A G U A

-En la mayoría de los microorganismos, el agua es el principal componente de la célula, constituye del 80 -90% del peso celular. Por lo tanto, en este ambiente polar, todas las moléculas y compuestos químicos intracelulares, se encuentran como partículas con carga eléctrica, es decir, como **IONES.**

FUNCIONES

-El agua desempeña papeles muy importantes para un organismo vivo, entre ellos:

1.-Es el solvente donde se efectúan la mayoría de las reacciones metabólicas
2.-Participa como metabolito en ciertas reacciones catalizadas por hidrolasas
3.-Contribuye a dar la estructura de macromoléculas, como proteínas, en tal caso, dicha agua se asocia mediante puentes de hidrógeno, y recibe el nombre de **AGUA RETENIDA.**

-Un microorganismo, para crecer y reproducirse, debe tener agua a su disposición, y agua en fase líquida; ésto limita la actividad biológica a un rango de temperatura, donde el agua existe en forma líquida que comprende de -2°c a 100°C. A este rango de temperatura donde el agua puede existir en forma líquida y por consiguiente, permitir el desarrollo y actividad microbianas, se conoce como **ZONA BIOCINETICA.**

REQUERIMIENTOS DE AGUA

-Los requerimientos de agua de los microorganismos, se pueden expresar cualitativamente en forma de:

ACTIVIDAD DEL AGUA DEL MEDIO AMBIENTE O DEL SUSTRATO : $Aw = \frac{\text{Presión de vapor del agua en la solución}}{\text{Presión de vapor del agua pura a la misma temperatura y presion}}$

El Aw del Agua Pura = 1

-Los valores de Aw se pueden calcular considerando la siguiente ecuación:

$$\ln Aw = \frac{-v\ m\ \emptyset}{55.5}$$

v=Número de iones formados por cada molécula de soluto.
m=Concentración molar del soluto
Ø=Coeficiente osmotico molar
55.5=Concentración Molar del agua

-En general, los microorganismos pueden crecer y reproducirse en medios con valores de **Aw** comprendidos entre **0.99 - 0.60.**

RANGOS DE Aw PARA EL CRECIMIENTO MICROBIANO

a)**BACTERIAS:** Requieren medios de cultivo con los valores de Aw mas elevados, es decir que contengan bastante agua libre y fácilmente disponible:

Aw = 0.99 - 0.92

En medios con Aw menores de 0.90, las bacterias ya no pueden crecer, a excepción de:

i)Algunas bacterias que toleran las sales,como Micrococcus Staphylococcus aureus

S. aureus, es capaz de crecer y formar enterotoxina A en medios con Aw= 0.864 - 0.867 a 30°C, pero a 25°c el Aw mínimo se incrementa a 0870-0.887.

ii)Bacterias Halofílicas como Halobacterium, que crece a **Aw= 0.75** equivalente a una solución de NaCl 5.5 M

iii)Salmonella oraniemburg, es capaz de crecer en medios con **Aw < 0.97** pero requiere la adiciónde prolina al medio de crecimiento.

b)**LEVADURAS:** Sus valores mínimos de crecimiento son de **Aw = 0.91 - 0.88** , son valores más bajos que los de las bacterias, requieren menos agua disponible. Sin embargo, existen algunas levaduras denominadas **OSMOFILAS** que son capaces de crecer a **Aw** muy bajas, tal es el caso de Saccharomyces rouxii, que puede crecer a **Aw = 0.65** donde hay muy poca agua disponible. Para comparación, una solución saturada de sacarosa, a una solución de fructosa al 70% tienen una **Aw= 0.76.**

c) **H O N G O S:** Son los microorganismos que toleran mejor la sequedad, pueden crecer en medios con elevadas concentraciones de azúcares cuyas **Aw=0.60** como es el caso de Xeromyces bisporus y Asperpgillus glaucus. Sin embargo sus **Aw optimas = 0.93 - 0.84** se ubican organismos xerófilos

