

Unidad Temática 2

Metabolismo Microbiano

Introducción

Se denomina metabolismo a la suma de las transformaciones químicas que ocurren en la célula. Puede dividirse en dos categorías:

- Rutas generadoras de energía o degradativas (catabolismo)
- Rutas consumidoras de energía o biosintéticas (anabolismo)

La función química esencial del metabolismo productor de energía es la de sintetizar moléculas orgánicas que poseen un alto nivel de energía potencial en forma de enlaces ricos en energía, la que luego es acoplada por medio de reacciones a las vías anabólicas.

En el esquema presentado a continuación se visualiza la asociación entre estos procesos y el rol que desempeña el **ATP** como agente acoplador entre la síntesis y el catabolismo.

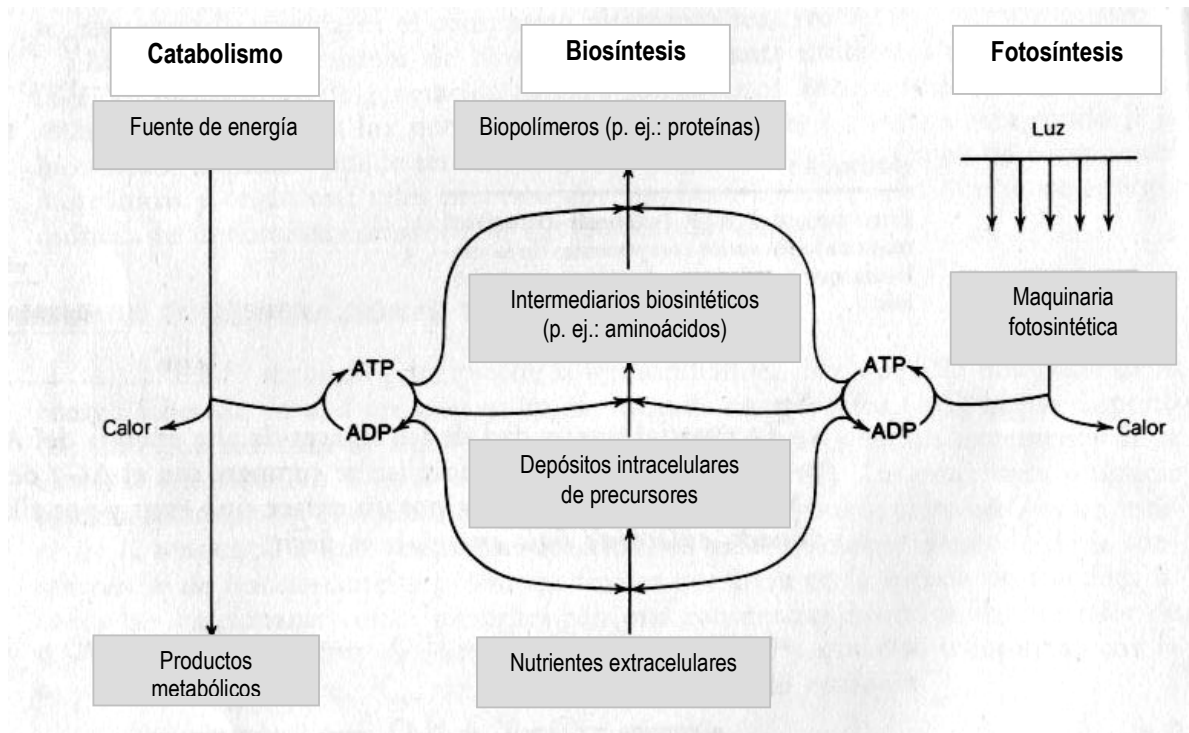


Fig. 1. Papel del ATP acoplado el catabolismo y la fotosíntesis a la biosíntesis

La energía en los enlaces fosfato del ATP interviene en diversas etapas del proceso biosintético. Participa de la entrada de nutrientes a la célula, se utiliza para convertir estos nutrientes en metabolitos intermedios de bajo peso molecular (aminoácidos, nucleótidos, ác. grasos, etc.) y además se utiliza en la polimerización de estos intermediarios en biopolímeros que constituyen los componentes principales del material celular (proteínas, ac. nucleicos, lípidos, etc.).

En el metabolismo, el ATP se genera por dos mecanismos bioquímicos diferentes:

- * Fosforilación a nivel de sustrato
- * Transporte de electrones.

Tipos de Metabolismo productor de energía.

