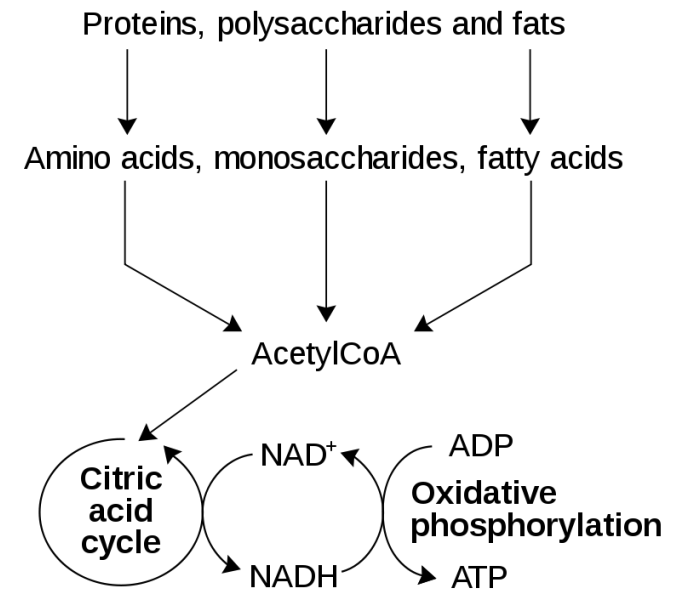


# Altri metabolismi

---

DOTT.SSA NASTRO ROSA ANNA



## Batteri metilotrofi e metanotrofi

Il metano e molti composti C<sub>1</sub> (CH<sub>3</sub>OH, CH<sub>2</sub>O, HCO<sub>2</sub><sup>-</sup>) possono essere catabolizzati sia in maniera aerobica che anaerobica da parte di organismi **metilotrofi**. Questi utilizzano come fonte di elettroni e di carbonio molecole in cui non c'è il legame C-C.

Non tutti i metilotrofi possono catabolizzare il metano: questa è una prerogativa dei batteri **metanotrofi** aerobi ed anaerobi

### Ossidazione aerobica del metano



Altri prodotti del processo sono H<sub>2</sub>O e NADH i cui elettroni possono essere usati per generare energia nel corso del trasporto fino all'accettore finale, l'O<sub>2</sub>

# Metilotrofi e metanotrofi

---

## **Bacteria**

Phylum:

*Proteobacteria*

*Firmicutes*

*Actinobacteria*

*Bacteroidetes,*

*Verrucomicrobia*

## **Archea:**

Phylum:

*Euryarchaeot*

*a*

I metilotrofi anaerobi facoltativi possono usare una grande varietà di composti metilati ma possono crescere aerobicamente anche usando composti come acidi organici, etanolo e zuccheri. Di solito utilizzano il metanolo, composti dulfurei metilati. La maggior parte di questi batteri sono aerobi obbligati anche se alcuni operano la denitrificazione

I metanotrofi aerobi sono metilotrofi che usano il metano come donatori di elettroni e anche come fonte di carbonio.

Il passaggio iniziale dell'ossidazione aerobica di metano è catalizzato dalla metano monossigenasi (MMO) che opera l'inserimento di un atomo di ossigeno nella molecola di metano producendo metanolo mentre un secondo atomo di O viene ridotto ad H<sub>2</sub>O. In seguito, il metanolo viene ossidato a formaldeide e ad anidride carbonica.

## Ossidazioni CH<sub>4</sub>

Il metano è ossidato principalmente con O<sub>2</sub> e richiede l'intervento di una ossigenasi.

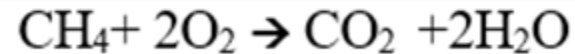
**CH<sub>4</sub> /SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>**



$$\Delta G_o' = -3.1 \text{ kcal/mole}$$

Vista la bassa resa energetica di questa reazione vi è qualche dubbio che vi possano essere dei batteri in grado di vivere solo su CH<sub>4</sub>. Vi sono comunque evidenze che dimostrano che quest'ossidazione avviene in sedimenti anossici e ricchi di SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>.

**CH<sub>4</sub>/O<sub>2</sub>**



*Pseudomonas, Methylomonas, Methylobacter  
Methylococcus.*

$$\Delta G_o' = -193,5 \text{ kcal/mole}$$

Anaerobic [oxidation](#) of methane with denitrification (DAMO), as an important [microbial process](#) regulating methane emission, has been widely reported in [freshwater ecosystems](#). Anaerobic oxidation of methane with denitrification (DAMO), as an important microbial process regulating methane emission, has been widely reported in freshwater ecosystems. [Anaerobic](#) denitrification coupled to methane oxidation was first observed in 2008, with the isolation of a methane-oxidizing bacterial strain found to oxidize methane independently.<sup>[6]</sup> This process uses the excess electrons from methane oxidation to reduce nitrates, effectively removing both fixed nitrogen and methane from aquatic systems in habitats ranging from sediment to peat bogs to stratified water columns.<sup>[7]</sup> (Wikipedia)

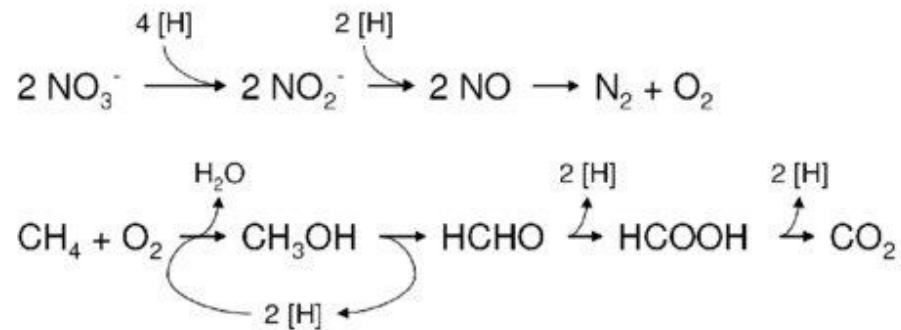
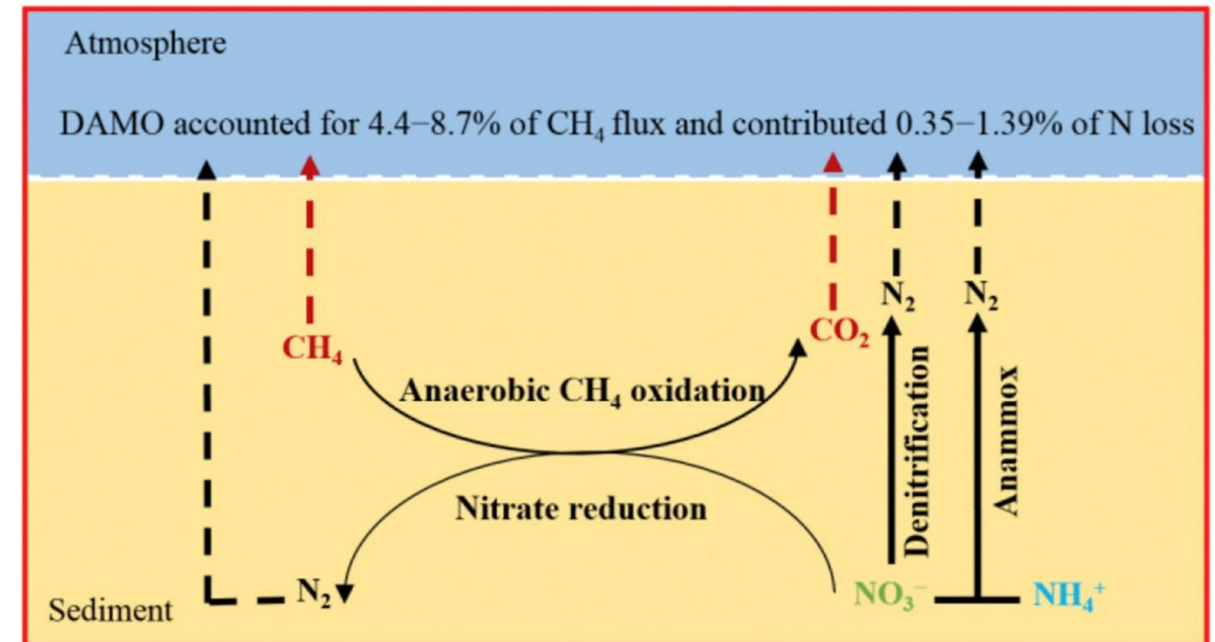


Fig. 6.1. Reaction scheme of methane oxidation coupled to denitrification with oxygen as intermediate.



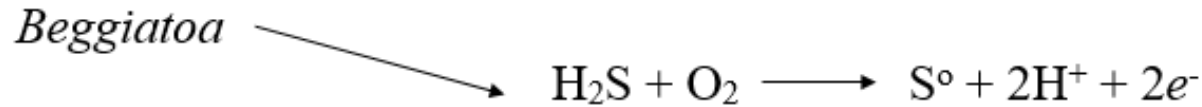
[Joerg Deutzmann](#) Aerobic and Anaerobic Oxidation of Methane in Sediments of Lake Constance.

[https://www.researchgate.net/publication/283271184\\_Aerobic\\_and\\_Anaerobic\\_Oxidation\\_of\\_Methane\\_in\\_Sediments\\_of\\_Lake\\_Constance](https://www.researchgate.net/publication/283271184_Aerobic_and_Anaerobic_Oxidation_of_Methane_in_Sediments_of_Lake_Constance)

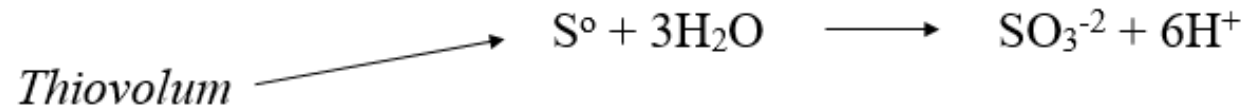
Xiaofei Li, Derrick Y.F. Lai, Dengzhou Gao, Anaerobic oxidation of methane with denitrification in sediments of a subtropical estuary: Rates, controlling factors and environmental implications, Journal of Environmental Management, Volume 273,2020, 111151, ISSN 0301-4797, <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111151>.

