
Icosahedro, 258-259, 260-261
Ictericia, 949-950, 972-973
Identificación, micromatrices utilizadas para, 209-210
IDEXX test de calidad del agua colilert, 985-986
Ig. *Véase* Imunoglobulina
gnicoccus, 570-572, 571, 573, 572-573, 573-574
hospedador para *Nanoarchaeum,* 566-568
Ignicoccus hospitalis, 566-567
Ignicoccus islandicus, 574-575
*I*IL. *Véase* Interleucina
Íleon, 767-769
Impétigo, 932-933, 944-945
Implante médico, 651-652
Inactivación por inserción, 348
Incidencia de una enfermedad, 901-902, 925-926
Inclusión, 51-54
Índice de aridez, 655-656
Indinavir, 886-887, 893-894
Indol, 363, 364
Indoxil, 363
Inducción, 229-231, 254-255
profago, 267-268
Inductor, 229-231, 231-232, 350-351, 351-352, 355-356
Industria alimentaria, 10-12
chips de DNA utilizados en, 209-210
Industria del cuero, 184-185
Industria metalúrgica, 184-185
Industria papelera, 184-185
Industria petrolífera, 184-185
Industria téxtil, 184-185
Infección, 771-773, 775-777, 788-789, 901-902. *Véase también* Infección respiratoria
Infección aguda, 900-901, 925-926
Infección alimentaria, 991-992, 992-994, 996-1002, 1004-1005
Infección asociado con el cuidado de la salud (nosocomial), 787-788, 862-866, 895-896, 899, 906-907, 915-916, 945-947
Infección bacteriófago lambda, 268-270
Infección bacteriófagos atemperados, 267-268
Infección biopelículas y, 166
Infección crónica, 900-901, 925-926
Infección cruzada, 862-865
Infección de heridas, 785-786
cultivo, 868-870
Infección del tracto urinario, 519-520, 520-521, 521-522, 771-773, 774-775, 868-869, 881-882
nosocomial, 862-865
Infección factores de riesgo del hospedador, 786-788
Infección fúngica primaria, 1009
Infección fúngica secundaria, 1009
Infección latente, 282-283
herpesvirus, 291-292
virus animal, 271-273
Infección lítica, 258-259
Infección nococomial, 517-518, 521-522, 787-788, 862-866, 915-916, 984-985
estafilocócica, 945-947
factores de riesgo, 862-865
Infección oportunista, 769, 771, 955-957, 1009, 1010-1011, 1011
Infección persistente, virus animal, 271-273
Infección por hepatitis. *Véase* Hepatitis A
Infección respiratoria, 778, 901-902, 905-906, 908-909, 930-932, 938-945
bacteriana, 930-932
control de la transmisión, 908-909
vírica, 930-932, 938-945
Infección secundaria, 930
Infección sistémica, 775-776
infección subclínica, 901-902
Infección virulenta (lítico), 258-259
Infecciones asociadas a la atención hospitalaria (HAI) infecciones nosocomiales, 787-788, 862-866, 895-896, 915-916, 945-947
Infecciones asociadas al laboratorio, 862-863
Infecciones fúngicas, 1007, 1008-1011
clases de enfermedades y tratamiento, 1009
micosis, 598-599, 1010-1011, 1020-1021
Infecciones hospitalarias. *Véase* Infecciones nosocomiales
Infecciones parasitárias del tejido, 1012-1013, 1017-1019
infecciones parasitarias viscerales, 1012-1015
Infecciones parasitarias, 1012-1019
principal, 1012-1013
sangre y tejido, 1012-1013, 1015-1019
visceral, 1012-1015
Infecciones piogénicas, 778
Infecciones transmitidas sexualmente, 496-497, 542-543, 807-808, 869-870, 905-906, 949-959, 961-962, 1013-1014. *Véase también* Enfermedades específicas
Infertilidad en machos, 810-811
Inflamación, 793-794, 796-797, 797-798, 812-814, 840, 842
citocinas proinflamatorias producidas por macrófagos, 857
de las encías, 745-746
defensa del hospedador, 799-802
fagocitos, 819-820
local, 800-801
sistémica, 800-802
Inflamasoma, 840, 842
influencias ambientales, 164-179
alimentos, 990-991
aspectos cuantitativos, 155-158
disponibilidad de agua, 174-175
efecto de la temperatura, 164-173
efecto del pH, 172-174
en la naturaleza, 645-646, 646-647
exponencial, 155-158, 188
intercalar, 498-499
límite superior para, 171
medición, 160-165
métodos de diagnóstico independiente de crecimiento, 871-879
métodos de identificación dependientes de crecimiento, 869-872
osmolaridad y, 174-176
oxígeno, 175-179
parámetros, 157-158
patógeno, 771-773, 775-777
población, 155-161
replicación del genoma en células de crecimiento rápido, 152
síntesis de peptidoglicano, 151, 154-156
temperaturas extremas, 167-173
trazado de datos, 155-157
Ingeniería genética, 12-13, 335-368. *Véase también* Clonación
bacteriófagos, 284-286
biología sintética, 364-365
definido, 336-337
fago M13-15, 284-286
plantas en agricultura, 357-360
plásmido Ti, 733-734
productos a partir de microorganismos modificados genéticamente, 354-365
vacunas, 806-808
Inhalación de *Bacillus anthracis*, 918-919, 920, 976-977
Inhibición, 179
zona de, 183-184, 184-185
Inhibición por retroalimentación, 251-252, 254-255
Inhibición alostérica, 251-252
Inhibidor de la fusión, 881-882, 886-887, 895-896, 957-958,
Inhibidor de la mitosis, 887-888
Inhibidor de la nitrificación, 686-687
Inhibidor de la proteasa, 881-882, 886-887, 893-894, 894-895, 897, 957-958, 961-962
Inhibidor de la síntesis de quitina, 887-888
Inhibidor de la transcriptasa inversa no nucleósido (NNRTI), 881-882, 886-887, 895-896, 957-958, 958-959, 961-962
Inhibidor del ergosterol, 887-888
Inhibidores de la β-lactamasa, 894-895
Inhibidores de la integrasa, 957-958, 961-962
Inhibidores de la neuraminidasa, 886-887
Inhibidores de la transcriptasa inversa, 957-958
no nucleósido (NNRTI), 881-882, 886-887, 897, 957-958, 958-959, 961-962
nucleósido (NRTI), 886-887, 897, 957-958, 958-959, 961-962
Inmunidad, 792-799, 812-814
activa, 801-803
adaptiva (específica), 792-793, 795-798, 801-802, 812-814, 818
basado en RNA, 328-330
de lisógeno a una nueva infección, 321-322
grupo, 804-806, 807-808, 903-904, 905-906, 906-908, 925-926
homínidos ancestrales, 839
innato, 792-793, 793-794, 795-796, 801-802, 812-814, 818
perfil de reconocimiento, 840-842
receptores y dianas, 840-841
señal de transducción, 840, 842-842
interruptores moleculares, 851-855
linfocitos T, 824-829
mecanismos básicos inmunitarios, 818-822
mecanismos de respuesta adaptativa, 795-797
mecanismos de respuesta innata, 818-821
mediada por anticuerpo, 797-800, 804-806, 821-822, 828-837
mediada por células, 793-794, 803-804, 808-810, 810-811, 821-822, 824-826, 826-827
pasiva, 801-802, 802-803, 804-806
prevención de las enfermedades infecciosas, 803-808
propiedades de la respuesta adaptativa, 819-822
receptores de superficie celular, 840-842
Inmunidad activa, 801-803
artificial, 803-808
natural, 801-803
Inmunidad adaptativa, 792-793, 795-798, 801-802, 812-814, 818
células T presentadoras de antígeno, 796-797
subgrupos Linfocitos T, 796-798
superfamilia de las inmunoglobulinas, 840-845
Inmunidad basada en el RNA, 328-330
Inmunidad celular. *Véase* Inmunidad mediada por células
Inmunidad colectiva, 804-806, 807-808, 903-904, 925-926
es necesario prevenir la dispersión de la infección, 905-906, 906-908
Inmunidad específica a antígenos. *Véase* inmunidad adaptativa
Inmunidad innata, 792-793, 793-794, 795-796, 801-802, 812-814, 818
perfiles de reconocimiento, 840-842
receptores y dianas, 840-841
señales de transducción, 840, 842-842
Inmunidad mediada por anticuerpos (inmunidad humoral), 797-800, 804-806, 821-822, 828-837
Inmunidad mediada por células, 793-794, 803-804, 808-810, 810-811, 821-822, 824-826, 826-827
Inmunidad natural activa, 801-803
Inmunidad pasiva artificial, 801-802, 802-803
Inmunidad pasiva natural, 801-802, 802-803, 804-806
Inmunización, 803-808, 814-815, 822-823, 833-834
calendario para los niños, 804-806
carbunco, 920
control de las epidemias, 909-912
estrategias, 804-808
inmunidad de grupo, 807-808, 903-904, 925-926
personal de laboratorio, 862-863
programas públicos inadecuados, 916-917, 918-919, 935-936
ruta de administración, 822-823
toxoide del tetano, 977-978
viajar a los países en vías de desarrollo, 913-914
Inmunodeficiencia, 802-803
Inmunoensayo enzimático (EIA), 872-873, 876-878, 895-896
combianción, 876-877, 877-878
directo, 876-877, 877-878
hepatitis, 949-950

indirecto, 876-877, 877-878
prueba HIV-EIA con anticuerpos, 877-878, 878-879, 956-957
sándwich de antígeno, 876-878
Inmunoensayos
enfermedad infecciosa, 872-874
enzimáticos (EIA), 872-873, 876-878, 895-896
rápida, 877-879
Inmunofluorescencia, 874-877
Inmunógeno, 803-804, 821-823, 837-838
Inmunoglobulina (Ig), 794-795, 798-799, 812-814, 830-837, 840-844
A (IgA), 798-799, 802-803, 830-831, 831-832, 833-834
A de secreción, 832-833, 833-834
α, 844-845
avidez, 831-832
β, 844-845
cadena ligera, 830-831, 847-848, 848-850
cadena pesada, 830-831, 847-848, 848-850
clases, 831-833
D (IgD), 830-831, 831-832, 832-833
de la rabia, 965-966
dominios variables, 847-848
E (IgE), 798-799, 830-831, 831-832, 832-833
estructura, 831-832
G (IgG), 798-799, 799-800, 802-803, 830-831, 833-834, 834-835
genética, 848-850
M (IgM), 798-799, 799-800, 830-831, 833-834, 834-835
maduración de la afinidad, 849-851
propiedades, 830-831
proteínas adaptadoras, 844-845
reagrupamiento del gen de la cadena kappa en las células B humanas, 832-833
regiones determinantes de complementaridad, 847-848
superfamilia de genes, 840-845, 857-858
valencia, 831-832
Inmunología, 22-23
Inmunotransferencia, 876-877, 878-879, 895-896, 956-957
HIV inmunotransferencia, 878-879, 956-957
Inóculo, 82
dilución, 613-615
enriquecimiento, 610, 613-615
Inosina, 135-136
Insecticida, 527-529, 705-706, 909-910, 1016-1017
Insecto. *Véase* Enfermedades bacterianas y víricas transmitidas por artrópodos
desinfestación, 182
Espiroplasma proporción sexual, 532-533
hábitas microbianos, 746-752
simbiontes heredados, 746-748, 750
termitas, 748, 750-752
infección por Wolbachia, 515-516
patógenos, 527-530
Insectos como vectores, 904-905, 1016-1017
Inserción, 311-312, 313-314, 386, 390. *Véase también* Microinserción
Insulina, 12-13, 140-141, 356-357, 357-358
por ingeniería genética, 355-356
Integración, bacteriófago lambda, 268-269
Integrasa, 220-221, 273, 298, 300
Integrasa de Lambda, 268-269
Interacciones célula T-célula B, 832-833
Interacciones
humanos-microorganismos, 763-789
beneficioso, 764
factores del hospedador en la infección y enfermedad, 783-788
microbiota fúngica de la piel, 763
patogénesis, 771-785
Interacciones microbianas, 6-7
Interactoma, 211-213, 223
Intercambio genético, 4-5, 24
origen del DNA vírico, hipótesis de, 282-284
Intercambio genético, procariotas, 307
Interfase, aceite y agua, 705-706
Interferencia diferencial de contrastre microscopio, 28, 31-32, 32-33
Interferón-gamma, 826-827, 855-856
Interferón, 355-356, 881-882, 886-887, 895-896
modificado genéticamente, 357-358
Interleucina (IL), 855-856
Interleucina-1 (IL-1), 800-801
Interleucina-10 (IL-10), 828-829
Interleucina-12 (IL-12), 855-856, 857
Interleucina-17 (IL-17), 827-828, 828-829
Interleucina-1β (IL-1β), 855-856, 857
Interleucina-2 (IL-2), 357-358, 826-827, 855-856
Interleucina-4 (IL-4), 827-828, 855-856
Interleucina-5 (IL-5), 827-828, 855-856
Interleucina-6 (IL-6), 800-801, 827-828, 828-829, 855-856, 857
International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology (IJSEM), 398-399
Interruptores de RNA, 248-250, 254-255
Intestino de mamífero, 736-738
Intestino delgado, 743-744, 767-769
enterotoxina, 777, 779, 779-781, 783-784
microbiota normal, 786-787
Intestino grueso, 742-743, 768-769, 769, 771
microbiota normal, 768-769
Intestino inferior, composición microbiana en termitas, 750-751
Intoxicación alimentaria, 778, 777, 779, 811-812, 944-945, 978-979, 983, 992-994, 994-997, 1004-1005
clostridios, 995-997
estafilococos, 992-994, 994-996
Intoxicación alimentaria por clostridios, 995-997
Intoxicación alimentaria. *Véase* alimentos envenedados
Intoxicación paralizante por marisco, 590-591
Intrón, 130, 131-132, 145-146, 197-198, 352-353, 354-355, 355-356
cloroplasto, 203-204
levadura, 206-207
Intrones en *Drosophila,* 206-207
Intubación gastrointestinal, 983
Invasión, 788-789
de cadena, 316-317
por patógeno, 771-773, 775-776
Invasividad, 771-773, 776-777
Invertasa, 92-93
Invertebrados, acuáticos, como hábitats microbianos, 752-759
invertido, 289-290, 290-291
Inyectosoma, 143, 778, 777, 779
Iodóforo, 184-185
Ioduro de propidio, 618-619
Ion ferroso, 447
Ion mangánico, 436-437, 447
Ion manganoso, 447
IPTG. *Véase* Isopropiltiogalactósido (IPTG)
IRAK4, 840-842
IRAK4 cinasa, 840-842
Iridovirus, 270-271, 283-284
Irradiación, 991-992
IS. *Véase* Secuencia de inserción
Islas cromosómicas, 220-221, 223, 628-629
Islas de patogenicidad, 220-221, 223, 777, 779
Islas genómicas. *Véase* Islas cromosómicas
Isochromatium buderi, 52-53
Isocitrato liasa, 98-100
Isocitrato, 99, 98-100
Isoenzima, 251-252
Isoleucina
código genético, 133-134
estructura, 132-133
fermentación, 431-432
síntesis, 102-103
Isómero, 14-15, 15-16, 131-132
aminoácidos, 131-132
Isómeros ópticos, 14-15, 15-16, 131-132
Isoniazida, 880-882, 881-882, 937-938
estructura, 937-938
Isopreno, 38-39, 38-39, 39-41
Isopropanol, 528-530
Isopropiltiogalactósido (IPTG), 229-230
Isorrenierateno, 409-410, 471-472
Isosphaera, 541, 543-544
Isosporiasis, 954-955
Isótopo estable, 632-633
mediciones de la actividad microbiana, 632-634
Itraconazol, 887-888
Ixodes scapularis, 970-971
Jamón, 995-996
Jarra de anaerobiosis, 178
Jettenia, 425
κ-Toxina, 778
Kaiko (sumergible), 670-671
Kanamicina, 380-381, 881-882, 884-885, 891-892
KDO. *Véase* Cetodeoxioctonato (KDO)
Kilobase, 114
Kilojulio, 84-85
Klebsiella, 105, 427-428, 482-483, 518-519, 519-520, 520-521,
Klebsiella pneumoniae, 244-245, 246, 337-338
Koch, Robert, 13-15, 14-15, 15-16, 16-21, 534-535,
Korarchaeota, 378-380, 380-381, 462, 554, 567-569, 580-581
Korarchaeum cryptofilum, 567-569
KpnI, 337-338
Kuenenia, 425
Kuru, 301-302
l-Alanina, 44-45, 45-46
L-Aminoácido, 131-132
λ-Toxina, 778
La meteorización, 653-654, 654-655, 655-656
Laboratorio clínico, seguridad, 862-865
Laboratorio de seguridad tipo-1, 862-865
Laboratorio de seguridad tipo-2, 862-865
Laboratorio de seguridad tipo-3, 862-865
Laboratorio de seguridad tipo-4, 862-865, 967-968
Lac permeasa, 42-43
Lachnospira multiparus, 739-740, 741
Lachnospira, 743-744
Lachnospiraceae, 739-740, 743-744, 750-751
lacI gen, 351-352, 355-356
Lactato, 741, 742-743
donador de electrones, 438-439, 449
fermentación, 427-428, 432-433, 533-534
deshidrogenasa, 91-92, 214-216
producto de fermentación, 91-92, 427-428, 428-429, 428-430, 431-432, 519-520, 523-524
oxidaciòn, 630-631
Lactobacillaceae, 739-740, 743-744
Lactobacillales, 523-527, 526-527, 750-751
Lactobacillus, 79-80, 214-216, 427-428, 524-527, 612,
Lactobacillus acidophilus, 524-525, 771-772,
Lactobacillus brevis, 182, 524-525
Lactobacillus delbrueckii, 524-525
Lactococcus, 524-525, 990-991, 991-992
Lactococcus lactis, 526-527
Lactoferrina, 775-776
Lactoperoxidasa, 766-767
Lactosa, 997-998
entrada, 42-43
fermentación, 91-93
LacZ, 233-234
Lago, 660-663
Lago alcalino, 555-556, 556-557
Lago consorcio en aguas dulces, 725-727
Lago contenido en oxígeno, 660-662
Lago diversidad procariótica en aguas dulces, 661-663
Lago estratificación, 660-662
Lago eutrófico (rico en nutrientes), 661-662
Lago eutrófico (rico en nutrientes), 661-662
Lago hipersalino, 555-557
Lago recambio, 660-661, 661-662
Lago Salado, 174-175, 555-557
Lago salino, 467-469
Lagos meromícticos, 469-470
Lamelas, 407-408
membranas fotosintéticas, 405, 407
Lámina β, 140-141, 168-169
Laminillas, setas, 603-604
Lámpara germicida de luz ultravioleta, 180-181
Lamprocystis roseopersicina, 467-469
Lavarse las manos, 862-863
Lazo anticodón, 135-136
lazo de retroalimentación, 235-236
LD_{50}, 771-773
Leche
estropeado, 157-158
pasteurización, 180-181, 906-908, 908-909, 937-938
productos lácteos fermentados, 991-992
Lecho de capilares, 792-793
Lecho de roca, 653-654, 654-655
Lecitinasa, 778, 777, 779, 779-781
Lectina, 728-729, 840, 842
Leeuwenhoek, Antoni van, 13-15, 14-15
Leghemoglobina, 727-728, 728-729, 761-762
Legionella, 518-519, 715-716, 984-985
Legionella pneumophila, 715-716, 874-875, 876-877, 984-985, 987-989
Legionellales, 518-519
Legionelosis (enfermedad de los legionarios), 651-652, 715-716, 874-875, 884-885, 911-912, 984-985, 987-989
diagnosis y tratamiento, 988-989
epidemiología, 988-989
patogénesis, 715-716, 988-989
Legumbre, 9-11, 105, 727-728, 739-740, 741
nódulos de raíz, 727-733, 735-736
nódulo de tallo, 730-732
Leishmania, 588-589, 1012-1013, 1016-1017
Leishmania donovanii, 1017-1018

Leishmania mexicana, 1016-1017
Leishmania tropica, 1016-1017
Leishmaniasis cutánea, 1016-1017
Leishmaniasis, 588-589, 1012-1013, 1016-1018, 1020-1021
  cutáneo, 1016-1017
  visceral, 1017-1018
Leismaniasis visceral, 1017-1018
Lentes oculares, 28, 29
Lentisphaerae, 378-380, 462
Lepra lepromatosa, 937-938
Lepra tuberculoide, 937-938
Lepra, 810-811, 872-873, 911-912, 912-913, 935-936, 937-939
Leptonema, 496-497, 498-499
Leptospira, 496-497, 498-499, 984-985
Leptospira biflexa, 498-499
Leptospira interrogans, 182-183, 498-499
Leptospirillum ferrooxidans, 420-421, 562-563, 689-690, 701-702, 702-703
Leptospirillum, 486-487, 547-548
Leptospirosis, 496-497, 498-499
Leptothrix discophora, 421-422
Leptothrix, 487-488, 502-503, 516-517, 691-692
Leptothrix ochracea, 691-692
Leucaena leucocephala, 741
Leucina
  código genético, 133-134
  estructura, 132-133
  fermentacion, 431-432
  síntesis, 102-103
Leucocidina, 778, 779-781, 819-821, 944-945, 945-946
Leucocitos polimorfonucleares (PMN). *Véase* neutrófilos.
Leuconostoc, 79-80, 427-428, 524-525, 526-527, 990-991, 991-992
Leuconostoc mesenteroides, 80-81, 81-82, 523-524,
Levadura, 10-13, 427-428, 595, 597, 598-599, 599-600, 601-603, 607-608
  [URE3] prión, 302
  autoinductora, 238-239
  ciclo de vida, 601-602, 602-603
  complemento génico mínimo, 206-207
  común de panadería, 599-600, 601-602
  de cervecería, 599-600, 601-602
  de la cerveza, 599-600, 601-602
  del pan, 991-992
  de panadería, 599-600, 601-602
  fermentación, 91-92, 92-93, 93-94
  genoma, 206, 206-207
  Hospedador de clonación, 349-350
  intrones, 206-207
  mitocondria, 203-204
  patogénica, 1008
  solutos compatibles, 175-176
  tipo de *ap*areamiento, 601-603
  vec*t*ores de clonación, 350-351
Librería metagenómica (genoteca), 362-363
Licencia, 826-827
Licopeno, 409-410
Ligadores, 341-342
Ligando CD40L, 854-855, 855-856
Lignina
  catabolismo, 488-489
  degradación, 536-537, 595, 597, 684-685, 742-743
Lignocelulosa, 748, 750-751
Limitación extrema de energía, 643
Límite energético, extremo, 643
Limulus polyphemus, 783-785
Lincomicina, 881-882
Línea celular, animal, 262-263
Linfa, 785-786, 792-793, 812-814
  circulación, 792-793, 794-795
Linfocina, 855-856
Linfocitos CD4, 787-788, 824-825, 824-826, 954-955, 955-956, 957-958
Linfocitos T citotóxicos (CTLs). *Véase* Células T citotóxicas
Linfocitos T
  inmunidad y, 824-829
  subconjuntos, 796-798
Linfocitos, 792-793, 793-795, 795-796, 796-798, 814-815, 818
  antígeno reactivo, señal de transducción, 842-845
  reordenamiento génico, 848-850, 849-850
Linfogranuloma venéreo, 949-950, 952-842
Linfoma de Burkitt, , 290-291
Linfoma de Burkitt, 290-291
Linfoticos reactivos a antígeno, transducción de señal en, 842-845
Linnaeus, Carl, 397-398
Lipasa, 363, 776-777, 818, 945-946
Lípido A, 46-48, 48-49, 783-784
Lípido tetraéter, 562-563
Lípidos de dibifitanil tetraéter, 578-579
Lípidos escalera, 425
Lípidos
  Archaea, 38-39
  biosíntesis, 881-882
  esfingolípidos, 538-539
  hipertermófilo, 578-579
  lípidos escalera, 425
  síntesis, 105
  Thermomicrobium, 473-474
  unión éter, 38-39, 39-41, 544-545, 564-565
Lipoglicano, 46-47, 529-531, 531-532, 562-563
Lipopolisacárido (LPS), 46-47, 48-49, 74-75, 263-264, 795-796, 800-801, 819-820, 840-841, 840, 842, 840-842, 947
  endotoxina, 783-784
  química, 46-48
Lipoproteína, membrana externa, 48-49
Liquen, 467-469, 598-599, 604-605, 606-607, 724-725, 756-757, 761-762
Lisina, 557-558, 744-745
  código genético, 133-134
  estructura, 132-133
  peptidoglicano, 44-45, 45-46
  síntesis, 102-103
Lisis, 45-46, 49-50, 183-184, 260-261, 261-262, 262-263, 266-267, 268-270, 271-273, 834-835, 835-836, 902-903
  autolisis, 154, 155-156
  bacteriófago ϕX174 bacteriophage, 72-73
  fase de muerte, 158-159
Lisogenia, 267-270, 271-273, 274, 276-277, 321-323
Lisogenización, bacteriófago lambda, 321-322
Lisógeno, 267-270, 276-277
Lisosoma, 45-46, 66-67, 70-72, 74-75, 85-86, 260-261, 264-265, 296-297, 357-358, 766-767, 785-786, 786-787, 818, 824-825, 824-826, 831-832
  T4, 264-265, 266-267
Listas, 590-591
Lister, Robert, 16-18
Listeria, 524-525, 526-527, 990-991
  cepa que mata «células tumorales», 335
Listeria monocytogenes, 335, 526-527, 826-827, 991-992, 992-994, 999-1002
Listeriolisina O, 999-1000, 1001-1002
Listeriosis, 335, 526-527, 911-912, 999-1002, 1004-1005
  diagnosis, tratamiento, y prevención, 1001-1002
  epidemiología, 999-1000
  patología, 999-1002
Lixiviación microbiana, 700-703, 703-704, 720-721
  cobre, 700-701, 701-702
  oro, 701-702, 702-703
  uranio, 701-702
lixiviación, microbiana, 700-703, 703-704, 720-721
Locus MAT, 601-603
Longitud de onda, flagelos, 58-59
LPS-unión a proteína (LBP), 840-842
LPS. *Véase* Lipopolisacárido (LPS)
LTR. *Véase* Extremos repetidos largos
Luciferasa, 195-196, 196-197, 238-239, 239-240
  bacteriana, 504-505
Lucinidos, algas marinas y, 723
Lupus eritematoso sistémico, 808-810, 810-811
Luteolina, 730-731
luxABFE genes, 394-395
luxCDABE genes, 504-505
Luz, fuente de energía, 5-6
Lyngbya, 464-465
Lyngbya majuscula, 36-37
Lyngbya sp. PCC81068, 465-466
Lysobacter, 492-494, 518-519
Macrocisto, 595-596
Macroconidio, 956-957
Macrocystis, 591-592, 593-594
Macrófagos, 785-786, 793-794, 795-796, 796-797, 799-800, 800-801, 814-815, 818-820
  activación, 826-828, 855-857
  CD4, 954-955, 955-956, 957-958
  citicinas proinflamatorias, 857
  quimicinas porducidas por, 855-856, 857
Macrólidos, 537-538, 884-885
Macromolécula, 3-4, 24, 840-841
  de información, 112-113, 114, 145-146
  hipertermófilos, 577-578
  inmunógenos, 821-823
Macromoléculas de fosfocolina, 840-841
Macromoléculas de la información, 112-113, 114, 145-146
Macronúcleo, 589-590
Macronutriente, 78, 79-80
Maduración de afinidad, inmunoglobulina, 849-851
Maduración de proteína, fago MS2, 291-292, 293-294
Magnesio, 79-80
Magnetobacterium bavaricum, 36-37
Magnetosoma, 52-54, 74-75, 220-221, 502-504
Magnetospirillum, 220-221, 513, 514-515, 516-517
Magnetospirillum magnetotacticum, 53-54, 503-504
Magnetotaxis, 53-54, 502-503
Makinoella, 407-408
Malaria, 206, 590-591, 591-592, 786-787, 876-877, 901-902, 902-904, 905-906, 909-910, 911-912, 913-914, 1012-1013, 1015-1017, 1020-1021
  diagnóstico, tratamiento, y control, 1016-1017
  epidemiología, 1016-1017
Malassezia, 763, 765-766, 766-767
Malatión, 706-707
Malato, 99, 98-100, 438-439, 452-453
  bioquímica y fijación de nitrógeno, 730-731
  metabolismo, 98-100
  sintasa, 98-100
MALDI-TOF, 212-213, 213-214
malE gen, 355-356
Malil CoA, 452-453
Mallon, Mary, 908-909, 989-990
Malonato, 103-105, 432-433
Malonil-ACP, 103-104, 105
Malonomonas, 432-433, 433-434
MALT. *Véase* Tejido linfoide asociado a mucosa
Mamíferos como hábitats microbianos, 736-747
Mamíferos monogástricos, 736-737
Manganeso, 79-80
  función celular, 79-80
  oxidación, 688-689, 691-692
  reducción, 436-437, 485-486, 688-690
Manipulación de alimentos, 908-909, 997-998, 998-999
Manitol, 175-176
Manual de Bergey, 398-399
Mapa genético
  bacteriano, 117
  bacteriófago MS2, 293-294
  conjugación, 322-323
  cromosoma artificial bacteriano, 352-354
  Escher*ichia coli,* 117
  genoma del cloroplasto, 203
  MHC, 845-846
  mitocondria, 203-204
  plásmido F, 322-323
  plásmido R100, 118
  plásmido R100 de resistencia, 118
  retrovirus, 273
  vector de expresión pSE420, 351-352
  vector lanzadera utilizado en levaduras, 350-351
Mapa. *Véase* Mapa genético
Mar abierto, 662-670
  Thaumarchaeota, 564-567
Mar de los Sargazos, 627-629
Mar Muerto, 556-557
MAR-FISH, 635-637, 639-640
Marcador de viabilidad LIVE/DEAD, 240-241
Marcador seleccionable, 318, 346-347, 350-351, 352-354
Marcaje celular, proteína de fluorescencia verde como, 618-844
Marco 0, 134-135, 311-312
Marco de lectura abierto (ORF), 117, 128-129, 134-135, 145-146, 197-199, 199-200, 223
  no caracterizado, 198-199
  tamaño del genoma y, 199-200
Marco de lectura abierto sin caracterizar, 198-199
Marco de lectura, 134-135, 137-139
  abierto, 117, 128-129, 134-135, 145-146, 197-199, 199-200, 223
  cambio en, 311-312
  no caracterizado, 198-199
Mareas rojas, 590-591
Marga, 653-654
María la Tifoidea, 908-909, 989-990
Marinobacter, 487-488
Mariprofundus ferrooxydans, 521-522
Mariprofundus, 487-488, 513
Marisma, 653-654
Marshall, Barry, 947
Masa celular (hongos mucosos), 595-596
Máscaras, 908-909
Mastitis, 932-933
Materia orgánica
  alóctonos, 645-646
  hábitat acuático, 660-662
  marino, 687-688
Matriz espacial, 405, 407