Fermentación

Es un proceso productor de energía en el que los compuestos orgánicos actúan como donadores y aceptores de electrones. Los procesos fermentativos siempre mantienen un estricto control en su balance de óxido-reducción. El nivel promedio de oxidación de los productos finales es igual al del sustrato.

La principal contribución de la fermentación es la producción de ATP. La única forma de producir ATP durante la fermentación es por fosforilación a nivel del sustrato.

Los microorganismos que obtienen la energía por procesos fermentativos son anaerobios estrictos o facultativos. En general los organismos facultativos cambian su modo de metabolismo productor de energía cuando son expuestos al aire, aunque existe un grupo de microorganismos (bacterias del ácido láctico) a las que el oxígeno no les modifica el metabolismo productor de energía prosiguiendo con la fermentación aún cuando crecen con aire.

Las fermentaciones más comunes de la glucosa son la fermentación alcohólica y la homoláctica. La fermentación homoláctica ocurre en algunos grupos de bacterias como las bacterias del ácido láctico, mientras que la alcohólica es propia de algunos hongos, especialmente de las levaduras (Figura 2).

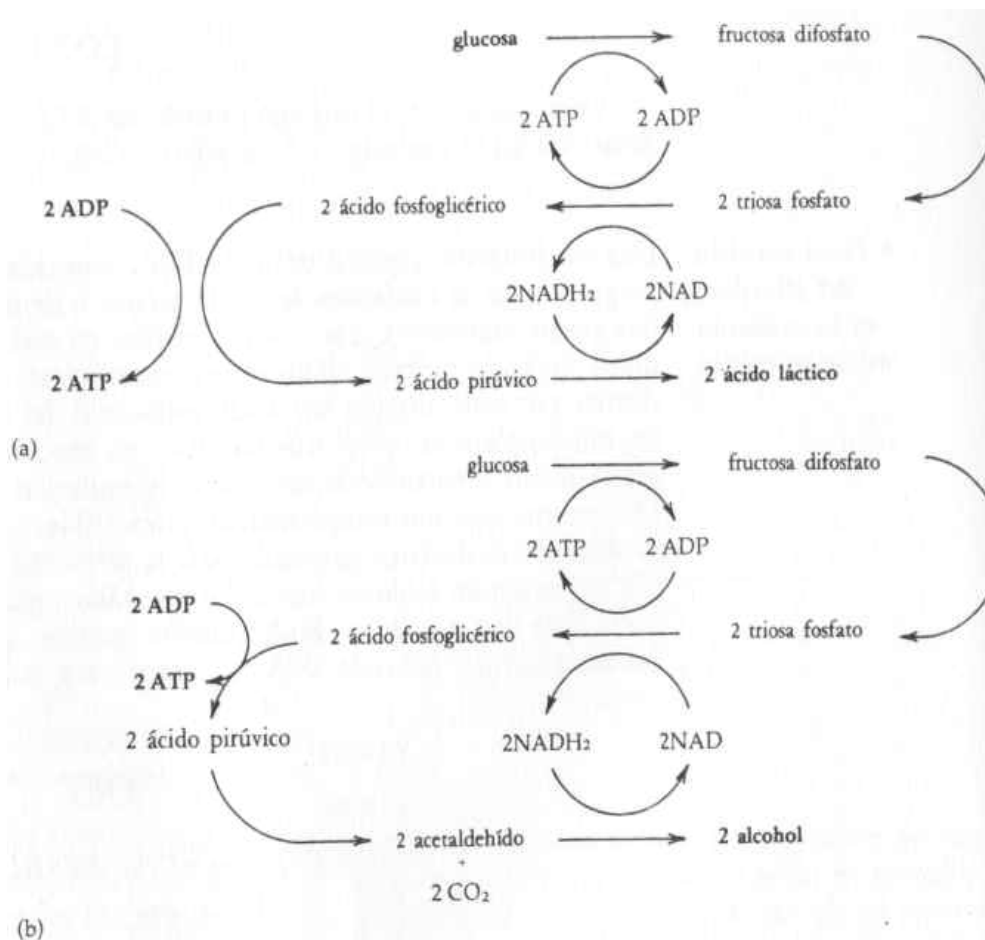


Fig. 2. Comparación entre (a) la fermentación del ácido láctico y (b) la fermentación alcohólica.