**Batteri solfo-ossidanti** ((usano il ciclo di Calvin per organizzare la CO<sub>2</sub>)

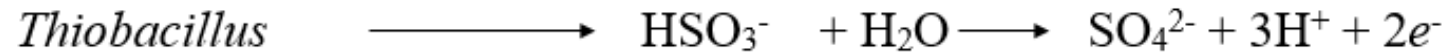
(depositano lo zolfo all'interno della cellula)



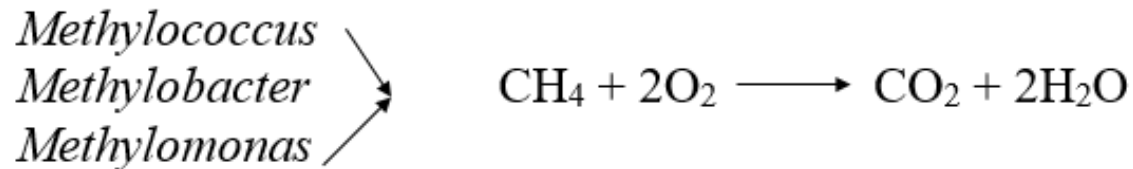
*Thiotrix*



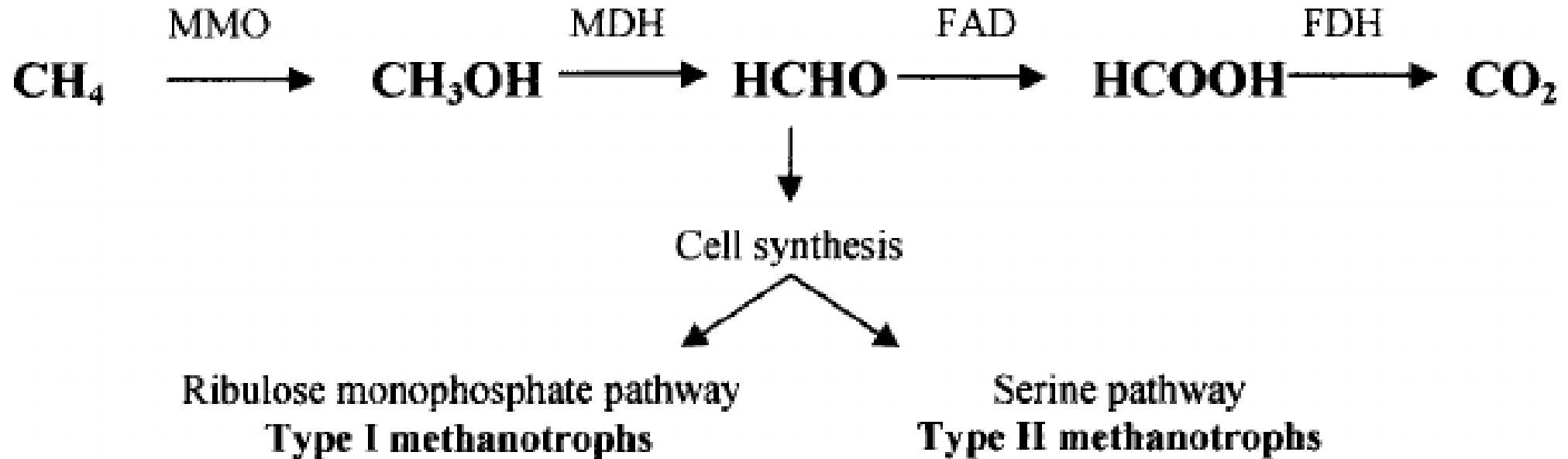
(non depositano lo zolfo all'interno della cellula)



**Batteri metano-ossidanti** (usano il ciclo di Calvin e il *Serine pathway* per organizzare CH<sub>4</sub>)

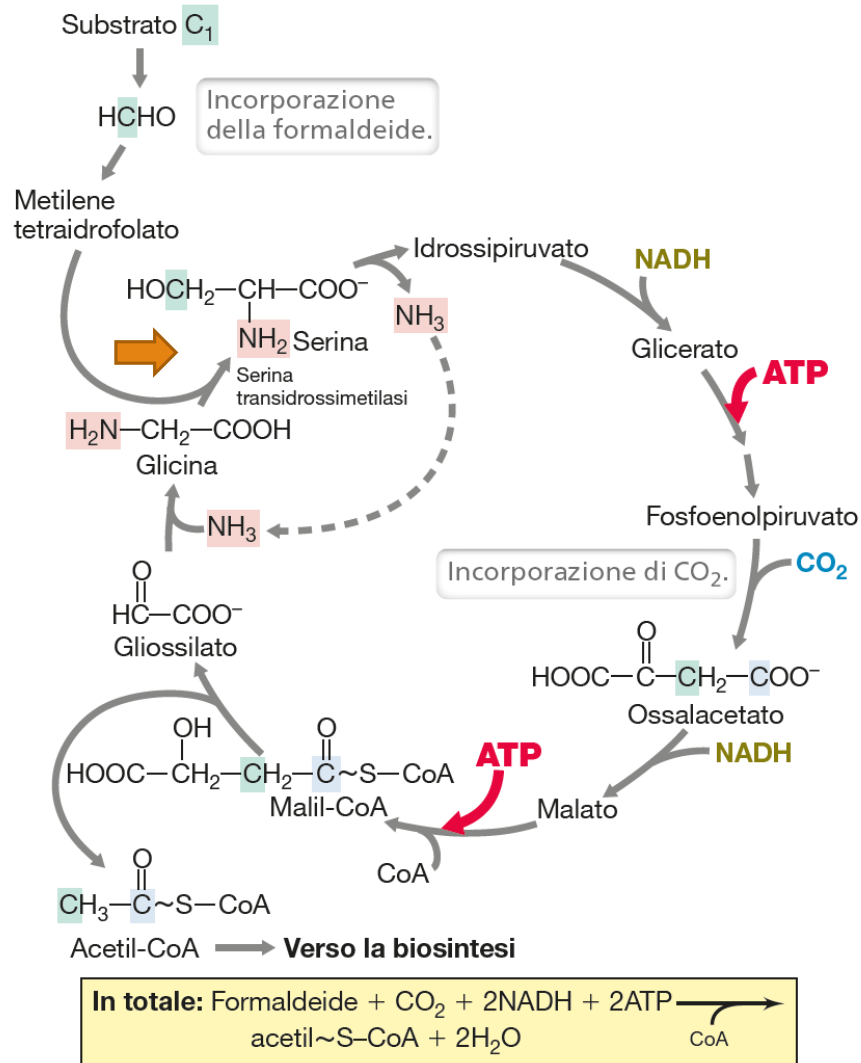


## Batteri metanotrofi



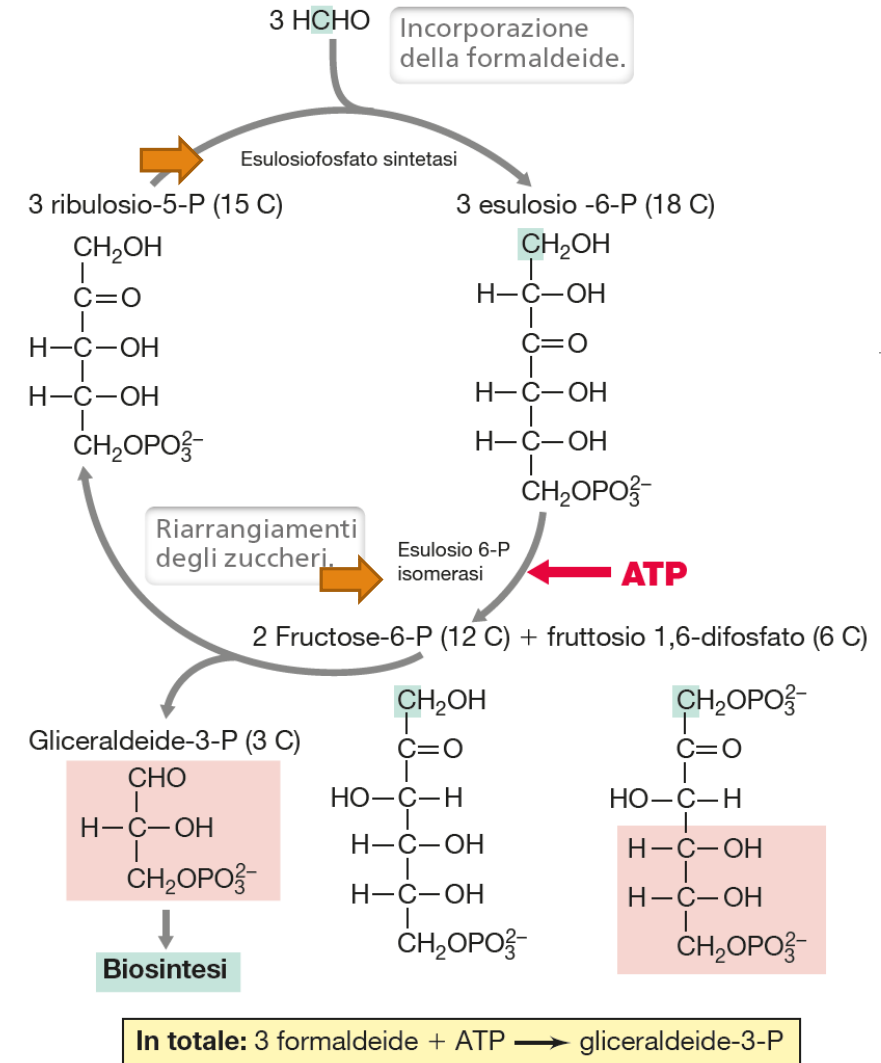
Più efficiente della via della serina perché tutto il carbonio cellulare deriva da  $\text{CH}_2\text{O}$  che non richiede alcun potere riducente per essere assimilato nelle strutture cellulari. Tutto il NADH derivante dall'ossidazione del metano viene utilizzato nella catena di trasporto degli elettroni

Questa via utilizza diversi enzimi del ciclo dell'acido citrico e un enzima la serina transidrossimetilasi



(a) Via della serina

**Figura 14.40** Vie metaboliche della serina e della ribulosio monofosfato per l'assimilazione di unità C<sub>1</sub> nel materiale cellulare dei batteri metilotrofi. (a) Via della serina. Il prodotto, l'acetil-CoA, viene utilizzato come punto di partenza per la produzione di nuovo materiale cellulare. L'enzima chiave della via è la serina

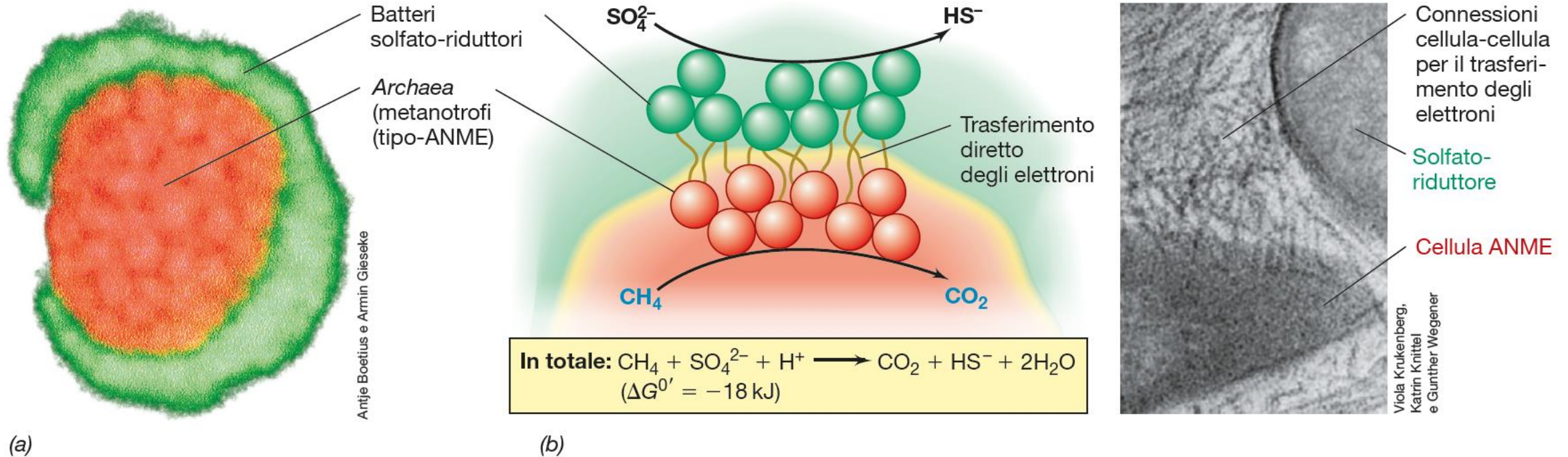


(b) Via della ribulosio monofosfato

è la transidrossimetilasi. (b) Via della ribulosio monofosfato. Sono richieste tre molecole di CH<sub>2</sub>O e il prodotto finale è la gliceraleide 3-fosfato. L'enzima chiave di questa via è l'esulosiofosfato sintetasi. I riarrangiamenti dello zucchero richiedono enzimi della via del pentoso fosfato (◀ Figura 3.31).

