FUENTE DE FOSFORO

El fosforo es indispensable para que los microorganismos sinteticen:

A)ACIDOS TEICOICOS presentes en la pared celular

B)ACIDOS LIPOTEICOICOS asociados con membrana

C)FOSFOLIPIDOS de membrana interna y externa

D)PLASMALOGENOS

E) NUCLEOTIDOS (ATP, GTP, CTP, UTP, etc)

F)AZUCARES-NUCLEOTIDOS indispensables como precursores durante la sintesis de capsulas, lipopolisacárido, peptido

G)VITAMINAS: Pirofosfato de tiamina, fosfato de piridoxal, que funcionancomo cofactores de ciertas enzimas.

H) NADP⁺, NAD⁺, FAD⁺, Flavinas.

En los medios de cultivo sinteticos, el fósforo es adicionado en forma de sales inorgánicas de potasio o de sodio como KH2PO4 y K2HPO4, estas dos sales funcionan ademas como reguladoras del pH externo.

En los medios de cultivo complejos, como los que contienen extracto de leva dura ; el fosfato proviene de la hidrólisis de los acidos nucleicos de la levadura.

I) BACTERIAS OXIDADORAS DEL AZABERE El fosforo como FOSFATO en un estado de oxidación de +5, no requiere de reducción para su incorporación en los compuestos orgánicos.

El fosfato es esencial par las reacciones de fosoforilación del ADP ya seaa través de fosforilación a nivel de sustrato, fosforilación oxidativa o -fotofosforilación.

En glicolisis ocurre una reacción donde el fosfato es incoroporado en el -gliceraldehido-3-fosfato para formar el acido 1,3 difosfoglicérico, como se muestra enseguida:

Otra reacción de incorporación de fosfato es catalizada por la fosfocetolasa:

FUENTES NITROGENO

-La utilización tanto de nitrógeno orgánico como inorgánico da como resultado la síntesis de glutamato y glutamina, intermediarios metabólicos que distribuyen su nitrógeno en la síntesis de aminoácidos, aminoazúcares, vitaminas,purinas y pirimidinas, compuestos que a su vez participan en la síntesis demacromoléculas como acidos nucleicos, heteropolisacáridos, proteínas, lípi-un factifik que contiene molibideno factro y azufre

-El nitrógeno (No) es el elemento más abundante en la atmosfera terrestre, re presenta el 80% de los gases que la forman; sin embargo, las plantas y los animales son incapaces de utilizarlo como fuente nitrógeno, solamente ciertos microorganismos pueden hacerlo, a ellos se les designa FIJADORES DE NITROGE-NO. Dichos organismos reducen al No (estado de oxidación = 0) a NH (estadode oxidación = -3), que es la forma como el nitrógeno se encuentra en los compuestos orgánicos.

-Los Microorganismos fijadores de nitrógeno son:

VAS OFTAVODOXINAS & NADPHA

En general la conversión -

a)En asociación simbiótica:

Rhizobium - Leguminosas Franckia - No Leguminosas

M9 19 . order collected to b) De vida libre, aerobias.

Azotobacter vinelandii Beijerinckia Derxia Achromobacter Methanobacillus Pseudomonas azotogenesis

c)De vida libre, anaerobias facultativas: Citrobacter freundii

Klebsiella pneumoniae Enterobacter aerogenes Bacillus pplymyxa, B. macerans, B. circulans

Enterobacter cloacae Escherichia intermedia

D)De vida libre, anaerobias obligadas:

Chromatium vinosum Clostridium pasteurianum Chloropseudomonas

Desulphatomacolum Azospirillum brazilen Rhodospirillum rubru Desulphovibrio desulfuricans

II-CIANOBACTERIAS: Anabaena cylindrica , Anabaenopsis circularis, Nostoc muscorum Tolypothrix (Todas son de vida libre)

Spirulina

Anabaena flos-aquae

-La fijación de nitrógeno es un proceso ENDERGONICO, requiere de energía, en Azotobacter se gastan 4 -5 ATP por cada No fijado, en Klebsiella pneumoniae 29 ATP y en Clostridium pasteurianum 20 ATP. La energía requerida para dicho proceso proviene de la fotosíntesis o de la respiración.La energía se utiliza para producir H⁺ y un reductor adecuado. buyen su nitrógeno en la sintesis de aminoácidos, aminoazúceres, vitaminas,-

-La NITROGENASA es la enzima que cataliza la reducción del No en NH y está formada de dos componentes incapaces de fijar nitrógeno por separado, y por un factor que contiene molibldeno, fierro y azufre.