Matriz, mitocondrial, 68-70
Máxima probabilidad, 383-384
MCP. *Véase* Proteína de quimiotaxis aceptadora de metilo
Mecanismo casete, tipo de acoplamiento mediante, levadura, 602-603
Mecanismos de unión del DNA, 849-850
Medida de la actividad microbiana, 630-638
  control de las células muertas, 630-631
  ensayo químico, radioisótopos y microsensores, 630-632, 632-633
  métodos de isótopos estables, 632-634
Medidas de la turbidez, 163-165
  curva estándar, 164-165
  ventajas y desventajas, 164-165
Medio de cultivo, 80-82, 109
  complejo, 80-81, 109
  de crecimiento, 866-868
  de enriquecimiento, 80-81, 867-868, 895-896
  definido, 80-81, 81-82
  definido, 80-81, 81-82, 109
  de Leffler, 935-936
  diferencial, 80-82, 867-868, 868-869, 869-872, 895-896
  diferencial, 80-82, 869-872
  enriquecido, 80-81
  esterilización, 81-82
  selectivo, 80-81, 867-868, 868-869, 869-872, 897
  sólido, 17-18, 20, 20-21
    líquido vs., 81-82
  tampones, 173-174
  tejido, 262-263
  test *p*ara una droga antimicrobiana susceptibilidad, 870-872, 871-872
  tipos, 866-870
  Véase Medio de cultivo
Medios de uso general, 866-867, 867-868, 895-896
Medios selectivos, 80-81, 867-868, 868-869, 869-872, 897
Médula ósea, 792-793, 793-794, 794-795, 812-814, 832-833
Megasphaera, 739-740
Megasphaera elsdenii, 741
Megavirus, 280
Meiosis, 67-70, 74-75
Mejillón, 753-754, 754-755, 755-756
  simbiontes metanotrofos, 490-492
Mejorada, 711-713
Melioidosis, 917-918
Membrana celular. *Véase* membrana citoplasmática
Membrana citoplasmática, 3-4, 23-24, 37-42, 46-47, 47-48, 74-75
  acidófilo, 172-173
  Archaea, 38-39
  composición química, 37-38
  daño por el complemento, 834-835
  esteroles y hopanoides, 37-38
  estructura, 37-39, 38-39, 881-882
  fluidez, 37-38, 167
  función, 38-42
  micoplasma, 529-531
  permeabilidad, 38-39, 40-42
  piezofílico, 670-671
  proteínas, 37-39
  psicrófilo, 170
  rigidez, 37-38
  selectivo, 37-38
  transporte a su través, 39-42
Membrana externa, 42-44, 46-48, 48-49, 74-75
  bacteria gramnegativa, 46-48, 48-49
  cloroplasto, 68-70
  Ignicoccus, 573-574
  mitocondria, 68-70
  piezofílico, 670-671
Membrana fotosintética, 405, 407, 406, 409-410, 410-411, 411-412
  cianobacterias, 465-467
Membrana interna
  cloroplasto, 68-70
  mitocondria, 68-70
Membrana mucosa, 764, 785-786, 786-787, 788-789
  microbiota de las mucosas, 769, 771-773
Membrana no unitaria, 51-52, 53-54
Membrana nuclear, 66-67
Membrana periodontal, 766-767
Membrana roja, 557-558
Membrana unitaria, 37-38
Membrana, célula. *Véase* Membrana citoplasmática
Memoria, 796-797, 798-799, 802-803, 803-804, 804-806, 806-807, 814-815, 821-822, 923-924
  inmunitaria, 796-797, 798-799, 802-803, 803-804, 804-806, 806-807, 814-815, 821-822, 833-834, 923-924
  producción de anticuerpos y, 833-834
Meninges, 938-939
Meningitis, 517-518, 526-527, 540, 864-865, 901-902, 911-912, 914-915, 938-939, 944-945, 961-962
  diagnóstico, 938-939
  infecciosa, 938-939
  infección fúngica, 1007
  meningocócica, 938-939
  patógeno y síndromes, 938-939
  prevención y tratamiento, 938-939
Meningococemia, 938-939, 961-962
Meningococo. *Véase Neisseria meningitidis*
Meningoencefalitis, 1012-1013, 1020-1021
Menopausia, 771-772
Mensajero secundario, 649-650
Mercurio elemental, 694-695
Mercurio, 694-695
  transformaciones, 694-696
Mercuro reductasa, 694-695
Merismopedia, 464-465
Merodiploides, 318
Merozoito, 1015-1017
MERS-CoV, 899, 906-907
MERS-CoV, 899, 906-907
  factores de riesgo, 862-865
  prevención, 865-866
MERS, 914-915
merTPCAD, 694-695
Mesófilo, 167, 168-169, 188-189
Mesoplasma, 531-532
Mesorhizobium, 482-483, 513, 514-515, 727-728
Mesorhizobium loti, 482-483, 728-729
Metabolismo aerobio de hidrocarbonos, 450-452
Metabolismo anóxico de hidrocarburos, 453-455
Metabolismo asimilativo, 436-437
  reduccion del sulfato, 438-439, 439-440
Metabolismo complementario, 647-648
Metabolismo de compuestos de un carbono, 489-491
Metabolismo de hidrocarburos, 450-455
  aeróbicos, 450-452
  anóxica, 453-455
  metanotrofía aeróbica, 451-453
Metabolismo del hexano, 453-454
Metabolismo desasimilativo del azufre, 475-481
Metabolismo desasimilativo, 436-437
  reducción de nitrato, 437-439
  reducción de sulfato, 438-439, 439-440
Metabolismo energético
  Crenarchaeota, 568-569, 571
  límite superior de temperatura, 578-579
Metabolito, 363
Metabolito secundario, 212-213
Metaboloma, 212-213, 223
Metabolómica, 22-23, 212-213
Metaclorobenzoato, 449
Metagenoma, 208, 213-214, 223, 362, 628-629
  vírico, 274
Metagenómica del tracto intestinal humano (MetaHIT), 742-743
Metagenómicas, 210-211, 213-216, 223, 363, 403, 617-618, 627-629, 639-640, 667-668
  análisis de las secuencias de RNA, 210-211
  ejemplos de estudio, 213-214
  enfoque de la diversidad viral, 279
  ensamblaje de genomas completos, 609
  estudios del «bioma» y, 214-216
Metales traza, 79-80
Metallosphaera, 416-417, 570-572, 571, 573
Metanetiol, 687-688
Metano, 12-13
  ciclo del carbono, 681-682, 682-683
  composición isotópica del carbono, 633-634
  gas invernadero, 553, 681-682
  monooxigenasa, 451-452, 452-453, 489-491, 490-492
  oxidación, 451-452, 488-489
    anaerobia, 461
    anóxica, 453-455
    genes utilizados para evaluar, 621-622tecnología NanoSIMS para realizar un seguimiento, 634-635
  producción, 621-622
    en el rumen, 738-739, 741
  producto de la fermentación, 434-435
Metanococoides, 559-561
Metanocondroitina, 558-559
Metanofenazina, 447
Metanofurano, 443-445
Metanogénesis, 434-435, 435-436, 442, 443-447, 457-458, 553, 554, 558-559, 682-683, 684-685, 687-688
  a partir de compuestos metil y acetato, 445-446
  autotrófico, 446
  coenzimas, 443-445
  coenzimas redox, 443-444, 445
  conservación de la energía, 446-447
  energéticas, 443-445, 446-447
  reducción del dióxido de carbono a metano, 443-444 445
  sustratos, 559-561, 560-562
  transportadores de C1, 443-445
Metanógeno, 12-13, 48-50, 68-70, 440-442, 443-444, 445, 457-458, 554-556, 580-581, 716-717
  acetotrófico, 442, 559-561, 561-562
  Archaea, 558-562
  autotrófico, 446
  características, 559-561
  ciclo del carbono, 681-682, 682-683
  coenzimas, 443-445
  cultivo de enriquecimiento, 612
  dióxido de carbono-tipos de sustrato, 559-561, 560-561
  endosimbiótico, 589-590
  hábitats, 558-559, 559-561
  intestinal, 768-769, 769, 771
  metano a partir de compuestos metil y acetato, 445-446
  reducción de dióxido de carbono a metano, 443-444, 445
Metanol, 451-452, 488-489, 489-491, 499-500, 559-561, 560-562
  conversión a metano, 445-446
Metanopterina, 444, 445
Metanosulfonato, 687-688
Metanotrofia aeróbica, 451-453
Metanotrofo, 451-452, 453-455, 457-458, 488-489, 489-492, 508-509, 634-635, 754-755, 755-756
  aerobio, 489-491
  aislamiento, 490-492
  características, 489-491
  ciclo de la ribulosa monofosfato, 489-491
  ciclo del carbono, 681-682
  clasificación, 489-491
  ecología, 489-492
  membranas internas, 489-491
  oxidación del metano, 489-491
  reacciones aeróbicas y bioenergética, 451-452
  simbiontes de animales, 490-492
  vía de la serine, 489-491
Metanotrofos aerobios, 489-491
Metaproteómica, 629-631, 639-640
Metatranscriptómica, 629-630, 639-640
Methanimicrococcus, 559-561
Methanobacterium, 49-50, 554, 558-559, 559-561, 684-685, 685-686
Methanobacterium formicicum, 176-177, 445
Methanobrevibacter, 559-561, 684-685, 739-740, 765-766, 768-769
Methanobrevibacter arboriphilus, 558-559
Methanobrevibacter ruminantium, 558-559, 560-561, 741
Methanobrevibacter smithii, 744-745, 768-769
Methanocaldococcus, 105, 554, 558-559, 559-561, 570-572
Methanocaldococcus jannaschii, 49-50, 193, 199-200, 560-561, 561-562
Methanococcus, 105, 326-327, 559-561
Methanococcus maripaludis, 60-61, 234-235
Methanocorpusculum, 559-561
Methanoculleus, 559-561
Methanoflorens stordalenmirensis, 553
Methanoflorentaceae, 553
Methanofollis, 559-561
Methanogenium, 559-561
Methanohalobium, 559-561
Methanohalophilus, 559-561
Methanolacinia, 559-561
Methanolobus, 559-561
Methanomicrobium mobile, 741
Methanomicrobium, 559-561
Methanoplanus, 558-559, 559-561, 739-740
Methanopyrus, 170, 554-556, 559-561, 562-563, 564-565, 570-572, 572-573, 573-574, 575-576, 577-578, 675-676
Methanopyrus kandleri, 564-565, 575-576, 578-579
Methanosaeta, 442, 559-561
Methanosaeta thermophila, 560-561
Methanosalsum, 559-561
Methanosarcina, 49-50, 105, 326-327, 442, 447, 482-483, 554, 558-559, 559-561, 675-676
Methanosarcina acetivorans, 193, 482-483
Methanosarcina barkeri, 106, 445, 558-559, 560-561, 612

Methanosphaera, 559-561, 739-740
Methanospirillum, 554, 558-559, 559-561
Methanospirillum hungatii, 558-559
Methanothermobacter thermoautotrophicus, 320-321
Methanothermobacter, 559-561
Methanothermococcus, 559-561
Methanothermus, 559-561, 570-572
Methanothermus fervidus, 560-561, 577-578, 578-579
Methanotorris igneus, 560-561
Methanotorris, 559-561
Methylacidiphilum, 489-491, 490-492, 543-544
Methylobacter, 489-491, 513, 612
Methylobacterium, 513, 516-517, 727-728
Methylocella, 489-491
Methylococcale, 518-519
Methylococcus, 489-491, 518-519
Methylococcus capsulatus, 451-452, 490-492
Methylocystis, 489-491, 513
Methylomicrobium, 489-491, 612
Methylomirabilis oxyfera, 455, 461, 490-492
Methylomonas, 105, 489-491, 518-519
Methylophilales, 516-517, 517-518
Methylophilis, 513, 516-517, 517-518
Methylosinus, 489-491, 490-492, 499-500, 513
Meticilina, 883-884
Metil catecol 2,3-dioxigenasa, 451-452
Metil reductasa, 447
Metilación, 694-695
  DNA, 264-265, 337-338
Metilamina, 489-491, 499-500, 559-561
Metilasas, 889-891
Metileno tetrahidrofolato, 452-453
Metilfosfonato, degradación, 691-692
Metilguanosina, 135-136
Metilinosina, 135-136
Metilmalonil-CoA, 416-417, 432-433
Metilmercaptano, 431-432, 529-531, 559-561
Metilmercurio, 694-695
Metilotrofo, 451-453, 457-458, 488-491, 508-509
  aerobio facultativo, 488-489
  facultativo pigmentado de rosa, 514-515
  prueba con isótopos estables, 636-637
  sustratos, 488-489
Metilotrofos aerobios facultativos, 488-491
Metilotrofos facultativos pigmentados de rosa, 514-515
Metilprednisolona, 1007
Metionina
  código genético, 133-134
  estructura, 132-133
  síntesis, 102-103
Método de agrupamiento de pares con la media aritmética no ponderada (UPGM), 383-384
Método de captura de DNA, 19
Método de difusión utilizados en los ensayos de susceptibilidad a los agentes atimicrobianos, 183-184, 184-185
Método de dilución del agar en tubo, aislamiento de, cultivo puro (axénico), 614-615
Método de isótopos, medida de la actividad microbiana, 630-631, 632-634
Método de secuenciación masiva del DNA paralelas, 194-195, 195-196
Método de secuenciación por torrente iónico, 194-195, 196-197
Método del tubo giratorio, 614-615
Método E-test, 871-872
Métodos de diagnóstico, 861-897. *Véase también* Antibiótico; drogas antimicrobianas
  ambiente clínico, 862-866
  de dilución, 613-615, 669-670
  de dilución utilizados en los ensayos de susceptibilidad a los agentes antimicrobianos, 183-185
  de fangos activados, 710, 711-712
  dependiente de crecimiento, 869-872
  de secuenciación Illumina/solexa, 194-195, 195-196
  de tinción celular, 617-620
  EIA, 876-878
  ensayos de aglutinación, 872-873, 873-874, 956-957
  especificidad y sensibilidad, 865-867, 872-873
  identificación de patógenos, 865-872
  independiente de crecimiento, 871-880
  inmunotransferencia, 878-879
  isotópicos, relación entre genes específicos y funciones a organismos determinados, 633-638
  radioisotópicos, 630-631
    MAR-FISH, 635-637, 639-640
  test con anticuerpos fluorescentes, 874-877
  test rápidos, 876-877, 877-879
  test susceptibilidad a los antimicrobianos, prueba, 870-872
Metro de Nueva york, microbiota del aire, 699
Metronidazol, 947, 949-950, 1013-1014
Mevinolina, 326-327
Micavibrio, 492-494, 513
Micelio, 534-535, 535-536, 595, 597-599, 599-600, 603-604, 1008
Micobacterias
  características, 533-535
  crecimiento lento, 533-535
  crecimiento rápido, 533-534
  morfología colonial, 534-535
  pigmentación, 534-535
  tinción de Gram, 533-534
  ácido alcohol resistencia, 533-534
Micobioma, 214-216
Miconazol nitrato, 1010-1011
Miconazol, 887-888
Micoplasmas, 529-533
  crecimiento, 531-532
  genomas, 199-201
  propiedades, 529-532
Micosis, 598-599, 1010-1011, 1020-1021
Micosis sistémica, 1009, 1010-1011, 1011, 1020-1021
Micosis subcutánea, 1009, 1010-1011, 1020-1021
Micosis superficial, 1009, 1010-1011, 1020-1021
Micotoxina, 1009
Micrasterias, 605-606
Microaerófilo, 175-176, 176-177, 188-189, 482-483
Microambiente, 646-648, 677-678, 765-766
Microautorradiografía-FISH (MARFISH), 635-637, 639-640
Microautorradiografía, 635-637, 640
Microbiología
  acuática, 22-23
  agricultura, 22-23
  agua de bebida, 22-23
  aplicada, 2, 22-23
  básica, 2, 22-23
  Ciencia de, 2
  clínica, 862-863
  definición, 2
  de las profundidades marinas, 669-674
  de la subsuperficie *profu*nda, 657-659
  de los aerosoles, 699
  del suelo, 22-23
  historia, 13-23
  humano, 214-216, 742-747, 764
  industrial, 12-13, 22-23. Véase también Biotecnología
  molecular, era de, 22-23
  médica (clínica), 17-18, 20, 22-23
  salud pública. Véase Epidemiológica
  siglo veinte, 22-23
  suelo, 22-23
Microbiota del aire en espacios interiores, 699
Microbiota normal, 764-773, 788-789
  cavidad oral, 764, 765-766, 766-768
  colonización, 764
  tracto grastrointestinal, 767-769, 771
  tracto respiratorio, 765-766, 771-772
  tracto urogenital, 765-766, 771-773
Microcerotermes, 750-751
Microcisto, 540
Microcoleus, 464-465, 655-656
Micrococcus luteus, 176-177, 618-619
Micrococcus, 524-525, 765-766, 990-991, 991-992
Microcoleus chthonoplastes, 465-466, 651-652
Microcolonia, 648-649, 654-655
Microcystis, 54-55, 644-645
Microdeleción, 311-312
Microfilamentos, 66-67, 70-71, 71-72, 74-75, 154
Microfilaria, 1018-1019
Microfósil, 371-372, 373-374, 374-375
Micrografía electrónica, 3-4, 32-33, 34-35
Micrografías, 3-4, 32-33, 34-35
Microinserción, 311-312
Microinyección, 349-350
Micromanipulador, 631-632
Micromatrices génicas funcionales, 625-626, 626-627
Micromatrices y chips de DNA, 208-210, 625-627
Micromonas, 665-666
Micronúcleos, 589-590
Micronutriente, 78, 79-80
Microorganismos oxidadores de hidrocarburos, 705-706
Microorganismos oxidadores de petróleo, 703-705, 705-706
Microorganismos, 2, 24, 644-645
  agentes de enfermedad, 8-11
  agricultura, 9-12
  beneficios, 9-11, 10-13
  distribución, 8-9, 9-11
  en la naturaleza, 7-9, 644-647, 647-648
  evolución y diversidad, 5-7
  impacto en las actividades humanas, 8-13
  importancia, 2
  industria alimetaria, 10-12
  necesidades energéticas para la sociedad, 12-13
  Tierra primigenia, 371-372
Microrrizas arbusculares, 734-736
Microscopía confocal láser de barrido, 31-33, 648-649
Microscopio
  aumento, 28, 29
  campo claro, 28, 29, 31-32
  campo oscuro, 28, 30-31, 31-32
  contraste de fases, 28, 30-31, 31-32, 619-620
  de contr*aste de* fases, 28, 30-31, 31-32, 619-620
  de fluorescencia, 28, 30-32,
  de *H*ooke, 13-15
  de Leeuwenhoek, 13-15, 14-15
  electron. Véase Microscopio fluorescenci, 28, 30-32
  electrónico, 28, 32-33, 32-35
    barrido, 34-35, 182-183, 657-658
    transmisión, 32-35
  electrónico de barrido (SEM), 34-35, 182-183, 657-658
  electrónico de transmisión (TEM), 32-35
  historia, 13-15
  imagen tridimensional, 31-33
  limitationes, 619-620
  mejorando el contraste en, 29-32
  microscopio confocal de barrido láser (CSLM), 31-33, 648-649
  microscopio de contraste diferencial (DIC), 31-32, 32-33
  resolución, 28, 29
  óptico, 28-32
  óptico, 28-32
    óptico compuesto, 28-29
  tinción, 29-31
Microsensor de oxígeno, 631-632
Microsensor, 631-632, 640, 646-647, 647-648, 652-653
  medida de la actividad microbiana, 631-632, 632-633
Microsporidia, 586, 600-602
Microsporum, 1009
Microtúbulo, 66-67, 71-72, 74-75, 154, 887-888
Midad de la reacción, 86-88
Mimivirus, 260-261, 283-284
Mimosina, 741
Minas de carbón, 702-704
Minas de cobre, lixiviado microbiano, 700-701, 701-702
MinC, 151
MinD, 151
MinE, 151
Minerales de carbonato, 556-557
Minería con microorganismos, 700-703
Minería de genes ambientales, 362-363
Mionecrosis, 864-865
Miracidia, 1017-1018
Mitocondria, 3-4, 66-67, 74-75, 375-376
  código genético, 134-135
  DNA, 117, 584-585
  efectos de los antibióticos, 584-585
  estructura, 68-70
  evolución, 375-377, 378-380
  filogenia, 584-585
  mapa genético, 203-204
  preoteínas, 203-204
  ribosomas, 69-70, 584-585
Mitomicina, 313-314
Mitosis, 67-68, 74-75
Mitosomas, 587-588
Mixobacterias, 199-200, 200-202, 492-494
  ciclo celular, 493-496
Mixoma vírico, 902-903
Mixospora, 493-495, 494-496
Mixotrofo, 417-418, 457-458, 478-479, 479-480, 508-509
Moco, 753-754, 764, 785-786, 786-787, 788-789
Modelo «turbina de protones», 59-60, 60-61
Modelo de corrosión de metal por captación directa de electrones, 716-717
Modificación covalente, enzima, 252-253
Modificación de vías por ingeniería , 363-364, 367-368
Modificación postraduccional, 226-227, 349-350
Modificaciones químicas, 313-314

Módulo de señalización, 364
Moho, 595, 597, 1008-1009
Moho del pan, 600-601
Mohos acuáticos, 591-592
Moldes, replicación, 119-124
Molecular en la clonación, inmunogenicidad, 822-823
Molibdeno, 79-80, 105, 106, 438-439, 483-484, 701-702
Mollicutes, 529-533
Mollusca, 756-757, 757-758
Molusco, protuberancia cristalina, 496-497
Mónera, 377-378, 377, 379
Monobactamo, 881-882
Monocapa de lípido, 38-39, 39-41, 172-173
Monocapa, lípidos, 578-579
Monocitos, 793-794, 817, 818, 819-820
Monómero, 78
Mononucleosis infecciosa, 290-291
Monooxigenasa, 450, 451-452
Monóxido de carbono, 559-561, 560-561
  oxidación, 488-489
  deshidrogenasa, 79-80, 442-444, 446, 488-489
Montastraea faveolata, 759
Monurón, 706-707
Moorella thermoacetica, 442, 528-530
Moraxella, 51-52, 767-768
Morbididad, 901-902, 925-926
Morfología, 34-36, 74-75
Morfología celular, determinantes de, 153-154
  diversidad genética y, 619-620
Moritella, 669-671
Mortalidad, 901-902, 925-926
  sida, 920-921
Mosca Tsetse, 588-589, 748, 750, 1017-1018
Mosquito, 915-916, 1015-1017, 1018-1019
  vector, 902-903, 903-904, 904-905, 914-916, 971-974
Mostaza de nitrógeno, 313-314
Motilidad, 4-5, 24
  características celulares, 4-5
  espiroquetas, 496-497, 496-498
  procariotas, 58-66
Motivo hélice-giro hélice, 227-228
Motivo, 846-847, 850-851, 858-859
Motor flagelar, 58-60, 60-61, 237-238
  interruptor del motor flagelar, 59-60
Movilidad por deslizamiento, 58-59, 61-63, 466-467, 537-538
  mecanismos, 62-63
Movilidad por deslizamiento, 62-63
Movilidad por tirones, 51-52, 62-63
Movilidad rotaroria, flagelo, 59-60
Movilización del cromosoma, 323-326
Movimiento ameboide, 594-595
Movimiento en enjambre (en masa), 519-520, 520-521
  Myxococcus, 493-495, 494-496
Movimiento, microbiano, 58-66
  flagelos, 58-62
  fototaxis, 65-66
  movilidad por deslizamiento, 61-63
  quimiotaxis, 63-66
Movimiento. *Véase* Movilidad
Moxifloxacina, 881-882, 882-883
mRNA policistrónico, 128-129, 137-139, 230-231
mRNA tardío, virus herpes, 291-292
mRNA temprano inmediato, herpesvirus, 291-292
mRNA temprano inmediato, temprano retrasado y tardío, 291-292
mRNA. *Véase* RNA mensajero
MRSA. *Véase Staphylococcus aureus* meticilina-resistente
MtrA, 691-692
Muciérlagos, rabia y, 963
Mucor, 990-991
Mucoso, 106, 483-484, 494-496, 710, 711-712
Muermo, 917-918
Muerte generalizada de anfibios, 600-601
Muestra con hisopo de la garganta, 866-867
Muestra líquida, 867-869
Muestras genitales, cultivo, 869-870
Múltiples horquillas de replicación del DNA, 152
Múltiples sitio de clonación, 346-347, 348, 350-351, 352-353, 355-356
Mupirocina, 881-882
Mureína. *Véase* Peptidoglicano
Mus musculus, 206
Mutación, 37-38, 308-316, 331-332, 386, 393-394, 400-401. *Véase también* Tipos específicos de mutación
  adaptativa, 386, 388-389
  aptitud, 386
  bases moleculares, 309-312
  beneficiosa, 386
  complementación, 318
  de la reparación de errores del DNA, 314-315, 315-316
  deletereo, 386
  desactivación, 206-207, 344-345
  desplazamiento del marco, 311-312, 313-314, 331-332
  errores en la replicación, 124
  espo*ntáneo*, 309-310, 332-333, 747-748
  hacia atrás. Véase Reversión
  hipermutaciones somáticas, 832-833, 849-851, 851-852, 858-859
  implicadas algunos pares de bases, 311-312
  inducida, 309-310, 331-332
  inserción, 344-345
  letal, 311-312
  no seleccionable, 308-309, 309-310
  por inserción, 344-345
  puntos calientes, 313-314
  puntual, 310-311, 332-333
    reversiones, 311-313
    transición, 311-312
  *recurr*ente, problema de homoplasia debido a, 384-385
  seleccionable, 308-309, 309-310
  sesgo hacia las deleciones, 390, 391
  silenciosa, 310-311, 312-313, 332-333
  sin sentido, 310-311, 311-312, 312-313, 332-333
  supresora, 311-313
    cambios rápidos evolutivos, 386-389
  tasa, 312-314
    cambios en, 314-316
    tamaño del genoma y, 257
Mutagénesis, 313-316
Mutaciones casete, 344-345, 366-367
Mutaciones dirigida, 343-345, 352-353, 356-357, 367-368
Mutaciones por desactivación, 206-207, 344-345
Mutaciones por desfase en el marco de lectura, 311-312, 313-314, 331-332
Mutaciones transposón, 326-327, 328-329
Mutagénesis dirigida, 343-345, 352-353, 356-357, 367-368
Mutagénesis en casete, 344-345, 366-367
Mutagénesis por transposición, 326-327, 328-329
Mutágeno, 313-316, 331-332
  químico, 313-315
  radiación, 313-314, 314-315
  resistencia, 546-547
Mutante, 308-310, 331-332
Mutante aislamiento, 308-310
Mutante fenotipo, 308-309
Mutante inmóvil, 310-311
Mutante no encapsulado, 310-311
Mutante sensible a la temperatura, 310-311
Mutante sensible al frío, 310-311
Mutante tipos de, 310-311
Mutantes sin pigmentación, 310-311
Mutualismo, 724, 761-762
  ecosistemas de los arrecifes de coral, 756-759
  microbioma humano, 742-747
  insectos como hábitats microbianos, 746-752
  legumbre-nódulo radical, 727-733
  microbiano, 724-727
Myasthenia gravis, 810-811
Mycobacterium, 532-533, 533-535, 612, 715-716, 765-766, 865-866, 880-882, 881-882, 930, 935-939, 956-957
Mycobacterium abscessus, 864-865
Mycobacterium avium, 533-534, 534-535, 715-716, 936-937
Mycobacterium bovis, 533-534, 534-535, 937-939
Mycobacterium chelonae, 533-534, 534-535
Mycobacterium fortuitum, 715-716
Mycobacterium gordonae, 533-534, 534-535
Mycobacterium intracellulare, 715-716
Mycobacterium kansasii, 715-716
Mycobacterium leprae, 826-827, 912-913, 935-936, 937-938
Mycobacterium parafortuitum, 533-534, 534-535
Mycobacterium phlei, 533-534, 534-535
Mycobacterium smegmatis, 533-534, 534-535
Mycoplasma, 46-47, 134-135, 199-200, 524-525, 529-531, 765-766
Mycoplasma capricolum, 364, 365
Mycoplasma genitalium, 204-205, 949-950
Mycoplasma mycoides, 364, 531-532
Mycoplasma pneumoniae, 36-37
Mycoplasmatales, 524-525
Mycorrhizae, 598-599, 730-731, 733-737, 761-762
Myxococcales, 522-523, 657-658
Myxococcus, 62-63, 216-217, 492-494, 493-495, 513, 522-523
Myxococcus fulvus, 492-494, 493-495
Myxococcus stipitatus, 492-494
Myxococcus xanthus, 62-63, 200-201, 493-495
Myxosarcina, 464-465
N-3-Oxo-hexanoilhomoserina lactona, 238-239
N-Acetilglucosamina, 44-45, 45-46, 46-47, 47-48, 48-49, 154
N-Acetiltransferasa, 884-885
N-Formilmetionina, 133-134, 134-135
N-terminal, 132-133
*N*9-Formiltetrahidrofolato, 426
N^{15} como trazador, fijación de nitrógeno, 107
NADH deshidrogenasa, 93-94
NADH, 95-97
  en el ciclo del ácido cítrico, 97-98, 99
  en la fotosíntesis, 404
  en la glicolisis, 90-92
  quinona oxidoreductasa, 95-97
$NADP^+$,
  en la fotosíntesis, 404, 412-413
  en reacciones de oxidación-reducción, 88-89
$NADP^+$/NADPH, 88-89
NADPH, 416-417
  ciclo de Calvin, 414-415, 414-416
  síntesis, 101-102
Naegleria fowleri, 1012-1013
Naegleria, 715-716
Naftaleno oxigenasa, 363
Naftaleno, 451-452, 453-455
Nanoarchaeota, 378-380, 380-381, 462, 554, 566-568, 580-581
Nanoarchaeum equitans, 193, 199-200, 566-568, 573-574
  filogenia, 567-568
  genoma, 567-568
  genómica, 567-568
Nanoarchaeum, 554, 566-567
Nanocables, lanzadera de electrones por bacterias, 689-690
Nanocontenedores, 196-197
NanoSIMS, 633-635, 635-636, 636-637
Naranja de acridina, 419-421, 617-618, 639-640, 648-649
Nassellaria, 593-594
Nasutitermes, 748, 750-751
Natrialba, 556-557
Natrinema, 556-557
Natronobacterium, 555-556, 556-557
Natronobacterium gregoryi, 173-174
Natrononococcus, 554, 556-557
Natronomonas, 556-557
Natronorubrum, 556-557
NC-10, 461
NC-10, 461
  árbol filogenético, 6-7, 7-8
  Filo, 512
  filogenia, 380-381
  mar abierto, 666-668
  modelo de regulación del desarrollo, 243-247
  nitrificantes, 483-485
  propiedades fenotípicas, 380-381
  relacioneas entre las mitocondrias y los cloroplastos, 69-70, 584-585
Neandertales, 839
Nefritis, 933-934
Neisseria, 319-320, 513, 516-517, 517-518, 765-766, 767-768
Neisseria gonorrhoeae, 50-51, 51-52, 517-518, 774-775, 786-787, 865-867, 867-868, 868-869, 869-870, 872-873, 873-874, 883-884, 889-891, 904-905, 938-939, 949-950, 949-951, 952-953
  identificación, 869-870
  observación directa, 866-867
  resistencia antimicrobiana, 889-891, 891-892
Neisseria meningitidis, 517-518, 803-804, 804-806, 869-870, 870-872, 911-912, 931-932, 938-939
Neisseriales, 516-517, 517-518
Nematelmintos o gusanos redondeados, 1018-1019
Neocallimastix, 600-601, 742-743
Neomicina, 326-327, 884-885
  producción, 537-538
Neuraminidasa, 260-261, 296-297, 941-942, 942-943
Neurosporeno, 409-410
Neurotoxina, 467-469, 778, 779-781, 916-917
Neutralización, 798-799, 799-800
Neutrofilia, 818
Neutrófilos, 172-173, 173-174, 188-189, 775-776, 793-794, 795-796, 799-800, 800-801, 814-815, 818
Nevirapina, 886-887, 957-958, 958-959
Nevskia, 500, 502

