a) **CRIOFILOS o PSICROFILOS:** Son aquellos microorgnaismos cuya temperatura óptima de crecimiento es de 0°C - 5°C, pero su rango de temperatura comprende de 0°C - 25°C. Los organismos **psicrofilos facultativos** pueden crecer a temperaturas superiores a los 25°C pero los **psicrofilos obligados** no.
Dentro del grupo de organismos psicrofílicos se incluyen especies bacterianas, levaduras, hongos y algunas algas, entre ellos:

Bacterias: Serratia, Micrococcus, Pseudomonas, Flavobacterium, Achromobacter Acinetobacter lwoffi

Levaduras: Torulopsis psycrophila, Torulopsis austromarina Torulopsis gelidum , Torulopsis nivalis Leucosporidium frigidum

Ya que la temperatura de los océanos es permanentemente inferior a los 20°C, la remoción de materia orgánica contaminante proveniente de derramamientos de petróleo, depende principalmente de la actividad de organismos psicrófilos; asi mismo, debido a su baja temperatura de crecimiento pueden multiplicarse en alimentos refrigerados y otros materiales almacenados bajo refrigeración.

b) **MESOFILOS:** Son aquellos microorganismos cuyo rango de temperatura oscila entre 25°C - 40°C, pero su temperatura óptima de crecimiento es de 37°C. Incluyen a la mayoría de las bacterias, entre ellas podemos citar:

Neisseria	Escherichia coli
Shigella	Haemophilus influenzae
Lactobacillus	Salmonella typhimurium
Proteus vulgaris	

c) **TERMOFILOS:** Son aquellos microorganismos cuya temperatura óptima de crecimiento está sobre los 40°C. Hay dos tipos de organismos termofílicos, los **estenotermofilos** incapaces de crecer a temperaturas inferiores a los 37°C y los **euritermófilos** que sí lo pueden hacer. En su mayoría, los organismos termófilos se encuentran en materiales en contacto con el suelo y aguas termales, boilers, calentadores industriales de agua, volcanes. La mayoria de los organismos termófilos son procariotes, algunos hongos-actinomicetos, bacterias y cianobacterias incluidas son:

Bacillus stearothermophilus (65°C-75°C) ,	Thermus aquaticus (80°C-85°C)
Methanobacterium thermoautothrophicum (60°C),	Candida sloffi
Desulfovibrio thermophilus (70°C)	Synechococcus lividus(55-65°C)
Clostridium thermohydrosulfuricum (70°C)	Chloroflexus aurianticus (55°-65°C)
Methanococcus vannielli (60°C)	Clostridium tartavorum (62°C)
Saccharomyces telluris	Thermonospora pintolopesii
Thermomonospora curvata	Thermomonospora bovina
Clostridium thermosaccharolyticum (62°C)	Clostridium thermoaceticum (62°C)
Lactobacilus delbruckii	

Thermothrix thiopara (72°C) encontrado en aguas termales
Methanothermus fervidus (83°C) encontrado en volcanes
Methanosarcina spp (55°C) encontrado en digestores anaerobios

4.- **pH** : Ha habido muy pocos estudios respecto al efecto del pH sobre la eficiencia del crecimiento. En cuanto a la velocidad de crecimiento se ha observado que los microorganismos presentan un rango restringido donde crecer optimamente, pero a ambos lados de ese espectro la velocidad de crecimiento disminuye. El rango de pH tolerado depende de cada microorganismo. Se reconoce que el pH afecta más a la velocidad de crecimiento que al rendimiento celular.

En experimentos con cultivos de Escherichia coli limitados en glucosa, Harrison y Loveless no observaron ningún efecto sobre el rendimiento al variar el pH entre 6.0 y 8.2, solo cuando el pH de incubación se disminuyó a 5.4 se observó un decremento significativo en el rendimiento.

Durante los años setentas se desarrollaron varios métodos para medir el Ph citoplásmico en las bacterias. Estos han revelado que el pH intracelular (pH_i) se mantiene relativamente constante independientemente de las fluctuaciones de pH que ocurran en el medio externo, sin embargo, no hay un valor de pH al cual se ajuste el citoplasma en todas las bacterias; se ha establecido que los organismos **acidófilos** mantienen valores de pH_i en el rango de 6.5 a 7.0, los **neutrófilos** muestran valores de pH_i entre 7.5 y 8.0 , y los **alcalinofilos** exhiben valores entre 8.4 - 9.0. Esta gran variabilidad es debido a que los sistemas enzimáticos que posee cada grupo están adaptados a operar en esos rangos de pH.

