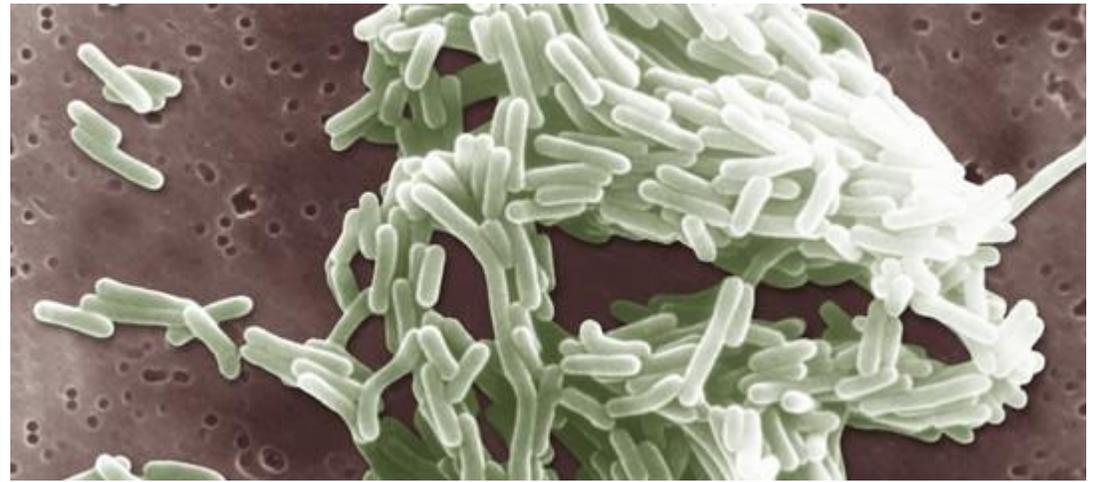


Lezione 3: Fattori ambientali e crescita microbica

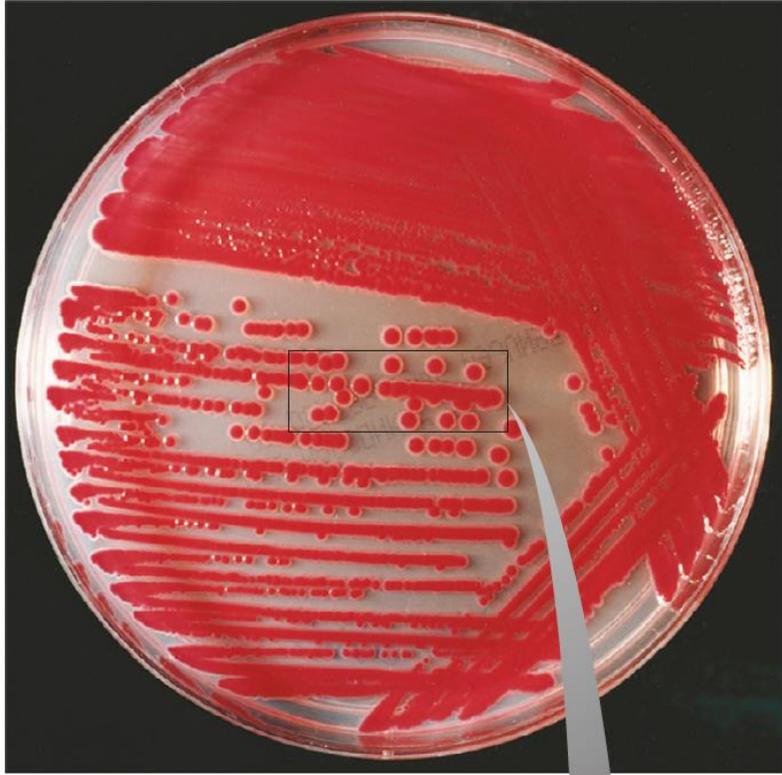


DOTT. ROSA ANNA NASTRO – STANZA 425° - 4°PIANO, LATO NORD
EMAIL: ROSA.NASTRO@UNIPARTHENOPE.IT

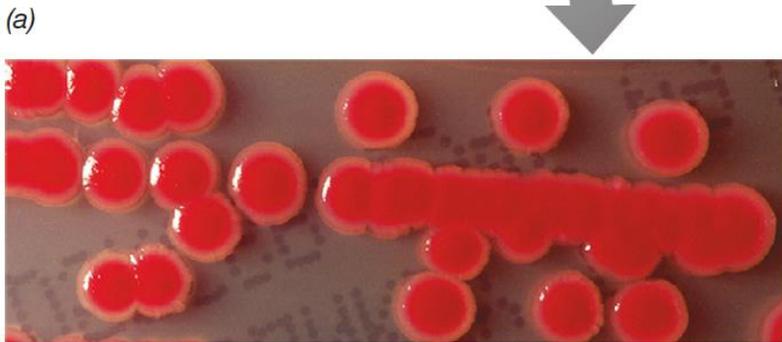
Il vantaggio di essere un batterio...

- ❑ I batteri sono di piccole dimensioni e, quindi, hanno un elevato rapporto tra volume e superficie cellulare che gli permette di assorbire in maniera molto efficiente i nutrienti dall'ambiente circostante
- ❑ possono crescere molto velocemente: il loro metabolismo è da 10 a 1000 volte più veloce di quello eucariotico
- ❑ hanno eccezionali capacità di adattamento a condizioni di crescita sfavorevoli e, se necessario, possono rallentare la loro crescita e la velocità di moltiplicazione per tempi prolungati
- ❑ alcuni tipi di batteri possono crescere senza alcun apporto da parte di altri organismi viventi, utilizzando solo materiale inorganico e luce solare

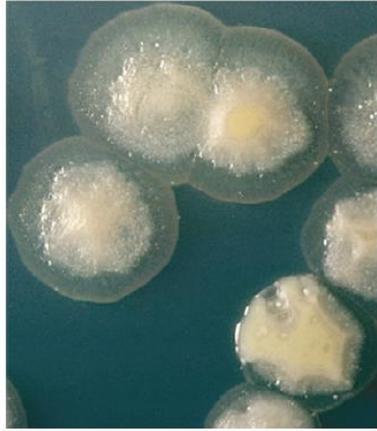
La crescita è un parametro fondamentale per valutare l'adattamento di una specie a svolgere un determinato ruolo funzionale nell'ambito di una nicchia ecologica



James A. Shapiro, University of Chicago



James A. Shapiro, University of Chicago



James A. Shapiro, University of Chicago



James A. Shapiro, University of Chicago

(c)

(d)

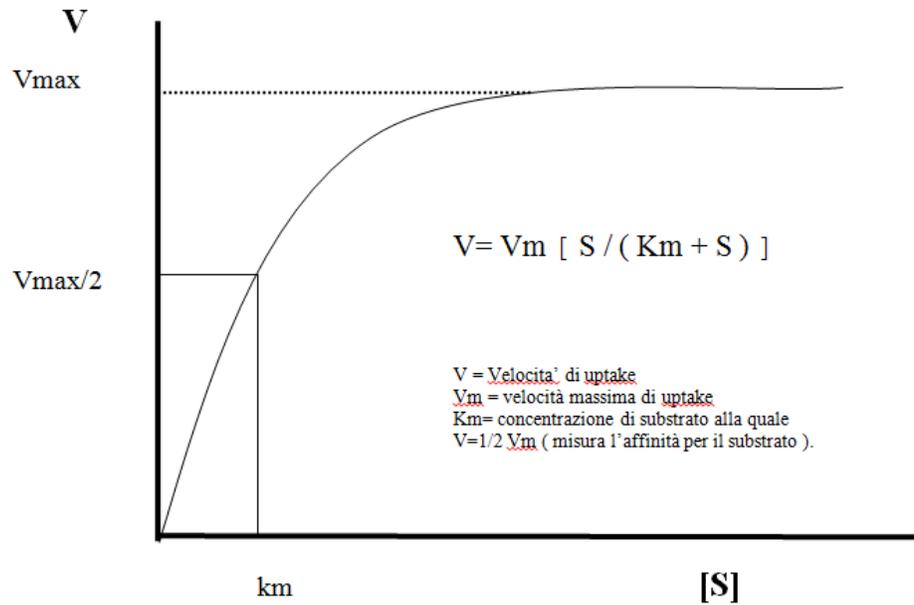


Paul V. Dunlap

(e)

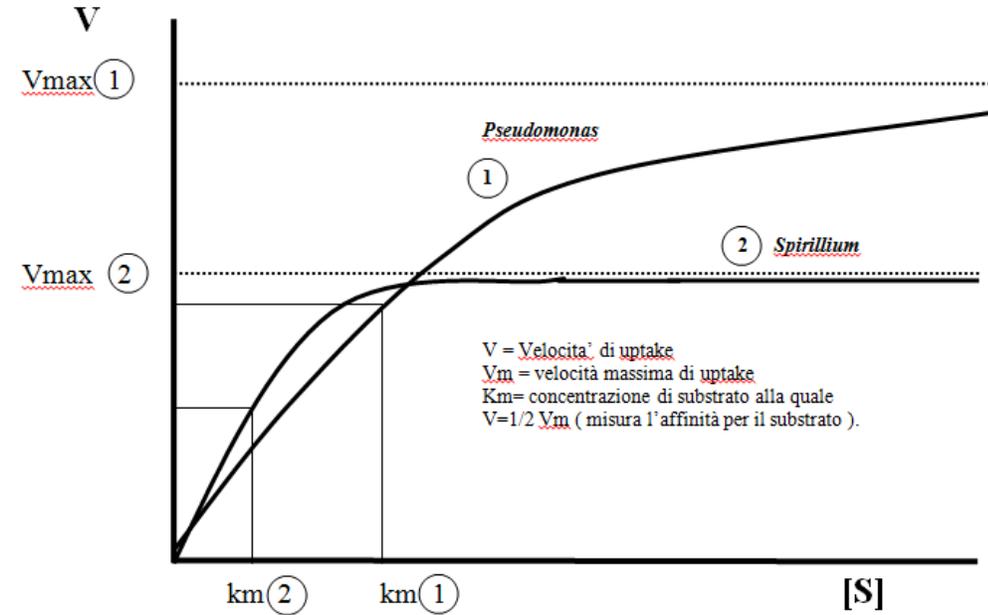
Figura 4.2 Colonie batteriche. Le colonie sono masse visibili di cellule formate dalle successive divisioni di una o poche cellule e possono contenere oltre un miliardo (10^9) di cellule.