Nicho, 616, 645-646, 646-647, 649-650, 677-678
Nicho efectivo, 616, 640, 646-647
Nicho fundamental, 616, 639-640, 646-647
Nicho primario. *Véase* nicho efectivo.
Nicomicina Z, 887-888
Nicotinamida, 937-938
Níquel, 79-80, 445, 488-489, 701-702
Nistatina, 887-888
  producción, 537-538
Nitrapirina, 686-687
Nitrato, 79-80
  aceptor de electrones, 420-421, 422-423, 436-437, 437-438,
  ciclo del nitrógeno, 685-687
  microsensor, 631-632
  reducción desasimilatoria del amonio (DRNA), 631-632, 685-686
  reductasa, 79-80, 437-438, 438-439
  revertir la acidificación del petróleo crudo, 716-717
Nitrificación, 21-22, 380-381, 422-424, 457-458, 696-697
  Archaea, 191, 483-485
    Thaumarchaeota y, 564-567
  bioenergética y enzimología, 422-424
  ciclo del nitrógeno, 685-687
  genes utilizados para evaluar, 621-622
Nitrificantes, 481, 483-486, 508-509
  fisiología, 483-485
  oxidadoras de amonio, 483-485
  oxidadoras de nitrito, 422-424, 484-486, 647-648
Nitrito, 437-438, 438-439
Nitrito como aceptor de electrones, 423-424
  ciclo del nitrógeno, 685-686, 686-687
  desde la fijación de nitrógeno, 234-235, 730-731
  en los océanos, nivel de, 566-567
  fuente de nitrógeno, 79-80, 102-103, 103-104, 105
  oxidación, 422-425, 484-485, 564-566, 566-567
  producción en la desnitrificación, 438-439
Nitrito oxidoreductasa, 422-423, 423-424, 484-485
Nitrito reductasa, 437-438, 438-439
Nitrobacter, 422-423, 423-424, 484-485, 485-486, 499-500, 513, 514-515, 610-611, 685-686
Nitrobacter winogradskyi, 484-485
Nitrococcus, 484-485, 518-519
Nitrofurano, 881-882
Nitrogenasa, 79-80, 105-106, 109, 466-467, 467-468, 482-484, 730-731, 731-732
  alternativa, 106, 483-484
  ensayo, 107
  inhibición por el oxígeno, 466-467, 482-483, 727-728
Nitrógeno
  aceptor de electrones, 436-438
  asimilación, 234-235, 235-237, 629-630
  atmósfera, 685-686, 686-687
  ciclo del nitrógeno, 684-687
  ciclo redox para, 685-686
  en células, 78, 79-80
  en la naturaleza, 79-80
  estados de oxidación de compuestos clave nitrogenados, 436-438
  producción en la denitrificación, 437-438
  pruebas con isótopos estables, 636-637
  regulator I (NRI), 235-237
  regulator II (NRII), 236-237
  ruta entre la planta y los hongos formadores de micorrizas arbusculares, 735-736
Nitrosoarchaeum, 484-485
Nitrosocaldus, 484-485
Nitrosococcus, 484-485, 513, 518-519
Nitrosococcus oceani, 484-485
Nitrosoguanidina, 313-314, 546-547
Nitrosolobus, 484-485
Nitrosomonadales, 516-517, 517-518, 657-658, 668-669, 673-674
Nitrosomonas, 422-423, 423-424, 484-485, 513, 516-517, 517-518, 610-611, 685-686
Nitrosopumilus, 191, 423-424, 484-485, 554, 662-663, 663-664, 669-670, 676, 685-686
Nitrosopumilus maritimus, 564-566, 566-567, 628-629, 668-669
Nitrososphaera, 484-485, 554
Nitrososphaera viennensis, 566-567
Nitrosospira, 484-485, 516-517, 517-518
Nitrosotalea devanaterra, 566-567
Nitrosovibrio, 484-485
Nitrospira, 378-380, 462, 475-476, 484-486, 512, 547-548, 610-611, 657-658
Nitrospirae, 486-487, 547-548
Nitzschia, 591-592
Niveles de bioseguridad, 862-865, 967-968
NNRTI (inhibidor de la transcriptasa inversa no nucleósido), 881-882, 886-887, 895-896, 957-958, 958-959, 961-962
no hemo, 94-95
Nocardia, 524-525, 535-536, 612
Nocardia otitidiscaviarum, 337-338
Nodularia, 464-465, 467-469
Nodularia spumigena, 465-466
Nódulo linfático, 792-793, 794-795, 796-797, 812-814, 833-834, 853, 853-855
Nódulo radical, 9-11, 727-733, 761-762
  bioquímica de la fijación de nitrógeno, 730-731
  formación, 728-729, 729-731
  genética de la formación de nódulos, 729-731
  simbiosis, 220-221
  unión e infección, 728-730
Nódulo. *Véase* Nódulo radical; pelo radical
Nódulos en el tallo, 730-732
Nomenclatura, taxonómico, 397-399
Nopalina, 732-733
Norfloxacina, 889-891
Norovirus, 864-865, 984-985, 989-990, 992-994, 1001-1002, 1002
Nostoc, 244-245, 464-465, 724
Nostoc punctiforme, 465-466
Nostocales, 464-466, 466-467, 467-468
*Not*I, 337-338
Novobiocina, 115, 326-327, 881-882
NRTI (Inhibidores de la transcriptasa inversa nucleosídicos), 886-887, 897, 957-958, 958-959, 961-962
NtcA, 246
Nucleasa, 776-777, 818
Núcleo (célula), 3-4, 4-5, 24, 74-75
  de la endóspora, 56-57
  de polisacárido, 46-47, 47-48, 783-784
  endóspora, 56-57
  estructura, 66-68
  eucariótico, genes derivados de bacterias en, 584-585
  origen, 375-377
Nucleocápsida, 258-259, 260-261, 273, 276-277, 288-289, 289-290, 291-292, 294-295, 295-296, 296-297, 297, 298, 300-301
Nucleoide, 3-4, 4-5, 24
Nucleolo, 66-67, 67-68
Nucleomorfo, 206, 206-207
Nucleosido, 112-113, 145-146
Nucleosomas, 66-67, 67-68, 577-578, 578-579
Nucleótido metilado guanina, 131-132
Nucleotido, 112-113, 145-146
  estructura, 112-113
  función, 112-113
  regulatorio, 233-234, 240-241, 254-255
  síntesis, 102-104
Nucleótidos reguladores, 233-234, 240-241, 254-255
Número básico de reproducción (R_0), 905-908, 925-926
Número de células, tipos de mediciones, 156-157, 163-164, 617-618
Número de copia, 118, 346-347
Número de reproducción observada (R), 906-908
Nutrición, 79-80
  animales alrededor de las fuentes hidrotermales, 754-755, 755-756
  importancia nutricional de los simbiontes intracelulares obligados en insectos, 747-748
Nutriente, 78, 79-80
  formación de la endospora, 243-244
  infección y enfermedad, 775-776
  niveles en la naturaleza, 647-648
  reciclaje, 9-11
  suelo, 654-655, 657-658
  transporte, 40-44
Nutriente gelatina, 17-18, 20, 18, 20
Nutriente limitante, quimiostato, 159-160
Obesidad 744-745, 745-746
  fisiología, 558-562
  intestino de termitas, 750-752
  permafrost descongelado, 553
  rumen, 739-740, 741, 742-743
  sustratos, 559-561, 560-562
  tratamiento de aguas residuales, 710
Obesidad, papel que desempeñan los microorganismos del intestino, 214-215
Objetivo de inmersión (microscopio), 29
Objetivos (microscopio), 28, 29
Observación directa, 866-867
Océano, 664-665, 668-669, 673-674, 675-676. *Véase también* Microbiología de aguas marinas profundas
  abierto, 662-670
  acidificación, 696-697
  microbiología de aguas marinas profundas, 669-674
Oceanospirillales
Ochrobactrum, 514-515, 727-728, 756-757
Ochromonas, 591-592, 593-594
Octenidina, 184-185
Octopina, 732-733
OH-esferoidenona, 409-410
Okenona, 409-410
Oligonucleótido, 339-340
  síntesis, 193
Oligosacárido, 729-730
  de lipocitina, 729-730
Oligotrofos, 513, 550, 661-662, 662-663, 666-667, 667-668, 677-678
Omasum, 738-739
Omnívoros, 736-737
  humanos, 742-747
Onchocerca volvulus, 1018-1019
Oncocercosis («ceguera de los ríos»), 1018-1019
Oncogen, 732-733
Oocitos, 714-715
  Cryptosporidium, 1014-1015
  Cyclospora cayetanensis, 1014-1015
Oomicetos, 591-592
OPA (ortofalaldehído), 184-185
Ópalo, 692-693
Operador *lac*, 351-352
Operador, 248-250, 250, 350-351, 351-352
Operon de fusión, 345-346, 367-368
Operón de la maltosa, 231-232
Operón *lac*, 227-228, 229-230, 230-231
  control global y, 232-233, 233-234
Operón *Lux*, 238-239
Operón *mer*, 694-695, 695-696
Operón promotor *trp*, 350-351
Operón *trp*, 248-250
Operon, 117, 128-129, 145-146, 230-231, 254-255
  regulones vs., 231-232
Operones de los pili, 916-917
Opina, 732-733, 733-734
Opitutales, 541
Opitutus, 541
Oportunista, 516-517, 590-591
Opsonización, 798-799, 799-800, 819-821, 834-835, 835-836, 836-837, 837-838
Ordenador
  ensamblaje de las secuencias de DNA, 197-198
  marco abierto de lectura, 197-199
ORF funcionales, 197-199
ORF homólogos, 198-199
ORF. *Véase* Marco de lectura abierto
Organismo facultativo, 188
Organismo indicador, 985-986
Organismo piogénico, 819-821
Organismo sésil, 166
Organismo transgénico, 357-361, 367-368
  modificado genéticamente, 357-361
Organismos acumuladores de fósforo, 711-712
Organismos biotrópicos, 735-736
Organismos genéticamente modificados (GMO), 357-358, 366-367. *Véase también* Organismos transgénicos
Organismos planctónicos, 53-54, 166, 566-567, 660-661
Organismos psicrotolerantes, 168-169, 188-189, 669-670, 990-991, 999-1000
Organización Mundial de la Salud (WHO), 911-912, 912-913, 922-923, 972-973
Organomercurio liasa, 694-695
Órganos linfoides primarios, 794-795, 814-815
Órganos linfoides secundarios, 792-793, 794-795, 796-797, 814-815
Órganos luminosos en peces, 504-505
Órganos luminosos, peces, 504-505
Orgánulos, 3-4, 24, 68-70
  endosimbiosis, 69-70, 375-376
  eucariota, 584-585
  fotosintético, 584-585
  genomas, 203-206
  respiratorio, 68-70
  simbiontes y, 204-206
Orgánulos fermentativos, 68-70
Origen de la replicación, 120, 121, 123, 290-291, 350-351, 352-354
Ornithocercus magnificus, 590-591
Ornitina, 529-531
Oro, lixiviado, 701-702, 702-703
Ortofosfato, 711-713
Ortohepadnavirus, 948-949
Ortólogos, 214-216, 216-217, 223, 381-383, 400-401, 621-622

Ortomixovirus, 270-271, 941-942
Oryza sativa, 206
Oscillatoria, 62-63, 464-465, 465-466, 466-467
Oscillatoria limnetica, 413-414
Oscillatoriales, 465-466
Oscillochloris, 473-474, 482-483
Oseltamivir, 886-887, 943-944
Osmófilo, 174-175, 188-189
Osmolaridad, crecimiento microbiano y, 174-176
Ósmosis, actividad de agua, 174-176
Osmotaxis, 65-66
Osteomielitis, 526-527, 864-865, 944-945
Ostreococcus, 604-605, 665-667
Ostreococcus tauri, 206, 604-605
Otitis media, 932-933
Oxacilina, 883-884
Oxalacetato, 97-98, 99, 98-100, 102-103, 103-104
Oxalato, 432-434
Oxalobacter formigenes, 432-434
Oxalobacter, 433-434, 612
Oxidación, 83-84
Oxidación alifática de hidrocarburos, 450
Oxidación anaeróbica del metano, 461
Oxidación anóxica de metano (AMO), 453-455
Oxidación del anillo, 453-455
Oxidación del fosfito, 440-441
Oxidación del hierro ferroso, 420-423
Oxidación del hierro ferroso, 420-423, 687-688, 688-689, 689-692
Oxidadoras de ácidos grasos por sulfato reductores, 612
Oxidadoras de sulfuro, 689-690
Oxidadores aerobios del hierro, 486-488
Oxidadores de acetato, 522-523
Oxidadores de amonio, 483-485
Oxidadores de metales, 691-692
Oxidasa terminal, 95-97
Óxido de etileno, 184-185
Óxido de hierro-hidróxidos, 688-689
Óxido de hierro, 502-503
Óxido de trimetilamina (TMAO), 448
Óxido nítrico reductasa, 437-438, 438-439
Óxido nítrico, 753-754, 819-821
Óxido nitroso reductasa, 437-438, 438-439
Óxido nitroso, 437-438
  zonas de oxígeno mínimas, 664-665
Óxidos de manganeso, 688-690
Oxigenasa, 79-80, 450, 451-452, 457-458, 706-707
Oxígeno,
  aceptor de electrones, 435-436, 450, 487-488
  acumulación en la atmósfera, 372-373, 373-375
  condiciones de cultivo, 176-178
  crecimiento y, 175-179
  demanda bioquímica de oxígeno, 661-662, 677-678, 707-708, 708-709
  demanda química de oxógeno (COD), 661-662
  endosimbiosis, 375-376
  formas tóxicas, 178, 407-408, 819-821
  inhibición de la fijación de nitrógeno, 106, 244-245
  inhibición de la nitrogenasa, 244-245, 466-467, 727-728
  lagos, 660-662
  macronutriente, 78, 79-80
  microambientes, 646-648
  muerte por fagocitosis, 819-821
  partícula del suelo, 646-648
  producción en la fotosíntesis, 404
  reactante en procesos bioquímicos, 435-436, 436-437, 450
  reducción de cuatro electrones hasta el agua, 178
  ríos, 661-662
  singlete, 407-408, 819-821
  sistema de transporte de electrones, 95-97
  y crecimiento microbiano, 175-177
Oxotransferasa, 79-80
Ozono, 184-185, 374-375, 710
PABA (ácido *p*-aminobenzoico), 79-80
Paenibacillus, 524-525, 527-529
Paenibacillus abekawaensis, 482-483
Paenibacillus larvae, 527-529
Paenibacillus polymyxa, 527-529
Paenibacillus popilliae, 527-529, 528-530
Países desarrollados, enfermedades infecciosas, 912-914, 922-924, 986-987
Palíndromo, 336-337
Palmitato, 103-104
Pandémico, 900-901, 901-902, 925-926
  cólera, 922-924, 987-988
  gripe, 923-925, 943-945
  VIH/Sida, 920-923
Pangenoma, 219-221, 223, 388-389, 390, 400-401
Pantano, 653-654, 688-689
Pantoea, 749
Panza, 748, 750, 750-751
Paperas (Parotiditis), 810-811, 903-904, 911-912, 939-941
  número básico de reproducción, 905-906
Papillibacter, 743-744
Papilomavirus, 258-259, 260-261, 949-950
Papilomavirus humano, 807-808, 949-950, 954-955, 961-962
Papovavirus, 270-271
PAPS. *Véase* fosfoadenosina fosfosulfato
Par de bases complementarias, 113, 115, 120, 124, 145-146, 247, 248-249
Par especial, 409-410, 410-411
Parabasálidos, 378-380, 586, 587-589
Parachlamydia, 541
Paracoccidioides brasiliensis, 1009, 1011
Paracoccus, 488-489, 513, 514-515, 516-517, 685-686
Paracoccus denitrificans, 96-98, 438-439, 485-486, 488-489, 610-611
Paracoccus pantotrophus, 420-421
Paracocidioidomicosis, 1009, 1011
Parainfluenza, 874-875
Parálisis clonal. *Véase* anergia clonal
Paralógos, 214-216, 216-217, 223, 381-383, 400-401
Paramecium, 35-36, 134-135, 204-205, 206, 589-590
Paramecium tetraaurelia, 206
Paramixovirus, 270-271, 939-940
Parasitismo
  sanguijuelas, 755-757
  simbiontes parasitos hereditarios, 746-748, 749
Parásito, 724
  enfermedades transmitidas por los alimentos, 994-995
Parásito intracelular obligado, 258-259, 515-516, 540-543. *Véase también* Virus
Parásitos intracelulares, obligados, 515-516,
Paratosa, 46-47
Pared celular, 3-4, 23-24, 380-381
  Archaea, 45-46, 46-47, 48-50
  bacteria gramnegativa, 42-46, 49-50
  bacteria grampositiva, 42-44, 44-45, 45-47, 47-48
  carente de células, 46-47
  cianobaterias, 465-466
  diatomeas, 591-592
  Halobacterium, 556-557, 557-558
  hongo, 595, 597-599
  Nanoarchaeum, 567-568
  oomicetos, 591-592
  procariota, 42-50
  síntesis, 153-154, 154-156, 881-882, 883-884, 887-888
Parejas rédox, 87-88
Pares de kilobases, 114
Pares de megabases, 114, 199-200
Parsimonia, árbol filogenético basado en, 383-384
Partenogénesis, inducida por *Wolbachia,* 515-516
Partícula de Dane, 948-949
Partícula señal de reconocimiento (SRP), 141-142, 143, 247
Partícula transductora defectiva, 321-322
Partículas del suelo, 646-648, 654-655, 655-658
Partículas similares a los virus (VLPs), 807-808
Partículas transductoras, 320-322
Parvovirus, 270-271
Parvovirus H-1, 281-282
Pasterurización rápida, 180-181
Pasteur, Louis, 12-13, 13-15, 14-18, 17-18, 20, 180-181
Pasteurella, 518-519
Pasteurellales, 518-519
Pasteurización, 15-16, 180-181, 188-189, 990-991, 1004-1005
  en masa, 180-181
  leche, 180-181, 906-908, 908-909, 937-938
  rápida, 180-181
  vino, 180-181
  voluminoso, 180-181
PatA, 247
Patogénesis, 771-785
Patogenicidad, 771-773, 788-789
  evolución, 369
Patógeno, 9-10, 24, 763, 771-773, 788-789
  adherencia, 773-776, 777, 779
  aislamiento de muestras clínicas, 866-875
  asociado a centros de salud, 862-866
  asociado a un perfil molecular (PAMP), 795-796, 800-801, 814-815, 819-821, 840-842
  atenuados, 773-774
  coevolución del hospedador y, 902-904
  colonización, 775-776
  crecimiento, 771-773, 775-776
  diferenciar cepas, 394-396
  eliminación de un tumor por una cepa de *Listeria*, 335
  erradicación, 911-913
  especificidad de tejido, 774-775, 785-786, 786-787
  eucariótico, 1007-1021
  fúngico, 598-599, 1008-1009
  identificación, 865-872. *Véase* Métodos de diagnóstico
    prueba de sensibilidad a las drogas antimicrobianas, 870-872
    detección directa, 865-867
    métodos dependientes de crecimiento, 869-872
  invasión, 771-773, 775-776
  invasividad, 771-773, 776-777
  localización en el cuerpo, 776-777, 779
  número básico de reproducción, 905-908, 925-926
  observación directa, 866-867
  oportunista, 590-591, 715-716, 771-773, 788-789, 954-955, 955-957, 957-958, 961-962, 1020-1021
  por el aire, 930-932
  resistentes a los antibióticos, 891-893. *Véase también* Resistencia a los antibióticos
  respiratorio, 930-932
  simbiontes primares en comparación con, 749
  toxicidad, 777, 779
  transmisión edáfica, por el suelo, 964, 1007, 1008
  transmitidos a través de animales, 964-968
  transmitidos a través de artrópodos, 966-976
  virulencia, 771-774, 775-777, 779
Patógenos del suelo, 964, 1007, 1008
Patógenos eucariotas, 1007-1021
  infecciones fúngicas, 1007, 1008-1011
  infecciones parasitarias
    sangre y tejido, 1015-1019
    visceral, 1012-1015
Patógenos hospitalarios, 903-904
Patógenos nosocomiales, 862-866
Patógenos oportunistas, 590-591, 715-716, 771-773, 788-789, 954-955, 955-957, 957-958, 961-962, 1020-1021
Patógenos saprofíticos, 918-919
PAV1, 288-289
PBP. *Véase* Proteína de unión a la penicilina
PCR a tiempo real (qPCR), 879-880
PCR a tiempo real, cuantitativa, 879-880
PCR cuantitativa (qPCR), 340-342
PCR palindrómica extragénica repetitiva (rep-PCR), 395-396
PCR. *Véase* Reacciónn en cadena de la polimerasa (PCR)
Pectina, 742-743
Pediococcus, 991-992
Pedomicrobium, 499-500, 500, 502
Pedúnculo, 499-500, 501, 500, 502
Pelagibacter, 513, 514-515, 515-516, 662-663, 666-667, 667-668, 668-669, 669-670
  genoma, 667-668
Pelagibacter ubique, 36-37, 199-200, 515-516, 616
Pelo radical, 728-730
Pelobacter, 477-478, 485-487, 522-523, 612
Pelobacter acetylenicus, 427-428
Pelobacter acidigallici, 427-428
Pelobacter carbinolicus, 486-487
Pelobacter massiliensis, 427-428
Pelochromatium roseum, 472-473, 725
Pelochromatium selenoides, 725
Pelodictyon phaeoclathratiforme, 725
Pelotomaculum, 433-435
Penacho de flagelos, 58-59, 59-60
Penetración, virus, 261-262, 263-265
Penicilina, 45-46, 49-50, 151, 152, 380-381, 881-882, 883-884, 889-890, 889-891, 891-892, 897, 934-935, 938-939, 970-971, 977-978
  estructura, 883-884
  inhibición de la transpeptidación, 155-156
  modo de acción, 883-884
  natural, 883-884
  resistencia, 889-891
  semisintética, 883-884, 884-885, 889-890, 891-892
  terapia de la sífilis, 951-953
  tipos, 883-884
Penicilina G, 883-884, 952-953