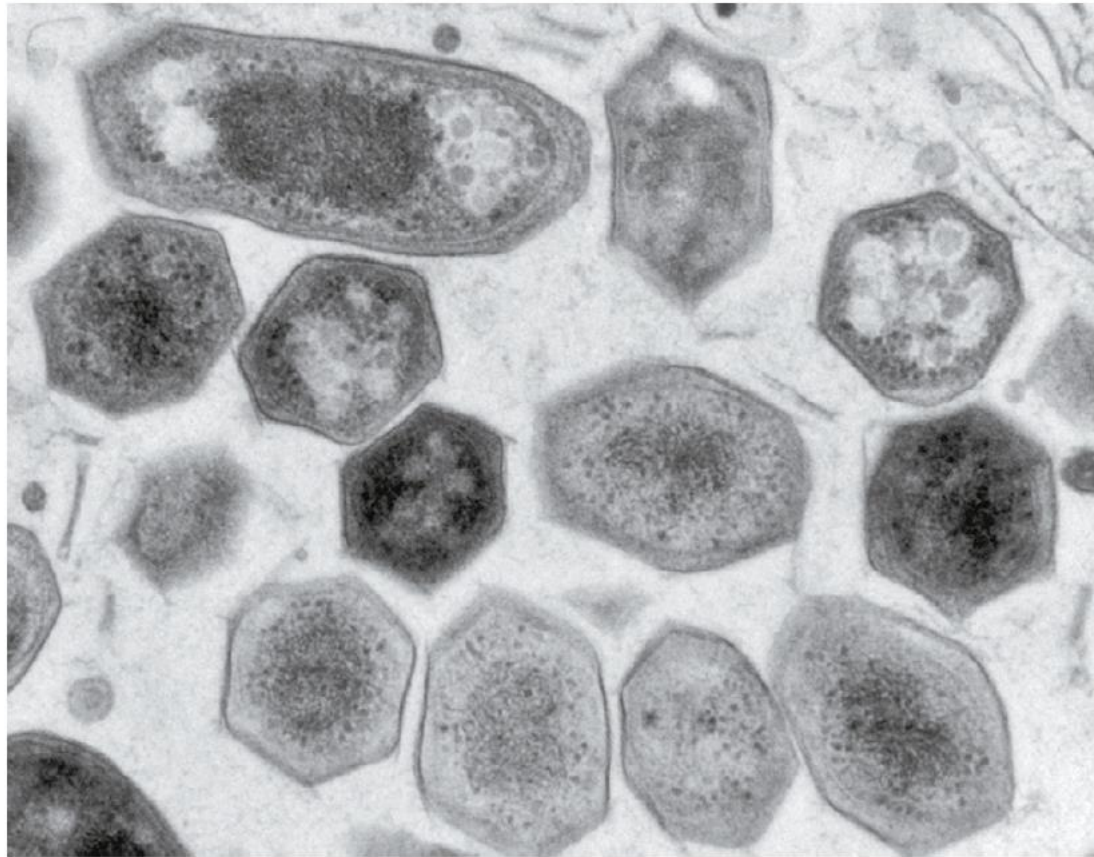


# Ossidazione anaerobica del metano



**Figura 14.41 Ossidazione anaerobica del metano.** (a) Aggregati di cellule in grado di ossidare il metano nei sedimenti marini. Gli aggregati contengono *Archaea* (in rosso) in grado di ossidare il metano (metanotrofi) circondati da batteri solfato-riduttori (in verde). Ciascun tipo cellulare è stato colorato con un differente marcatore FISH (► Paragrafo 19.5). L'aggregato è di circa 30  $\mu\text{m}$  di diametro.

(b) Meccanismo di degradazione cooperativa di  $CH_4$ . Gli elettroni vengono trasferiti dalla cellula archeale metanotrofa (ANME) al solfato-riduttore mediante trasferimento diretto degli elettroni tramite i "nanocavi". (c) Micrografia elettronica a trasmissione di una sezione di un aggregato metano-ossidante che mostra una cellula ANME che trasferisce gli elettroni a un solfato-riduttore.



Laura Van Niftrik e Mingliang Wu

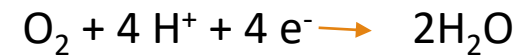
**Figura 14.42** Morfologia cellulare di *Methylobacterium oxyfera*.

Il metanotrofo denitrificante *M. oxyfera* ha una morfologia poligonale unica, come rivela questa micrografia elettronica a trasmissione di cellule di una comunità microbica cresciuta in un bioreattore. Una cellula ha un diametro di circa 0,5  $\mu\text{m}$ .

L'ossidazione anaerobica del metano può essere accoppiata alla riduzione di  $\text{NO}_3^-$  in  $\text{NO}_2^-$  in *Methanoperedens nitroreducens* il quale vive in associazione con batteri denitrificanti

### Metanotrofia intra-aerobica

*M. Oxyfera* utilizza  $\text{NO}_2^-$  come accettore di elettroni in un processo che porta alla sintesi di  $\text{N}_2$  con rilascio di ossigeno



$\text{O}_2$  viene subito utilizzato per produrre acqua, per cui non resta nella cellula ed il batterio rimane anossico!

# METANOGENESI



John A. Breznak

**Figura 14.35 Metanogenesi.** Il metano prodotto dai metanogeni nei sedimenti delle paludi viene raccolto con un imbuto e poi incendiato in un esperimento dimostrativo a Woods Hole, Massachusetts (USA).

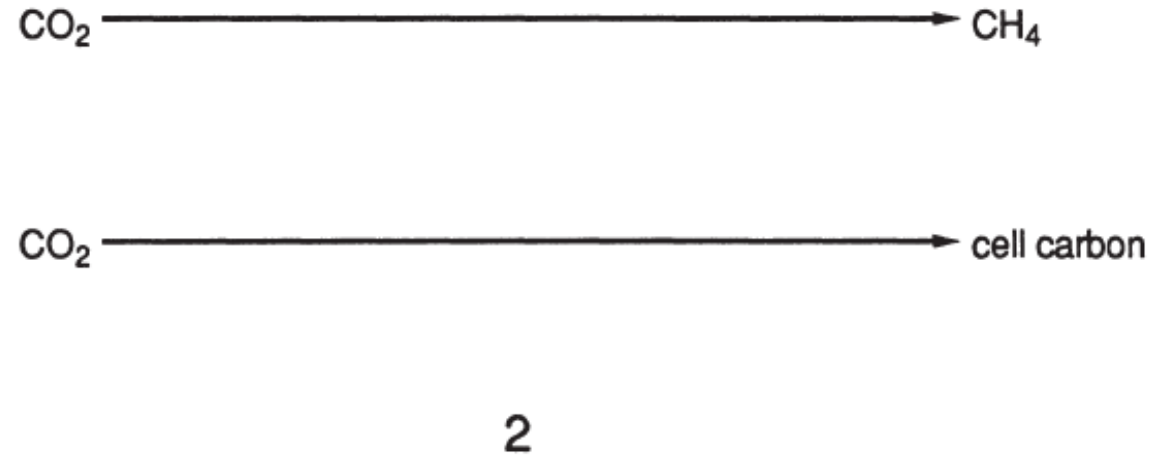
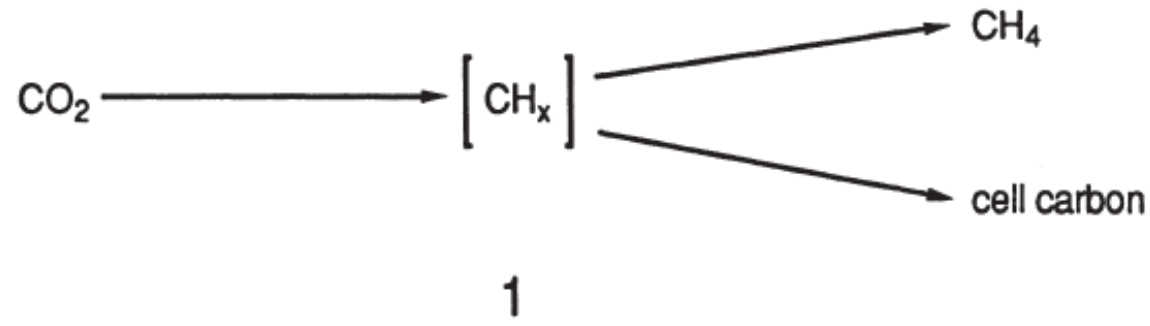
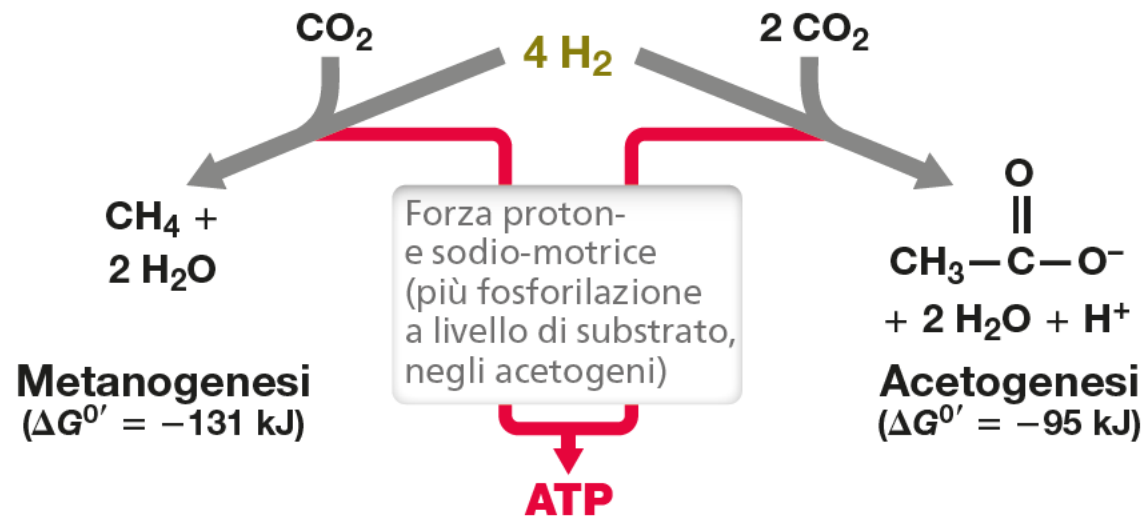


Figure 20.1. Alternatives for autotrophic CO<sub>2</sub> fixation by methane-producing bacteria. In alternative 1, anabolic CO<sub>2</sub> fixation shares intermediates with the pathway of CO<sub>2</sub> reduction to methane. In alternative 2, CO<sub>2</sub> fixation for biosynthesis is an independent process from CO<sub>2</sub> reduction to methane.



**Figura 14.33** Processi della metanogenesi e dell'acetogenesi. Si osservi la differente energia libera rilasciata nelle reazioni.

La produzione biologica del metano, effettuata da un gruppo di Archea anaerobi stretti chiamati metanogeni e avviene attraverso una complessa serie di reazioni in cui sono coinvolti coenzimi insoliti.

---

I metanogeni possono utilizzare utilizzando  $\text{CO}_2$  oppure carbonato come accettore finale di elettroni

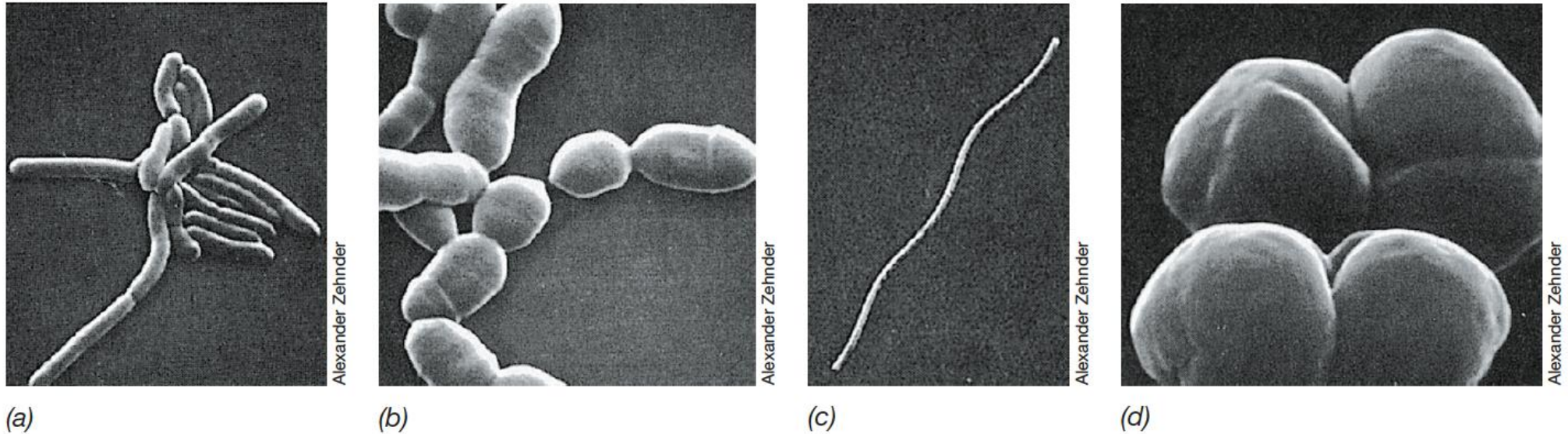
Donatori di elettroni (substrati) possono essere anche il formiato, il monossido di carbonio , alcuni composti organici (acetato, piruvato), anche se generalmente la reazione è effettuata in presenza di idrogeno molecolare.