En estas fermentaciones la conversión de la glucosa en ácido pirúvico implica una serie de pasos metabólicos conocido como ruta de Embden- Meyerhof (glicólisis). Hay otras fermentaciones de carbohidratos que utilizan la vía de Embden – Meyerhof difiriendo en el metabolismo del ácido pirúvico. En la Tabla 1 se sintetizan dichas fermentaciones.

Tabla 1. Distintos tipos de fermentaciones y los grupos bacterianos que las realizan.

Clase de Fermentación	Productos	Grupos bacterianos
Homoláctica	Ácido láctico	Bacterias del ácido láctico: <i>Streptococcus sp.</i> , <i>Pediococcus sp.</i> Y <i>Lactobacillus sp.</i>
Ácido mixta	Ácido láctico Ácido acético Ácido succínico CO ₂ - H ₂ Etanol	Báctérias entéricas: <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella sp.</i>
Butanodiólica	Ácido láctico Ácido acético Ácido succínico CO ₂ - H ₂ Etanol 2 – 3 butanodiol	<i>Enterobacter sp.</i> , <i>Serratia sp.</i>
Propiónica	Ácido propiónico Ácido acético Ácido succínico CO ₂	<i>Propionibacterium sp.</i>

Respiración

La respiración puede definirse como el proceso metabólico productor de energía en el que los donadores de electrones son compuestos orgánicos y el aceptor final de electrones es el oxígeno molecular.

Una característica distintiva de la mayoría de los procesos respiratorios es la presencia en la célula de un equipo de enzimas transportadoras, que constituyen la cadena respiratoria de transporte de electrones.

La energía que se libera durante la oxidación completa de un compuesto orgánico (respiración), es mucho mayor que la que procede su fermentación. El rendimiento total de ATP por mol de sustrato respirado es de 38 ATP; mientras que en la fermentación, es de 2 ATP.

Muchos de los microorganismos que realizan respiración son aerobios estrictos, mientras otros ante condiciones de anaerobiosis pueden obtener la energía que necesitan, por fermentación o respiración anaeróbica. En este último caso los microorganismos son anaerobios facultativos.

En la Figura 3 se observa la vía glicolítica y la forma en que se degradan otros azúcares siguiendo esta vía con ligeras modificaciones.

Luego se presenta el ciclo de Krebs (Fig. 4) y la cadena transportadora de electrones (Fig. 5).