Penicilina natural, 883-884
Penicilina semisintética, 883-884, 884-885, 889-890, 891-892
Penicilinasa, 889-891, 891-892
Penicillium, 174-175, 893-894, 990-991
Penicillium chrysogenum, 883-884
Pentapéptido, 154, 155-156
Pentosa, 102-103
  metabolismo, 101-102
PEP. *Véase* Fosfoenolpiruvato (PEP)
Péptido líder, 248-250, 250
Péptido PatS, 246, 247, 252-253
Péptido sitio (P-sitio), 137-139, 138, 140
Péptido-complejo MHC, 796-798, 807-808
Peptidoglicano, 42-47, 74-75, 101-102, 131-132, 465-466, 542-543, 543-544, 753-754, 819-820
  estructura, 45-46
  química, 42-46
  síntesis, 151, 154-156
Peptococcus, 524-525, 765-766, 768-769
Peptostreptococcus, 524-525, 765-766, 768-769
Percepción de quórun (quorum sensing), 238-241, 254-255, 319-320, 504-505, 506, 649-650, 650-651, 753-754
  factores de virulencia, 238-241
  formación de biopelículas, 240-241
  mecanismo, 238-239
Pérdida de genes, 463
Perfil de reconocimiento molecular (PRM), 795-796, 800-801, 814-815, 819-821, 840-842
Perfil del suelo, 654-655
Perforación mar adentro, Horizonte de aguas profundas, catástrofe, 663-665, 705-706
Perforina, 796-797, 824-825, 824-827
Peridotita, 674-675
Período agudo, 902-903
Período antropoceno, 695-697
Período de convalescencia, 902-903
Período de declive, 902-903
Período de incubación, 901-903
Período eclipse, replicación vírica, 261-262
Período latente, multiplicación vírica, 261-262
Periodontitis, 746-747
Periplasma, 42-44, 47-48, 74-75, 496-497
  Ignicoccus, 573-574
Peritonitis, 864-865
Permafrost, emisiones de carbono y deshielo, 553
Permeabilidad, 38-39, 40-42
  selectiva, 37-38
Permutación circular, DNA, 264-265, 265-266
Peroxidasa, 79-80, 178-179, 620-621, 876-877
Peróxido de hidrógeno, 56-57, 178, 179, 184-185, 818, 819-821
Peso seco, 163-164, 164-165,
Peste, 906-908, 911-912, 913-914, 917-918, 974-976, 979-980
  bubónica, 19, 974-975, 975-976
  incidencia en Estados Unidos, 975-976
  pneumónica, 974-975, 975-976
  selvática, 974-975, 975-976
  septicémica, 974-976
Peste de la seva, 974-975, 975-976
Peste Negra, 19. *Véase también* Peste (bubónica)
Petri, Richard, 17-18, 20
Petróleo,
  agrio, 716-717
  Tuberías, corrosión por bacterias sulfatoreductoras, 716-717
Petróleo. *Véase también* Hidrocarburo
  biorremediación del petróleo, 703-706
  tuberías, corrosión por bacterias sulfatoreductoras, 716-717
Pez linterna, 504-505
Pez transgénco, 359-360
Pfiesteria, 590-591
Pfiesteria piscicida, 590-591
pH, 188-189
  circumneutral, 172-173
  diversidad de los oxidadores aerobios del hierro, 486-488
  efecto en el crecimiento, 172-174
  esterilización por calor y ácido, 180-181
  intracelular, 173-174
  mar, 696-697
Phaeospirillum fulvum, 470-471
Phaeospirillum molischianum, 406
PHB. *Véase* Poly-β-hidroxibutirato; ácido Poli-β-hidroxibutírico
Photobacterium, 2, 394-395, 518-519, 521-522
Phialophora verrucosa, 1009, 1010-1011
Photobacterium iliopiscarium, 394-395
Photobacterium kishitanii, 394-395
Photobacterium phosphoreum, 394-395, 504-505
Photoblepharon palpebratus, 504-505
Photorhabdus, 504-505
Phyllobacterium, 514-515, 727-728
Physarum, 594-595
Phytophora, 990-991
Phytophthora infestans, 591-592
PI. *Véase* inhibidor de la proteasa
Picoplancton, 566-567
Picornavirus, 270-271, 941-942
Picrophilus, 554, 561-562, 562-563
Picrophilus oshimae, 172-173, 173-174
Pie de atleta, 598-599, 1009, 1010-1011
Piedras en el riñón, 651-652, 746-747
Piel
  barrera para los patógenos, 785-786
  microambientes, 765-766
  microbioma fúngico de los humanos, 763
  microbiota normal, 764, 765-767
Pielonefritis, 786-787
Piezofilo extremo, 669-671, 677-678
Piezófilos, 669-673, 677-678
  extremo, 669-671, 677-678
Piezotolerante, 669-670, 677-678
Pigmentación, micobacterias, 534-535
Pigmento accesorio, 410-411
  carotenoides, 407-408
  ficobilinas, 407-408
Pigmentos antena, 405, 407, 406, 457-458
Pigmentos captadores de luz (antena), 405, 407, 406, 457-458
Pili, 50-52, 74-75, 291-292, 293-294, 485-486, 774-776
  conjugación, 322-323, 323-325
  sexual, 322-323
  tipo IV, 51-52
  F, 322-323
Pino de Monterrey, 735-736
Pinta, 496-497
Pinus, 733-735
Pinus contorta, 734-735
Pinus radiata, 735-736
Pinus rigida, 734-735
Pinzas láser, 615-617, 616, 639-640
Pirellula, 499-500
Pirelulosoma, 542-543
Piridoxal, 79-80
Piridoxina, 769, 771
Pirimidina, 80-81, 112-113, 145-146, 427-428
Pirita, 686-687, 687-688, 700-701, 702-703, 720-721
  oxidación, 702-703
    ciclo de propagación, 702-703
    reacción iniciadora, 702-703
Pirógeno endógeno, 783-785, 800-801
Pirosecuenciación, 194-195, 195-196, 196-197
Pirrolisina, 134-135
  estructura, 132-133
Pirrotita, 701-702
Piruvato, 90-92, 92-93, 102-103, 427-433, 474-475, 475-476, 476-477, 559-561, 560-561, 566-567
  Ciclo del ácido cítrico, 97-98, 98-100
  donador de electrones, 438-439, 449
  metabolismo, 451-452
  oxidación, 68-70
  reducción, 90-92, 92-93
Piruvato carboxilasa, 98-100
Piruvato cinasa, 91-92
Piruvato descarboxilasa, 91-92
Piscinas, enfermedades transmitidas por el agua de, 984-986
Pistola de partículas (pistola génica), 358-359
Placa de microtiter, 870-872, 871-872, 873-874, 876-877
Placa de Petri, 17-18, 20
Placa dental (sarro), 548, 651-652, 776-777, 786-787, 788-789
Placas de agar sangre, 777, 779, 779-781
Plaguicida, 694-695
  biodegradación, 706-707
  catabolismo, 705-707
Planctomyces, 541, 542-544
Planctomyces maris, 543-544
Planctomycetes, 378-380, 423-424, 462, 512, 542-544, 657-658, 657-658, 662-663, 668-669, 673-674, 675-676
  compartimentación, 542-543
  principales órdenes, 541
Plano de división celular, 151
Planococcaceae, 739-740
Planta transgénica, 357-360, 733-734
Plantas, 378-380
Plasma, 792-793, 814-815
Plásmido, 3-4, 4-5, 117, 118-119, 145-146, 197-198, 319-320
  conjugativo, 315-316, 322-325
  factores de virulencia, 916-917
  halófilos extremos, 556-557
  mitocondrial, 203-204
  número de copias, 118, 346-347
  pUC19, 346-347, 348
  R, 118, 521-522, 777, 779, 889-891
  R100, 118
  replicación, 118, 346-347
  resistencia a los metales, 694-695
  resistencia. *Véase* plásmido R,
  Ti, 357-359, 367-368, 732-734, 761-762
  tipos, 118-119
  vacunas DNA, 807-808
  vector de clonación, 346-348
  virulencia en *Salmonella*, 777, 779
  virulencia, 118-119
Plásmido D-Ti, 357-359
Plásmido F, 322-325, 352-354
  integración, 323-326
  mapa genéetico, 322-323
  transferencia de genes cromosómicos a, 322-323, 325-326
Plásmido F′, 325-326, 352-354
Plásmido R, 118, 521-522, 777, 779, 889-891
  mecanismo de resistencia mediado por, 889-890
  origen, 889-891
  R100, 118
Plásmido Ri, 732-733, 733-734
  oxígeno, 661-662
Plasminógeno activador de tejido, 356-357, 357-358
Plasmodesmata, 298, 300-301, 301-302
Plasmodio (moho mucoso), 594-595
Plasmodium, 206, 206-207, 590-591, 594-595, 786-787, 902-903, 905-906, 1012-1013, 1015-1017
Plasmodium falciparum, 206, 591-592, 1015-1016, 1016-1017
Plasmodium malariae, 1015-1016
Plasmodium ovale, 1015-1016, 1016-1017
Plasmodium vivax, 1015-1016, 1016-1017
Plástico microbiano, 706-707, 707-708, 720-721
Plásticos sintéticos, biodegradación, 706-707, 707-708
Plásticos, 184-185
  biodegradación, 706-708
  microbiana, 706-707, 707-708, 720-721
  sintético, 706-707, 707-708
Plastidios, 378-380
Plastocianina, 79-80, 412-413
Platensimicina, 881-882, 885-886, 893-894
Platihelmintos, 756-757, 757-758
Plegamiento de las proteínas, 577-578
Plegamiento de proteínas, 140-143, 355-356
  plegamiento incorrecto del prión, 301-302
  secreción de proteínas plegadas, 141-143
Pleurocapsa, 464-465
Pleurocapsales, 464-465, 465-466
Plomo, 701-702, 702-703
Pneumocystis jiroveci, 954-955, 956-957, 1009
Pneumocystis pneumonia, 1009
Pneumonia, 290-291, 526-527, 862-865, 864-865, 914-915, 944-945, 988-989
  Legionella, 715-716
  nosocomial, 984-985
  pneumocócica, 804-806, 806-807, 959-960
  Pneumocystis jiroveci, 954-955
  Pneumocystis, 1009
Población, 6-8, 644-645, 645-646, 677-678
  cuellos de botella, 386
  deriva genética, 386, 386-387, 390, 400-401
  epidemiología, 900-901
Podredumbre, 517-518, 521-522, 595, 597
Polaribacter, 537-538, 540
Polaromonas, 167-168
Polaromonas vacuolata, 167
Poli-β-hidroxialcanoato, 51-52, 52-53, 380-381, 647-648
Poli-β-hidroxibutirato, 74-75, 89-90, 707-708
Poli-β-hidroxivalerato, 707-708
Polieno, 537-538, 881-882, 887-888
Poliestireno, 707-708
Polietileno, 707-708
Polifosfato, 51-52, 52-53, 647-648
Poligenia, 846-847, 858-859
Polihidroxialcanoato, 89-90, 706-708, 711-712, 712-713
Polimerasa de surgencias submarinas. *Véase* Polimerasa Pfu
Polimerasa Pfu, 340-341
Polimerasas de los ácidos nucleicos, 79-80
Polímero de aluminio, 713-714
Polímero de cloro, 713-714
Polímero de reserva. *Véase* Almacenamiento de polímero.

Polímero, potabilización del agua, 713-714
  amplificación de genes rRNA, 381-383, 382-384, 621-622, 622-623
  aplicaciones, 340-342
  cebador de oligonucleotidos, 339-340, 395-396
  cuantitativa (qPCR), 340-342
  diagnóstico clínico, 879-882
    cualitativo, 879-882
    PCR cuantitativa (qPCR), 879-880
    PCR transcriptasa inversa (RT-PCR), 340-341, 354-355, 879-880, 957-958
    pruebas y análisis, 879-880
  elevada temperatura, 340-341
  métodos de análisis de la comunidad, 621-626
  mutagénesis dirigida, 343-345, 352-353, 356-357, 367-368
  palíndromes repetitivos extragenéticos (rep-PCR), 395-396
  polimorfismo de los fragmentos amplificados (AFLP), 395-396
  Reacción en cadena de la polimerase (PCR), 171-173, 195-196, 339-342, 367-368
  sensibilidad, 340-341
  Taq polimerasa, 546-547
Polímeros de reserva de carbono, 51-52
Polimixina, 521-522, 527-529, 881-882
Polimorfismo, 823-824, 846-847, 858-859, 880-882
Polimorfismo en la longitud de fragmentos amplificados (AFLP), 395-396
polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción terminales (T-RFLP), 622-623,
Polinucleótido, 112-113, 145-146
Polio, 803-804, 909-910, 911-912, 912-913, 914-915
  número básico de reproducción, 905-906
Poliomavirus, 290-291
Poliomielitis, 908-909, 909-910, 912-913
Poliovirus, 258-259, 271-273, 279, 281-282, 293-294, 294-295, 1002
  estructura, 293-294
  replicación, 293-294, 294-295
Polioxina, 881-882, 887-888
Polipéptido, 113, 131-132, 134-135, 136, 137-139, 140, 140-142, 145-146
  estructura terciaria, 140-141
Polipropileno, 707-708
Poliproteína, 293-294, 298, 300, 304
  formación, 279
Polisacárido, 101-102, 647-648, 648-649, 649-651
  fermentación, 91-93
  O-específico, 46-47, 783-784
  síntesis, 101-102
Polisifonía, 604-605
Polisoma, 137-139, 140
Poliuretano, 707-708
Polvo, en el aire, 930
Pomplejo C3bBb, 836-837
Poner en peligro al hospedador, 786-788, 900-901
Populus trichocarpa, 206
Por el agua, virus y bacterias, 274
Porfirina, 94-95
Porifera, 756-757, 757-758
Porina, 47-48, 48-49, 670-671
  específica, 47-48
  no específica, 47-48
Poro nuclear, 66-67, 67-68
Poros, membrana nuclear, 66-67, 67-68
Porphyra, 603-604
Porphyromonas, 538-539
Portador agudo, 908-909
Portador crónico, 908-909
Portador de virus, 360-361
Portador, 904-905, 906-909, 989-990
  agudo, 908-909
  crónico, 908-909
  enfermedad infecciosa, 771-772, 901-902, 925-926
Portadora, 42-43
Portaobjetos, inmerso, 648-649
Posaconazol, 887-888
Postulados de Koch, 16-21, 24
Potasio, 38-39
  requerimientos celulares, 79-80
  soluto compatible, 557-558
Potencial de reducción, 87-89, 109
Potencial electroquímico, 95-97
PpGpp, 233-234
Prasinophyceae, 665-666
Precauciones generales, 949-950
Precipitación para potenciar la evapotranspiración (P/PET), 655-656
Predadores citoplasmáticos, 492-494
Predadores epibiónticos, 492-494
Predadores sociales, 492-494
Preferencia de codones, 133-135, 145-146, 197-198, 198-199, 223
Presentación de antígeno, 796-797, 819-820
Preservación/mantenimiento de la estabilidad del genoma, 328-330
Prevalencia de una enfermedad, 901-902, 925-926
Prevotella, 537-538, 538-539, 744-745, 765-766, 768-769
Prevotella ruminicola, 741
Primaquina, 1016-1017
Primasa, 120, 121, 122, 123, 145-146
Primosoma, 122, 123
Prión, 301-302, 304
  enfermedad transmitida por alimentos, 1002
  no mamífero, 302
Priones bovinos, 909-910
pro-cabezas, 266-267
Probiótico, 770, 769, 771, 788-789
Procariota, 24
  análisis de filochips, 625-626
  cromosoma, 4-5, 116, 117, 318
  diversidad
    fuentes hidrotermales, 675-676, 676
    marino, 668-670
    sedimento marino, 670-673
    suelo, 655-658
  diversidad procariota en lagos de agua dulce, 661-663
  en fuentes hidrotermales, 674-676
  estructura celular, 3-4
  expresión de genes, 235-236, 247
  extremofílico, 8-9, 9-10
  genética, 113
  hospedador de clonación, 349-350
  intercambio genético, 307
  morfología, 34-36
  movilidad, 58-66
  mRNA, 128-129
  pared celular, 42-50
  planctónico, 53-54
  proteína que determina la forma celular, 153-154
  ribosomas, 137-139, 140
  tamaño celular, 35-38
  trnasferencia de genes (intercambio genético), 315-328
  vector de expresión, 352-353
  virus, 274. *Véase también* Bacteriófago.
Procedimiento dideoxi de Sanger, 192-195
Procesado del RNA, 130-132, 145-146
Proceso Haber-Bosch, 696-697
Procesos de liberación de energía. *Véase* Reacciones catabólicas (catabolismo)
Prochlorococcus, 464-465, 465-466, 466-467, 467-469, 628-629, 635-636, 664-666, 668-669
Prochlorococcus marinus, 193
Prochloron, 464-465, 466-467
Proclorófito, 464-465, 466-467, 508-509, 664-666, 677-678
Proctitis, 952-954
Prodigiosina, 520-521
Producción a partir de la reducción del sulfato, 438-441
  ciclo del azufre, 686-688
  reducción del azufre, 440-441
  test de producción, 868-869
Producción del fitoplancton, 695-697
Producción secundaria, 667-668
Producto, 85-86
Productor primario, 651-652, 660-661, 664-666, 677-678
  autótrofo, 83-84
Productos cárnicos, 991-992
Productos de la fermentación, 91-92, 93-94, 426-428, 428-429, 428-430, 430-433, 433-434, 518-520, 523-524, 528-530, 529-531
Productos fermentados, 428-430, 523-524, 524-525
Productos lácteos, 10-12
  fermentados, 991-992
Profago, 267-268, 276-277
Profundidades marinas, 669-670
  condiciones, 669-670
  sedimentos, 672-673
Programa de vigilancia de agentes de bioterrorismo, 911-912, 920
Programa integrado de perforación oceánica, 659-661
Proliferaciones masivas, 661-662
  bacterias rojas del azufre, 467-469
  cianobacterias, 467-469, 661-662
    vesículas de gas, 53-54
  halófilos extremos, 555-556, 556-557
Prolina
  código genético, 133-134
  estructura, 132-133
  fermentación, 431-432
  síntesis, 102-103
  soluto compatible, 175-176
Promotor, 125, 126, 145-146, 226-227, 231-232, 234-235, 248-250, 250, 350-352, 355-356
  arqueas, 129
  eucariotas, 129
  promotores fuertes, 126, 350-351, 351-352
  región-35, 126, 127-128
  vector de expresión, 350-352
Promotor del operón *lac*, 350-351
Promotor *tac*, 350-351, 355-356
Promotor *trc*, 350-351, 351-352
Promotores de crecimiento (aditivos alimentarios), antibióticos, 889-891
Promotores fuertes, 126
Propenso al error, 314-315, 315-316
Properdina (factor P), 836-837
Propiedades emergentes, 213-214
Propionato, 431-433, 991-992
Propionibacteria, 765-766
Propionibacterium, 427-428, 431-432, 432-433, 524-525, 533-534, 765-766, 770, 991-992
Propionigenium modestum, 432-433
Propionigenium, 432-433, 433-434, 443-444, 533-534, 612
Propionil-CoA, 426, 431-432, 432-433
Prosteca, 499-500, 502, 508-509, 543-545
Prosthecobacter, 500, 502, 541, 543-545
Prosthecomicrobium, 500, 502
Proteasa, 240-241, 241-242, 244-245, 252-253, 776-777, 818
  poliovirus, 293-294
  retrovirus, 273
  virus que codifica, 293-294
Proteasa codificada por el virus, 293-294
Proteasa VIH, 893-894, 957-958
Proteasoma, 824-825
Proteína, 4-5, 6-7, 145-146
  alostérica, 230-231, 254-255
  catalítica, 131-132
  degradación y asimilación, *Archaea* marinas del sedimento profundo, 643
  desnaturalización, 141-142, 577-578
  enlaces de hidrógeno, 140-141
  estructura cuateraria, 140-141, 145-146
  estructura primaria, 132-133
  estructura secundaria, 140-141
  estructura terciaria, 140-141, 146-147
  estructura, 131-133
  estructural, 131-132
  fluorescente, 618-620, 639-640
  hipertermófilos, 577-579
  hipotética, 198-199, 201-202, 206
  inhibitores de la síntesis, 882-883
  metaproteómica, 629-631
  modificadas genéticamente, 356-358
  movilidad, 62-63
  prión, 301-302
    mal plegado, 301-302
  regulador, 227-228, 231-232, 232-233, 234-235, 244-245, 247
  secreción, 141-143
  síntesis, 3-4, 131-143, 881-882. *Véase también* Traducción
    papel que desempeña el RNA ribosómico, 137-140
    pasos, 137-139, 138
  sistema proteico exportador TAT, 141-142, 143
  viral, 281-283
Proteína A, 284-285, 284-286
Proteína A*, 284-285
Proteína ActA, 999-1002
Proteína activadora de maltosa, 230-231, 231-232
Proteína activadora, 230-232, 254-255
  fijación de nitrógeno, 244-245
Proteína alostérica, 230-231, 254-255
Proteína B7, 853-855, 854-855
Proteína CD28, 853-855, 854-855
Proteína CD40, 854-855, 855-856
Proteína CD66, 774-775
Proteína chaperona, 824-825
Proteína Che, 237-238, 238-239
Proteína cinasa sensora, 254-255
Proteína cl, 268-270
Proteína cll, 268-269, 269-270
Proteína clll, 268-269, 269-270
Proteína cristalina, 527-530
Proteína CXCR4, 785-786
Proteína de cubierta, 284-285
  Fago MS2, 291-292, 293-294
Proteína de fluorescencia verde, 226-227, 227-228, 254-255, 345-346, 366-367
  como marcador celular, 618-620
Proteína de fusión, 355-357, 364
Proteína de la nucleocápsida, rabdovirus, 294-296
Proteína de la quimiotaxis aceptora de metilos (MCP), 212-213, 237-238, 238-239

Proteína de lisis, fago MS2, 291-292, 293-294
Proteína de membrana periférica, 38-39
Proteína de secreción, 141-143
  sistema de secreción tipo I-IV, 143
Proteína de unión a cadena sencilla, 120, 121, 122, 123, 316-317, 733-734
Proteína de unión a la maltosa, 355-356
Proteína de unión a la penicilina (PBP), 151, 155-156, 883-884
Proteína de unión al DNA, 230-231, 231-232, 319-320, 577-578, 578-579
  estructura, 227-228
  interacción con los ácidos nucleicos, 227-228
Proteína de unión periplasmática, 42-44
proteína DnaK, 241-242, 252-253
Proteína F, 775-776 Proteína fluorescente, 618-620, 639-640
Proteína FMO, 407-408, 407-408
Proteína FNR (regulador fumarato nitrato), 236-237
Proteína gen A, 284-285, 284-286
Proteína Hfq, 248-249
Proteina HPr, 42-43
Proteína Ii, 824-826
Proteína integral de membrana, 38-39, 38-39
  periférica, 38-39
  proteína de transporte, 39-44
Proteína LapA, 650-651
Proteína LexA, 314-315, 315-316
Proteína LuxR, 504-505
Proteína M, 775-776, 819-821, 933-934
Proteína MreB, 153-154
Proteína MyD88, 840-842
Proteína NrpR, 234-235
Proteína NtrC, 244-245
Proteína OmpC, 235-236
Proteína OmpF, 235-236
Proteína OmpH, 670-671
Proteína OmpR, 235-236, 364, 365
Proteína Opa, 774-775
Proteína periplasmática, 37-38
Proteína perqueña ácida soluble de la espora (SASPs), 56-57, 57-58, 180-181
Proteína Pho2, 345-346
Proteína PII, 236-237
Proteína RecA, 314-315, 315-316, 316-317
Proteína receptora AMP cíclico (CRP), 231-232, 233-234
Proteína reguladora InvJ, 777, 779
Proteína reguladora, 227-228, 231-232, 232-233, 234-235, 244-245, 247
Proteína represora, 230-231, 231-232, 254-255, 267-268
  en *Archaea*, 234-235
Proteína Rho, 127-128
Proteína SecA, 141-142, 143
Proteína SurR, 234-235
Proteína temprana, 276-277
  evidencia de vida microbiana, 371-372
  evolución, 370
  formación e historia temprana, 370-374
  origen del planeta, 370-372
  primitiva
    microorganismos, 371-372
    origen de la vida, 578-580
  T4, 265-266, 266-267
  vida, a través del tiempo, 5-6
  virus, 281-283
Proteína terminal, 289-291
Proteína tirosina cinasa (PTK), 840-842, 844-845
Proteína transmembrana, 47-48
Proteína transportadora de acilos, 103-105
Proteína Tus, 121, 124
Proteína VPg, 293-294, 294-295
Proteína-1 quimioatrayente de macrófagos (MCP-1), 855-856, 857
Proteínas adaptadoras, 840-842, 844-845
Proteínas Cas, 330
Proteínas de adherencia, 774-775
Proteínas de choque frío, 170, 243-244
Proteínas de choque térmico (calor) (HSP), 141-142, 240-242, 254-255, 586, 840, 842
Proteínas de cubierta, rabdovirus, 295-296
Proteínas de hierro no hemo, 94-95
Proteínas de la fase aguda, 840-841
Proteínas de mamíferos, modificadas genéticamente, 356-358
Proteínas de transporte
  aquaporinas, 38-39
  eventos en el transporte y transportadores, 40-43
  necesidad, 39-41
  síntesis regulada, 40-42
Proteínas de unión, 47-48
Proteínas del complemento, 798-799
proteínas específicas del virus, 260-261
Proteínas Fli, 59-60, 60-61
Proteínas Fts, 150-154, 154
Proteínas Gvp, 54-55
Proteínas hierro-azufre, 79-80, 94-95, 409-410, 411-412
Proteínas hipotéticas, 198-199, 201-202, 206
Proteínas homodiméricas, 227-228
Proteínas medias, 276-277
Proteínas Mer, 694-696
Proteínas MHC. *Véase* Proteínas del complejo principal de histocompatibilidad
Proteínas Min, 151
Proteínas Mot, 59-60, 60-61, 61-62
Proteínas Nod, 729-731
Proteínas tardías, 276-277
  bacterias anaerobias oxidadoras de hierro, 487-488
  bacterias del ácido acético, 492-493
  bacterias denitrificantes, 438-439
  bacterias entéricas, 518-521
  bacterias nitrificantes, 484-485, 485-486
  bacterias oxidadoras de azufre, 478-479, 479-480
  bacterias oxidadoras de hidrógeno, 488-489
  bacterias predatorias, 492-494
  bacterias rojas del azufre, 467-471
  bacterias rojas no del azufre, 470-471
  bacteriofago T4, 265-266, 266-267
  desasimilación de los reductores de hierro, 485-486
  en el mar, metagenómica de, 213-214, 214-216
  epsilonproteobacterias, 462, 477-478, 492-494, 512, 513, 521-522, 522-524, 657-658, 657-658, 662-663, 668-669, 673-674, 675-676, 676, 998-999
    características de los principales géneros, 522-523
    principales órdenes, 522-523
  géneros destacados, 514-515
  genoma, 204-205
  grupo alfa, 204-205, 216-217, 375-376, 462, 470-471, 471-472, 482-483, 484-485, 485-486, 487-488, 488-489, 489-491, 492-493, 492-494, 499-500, 503-504, 512, 513-517, 628-629, 657-658, 662-663, 666-667, 667-668, 668-669, 673-674, 675-676, 676, 727-728, 756-757
    principales órdenes, 513
  grupo beta, 204-205, 462, 470-471, 471-472, 478-479, 482-483, 484-485, 486-487, 488-489, 502-503, 512, 513, 516-518, 628-629, 657-658, 662-663, 668-669, 673-674, 675-676, 712-713, 726-727, 727-728, 747-748, 748, 750, 756-757, 765-766
    principales órdenes, 516-517
  grupo delta, 434-435, 449, 462, 477-478, 482-483, 484-485, 485-486, 487-488, 492-494, 493-495, 503-504, 512, 513, 521-522, 522-523, 657-658, 662-663, 668-669, 673-674, 675-676, 676
    principales órdenes, 522-523
  grupo gamma, 204-205, 462, 467-469, 477-478, 478-479, 479-480, 484-485, 486-487, 487-488, 488-489, 489-491, 492-494, 503-504, 512, 513, 518-522, 628-629, 635-636, 657-658, 657-658, 662-663, 664-665, 667-668, 668-669, 673-674, 675-676, 676, 743-744, 747-748, 748, 750, 756-757
    Enterobacteriales, 518-521, 657-658
    principales órdenes, 518-519
    Pseudomonadales, 518-519, 520-522, 657-658, 668-669, 673-674
    Vibrionales, 518-519, 521-522, 668-669, 673-674
  grupo zeta, 462, 487-488, 521-522
  metanótrofos y metilótrofos, 488-492
  microbioma humano, 743-744, 744-745, 745-746
  neutrófilos aeróbicos oxidadores de hierro, 486-488
  principales géneros, 513
  virus, 281-282, 282-283
Proteobacteria, 7-8, 378-380, 380-381, 381-383, 463, 482-483, 512-524, 550, 657-658, 657-658, 662-663, 672-673, 739-740, 750-751, 765-766, 767-768, 768-769, 922-923
Proteoma, 203-204, 210-211, 212-213, 223
  mitocondrial, 203-204
Proteómica, 22-23, 210-212, 214-215, 223
  comparación, 211-212
  una célula, 214-215, 637-638
Proteómica estructural, 211-212
Proteorodopsina, 558-559, 628-629, 667-668, 669-670, 677-678
Proteus mirabilis, 520-521, 746-747, 771-773
Proteus vulgaris, 337-338, 520-521
Proteus, 518-519, 519-520, 520-521, 765-766, 768-769, 769, 771, 786-787, 985-986, 990-991
Protistas, 3-4, 586, 587-596, 607-608
  alveolados, 584-585, 586, 589-592
  amoebozoos, 586, 594-596
  cercozoanos, 586, 592-594
  diplomonadinos, 378-380, 586, 587-588
  enfermedades infecciosas, 911-912
  enfermedades transmitidas por alimentos, 992-994, 1002, 1014-1015
  estramenópilos, 584-585, 586, 591-593
  euglenozoanos, 586, 588-590
  infecciones parasitarias de las vísceras, 1012-1015
  parabasálidos, 586, 587-589
  radiolarianos, 592-593, 593-595
  rumen, 742-743
  sistemas de distribución del agua como reservorios, 715-716
Protoplasto, 529-531
Prototrofo, 309-310
Protozoa. *Véase* Protistas.
Provirus, 273, 274, 276-277, 299
Proyecto de base de datos ribosomal-II, 378-380
Proyecto microbioma humano (HMP), 742-743
PrPC, 301-302, 302
PrPSc, 301-302, 302
Prueba, 592-594
Prueba cutánea, 808-811, 872-873
Prueba de aglutinación, 872-873, 873-874
  aglutinación pasiva, 873-874
  VIH, 956-957
Prueba de Ames, 312-313
Prueba de la catalasa, 518-519
Prueba de la oxidasa, 518-519, 520-521, 521-522
Prueba de sustratos definidos, 986-987
Prueba rápido de identificación de antígeno,
Pruebas con isótopos estables, 636-637, 640
Pruebas del «cuidado de puntos», 877-879
Pruebas rápidas, 876-877, 877-879
Pruno de la cárcel, 983
Pseudanabaena, 464-465
Pseudoalteromonas, 518-519
Pseudobutyrivibrio, 739-740
Pseudomembrana, 934-936
Pseudomonadáceas, 428-430, 520-522, 550
Pseudomonadales, 518-519, 520-522, 657-658, 668-669, 673-674
Pseudomonas, 51-52, 98-100, 119, 174-175, 320-321, 428-430, 455, 488-489, 513, 518-519, 520-522, 612, 685-686, 715-716, 765-766, 868-869, 870-872, 990-991
  patogénicas, 521-522
Pseudomonas aeruginosa, 30-31, 32-33, 81-82, 166, 240-241, 357-358, 521-522, 648-649, 649-651, 715-716, 778, 779-781, 867-868, 868-869, 889-891, 984-985
  genoma, 192-193, 193
  resistencia antimicrobiana, 891-892
Pseudomonas fluorescens, 521-522, 612, 649-650, 650-651
Pseudomonas marginalis, 521-522
Pseudomonas mendocina, 477-478
Pseudomonas putida, 521-522
Pseudomonas stutzeri, 437-438, 438-439, 521-522
Pseudomonas syringae, 521-522
Pseudomureina, 48-50
Pseudonocardia, 749
Pseudoplasmodium, 595-596
Pseudópodos, 592-593, 593-594, 594-595
Pseudouridina, 135-136
Psicrófilo, 1, 9-10, 167, 168-169, 188-189, 669-670
  adaptaciones moleculares, 168-170
Psitacosis, 542-543, 810-811, 911-912, 917-918
Psoriasis, 746-747
Psychroflexus, 537-538, 540
Psychromonas, 168-169
Puentes de sal, 577-578
Puentes peptídicos, pared celular, 45-46