La capacidad de regular el pH citoplásmico depende de cada organismo, en muchos de ellos el pH_i varia solo 0.1 unidad por cada cambio en una unidad del pH externo, pero otros sufren cambios mas grandes.

Los mecanismos por los cuales esta homeostásis es efectuada están pobremente comprendidos, sin embargo, se han propuesto dos hipótesis para explicar este fenómeno. De acuerdo a la primera, el pH_i es estable e independiente del metabolismo celular y pudiera ser mantenido constante mediante mecanismos fisicoquímicos como el potencial de Donnan. De acuerdo a la segunda hipótesis, la homeostásis referida es mantenida mediante mecanismos que requieren energía del potencial electroquímico generado en la membrana plasmática durante la cadena de transporte de electrones. Asi Harold y colaboradores han propuesto que el pH citoplasmico es incrementado por la translocación de protones hacia el exterior concomitantemente con el influjo de K^+ para mantener la neutralidad eléctrica tal como se ilustra en la Figura 3.

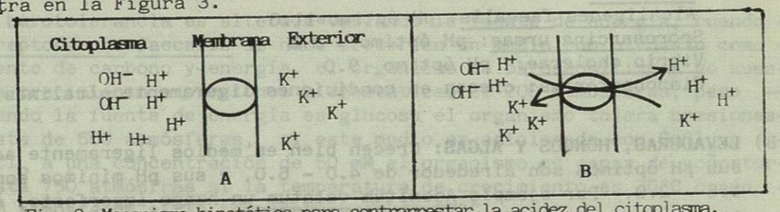

Fig. 3. Mecanismo hipotético para contrarrestar la acidez del citoplasma. A)pH_i ácido como consecuencia del metabolismo B)Mecanismo homeostatico dependiente del potencial de membrana

En contraparte, la disminución del pH citoplásmico ocurre mediante el funcionamiento de sistemas antiportadores H^+/Na^+ o H^+/K^+ como se muestra en la Figura 4. En cualquier evento, el movimiento de cationes monovalentes incluyendo el H^+ está involucrado en la regulación del pH_i. Esta segunda hipótesis es quizá el mecanismo más adecuado para explicar la regulacióndel pH intracelular

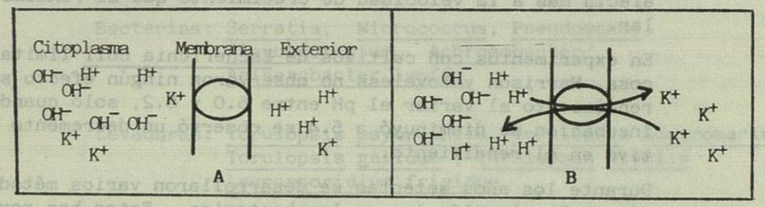

Fig. 4. Mecanismo hipotético para contrarrestar la alcalinidad del citoplasma. A) pH_i alcalino como consecuencia del metabolismo B)Mecanismo homeostatico dependiente del potencial de membrana.

El pH óptimo para el crecimiento de los diferentes microorganismos se da a continuación:

A) **BACTERIAS:** Estos microorganismos prefieren pH cercanos a la neutralidad es decir son **neutrófilos**,o ligeramente alcalinos para su crecimiento. Su pH óptimo es de 7.2 - 7.4 y generalmente ya no sobreviven a valores de 4 -5. Sin embargo existen excepciones, algunas bacterias son **acidofilas** entre ellas:

Las Bacterias del Acido Láctico: p.ejem. Lactobacillus: pH=4.0-4.5
Las Bacterias del Acido Acético: p.ejem: Acetobacter: pH=1.0
Bacterias oxidadoras del azufre: Thiobacillus thiooxidans: pH=0-1.0

Asimismo existen bacterias que tienen una preferencia a desarrollarse a pH alcalinos , es decir son **alcalinófilas**, entre ellos:

Las Bacterias Nitrificantes
Los Actinomicetos
Rhizobium
Alcaligenes faecalis: pH óptimo=11.0
Sporosarcina ureae: pH óptimo = 8.8
Vibrio cholerae: pH óptimo 9.0
Cianobacterias: crecen en condiciones ligeramente alcalinas.