**Nonostante l'anaerobiosi obbligata e l'elevata specializzazione metabolica, i metanogeni sono piuttosto diffusi in natura.**

Nei metanogeni l'autotrofia è sostenuta dalla via riduttiva dell'acetil-CoA

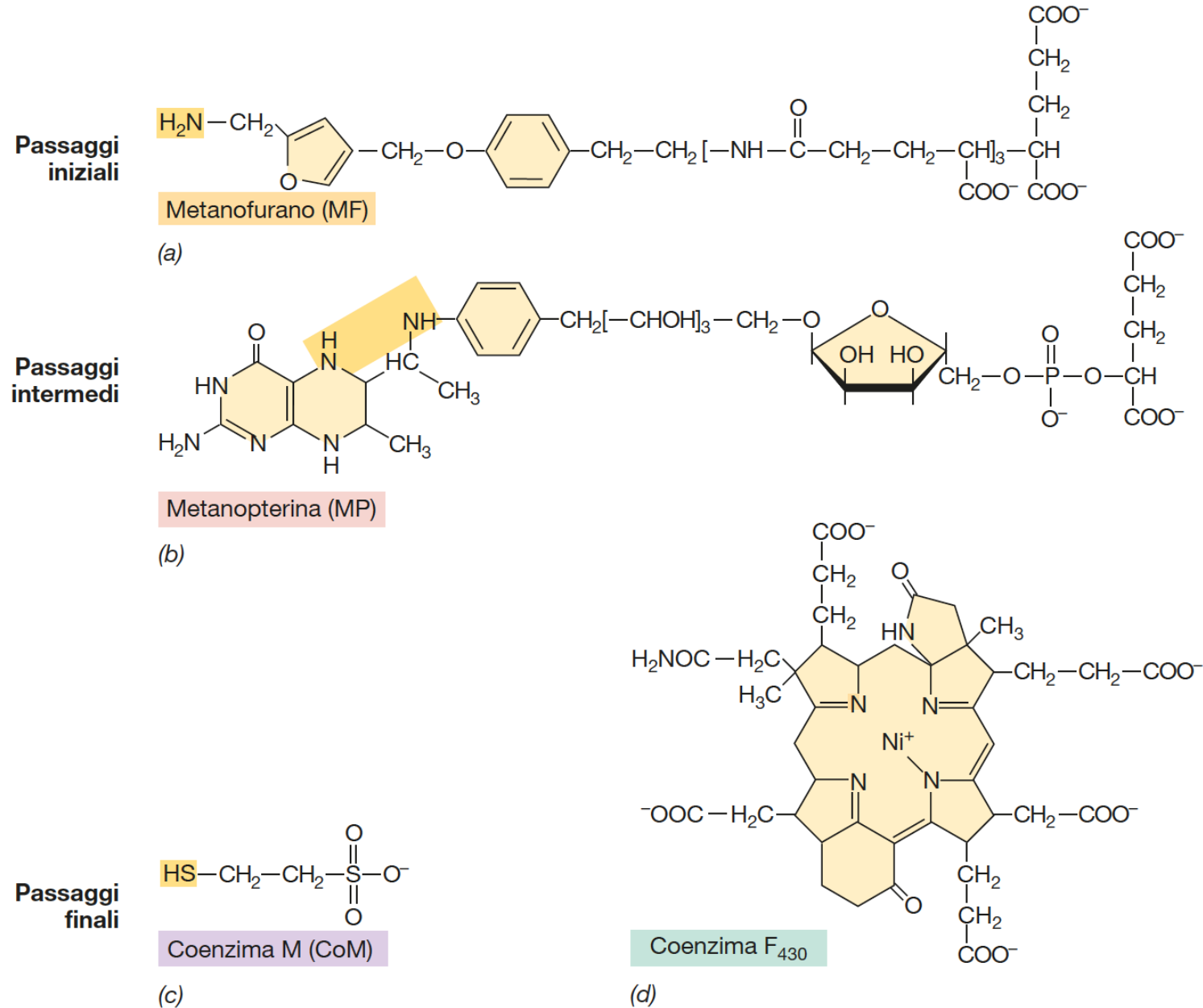
Dominio: Archea

Gruppi principali: *Methanobacterium*, *Methanocaldococcus*, *Methanosarcina*



**Figura 17.5** Micrografie elettroniche a scansione di cellule appartenenti a diverse specie di *Archaea* metanogeni. (a) *Methanobrevibacter ruminantium*. Le singole cellule hanno un diametro di circa  $0,7 \mu\text{m}$ . (b) *Methanobrevibacter arboriphilus*. Una cellula misura circa  $1 \mu\text{m}$  di diametro. (c) *Methanospirillum hungatei*. Una cellula è circa  $0,4 \mu\text{m}$  in diametro. (d) *Methanosarcina barkeri*. Il diametro cellulare è di circa  $1,7 \mu\text{m}$ .

I. Coenzimi che funzionano da trasportatori C<sub>1</sub> più F<sub>430</sub>

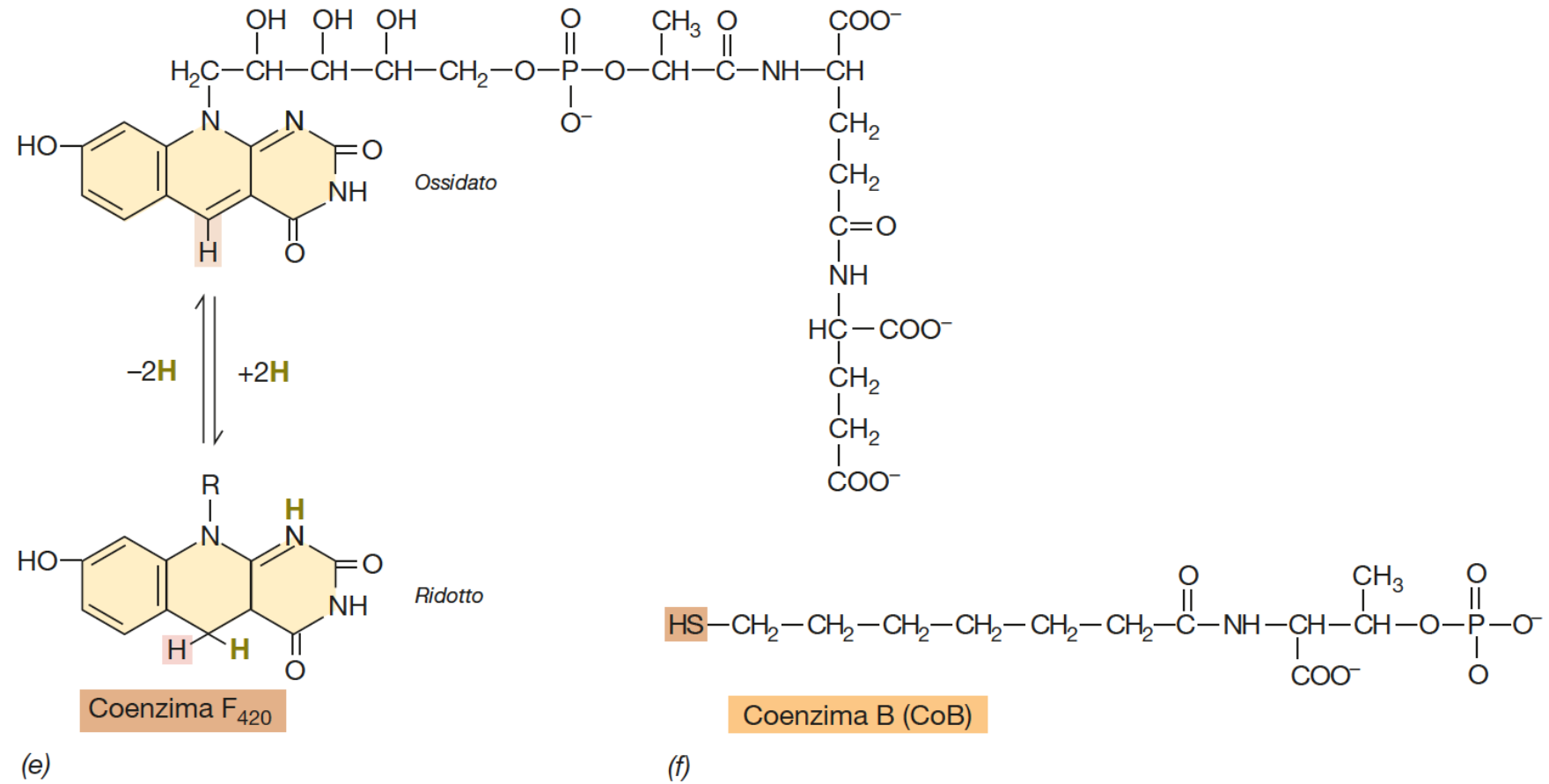


(segue)



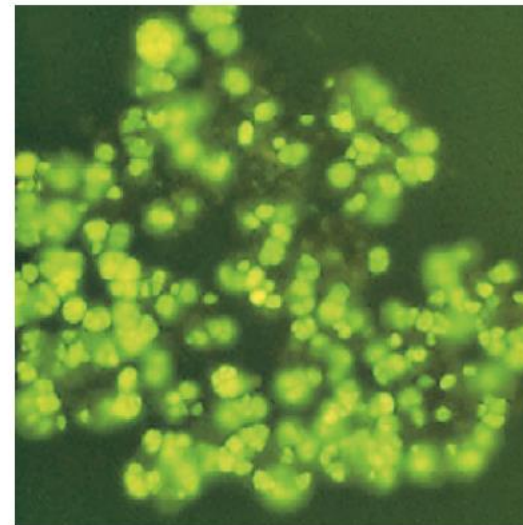
## II. Coenzimi che funzionano come donatori di elettroni

(continua)

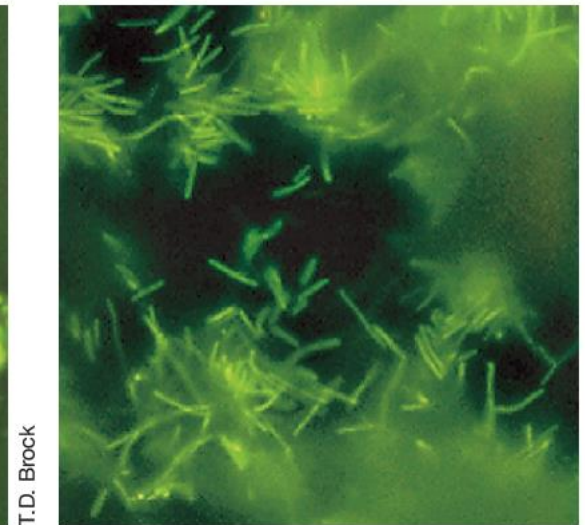


**Figura 14.36** **Coenzimi della metanogenesi.** Gli atomi ombreggiati in marrone o in giallo indicano i siti delle reazioni di ossido-riduzione (F<sub>420</sub> e CoB, in marrone) o la posizione di attacco di composti C<sub>1</sub> durante la riduzione di CO<sub>2</sub> a CH<sub>4</sub> (metanofurano, metanopterina e coenzima M, in giallo). I colori utilizzati per evidenziare un particolare coenzima (per esempio, CoB in arancione), sono usati anche nelle Figure 14.38 e 14.39 per facilitare la comprensione delle diverse reazioni in ciascuna figura. Il coenzima F<sub>430</sub> partecipa nel passaggio terminale della metanogenesi catalizzata dall'enzima metil reduttasi, con il gruppo metilico che si lega a Ni<sup>+</sup> in F<sub>430</sub> prima della sua riduzione a CH<sub>4</sub>.