(NITROGENASA) actrals strangle withogeno, solamente ciertos

Tor se les designs Filapones DE WITROGE-

(estado de oxidación = 0) a NH, (estado-

como el hitrógeno se encuentra en los

a) EL COMPONENTE I Ó PROTEINA FE-Mo : pesa 200,000 daltones y está formada por dos tipos de polipéptidos que se asocian en forma de tetrámero. Esteoligómero contiene dos polipeptidosde cada tipo, 1 ó 2 átomos de Molibdeno y de 20-30 átomos de fierro -(18-34); además de 16 SH por molécula. Se representa como:

Es inhibida irreversiblemente por el 02

b) EL COMPONENTE II 6 PROTEINA Fe : (NITROGENASA REDUCTASA)

Pseudomonas azotogenesis

Klebsiella pneumoniae

the vide libre, enserobias obligadas:

Enterobacter aerogenee

Pesa 50,000 daltones y está formada por dos subunidades identicas con 1 a 4 átomos de Fierro-no Hemo. El PM varía entre 55,000 - 65,000.

Este componente es reducido por ---FERREDOXINAS, FLAVODOXINAS o NADPH2; en el estado reducido se le une unamolécula de Mg-ATP, esta unión resul ta en un cambio conformacional que permite que este componente interaccione con el Componente I transfi--riendole sus electrones, durante este proceso se hidroliza el ATP. El componente I reducido, transfiere sus electrones al No convirtiendoloen NH . En general la conversión de Notation de NH gastade 12 a 15 ATP

-En C. pasteurianum, B. polymyxa, el donador de electrones a la ferredoxina es el PIRUVATO, FORMATO, NADPH; en tanto que en Klebsiella pneumoniae, el donador es el PIRUVATO, FORMATÓ y MALATO (J. Bacteriol. 1980. 141(2):470-475)

-El sistema de la nitrogenasa aparentemente está controlado por un sistema de -RETROALIMENTACION por AMONIO. Concentraciones 2-3mM de amonio reprimen completa mente la sintesis de nitrogenasa, el Nitrato solo reprime parcialmente. Lo ante rior ha sido observado en cianobacterias.

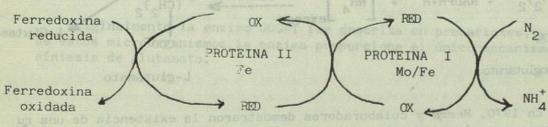
-189-P+ADP Otros electrones transferidos N=N

Fig.1.Diferentes componentes y mecanismo de acción de la nitrogenasa. PI:Componente I, contiene molibdeno (Mo) y tiene afinidad por una molécula de nitrógeno atmosférico (N=N), P-II: Componente II al cual se le une ATP y magnesio (Mg+2). F:Donador de electrones, representados como (*)

-El sistema de la nitrogenasa es poco específica, y puede reducir muchos sustratos además del nitrógeno, sobretodo aquellos que contengan triples enlaces. P. ejem:

-Todos los compuestos anteriores son tóxicos por su afinidad por iones metálicos de transición.

-Una forma de representar el sistema de la NITROGENASA es:



nATP nADP+Pr sile re otnome leb Glutamina Sintetama (CS) y la Glutamato Sintetama (GOGAT), La GlutamiAl igual que los vegetales, los hongos como <u>Neurospora y Aspergillus</u> pueden utilizar el <u>NITRATO (NO₃)</u> como fuente de <u>nitrógeno</u>, como en estebe ser reducido a NH₄+ (edo de oxidación -3). Esta transformación ocurre por medio de dos pasos enzimáticos catalizados por un complejo enzimático llamado <u>NITRATO REDUCTASA</u>:

$$NO_3^- + 10 \text{ H}^+ - - - - - NH_4^+ + 3 \text{ H}_2\text{ O}$$
a) $NO_3^- + \text{NADPH+H}^+ - - - - NO_2^- + \text{NADP}^+$
b) $NO_2^- + \text{NADPH+H}^+ - - - - NH_4^+ + \text{NADP}^+$

La Nitrato reductasa dependiente de NADPH de <u>Neurospora crassa</u> es inducida por nitrato o NO₂, pero es reprimida por el NH₄. Es una sulfomo de 230,000 daltones.

La reducción de nitrato a amonio en Escherichia coli es efectuada por un complejo multienzimático unido a membrana llamado NITRATO REDUCTASA, - la cual está constituída por la formiato deshidrogenasa, 2 formas de citocromo b y la nitrato reductasa.

En procariotes y algunos eucariotes sencillos como Neurospora, Asper gillus, Saccharomyces y Candida, la fuente de nitrógeno puede ser el -- NH₄+ ya que poseen la enzima llamada GLUTAMATO DESHIDROGENASA BIOSINTE- TICA responsable de la asimilación del amonio. Esta enzima trabaja a -- altas concentraciones de amonio y es inefectiva cuando este se encuentra a bajas concentraciones, y en tal caso se usa otra ruta. La Km de la -- glutamato deshidrogenasa por el amonio es relativamente alta, y la Km de la Glutamina Sintetasa es relativamente baja, en ello reside la diferen cia de actividad.