(a) *Serratia marcescens* coltivata su agar MacConkey. (b) Ingrandimento delle colonie nel riquadro (a). (c) *Pseudomonas aeruginosa* coltivata su Agar Soy Trypticase. (d) *Shigella flexneri* coltivata su agar MacConkey. (e) Piastra di agar contenente molte colonie batteriche differenti, sviluppatesi dalla piastratura di una diluizione di acqua marina.



V_m alto = alta capacità di uptake

K_m basso = alta affinità per il substrato



➤ **STRATEGIA r** Batteri forti competitori in ambienti eutrofi (alta concentrazione di nutrienti). Questi batteri sono detti

- **copiotrofi**
- **eutrofi**
- **zinogeni**

➤ **STRATEGIA K** Batteri capaci di crescere in ambienti oligotrofi (bassa concentrazione di nutrienti). Questi batteri sono detti

- **paucitrofi**
- **oligotrofi (obbligati o facoltativi)**
- **autoctoni**

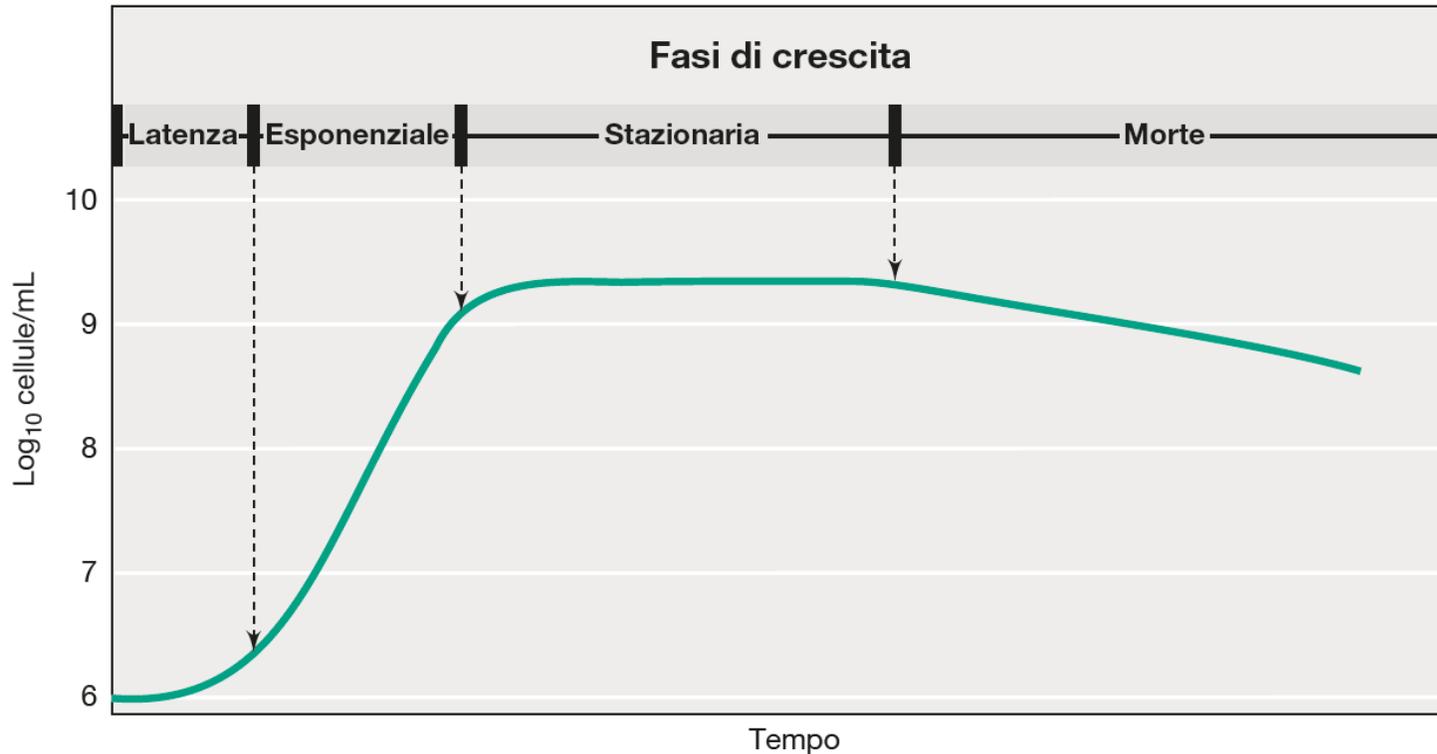


Figura 4.10 Tipica curva di crescita di una popolazione batterica. La conta vitale permette di determinare il numero di cellule di una coltura microbica capaci di riprodursi. La densità ottica (torbidità), misura quantitativa della luce assorbita da una coltura liquida (si veda la Figura 4.7), aumenta all'aumentare del numero di cellule.

Negli ambienti naturali, la fase di latenza può prolungarsi rispetto alla crescita in laboratorio.

I microrganismi possono andare incontro ad adattamento o acclimatazione



Fasi di latenza più brevi

Crescita esponenziale di solito breve (r-strateghi)

Fase stazionaria di solito breve

Negli ambienti naturali, i batteri sono preda di protozoi

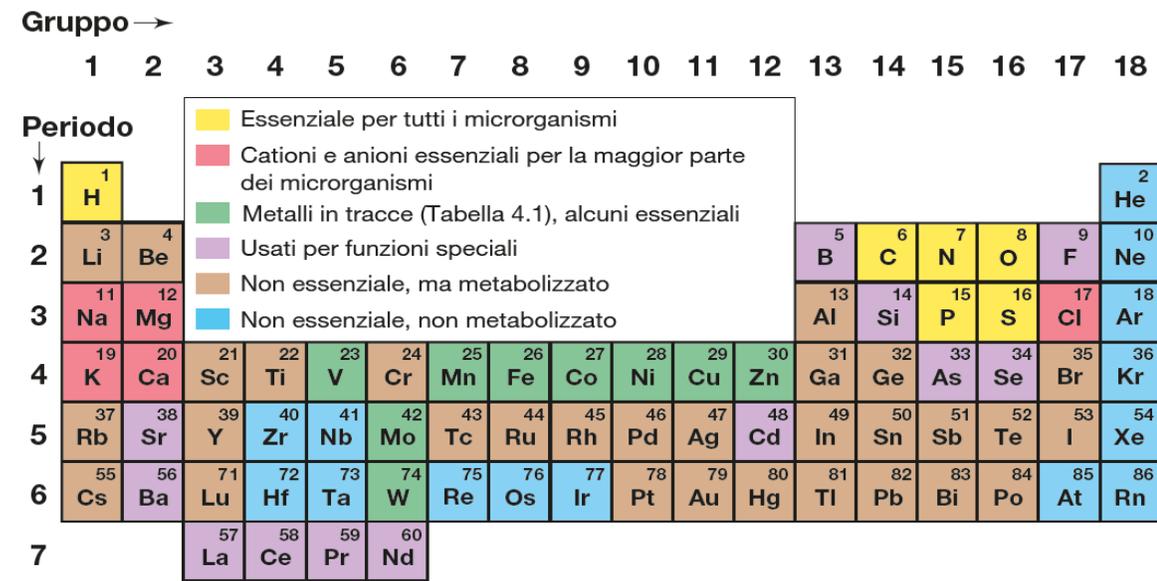


Fase di morte piuttosto rapida

Disponibilità di nutrienti

Macronutrienti: C, N, P, S, K, Mg, Ca, Na, Fe

- C: forma composti organici necessari alla costituzione di strutture cellulari (circa 50% sostanza secca cellulare)
- N: entra nella composizione di proteine acidi nucleici (12% peso secco)
- P: forma ATP, scheletro acidi nucleici, fosfolipidi
- S: entra nella composizione della metionina e cisteina
- K: indispensabile per l'attività di molti enzimi
- Ca: stabilizza parete cellulare; importante per la formazione delle endospore
- Na: necessario per la crescita di molti organismi (mantenimento equilibrio osmotico, pompa ionica, etc)
- Fe: componente citocromi e ferro-zolfo proteine (catena di trasporto elettronico); donatore elettroni in batteri anaerobi (ferro-zolfo batteri)



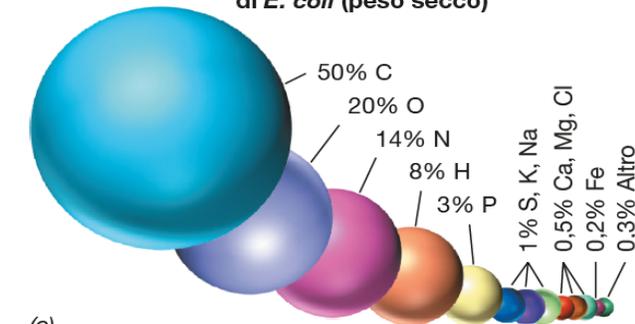
(a)

Composizione macromolecolare di una cellula

Macromolecola	Percentuale del peso secco
Proteine	55
Lipidi	9,1
Polisaccaridi	5,0
Lipopolisaccaridi	3,4
DNA	3,1
RNA	20,5

(b)

Composizione degli elementi in una cellula di *E. coli* (peso secco)



(c)

Figura 4.1 Composizione degli elementi e delle macromolecole in una cellula batterica.