**Figura 14.37** Fluorescenza dovuta al coenzima metanogenico  $F_{420}$ . (a) L'autofluorescenza di cellule del metanogeno *Methanosarcina barkeri*, dovuta alla presenza di un particolare trasportatore di elettroni,  $F_{420}$ . Il diametro della cellula è di circa  $1,7 \mu\text{m}$ . L'osservazione è stata effettuata con luce blu al microscopio a fluorescenza. (b) La fluorescenza di  $F_{420}$  nel metanogeno *Methanobacterium formicicum*. Il diametro di una singola cellula è di circa  $0,6 \mu\text{m}$ .



(a)

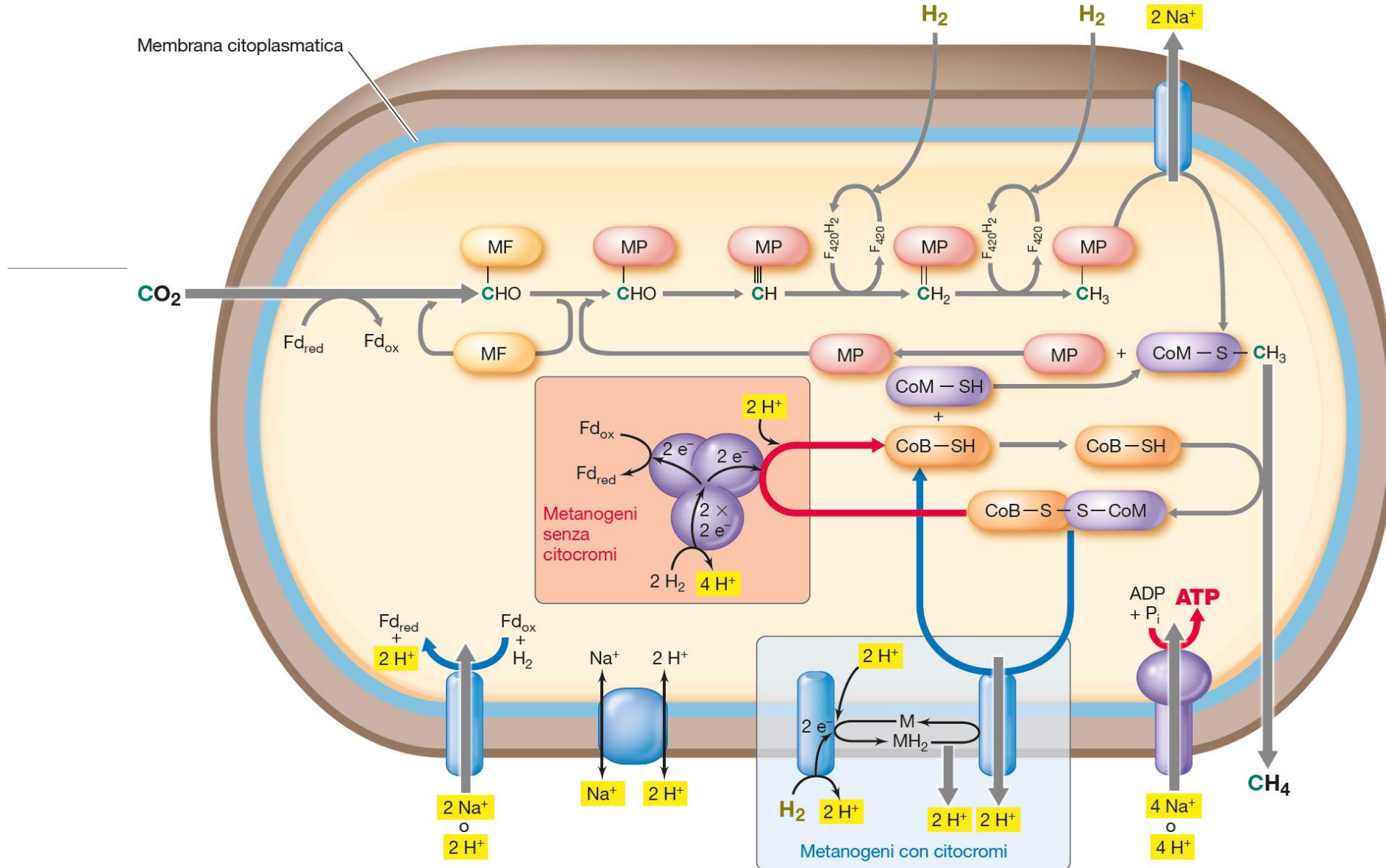


(b)

T.D. Brock

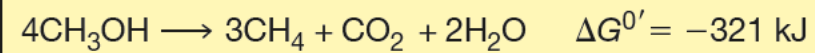
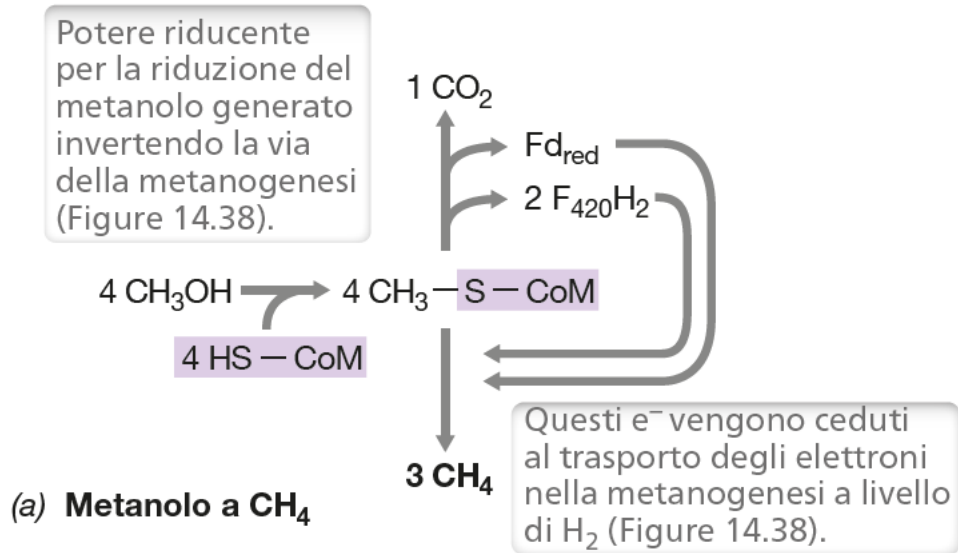
T.D. Brock

Il **coenzima  $F_{420}$**  è un derivato della flavina, analogo del coenzima FMN. La forma ossidata, assorbe a  $420\text{nm}$  ed emette fluorescenza verde-blu, utilizzata come saggio d'identificazione dei metanogeni



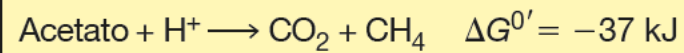
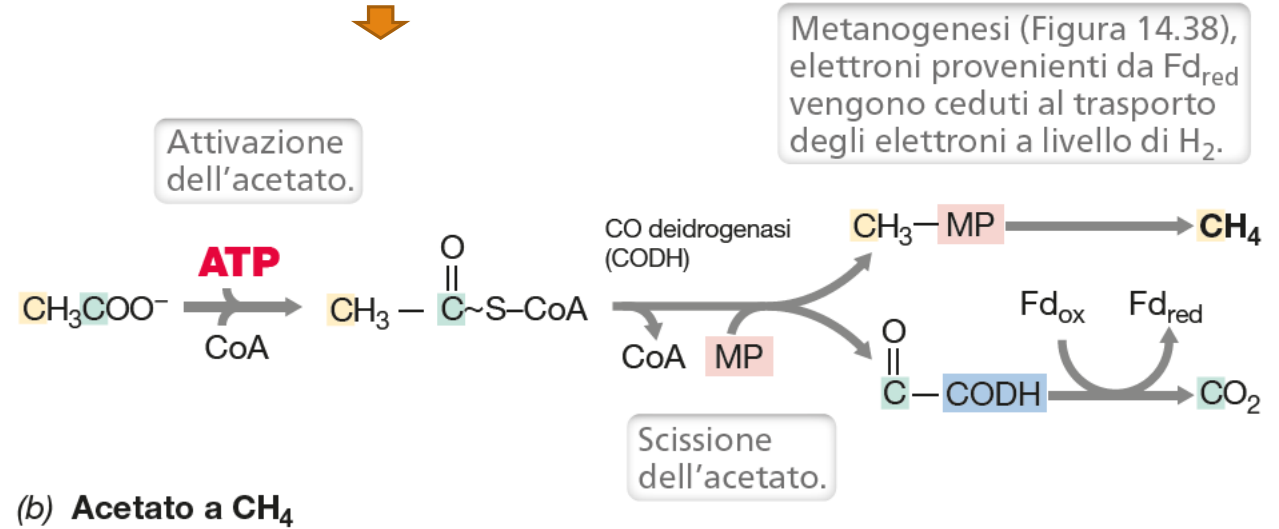
**Figura 14.38** Metanogenesi a partire da  $\text{CO}_2 + \text{H}_2$ . L'atomo di carbonio ridotto è rappresentato in verde e la fonte di elettroni in marrone. Per le strutture dei coenzimi si veda la Figura 14.36. I metanogeni privi di citocromi riducono il legame eterodisolfuro presente nel  $\text{CoM-S-S-CoB}$  mediante una reazione di biforcazione degli elettroni (riquadro rosso e freccia della reazione) che genera

anche ferredossina ridotta ( $\text{Fd}_{\text{red}}$ ). I metanogeni provvisti di citocromi conservano più energia utilizzando  $\text{CoM-S-S-CoB}$  come accettore di elettroni nel trasporto degli elettroni (riquadro blu e freccia). MF, metanfuro; MP, metanopterina; CoM, coenzima M;  $\text{F}_{420\text{H}_2}$ , coenzima  $\text{F}_{420}$  ridotto;  $\text{F}_{430}$ , coenzima  $\text{F}_{430}$ ; Fd, ferredossina; CoB, coenzima B; M, metanofenzina.



**Figura 14.39 Metanogenesi a partire da metanolo e acetato.** Entrambe le reazioni della serie incanalano il carbonio nella metanogenesi (Figura 14.38), ma in punti diversi. (a) Durante la crescita su metanolo (CH<sub>3</sub>OH), viene raggiunto l'equilibrio redox

## Batteri acetoclastici



perché una molecola di CH<sub>3</sub>OH viene ossidata a CO<sub>2</sub> per ogni tre molecole ridotte a CH<sub>4</sub>. (b) L'acetato è scisso in CH<sub>4</sub> e CO<sub>2</sub>. Le abbreviazioni e le colorazioni sono quelle adottate nelle Figure 14.36 e 14.38; CODH, monossido di carbonio deidrogenasi.