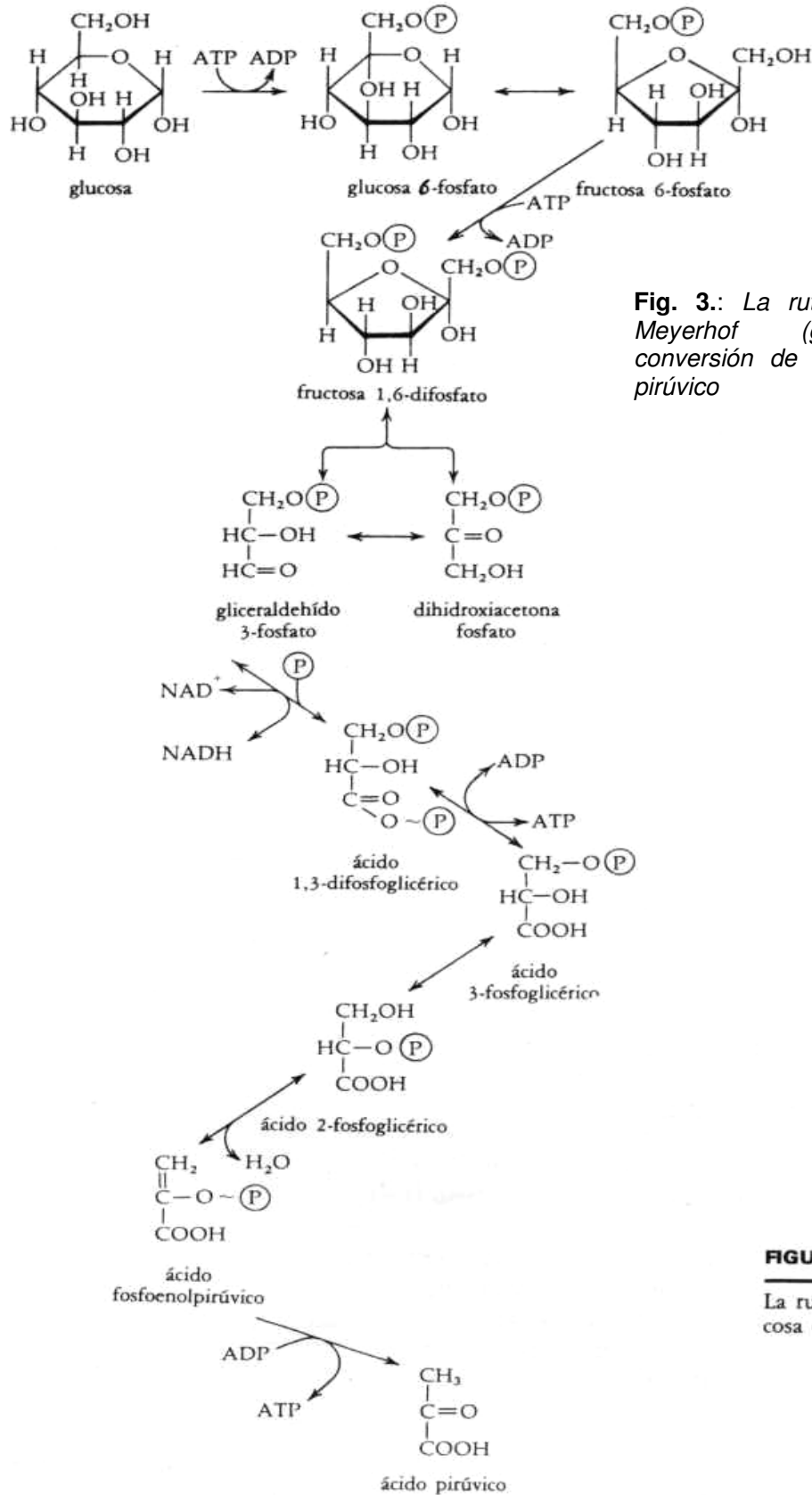


Fig. 3.: La ruta de Embden – Meyerhof (glucolítica) de conversión de glucosa en ácido pirúvico

FIGURA

La ruta
cosa en

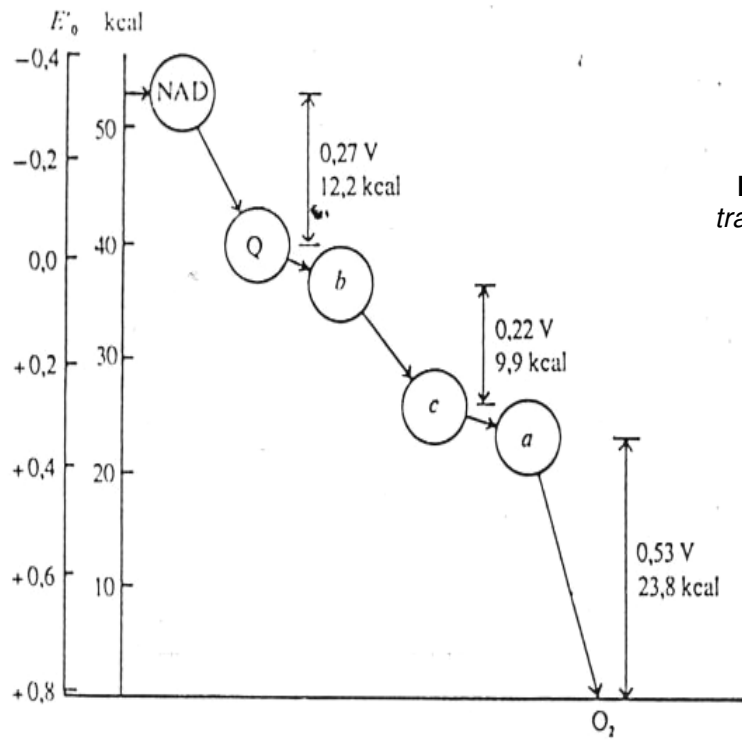
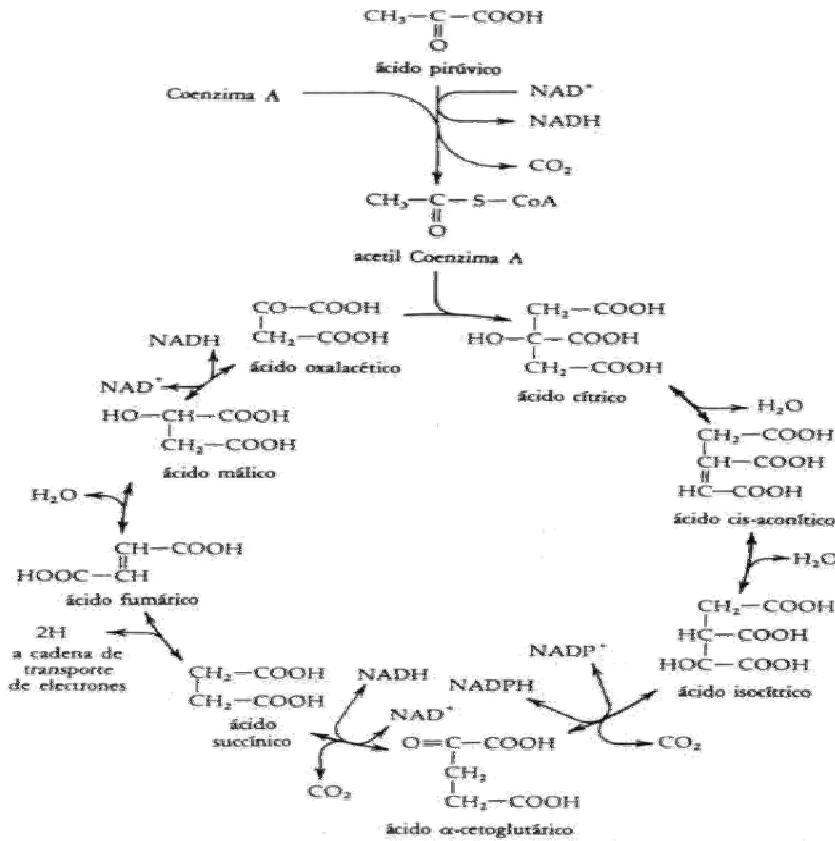