(a) Tavola periodica degli elementi rivista in chiave microbica. Se si escludono gli elementi della fila 7 riportati in figura, non sono noti casi in cui i microrganismi possano metabolizzare altri elementi del periodo 7 e dei periodi successivi della tabella completa degli elementi.

(b) Abbondanza relativa delle macromolecole in una cellula batterica. Dati provenienti da "Escherichia coli and Salmonella typhimurium: Cellular and Molecular Biology". ASM, Washington, DC (1996). (c) Distribuzione media degli elementi in una cellula di *E. coli* (peso secco). "Altro" comprende, nell'ordine: Se, B, Cu, Mn, Zn, F, Si, As, Cs, Sr, Ba, V, Co, W e Ni.

Disponibilità di nutrienti

Micronutrienti o elementi in traccia:

Esplicano una funzione strutturale in molti enzimi

Fattori di crescita:

Vitamine, amminoacidi, purine e pirimidine

Tabella 4.1 Micronutrienti necessari ai microrganismi^a

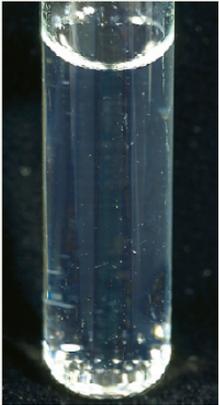
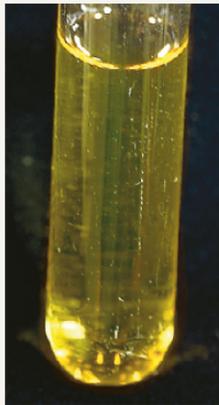
I. Elementi in tracce		II. Fattori di crescita	
Elemento	Funzione	Fattore di crescita	Funzione
Boro (B)	Autoinduttore del quorum sensing nei batteri; trovato anche in alcuni antibiotici polichetidi	PABA (acido <i>p</i> -aminobenzoico) Acido folico	Precursore dell'acido folico Metabolismo del carbonio; metiltransferasi
Cobalto (Co)	Vitamina B ₁₂ ; transcarbossilasi (solo nei batteri propionici)	Biotina	Biosintesi degli acidi grassi; alcune reazioni di fissazione del CO ₂
Rame (Cu)	Nella respirazione, citocromo <i>c</i> ossidasi; nella fotosintesi, plastocianina, alcune superossido dismutasi	B ₁₂ (cobalamina)	Metabolismo del carbonio; sintesi di deossiribosio
Ferro (Fe) ^b	Citocromi; catalasi; perossidasi; proteine ferro-zolfo; ossigenasi; tutte le nitrogenasi	B ₁ (tiamina) B ₆ (piridossina)	Reazioni di decarbossilazione Trasformazione amino/cheto acido
Manganese (Mn)	Attivatore di molti enzimi; componente di alcune superossido dismutasi e dell'enzima che catalizza la fotolisi dell'acqua nei fototrofi ossigenici (fotosistema II)	Acido nicotinico (niacina) Riboflavina Acido pantotenico	Precursore del NAD ⁺ Precursore di FNM, FAD Precursore del coenzima A
Molibdeno (Mo)	Alcuni enzimi contenenti flavina; alcune nitrogenasi, nitrato riduttasi, solfito ossidasi, DMSO-TMAO riduttasi; alcune formiato deidrogenasi	Acido lipoico Vitamina K	Decarbossilazione di pruvato e α -chetoglutarato
Nichel (Ni)	La maggior parte delle idrogenasi; coenzima F ₄₃₀ dei metanogeni; monossido di carbonio deidrogenasi; ureasi	Coenzimi M e B F ₄₂₀ e F ₄₃₀	Metanogenesi ^c Metanogenesi ^c
Selenio (Se)	Formiato deidrogenasi; alcune idrogenasi; l'aminoacido selenocisteina		
Tungsteno (W)	Alcune formiato deidrogenasi; ossitrasferasi degli ipertermofili		
Vanadio (V)	Vanadio nitrogenasi; bromoperossidasi		
Zinco (Zn)	Anidrasi carbonica; alcol deidrogenasi; polimerasi degli acidi nucleici; molte proteine che legano il DNA		

^aNon tutti gli elementi in tracce o i fattori di crescita sono necessari a tutti gli organismi, e molti fattori di crescita sono biosintetizzati e quindi non devono necessariamente essere presenti nell'ambiente.

^bIl ferro è tipicamente necessario in quantità superiori rispetto agli altri metalli in tracce riportati nella tabella.

^cProduzione di metano (CH₄) da parte dei metanogeni (*Archaea*).

Tabella 4.2 Esempi di terreni di coltura per microrganismi con richieste nutrizionali semplici e complesse^a

Terreno di coltura definito per <i>Escherichia coli</i>	Terreno di coltura definito per <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Terreno di coltura complesso sia per <i>Escherichia coli</i> sia per <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Terreno di coltura definito per <i>Thiobacillus thioparus</i>
<p>K₂HPO₄ 7 g KH₂PO₄ 2 g (NH₄)₂SO₄ 1 g MgSO₄ 0,1 g CaCl₂ 0,02 g Glucosio 4-10 g Elementi in tracce (Fe, Co, Mn, Zn, Cu, Ni, Mo) 2-10 µg di ognuno Acqua distillata 1000 mL pH 7</p>  <p>(a)</p>	<p>K₂HPO₄ 6 g KH₂PO₄ 0,6 g NH₄Cl 3 g MgSO₄ 0,1 g Glucosio 25 g Acetato di sodio 25 g Aminoacidi (alanina, arginina, asparagina, aspartato, cisteina, glutammato, glutammina, glicina, istidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptofano, tirosina, valina) 100-200 mg di ognuno Purine e pirimidine (adenina, guanina, uracile, xantina) 10 mg di ognuno Vitamine (biotina, acido folico, acido nicotinico, piridossale, piridossamina, piridossina, riboflavina, tiamina, acido pantotenico, acido <i>p</i>-aminobenzoico) 0,01-1 mg di ognuno Elementi in tracce (Fe, Co, Mn, Zn, Cu, Ni, Mo) 2-10 mg di ognuno Acqua distillata 1000 mL pH 7</p>	<p>Glucosio 15 g Estratto di lievito 5 g Peptone 5 g KH₂PO₄ 2 g Acqua distillata 1000 mL pH 7</p>  <p>(b)</p>	<p>K₂HPO₄ 0,5 g NH₄Cl 0,5 g MgSO₄ 0,1 g CaCl₂ 0,05 g KCl 0,5 g Na₂S₂O₃ 2 g Elementi in tracce (Fe, Co, Mn, Zn, Cu, Ni, Mo) 2-10 µg di ognuno Acqua distillata 1000 mL pH 7 Fonte di carbonio: CO₂ dall'aria</p>

^aLe fotografie ritraggono provette contenenti rispettivamente del terreno definito (a) e del terreno complesso (b) descritti in tabella per *Escherichia coli*. Si noti il colore conferito dai vari estratti organici al terreno complesso. Foto di Cheryl L. Broadie e John Vercillo, Southern Illinois University di Carbondale.

Effetti ambientali sulla crescita microbica

«Conoscere le influenze ambientali consente di comprendere la distribuzione dei microrganismi in natura e rende possibile sviluppare metodi per il controllo o l'incremento di attività microbiche»*

Influenza della temperatura

La temperatura ambientale influenza la cinetica degli enzimi. Per ogni organismo si definisce una temperatura minima, ottimale e massima (temperature cardinali)

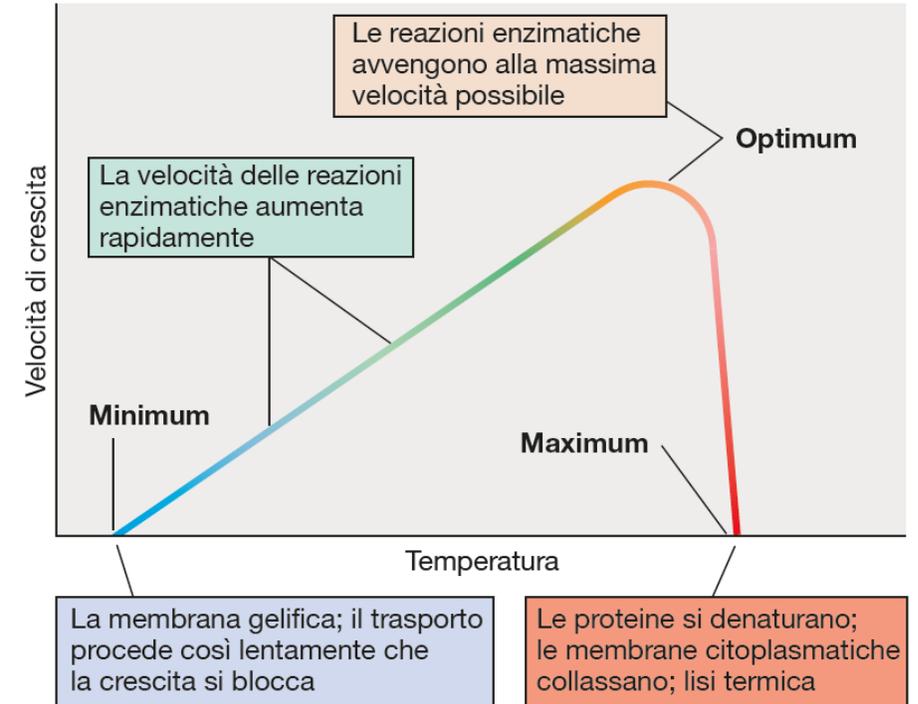


Figura 4.20 Le temperature cardinali: *minimum*, *optimum* e *maximum*. I valori reali possono variare molto per microrganismi differenti (si veda la Figura 4.21).