Pulga de la rata, 974-975
PulseNet, 994-995
Puniceispirillum, 662-663
Puntos calientes para las mutaciones, 313-314
Puntos isoeléctricos, 210-211
Purificación del agua (potabilización), 908-909, 986-987, 1013-1014
Purina, 80-81, 112-113, 145-146
  fermentación, 92-94, 427-428, 528-530
  síntesis, 102-104
Puromicina, 326-327, 881-882
Pus, 819-821, 931-932, 932-933
Putrefacción, 14-15, 15-16, 430-431, 529-531
Putrescina, 427-428, 431-432, 529-531, 577-578
PvuI, 337-338
Pyrobaculum, 485-486, 570-572, 571, 573
Pyrobaculum aerophilum, 572-573
Pyrococcus, 219, 554, 562-563, 570-572
  virus, 288-289
Pyrococcus abyssi, 288-289
Pyrococcus furiosus, 234-235, 340-341, 436-437, 448, 449, 564-565
Pyrococcus horikoshii, 193
Pyrodictium, 477-478, 554, 570-572, 571, 573, 572-573, 573-574, 675-676
Pyrodictium abyssi, 577-578
Pyrodictium occultum, 573-574, 575-576, 578-579, 580
Pyrolobus, 380-381, 570-572, 571, 573-573, 675-676
Pyrolobus fumarii, 167, 571, 573-573, 573-574, 575-576
Pythium, 591-592
Queso, 10-12, 991-992
Queso suizo, 431-432, 533-534
Quimera, como la célula eucariota, 375-376
Química combinatoria, 893-894, 894-895
Quimiocina, 792-793, 800-801, 812-814, 828-829, 855-856, 857
  producido por macrófagos, 857
Quimiolitotrofía, 21-22, 23-24, 83-84, 380-381, 417-425, 554
  análisis metagenómico de los genes expresados, 629-630
  energética, 417-419
  límite de temperatura superior para el metabolismo energético, 578-579
Quimiolitotrofo, 21-22, 83-84, 100-101, 109, 417-418, 457-458, 483-484, 508-509, 513, 645-647, 663-664
  bacteria oxidadora de hidrógeno, 418-419, 487-489
  bacterias nitrificates, 483-486
  bacterias oxidadoras del azufre, 477-481, 687-688
  estricto, 477-478, 487-488
  facultativo, 418-419, 477-478, 488-489, 517-518
  fuentes hidrotermales, 675-676, 753-755
  oxidadores de amonio, 666-667
  subsuelo profundo, 659
Quimiolitrotrofos oxidadores de amonio, 666-667
Quimioorganotrofo, 580
Quimioorganotrofo, 83-84, 100-101, 109, 417-418, 440-442, 516-517, 517-518, 653-654, 669-670
  Archaea, 554, 567-568
  desnitrificantes, 485-486
  temperatura superior, 578-579, 580
Quimiorreceptor, 47-48, 63-64, 64-65
Quimiostato, 158-161, 188
  densidad celular, 159-160
Quimiotaxia, 63-66, 74-75, 236-239
  metabolismo, 237-238
  proteínas, 211-212, 212-213
  técnica de estudio por capilaridad, 64-65
Quimiotrofos, 83-84
Quinacrina, 1013-1014
Quinolonas, 880-882, 882-883, 889-891, 897
Quinona, 93-94, 94-97, 96-98, 409-414, 418-419, 452-453
Quitina, 540, 598-599, 607-608, 887-888
Quitinasa, 363
Quitridiomicosis, 600-601
R_0 (número básico de reproduccón), 905-908
Rabdovirus, 270-271, 294-296, 964
Rabia, 15-16, 289-290, 294-295, 785-786, 911-912, 913-914, 964-966, 979-980
  diagnóstico, tratamiento, y prevención, 965-966
  muertes, 963
  murciélagos y, 963
  síntomas y patología, 964
Racemasa, 131-132
Radiación electromagnética, 180-181
Radiación ionizante
  esterilización, 180-182
  fuentes, 182
  mutagénesis, 313-314, 314-315
Radiación ultravioleta, 546-547
  desinfección, 714-715
  esterilización, 180-181
  mutagénesis, 313-314, 314-315
Radical hidroxil, 178, 180-181, 314-315, 819-821
Radicales hídrido (H·), 180-181
Radicales libres, 314-315
Radiolarianos, 592-593, 593-595
Radionucleidos, terapéutico, 335
Rads, 182
Raíces laterales, 729-730
Raíz
  comunidad microbiana, 648-649
  lateral, 729-730
Raíz marrón, 595, 597
Ralstonia, 488-489, 513, 516-517
Ralstonia eutropha, 418-419, 488-489, 707-708
Raltegravir, 957-958
Rama de patógenos especiales del Centro para el Control de Enfermedades y Prevención, 966-968, 967-968
Rango de pH circumneutral, 172-173
Ratones ciervo, 966-968
Rayos cósmicos, 314-315
Rayos gamma, 314-315
  esterilización, 180-181, 182
Rayos X
  del pecho, tuberculosis, 936-937
  esterilización, 180-181, 182
  Mutagénesis X, 313-314, 314-315
RBS. *Véase* sitio de unión al ribosoma, -
Reacción al veneno de abeja, 808-810
Reacción antígeno-anticuerpo, 834-835, 835-836, 872-873
Reacción cruzada, entre antígenos, 822-823
Reacción de aglutinación, 873-874
Reacción de iniciación, 702-703
Reacción de la tuberculina, 797-798, 808-810
Reacción de polimerización, 152
Reacción de Stickland, 430-431, 457-458, 529-531
Reacción endergónica, 84-85, 85-87, 109
Reacción exergónica, 84-85, 85-87, 109
Reacción fosforoclástica, 430-431
Reacción peptidil transferasa, 140
Reacción química
  de formación, 84-87
  endergónica, 84-85, 85-87
  energía libre, 84-85
  exergónica, 84-85, 85-87
Reacción rédox, 86-89
  balance intermedio, 86-87, 91-92
  de la glicóslisis, 90-92
Reacciones anabólicas (anabolismo), 88-89, 100-105, 109
Reacciones catabólicas (catabolismo), 86-87, 109
Reacciones de falso negativo, 865-867
Reacciones de oxidación-reducción, 86-89, 91-92
Realción superficie-volumen, 36-38, 499-500
RecA independiente de DNA, 547-548
Receptor
  de la célula B, 795-796, 796-797, 797-798, 812-814
  virus, 263-264
Receptor célula T, 823-824
Receptor de las células B, 795-796, 796-797, 797-798, 812-814
Receptor de las células T (TCR), 795-796, 796-797, 797-798, 811-812, 814-815, 819-821, 821-822, 822-823, 823-824, 824-826, 827-828, 842-844
  diversidad, 832-833, 850-852
  dominio constante, 823-824, 842-844, 850-851
  dominio variable, 823-824, 842-844, 850-851
  estructura, 823-824, 850-851, 851-852
  genética, 850-852
  unión con el antígeno, 823-824, 850-851
Receptores C3, 799-800
Receptores *Fc*, 798-799, 799-800
Receptores parecidos a NOD (NLRs), 840, 842
  pirina 3 (nlrp3), 840, 842
Receptores similares a Toll (TLRs), 819-820, 837-838, 840-841, 840, 842
Receptores Toll, 819-820, 840, 842
Rechazo del transplante, 846-847
Recombinación, 219, 308-309, 316-318, 332-333, 386, 400-401, 848-850, 923-924, 924-925, 929, 942-943, 944-945
  detección, 318
  en la transducción, 320-321, 321-322
  en la transformación, 319-320
  eventos moleculares, 316-318
  homólogo, 316-318, 320-321, 325-326, 386
  no homólogos, 386, 390
  reordenación somática, 848-850
Recombinación genética. *Véase* Recombinación
Recombinación homóloga, 316-318, 320-321, 325-326, 386
Recombinación no homóloga, 386, 390
Recombinación somática, 832-833
Recuento de células al microscopio, 160-162
Recuento de colonias. *Véase* Recuento en placa
Recuento de viables, 158-159, 161-164, 188-189. *Véase también* Recuento en placa
  muestras naturales, 618-619
Recuento directo al microscopio, 160-161
Recuento en placa, 161-164, 188-189
  anomalía del recuento en placa grande, 163-164
  aplicaciones, 162-163
  diana, 162-163, 163-164
  dilución seriada, 162-163
  fuentes de error, 162-163
Recuento total de células, 160-161
Recuperación de metales, 701-702
Recuperación de minerales, 700-703
Red global Sentinel de infecciones emergentes, 911-912
Red Nacional de Seguridad Sanitaria (NHSN), 911-912
Reducción asimilativa, 436-437
Reducción de protones, 436-437, 448-449
Reducción del anillo, 453-455
Reducción del azufre, 440-441
  células primitivas, 372-373
Reducción del nitrato, 436-439
  asimilativa, 436-437
  desasimilativa, 437-439
Reducción del sulfato, 419-421, 686-688
  asimilativo, 438-439, 439-440
  bioquímica, 439-441
  desasimilativo, 438-439, 439-440
  energética, 439-441
  genes utilizados para evaluar, 621-622
  medidas en la naturaleza, 613-614, 630-631
Reducción desasimilativa del nitrato a amonio, 631-632, 685-686
Reducción desasimilativa, 436-437
Reducción. *Véase* Reacción rédox.
Refrigeración, 168-169
Región -35, 126, 127-128
Región 3′ no traducida (3′-UTR), 226-227
Región 5′ no traducida (5′-UTR), 226-227
Región d-lazo, 203-204
Región de diversidad P, 851-852
Región del operador, 230-231
Región heterodúplex, 318, 331-332
Región *tra*, 322-323
Regiones que determinan complementariedad (CDRs), 847-848, 848-850, 857-858
Regulación, 225-256
  basado en RNA, 247-250
  bucle de retroalimentación, 235-236
  desarrollo en bacterias modelo, 243-247
  enzimas y otras proteínas, 251-253
  fusión génica para estudiar, 345-346
  generalidades, 226-228
  negativo, 244-245
  percepción de quórum, 238-241, 254-255, 319-320, 504-505, 506, 649-650, 650-651, 753-754
  principales modos, 226-228
  señal de transducción, 235-244, 254-255, 840, 842-842
  transcripcional, 226-227, 227-235, 345-346
Regulación de las porinas, 235-236, 236-237
Regulación metabólica, 4-5, 5-6, 24, 77-110. *Véase también* Regulación del metabolismo; Fermentación; Respiración
  asimilación, 436-437
  biosíntesis, 100-107
  células primitivas, dievrsificación metabólica, 372-374
  complementario, 647-648
  conservación de la energía, 83-92
  desasimilación del azufre, 475-481
  desasimilación, 436-437
  fototrófico, 100-101
  hidrocarburo, 450-455
  humano, microorganismos intestinales y, 744-745

química celular y nutrición, 78-81
quimiolitotrófico, 100-101, 373-374
Regulación negativa, 244-245
Regulación positiva, 244-245
Regulación postraduccional, 252-253
Regulación transcripcional, 226-227, 227-235, 345-346
negativo, 229-231
positivo, 230-233
Regulador fumarato-nitrito (FNR) proteína, 236-237
Regulador GcrA, 244-245, 244-245
Regulón, 231-233, 240-241, 244-245, 254-255
Regulón de la arginina, 231-232
Regulón de la maltosa, 231-232, 232-233
Regulón *nif*, 244-245, 246
Regulón *pho*, 236-237
Regulón, sistema SOS, 314-315
Rehidratación cólera, 986-987
Reinos, 377, 379
Relación de sexos sesgada, 747-748
Relaxina, 357-358
Reloj molecular, 388-389, 400-401
Reorganización de genes, 832-834
Reorganizaciones somáticas, 848-850
Reovirus, 270-271, 271-273, 296-297
replicación, 296-297
tipo, 3-4, 281-282
Reparación de daños en el DNA de una sola cadena, 314-315
Reparación DNA, 314-315
Deinococcus radiodurans, 547-548
propenso al error, 314-315, 315-316
Repelente, 63-64, 64-65, 236-237, 237-238
Repelentes de insectos, 969-970, 971-972, 972-973
Repetición de extremos, DNA, 264-265, 286-287
Repetición invertida, 127-128, 128-129, 129, 227-228, 327-328
enzimas de restricción, 336-337
Réplica en placa, 308-310, 338-340, 342-343
Replicación, 4-5, 113, 119-124, 145-146
ácido nucleico vírico, 261-263
adenovirus, 289-291
bacteriófago lambda, 268-270
bacteriofago Mu, 287-288
bacteriófago T4, 264-265, 265-267
bacteriófago T7, 286-287
bidireccional, 122, 123, 286-287, 290-291
células de crecimiento rápido, 152
cadena avanzada, 120-124
cadena retrasada, 120-124
cebadores, 120-122, 123, 124, 125
círculo rodante, 267-163, 276-277, 284-285, 284-286, 291-292, 304, 323-324, 323-325, 332-333
conservativa, 297
coronavirus, 295-296
corrección de errores, 124
dirección, 122, 123
DNA desenrollado, 120-121, 122
errores, 124, 311-312, 313-314
estructuras theta, 122, 123
fago atemperado, 267-268
fidelidad, 124
formación del anillo FtsZ, 151-152
genoma, en células de crecimiento rápido, 152
hepadnavirus, 298, 300-301
herpesvirus, 291-292
iniciación, 120-121
moldes, 119-124
origen de, 120, 121, 123, 290-291, 350-351, 352-354
plásmido, 118, 346-347
poliovirus, 293-294, 294-295
rabdovirus, 295-296
reovirus, 296-297
retrovirus, 273, 297
semiconservativa, 119, 145-146, 284-285
terminación, 124
virus animal de DNA de doble cadena, 288-291
virus de la gripe, 296-297
virus de la viruela, 288-290
virus, 258-259
Replicación bidireccional, 122, 123, 286-287, 290-291
células de crecimiento rápido, 152
Replicación conservativa, 297
Replicación por círculo rodante, 267-269, 276-277, 284-285, 284-286, 291-292, 304, 323-324, 323-325, 332-333
Replicación semiconservativa, 119, 145-146, 284-285
Replicación *Theta*, 122, 123
Replicación vírica, 258-259
Replisoma, 122, 123, 124, 145-146
Representación semilogarítmica, 155-157
Represión por catabolito, 232-234, 240-241, 241-242, 254-255
Represión, 229-231, 254-255
Represor, 235-236, 350-351, 351-352
lambda, 268-269
virus, 268-269
Represor Cro, 268-270
Represor de la arginina, 230-231, 231-232
Represor de Lambda, 227-228, 268-269
Represor *lac,* 227-228, 227-228, 351-352, 355-356
Represor *trp*, 227-228
Reproducción sexual, hongos, 599-600, 601-603
Requerimientos nutricionales, capacidad biosintética y, 81-82
Resazurina, 176-177, 869-870
Reservorio de insectos, 909-910
Reservorio, enfermedades infecciosas, 901-902, 906-909, 909-910, 925-926
Resfriado común, 940-942
Resfriado común, 940-942
Residuos de anclaje, 846-848
Residuos de carbón, 561-562, 562-563
Resistencia a drogas múltiple, 118, 892-893, 894-895
Resistencia a glifosato, 358-359, 359-360
Resistencia a la radiación, *Deinococcus radiodurans*, 546-547, 547-548
Resistencia a la tetraciclina, 861, 889-891
resistencia a las carbapenemas *Enterobacteriaceae,* 864-865
Resistencia a las drogas, 310-311, 889-893, 895-896, 914-915. *Véase también R*esistencia antimicrobiana; drogas antimicrobianas
Resistencia a los antibióticos, 118, 119, 309-310, 327-328, 328-329, 517-518, 884-885, 885-886, 945-946. *Véase también* Plásmido R
abejas, 861
contribución a la emergencia de patógenos, 915-916
genes cromosómicos, 889-890, 889-891
genes, 118
infecciones nosocomiales, 865-866, 915-916
mutación seleccionable, 308-309
mutagénesis por transposones, 328-329
revertir, 892-893
Test de susceptibilidad a los antibióticos específica en bacterias, 870-872
vencer, superar, 893-895
Resistencia a los fármacos antimicrobianos, 889-893, 895-896, 914-915. *Véase también* Resistencia a los antibióticos
dispersión, 889-892
mecanismos, 889-891
prevención, 892-893
Test de susceptibilidad a los antibióticos, 870-872
Resistencia al mercurio, 694-696
Resistencia de los insectos, 358-360
Resistencia, antibiótico. *Véase* resistencia a los antibióticos.
Resolución, 74-75
microscopio, 28, 29, 32-33
Resolvasas, 318
Resorcinol, 427-428
Respiración, 90-92, 93-101, 109
aeróbica, 93-97, 96-98, 97-100, 241-242, 436-437, 437-438, 438-439, 448
anaeróbica. *Véase* Respiración anaerobia.
ciclo del carbono, 681-682, 682-683
fuerza motriz de protones y, 95-98
Respiración aeróbica, 93-94, 436-437, 437-438, 438-439, 448
ciclo del ácido cítrico, 97-100
control global, 241-242
energética, 99
generación de la fuerza protón motriz, durante, 96-98
portadores de electrones, 93-97
Respirarión anaeróbica, 93-94, 98-100, 109, 435-449, 457-458, 547-548, 554, 557-558, 561-562, 645-646
aceptor de electrones, 98-101, 436-437, 447-449
acetogénesis, 440-444
análisis metatranscriptómico de los genes expresados, 629-630
control global, 241-242
energética, 98-101
metanogénesis, 443-447
oxidación anóxica de hidrocarburos unida a, 453-455
reducción del sulfato y azufre, 438-441
reducción y desnitrificación del nitrato, 436-439
Respiración de carbonato, 436-437
Respiración de fumarato, 436-437
Respiración de nitrato, 436-437
Respiración de Sulfato, 436-437
Respiración del azufre, 436-437
Respiración del hierro, 436-437
Respuesta a la proteína reguladora, 235-236, 236-237, 237-238, 254-255
Respuesta al choque térmico, 240-241, 241-244, 252-253,
Respuesta de anticuerpos
primaria, 798-799, 833-834
secundaria, 798-799, 833-834
Respuesta de inmunidad innata, 818-821
Respuesta inmunitaria adaptativa primaria, 814-815
Respuesta inmunitaria adaptativa secundaria, 796-797, 814-815
Respuesta inmunitaria adaptativa, 793-794, 795-796
primaria, 795-39, 814-815
propiedades, 819-822
secundaria, 796-797, 814-815
Respuesta inmunitaria adaptiva, 793-794, 795-796, 819-822
primaria, 795-797, 814-815
secundaria, 796-797, 814-815
aluminio en vacunas, 817
células T colaboradoras, 826-827
innata, 818-821
Respuesta primaria de anticuerpos, 798-799, 833-834
Respuesta secundaria de anticuerpos, 798-799, 833-834
Respuesta SOS, 241-242
Restencia vírica, 310-311
Reticulitermes, 750-751
Retículo, 738-739
Retículo endoplasmático liso, 66-67, 70-71
Retículo endoplasmático rugoso, 66-67, 70-71
Retículo endoplasmático, 3-4, 66-67, 70-71
Retículo-rumen, 738-739
Retinal, 557-558, 558-559
Retinitis, 290-292
Retrovirus, 261-262, 270-271, 271-273, 276-277, 280-282, 297-298, 300-301, 304, 352-353, 954-955
estructura, 273
genes, 298, 300
genoma, 271-273, 297, 298, 300
integración, 299, 298, 300
replicación, 273, 297
transcripción inversa, 299, 298, 300
VIH como, 297
Reversibilidad de la ATPase, 97-98
Reversión, 311-313, 332-333
Prueba de Ames, 312-313
Revertiente, 311-312, 312-313
mismo sitio, 311-312
segundo sitio, 311-312
verdadero, 311-312
Revertiente de segundo-sitio, 311-312
Revertiente del mismo sitio, 311-312
Revertiente verdadero, 311-312
RF. *Véase* Forma replicativa (RF).
RFLP. *Véase* Restricción de polimorfismos de fragmentos de longitud.
Rhizobiales, 513, 514-516, 657-658, 673-674
Rhizobium, 105, 119, 217-218, 513, 514-515, 634-635, 685-686, 727-728, 730-731, 732-733
formadores de nódulos en el tallo, 730-82
grupo de inoculación cruzada, 727-728, 728-729, 730-731
Rhizobium leguminosarum, 728-729
biovar *phaseoli*, 728-729
biovar *trifolii*, 728-729, 729-730
biovar *viciae*, 728-729, 729-730, 730-731
Rhizobium mongolense, 514-515
Rhizobium radiobacter, 514-515, 732-733
Rhizobium trifolii, 50-51
Rhizobium tropici, 728-729
Rhizopus, 599-600, 600-601, 990-991, 1007
Rhodobacter, 105, 320-321, 386-389, 407-408, 470-471, 513, 514-515, 516-517
Rhodobacter capsulatus, 50-51, 307, 388-389
Rhodobacter sphaeroides, 64-65, 470-471
Rhodobacterales, 513, 514-515, 516-517, 668-669, 673-674, 675-676
Rhodoblastus acidophilus, 470-471
Rhodococcus, 320-321
Rhodocyclales, 516-517, 517-518
Rhodocyclus, 513, 516-517, 517-518
Rhodocyclus purpureus, 470-471

Rhodoferax, 470-471, 516-517
Rhodomicrobium, 499-500, 500, 502
Rhodomicrobium vannielii, 470-471
Rhodopila globiformis, 173-174, 470-471
Rhodopseudomonas, 470-471, 499-500, 500, 502, 513, 514-515
Rhodopseudomonas palustris, 405, 407, 453-455, 487-488
Rhodospirillales, 513, 514-515, 516-517
Rhodospirillates, 657-658
Rhodospirillum, 470-471, 513, 516-517
Rhodospirillum centenum, 58-59, 65-66
Rhodospirillum photometricum, 59-60
Rhodospirillum rubrum, 470-471
Rhodothermus, 537-538
Rhodotorula, 990-991, 1007
Ribavirina, 886-887
Riboflavina, 79-80, 94-95, 769, 771
Ribonucleasa, 128-129, 140-141, 299, 298, 300, 945-946
Ribonucleoproteínas, 130
Ribonucleotido reductasa, 101-102, 102-103
Ribosa 5-fosfato, 102-103, 103-104
Ribosa, 101-102, 102-103, 124-125
Ribosilación del ADP, 779-781, 780-781
Ribosoma, 3-4, 24, 66-67, 113, 137-139, 138, 145-146, 375-376, 889-891
  antibióticos que afectan a, 882-883
  cloroplasto, 69-70, 584-585
  estructura, 137-139
  eucariótico, 66-67, 67-68
  Liberación (de ribosomas atrapados), 140
  mitocondrial, 69-70, 584-585
  procariótico, 137-139, 140
  sitio-A, 137-139, 138, 140
  sitio-E, 137-139, 138
  sitio-P, 137-139, 138, 140
  subunidades, 137-139
  traducción, 137-140
Ribotimidina, 135-136
Ribotipado, 395-396, 400-401
Ribotipo, 395-396
Ribozima, 248-249
Ribulosa 1,5-bisfosfato, 414-415, 414-416
Ribulosa 5-fosfato, 101-102, 414-415, 414-416, 452-453
Ribulosa bifosfato, 414-416
Ribulosa bisfosfato carboxilasa (Rubisco), 68-70, 203, 414-416, 457-458, 755-756
Ricadhesina, 728-729
Rice Cluster II, 553
Richelia, 464-465, 467-468, 467-469
Ricinus communis, 917-918
Ricketsias, 966-970, 979-980
Rickettsia, 199-200, 217-218, 513, 514-515, 515-516, 746-747, 747-748, 876-877
  comparación con las clamidias y los virus, 541, 542-543
Rickettsia popilliae, 515-516
Rickettsia prowazekii, 515-516, 803-804, 917-918, 966-969
  genoma, 193
Rickettsia rickettsii, 515-516, 966-968, 968-969
Rickettsia sennetsu, 969-970
Rickettsia typhi, 967-968
Rickettsiales, 513, 514-515, 515-516
Rifamicina, 889-891
Rifampicina, 881-882, 883-884, 937-938, 938-939, 988-989
Riftia, 481, 754-755
Riftia pachyptila, 748, 750, 755-756
Rimantadina, 943-944
Rimicaris, 523-524
Rinitis, 940-941
Rinovirus, 886-887, 940-942
Riqueza de especies, 644-646, 677-678
Rizobios, 514-515, 727-733
Rizosfera, 653-654, 654-655, 677-678
RNA antisentido, 893-894
RNA chaperonas, 248-249
RNA de doble cadena, 795-796
RNA de la subunidad pequeña del ribosoma (SSU rRNA), 380-381, 381-383, 386, 400-401
  análisis de la comunidad, 621-622
  árbol de la vida basado en, 378-381
  estabilidad, 578-579
  filogenia basada en, 377, 379-383
  ribotipado, 395-396
RNA de transferencia (tRNA), 113, 125, 135-136, 146-147
  3′-final o acceptor terminal, 135-136
  activación, 136
  bases modificadas, 135-136
  bucle aceptor, 135-136, 136
  carga, 136
  cebador para la transcripción inversa, 299, 298, 300
  codificado en el cloroplasto, 203
  codificado en la mitocondria, 203-204
  Estructura de trébol, 135-136
  estructura, 135-136
  initiador, 137-139, 138
  lazo anticodón, 135-136
  lazo D, 135-136, 136
  mutaciones supresoras, 311-313
  reconocimiento, 136
  traducción, 137-139
  unidad de transcripción, 127-129
RNA desnudo, 298, 300-301
RNA endonucleasa, virus de la gripe, 296-297
RNA mensajero (mRNA), 113, 145-146
  adición, 131-132
  CARD-FISH, 620-621
  clases, 291-292
  clonación de genes de mamífero vía, 354-355
  estructura en forma de lazo, 250
  eucariótico, 131-132
  interacciones rRNA, 140
  interruptores, 248-250, 254-255
  metaproteómica, 629-630, 639-640
  metatranscriptómica, 629-630
  policistrónico, 128-129, 137-139, 230-231
  posibles marcos de lectura, 134-135
  procariótico, 128-129
  procesado RNA, 131-132
  retrovirus, 298, 300-298, 300-301
  sitio de unión al ribosoma, 137-139, 138
  traducción, 137-140
  transcripción, 125
  una cadena, 113
  virus-específico, 280
RNA monocatenario, 113
RNA no codificante (ncRNA), 198-199, 247, 254-255
RNA pequeños antisentido, 248-249
RNA pequeños de interferencia (siRNAs), 301-302
RNA polimerasa II, 129
RNA polimerasa, 113, 114, 125-128, 145-146, 288-289, 289-290, 295-296, 298, 300-301, 889-891
  Archaea, 126, 129
  bacteriófago T7, 286-287
  comparación de tres dominios, 126
  control positivo de la activación de la unión, 230-232
  dependiente de RNA, 280
  dirigido por DNA, 881-882
  específico de virus, 280
  eucariótico, 126, 129
  factor sigma. *Véase* Estructura del factor sigma, 126
  interacción con el promotor bacteriano, 126, 127-128
  núcleo enzimático, 125, 127-128
RNA regulador, 240-241, 247-249, 301-302
RNA replicasa, 260-261, 269-270, 276-277, 279, 280, 291-292, 293-294, 295-296, 296-297, 304
  coronavirus, 294-295
  fago MS2, 291-294
  poliovirus, 293-294, 294-295
  rabdovirus, 295-296
RNA ribosómico (rRNA), 113, 125, 145-146, 400-401
  codificado en la mitocondria, 203-204
  codificado en los cloroplastos, 203
  diversidad microbiana, 6-7
  filogenia en eucariotas basado en, 586
  interacciones mRNA, 140
  Nanoarchaeum, 567-568
  relaciones evolutivas, 7-8
  secuencias y evolución, 377-378, 382-384
  síntesis de proteínas, 137-140
  síntesis en el nucleolo, 67-68
  sondas par muestras naturales, 620-621
  subunidad pequeña (SSU rRNA), 380-381, 381-383, 386, 400-401
    análisis de la comunidad, 621-622
    filagenia basada en, 377, 379-383
    ribotipado, 395-396
    estabilidad, 578-579
    árbol de la vida basado en, 378-381
  traducción, 140
  unidad de transcripción, 127-129
RNA, 4-5, 145-146. *Véase también* Transcripción; Traducción
  auto-replicación, 371-372, 372-373
  catalítico, 140, 371-372
  cRNA, 208, 209-210, 340-342, 354-355, 356-357, 879-880
  desnudo, 298, 300-301
  doble cadena, 795-796
  estable, 128-129
  estructura primaria, 125
  estructura secundaria, 125
  estructuras brazo-bucle, 127-128, 128-129, 250
  genomas, virus con, 291-298, 300-301
  interferente pequeño (siRNA), 301-302
  longevidad, 127-129
  macromolécula de la información, 112-113, 114
  mensajero. *Véase* RNA mensajero (mRNA)
  metatranscriptómica, 629-630, 639-640
  no codificante, 198-199, 247, 254-255
  pequeño (sRNA), 141-142, 247-249
  regulador, 240-241, 247-249, 301-302
  ribosómico. *Véase* RNA ribosómico (rRNA)
  transferencia. *Véase* RNA de transferencia (tRNA)
RNAs estables, 128-129
RNAs pequeños (sRNAs), 141-142, 247-249
  tipos, 248-249
RNaseH, 341-342
Rocas sedimentarias, 371-372
Rocas, antiguas, 371-372
Rodamina B, 874-875
rodofíceas, 603-604
Rodopsina en el metabolismo energético, 380-381
Rodopsina, 557-558, 558-559, 667-668
Rodopsinas sensoriales, 558-559
Roentgen, 180-181
Rojo de rutenio, 50-51
Roseburia, 743-744
Roseiflexus, 473-474, 652-653
Roseobacter, 471-472, 513, 514-515, 516-517, 666-667
Roseta, 479-480, 501, 500, 502
Rotavirus, 803-804, 804-806, 876-877, 1002
Rotura postranscripcional, 293-294
rRNA. *Véase* RNA ribosómico
RT-PCR *Véase* reacción en cadena de la polimerasa tanscriptasa inversa-(RT-PCR)
rubeola, 911-912, 939-940
  número básico de reproducción, 905-906
rubeola. *Véase* Sarampión
Rubisco, 68-70, 203, 414-416, 457-458, 755-756
  duplicación del gen, 216-217
Rubrivivax, 470-471, 516-517
Rumen, 9-11, 496-498, 737-738, 761-762, 769, 771
  anatomía y acción, 737-739
  bacterias, 738-741
  bovino, 523-524
  ciliados, 589-590
  cítridos, 600-601
  espiroquetas, 498-499
  fermentación microbiana, 738-739
  hongos, 742-743
  protistas, 742-743
Rumiante, 736-737, 737-738. *Véase también* Rumen
Ruminobacter amylophilus, 739-740, 741
Ruminococcaceae, 739-740, 743-744, 750-751
Ruminococcus, 739-740, 743-744, 765-766, 768-769
Ruminococcus albus, 739-740, 741
Ruptura del anillo, 451-452, 453-455
Rusticianina, 421-422
Ruta de administración de un inmunógeno, 822-823
Ruta de la acetil-CoA, 425, 439-441, 442, 445, 446, 457-458, 490-492, 492-493
  acetogénesis, 442-444
Ruta del benzoil-CoA, 453-455
Ruthia, 748, 750
S-Adenosilmetionina, 248-250
Sacarosa, 174-175, 175-176, 786-787
  fermentación, 91-93
Saccharomyces bailii, 174-175
Saccharomyces cerevisiae, 3-4, 31-32, 67-68, 93-94, 126, 182, 200-201, 206, 236-237, 238-239, 328-329, 345-346, 352-354, 584-585, 599-600, 601-603, 619-620, 807-808, 991-992. *Véase también* Levadura
  ciclo de vida, 601-602, 602-603
  duplicación del gen, 216-217
  expresión del gen, 209-210
  genoma mitocondrial, 203-204
  genoma, 203-204, 206-207
  hospedador de clonación, 349-350
Saccharomyces, 599-600, 601-603, 770, 990-991, 991-992
  hongos intestinales, 214-216
  rouxii, 174-175
Saccharopolyspora erythraea, 537-538
Safranina, 29, 30-31
Salchichón, 10-12, 991-992, 997-998
Salinas marinas, 556-557
Salinibacter, 537-538, 556-557
Saliva, 766-767
Salmón *AquAdvantage*™, 359-360
Salmon, crecimiento rápido, 359-360
Salmonella, 10-12, 50-51, 119, 320-321, 427-428, 518-519, 519-520, 774-775, 783-785, 785-786,