Fig. 5. Cadena de transporte de lectrones.

En el último esquema (Figura 6) se sintetizan estas rutas destacándose dónde se libera energía suficiente para la síntesis de ATP.

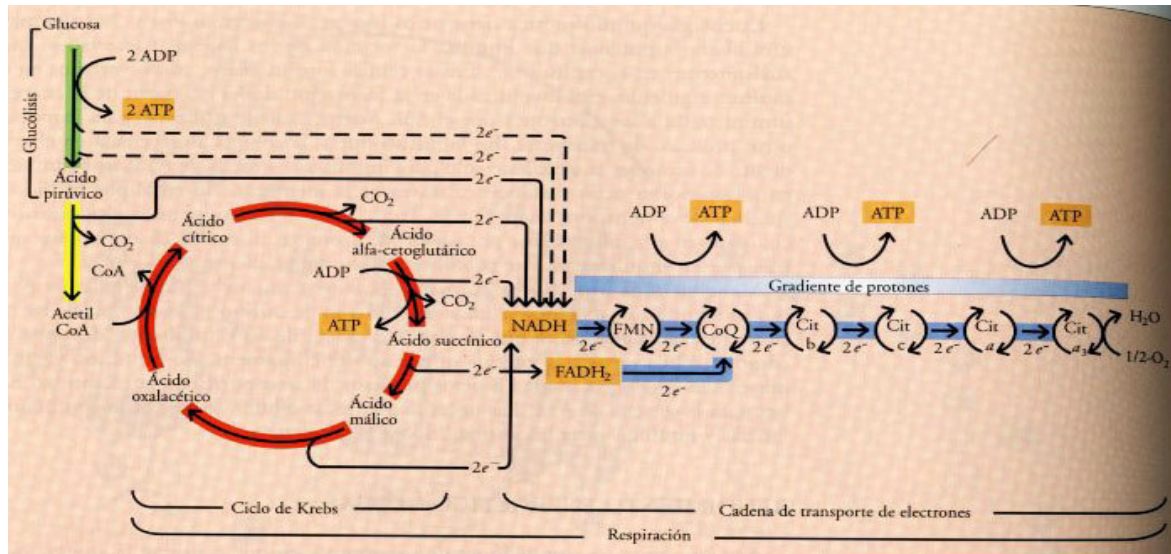


Fig. 6 Relación entre glicólisis, ciclo de Krebs y cadena de transporte de electrones

Respiración anaeróbica

Algunas bacterias son capaces de realizar su metabolismo respiratorio en condiciones completamente anaeróbicas, utilizando nitrato, sulfato o carbonato como aceptor inorgánico terminal de electrones.

▪ Utilización de nitrato como aceptor final de electrones.