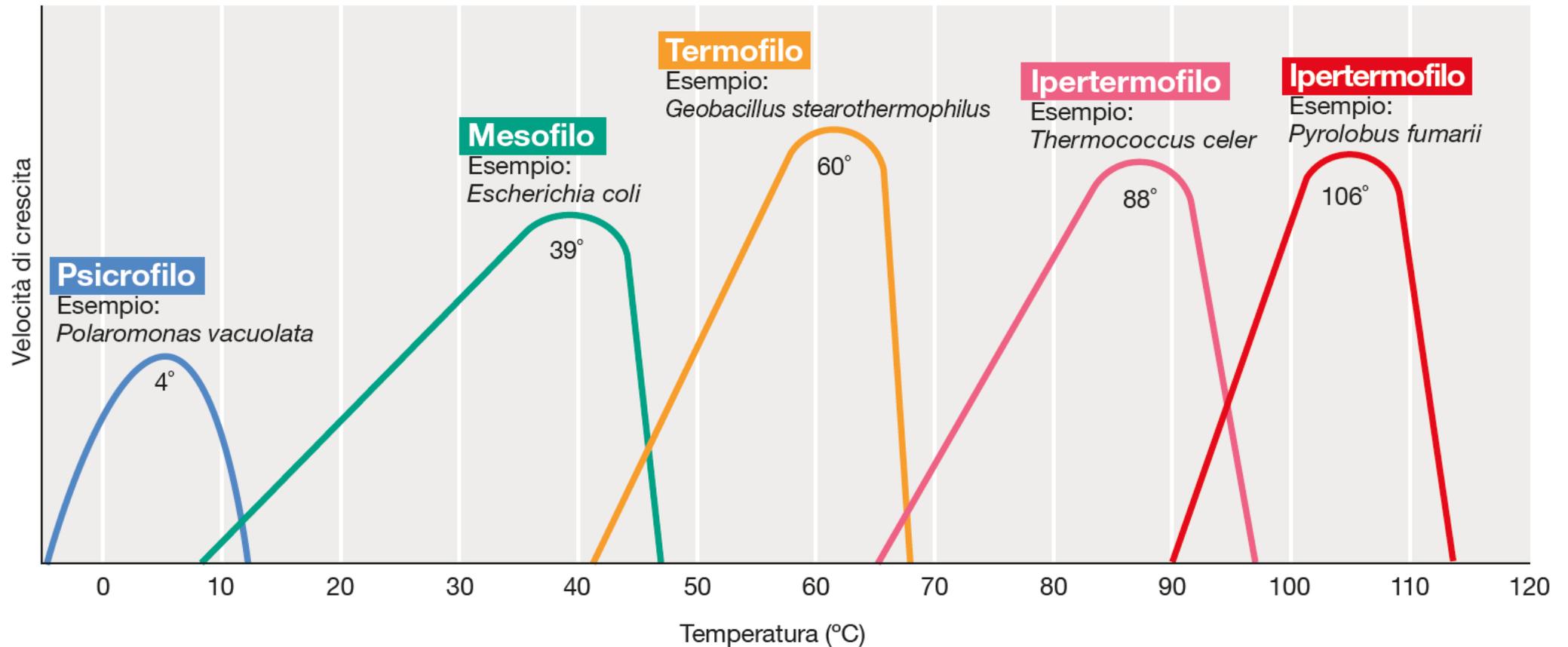


Figura 4.21 Relazione fra temperatura e velocità di crescita in microrganismi appartenenti a differenti classi. Nel grafico è riportata la temperatura ottimale di ciascun microrganismo usato come esempio.

I batteri possono essere classificati nei seguenti tipi principali in base alla loro risposta alla temperatura

Psicrofili: batteri che possono crescere a 0°C o meno, con temperatura ottimale di crescita di 15°C e temperatura massima di 20°C. Gli psicrofili hanno acidi grassi polinsaturi nella loro membrana cellulare che assicurano la natura fluida anche a basse temperature. Esempi: *Vibrio psychroerythrus*, *Vibrio marinus*, *Polaromonas vacuolata*, *Psychroflexus*.

Psicrofili facoltativi: batteri che possono crescere anche a 0 ° C ma la cui temperatura ottimale per la crescita è 20-30°C. Esempio: *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas hydrophila*

Mesofili: batteri che possono crescere tra 25 e 40°C, con temperatura ottimale di 37°C. La maggior parte degli agenti patogeni umani sono di natura mesofila. Esempi: *E. coli*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Staphylococcus*.

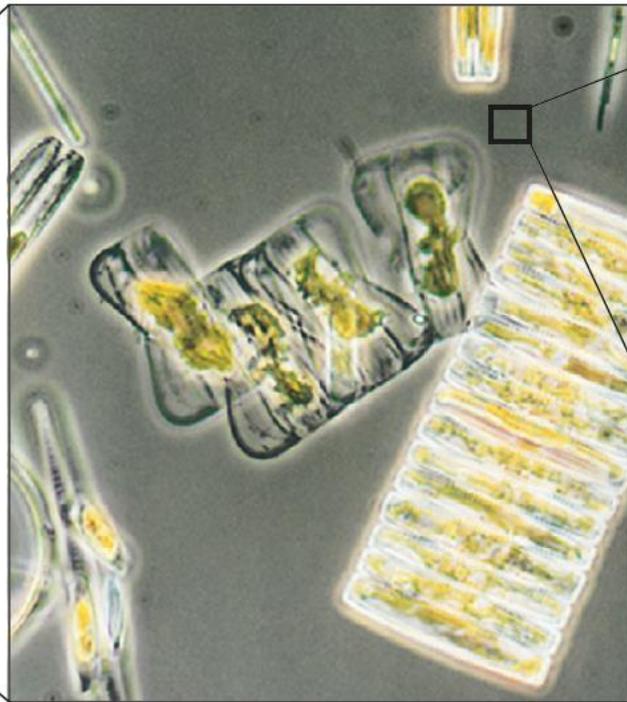
Termofili: batteri che possono crescere al di sopra di 45°C. I termofili in grado di crescere nella gamma di temperature mesofile sono chiamati termofili facoltativi. I veri termofili sono chiamati **Stenotermofili** o termofili obbligati. I termofili contengono acidi grassi saturi nella loro membrana cellulare in modo da evitare che questa diventi troppo fluida anche a temperature più elevate. Esempi: *Streptococcus thermophilus*, *Bacillus stearothermophilus*, *Thermus aquaticus*.

Ipertermofili: batteri che hanno una temperatura ottimale di crescita superiore a 80 ° C. Per lo più gli archeobatteri sono ipertermofili. La membrana cellulare mostrata degli Archeobacteria è più resistente al calore della membrana dei batteri. Esempi: *Thermodesulfobacterium*, *Aquifex*, *Pyrolobus fumari*, *Thermotoga*.



John Gosink e James T. Staley

(a)



John Gosink e James T. Staley

(b)



James T. Staley

(c)

Figura 4.22 Habitat antartici e microrganismi associati.

(a) Una carota di acqua di mare ghiacciata proveniente da McMurdo Sound, in Antartide. La carota ha un diametro di circa 8 cm. Si può notare l'intensa colorazione dovuta alla presenza di microrganismi pigmentati. (b) Foto al microscopio a contrasto di fase di microrganismi fototrofi provenienti dalla carota mostrata in (a). La maggior parte dei microrganismi appartiene alla classe delle diatomee o delle alghe verdi (entrambe eucarioti fototrofi). (c) Micrografia elettronica a trasmissione di *Polaromonas*, batterio

con vescicole gassose che vive nella banchisa, la cui temperatura ottimale di crescita è 4 °C. Le cellule hanno un diametro di circa 0,8 µm. (d) Foto della superficie del Lago Bonney, nelle valli desertiche di McMurdo, in Antartide. Sebbene il lago sia sempre coperto dal ghiaccio, la colonna d'acqua sottostante contiene una varietà di *Bacteria*, *Archaea* e microrganismi eucarioti. (e) Ghiacciaio Garwood, nelle valli desertiche di McMurdo, in Antartide. Il fronte del ghiacciaio (freccia) è alto circa 20 m. Ghiacciai e laghi subglaciali sono ricchi di vita microbica.