786-787, 795-797, 799-800, 800-801, 868-869, 870-872, 876-877, 891-892, 917-918, 990-991, 991-992, 992-994
aislamiento, 997-998
endotoxina, 47-48
epíteto de especies aceptadas, 996-998
factores de virulencia, 777, 779
infección alimentaria, 996-998
lipopolisacárido, 46-47
septicemia, 954-955
virulencia, 777, 779
Salmonella enterica, 312-313, 320-321
pan genoma, 220-221
serovar Anatum, 321-322
serovar Enteritidis, 997-998
serovar Paratyphi, 803-804, 835-836
serovar Typhi (*Salmonella typhi*), 51-52, 803-804, 872-873, 891-892, 908-909, 920, 984-985, 988-989, 989-990, 997-998
serovar Typhimurium (*Salmonella typhimurium*), 59-60, 182, 388-389, 771-773, 773-774, 777, 779, 997-998
test de Ames, 312-313
Salmonelosis, 778, 911-912, 920, 996-998, 1004-1005
diagnóstico, tratamiento, y prevención, 997-998
patogénesis y epidemiología, 997-998
Salsa de soja, 991-992
Salto antigénico, 296-297, 304, 923-924, 941-942, 942-944, 961-962
Salud pública, 900-901, 901-902, 908-914, 925-926. *Véase también* Epidemiología
calidad del agua, 985-987
echar abajo el sistema, 916-917
enfermedad infecciosa y, 908-913
Sándwich de antígeno EIA, 876-878
Sanger, Frederick, 192-193
Sangre, 785-786, 786-787, 792-795
circulación, 792-793
cultivo, 866-867, 867-868, 868-869
infecciones nosocomiales del torrente sanguíneo, 862-866
infecciones parasitarias, 1012-1013, 1015-1017
sistema circulatorio, 794-795
tipos de células, 793-794
Sangría, 755-756
Sanguijuelas, 755-757
Saquinavir, 886-887, 893-894, 957-958, 958-959
Sarampión alemán. *Véase* Rubeola
Sarampión, 901-902, 903-904, 909-910, 911-912, 914-915, 938-940
número básico de reproducción, 905-906, 906-908
Sarampión. *Véase* Rubeola
Sarcina ventriculi, 526-527
Sarcina, 34-35, 524-525, 526-527
Sarcoma de Kaposi, 954-955, 956-957
Sarro, 262-263
Bdellovibrio, 493-495
dental, 548, 651-652, 776-777, 786-787, 788-789
vírico, 276-277
SARS, 293-294, 906-907, 906-908, 911-912, 916-918
número de reproducción observada, 906-908
SARS-CoV, 899, 906-907, 911-912
número básico de reproducción, 905-906
SASP. *Véase* Proteínas pequeñas ácidas solubles de la espora.
Scalindua, 425
Scenedesmus, 605-606
Schistosoma mansoni, 1012-1013, 1017-1018, 1018-1019
Schwartzia, 739-740
succinovorans, 741
Scytonema, 464-465
Sebo, 765-766
Sección fina, 32-33
Secuencia de bases, 621-623
Secuencia de un gen especifico por sondas fluorescentes, 879-880
Secuencia de unión al ribosoma, 198-199
secuencia líder, 248-250, 250
Secuencia peptídica X-X-X-X-F-X-X-L, 846-847
Secuencia peptídica X-Y-X-X-X-X-X-X-I, 846-847
Secuencia señal, 141-143, 146-147, 356-357
Secuencia Shine-Dalgarno. *Véase* sitio de unión al reibosoma.
Secuenciación, 192-193, 223
Secuenciación al azar, 194-196, 223
Secuenciación al azar, 194-196, 223
Secuenciación de una sola molécula HeliScope, 194-195, 195-197
Secuenciación del DNA, 192-198
alineamiento de secuencias, 381-383, 382-384
amplificación múltiple desplazada, 214-215, 637-638, 640
árbol filogenético, 382-386
automatizada, 194-195, 340-341
obtención de secuencias de DNA, 381-383, 382-384
Secuenciación metagenómica, 664-665
Secuenciación post-*light*, 196-198
Secuenciación SMRT, Pacific Biosciences, 194-195, 196-197
Secuencias consenso, 126, 127-128, 231-232
Secuencias de inserción (IS), 118, 219, 323-326, 327-328, 331-332
elemento transponible, 311-312
IS2, 327-328
IS50, 327-328
Sedimentación, 713-714
Sedimento, 713-714, 720-721
mar profundo, 672-673
Sedimentos anóxicos, 673-674
Segunda generación de secuenciación del DNA, 194-195, 195-196
Seguridad, laboratorio clínico, 862-865
Selección, 308-309, 318, 332-333, 352-354, 386, 400-401
deleciones de genes en los genomas microbianos, 390
inactivación por inserción detectada por, 348
mutationes y, 386, 386-389
Selección clonal, 851-852, 853, 857-858
Selección negativa, células T, 853, 853-855, 858-859
Selección positiva, células T, 853, 853-855, 858-859
Selenato, 447, 448
Selenio, 78, 79-80, 448
Selenito, 447, 448
Selenocisteína, 132-133, 134-135
Selenomonas ruminantium, 741
subesp. *lactilytica*, 741
Selenomonas, 739-740
SEM. *Véase* Microscopio electrónico de barrido.
Semmelweis, Ignaz, 16-18
Sensibilidad, 865-867, 897
a la radiación, 182
test de diagnóstico, 865-867, 872-873
Sensor cinasa, 235-236, 236-237, 237-238
Sensor EnvZ, 365
Señal célula-célula, 649-650, 650-651
Señal de transducción, 235-244, 254-255, 840, 842-842
linfocitos antígenos-reactivos, 842-845
Señal química, 4-5
Señales secundarias, 853-855, 854-855, 855-856
Señalización interespecies, 650-651
Separación de ácidos nucleicos, 337-339
Septicemia (sepsis), 775-776, 788-789, 868-869, 897, 954-955, 984-985, 989-990
Septo, 150-151
división, 151
formación, 150-151, 152
Serina
código genético, 133-134
estructura, 132-133
síntesis, 102-103
transhidroximetilasa, 451-452, 452-453
Serología, 872-873, 897
Serotonina, 808-809
Serratia, 518-519, 519-520, 520-521
Serratia marcescens, 81-82, 309-310, 337-338, 520-521
symbiotica, 746-747
Sesbania, 730-731
rostrata, 731-732
Sesgo en el enriquecimiento, 613-615, 625-626, 639-640
Seta, 595, 597, 598-599, 607-608
ciclo de vida, 603-604
Shewanella, 448, 477-478, 485-486, 486-487, 504-505, 518-519, 691-692, 703-705
Shigella, 47-48, 119, 219, 427-428, 519-520, 774-775, 783-785, 785-786, 795-796, 796-797, 868-869, 870-872, 917-918, 1001-1002
resistencia antimicrobiana, 891-892
Shigella dysenteriae, 519-520, 778, 779-781, 891-892, 916-917, 998-999
Shigella flexneri, 81-82, 219
Shigella sonnei, 984-985
Shigelosis, 911-912, 1001-1002
Shinella, 727-728
SIDA, 271-273, 601-602, 766-767, 771-773, 786-787, 787-788, 802-803, 862-863, 878-879, 901-902, 902-903, 949-950, 954-955. *Véase también* VIH; VIH/SIDA
casos de VIH/sida a nivel mundial, 921
definición, 954-955
distribución por grupo de riesgo y sexo, 921
EIA-VIH, 877-878, 878-879, 956-957
epidemiología del VIH/SIDA, 921
Inmunotranferencia-VIH, 878-879
mortalidad, 920-921
pediátrico, 922-923
prevención, 958-959
progresión de VIH no tratados, infección a, 955-957, 957-958
transmisión del VIH, 921-923
tratamiento, 957-959
Sideróforo, 775-776, 777, 779, 916-917
Sideroxydans, 691-692
Siembra por estria en placa, 82, 614-615
Siembra por extensión (superficie), recuento de viables, 161-163
Sífilis, 496-497, 496-498, 904-905, 911-912, 912-913, 913-914, 949-950, 951-953, 970-971
casos notificados en Estados Unidos, 949-951
congenita, 951-952, 961-962
primaria, 951-953
secundaria, 951-952, 952-953
terciaria, 951-952
tertiaria, 951-952
SIFV, 287-288, 288-289
Simbionte secundario, 746-748
Simbiontes, 566-567, 727-728
bacterias bioluminiscentes como órgano de la luz, 504-505
genomas, 204-206
heredeble, 746-748, 750
Simbiosis, 723-762
Azolla-Anabaena y *Frankia*, 731-733
bacteria dentro de una bacteria, 747-748
bacterias oxidadoras de sulfuro y eucariotas, 481
calamar–*Aliivibrio*, 752-754
comensalismo, 724
diazotrofos, 482-483
insectos como hábitats microbianos, 746-752
legumbre-nódulo radical, 727-733, 735-736
mamíferos como hábitats microbianos, 736-747
metanotrófico, 490-492
microbioma humano, 742-747
mutualismo, 724
ecosistemas de arrecifes de coral, 756-759
microbiano, 724-727
microrriza, 732-734
planta-bacteria, 726-733
parasitismo, 724
Agrobacterium y la enfermedad de la agalla, 732-734
simbiontes hereditarios parásitos, 746-748, 749
sanguijuelas, 755-757
planta-microorganismo, 726-737
trío de simbiontes en ecosistemas de pastos marinos, 723
Simbiontes de insectos heredables, 746-748, 750
Simbiontes diazotrofos, 482-483
Simbiontes estrictos, 746-747, 747-748
Simbiontes metanogénicos, 684-685
Simbiontes primarios, 746-747, 749
Simbiosis animal-bacteria, 490-492
Simbiosis fototrófica con animales, 756-758
Simbiosoma, 729-730, 730-731, 731-732, 757-758
Simetría pennate (bilateral), 591-592
Simetría radial, 591-592, 592-593, 593-594
Simetría, virus, 258-261
Simporter, 42-43
SIMS, 633-635
SIMS-in situ hibridación o SIMSISH, 634-635
Síndrome de choque tóxico estreptocócico, 911-912, 932-933, 933-934
Síndrome de Goodpasture, 810-811
Síndrome de inmunodeficiencia adquirida. *Véase* Sida
Síndrome de inmunodeficiencia combinada severa, 802-803
Síndrome de inmunodeficiencia combinada severa.
Síndrome de la piel escaldada, 778
Síndrome de la rubeola congénita, 939-940
Síndrome del agua fría, 540
Síndrome del choque tóxico (TSS), 778, 811-812, 911-912, 945-946, 961-962, 994-995
estreptococos, 932-933, 933-934

Síndrome por Hantavirus
epidemiología, diagnóstico y prevención, 966-968
síndrome pulmonar por Hantavirus, 911-912, 965-968, 979-980
síntomas y patología, 965-968
Síndrome respiratorio del medio Este por coronavirus (MERS-CoV), 899, 906-907
Síndrome respiratorio severo agudo (SARS), 293-294, 906-907, 906-908, 911-912, 916-918
Síndrome respiratorio severo agudo por coronavirus (SARS-CoV), 899, 905-906, 906-907, 911-912
Síndrome urémico hemolítico, 779-781, 911-912, 914-915
Singlete (oxígeno), 407-408, 819-821
Sinorhizobium, 105, 482-483, 514-515, 727-728
Sinorhizobium fredii, 728-729
Sinorhizobium meliloti, 618-619, 619-620, 728-729, 729-730, 756-757
Sintenia, 395-396
Síntesis de proteínas inhibidoras de toxinas, 779-781, 780-781
síntesis de purina, 102-103, 103-104
reducción a metano, 443-444, 445
Síntesis translesión, 314-315
Sintrofía, 433-436, 457-458, 522-523, 647-648, 682-685, 697-698
ecología de los sintrofos, 435-436
energética, 434-436
Sistema ABC, 42-44
a través de la membrana citoplasmática, 39-44
grupo de translocación, 40-42, 42-44, 74-75
lac permeasa, 42-43
mediado por transportador, 39-42
Sistema Arc, 236-237
Sistema binomial, 397-398, 400-401
Sistema circulatorio, 792-793, 794-795
Sistema CRISPR, 328-330
Sistema de distribución municipal de agua, 714-715
Sistema de distribución, agua, 714-716, 720-721
Sistema de reparación SOS, 314-315, 315-316, 332-333
Sistema de respuesta sensorial, 63-64
Sistema de restricción-modificación, 264-266
Sistema de transporte ABC, 40-42, 42-44, 74-75, 201-202
Sistema del complemento, 835-836
activación, 835-836
Sistema fosfotransferasa, 42-44
Sistema inmunitario
células y órganos, 792-796
evolución, 842-844
orígenes de la respuesta inmunitaria celular, 793-794
Sistema linfático, 792-793, 794-795
Sistema Nacional de Vigilancia de Enfermedades de Declaración Obligatoria, 911-912
Sistema proteico de exportación TAT, 141-142, 143
Sistema regulador Nar, 236-237
Sistema regulador Ntr, 235-237, 241-242
Sistema Sox, 420-421
Sistemas de regulación positiva en arqueas, 234-235
Sistemática microbiana. *Véase* Sistemática
Sistemática, 22-23, 392-399, 400-401
análisis fenotípico, 396-398
clasificación y nomenclatura, 397-399
concepto de especie , 392-394
métodos taxonómicos, 393-398
Sitio A, ribosoma, 137-139, 138, 140
Sitio aceptor (sitio-A), 137-139, 138, 140
Sitio activo, 85-86, 86-87, 251-252
Sitio alostérico, 251-252
Sitio att, 321-322
Sitio *cos*, 267-268, 321-322, 352-354
Sitio de corte, 130-132
Sitio de pausa de la transcripción, 250
Sitio de salida (E-sitio), 137-139, 138
Sitio de unión al antígeno, inmunoglobulina, 823-824, 830-832, 847-848
Sitio de union CRP, 233-234
sitio de unión de aminoácidos, 135-136
Sitio de unión de antígenos, 831-832
cadena ligera, 830-831
cadena pesada, 830-831
estructura, 830-831
suero, 832-833
Sitio de unión del activador, 230-231, 231-232
Sitio de unión en el ribosoma, 134-135, 137-139, 138, 140, 198-199, 350-351, 351-352, 356-357
Sitio *oriT*, 322-323, 323-325
sitio terminal dependiente Rho, 127-128
sitio-E, ribosoma, 137-139, 138
Sitio-P, ribosoma, 137-139, 138, 140
Sitios Ter, 124
SmaI, 337-338
Snow, John, 905-906
Sodio, 38-39
requerimiento en halófilos extremos, 557-558
requerimientos celulares, 79-80
Soja, 727-728, 728-729
resistencia al glifosato, 358-359
Solapamiento de genes, 269-270, 276-277, 284-285, 290-291, 291-292, 304
Solemyidae, 481
Solfatara, 562-563, 568-569, 569, 571, 580-581
SOLiD método de secuenciación Applied Biosystems, 194-195, 195-196
Sólidos en suspensión, 708-709, 710, 713-714, 720-721
Solución del suelo, 654-655
Solutos compatibles, 174-176, 188, 557-558, 577-578, 580-581
Solvente, producción, 430-431
Somatotropina (hormona del crecimiento), 357-358
modificada genéticamente, 356-357
Somatotropina bovina recombinate (rBST), 356-357
Somatotropina bovina, 356-357
Somatotropina humana recombinante (rHST), 356-357
Sonda de ácidos nucleicos, 208, 223, 338-339, 339-340, 367-368, 640
detección de clones recombinantes, 342-343
marcaje fluorescente, 619-621
muestras naturales, 620-621
Sonda de DNA, 392, 393-394
Sonda de oligonucleótido, deduciendo la mejor secuencia de, 355-356
Sonda filogenética, 620-621
Sonda. *Véase* Sonda de ácidos nucleicos
Sondas fluorescentes, 879-880
gen-específico, 879-880
Sorangium cellulosum, 193, 200-201
genoma, 200-201
Sorbitol, 492-493
Sorbosa, 492-493
Sphaerotilus natans, 421-422, 503-504
Sphaerotilus, 487-488, 502-503, 516-517
Sphingobacteriales, 537-538, 540
Sphingomonadales, 513, 514-515, 516-517, 657-658
Sphingomonas, 513, 514-515, 516-517
Spirillum, 34-35, 35-36, 174-175, 496-497, 496-498, 508-509, 513
Spirillum volutans, 176-177, 496-498
Spirochaeta, 482-483, 496-497
Spirochaeta plicatilis, 496-497, 496-498
Spirochaeta stenostrepta, 496-497, 496-498
Spirochaeta zuelzerae, 496-498
Spirochaetes, 378-380, 462, 482-483, 492-493, 512, 673-674, 750-751, 767-768
Spirogyra, 69-70, 467-469, 605-606
Spiroplasma, 524-525, 531-533, 746-747
Spiroplasma citri, 531-532
Spirulina, 464-465, 466-467, 496-497
Sporocytophaga, 537-538, 538-539, 540, 612
Sporocytophaga myxococcoides, 538-539
Sporohalobacter, 527-529, 739-740
Sporolactobacillus, 527-529
Sporomusa, 432-433, 527-529
Sporomusa paucivorans, 442
Sporosarcina, 524-525, 527-529, 529-531
Sporosarcina pasteurii, 527-529
Sporothrix schenckii, 1008, 1009, 1010-1011
Sporotrichum, 990-991
Sporotrichium, 1009, 1010-1011
SR1, 767-768
SSU rRNA. *Véase también* RNA de la subunidad pequeña del ribosoma (SSU rRNA)
SSV, 287-288
SSV1, 288-289
Staphylococcus, 34-35, 119, 162-163, 174-175, 320-321, 524-525, 526-527, 526-527, 651-652, 765-766, 768-769, 769, 771, 775-776, 868-869, 882-883, 930, 944-947, 991-992, 992-994
intoxicación alimentaria, 992-994, 994-996
Staphylococcus aureus, 30-31, 44-45, 45-46, 174-175, 526-527, 526-527, 650-651, 771-772, 776-777, 778, 777, 779, 811-812, 819-821, 862-865, 865-866, 868-869, 870-872, 873-874, 876-877, 885-886, 889-891, 893-894, 916-917, 917-918, 931-932, 932-933, 944-945, 991-992, 992-994, 994-996
enterotoxina B, 917-918, 920
islas de patogenicidad, 221
MRSA, 864-865, 870-872, 891-892, 945-947
pared celular, 45-46
resistencia antimicrobiana, 891-892, 892-893
sistema de percepción de quórum, 239-240
vancomicina-intermedio (VISA), 864-865, 891-892, 911-912
vancomicina-resistente (VRSA), 864-865,
Staphylococcus aureus de resistencia intermedia a la vancomicina (VISA), 864-865, 891-892, 911-912
Staphylococcus aureus infección, diagnóstico y tratamiento, 945-947
epidemiología y patogénesis, 944-946
Staphylococcus epidermidis, 526-527, 868-869, 944-945, 945-946
Staphylococcus aureus resistante a la vancomicina (VRSA), 864-865, 911-912
Staphylothermus marinus, 36-37, 574-575
Staphylothermus, 570-572, 571, 573, 574-575
STD. *Véase* Enfermedades de transmisión sexual (STIs)
STEC. *Véase* Toxina shiga producida por *Escherichia coli* (STEC)
Stella, 501, 500, 502
Stetteria, 571, 573
STI. *Véase* Infecciones de transmisión sexual (STIs)
Stigmatella aurantiaca, 494-496
Stigonema, 464-465
Stigonematales, 464-466, 466-467, 467-468
Stordalen Mire, Suecia, metanógenos en el permafrost descongelado, 553
Stphylococus aureus meticilina resistentes (MRSA), 864-865, 870-872, 891-892, 945-947
Streptococcaceae, 743-744, 750-751
Streptococcus, 34-35, 79-80, 174-175, 319-320, 427-428, 524-527, 745-746, 765-766, 767-768, 768-769, 799-800, 930, 990-991, 992-994
Streptococcus bovis, 739-741
Streptococcus Grupo A. *Véase Streptococcus pyogenes*
Streptococcus hemolyticus, 154
Streptococcus mitis, 786-787
Streptococcus mutans, 524-525, 774-775, 775-777, 786-787
Streptococcus pneumoniae, 50-51, 319-320, 771-772, 771-773, 773-775, 803-804, 804-806, 806-807, 819-821, 911-912, 915-916, 931-932, 934-935
resistencia antimicrobiana, 891-892
Streptococcus pyogenes, 51-52, 176-177, 193, 524-525, 526-527, 774-775, 775-776, 776-777, 778, 779-781, 811-812, 819-821, 821-822, 862-865, 873-874, 877-878, 891-892, 916-917, 931-934, 945-946
diagnóstico, 932-934
epidemiología y patogénesis, 931-934
Streptococcus sobrinus, 775-776, 776-777, 786-787
Streptococcus thermophilus, 330, 991-992
Streptolisina S, 778
Streptomyces, 119, 192-193, 524-525, 884-885, 885-886, 887-888, 893-894
aislamiento, 536-537
características, 534-538
ecología, 536-537
producción de antibióticos, 536-538
Streptomyces aureofaciens, 537-538
Streptomyces coelicolor, 193, 536-537
Streptomyces erythreus, 884-885
Streptomyces fradiae, 537-538
Streptomyces griseus, 537-538, 884-885
Streptomyces lincolnensis, 537-538
Streptomyces nodosus, 537-538
Streptomyces noursei, 537-538
Streptomyces platensis, 885-886, 894-895
Streptomyces venezuelae, 537-538
Stygiolobus, 570-572, 571, 573
Subdoligranulum, 743-744
Subgrupo piógenes, *Streptococcus*, 524-525
Subgrupo viridans, *Streptococcus*, 524-525,
Subsuperficie, 657-661
microbiología de lasubsuperficie profunda, 657-659
Subunidad de vacuna, 362