EFECTO DE LAS BAJAS Aw SOBRE LOS MICROORGANISMOS

-Cuando un microorganismo se hace crecer en un medio con Aw inferior al valor óptimo, ocurren los siguientes eventos:

a)Alargamientode la fase de latencia
b)Disminución en la velocidad de crecimiento
c)Disminución en la biomasa final
d)Deshidratación e inhibició de la actividad enzimática

-Los microorganismos que son capaces de tolerar bajas **Aw** donde el agua disponible es deficiente, han evolucionado mecanismos sofisticados para balancear su fuerza osmótica intracelular con la de su medio ambiente circundante. Para evitar la deshidratación en tales condiciones, los microorganismos son capaces de tomar del medio o de sintetizar moléculas que actúan como **AGENTES - PARA EL BALANCEO OSMOTICO.** Teoricamente un gran número de compuestos pueden servir para esta función. Sin embargo, un organismo puede usar solamente unos cuantos compuestos para cumplir esta necesidad. Por ejemplo:

a)Algunos hongos, entre ellos las levaduras osmófilas, sintetizan grandes - cantidades de **polialcoholes intracelulares como el arabitol y el glicerol** para elevar la presión osmotica interna hasta hacerla equivalente a la -- del ambiente, previniendo la pérdida neta de agua.

b)Las bacterias halofílicas como Halobacterium, posee una membrana plasmática que es permeable a las sales del medio, y sus enzimas están adaptadas a funcionar en presencia de altas concentraciones de sales, algunas de -- ellas muestran su actividad maxima a altas fuerzas ionicas como NaCl 4M. Por otra parte las proteinas ribosomales contienen una elevada proporción de aminoacidos ácidos cuya carga negativa es neutralizada por los iones - Na^+ que penetran.

c)Salmonella oranienburg para poder crecer a bajas Aw , acumula en su interior la **PROLINA** presente en el medio. Schobert y Tschesche han encontrado que la prolina es capaz de interactuar con proteinas poco solubles, incrementandoles su solubilidad y reduciendo la precipitación de proteinas solubles por acción de etanol y $(NH_4)_2SO_4$. Por ello, tales investigadores postularon que al combinarse la prolina con las proteínas intracelulares, se incrementaba la capacidad de los complejos proteína-prolina, para unir agua.

d)E. coli crece bajo niveles de fuerza osmótica completamente inhibitorios, solo si es suplementada con **osmoprotectores** como **GLICIL-BETAINA, COLINA, - PROLIN-BETAINA, ACIDO- TRIMETIL- -AMINOBUTIRICO.** La **DIMETIL-GLICINA** mostró baja actividad protectora, y la **PROLINA** fué activa pero a bajos niveles -de stress. Enseguida se muestran las estructuras químicas de **OSMOPROTECTORES** para E. coli y otras bacterias entéricas:

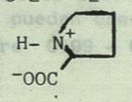
$(CH_3)_3N^+CH_2COO^-$ GLICIL-BETAINA

$(CH_3)_3N^+CH_2CH_2OH$ COLINA

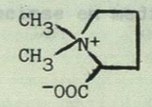
$(CH_3)_3N^+CH_2CHO$ BETAIN-ALDEHIDO

$(CH_3)_3N^+(CH_2)_3COO^-$ TRIMETIL- -AMINOBUTIRATO

$(CH_3)_2N^+CH_2COO^-$ DIMETIL-GLICINA



PROLINA



PROLIN-BETAINA

Tabla 1. Actividades de agua limitantes del crecimiento para varios microorganismos