## Tabella 17.2 Le tre vie metaboliche metanogeniche e i relativi substrati

### I. Via della riduzione della CO<sub>2</sub>: gli elettroni tipicamente derivano dall'H<sub>2</sub>

Anidride carbonica, CO<sub>2</sub>

Formiato, HCOO<sup>-</sup>

Monossido di carbonio, CO

### II. Via acetoclastica: gli elettroni derivano dalla reazione di dismutazione<sup>a</sup>

Acetato, CH<sub>3</sub>COO<sup>-</sup>

Piruvato, CH<sub>3</sub>COCOO<sup>-</sup>

### II. Vie basate sulla metilotrofia: gli elettroni derivano o dall'ossidazione a CO<sub>2</sub> di alcuni dei substrati metilati compatibili (via ramificata) ovvero dall'ossidazione di H<sub>2</sub> o formiato (via di riduzione del metile)

Metanolo, CH<sub>3</sub>OH

Metilammina, CH<sub>3</sub>NH<sup>3+</sup>

Dimetilammina, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>NH<sup>2+</sup>

Trimetilammina, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>NH<sup>+</sup>

Metil-mercaptano, CH<sub>3</sub>SH

Dimetil-solfuro, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>S

Fondamentale in tutte le vie metaboliche è il ruolo del coenzima M

---

I batteri metanogeni crescono in associazione sintrofica con organismi fermentanti che degradando molecole organiche anche complesse, producono metaboliti che poi possono essere utilizzati dai metanogeni

<sup>a</sup>In una dismutazione, una parte della molecola viene ridotta ossidando un'altra parte della stessa molecola.

**Tabella 17.3** Caratteristiche di alcuni *Archaea* metanogeni<sup>a</sup>

Ordine/genere	Vie metaboliche adottate <sup>b</sup>	Substrati per la metanogenesi <sup>c</sup>
<b><i>Methanocellales</i></b>	I	
<i>Methanomicrobium</i>		H <sub>2</sub> + CO <sub>2</sub> , formiato
<i>Methanospirillum</i>		H <sub>2</sub> + CO <sub>2</sub> , formiato
<i>Methanoculleus</i>		H <sub>2</sub> + CO <sub>2</sub> , formiato, alcoli + CO <sub>2</sub>
<b><i>Methanococcales</i></b>	I	1
<i>Methanococcus</i>	I	H <sub>2</sub> + CO <sub>2</sub> , formiato, piruvato + CO <sub>2</sub>
<i>Methanocaldococcus</i>	I	H <sub>2</sub> + CO <sub>2</sub>
<b><i>Methanopyrales</i></b>	I	
<i>Methanopyrus</i>	I	H <sub>2</sub> + CO <sub>2</sub>
<b><i>Methanocellales</i></b>	I	
<i>Methanocella</i>	I	H <sub>2</sub> + CO <sub>2</sub> ,
<b><i>Methanobacteriales</i></b>	I, III	
<i>Methanobacterium</i>	I	H <sub>2</sub> + CO <sub>2</sub> , formiato
<i>Methanobrevibacter</i>	I	H <sub>2</sub> + CO <sub>2</sub> , formiato
<i>Methanothermus</i>	I	H <sub>2</sub> + CO <sub>2</sub>
<i>Methanothermobacter</i>	I	H <sub>2</sub> + CO <sub>2</sub> , formiato, CO
<i>Methanosphaera</i>	III	H <sub>2</sub> + metanolo

I: via di riduzione della CO<sub>2</sub>

II: via acetoclastica

III: via basata sulla metilotrofia

(segue)

(continua)

<b>Methanosarcinales</b>	I, II, III	
<i>Methanosarcina</i>	I, II, III	H <sub>2</sub> + metanolo, metilammine, acetato, CO
<i>Methanococcoides</i>	III	
<i>Methanohalophilus</i>	III	Metanolo, metilammine
<i>Methanosaeta</i>	II	Metanolo, metilammine,
<i>Methanosalsum</i>	III	metilsolfuri
<i>Methanimicrococcus</i>	III	Acetato Metanolo, metilammine, metilsolfuri, dimetilsolfuro H <sub>2</sub> + (metanolo, metilammine)
<b>Methanomassiliicoccales</b>	III	
<i>Methanomassiliicoccus</i>	III	H <sub>2</sub> + metanolo
<i>Methanomethylophilus</i>	III	H <sub>2</sub> + metanolo
<b>Methanonatronarchaeales</b>	III	
<i>Methanonatronarchaeum</i>	III	H <sub>2</sub> + (metanolo, metilammine, dimetilsolfuro)

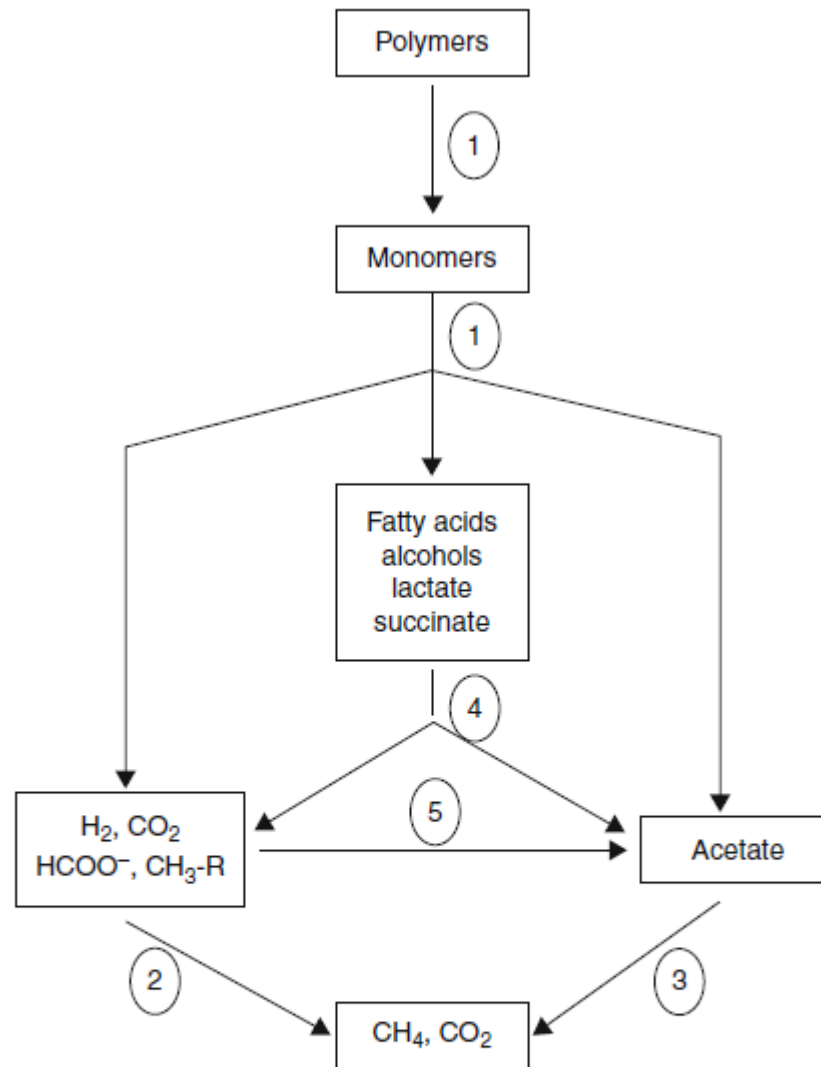
I: via di riduzione della CO<sub>2</sub>  
II: via acetoclastica  
III: via basata sulla  
metilotrofia

<sup>a</sup>Gli ordini tassonomici sono indicati in grassetto. Un ordine è un rango della classificazione che è costituito da diverse famiglie; le famiglie sono costituite da diversi generi (◀ Tabella 13.1).

<sup>b</sup>Le vie metaboliche metanogeniche I–III sono sommariamente riportate nella Tabella 17.2.

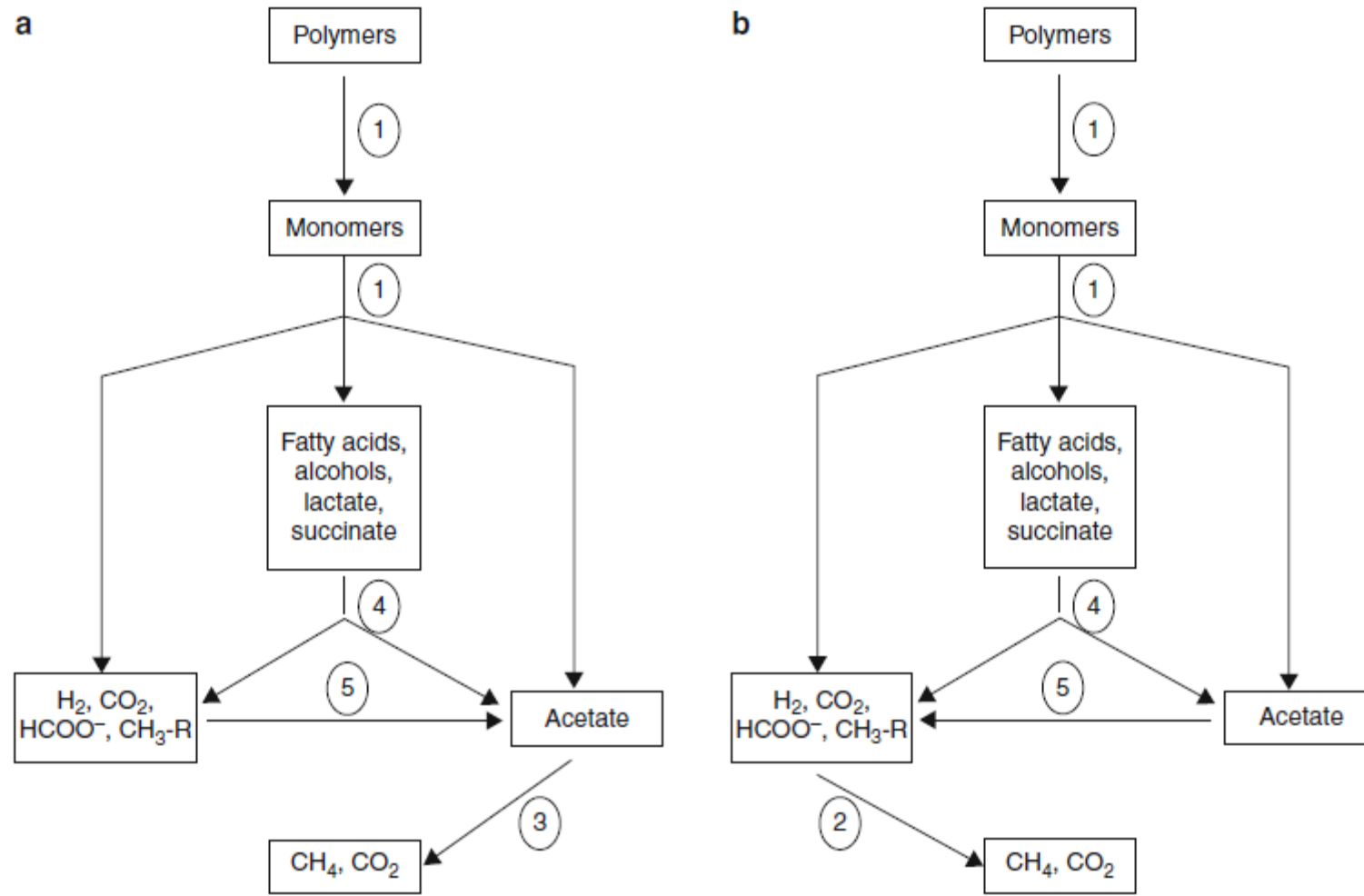
<sup>c</sup>Le metilammine comprendono i substrati metilammina (CH<sub>3</sub>NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), dimetilammina [(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>NH<sub>2</sub><sup>+</sup>] e trimetilammina [(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>NH<sup>+</sup>]; i metilsolfuri comprendono invece il dimetil-solfuro [(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>S] e il metil-mercaptano (CH<sub>3</sub>SH).