(segue)

(continua)



Deborah Jung e Michael T. Madigan

(d)



Michael T. Madigan

(e)

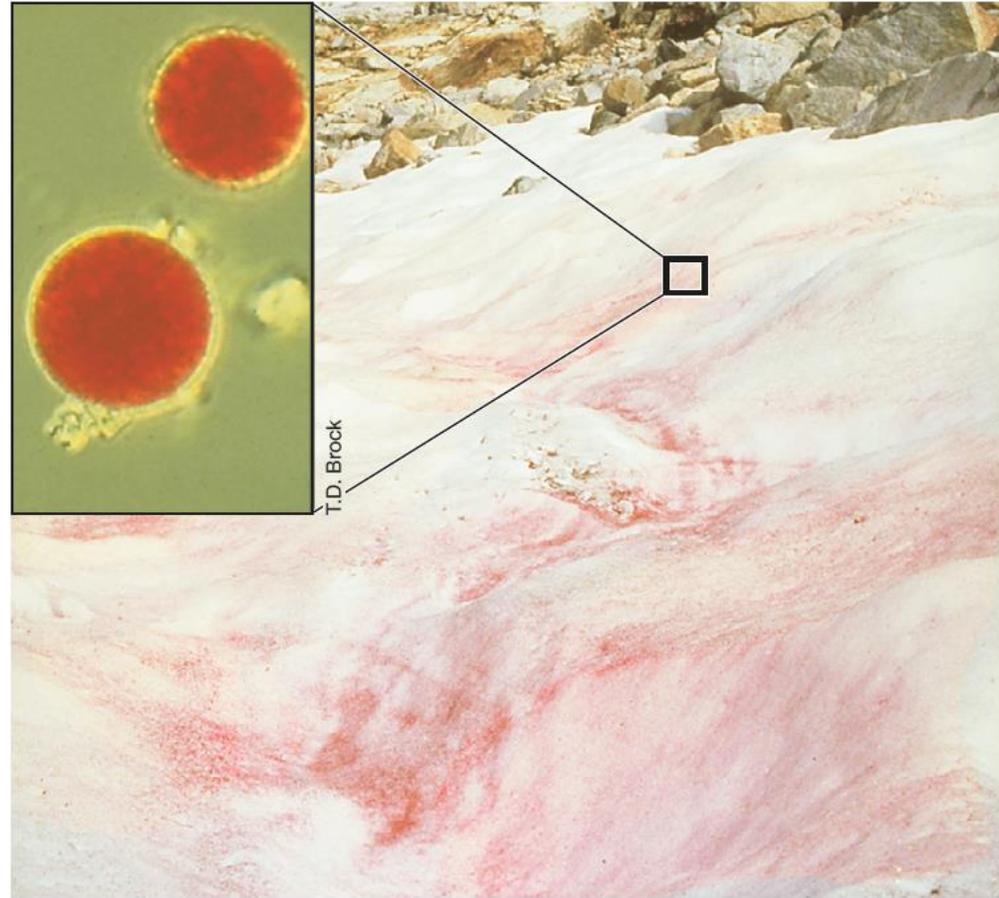


Figura 4.23 **Alge della neve.** Nevaio della Sierra Nevada, in California, con una colorazione rossa causata dalla presenza di alghe della neve. Nel riquadro: fotomicrografia di spore pigmentate di rosso dell'alga della neve *Chlamydomonas nivalis*. Le spore hanno un diametro di circa $18 \mu\text{m}$ e germinano producendo cellule algali verdi dotate di motilità.

Tabella 4.3 Limiti superiori di temperatura, attualmente noti, per la crescita di organismi viventi

Gruppo	Limite superiore di temperatura (°C)
Macrorganismi	
Animali	
Pesci e altri vertebrati acquatici	38
Insetti	45-50
Ostracodi (crostacei)	49-50
Piante	
Piante vascolari	45 (60 per una specie)
Muschi	50
Microrganismi	
Microrganismi eucarioti	
Protozoi	56
Alghe	55-60
Funghi	60-62
Procarioti	
<i>Bacteria</i>	
Cianobatteri	73
Fototrofi anossigenici	70-73
Chemiorganototrofi/chemiolitotrofi	95
<i>Archaea</i>	
Chemiorganototrofi/chemiolitotrofi	122



T.D. Brock

(a)

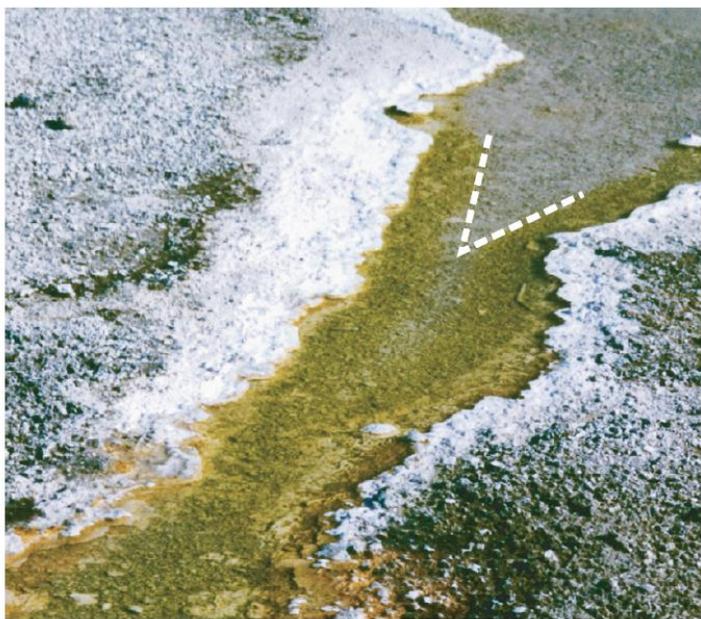


T.D. Brock

(b)

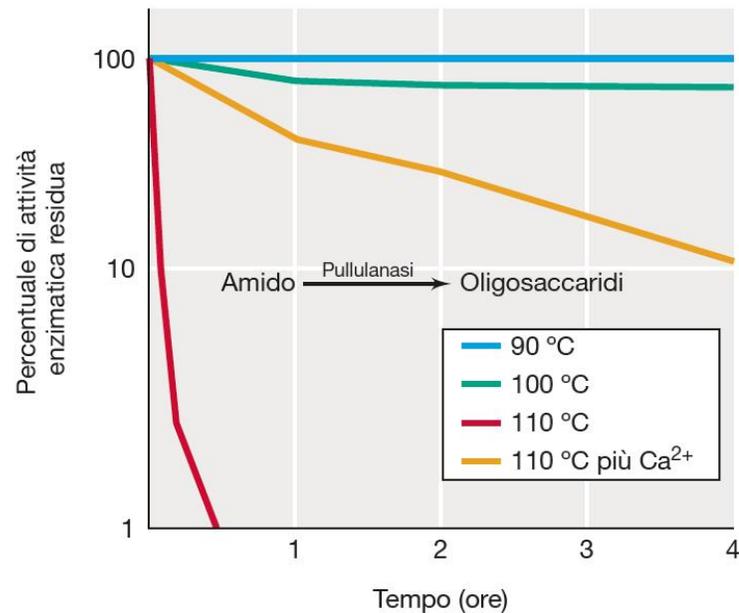
Figura 4.24 Crescita di ipertermofili in acque bollenti.

(a) La Boulder Spring, una piccola sorgente di acqua bollente nel Parco Nazionale dello Yellowstone. La sorgente è estremamente calda, con temperature di 1-2 °C sopra il punto di ebollizione dell'acqua. I depositi minerali intorno alla sorgente sono costituiti soprattutto da silicio e zolfo. (b) Microfotografia di una microcolonia di *Archaea* che si è sviluppata su un vetrino portaoggetto da microscopio immerso nelle acque bollenti della sorgente.



Nancy L. Spear

(a)



(b)

Figura 4.25 **Microrganismi delle sorgenti termali e enzimi stabili al calore.** (a) Caratteristica configurazione a V (indicata dalla linea bianca tratteggiata) assunta dalla distribuzione dei cianobatteri lungo il gradiente di temperatura formato da una sorgente termale bollente nel Parco Nazionale dello Yellowstone fino alla temperatura massima consentita per la sopravvivenza di microrganismi fototrofi, 70-73 °C. La presenza del microrganismo assume questa forma caratteristica perché l'acqua si raffredda più rapidamente ai bordi rispetto al centro del canale. (b) Alcuni degli ipertermofili che proliferano nella sorgente di acqua termale sono usati come fonte di enzimi stabili al calore, come la pullulanasi di *Pyrococcus* (*Archaea*). Il Ca²⁺ ha l'effetto di stabilizzare l'enzima al di sopra della temperatura di ebollizione dell'acqua.