Subunidad estructural, 258-259
Subunidad polipeptídica, 140-141
Succinato, 99, 98-100, 431-432, 447, 451-452
  bioquímica de la fijación del nitrógeno, 730-731
  fermentación, 431-433, 433-434, 528-530, 533-534
  metabolismo, 98-100
  producción en el rumen, 741
  producto de la fermentación, 427-428, 428-430, 519-520, 683-684
Succinil-CoA, 99, 98-100, 426, 431-432, 432-433
  carboxilación, 414-416
Succinomonas amylolytica, 739-740, 741
Suelo, 653-658
  ácido, 566-567
  actividad de agua, 655-656
  árido, 654-72
  ciclo del nitrógeno, 685-687
  columna de Winogradsky, 610-614
  como hábitat microbiano, 654-656
  desierto, 467-469
  diversidad procariótica, 655-658
  estatus nutricional, 654-655, 657-658
  formación, 653-71
  mineral, 653-654
  orgánico, 653-654
  Streptomyces, 536-537
Suelos anegados, 686-687, 688-689
Suelos áridos, 654-656
Suelos minerales, 653-654
Suero, 792-793, 802-803, 814-815
Suero de hepatitis. *Véase* Hepatitis B
Suero de la leche, 10-12, 524-525
Suillus bovinus, 734-735
Sulbactama, 894-895
Sulcia, 204-205, 748, 750
  muelleri, 204-205
Sulfametoxazol, 880-882
Sulfametoxazol-trimetoprima, 894-895
Sulfanilamida, 880-882, 882-883
Sulfato, 420-421, 646-647
  de cobre, 184-185, 700-701
  aceptor de electrones, 438-439
  ciclo del azufre, 686-687
  oxidación del azufre, 419-421
  reducción, 717-718
Sulfhídrico, 430-431, 529-531, 646-647
  donador de electrones, 411-412, 413-414, 419-421, 467-469, 471-472
  fuente de energía, 100-101
  hipótesis del origen celular de la vida, 371-372
  oxidación, 689-690
Sulfito, 419-421, 420-421, 438-439
  desproporción, 440-441
  en alimentos, 991-992
  producción en la reducción de sulfato, 439-440, 440-441
  reducción, 439-440, 440-441
Sulfito oxidasa, 79-80, 419-421, 420-421
Sulfito reductasa, 439-440, 440-441
Sulfobacillus, 701-702
Sulfolobales, 569, 571, 570-572
Sulfolobus, 219, 287-288, 326-327, 414-416, 477-478, 554, 568-569, 569, 571, 570-572, 571, 573, 701-702
  virus de, 287-288, 288-289
Sulfolobus acidocaldarius, 419-421, 572-573, 575-576
Sulfolobus solfataricus, 126, 193, 288-289,
Sulfonamida, 881-882
  resistencia, 889-891
Sulfophobococcus, 571, 573
Sulfurimonas, 513, 673-674, 675-676, 676
Sulfurisphaera, 571, 573
Sulfuro, 694-695, 700-701
  aceptor de electrones, 438-439
  donador de electrones, 417-418
  fraccionamiento isotópico, 633-634
  oxidación, 419-421, 420-421, 686-687, 687-688, 701-702
  toxicidad, 687-688
Sulfurococcus, 571, 573
Sulfurospirillum, 477-478, 522-523, 523-524, 675-676, 676
Sulfurovum, 673-674, 675-676, 676
Suministros médicos, esterilización radiación, 182
Superantígeno toxina, 777, 779
  Staphylococcus aureus, 994-995
Superantígeno, 808-809, 810-812, 814-815, 945-946, 992-994, 994-995
  exotoxinas pirogénicas estreptocócicas, 933-934
Superenrollamiento negativo, 115, 116
Superenrollamiento positivo, 115
Superfamilia de genes, 840-845
Superficie
  crecimiento microbiano, 648-651
  partícula de suelo, 654-655, 655-656, 657-658
Superóxido dismutasa, 79-80, 178-179
Superóxido reductasa, 178, 179
Supervivencia del más apto, 388-389
Supresor del tRNA, 311-313
Sustitución del par de bases, 310-312
Sustituciones, 386
Sustrato, 85-86
  planta, 736-737
Sustratos metilados, 559-561, 560-562
Sustratos para las plantas, 736-737
SYBR verde I, 617-618
SYBR verde, 668-669, 879-880
Symbiodinium, 757-759
Synechococcus, 172-173, 464-465, 466-467, 467-469, 635-636
Synechococcus lividus, 465-466, 578-579
Synechocystis, 364, 410-411, 464-465
  genoma, 193
Synergistes jonesii, 548, 741
Synergistetes, 477-478, 547-548, 767-768
Syntrophobacter, 434-435, 522-523
Syntrophobacter wolinii, 522-523, 683-684
Syntrophobacterales, 522-523
Syntrophomonas, 434-436, 683-684
Syntrophomonas wolfei, 683-684
Syntrophospora, 527-529
Syntrophus, 434-435
Syntrophus aciditrophicus, 427-428
Syntrophus gentiane, 683-684
T-DNA, 357-359, 367-368
  transferencia, 732-734
T-RFLP, 622-623, 624-625
T4 lisozima, 264-265, 266-267
T7 RNA polimerasa, 286-287
Tabla periódica, 78
Tacizoitos, 1014-1015
Tamaño celular, 35-38, 531-532, 564-565, 564-566
  límites inferiores, 37-38
Tamaño de la explosión, 261-263, 266-267
Tamaño molecular, inmunogenicidad, 821-823
Tampón de bicarbonato sódico, 173-174
Tampón fosfato potásico, 173-174
Tampón, 945-946
Tampones de Good, 173-174
Tanino, 536-537
Tanque de almacenamiento de combustible, 705-706
Tanque de almacenamiento de gasolina, 705-706
Tanques del biorreactor, 701-702
Transposón compuesto, 327-328
Tapetes microbianos, 373-374, 631-632, 648-649, 651-654, 677-678
  cianobacteria, 651-653
  oxidadores del hierro, 691-692
  quimiolitotrófico, 653-654
Taq polimerasa, 171-173, 340-341, 348, 546-547
*Taq*I, 337-338
Tasa de crecimiento, 156-157, 647-648
  microbiología de la subsuperficie, 659-661
Tasa de dilución, quimiostato, 159-160
Tasa de división, 156-157
Tasa específica de crecimiento, 156-157
TATA-proteína de unión, 129
Taxias, 58-59, 63-66
  fototaxis, 63-64, 65-66
  otras, 65-66
  quimiotaxis, 63-66
Taxonomía, 392-399, 400-401
  características fenotípicas de valor taxonómico, 396-397
  clasificación y taxonomía, 397-399
  estudio polifásico, 392, 393-394
  halófilos extremos, 556-558
  métodos, 393-398
    análisis de secuencia génica, 393-394, 394-395
    huellas genéticas, 395-396
    multigen y análisis de todo el genoma, 394-395, 395-396
    análisis de secuencias multilocus, 393-396, 400-401
    análisis fenotípico, 392, 396-398
  posición taxonómica oficial, 398-399
TBP (TATA-proteína de unión), 129
TCR-MHC complejo peptídico, 850-851
TCR. *Véase* Receptor de la célula T
Técnica aséptica, 82, 109
Técnica de anticuerpos, detección del clon deseado, 342-343
Técnica de capilaridad, estudios de quimiotaxia, 64-65
Tècnica de difusión en disco, 183-184, 184-185, 870-872, 871-872
Técnica de reducción del acetileno, nitrogenasa, 107
Técnica del número más probable (MPN), 614-615, 615-617, 640
Técnica donde la muestra es ionizada y vaporizada por un laser, 212-213, 213-214
Técnicas de secuenciación masiva, 616, 617-618, 637-638
Técnicas in vitro, 336-345
  bacteriófago lambda como vector de clonación, 352-353
  clonación molecular, 341-344
  enzimas de restricción, 336-339
  fusión de genes, 344-345, 345-346, 366-367
  genes reporteros, 344-345, 345-346
  mutagénesis dirigida, 343-345
  plásmidos como vectores de clonación, 346-348
  reacción en cadena de la polimerasa (PCR), 339-342
Tecnología Nanopore, 194-195, 196-198
Tecnologías Oxford Nanopore, 194-195, 196-198
Teflón, 707-708
Tejido linfoide asociado a mucosa (MALT), 792-793, 793-794, 794-795, 796-797, 814-815, 831-832, 833-834, 853-855
Telómero, 352-354
Telurito, 935-936
TEM. *Véase* Microscopio electrónico de transmisión (TEM)
Temblor de las ovejas, 301-302, 302
Temin, Howard, 280
Temperatura
  alteración de los alimentos, 990-991
  aumento medio del aire en la tierra, 695-696
  cardinal, 164-167, 188
  clases de organismos, 167
  efecto en el crecimiento, 164-173
  evolución y vida a elevada, 574-580
  límites de la existencia microbiana, 574-576
  límite uperior para la vida, 578-579
  máxima para el crecimiento, 167, 168-169
  mínima, 167
  óptima, 167
Temperaturas cardinales, 164-167, 188
Tenericutes, 378-380, 462, 523-524, 529-533
  principales órdenes, 524-525
Tenofovir, 886-887
Teoría de despolarización catódica, 716-717
Teoría de los tres Dominios, 283-284
Teoría endosimbiótica, 69-70, 74-75, 375-376, 400-401, 584-585, 607-608
  apoya, 69-70, 584-585
  genoma del cloroplasto, 203-204
Teoría microbiana de las enfermedades infecciosas, 15-16, 16-18, 20
Terapia antirretroviral muy activa (HAART), 894-895, 957-959
Terapia combinada, 894-895, 1016-1017
Terapia con combinación de drogas, 894-895, 1016-1017
Terapia con drogas múltiple, 937-938
  lepra, 937-938
  VIH/Sida, 957-958
Terbenafina, 887-888
Tercera generación de secuenciación, 194-195, 195-196
Teredinibacter, 482-483
Termales, 546-547
Terminación de la transcription, 125, 127-128, 351-352
Terminación, 146-147
  replicación, 124
  síntesis de proteínas, 137-139
  transcripción, 127-128, 128-129, 129, 250
Terminología ómica, 208
Termitas
  acetogénesis y fijación de nitrógeneo en el intestino, 750-752
  acetogénesis, 684-685, 750-752
  anatomía del intestino y función, 748, 750, 750-751
  historia natural y bioquímica, 748, 750
  inferior, 748, 750
  simbiónte metanogénicos y acetógenos en, 684-685
  superior, diversidad bacteriana y digestion de la lignocelulosa en, 748, 750-751
Termitidae, 748, 750
Termocicaldores, 340-341
Termoclina, 660-661
Termodesulfobacterias, 378-380, 462, 475-476, 476-477, 512, 544-545
Termófilo, 167, 170, 171-173, 188-189, 511
  aplicaciones comerciales, 171-173
  estabilidad térmica de proteínas y membranas, 171-173
Termoplasmatales, 561-563
Termoproteales, 570-572, 571, 573
Termosoma, 577-578, 580-581
Test de anticuerpos fluorescentes, 874-877

aplicaciones clinicas, 874-875
directa, 874-875
indirecta, 874-875
microorganismos en partículas de suelo, 657-658
Test de la tuberculina, 808-811, 872-873, 936-938, 961-962
Test directo de anticuerpos fluorescentes, 874-875
Test indirtecto de anticuerpos fluorescentes, 874-875
Test MPN. *Véase* Técnica del número más probable
Test para coliformes
análisis con sustrato definido, 986-987
método de filtración, 985-986
Test serológicos, 872-873
Tétano, 529-531, 778, 781-782, 785-786, 786-787, 802-803, 901-902, 911-912, 977-978, 979-980
biología y epidemiología, 977-978
control, 977-978
diagnóstico, 977-978
patogénesis, 977-978
prevención y tratamiento, 977-978
Tetraciclina, 881-882, 882-883, 884-885, 889-890, 892-893, 897, 935-936, 945-946, 947, 967-968, 968-969, 969-970, 970-971
estructura, 884-885, 885-886
genes de resistencia en abejas, 861
modo de acción, 884-885
producción, 537-538
Tetracloroetileno, 448, 449
Tetragenococcus halophilus, 991-992
Tetrahidrofolato, 443-444, 452-453
Tetrahymena, 70-71, 715-716
Tetrapirroles, 407-408
TFB (factor de transcripción B), 129
TGF-α, 828-829
Thalassiosira, 591-592
Thaumarchaea planctónicos, 566-567
Thaumarchaeota, 38-39, 39-41, 191, 274, 378-380, 380-381, 381-383, 462, 484-485, 554, 580-581, 657-658, 657-658, 662-663, 669-670
características fisiológicas, 564-567
distribución ambiental, 566-567
hábitats, 666-667
nitrificación en Archaea, 564-567
The Prokaryotes, 398-399
Thelophora terrestris, 734-735
Thermoanaerobacter, 527-529
Thermochromatium, 513
Thermocladium, 571, 573
Thermococcales, 562-563
Thermococcus, 554, 562-565, 570-572
Thermococcus celer, 167, 564-565
Thermocrinis ruber, 545-546
Thermocrinis, 545-546
Thermodesulfobacterium mobile, 544-545
Thermodesulfobacterium thermophilum, 544-545
Thermodesulfovibrio, 476-477
Thermodiscus, 477-478, 571, 573
Thermofilum, 570-572, 571, 573
Thermofilum librum, 572-573
Thermomicrobium, 473-474
Thermomicrobium roseum, 473-474
Thermoplasma, 46-47, 381-383, 554, 555-556, 561-563
Thermoplasma acidophilum, 193, 561-562, 562-563
Thermoplasma volcanium, 561-562
Thermoplasmata, 739-740
Thermoproteus, 414-416, 554, 570-572, 571, 573
Thermoproteus neutrophilus, 3-4, 572-573
Thermoproteus tenax, 575-576
Thermosphaera, 571, 573
Thermotoga maritima, 544-545
genoma, 193, 200-201
sistema de transporte, 201-202
transferencia horizontal de genes, 217-218
vías metabólicas, 201-202
Thermotoga, 378-380, 485-486, 486-487, 512, 544-545
Thermotogae, 378-380, 462, 485-486
Thermus, 319-320, 485-486, 486-487, 546-547
Thermus aquaticus, 126, 171, 337-338, 340-341, 546-547, 575-576
Thiobacillus, 477-478, 478-479, 485-486, 513, 516-517, 517-518, 610-611, 686-687, 687-688
Thiobacillus denitrificans, 420-421, 487-488, 610-611
Thiobacillus thioparus, 80-81, 81-82, 717-718
Thiocapsa, 469-470
Thiocystis, 467-469
Thiomargarita, 477-478, 479-481
Thiomargarita namibiensis, 35-36, 36-37, 477-478, 479-480
Thiomicrospira, 414-416, 477-478
Thiomicrospira denitrificans, 477-478
Thiopedia rosea, 469-470
Thioploca, 479-480, 481, 652-653, 653-654
Thiospirillum jenense, 65-66, 469-470, 613-614
Thiothrix, 477-478, 478-479, 479-480, 518-519
Thiotrichales, 518-519, 673-674, 675-676
Thiovulum, 477-478, 481, 513, 522-523
Thiovulum majus, 36-37
Tiamina, 79-80, 769, 771
Tiempo de duplicación. *Véase* Tiempo de generación
Tiempo de generación, 150-151, 155-157, 157-158, 158-159, 188, 647-648
cálculo, 157-158
crecimiento exponencial, 156-157
múltiples horquillas de replicación del DNA, 152
Tiempo de muerte térmica, 179-181
Tiempo de reducción decimal, 179-181
Tifus, 515-516, 913-914, 917-918, 966-969, 980-981
Tifus epidémico. *Véase* Fiebre tifus
Tifus murino, 967-968
Tilacoide, 69-70, 74-75, 405, 407, 457-458, 465-466
Timina, 112-113, 113, 115, 125
Timo, 794-795, 814-815, 853-855
Tinción de flagelos, 58-59
Tinción de Gram, 29-31, 42-44, 44-45, 47-48, 74-75
Tinción de viabilidad, 618-619
Tinción de Ziehl-Neelsen, 533-534. *Véase* bacterias ácido-alcohol resistencia, 533-534
Tinción diferencial, 29-31
Tinción filogenética, 619-620, 620-621
Tinción filogenética FISH, 619-620, 620-621
Tinción fluorescente, 161-162, 617-620
Tinción inespecífica de materiales generales, 617-619
Tinción negativa, 32-33, 34-35
Tinción simple, 29
Tinciones genéticas, 619-621
Tinta china, 50-51
Tiña, 904-905, 1009, 1010-1011
Tiña inguinal, 1009, 1010-1011
Tioglicolato, 176-177, 869-870
Tiosulfato, 420-421
acceptor de electrones, 438-439
desproporción, 440-441
donador de electrones, 419-421
Tipaje sanguíneo, 873-874
Tipificación de la secuencia de multilocus (MLST), 393-396, 400-401
Tipo de apareamiento, 601-603
levadura, 601-603
Tipo de hipersensibilidad retrardada, 808-809, 808-811, 812-814
test en la piel, 872-873
Tipos de energía de microorganismos, 83-84
Tiramida, 620-621
Tirocidina, 527-529
Tiroglobulina, 810-811
código genético, 133-134
codón, 310-311
Tirosina
Título, 262-263, 263-264, 276-277, 897
anticuerpo, 804-806, 833-834, 872-873
Tivelosa, 46-47
Tizón de la patata, 591-592
TM7, 657-658, 767-768
TMAO, 448
tmRNA, 140
Tobramicina, 881-882
Toga, 544-545
Togavirus, 270-271
Tolerancia, 796-797, 814-815, 821-822, 851-855
Tolueno, 448
catabolismo, 453-454, 453-455
dioxigenasa, 451-452
Tonsilitis, 778
Topoisomerasa, 115, 124
Topoisomerasa II, 115
Topoisomerasa IV, 121, 124
Torre rédox, 87-88, 436-437
Torula, 990-991
Torulopsis, 765-766, 771-773
Tos, 904-905, 930, 941-942
tosferina, 935-936
Tosferina (Pertussis), 778, 901-902, 911-912, 915-916, 916-917, 934-935, 935-936, 961-962
diagnóstico, prevención, y tratamiento, 935-936
epidemiología, 935-936
número básico de reproducción, 905-906
Tosferina. *Véase* Pertussis
Toxicidad selectiva, 880-882, 897
antibióticos y, 882-883
Toxicidad, 771-773, 777, 779, 788-789
selectiva, 880-882, 882-883, 897
Toxina, 778, 777, 779-785, 917-918. *Véase también* Endotoxina; Enterotoxina; Exotoxina
armas biológicas, 917-918, 920
codificado en plásmidos, 119
Toxina AB, 777, 779, 779-781, 780-781
Toxina alfa, 978-979
Toxina botulínica, 779-782, 920, 983, 996-997
Toxina Bt, 358-360, 528-530
Toxina citoletal istendida, 778
Toxina colérica, 781-784, 876-877, 916-917, 986-987
Toxina de *B. pertussis*, 778
Toxina del síndrome del choque tóxico, 778, 916-917, 945-946
Toxina diftérica, 321-322, 778, 779-781, 780-781, 916-917, 935-936
Toxina edema, 918-919
Toxina epsilon, 917-918
Toxina eritrogénica, 778, 811-812, 916-917
Toxina exfoliante, 778
Toxina letal, 918-919
Toxina murina, 916-917, 974-975
Toxina ricina, 917-918
Toxina shiga producida por *Escherichia coli* (STEC), 779-781, 911-912, 997-999
Toxina shiga-similar, 779-781, 916-917
Toxina shiga, 778, 779-781, 916-917, 997-998
Toxina tetánica, 779-781, 799-800, 977-978
Toxinas citolíticas, 777, 779-781
Toxoide del tétano, 803-804, 804-806, 806-807
Toxoide, 803-804, 814-815
Toxoplasma, 590-591, 1013-1014
Toxoplasma gondii, 591-592, 956-957, 992-994, 1002, 1012-1013, 1014-1015
Toxoplasmosis, 590-591, 954-955, 956-957, 1002, 1014-1015
Tracoma, 542-543, 952-953
Tracto gastrointestinal, 9-11, 10-12
anatomía, 768-769
humano, 9-11, 10-12, 744-745, 765-766, 767-769, 771, 786-787
«madurez» en humanos, 744-745
microbiota normal, 765-766, 786-787
microbiota normal, 767-769, 771
Tracto respiratorio, 930-932
anatomía, 769, 771
inferior, 769, 771, 771-772, 788-789, 930, 931-932
microbiota normal, 765-766, 771-772
Tracto urogenital,
anatomía, 771-772
microbiota normal, 765-766, 771-773
Traducción, 4-5, 113, 132-135, 137-140, 146-147
acoplado a la transcripción, 250
bacteriófago T4, 265-267
características compartidas por los tres dominios, 376-377
efecto de los antibóticos, 882-883
elongación, 137-139, 138, 140
iniciación, 134-135, 137-139, 138, 140
mRNA de retrovirus, 298, 300-298, 300-301
proteínas mitocondriales, 203-204
reiniciación, 284-285
TRAF6 cinasa, 840-842
Trans-sRNAs, 248-249
Transaminasa, 102-103, 103-104
Transcarboxilasa, 79-80
Transcripción, 4-5, 113, 124-132, 146-147, 206-207
atenuación, 248-250
bacteriófago T4, 265-267
característ*icas co*mpartidas en los tres dominios, 376-377
dirección, 126
efecto de los antibióticos, 883-884
elongación, 125
en Archaea, 129-130
control de, 234-235
ensayo con fluorescente, 619-620
eucariótica, 113, 129-132
iniciación, 125, 126
inverso. Véase Transcripción inversa
ligada a la traducción, 250
regulación, 226-227, 227-235
RNA sin sentido, 248-249
terminación, 127-128, 128-129, 129, 250
unidad de, 127-129
vectores de expresión, 350-352
Transcripción inversa, 273, 281-282, 299, 298, 300, 304, 367-368, 629-630
Virus RNA que usan retrotranscriptasa o transcriptasa inversa, 297-298, 300-301

Transcriptasa inversa, 261-262, 273, 276-277, 281-282, 282-284, 340-341, 341-342, 352-353, 362, 879-880, 893-894, 957-958
  actividades enzimáticas, 299, 298, 300
  uso de virus, 297-298, 300-301
Transcriptasa inversa-reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR), 340-341, 354-355, 879-880
  síntesis de cDNA de mRNA aislado, 354-355
  VIH/sida diagnóstico, 957-958
Transcriptoma, 206-211, 223
Transcriptómica, 22-23, 206-208, 214-215
Transcrito primario, 130, 131-132, 145-146
Transducción, 315-316, 316-317, 320-323, 326-327, 332-333
  bacteriófagos como agentes de, 274
  especializada, 320-321, 321-322
  generalizada, 320-322
Transfección, 349-350, 358-359
Transferasa CoA, 431-432
Transferencia de electrones bacteriano mediado, por filamentos, para acoplar, 679
Transferencia de genes
  en *Archaea,* 326-327
  en *Bacteria,* 315-326
  hirizontal (lateral), 217-219, 223, 378-380, 386, 400-401
Transferencia de hidrógeno interespecies, 434-435
Transferencia de hidrógeno, interespecies, 434-435
Transferencia horizontal de genes, 217-219, 223, 308-309, 378-380, 386, 390, 400-401, 463, 508-509, 749-748, 750
  estabilidad del genoma y, 217-219
  eucariotas extremófilas, 583
  evolución y, 369
  limitaciones de los árboles filogenéticos, 384-386
Transferencia lateral de genes. *Véase* Transferencia horizontal de genes
Transferencia Northern, 338-339, 367-368
Transferencia Southern, 338-339, 367-368
Transferencia Western. *Véase* Inmunotransferencia
Transferrina, 775-776
Transformación, 315-316, 316-317
Transformación genética. *Véase* Transformación
  celular (por virus), 271-273, 290-291
  en Archaea, 326-327
  en bacteria, 51-52, 318-321, 332-333, 341-342
    competente, 319-320
    captación de DNA, 319-320
    integración del DNA, 319-321
Transformación, en eucariotas. *Véase* Transfección
Transfusión sanguínea, 921, 948-949
Transgen, 357-358, 359-360
Transglicosilasas, 154, 155-156
Transiciones, 311-312, 332-333
Translocación (proteínas), 137-139, 138, 140
Translocasas, 141-142
Transmisión, 903-908, 948-949. *Véase también* Enfermedad transmitida por alimentos; Por el agua; Zoonosis; *vectores específicos*
  agua como vehículo de enfermedad, 984-987
  alimentos como vehículo de enfermedad, 989-994
  controles dirigidos a, 908-913
  directo hospedador a hospedador, 904-905
  enfermedades bacterianas del suelo, 975-979
  enfermedades bacterianas y víricas transmitidas por artrópodos, 966-976
  enfermedades víricas transmitidas por animales, 964-968
  hospedador a hospedador, 904-905, 905-906
  indirecto de hospedador a hospedador, 904-905
  infecciones nosocomiales, 862-865
  número básico de reproducción, 905-908,
  número de reproducción observado, 906-908
  por el aire, 903-904, 904-905, 930-945
Transmisión aérea, 903-904, 904-905, 930-945
  enfermedades bacterianas, 930-939
  enfermedades víricas, 938-945
Transmisión de hospedador a hospedador, 905-906
  directa, 904-905
  indirecta, 904-905
Transmisión del simbionte, 746-748, 750, 757-758
Transmisión directa hospedador-hospedador, 904-905
Transmisión indirecta de hospedador a hospedador (persona a persona), 904-905
Transmisión parenteral, 948-949
Transmisión vertical del simbionte, 746-748, 750, 757-758
Transpeptidación, 155-156, 188-189, 883-884
Transportador de electrones, 87-89
  difusible libremente, 88-89
  no proteíco, 93-94, 94-97
  orientación en la membrana, 96-98
  respiración, 93-97
Transportadores asociados al procesamientoo de antígenos (TAP), 824-825
Transportadores de compuestos de un carbono, metanogénesis, 443-445
Transporte activo, psicrófilo, 170
Transporte de electrones mediada por membrana, 93-95
Transporte de electrones
  bacterias del azufre, 420-421
  bacterias oxidadoras del hierro, 421-422
  bacterias reductoras de sulfato, 439-440, 440-441
  conservación de la energía, 95-97
  dióxido de carbono y combustible para, 97-100
  en la respiración anaerobia, 435-436
  en membrana, 93-95
  fijación de nitrógeno, 106-107
  fotosíntesis, 409-413
  fotosíntesis anoxigénica, 409-413
  fotosíntesis oxigénica, 412-413, 413-414
  halofilos extremos, 557-558
  inversa, 411-412, 412-413, 417-418, 420-421, 423-424, 457-458
  metanogénesis, 447
Transporte inverso de electrones, 411-412, 412-413, 417-418, 421-422, 423-424, 457-458
Transporte mediado por, 39-42
  de elevada especificidad, 40-42
  efecto saturación, 39-41
  especificidad, 42-44
  síntesis regulada, 40-42
Transporte nuclear, 66-67
Transporte simple, 40-42, 74-75
  permeasa lac de *Escherichia coli*, 42-43
Transporte, contribución a la emergencia de patógenos, 915-916
Transposasa, 287-288, 304, 327-329
Transposición, 286-287, 327-329
  conservativa, 328-329
  mecanismo, 327-329
  replicativa, 328-329
Transposón, 118, 327-329, 332-333, 694-695
  composición, 327-328
  conjugativo, 220-221, 327-328
  evolución genómica, 219
  factores de virulencia, 916-917
  Tn10, 327-328, 328-329
  Tn5, 327-328, 328-329
Transversiones, 311-312, 332-333
Tratamiento aeróbico de aguas residuales, secundario, 710, 711-712, 720-721
Tratamiento anaeróbico de aguas residuales, secundario, 708-710, 720-721
Tratamiento con oxígeno hiperbárico, gangrena gaseosa, 978-979
Tratamiento de aguas residuales, 479-480, 502-503
  abultamiento o esponjamiento filamentoso, 502-503
  denitrificación, 438-439
  nitrificadores y, 423-424
Tratamiento de aguas residuales, 517-518, 707-713
  avanzadas, 710-712
  contaminantes de interés emergente, 712-713
  corrosión en corona de los sistemas de distribución, 717-718
  niveles, 708-713
  primario, 708-709
  secundario aeróbico, 710, 711-712
  secundario anaerobio, 708-710
  terciario, 708-709, 710, 711-712
Tratamiento masivo de aguas residuales, 502-503
Tratamiento primario de aguas residuales, 708-709, 720-721
Tratamiento secundario aeróbico de aguas residuales, 710, 711-712, 720-721
Tratamiento secundario anaeróbico de aguas residuales, 708-710, 720-721
Tratamiento terciario de aguas residuales, 708-709, 710, 711-712, 720-721
Trebouxia, 605-606
Trehalosa, 174-175, 175-176
Tremblaya, 204-205
Treponema, 482-483, 496-497, 498-499, 750-751
Treponema azotonutricium, 496-498
Treponema denticola, 496-498
Treponema pallidum, 496-498, 876-877, 904-905, 913-914, 949-950, 951-952, 970-971
  genoma, 193, 200-201
Treponema primitia, 442, 482-483, 496-498
Treponema saccharophilum, 496-498, 498-499
Trichinella, 1018-1019
Trichodesmium, 464-465, 467-468, 467-469, 665-666
Trichodesmium erythraeum, 465-466
Trichogramma kaykai, 515-516
Trichomonas, 68-70, 206, 586, 588-589
  genoma, 192-193
Trichomonas vaginalis, 69-70, 206, 587-589, 869-870, 949-950, 952-953, 1013-1014
Trichophyton , 1008, 1009, 1010-1011
Trichosporon, hongo intestinal, 214-216
Tricloroetileno, 449, 706-707
Tricomoniasis, 949-950, 952-953, 1013-1014
Trifolium repens, 729-730
Trifosfato de adenosina. *Véase* ATP
Trimetilamina, 447, 448, 559-561
Trimetilamina N-óxido, 447, 448
Trimetoprim, 880-882, 881-882
Triosa fosfato, 428-429
Tripanosoma, 588-589
Tripanosomiasis (enfermedad del sueño), 206, 588-589, 1012-1013, 1017-1018, 1020-1021
Tripanosomiasis americana. *Véase* enfermedad de Chagas
Tripéptido, 131-132
Triple azucar hierro (TSI) agar, 868-869, 870-872
Triptofanasa, 363, 364
Triptófano, 363
  código genético, 133-134, 134-135
  estructura, 132-133
  fermentación, 431-432
  permeabilidad de las membranas a, 38-39
  síntesis, 102-103, 248-250, 250, 251-252
Triptona soja agar, 867-868
Triquinosis (triquinelosis), 911-912, 1018-1019
Trismo, 781-782, 977-978
Tritofol, 1017-1018
tRNA. *Véase* RNA de transferencia (tRNA)
Trnasmisión horizontal de simbionte, 746-747, 757-758
Trofosoma, 753-755
Trofozoito, 1012-1013, 1013-1014, 1014-1015
Trypanosoma, 588-589, 1016-1017, 1017-1018
Trypanosoma brucei gambiense, 1017-1018
Trypanosoma brucei rhodesiense, 1017-1018
Trypanosoma brucei, 206, 588-589, 1012-1013, 1017-1018
Trypanosoma cruzi, 588-589, 912-913, 1012-1013, 1017-1018
TSI agar. *Véase* Triple azúcar hierro agar
TSS. *Véase* Síndrome del choque tóxico
Tubércuco, 936-937
Tuberculina, 797-798, 936-937
  positiva, 936-937
Tuberculosis, 180-181, 186, 651-652, 797-798, 819-821, 864-865, 872-873, 891-892, 901-902, 905-906, 908-909, 911-912, 914-915, 936-938, 954-955
  bovina, 906-908, 908-909, 909-910, 938-939
  cepas multi-droga-resistentes, 937-938
  control, 937-938
  epidemiología, 936-937
  patología, 936-938
  postprimaria (reinfección), 936-937
  primaria, 936-937vsíntomas, 936-937
  trabajo de Koch, 18, 20-21
  tratamiento, 880-882, 881-882, 937-938