Bacterias		Levaduras		Otros hongos	
Bacilus mycoides	0.99	Saccharomyces cerevisiae	0.94	Mucor spinosa	0.93
Bacillus subtilis	0.95			Penicillum sp	0.8-0.9
Serratia marcescens	0.94	Torula utilis	0.94	Aspergillus flavus	0.90
Escherichia coli	0.93			Aspergillus niger	0.84
Sarcina sp	0.92				
Bacterias que toleran las sales		**Levaduras Osmofilas**		**Hongos Xerófilos**	
Staphylococcus aureus	0.87	Saccharomyces rouxii	0.65	Aspergillus glaucus	0.60
Bacterias halófilas		S. bailii	0.65	Xeromyces bisporus	0.60
Halobacterium	0.75	S. bisporus	0.65		
Micrococcus halobius	0.75				
Acinetobacter sp	0.75				
Halobacterium cutirubrum	0.75				

Tomada de I.W.Dawes e I.W.Sutherland (1978).Fisiologia de los microorganismos.

Existen muchas formas de limitar el agua accesible a los microorganismos consiguiendo con ello bloquear su multiplicación, por ejemplo, disolviendo sales o azucares para aumentar la presión osmotica del medio ambiente, eliminar fisicamente el agua por evaporación o sublimación, o congelar, si este procedimiento es rápido se provoca la cristalización del agua dentro del organismo, pero si se efectua lentamente se forman cristales de hielo fuera de la célula. Este principio se aplica en los métodos de conservacion de los microorganismos por liofilización. Cualquiera de los procedimientos anteriores permiten controlar el crecimiento microbiano. Asi, para suprimir el crecimiento de Staphylococcus aureus y evitar su producción de enterotoxina A, es legalmente permitido el empleo de aditivos a los alimentos como la carne de pollo o cerdo con la finalidad de reducir el agua disponible para esta bacteria.

NOTA: Aunque la colina y el betaín-aldehido son efectivos en proteger a E. coli - contra el estress osmótico, estas moléculas no son osmoprotectoras por si - mismas sino que se convierten rapidamente en glicil-betaina y se almacenan en el citoplasma.

BIBLIOGRAFIA:

1.- Dawes, I.W. e I.W. Sutherland. 1978. Fisiología de los microorganismos. H. Blume Ediciones 1a. Edición en español.

2.- Le Rudulier, D., A .R. Strom., A.M. Dandekar., L.T. Smith y R.C. Valentine. 1984. Science. 224: 1064-1068.

3.- Lotter, L.P. y L. Leistner. 1978. Minimal Water Activity for Enterotoxin Production and - Growth of Staphylococcus aureus. Applied and Enviromental Microbiology. 36 (2): 377-380.

FUENTES DE CARBONO

Ciertos microorganismos son extremadamente especializados en cuanto a la fuente de carbono que utilzan ; por ejemplo:

a) Las bacterias oxidadoras del metano usan solo 2 sustratos orgánicos:

METANO (CH_4) y METANOL (CH_3OH)

b) Las bacterias degradadoras de celulosa emplean solo:

CELULOSA

Otros microorganismos poseen un rango estrecho de sustratos que pueden utilizar como fuentes de carbono, por ejemplo los organismos metanogénicos como Methanosarcina barkeri, utiliza como fuentes de carbono a:

H_2, CO_2
METANOL
ACETATO
CO
METILAMINAS

Por otra parte, existen microorganismos que presentan un alto grado de versatilidad en cuanto a sus requerimientos de carbono orgánico, por ejemplo Pseudomonas sp puede usar 90 compuestos orgánicos diferentes como fuente de carbono y energia (TABLA 1)

En comparación a Pseudomonas, Salmonella typhimurium es algo limitada en el rango de compuestos que puede utilzar como unica fuente carbono, al hacer un estudio sobre este aspecto se encoentro que este organismo:

1.-Utiliza como fuente de carbono a compuestos de origen natural pero no sintéticos.

2.-Emplea alrededor de 74 compestos naturales como fuente de carbono

3.-No es capaz de degradar moléculas grandes

4.-Solo puede utilizar pocos de la amplia gama de azucares y azucares derivados

5.-Utiliza pobremente los compuestos fosforilados como son la fructosa 6 fosfato, la glucosa-6-fosfato, glicerol-fosfato, acido-3-fosfoglicérico.