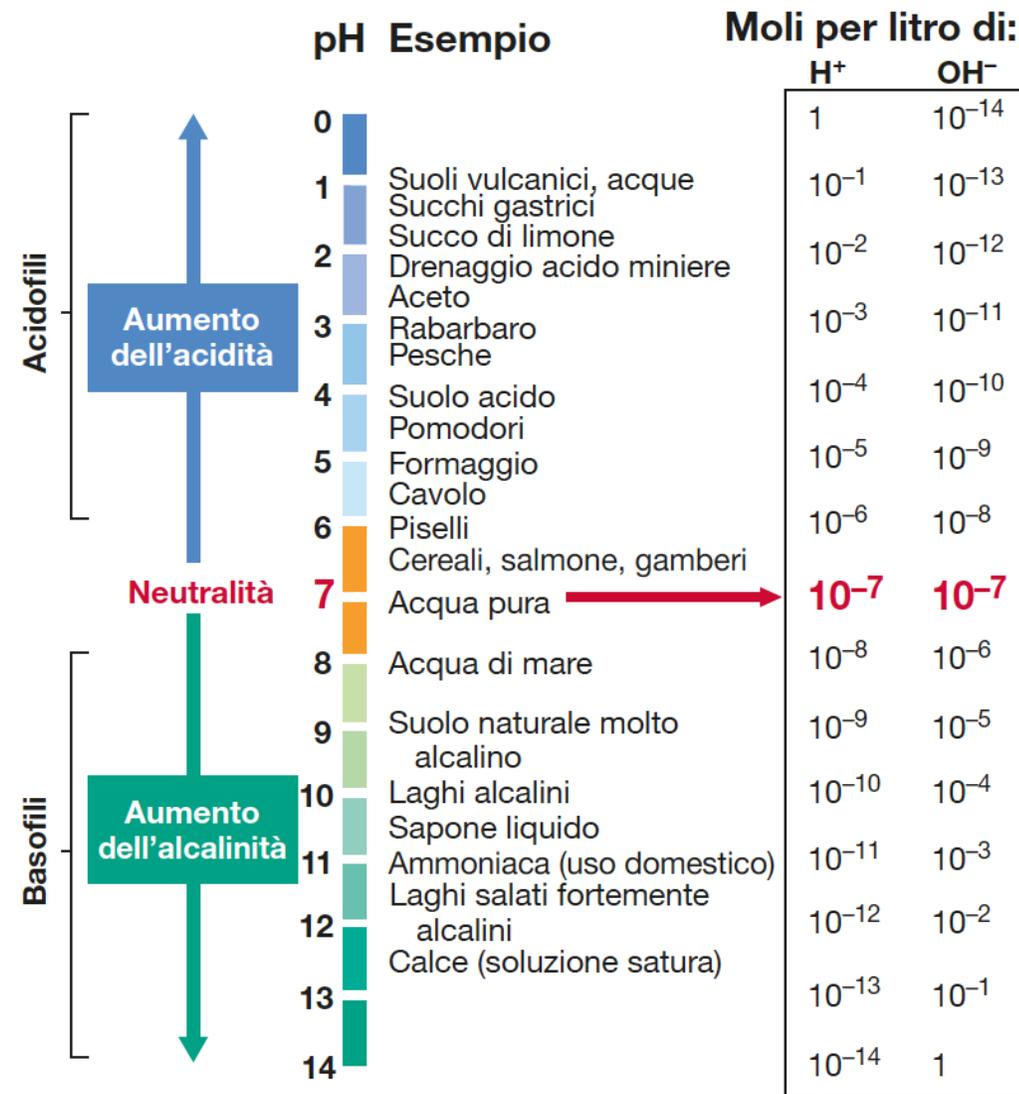


Figura 4.26 Scala del pH. Sebbene alcuni microrganismi siano in grado di vivere in presenza di pH molto bassi o molto elevati, il pH intracellulare rimane vicino alla neutralità.

Acidofili: batteri che hanno un optimum di crescita a pH acido. Alcuni acidofili sono termofili e vengono chiamati termoacidofili. Esempi: *Thiobacillus thiooxidans*, *Thiobacillus ferrooxidans*, *Thermoplasma*, *Sulfolobus*

Alcalofili: batteri che hanno un optimum di crescita a pH alcalino. Il pH ottimale di crescita di *Vibrio cholerae* è 8,2.

Neutrofilo: batteri con optimum di crescita a pH neutro (6,5-7,5). La maggior parte dei batteri è neutrofilo. Esempio: *E. coli*

Tabella 4.4 Rapporto tra microrganismi e pH

Classe fisiologica (intervallo ottimale)	pH ottimale (approssimativo) per la crescita	Esempio di microrganismo ^a
Neutrofili (pH >5,5 e <8)	7	<i>Escherichia coli</i>
Acidofili (pH <5,5)	5	<i>Ehodopila globiformis</i>
	3	<i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>
	1	<i>Picrophilus oshimae</i>
Basofili (pH ≥8)	8	<i>Chloroflexus aurantiacus</i>
	9	<i>Bacillus firmus</i>
	10	<i>Natronobacterium gregoryi</i>

^a*Picrophilus* e *Natronobacterium* sono *Archaea*, tutti gli altri sono *Bacteria*.

La maggior parte dei microrganismi è neutrofila

Alcuni acidofili sono termofili e vengono chiamati termoacidofili. Esempi: *Thiobacillus thiooxidans*, *Thiobacillus ferrooxidans*, *Thermoplasma*, *Sulfolobus*

Vibrio cholerae è un batterio alcalofilo o basofilo. Il suo pH ottimale di crescita è 8,2.

a_w è data dal rapporto tra la pressione di vapore dell'aria in equilibrio con una sostanza (o con una soluzione) e la pressione dell'acqua pura.

La presenza di Sali disciolti nell'acqua ne influenza la disponibilità

L'attività dell'acqua (a_w) esprime in termini fisici la disponibilità di acqua in un dato ambiente/substrato.



Nei batteri, l' a_w influenza l'equilibrio osmotico della cellula

Tabella 4.5 Attività dell'acqua in diversi substrati

Attività dell'acqua (a_w)	Substrato	Esempio di organismi ^a
1,000	Acqua pura	<i>Caulobacter</i> , <i>Spirillum</i>
0,995	Sangue umano	<i>Streptococcus</i> , <i>Escherichia</i>
0,980	Acqua di mare	<i>Pseudomonas</i> , <i>Vibrio</i>
0,950	Pane	La maggior parte dei bastoncini gram-positivi
0,900	Sciroppo d'acero, prosciutto	Cocchi gram-positivi, come <i>Staphylococcus</i>
0,850	Salame	<i>Zygosaccharomyces rouxii</i> (lievito)
0,800	Torte alla frutta, marmellate	<i>Zygosaccharomyces bailii</i> (lievito), <i>Penicillium</i> (fungo)
0,750	Laghi salati, pesce salato	<i>Halobacterium</i> , <i>Halococcus</i>
0,700	Cereali, caramelle, frutta secca	<i>Xeromyces bisporus</i> e altri funghi xerofili

^aEsempi selezionati di *Bacteria* e *Archaea* o funghi in grado di crescere in terreni di coltura in cui i valori di attività dell'acqua sono quelli riportati.

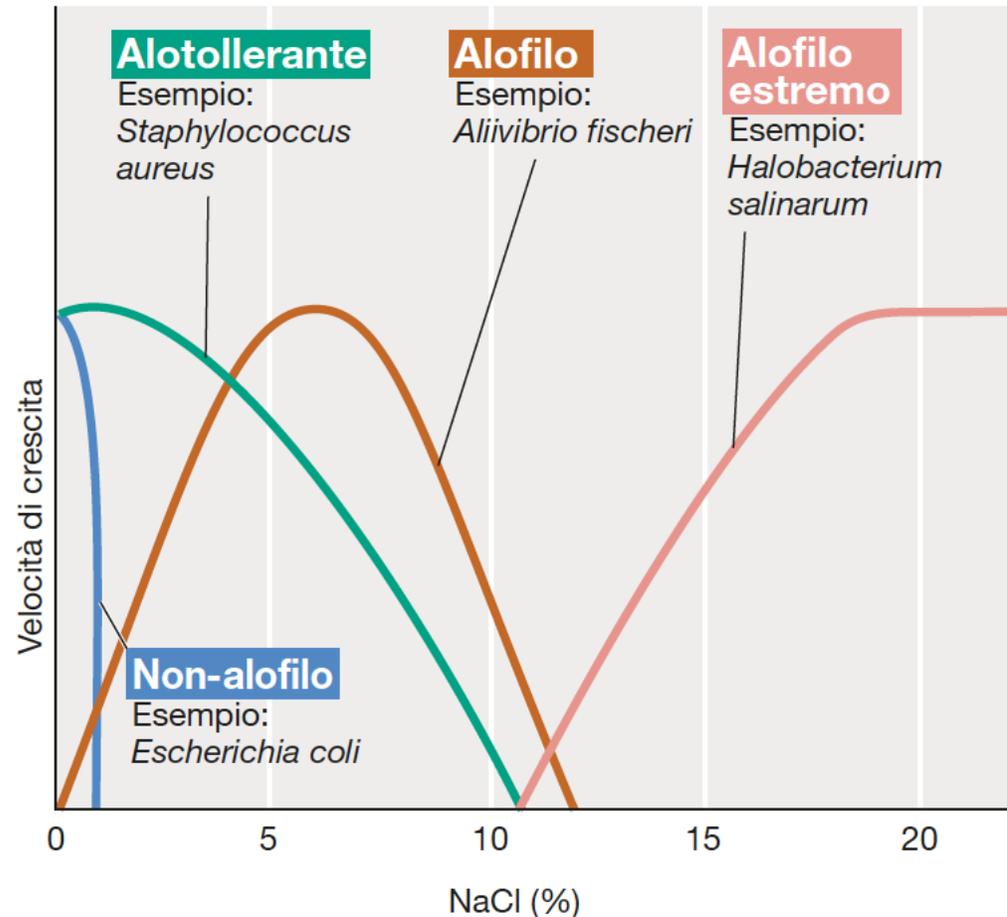


Figura 4.27 Effetto della concentrazione di cloruro di sodio (NaCl) sulla crescita di microrganismi che differiscono per il livello di tolleranza o di richiesta salina. L'optimum di concentrazione di NaCl per i microrganismi marini, come *Aliivibrio fischeri*, è circa 5%; per gli alofili estremi è 15-30%, a seconda dell'organismo.

Gli **alotolleranti** o **alofili facoltativi** possono tollerare qualche riduzione dell' a_w (concentrazioni di NaCl pari al 2%) ma crescono meglio in assenza di soluti

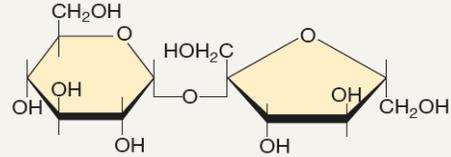
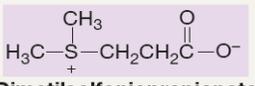
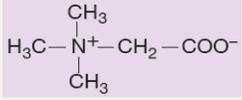
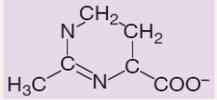
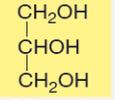
Alofili: batteri che richiedono concentrazioni saline da moderate a grandi. La membrana cellulare dei batteri alofili è costituita da glicoproteine con un alto contenuto di acido glutammico a carica negativa e acidi aspartici. Quindi è necessaria un'elevata concentrazione di ioni Na^+ per schermare le cariche negative i membrana. L'acqua dell'oceano contiene il 35‰ di sale. La maggior parte di questi batteri sono presenti negli oceani. Esempi: Archea, *Halobacterium*, *Halococcus*.

Alofili estremi o obbligati: batteri che richiedono concentrazioni di sale molto elevate (dal 20 al 30%). Esempi: batteri che vivono nel Mar Morto, vasche di salamoia nelle industrie alimentari.