B) **LEVADURAS, HONGOS Y ALGAS:** Crecen bien en medios ligeramente acidos, sus pH óptimos son alrededor de 4.0 - 6.0, y sus pH mínimos son de 1.5 - 2.0. Por ejemplo Aconitum velatum un hongo imperfecto, es capaz de crecer en H_2SO_4 2.5 N saturado con $CuSO_4$.

Cuando una bacteria se hace crecer en medios cuyo pH es distinto al rango tolerado, se afectan distintos procesos como son la morfología, en los hongos se disminuye la longitud de las hifas; se ocasiona la desnaturalización de proteinas de la membrana externa e interna y del espacio periplásmico inhibiendo su actividad. También se afecta el gradiente electroquímico establecido a través de la membrana plasmática y los procesos dependientes de él.

5.- **PRESION HIDROSTATICA:** Muchos microorganismos crecen y se multiplican a la presión atmosférica pero existen otros que ocurren en las profundidades de los océanos, sedimentos marinos, lugares subterráneos como las minas, donde las presiones hidrostáticas son mayores que la presión atmosférica, incluso llegando a alcanzar valores mil veces superiores a los de la superficie terrestre, a aquellos microorganismos que colonizan esos lugares se les llama **organismos barofilos**.

La presión hidrostática juega un papel importante en la ecología marina ya que restringe la colonización de las aguas profundas y sedimentos marinos por organismos no barotolerantes, permitiendo solo el desarrollo de organismos barófilos. En el océano la presión se incremente una atmósfera por cada 10 metros de profundidad, la presión hidróstática máxima en el sitio más profundo del océano es 1,160 atmósferas, pero en promedio la presión hidrostática en el fondo del océano es de 380 atmósferas. Esta presión es inhibitoria para el crecimiento de la mayoría de las bacterias, especialmente por las bajas temperaturas que predominan en esos sitios.

En los organismos eucarióticos las altas presiones hidrostáticas ocasionan la disgregación de estructuras microtubulares resultando en la pérdida de la movilidad, redondeamiento de la célula e inhibición de la separación de los cromosomas. En los organismos procarióticos interfiere con procesos biosintéticos principalmente la síntesis de proteínas que es el proceso más barosensitivo, causando un bloqueo en el crecimiento. Posiblemente también ocurra la desnaturalización o disgregación de estructuras poliméricas, pero no se han presentado datos que apoyen esta suposición.

En Escherichia coli tanto las células completas como los extractos libres de células mostraron una inhibición de la síntesis de proteínas por una presión hidrostática incrementada, por el contrario en organismos como Pseudomonas fluorescens, Pseudomonas batycetes o Streptococcus faecalis no ocurrió tal efecto inhibitorio.

La barotolerancia es alterada variando la fuente de energía, cuando Streptococcus faecalis se hace crecer en un medio con piruvato como fuente de carbono y energía, el organismo es barosensitivo y no muestra crecimiento a presiones hidrostáticas de 200 atmósferas, pero cuando la fuente de energía es glucosa el organismo tolera presiones hasta de 500 atmósferas, si este medio es adicionado con $CaCl_2$ o $MgCl_2$ a una concentración de 50 mM el organismo es capaz de soportar hasta 750 atmósfras si la temperatura de crecimiento es 30°C o aún 900 atmósferas si la temperatura es de 37°C.

Estudios con este microorganismo han demostrado que la alta presión hidrostática incrementa la actividad de ATPasa , por lo que el abastecimiento de ATP disminuye considerablemente.

Investigaciones con ribosomas híbridos formados a partir de ribosomas de organismos barorensitivos y barotolerantes han permitido concluir que es la subunidad 30S la entidad susceptible a la presión hidrostática, y no la subunidad 50S o los factores solubles involucrados en la biosíntesis de proteínas.

6.- **POTENCIAL DE OXIDOREDUCCION (E_h)**: Cuando inoculamos una bacteria en un medio de cultivo, procuramos proporcionarle todas las condiciones adecuadas que favorezcan su desarrollo, pero pocas veces consideramos el potencial de oxidoreducción del medio. Si contiene sustancias muy oxidantes se producirán potenciales positivos (p. ejem +200 mV), pero si incluye cantidades notables de sustancias reductoras el potencial será negativo.