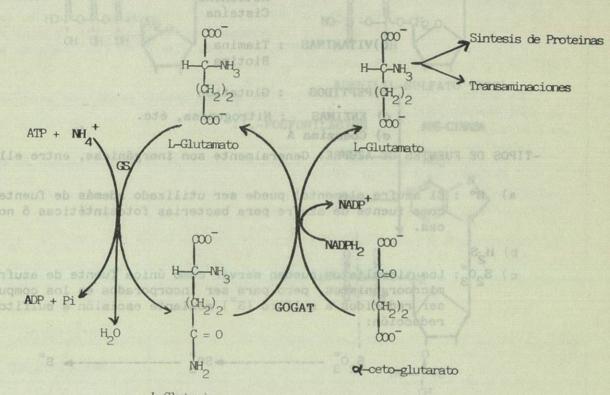
La Glutamato Deshidrogenasa Biosintética (E.C.1.4.1.4), cataliza la aminaciónreductiva del alfa-ceto glutarato mediante la siguiente reacción:

alfa-cetoglutarato

L-glutamato

En 1970, Meers y colaboradores demostraron la existencia de una ru ta alterna para la asimilación del amonio, en ella participan dos enzimas-la Glutamina Sintetasa (GS) y la Glutamato Sintetasa (GOGAT). La Glutamina Sintetasa trabaja a bajas concentaciones de amonio.

Esta ruta alterna ocurre en levaduras como Schizosaccharomyces versatilis y en bacterias entre ellas Aerobacter aerogenes, Escherichia coli, Caulobacter crescentus, Pseudomonas, Spirillum, Bacillus megaterium, --- Rhodopseudomonas capsulata, ya que carecen de la glutamato deshidrogensa. Las reacciones catalizadas por la Glutamina Sintetasa (GS) y la Glutamato Sintetasa (GOGAT) son las siguientes:



L-Glutamina

CS: L-Glutamato-amonio Ligasa que requiere de ATP (E.C. 6.3.1.2.) COCAT: L-Glutamina-2-cetoglutarato-aminotransferasa (EC. 2.6.11.53)

En los microorganismos existen por lo tanto dos enzimas capaces de asimilar el amonio, la GDH-NADP y la GS-GOGAT. La operación de una u otra vía de asimilación depende de la concentración de amonio presente en el medio. En Saccharomyces cerevisiae la via GS-GOGAT ha sido poco estudiada y no sele ha asignado un papel fisiológico, sin embargo, en Neurospora crassa — Hummlet y Mora han demostrado que mutantes carentes de GDH-NADPH sintetizan glutamato por la via GS-GOGAT.

Originalmente la enzima GOGAT fue descrita en procariotes, y en algunos de estos microorganismos la enzima proporciona el único mecanismo para la --síntesis de glutamato.

FUENTE DE AZUFRE

-El azufre es requerido por los microorganismos, para la síntesis de:

a) AMINOACIDOS: Homocisteína Metionina

Cisteína

b)VITAMINAS : Tiamina
Biotina

c)PEPTIDOS : Glutation

d) ENZIMAS : Nitrogenasa, étc.

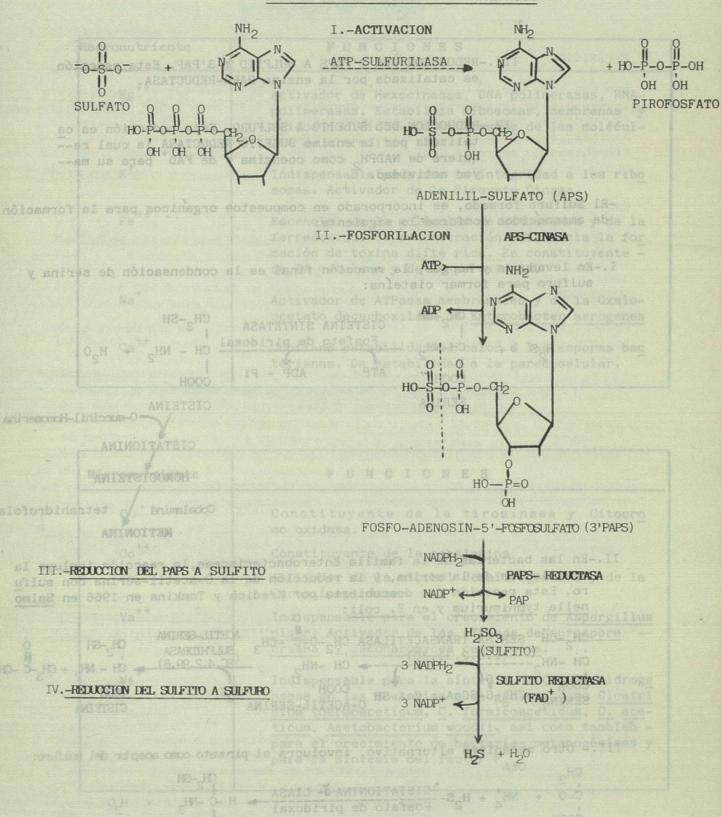
e) Coenzima A

-TIPOS DE FUENTES DE AZUFRE: Generalmente son inorgánicas, entre ellas:

- a) S°: El azufre elemental puede ser utilizado además de fuente de energía, como fuente de azufre para bacterias fotosintéticas ó no fotosintéticas.
- b) H₂S
- c) s_2^{03} : Los tiosulfatos pueden servir como única fuente de azufre para muchos microorganismos, pero para ser incorporados en los compuestos, deben ser reducidos a sulfuro (S⁻) mediante escisión a sulfito y posterior-reducción:

- d)HSO3 : Es utilizado como fuente de azufre por <u>Desulfovibrio</u> <u>vulgaricus</u>, para su incorporación en compuestos orgánicos, debe ser reducido a S=:
- e) SO₄: Es la forma preferida como se adquiere del medio de cultivo, el azufre en el sulfato se encuentra en un estado de oxidación de (+6),por
 lo que para incorporarlo en sus compuestos orgánicos, el microorganismo necesita reducirlo a un estado de oxidación de (-2,como S⁻) me
 diante un mecanismo que se llama "REDUCCION ASIMILATORIA DEL SULFATO". Este mecanismo de asimilación se ha encontrado en algunas bac
 terias, y hongos; y consiste en las siguientes etapas:
- I.-ACTIVACION DEL SULFATO por una reacción de adenilación, el SO + ATP, se forma un nucleótido, el Adenilil-Sulfato ó Adenosin-5-fosfosulfato. Esta reacción es catalizada por la ATP-Sulfurilasa.
 - II.-Luego el APS se fosforila nuevamente y se forma el Fosfo-Adenosin-Fosfo-sulfato, una segunda molecula de ATP fosforila el carbono 3' del APS formandose el compuesto denominado 3'PAPS.

REDUCCION ASIMILATORIA DE SULFATOS



IV.-REDUCCION DEL SULFITO A SULFURO. Esta reducción es ca talizada por la enzima SULFITO REDUCTASA la cual requiere de NADPH₂ como coenzima y de FAD⁺ para su mayor actividad.

-El Sulfuro formado, es incorporado en compuestos organicos para la formación de aminoácidos conforme lo siguiente:

I.-En levaduras y hongos, la reacción final es la condensación de serina y sulfuro para formar cisteína:

II.-En las bacterias de la familia Enterobacteriaceae, la reacción incluye la acetilación de la serina, y la reducción de la O-acetil-serina con sulfu ro. Esta reacción fue descubierta por Kredich y Tomkins en 1966 en Salmo nella typhimurium y en E. coli:

III. - Otro mecanismo alternativo, involucra al piruvato como aceptor del sulfuro:

NUTRIENTES INORGANICOS

FUNCIONES Macronutriente Activador de Hexocinasas, DNA polimerasas, RNApolimerasas. Estabiliza ribosomas, membranas y ácidos nucléicos. Constituyente de las molécullas de clorofila. Indispensable para dar la integridad a los ribo somas. Activador de la Piruvato Cinasa. Escencial en la moléculas de citocromos y de la ferredoxina. Su concentración influencia la for mación de toxina difté rica. Es constituyente de la catalasa y de la peroxidasa. Activador de ATPasas membranales y de la Oxaloacetato decarboxilasa de Enterobacter aerogenes Confiere estabilidad al calor d las esporas bac terianas. Da estabilidad a la pared celular.

as sobseluks nucleighem projectnes, fosfolipedos, erch | osco , d nos sob

Micronutriente	FUNCIONES
AMIN'S ++ inos sup	Constituyente de la tirosinasa y Citocro mo oxidasa.
Co++ other	Constituyente de la cobalamina
Zn ++	Activador de la alcohol deshidrogenasas y de la Carboxipeptidasa.
was the planted as	Indispensable para el crecimiento de Aspergillus niger. Activador de las ATPasas de Neurospora crassa y Saccharomyces cerevisiae.
en los factores de per sa sup iN ati	Indispensable para la síntesis de CO ₂ Deshidroge nasas en las bacterias acetogénicas como <u>Clostridium thermoaceticum</u> , <u>C. formicoaceticum</u> , <u>C. aceticum</u> , <u>Acetobacterium woodii</u> , asi como tambien para el crecimiento de bacterias metanogénicas y para la síntesis del factor F ₄₃₀