6.-Degrada solamente pocos acidos grasos, entre ellos al laurico, miristico, propionico, tridecanoico y oleico.

7.-No es capaz de hidrolizar enlaces amida o ester

8.-Es incapaz de utilizar como fuentes de carbono compuestos con anillos aromáticos.

9.-Emplea como fuentes de carbono, solo a pocos de los aminoacidos que ocurren naturalmente, entre ellos a la L-prolina, L-serina ,-

TABLA 1 . Compuestos orgánicos capaces de servir como única fuente de carbono y energia para la bacteria Pseudomonas cepacia

1.-CARBOHIDRATOS Y AZUCARES DERIVADOS (azucares acidos y polialcoholes)
- Ribosa
- Xilosa
- Arabinosa
- Fucosa
- Ramnosa
- Glucosa
- Manosa
- Galactosa
- Fructosa
- Sacarosa
- Trealosa
- Celobiosa
- Salicina
- Gluconato
- 2-ceto-gluconato
- Mucato
- Manitol
- Sorbitol
- Sacarato
- Sorbitol
- Inositol
- Adonitol
- Glicerol
- Butilenglicol

2.-ACIDOS GRASOS
- Acetato
- Butirato
- Isobutirato
- Valerato
- Isovalerato
- Caproato
- Heptanoato
- Caprilato
- Pelargonato
- Caprato

3.-ACIDOS DICARBOXILICOS
- Malonato
- Succinato
- Fumarato
- Glutarato
- Adipato
- Pimelato
- Suberato
- Azelato
- Sebcato

4.-OTROS ACIDOS ORGANICOS
- Citrato
- Alfacetoglutarato
- Piruvato
- Aconitato
- Citraconato
- Levulinato
- Glicolato
- Malato
- Tartrato
- Hidroxibutirato
- Lactato
- Glicerato
- Hidroximetilglutarato

5.-ALCOHOLES PRIMARIOS
- Etanol
- Propanol
- Butanol

6.-AMINOACIDOS
- Alanina
- Serina
- Treonina
- Aspartato
- Glutamato
- Lisina
- Arginina
- Histidina
- Prolina
- Tirosina
- Fenilalanina
- Triptofano
- Kyneurina

7.-OTROS COMPUESTOS NITROGENADOS.
- Antranilato
- Benzilamina
- Putrescina
- Espermina
- Triptamina
- Butilamina
- Amilamina
- Betaína
- Sarcosina
- Hipurato
- Acetamida
- Nicotinato
- Trigonelina

8.-COMPUESTOS CICLICOS LIBRES DE N.
- Benzoilformato
- Benzoato
- o-hidroxibenzoato
- m-hidroxibenzoato
- p-hidroxibenzoato
- fenilacetato
- Fenol
- Quinato
- Testosterona

Tomado de: The Microbial World. R.Y. Stanier (1976). pag 30. 4ª Edición.

TABLE 2 *Compounds which serve as sole carbon sources for Salmonella typhimurium LT-2*