La aireación de los medios de cultivo tiende a producir potenciales positivos muy elevados en el rango de 200 - 300 mV debido a la captación de oxígeno, pero como el crecimiento de la mayoría de los organismos ocurre a potenciales menores, es conveniente someter a ebullición los caldos para eliminar gases disueltos volátiles como el O_2, H_2S, H_2y SO_2 y reducir el Eh hasta valores de -100 a +100 mV, o bien se acostumbra alternativamente adicionar sustancias reductoras que tienen el mismo efecto.

Desde el punto de vista clínico el Eh es importante en las infecciones de heridas por organismos anaerobios, ya que si una población mixta de organismos aerobios y anaerobios se establece en ese ambiente aerobio, la reducción del Eh por los productos del metabolismo bacteriano creará las condiciones reductoras adecuadas que promoverán la multiplicaciónde organismos anaerobios patógenos.

Un hecho que ha intrigado a los microbiólogos es aclarar si la sensibilidad al oxígeno de los organismos anaerobios se debe al alto Eh o es el oxígeno por si mismo el causante del cese del crecimiento en condiciones anaerobias. A principios de los años setentas se concluyo que es el oxígeno y no el Eh el responsable del efecto inhibitorio de la aerobiosis sobre organismos como Clostridium acetobutylicum, Clostridium perfringens, Bacteroides fragilis y Peptococcus magnus. Sin embargo eso no ha sido totalment aceptado.

Algunos investigadores han encontrado que la adición de agentes reducidos como la vitamina C o compuestos con grupos sulfhidrílo libres como la cisteina o el formaldehido sulfoxilado de sodio (FSS) disminuyen el Eh de los medios de cultivo y favorecen el crecimiento de bacterias anaeróbicas como Clostridium welchii o Clostridium botulinum.

En 1979 Smith y Pierson examinaron el efecto de distintos agente reductores sobre el Eh y el crecimiento de Clostridium botulinum tipo E

empleando como medio de cultivo base al Caldo Soya Tripticasa prereducido cuyo Eh era de -141 mV. La adición de sustancias como el tioglicolato desodio o el acido ascorbico incrementaron el valor de Eh del medio hasta -100 mV, pero el desarrollo y rendimiento del microorganismo fueron muy pobres. Sin embargo, al adicionar cisteína, 2-mercaptoetanol o FSS ocurrió una disminución del Eh (Eh -141 mV) sobretodo a bajas concentraciones deagente, siendo el FSS al 0.3% el que causó los valores de Eh más bajos; en este caldo el microorganismo exhibió la velocidad de crecimiento y rendimiento más altos; estos mismos resultados fueron observados al adicionar el 2-mercaptoetanol al 0.01% o cisteína al 0.05%.

Los datos anteriores sugieren que el crecimiento del microorganismo anaerobio depende tanto de un bajo potencial de oxidoreducción (Eh -141 mV) como de una baja concentración de agente reductor.

7.-**CONCENTRACION DE NUTRIENTES:** la concentración de un nutriente esencial afecta la velocidad de crecimiento de una bacteria dn forma de una curva hiperbólica (Figura 5), representada por la Ecuación de Monod:

$$\mu = \mu_{max}\left(\frac{S}{K_S + S}\right)$$

donde μ_{max} es la velocidad máxima de crecimiento en exceso de nutrientes, **S**, es la concentración de sustrato limitante y K_S es la concentración de sustrato a la cual se alcanza la mitad de la velocidad máxima de crecimiento.

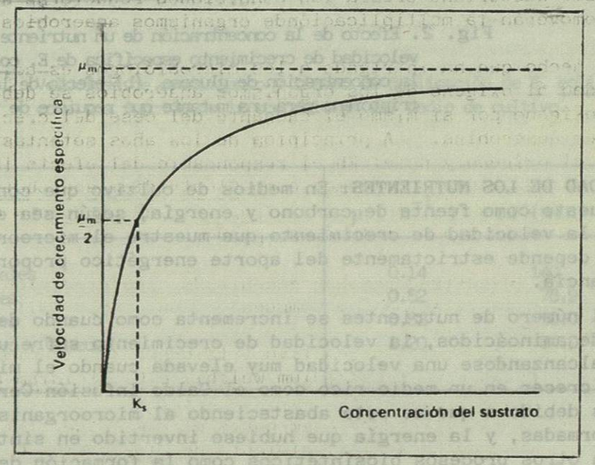

Fig. 5. Variación de la velocidad de crecimiento de un microorganismo al cambiar la concentración de un nutriente esencial.