## METANOGENESI

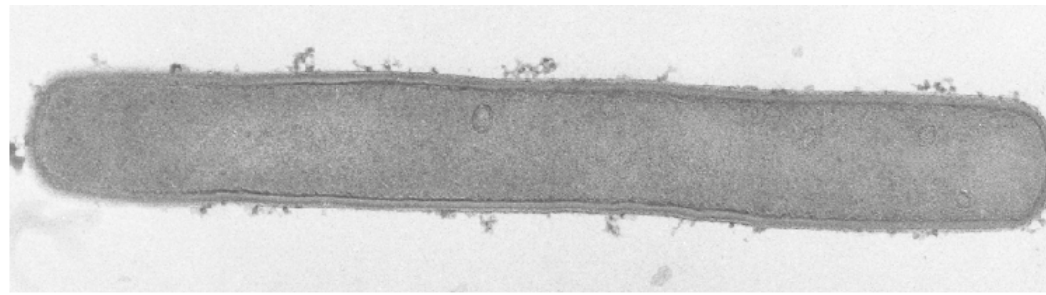


■ Fig. 21.1  
Carbon and electron flow in the methanogenic degradation of complex organic matter. Groups of prokaryotes involved: 1 primary fermentative bacteria, 2 hydrogen-oxidizing methanogens, 3 acetate-cleaving methanogens, 4 secondary fermenting bacteria (syntrophs), and 5 homoacetogenic bacteria



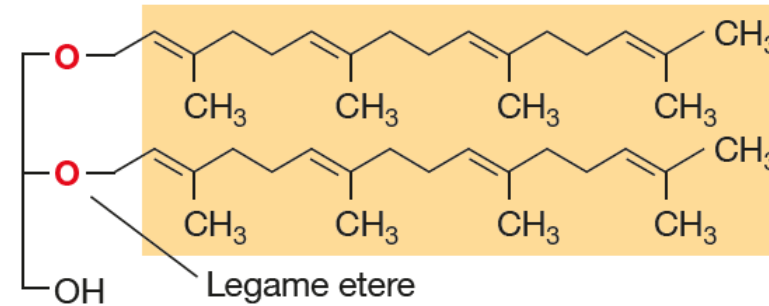


■ Fig. 21.3 Carbon and electron flow in methanogenic degradation of complex organic matter. Groups of prokaryotes involved: 1 primary fermentative bacteria, 2 hydrogen-oxidizing methanogens, 3 acetate-cleaving methanogens, 4 secondary fermenting bacteria (syntrophs), and 5 homoacetogenic bacteria. Carbon and electron flow (a) at low temperature and (b) at high temperature



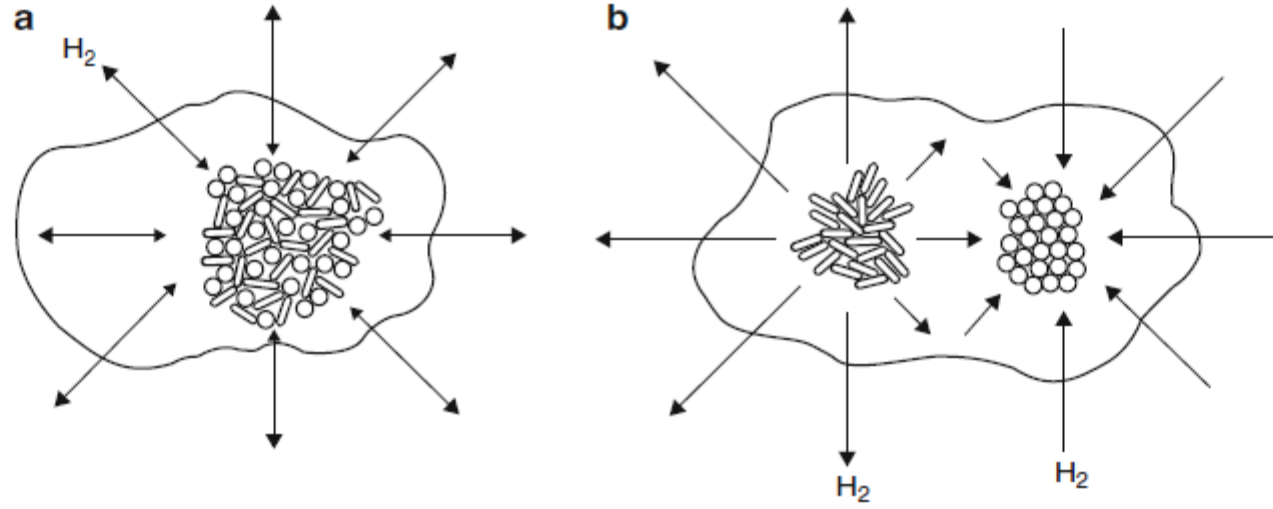
R. Rachel e K.O. Stetter

(a)



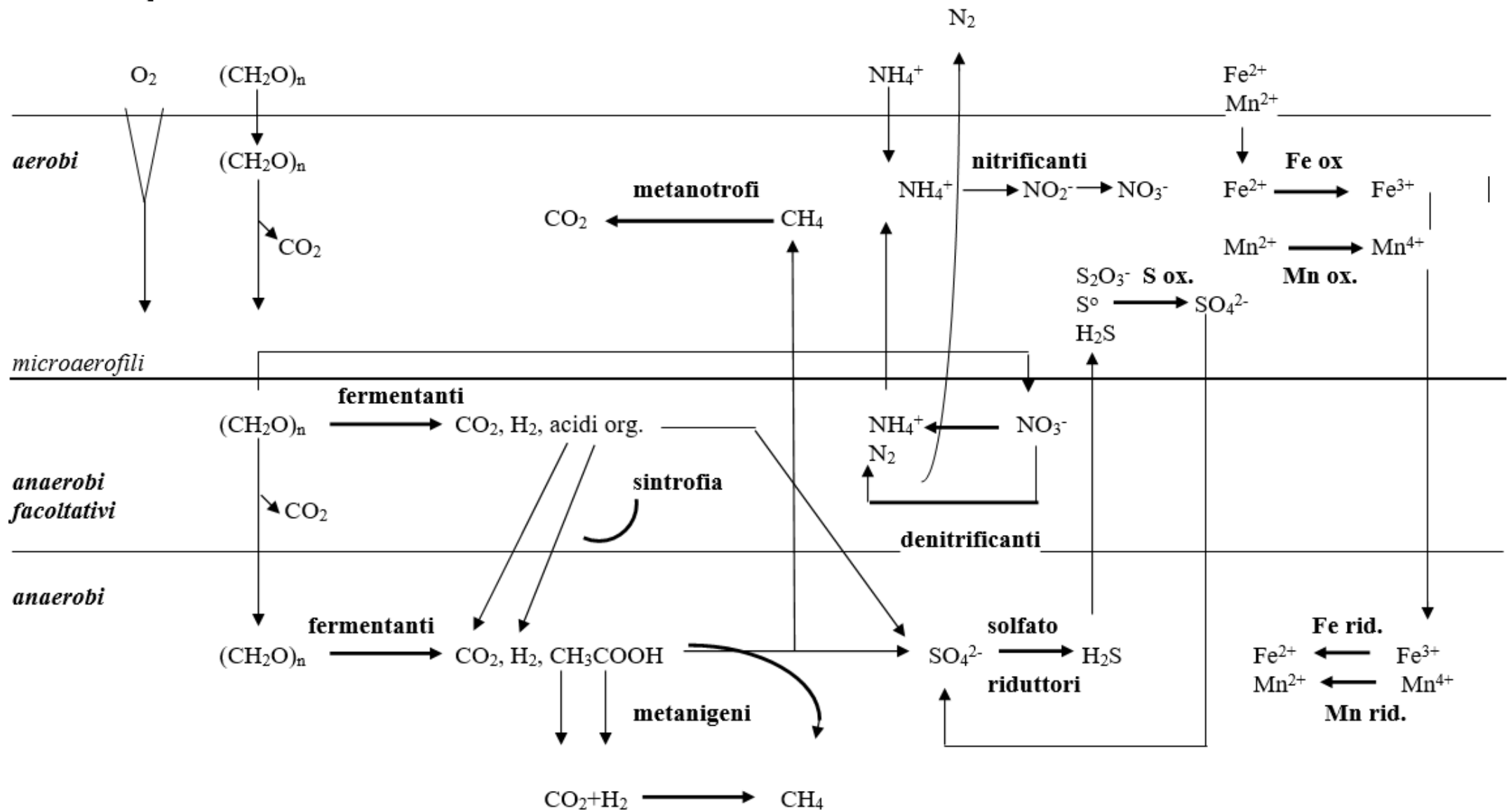
(b)

**Figura 17.8** *Methanopyrus*. *Methanopyrus* cresce in maniera ottimale alla temperatura di 100 °C e può produrre CH<sub>4</sub> solo a partire da CO<sub>2</sub> + H<sub>2</sub>. (a) Micrografia elettronica di una cellula di *Methanopyrus kandleri*, il più termofilo tra tutti gli organismi noti (limite massimo di temperatura di crescita tollerato, 122 °C). La cellula raffigurata misura 0,5 × 8 μm. (b) Struttura del lipide affatto particolare individuato in *M. kandleri*. Si tratta del consueto lipide glicerol-dietero degli *Archaea* (◀Figura 2.3b) a eccezione del fatto che le catene laterali sono costituite da una forma insatura del fitanile (detta geranylgeraniolo) piuttosto che da fitanile.



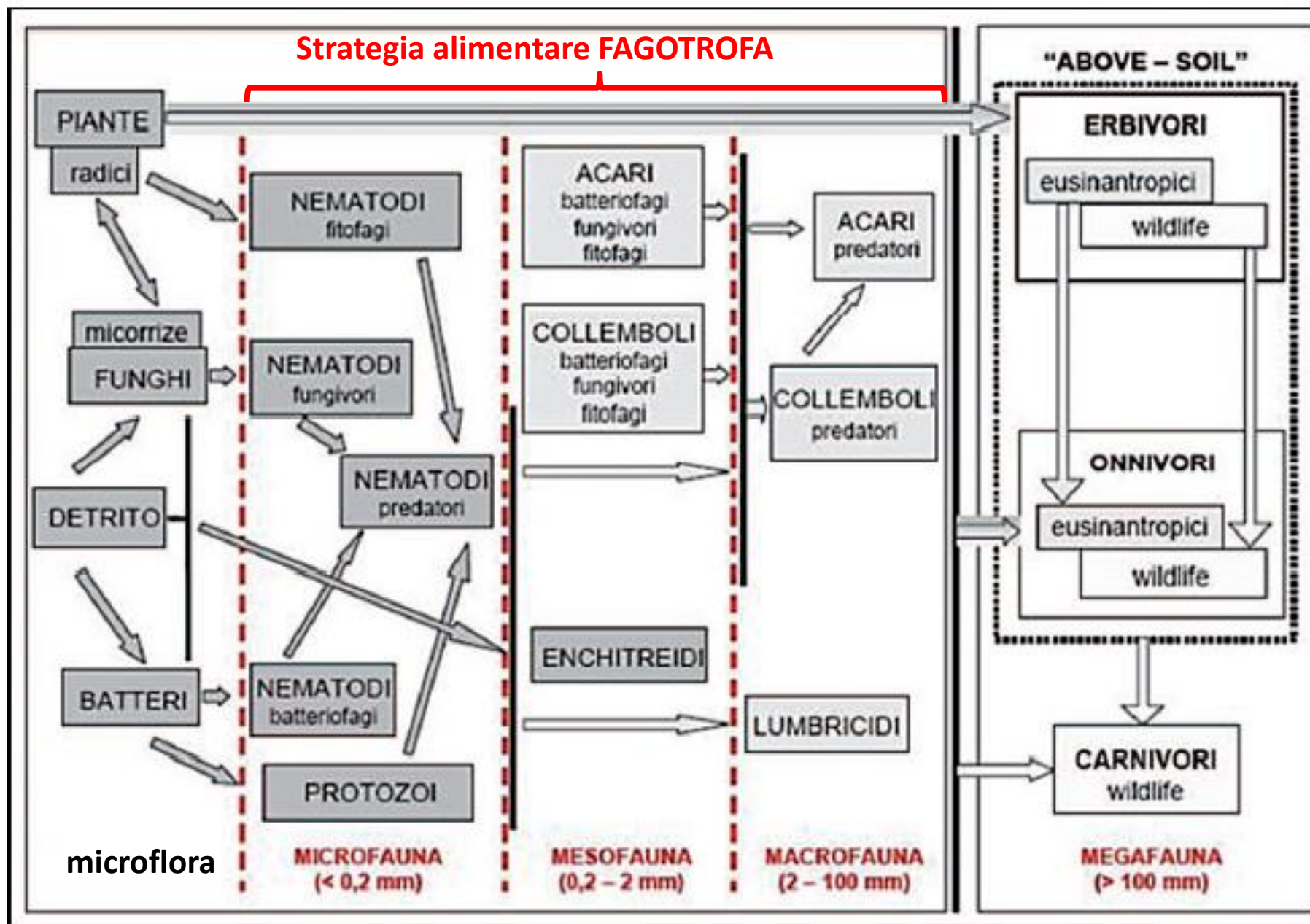
■ Fig. 21.4

Exchange of hydrogen (or other intermediates) in anaerobic bacterial flocs containing (a) a homogeneously mixed community of hydrogen formers and hydrogen consumers or (b) hydrogen producers and hydrogen consumers in spatially separated nests