Tubulina, 70-71, 71-72, 150-151, 544-545
Tularemia, 911-912, 917-918
Tumor, 271-273
Tumor maligno. *Véase* Cáncer
Tumor vírico, 290-292
Tungsteno, 79-80
Turbidez, 713-714, 720-721
Ubiquinona, 422-423, 423-424
UDPG. *Véase* Uridina difosfoglucosa (UDPG)
Úlcera gástrica, 947
Úlcera pética, 523-524
Úlcera pilórica, 526-527
Último ancestro común universal, 5-6, 6-7, 257, 372-373, 378-380
Ultracentrificación, 636-637
Ulva, 604-605
Undecaprenolfosfato. *Véase* Bactoprenol
Unidades de densidad óptica, 163-165, 166
  relación entre densidad óptica y número de células, 164-165
Unidades formadoras de placa (calva), 262-264
Unidades Svedberg, 137-139
Unión al antígeno, 822-823, 847-848, 848-850, 854-855
Unión anhidro, fosfato, 88-90
Unión de afinidad, 830-831
Unión del patógeno al hospedador, 50-51, 51-52
  virus, 261-262, 263-264, 264-265
Unión disulfuro, 131-132
Unión ester en lípidos, 38-39
Unión ester, fosfato, 88-89, 89-90
Unión éter en lípidos, 38-39, 38-39, 39-41, 544-545, 564-565
Unión manosa-lecitina, 836-837, 840-841
  vía, 834-835, 835-837
Unión peptídica, 846-848
Unión proteínas-antígeno
  estructura y evolución, 842-844
  proteínas TCR, 850-851
Unión VDJ (VJ), 848-850
Unión-ribosoma Shine-Dalgarno, 248-249
Uniones glucosídicas β-1, 4
  interna, 540
  terminal, 540
Uniportador, 42-43
Uracilo, 112-113, 125
Uraninita, 703-704, 703-705
Uranio
  biorremediación de ambientes contaminados con uranio, 703-705
  lixivación, 701-702
  Transformaciones bacterianas, 703-705
Urea, 566-567, 621-622
  degradación, 529-531
Ureaplasma, 531-532, 765-766
Ureaplasma urealyticum, 869-870, 949-950
Ureasa, 79-80, 519-520, 916-917, 947
Uretra, microbiota normal , 771-773
Uretritis no gonocócica, 949-950
  clamidias, 952-953
Uretritis, no gonocócica. *Véase* Uretritis no gonocócica
Uridilato, 103-104
Uridina difosfoglucosa (UDPG), 101-102
Uridina monofosfato (UMP), 236-237
Urochordata, 756-757
Urocinasa, 357-358
Urticaria, 808-810
Uso de la tierra, contribución a la emergencia de patógenos, 915-916
Utilización de compuestos con tres carbonos, 98-100
vacA, 947
Vacuna, 15-16, 289-290, 803-804, 814-815. *Véase también* Enfermedades específicas
  aluminio como adyuvante, 817
  antígeno recombinante, 806-808
  carbunco, 920
  conjugadas, 803-804, 806-807
  difteria, 803-804, 804-806, 909-910, 935-936
  DNA, 807-808
  DTaP, 817, 935-936
  fiebre amarilla, 803-804, 913-914, 972-973
  fiebres víricas hemorrágicas, 967-968
  gripe, 803-804, 804-806, 807-808, 924-925, 943-944, 944-945
  herpes, 803-804, 804-806, 940-941
  HPV, 954-955
  meningitis, 803-804, 938-939
  MMR, 939-940, 940-941
  modificadas genéticamente, 289-290, 360-362
  paperas (parotiditis), 803-804, 804-806, 909-910, 939-940 66-67
  polivalente, 360-361, 362, 367-368
  producción, 773-774
  péptido sintético, 806-807
  rabia, 362, 803-804, 833-834, 909-910, 913-914, 964, 965-966
  recombinante, 360-362
  rubeola, 803-804, 804-806, 909-910
  sarampión, 803-804, 804-806, 909-910, 939-940
  Streptococcus pneumoniae, 934-935
  subunidad, 362
  tosferina, 803-804, 804-806, 909-910, 935-936
  tuberculosis, 803-804, 807-808
  vector, 360-361, 362, 367-368
  vector recombiante, 806-807
  viruela, 288-289, 289-290, 803-804, 909-910, 912-913, 917-919
  viruela del pollo, 803-804, 804-806, 940-941
  virus vaccinia, 360-362, 911-912, 917-919
Vacuna BCG, 810-811
Vacuna con virus inactivados, 803-804
Vacuna contra el carbunco, 803-804, 920, 976-977
Vacuna contra el cólera, 803-804
vacuna contra el herpes, 803-804, 804-806, 940-941
Vacuna contra el sarampión, 803-804, 804-806, 909-910, 939-940
Vacuna contra el tétano, 803-804, 909-910, 977-978
Vacuna contra el tifus, 803-804
Vacuna contra el virus Vaccinia, 911-912, 917-919
  vacunas recombinantes, 360-362
Vacuna contra la difteria, 803-804, 804-806, 909-910, 935-936
Vacuna contra la difteria, Tétano-Tosferina (DTT), 817, 935-936
Vacuna contra la encefalitis japonesa, 803-804
Vacuna contra la enfermedad de Lyme, 971-972
Vacuna contra la fiebre amarilla, 803-804, 913-914, 972-973
Vacuna contra la fiebre tifoide, 803-804
Vacuna contra la gripe, 803-804, 804-806, 807-808, 924-925, 943-944, 944-945
Vacuna contra la malaria, 807-808
Vacuna contra la meningitis, 803-804, 938-939
Vacuna contra la Peste, 803-804
Vacuna contra la pneumonía bacteriana, 803-804
Vacuna contra la polio, 803-804, 804-806, 909-910, 912-913
  Virus atenuados, 803-804
  Virus desactivados, 803-804
Vacuna contra la rabia, 362, 803-804, 833-834, 909-910, 913-914, 964, 965-966
Vacuna contra la rubeola, 803-804, 804-806, 909-910
Vacuna contra la tosferina, 803-804, 804-806, 909-910, 935-936
Vacuna contra la tuberculosis, 803-804, 807-808
Vacuna contra la varicela, 803-804, 804-806
Vacuna contra la viruela de los monos, 803-804
Vacuna contra la viruela, 288-289, 289-290, 803-804, 909-910, 912-913, 917-919
Vacuna contra las paperas, 803-804, 804-806, 909-910, 939-941
Vacuna contra zóster, 804-806
Vacuna de DNA, 807-808
Vacuna de la hepatitis A, 803-804, 804-806, 948-949
Vacuna de la hepatitis B, 362, 803-804, 804-806, 806-807, 948-949
Vacuna de la varicela, 803-804, 804-806, 940-941
Vacuna de vector, 360-361, 362, 367-368
Vacuna del papilomavirus humano, 803-804, 804-806, 807-808
Vacuna DTaP, 817, 935-936
Vacuna MMR, 939-940, 940-941
Vacuna para la fiebre paratifoide, 803-804
Vacuna peptídica sintética, 806-807
Vacuna polivalente, 360-361, 362, 367-368
Vacuna Sabin, 803-804
Vacunación, 803-808, 814-815. *Véase también* Inmunización
Vacunas conjugadas, 803-804
  sintética, 806-807
Vacunas recombinantes, 360-362, 806-808
Vacuolas de gas, 54-55
Vacuolas de nutrientes, 589-590
Vagina, microbiota normal, 771-772, 771-773
Vaina externa, espiroquetas, 496-497, 496-498
Valaciclovir, 954-955
Valencia, inmunoglobulina, 831-832
Valerato, 741
Valil-tRNA sintetasa, 136
Valina
  código genético, 133-134
  estructura, 132-133
  fermentación, 431-432
  síntesis, 102-103
Valles secos antárticos, 605-607
Valor de la reducción decimal, 182
Valor nutritivo, alteración de alimentos, 990-991
Vampirococcus, 492-494
Vanadio, 79-80, 483-484
Vancomicina, 881-882, 882-883, 885-886, 892-893, 893-894, 934-935
Vapor, 661-662
Varicela, 290-291, 905-906, 909-910, 911-912, 940-941
Varicela. *Véase* Viruela del pollo
Varivax, 940-941
Vector, 902-903, 904-905
  clonación. *Véase* Vector de clonación
Vector artrópodo, 904-905, 915-916
Vector binario, 357-358, 358-359
Vector de clonación, 341-342
  bacteriofago lambda, 352-353
  binario, 357-358, 358-359
  clonación en plantas, 357-359
  cromosoma artificial, 352-354
  cósmido, 352-354
  hopedadores para, 349-350
  para secuenciar DNA, 352-354
  plásmido, 346-348
  vector de expresión, 349-350, 350-353
  vector lanzadera, 349-350, 350-351
Vector de expresión, 349-350, 350-353, 366-367
  codon de uso, 351-353, 354-355
  eucariótico, 354-355
  iniciación de la traducción, 351-353
  interruptores reguladores, 350-351
  plegamiento de proteínas y estabilidad, 355-356
  promotor, 350-352
  pSE420, 351-352
  regulación de la transcripción, 350-352
  vector de fusión, 355-356
Vector de fusión, 355-356
Vector lanzadera, 349-350, 350-351, 367-368
Vegetales y productos derivados, fermentado, 991-992
Vehículo, 904-905, 925-926
  agua como, 984-987
  alimento como, 989-994
  común, 908-909
Vehículos comunes, control dirigido contra, 908-909
Veillonella, 612, 745-746, 765-766, 768-769
Veillonella parvula, 767-768
Veillonellaceae,
Vejiga, sanguijuela, 755-756, 756-757
Vena, 792-793, 794-795
Verotoxina, 997-999
Verrucomicrobia, 378-380, 462, 488-489, 489-491, 512, 543-545, 657-658, 657-658, 662-663, 668-669, 743-744, 750-751
  principales órdenes, 541
Verrucomicrobiales, 541, 543-544
Verrucomicrobium, 541, 543-545, 673-674
Verrucomicrobium spinosum, 543-544, 544-545
Verrugas genitales, 807-808, 949-950, 954-955
Vertedero, 706-707
Vertido de crudo del *Deepwater Horizon* en el golfo de México, catástrofe, 663-665, 705-706
Vertido de crudo del *Deepwater Horizon,* 663-665, 705-706
Vertido en placa, recuento de viables, 161-162,
Vertidos de petróleo, 703-706
Vesícula, *Frankia*, 731-732, 732-733
Vesículas de gas, 53-55, 74-75, 380-381, 422-423, 466-467, 556-557, 560-561
Vía alternativa del complemento, activación, 834-835, 835-837
Vía de Embden-Meyerhof. *Véase* Glicólisis
Vía de la ribulosa monofosfato, 451-453, 457-458
Vía de la serina, 451-452, 452-453, 457-458, 489-491
Vía de las pentosa fosfato, 101-102, 102-103

Vía Entner-Doudoroff, 428-429, 428-430
Vía hidroxipropionato, 416-417, 457-458, 473-474
Vía lisogénica, 267-268
Vía lítica, 267-268, 276-277
  bacteriófago lambda, 267-269, 269-270
  bacteriófago Mu, 287-288
Vía Ljungdahl-Wood. *Véase* Vía del acetil-CoA
Viajes
  contribución a la emergencia de patógenos, 915-917
  inmunización para viajar a países en vías de desarrollo, 913-914
  pandemias de cólera, 922-923
Vías metabólicas de modificadas por engeniería, 363-364
  Genes codificantes, 363-364
Vías respiratorias altas, 769, 771, 771-772, 788-789, 930, 931-932
  barreras a la infección, 785-786
  microbiota normal, 771-772
  recogidas de muestras, 866-867
Vibrio, 174-175, 504-505, 513, 518-519, 521-522
  marino, 369
Vibrio cholerae, 51-52, 521-522, 651-652, 773-774, 774-775, 778, 777, 779, 781-782, 786-787, 803-804, 876-877, 905-906, 914-915, 916-917, 917-918, 922-924, 984-985, 986-988, 988-989
  serotipo Bengal, 922-923
  tipo clásico, 922-923
  tipo El Tor, 922-923
  evolución, 369
  serogrupo O1, serotipo Ogawa, 923-924
Vibrio metecus, 369
  Vibrionales, 518-519, 521-522, 668-669, 673-674
Vibrio parahaemolyticus, 521-522
Vibriosis, 911-912
Vida
  en la Tierra a través del tiempo, 5-6
  filogenia molecular y árbol de, 377-383
  historia de, registro de DNA, 377-386
  origen celular, 371-373, 578-580
  árbol filogenético universal, 378-381
  árbol universal de, 377-378, 400-401
Vida celular, origen de, 371-373
Vida, Lago (Valle seco McMurdo de la Antártida), bcterias en, 1
Vidarabina, 954-955
Vigilancia (epidemiología), 911-912, 917-918, 925-926, 994-995
VIH (HIV). *Véase* Sida; VIH/sida, 271-273, 273, 297, 357-358, 785-786, 786-787, 787-788, 802-803, 862-863, 862-865, 864-865, 877-878, 905-906, 949-950, 954-959
  agentes antivíricos, 885-887
  carga viral, 957-959
  combinación test EIA, 877-878
  detección de la infección, 956-958
  HAART terapia de combinación de drogas, 894-895, 957-959
  inhibidor de la proteasa de crecimiento lento de, 893-894
  interacciones células T, 954-956
  prueba EIA de sándwich de antígeno, 877-878
  receptor de la superficie celular, 954-955
  resistencia a drogas, 957-959
  test de aglutinación, 956-957
  tipos, 954-955
  transmisión, 921-923
VIH-EIA, 877-878, 878-879, 956-957
VIH/SIDA, 766-767, 807-808, 893-894, 901-902, 905-906, 908-909, 909-910, 911-912, 913-914, 914-915, 915-916, 936-937, 954-959, 1009, 1014-1015
  definición, 954-955
  diagnóstico, 877-878, 956-958
  epidemiología, 921-923
  susceptibilidad del patógeno fúngico, 1009, 1010-1011, 1011
  incidencia y prevalencia, 901-902
  pandémico, 920-477
  patogénesis, 954-956
  prevención, 958-959
  síntomas, 955-957
  disminución de las células T-helper, 802-803
  tratamiento, 957-959
  tuberculosis, 937-938
  carga viral, 957-959
Vinagre, 991-992
  pickling, 10-12
  producción, 492-493
Vinblastina, 889-890
Vincristina, 889-890
Vino, 93-94
  pasteurizado, 180-181
Violaceína, 517-518
Violeta de cristal, 29
Viremia, 972-973
Virión, 258-259, 258-262, 271-273, 273, 276-277
  adenovirus, 289-290, 290-291, 287-289
  ATV, 287-289
  coronavirus, 293-295
  DNA de cadena sencilla filamentosa, bacteriófago, 284-286
  estructura, 258-259
  fago Mu de DNA de doble cadena, 287-288
  hepadnavirus, 298, 300-301
  herpesvirus, 291-292
  MS2, 293-294
  PAV1, 288-289
  poliovirus, 293-294
  rabdovirus, 294-296
  reovirus, 296-297, 297
  retrovirus, 297, 298, 300
  sin cubierta, 271-273
  SSV,
  SV40, 290-291
  T4, 266-267, 269-271
  vaccinia, 288-290
  virus de la gripe, 295-297
Viroide, 298, 300-302, 304
Viroide cadang-cadang del coco, 298, 300-301
Viroide del tubérculo ahusado de la patata, 298, 300-301
Virología, 22-23, 258-259
Virosfera, 274
Viruela, 804-806, 908-909, 911-913, 917-919, 920
  número básico de reproducción, 905-906
Viruela bovina, 288-289
Virulencia, 771-774, 788-789, 925-926
  evolución, 220-221
  medida, 771-773, 773-774
  plásmido, 118-119
  Salmonella, 777, 779
Virus, 117, 257-277. *Véase también* Bacteriófago; Virus DNA; Virus RNA; *Virus específicos*
  animal. Véase Virus animal
  Archaea, 287-289
  atemperado, 267-270
  autoensamblaje, 258-259, 266-267
  ciclo de vida de *un bac*teriófago, 263-270
  complejo, 258-261
  con envuelta, 258-259, 260-261, 270-271, 271-273, 273, 276-277, 291-292, 293-294, 295-296
  con genomas de RNA, 291-298, 300-301
  control por interferón, 886-887
  cultivo, detección, y recuento, 262-264
  defectivo, 307, 948-949
  descrito por primera vez, 20-22
  desnudo, 258-259
  diversidad, 279
  drogas antivíricas, 885-887, 941-942, 943-944
  empaquetamiento de los ácidos nucleicos, 261-262
    T4, 266-267
  enfermedades infecciosas, 914-915
  enfermedades víricas en el aire, 938-945
  enfermedad transmitida por los alimentos, 992-994, 1002
  ensamblaje, 261-262
    T4, 266-267
  entrada, 261-262, 263-265
  epidemias emergentes y reemergentes,
  esquema de clasificación de Baltimore, 280-282
  estado extracelular, 258-259
  estrategias de supervivencia y diversidad en la naturaleza, 274
  evolución, 282-284
  filogenia, 283-284
  genoma, 117, 258-259, 258-259, 260-261, 274, 280-284
    evolución, 282-284
    de sentido negativo, 258-259
    de sentido positivo, 258-259
  genomas víricos en la naturaleza, 274
  helicoidal, 258-259
  hospedador, 258-259
  icosahédrico, 258-259, 260-261, 284-285, 289-290, 290-291, 291-292, 293-294
  infecciones respiratorias, 930-932, 938-945
  infección, 258-259, 282-283, 911-912
  liberación, 261-262, 284-286
    T4, 266-267
  liberación de viriones, 284-285
  marino, 667-669
  material genético, 258-259
  métodos de diagnóstico, 874-882
  origen vírico del DNA, hipotesis de, 282-284
  orígenes, hipótesis *de,* 257
  penetración, 261-262, 263-265
  planta. Véase Virus de plantas
  portador, 360-361
  procariota, 274
  proteínas tardías, 281-282, 28
  proteínas tempranas, 281-283
  receptores, 263-264
  Recombinación, 923-924, 924-925, 942-944, 944-945
  replicación, 261-270
    T4, 265-267
  restricción y modificación por el hospedador, 264-266
  RNA. Véase Virus de RNA
  RNA arqueano, 279
  simetría, 258-261
  sistema de defensa CRISPR, 329
  síndrome respiratorio del Medio Este por coronavirus (MERS-CoV), 899, 906-907
  síntesis de proteínas, 281-283
  síntesis de ácido nucleico y proteína, 261-262
  tamaño, 258-259
  y estructura, 280-282
    T4, 264-266
  transcriptasa inversa, 297-298, 300-301
  transduccido, 320-323, 326-327
  unión, 261-262, 263-264, 264-265
  vacuna recombinante, 360-362
  virulento, 276-277. *Véase también* bacteriófago T4
Virus animal, 258-259, 288-291, 270-273
  atemperado, 276-277
  cadena sencilla, 257, 258-259, 258-259, 264-265, 269-270, 273, 280, 281-282, 284-286
  clasificación, 270-271
  clasificación, 270-273
  consecuencais de la infección, 271-273
  cultivo celular, 262-263
  DNA bicatenario, 288-291
  doble cadena, 257, 258-259, 258-259, 264-265, 269-270, 280-282, 286-288
    lineal, 289-290, 297
  ensayo en placa, 262-264
  fago de una cadena filamentoso, 284-286
  infección latente, 271-273
  infección lítica, 271-273
  infección persistente, 271-273
  RNA bicatenario, 296-297
  RNA de sentido negativa, 294-297
  transformacion, 271-273
Virus bacterianos. *Véase* Bacteriófagos
Virus complejos, 258-261
Virus con envoltura, 258-259, 260-261, 270-271, 271-273, 273, 276-277, 291-292, 293-294, 295-296
Virus con membrana, 260-261
Virus Coxsackie, 182, 941-942
Virus de cadena menos (negativa), 280, 281-282, 294-297
Virus de cadena negativa, 280, 281-282
  virus RNA, 280, 281-282, 294-297
Virus de DNA tumorales, 290-292
Virus de DNA, 257, 258-259
Virus de interferencia, 886-887
Virus de la encefalitis equina de Venezuela, 917-918
Virus de la encefalitis equina del oeste, 917-918
Virus de la enceflitis equina del este, 917-918
Virus de la estomatitis vesicular, 295-296
Virus de la fiebre amarilla, 971-972
Virus de la fiebre hemorrágica, 967-968
Virus de la gripe A H5N1 (gripe aviar), 903-904, 914-915, 924-925, 929, 944-945
Virus de la gripe, 260-261, 289-290, 295-297, 774-775, 796-797, 798-799, 864-865, 874-875, 905-906, 930, 931-932, 941-945
  cambio antigénico, 296-297, 941-944
  estructura, 942-943
Virus de la hepatitis A, 948-949, 949-950, 984-985, 992-994, 1002
Virus de la hepatitis B humano, 298, 300-301
Virus de la hepatitis B, 289-290, 298, 300, 298, 300-301, 862-863, 948-949, 949-950
Virus de la hepatitis C, 948-949, 949-950
Virus de la hepatitis D, 948-949
Virus de la hepatitis E, 948-949
Virus de la hepatitis, 876-877
Virus de la inmunosuficiencia humana. *Véase* VIH

Virus de la rabia, 294-296, 964-966
Virus de la rubeola, 876-877
Virus de la viruela aviar, 360-361
Virus de la viruela, 258-259, 288-289, 289-290
  agente de bioterrorismo, 917-919
Virus de las paperas, 876-877
Virus de plantas, 258-259
Virus de RNA de cadena positiva, 280, 281-282, 291-295
Virus de RNA, 257, 258-259, 280-282, 915-916, 916-917, 971-972
  bacteriófago, 291-294
  cadena negativa, 280, 281-282, 294-297
  cadena positiva, 280, 281-282, 291-295
  clasificación, 270-271
  doble cadena, 258-259, 258-259, 269-270, 296-297
  mutación, 312-313
  una cadena, 257, 258-259, 258-259, 269-270, 273, 298, 300-301, 301-302
Virus de simio 42-43, 281-282, 290-291
Virus defectivo, 307, 948-949
Virus del este del Nilo, 904-905, 911-912, 913-914, 914-915, 971-972, 972-975
  control y epidemiología, 973-974
  transmisión y patología, 972-974
Virus del mosaico de la coliflor, 281-282
Virus del mosaico del caupí, 281-282
Virus del mosico del tabaco (TMV), 258-259
Virus del sarampión, 876-877
Virus del tomate del enrollamiento de la hoja amarilla, 747-748
Virus desnudo, 258-259
Virus DNA de doble cadena, 257, 258-259, 258-259, 264-265, 269-270, 280-282, 286-288
  lineal, 289-290, 297
  virus animal, 288-291
Virus Ébola-Reston, 914-915, 917-918, 965-966, 967-968
Virus Ébola-Reston, 915-917
Virus Epstein-Barr, 290-291
Virus grandes DNA nucleocitoplasmático (NCLDV), 283-284
Virus helicoidal, 258-259
Virus hemorrágico del conejo (RHDV), 902-903
Virus Herpes simplex, 271-273, 289-290, 291-292, 949-950, 953-955
  qPCR para el gen *pol* de, 879-882
  tipo 1, 281-282, 289-290, 953-954
  tipo 2, 953-955
Virus icosahédrico, 258-259, 260-261, 284-285, 289-290, 290-291, 291-292, 293-294
Virus Lassa, 914-915, 917-918, 965-966
Virus linfotrófico B humano (HBLV), 874-875
Virus Machupo, 917-918
Virus Marburg, 914-915, 915-917, 917-918
Virus MS2, 192-193
Virus Parainfluenza, 876-877
Virus Pox, 260-261, 270-271, 283-284, 288-290
Virus recombinantes, 923-924, 924-925, 942-944,
Virus respiratorio sincitial, 874-875, 941-942
Virus RNA de arqueas, 279
Virus RNA de cadena positiva, 280, 281-282,
Virus RNA de doble cadena, 258-259, 258-259, 269-270, 296-297
Virus RNA de una cadena, 257, 258-259, 258-259, 264-265, 269-270, 273, 280, 281-282, 284-286
Virus RNA monocatenario, 257, 258-259, 258-259, 269-270, 273, 298, 300-301, 301-302
Virus RNA pequeño, tasas de mutación, 257
Virus SV40, 281-282, 290-291
  células no permisivas, 290-291
  células permisivas, 290-291
  genoma, 290-291
Virus vaccinia, 288-290, 799-800
  geneticamente modificada, 806-807
Virus varicela-zoster, 940-941
Virus virulento, 276-277
Vitamin K, 79-80, 519-520, 769, 771
Vitamina B_1. *Véase* Tiamina
Vitamina B_{12}, 79-80, 443-444, 446, 768-769, 769, 771
Vitamina, 79-80, 85-86
Volteretas, 63-64, 65-66
Volvox, 604-605, 987-988
Volvox carteri, 605-606
Warren, Robin, 947
Whittaker, Robert H., 377-378, 377, 379
Wigglesworthia, 748, 750
Winogradsky, Sergei, 14-15, 21-22, 51-53, 83-84, 419-421, 610-611
Woese, Carl, 377, 379-380
Wolbachia, 513, 514-515, 515-516, 747-748
  transferencia horizontal de genes, 748, 750
Wolbachia pipientis, 515-516
Wolinella, 477-478, 513, 522-523, 523-524
Wolinella succinogenes, 523-524
Wuchereria bancrofti, 1018-1019
Xanthobacter, 320-321
Xanthomonadales, 518-519, 657-658
Xanthomonas, 518-519
Xantopfilas, 409-410
Xenobiótico, 703-704, 703-705, 705-708, 720-721
  compuestos, 706-707
Xenococcus, 464-465
Xenopsylla cheopis, 974-975
Xerófilo, 174-175, 188-189
Xeromyces bispora, 174-175
Xgal, 345-346, 348, 365
Xilano, 511
Xilulosa-5-P, 428-429
YAC. *Véase* Cromosoma articicial de levadura (YAC)
Yersin, Alexandre, 19
Yersinia, 119, 219, 518-519, 519-520, 876-877
Yersinia enterocolitica, 992-994, 1001-1002, 1002
Yersinia pestis, 19, 803-804, 913-914, 916-917, 917-918, 974-976
Yeso, 686-687, 717-718
Yeyuno, 767-768, 768-769
Yogur, 10-12
Zanamivir, 886-887, 943-944
Zidovudina (AZT), 885-887
Zigomicetos, 599-600, 600-601
Zigospora, 599-600
Zigosporangio, 600-601
Zigoto, 601-602
Zimosan, 840-841
Zinc, 79-80, 701-702
Zinderia, 204-205
ZipA, 151
Zona de inhibición, 183-184, 184-185, 870-872
Zona fótica, 664-666, 669-670
Zona nuerta del golfo de México, 663-664, 664-665
Zona pelágica, 662-670
Zonas de mínimo oxígeno, 664-665, 677-678
Zoogloea ramigera, 517-518, 710, 711-712
Zoogloea, 516-517, 517-518
Zoonosis, 906-908, 925-926, 964, 980-981
Zoosporas, 599-600, 600-601
Zostavax, 940-941
Zóster. *Véase* Herpes
Zumo de fruta, 492-493
Zymomonas, 427-428, 428-430, 514-515, 991-992

Esta nueva edición de *Biología de los Microorganismos* está reorganizada con imaginación, guia al estudiante a través de los seis principales temas de la microbiología del siglo xxi. Estos seis temas son Evolución, Estructura y función celular, Vías metabólicas, Flujo de información y Genética, Sistemas microbianos, e Impacto de los microorganismos.

Con un trabajo artístico mejorado y revisado con imágenes y con cerca de 200 fotografías nuevas en color, el libro presenta la microbiología como la ciencia visual que es.

Con esta 14a edición los estudiantes se beneficiarán del énfasis que pone el libro en la investigación de vanguardia, de una introducción integradora en la microbiología molecular moderna.

PEARSON

www.pearson.es