Como en la Ecuación de Michaelis-Menten para las reacciones catalizadas por enzimas, los valores de **Ks** reflejan la afinidad de los sistemas bacterianos para la captación nutrientes y son del orden de 2 uM - 20 uM para los azúcares y de 2 uM para los aminoácidos. Esto significa que en un cultivo normal, la velocidad de crecimiento específica, alcanza su valor máximo (μ_{max}) casi al final del crecimiento exponencial precisamente cuando la concentración del nutriente esencial limitante es baja.

En la Figura 6 presentamos los resultados obtenidos por Shehata y Marr al estudiar el efecto de la concentración de glucosa y de triptofano sobre el crecimiento de dos cepas de Escherichia coli.

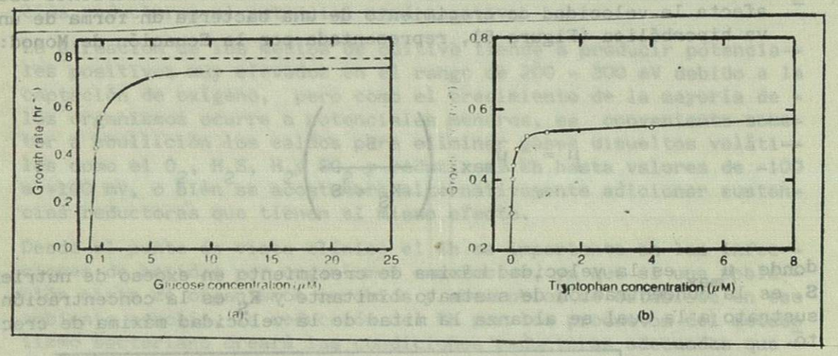

Fig. 2. Efecto de la concentración de un nutriente esencial sobre la velocidad de crecimiento específica de E. coli. (a) Efecto de la concentración de glucosa, (b) efecto de la concentración de triptofano para una mutante que requiere de triptofano.

8.- **CALIDAD DE LOS NUTRIENTES:** En medios de cultivo que contienen un solo compuesto como fuente de carbono y energía, según sea el compuesto será la velocidad de crecimiento que muestre el microorganismo, ya que ésta depende estrictamente del aporte energético proporcionado por la sustancia.

Si el número de nutrientes se incrementa como cuando de agrega una mezcla de aminoácidos, la velocidad de crecimiento sufre un incremento mayor alcanzandose una velocidad muy elevada cuando el microorganismo se hace crecer en un medio rico como el Caldo Infusión Cerebro Corazón; ésto es debido a que se esta abasteciendo al microorganismo de sustancias preformadas, y la energía que hubiese invertido en sintetizarlos la ocupa en otros procesos biosínteticos como la formación de macromoléculas y estructuras celulares, por lo que el crecimiento y la división ocurren rapidamente.

En las Tablas 1 y 2 presentamos las velocidades de crecimiento y tiempos de duplicación exhibidos por Salmonella typhimurium y Escherichia coli en medios con distinta calidad.

Tabla 1. Velocidad de crecimiento y tiempo de duplicación de Salmonella typhimurium como una función de la composición del medio de cultivo.

M E D I O	μ (h^{-1})	td (min)
Lisina + Sales	0.62	70.2
Succinato + Sales	0.94	44.4
Glucosa + Sales	1.20	34.8
Treonina+ Tirosina + Cisteína + Histidina + Fenilalanina + Isoleucina + Hidroxiprolina + Arginina	1.46	28.2
20 aminoácidos	1.83	22.8
Aminoacidos + Caseína	2.00	21.0
Caldo nutritivo	2.75	15.0
Infusión cerebro corazón	2.80	14.9

Tabla 2. Velocidad de crecimiento y tiempo de duplicación de E. coli como una función de la composición del medio de cultivo.

M E D I O	μ (h^{-1})	td (min)
Succinato + Sales	0.14	140
Acetato + Sales	0.52	78.9
Glucosa + Sales	0.82	50.0
Caldo Nutritivo + Glucosa	1.20	34.0