Acetic acid	L-Fucose	Guanosine	Oleic acid
N-acetyl-D-glucosamine	Fumaric acid	Inosine	Oxaloacetic acid
N-acetyl-D-mannosamine	Galactaric acid (mucic acid)	*meso*-Inositol	3-Phosphoglyceric acid
Adenosine[a]	Galactitol (dulcitol)	DL-Isocitric acid	L-Proline[a]
L-Alanine[a]	D-Galactose	α-Ketoglutaric acid	Propionic acid
L-Arabinose	D-Glucaric acid (saccharic acid)	L-Lactic acid	Pyruvic acid
DL-Citramalic acid	D-Gluconolactone	Lauric acid	L-Rhamnose
Citric acid	D-Gluconic acid	L-Lyxose	D-Ribose
L-Cysteine[a]	D-Glucosamine	L-Malic acid	D-Serine[a]
Cytidine	D-Glucose	D-Maltose	L-Serine[a]
2-Deoxyadenosine	D-Glucose-6-phosphate	D-Mannitol	D-Sorbitol
2-Deoxycytidine	D-Glucuronic acid	D-Mannose	Succinic acid
2-Deoxyguanosine	D-Glucuronolactone	D-Mannosamine	*meso*-Tartaric acid[b]
2-Deoxy-D-ribose	DL-glyceric acid	Melibiose	Thymidine
Deoxyuridine	Glycerol	L-Methionyl-L-alanine[a]	D-Trehalose
Dihydroxyacetone	α-Glycerophosphate	6-Methylaminopurine riboside	Tricarballylic acid
D-Erythrose[b]	Glycolic acid	α-Methyl-D-galactoside	Tridecanoic acid
D-Fructose		Myristic acid	Uridine
D-Fructose-6-phosphate			D-Xylose

[a] Can serve as the sole source of both carbon and nitrogen.
[b] The bacteria will mutate to use this compound.

L-alanina, L,cisteína, etc.

10.- Algunos de los intermediarios metabolicos no son utilizables presumiblemente porque no penetran a la célula, entre-ellos el ácido-cis-aconítico, ribosa-5-fosfato, 6-fosfogluconato, 3-fosfoglicerato, glucosa-1-fosfato.

Es de interés hacer una estimación - aproximada del porcentaje del genoma de - Salmonella typhimurium empleado para ex-- presar la capacidad de utilizar las diferentes fuentes de carbono y nitrógeno que aparecen en las Tablas 2 y 3. Una estimación aproximada sería como sigue:

TABLE 3 *Compounds which serve as sole nitrogen sources for Salmonella typhimurium*

Adenosine[a]	Deoxycytidine
L-Alanine[a]	D-Glutamic acid
Ammonium chloride	L-Glutamic acid
L-Arginine	L-Glutamine
D-Asparagine	Glutathione (reduced)
L-Asparagine	Glycine
D-Aspartic acid	L-Homoserine
L-Aspartic acid	DL-β-Hydroxy glutamic acid
L-Cysteine[a]	L-Methionyl-L-alanine[a]
L-Cystine	L-Proline[a]
Cytidine	D-Serine[a]
Cytosine	L-Serine[a]
Deoxyadenosine	

[a] Can serve as the sole source of both carbon and nitrogen.

En el genóforo de Salmonella typhimurium (o E. coli) hay aproximadamente 4,000 genes, considerando el tamaño génico promedio de 1,000 pares-de bases. Si consideramos una **permeasa** y por lo menos 2 **enzimas** para la-utilización de cada uno de los compuestos involucrados, dado que este --- microorganismo empleó 100 compuestos como fuentes de C y N y si se re-- quieren 3 genes por cada compuesto, entonces son necesarios un total de - 300 genes para el transporte y utilización de esas 100 sustancias como - fuentes de C y N. Además, tomando en cuenta que puede haber otros com--- puestos utilizables, pero que no se probaron; y considerando 100 genes para su utilización, entonces, aproximdamente 400 genes estarían involucrados en la utilización de compuestos como fuentes de C y N.

Por lo tanto, de un total de 4,000 genes, el 10% del genoma - (400/4,00) es responsable de la capacidad que tiene S. typhimurium para - utilizar estos compuestos.

CLASIFICACION DE LOS MICROORGANISMOS SEGUN SU FUENTE DE CARBONO UTILIZABLE

1.- **AUTOTROFOS:** Son aquellos microorganismos que utilizan al CO_2 o sus - sales como única fuente de carbono, y a partir de él sintetizan todos sus compuestos orgánicos hidrocarbonados.