Organismi osmofili: vivono in presenza di alte concentrazioni di zuccheri

Organismi xerofili: vivono in ambienti secchi dovuti a scarsità di acqua

Tabella 4.6 Soluti compatibili utilizzati da microrganismi

Organismo	Principale soluto citoplasmatico compatibile	a_w minima per la crescita ^c	
Molti <i>Bacteria</i> non-fototrofi (<i>Escherichia</i>) e cianobatteri d'acqua dolce (<i>Anabaena</i>)	Aminoacidi (principalmente glutammato o prolina ^a), saccarosio, trealosio ^b	0,98	 <p>Saccarosio</p>
Cianobatteri marini (<i>Synechococcus</i>)	α -glucosilglicerolo ^b	0,92	
Alghe marine (<i>Phaeocystis</i>)	Mannitolo, diversi glicosidi, dimetilsolfoniopropionato	0,92	 <p>Dimetilsolfoniopropionato</p>
<i>Bacteria</i> alotolleranti (<i>Staphylococcus</i>)	Aminoacidi	0,90	
Cianobatteri dei laghi salati (<i>Aphanothece</i>)	Betaina	0,75	 <p>Betaina</p>
Batteri purpurei alofili fototrofi (<i>Halorhodospira</i>)	Betaina, ectoina, trealosio ^b	0,75	 <p>Ectoina</p>
Alcuni <i>Bacteria</i> (<i>Salinibacter</i>) e <i>Archaea</i> (<i>Halobacterium</i>) alofili estremi	KCl	0,75	
Alghe verdi alofile (<i>Dunaliella</i>)	Glicerolo	0,75	 <p>Glicerolo</p>
<i>Archaea</i> alo-basofili (<i>Natrinema</i>)	KCl	0,68	
Lievit xerofili e osmofili (<i>Zygosaccharomyces</i>)	Glicerolo	0,62 ^d	
Funghi filamentosi xerofili (<i>Xeromyces</i>)	Glicerolo	0,605 ^d	

^aSi veda la Figura 6.27 per la struttura degli aminoacidi.

^bStruttura non mostrata. Il trealosio, come il saccarosio, è un disaccaride C₁₂; il glucosilglicerolo è un alcol C₉; il mannitolo è un alcol C₆.

^cPer raggiungere un' a_w osmotica inferiore a circa 0,77, sono necessari altri soluti oltre a NaCl; per esempio, altri sali (MgCl₂, MgSO₄, o CaCl₂) oppure altre sostanze, come glicerolo o saccarosio. Per la maggior parte degli organismi elencati (a eccezione degli xerofili), il limite inferiore di a_w può essere ulteriormente abbassato da soluti aggiuntivi.

^dLa crescita di *Zygosaccharomyces* è stata testata in un terreno ricco di saccarosio. La germinazione delle spore di *Xeromyces* è stata testata usando il potenziale matriciale dell'acqua.

Tabella 4.7 Rapporto dei microrganismi con l'ossigeno

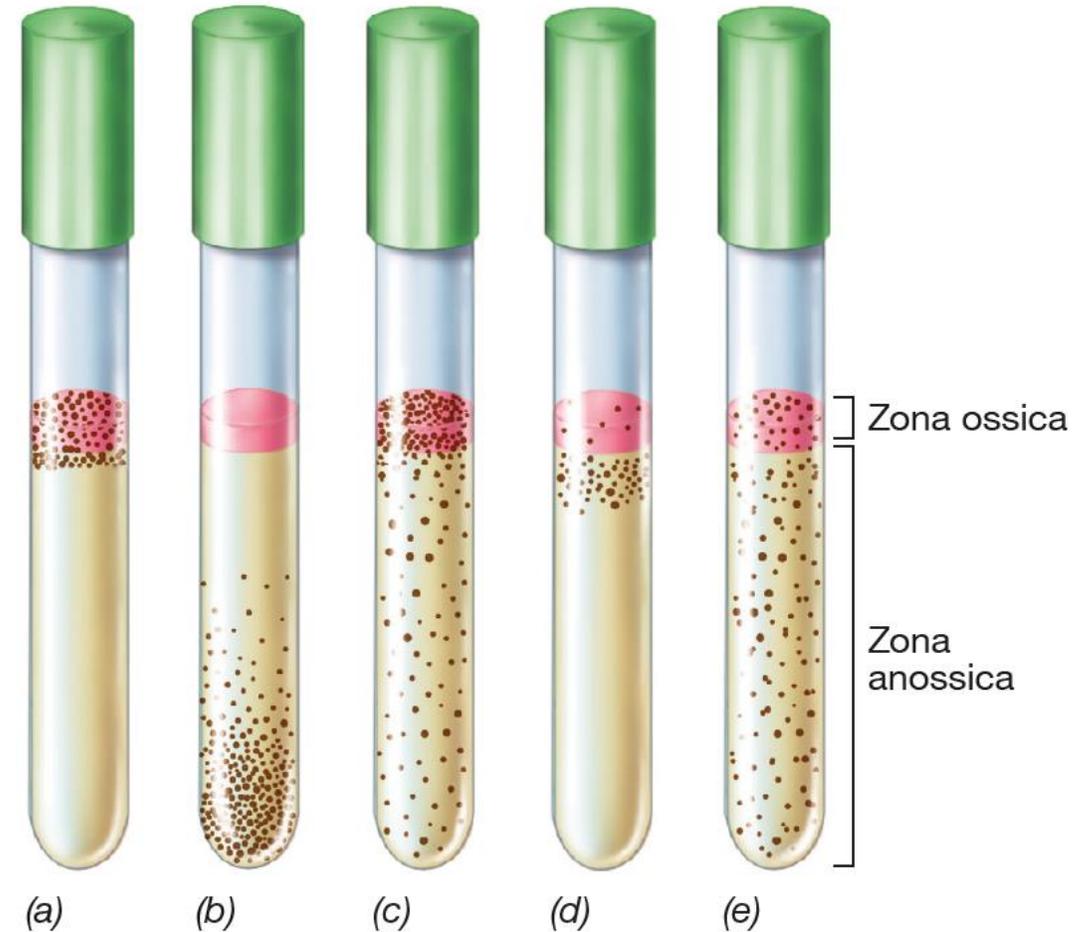
Gruppo	Rapporto con O ₂	Tipo di metabolismo	Esempio ^a	Habitat ^b
Aerobi				
Obbligati	Richiedono O ₂	Respirazione aerobica	<i>Micrococcus luteus</i> (B)	Pelle, polvere
Facoltativi	Non richiedono O ₂ , ma crescono meglio in sua presenza	Respirazione aerobica, respirazione anaerobica, fermentazione	<i>Escherichia coli</i> (B)	Intestino crasso di mammiferi
Microaerofili	Richiedono O ₂ a concentrazioni più basse di quella atmosferica	Respirazione aerobica	<i>Spirillum volutans</i> (B)	Acque lacustri
Anaerobi				
Aerotolleranti	Non richiedono O ₂ , e non crescono meglio in sua presenza	Fermentazione	<i>Streptococcus mutans</i> (B)	Cavità orale
Obbligati	Pericoloso o letale	Fermentazione o respirazione anaerobica	<i>Methanobacterium formicicum</i> (A)	Fanghi di impianti di depurazione, sedimenti lacustri anossici

^aLe lettere tra parentesi indicano l'appartenenza filogenetica (A, *Archaea*; B, *Bacteria*). Per ogni gruppo sono noti rappresentanti di entrambi i domini dei procarioti. Molti eucarioti sono aerobi obbligati, ma sono noti alcuni eucarioti aerobi facoltativi (per esempio, i lieviti) e anaerobi obbligati (per esempio, certi protozoi e funghi).

^bLa lista comprende habitat tipici dei microrganismi riportati come esempio.

Figura 4.28 Crescita batterica *versus* concentrazione di O₂.

La posizione delle colonie microbiche (puntini neri) all'interno delle provette contenenti un brodo al tioglicolato, identifica diversi tipi di microrganismi: da sinistra a destra, aerobi, anaerobi, aerobi facoltativi, microaerofili e anaerobi aerotolleranti. Il terreno contiene una piccola quantità di agar per evitare la diffusione dei microrganismi. Il colorante resazurina, che è rosa quando è ossidato e incolore quando è ridotto, è stato aggiunto come indicatore redox. (a) L'O₂ penetra solo nella parte superficiale del terreno e quindi solo qui possono crescere gli aerobi obbligati. (b) Gli anaerobi, essendo sensibili all'O₂, crescono solo lontano dalla superficie. (c) Gli aerobi facoltativi, capaci di crescere sia in presenza sia in assenza di O₂, si distribuiscono lungo tutta la provetta, ma crescono meglio in prossimità della superficie, dove respirano O₂. (d) I microaerofili crescono lontani dalle zone più ossigenate. (e) Gli anaerobi aerotolleranti crescono lungo tutta la provetta, ma vicino alla superficie la crescita è limitata, perché possono solo fermentare. In natura, esistono molti habitat diversi per ciascuna di queste categorie di organismi. Inoltre, un singolo habitat, come una particella di suolo, può favorire la crescita sia di aerobi sia di anaerobi.



Potenziale redox

In una soluzione, il potenziale redox (E_h) è dato dalla proporzione tra specie chimiche ridotte ed ossidate presenti.