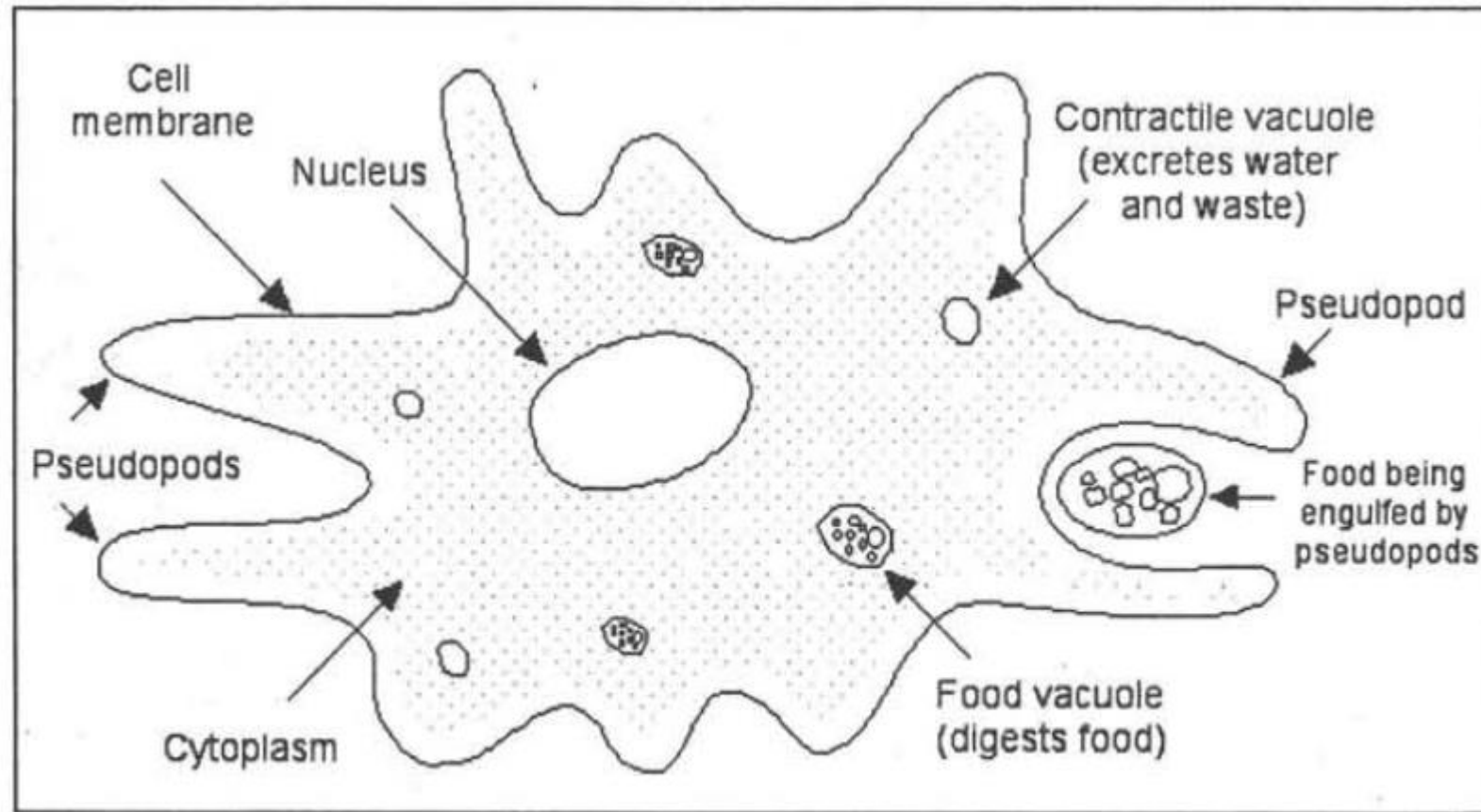


Reazioni chemiorganotrofe e chemiolitotrofe in funzione della disponibilità di accettori finali di elettroni

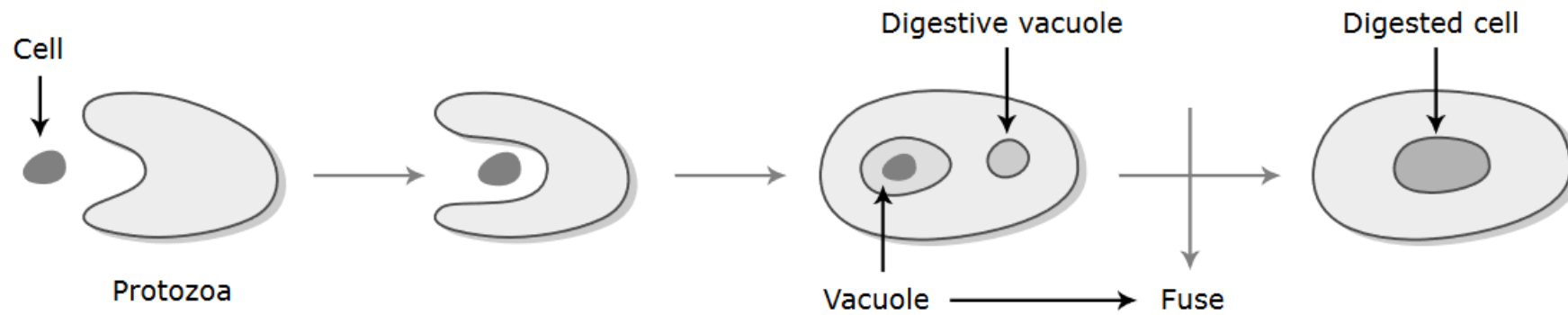
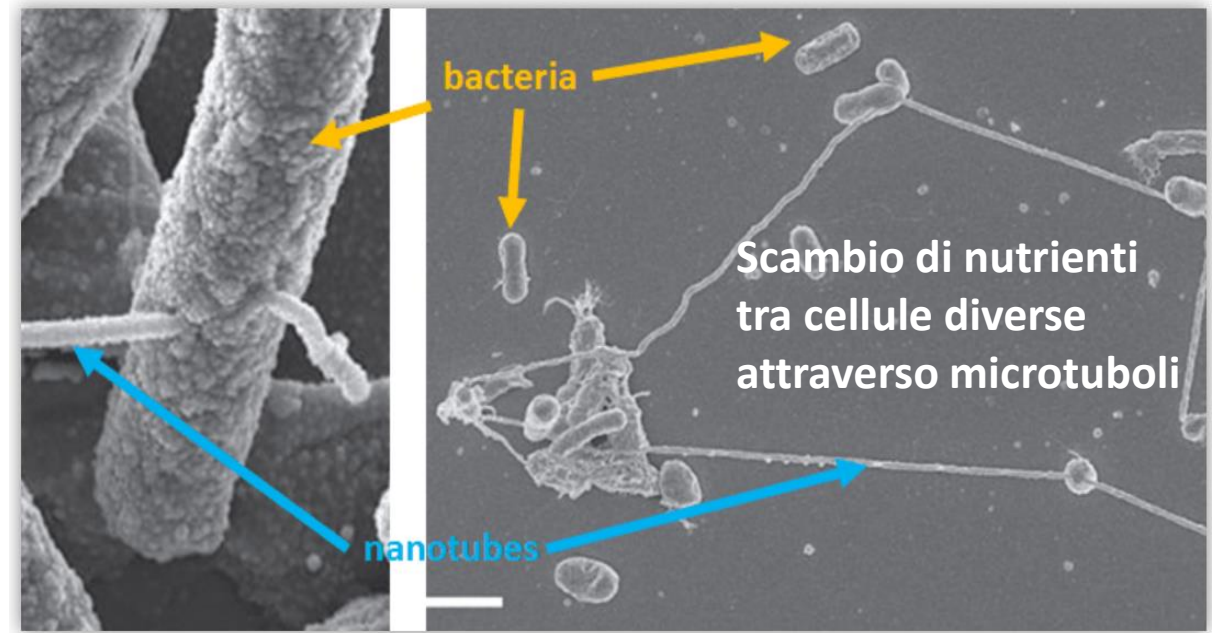
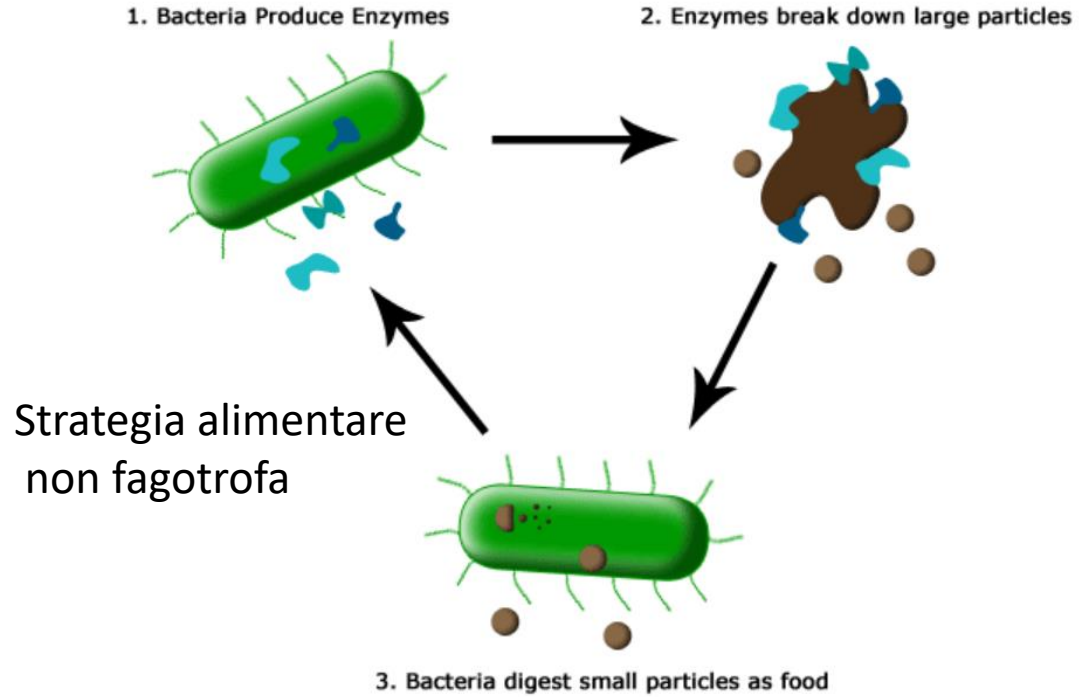
**Strategia alimentare NON FAGOTROFA**



# La più semplice strategia fagotrofa



Amoeba



Strategia alimentare fagotrofa