La conversión del CO_2 a constituyentes celulares orgánicos, es un proceso **reductivo dependiente de energía.**

Existen dos tipos de variantes de organismos autótrofos:

i) **AUTOTROFOS ESTRICTOS:** Su fuente de carbono debe ser obligatoriamente el CO_2 o sus sales. - Este es el caso de por ejemplo:

Bacterias nitrificantes
Bacterias oxidadoras del azufre
Bacterias fotosinteticas de las familias Chlorobiaceae y Chromatiaceae.
Bacterias oxidadoras del fierro
Bacterias oxidadoras del hidrogeno

ii) **AUTOTROFOS FACULTATIVOS:** Su fuente de carbono puede ser - el CO_2 ó sus sales o bien un compuesto orgánico. Este es el caso de:

Bacterias fotosinteticas de la familia Rhodospirillaceae.
Hydrogenomonas

2.- **HETEROTROFOS:** Son aquellos microorganismos que necesitan de una fuente de carbono orgánica en el medio, ya que son incapaces de utilizar al CO_2 como fuente de carbono. Por esta razón la fuente de carbono es **obligatoriamente** un compuesto -- orgánico. Entre estos organismos se encuentran:

Todos los Quimioorgánotrofos como son la mayoria de las bacterias, hongos, levaduras, protozoarios, etc.

FUENTES DE CARBONO

- **A)INORGANICAS:**
  - CO_2
  - $CO_3^{=}$
  - HCO_3^{-}
- **B)ORGANICAS**
  - **MONOSACARIDOS**
    - Pentosas
    - Desoxiazucares
    - Hexosas
    - Azucares ácidos
    - Azucares alcoholes
  - **DISACARIDOS**
  - **AMINOACIDOS**
  - **COMPUESTOS AROMATICOS**
  - **LIPIDOS**
  - **ALCOHOLES**
  - **HIDROCARBUROS**
  - **COMPUESTOS CICLICOS LIBRES DE N**
  - **COMPUESTOS CICLICOS NITROGENADOS**

F U E N T E S D E E N E R G I A

-Según la fuente de energía que utilizan, los microorganismos pueden ser clasificados de la siguiente manera:

I.-**F O T O T R O F O S:** Organismos cuya fuente de energía es la radiación -- solar, la cual son capaces de convertirla en energía química en forma de ATP mediante un mecanismo de -- fotofosforilación ciclica o no ciclica que sucede durante la FOTOSINTESIS. Son **AUTOTROFOS.**

Requieren de un donador de electrones para el evento de fotosíntesis, el cual al oxidarse libera H^+ y -- electrones para reducir finalmente al $NADP^+$.

Dependiendo de la naturaleza química del sustrato -- oxidable empleado, los organismos fototrofos se pueden subdividir en:

i)**FOTOLITOTROFOS:** Aquellos organismos que para llevar a cabo la foto-- síntesis requieren de **dondadores de electrones inorgánicos reducidos** como el H_2O, H_2S, $H_2S_2O_3$, $H_2,SO_3^{=}$.

Utilizan al CO_2 como única fuente de carbono, el --- cual es reducido a compuestos organicos como $C_n(H_2O)_n$ requiriendose para ello el ATP y NADPH+H producidos- durante la fotosíntesis.

Los microorganismos fotolitotrofos requieren factores de crecimiento como la Vitamina B12, Biotina, Tiamina en bajas concentraciones para su crecimiento.

Dentro de este grupo se incluyen:

a)**PLANTAS SUPERIORES:** Donador de electrones: H_2O, se libera O_2 durante la fotosintesis, por lo que el proceso se conoce como FOTOSINTESIS OXIGENICA.

b)**ALGAS SUPERIORES:** H_2O es el donador de electrones FOTOSINTESIS OXIGENICA

c)**BACTERIAS FOTOSINTETICAS:** H_2S es el donador de electrones. FOTOSINTESIS ANOXIGENICA, no se libera O_2 sino S°. P ejem:

1)Fam. Chlorobiaceae
2)Fam. Chromatiaceae

d)**CIANOBACTERIAS:** H_2O es el donador de electrones FOTOSINTESIS OXIGENICA