$E_h > 0$ → Ambiente ossidante → O_2 → Microrganismi aerobi

$E_h < 0$ → Ambiente riducente → H_2S → Microrganismi anaerobi

E_h influenza il metabolismo influenzando l'attività di molti enzimi ed agendo sullo stato redox di metalli e, quindi sulla loro biodisponibilità

Redox tassi: microrganismi si spostano nell'ambiente per raggiungere nicchie dove E_h è più favorevole

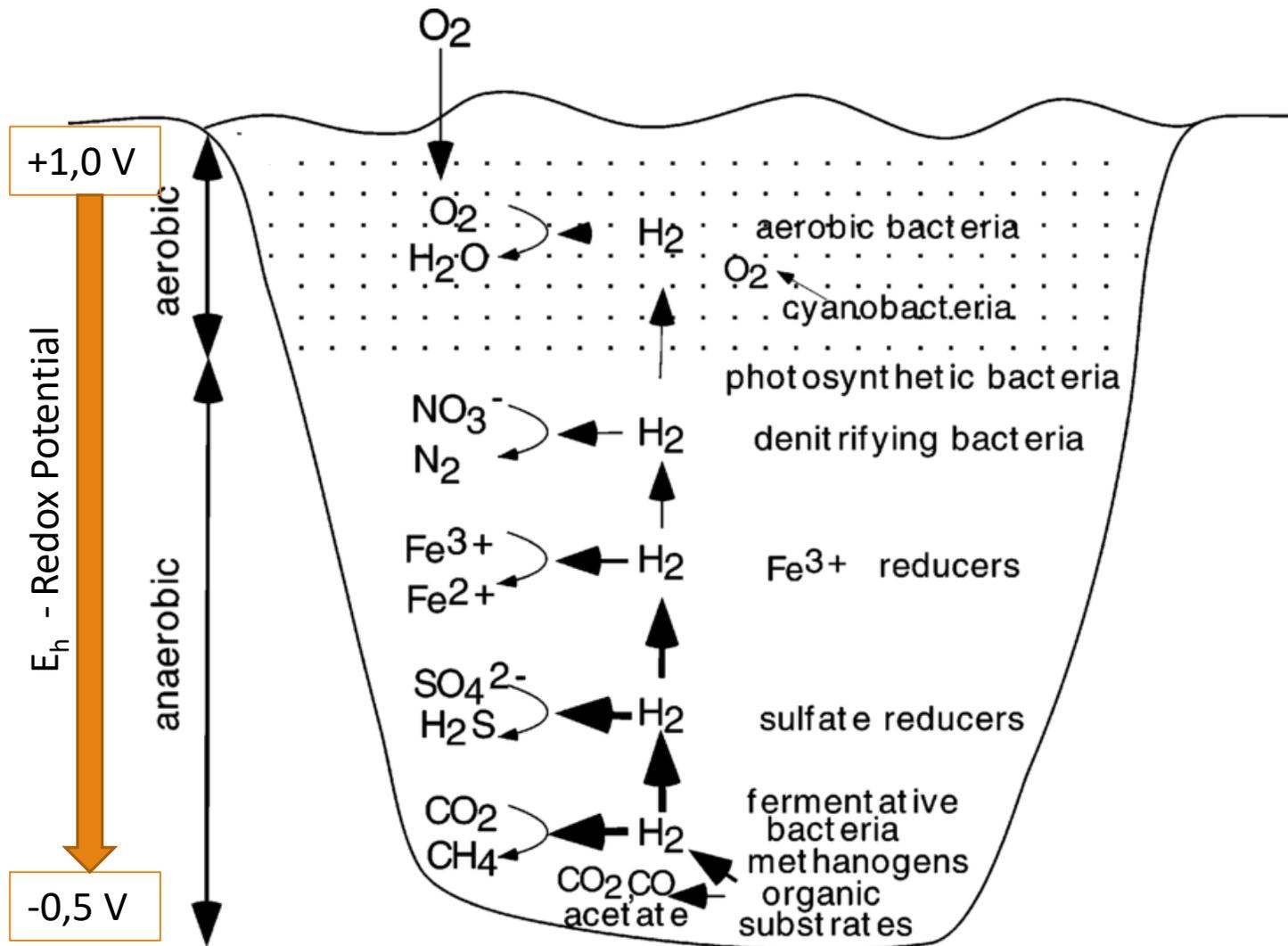
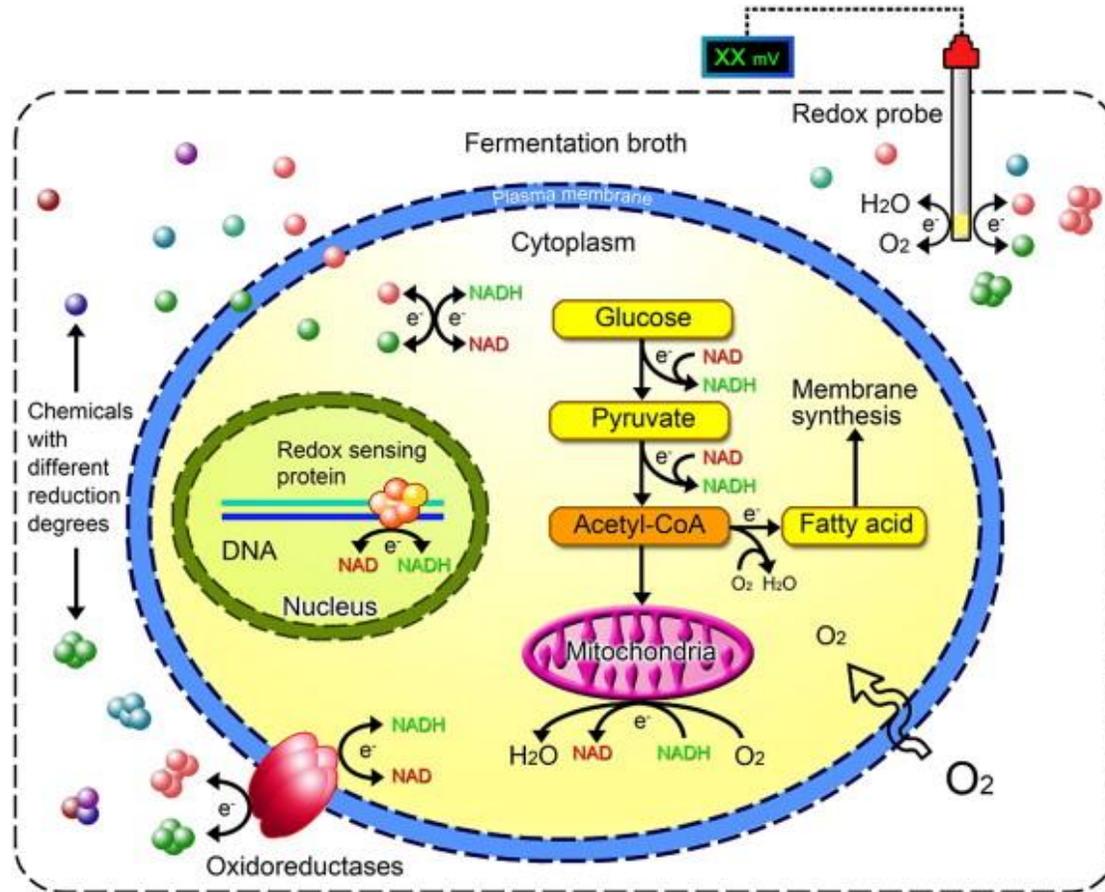


Figure 2. Anaerobic and aerobic bacterial metabolism in an aquatic stratified system as can be found in a lagoon, pond, or flooded soil. The scheme illustrates the vertical distribution of different redox reactions catalyzed by communities of microorganisms capable of producing or consuming H_2 . The redox potential, more negative at the bottom of the anaerobic fluid, increases upward and is positive in the aerobic phase near the surface of water in contact with air. The vertical arrows emphasize the decreasing H_2 flux from bottom to top of the stagnant water. Adapted from Conrad 54 and Cammack 108.

Occurrence, Classification, and Biological Function of Hydrogenases: An Overview Paulette M. Vignais and Bernard Billoud. *Chemical Reviews* **2007** 107 (10), 4206-4272. DOI: 10.1021/cr050196r (mod)

Electro-fermentation: principles and application



- Extracellular redox potential can have a role in intracellular redox homeostasis and metabolism:

“Intracellular Oxido-reduction potential (ORP) affects genes expression and enzyme synthesis, signal sensing and transduction and, then, metabolic profile”

(C-G.Liu et al., 2013)

*Humphreys C.M. and Minton N.P. Current Opinion in Biotechnology 2018, 50:174-181

Pressione idrostatica

In ambiente acquatico, pressioni superiori a 400 atm (4000 m profondità) possono inibire la crescita batterica

Barotolleranti: crescono a pressione atmosferica ma tollerano anche alte pressioni (microrganismi marini)

Barofili: richiedono alte pressioni per la crescita e sono inibiti a pressione atmosferica (*Spirillum* spp cresce meglio a 300-600 atm)

Barofili estremi: incapaci di crescere a pressioni inferiori a 300 atm e con un optimum a ca. 700 atm

Legge di Shelford o della tolleranza

La legge di Shelford dice che* :

- 1) *Ogni specie, per ogni fattore ambientale ha un intervallo ottimale di crescita in cui riesce a prosperare.*
- 2) *Quando uno o più fattori sono limitanti le specie hanno un intervallo di tolleranza entro il quale riescono a sopravvivere in attesa di condizioni migliori.*
- 3) *Oltre questo limite la specie non può esistere in un certo ambiente.*

.... E nei batteri??

- I microrganismi presentano intervalli di tolleranza più o meno ampi per vari fattori
- Gli organismi con maggiori intervalli di tolleranza sono più diffusi
- In prossimità dei limiti di tolleranza, il microrganismo è sottoposto a condizioni crescenti di stress
- Se le condizioni per un fattore non sono ottimali, i limiti di tolleranza per altri fattori possono restringersi
- La competizione, presenza di predatori e parassiti, limitano o annullano i vantaggi provenienti da condizioni ambientali favorevoli
- Lo sviluppo di forme di differenziamento (spore, biofilm, etc) possono modificare i limiti di tolleranza per alcuni fattori
- Limiti di tolleranza stretti possono essere interpretati come una forma di specializzazione