Algunas bacterias tienen las enzimas necesarias para poder utilizar el nitrato (NO₃⁻) como aceptor final de electrones en caso de anaerobiosis (falta de O₂). Este proceso es siempre un modo alternativo de metabolismo respiratorio productor de energía para crecer en ausencia de O₂. La oxidación de sustratos orgánicos es completa, siendo el CO₂ el único producto final oxidado.

Estas bacterias reducen el NO₃⁻ pudiendo llevarlo a N₂. Este fenómeno se denomina desnitrificación.

La transferencia de los electrones a los NO₃⁻ y NO₂⁻ se hace a nivel del citocromo b, lo que implica una ganancia de ATP de un número menor por cada NADH₂ que se oxida en la cadena electrónica. Por consiguiente el rendimiento energético es intermedio entre la fermentación y la respiración (16 ATP por mol de glucosa).

▪ Utilización de sulfatos y carbonatos como aceptores de electrones

La facultad de utilizar sulfatos o carbonatos como aceptores de electrones es una facultad restringida a pocos géneros de bacterias. Todas son anaeróbicas estrictas y no es un modo alternativo de metabolismo.

NUTRICIÓN

Para el catabolismo y anabolismo, los microorganismos deben tomar del ambiente las sustancias para crecer y generar energía. A estas sustancias se las llama nutrientes.

Algunos nutrientes son empleados como bloques en la construcción de los constituyentes celulares, mientras que otros sirven como fuente de energía.

Los microorganismos toman esos nutrientes del lugar donde se desarrollan, p. ej.: el suelo, la leche, un animal, una planta, etc.

Cuando queremos hacer crecer un microorganismo o grupo de microorganismos en laboratorio, hacemos un "cultivo" de estos microorganismos en condiciones artificiales. (Para su crecimiento se usan medios de cultivo: conjunto de sustancias nutritivas y condiciones determinadas que permiten el crecimiento y multiplicación de un microorganismo o grupo de microorganismos.)

Los medios de cultivo deben contener los nutrientes necesarios para el crecimiento del o los microorganismos para el cual fue creado. Los microorganismos son muy diversos en cuanto a sus requerimientos nutritivos.

Para construir un medio de cultivo para un organismo o grupo dado, deben conocerse las necesidades nutritivas de los mismos. Las células microbianas tienen entre un 80 % a 90 % de su peso en agua, por lo que éste es un nutriente principal. El peso seco restante contiene una serie de elementos en diversas proporciones, de los cuales los principales son: H, O, C, N, P y S. Tabla 2.

También se requiere una cantidad mucho menor de K, Mg, Ca, Fe, Mn, Co, Cu, Mo y Zn. En la siguiente tabla vemos qué función cumple cada uno de los constituyentes celulares. Algunos de estos elementos (Mn, Co, Cu, Zn, Mo) se los requiere en pequeñísimas cantidades y se los denomina elementos traza o micronutrientes.

Tabla 2. Funciones fisiológicas de los principales elementos

Elemento	Funciones Fisiológicas
Hidrógeno	Constituyente del agua celular, materiales orgánicos celulares
Oxígeno	Constituyente del agua celular, de materiales orgánicos celulares; como O ₂ , aceptor de electrones en la respiración de los aerobios
Carbono	Constituyente de materiales celulares orgánicos
Nitrógeno	Constituyente de proteínas, ácidos nucleicos, coenzimas
Azufre	Constituyente de proteínas (en los aminoácidos cisteína y metionina); de algunas coenzimas (por ejemplo; Co A cocarboxilasa)
Fósforo	Constituyente de ácidos nucleicos, fosfolípidos, coenzimas
Potasio	Uno de los principales cationes inorgánicos de las células, cofactor de algunas enzimas
Magnesio	Importante catión celular; cofactor inorgánico en muchas reacciones enzimáticas, incluyendo aquellas que requieren ATP; funciona uniendo enzimas a los substratos; constituyente de la clorofila
Manganeso	Cofactor inorgánico de varias enzimas, a veces reemplaza al Mg
Calcio	Importante catión celular; cofactor de algunas enzimas (por ejemplo proteinasas)
Hierro	Constituyente de citocromos y otras hemo proteínas; cofactor de un cierto número de enzimas
Cobalto	Constituyente de la vitamina B ₁₂ y de sus coenzimas derivadas
Cobre, Zinc, Molibdeno	Constituyentes inorgánicos de enzimas especiales

Los microorganismos difieren en la forma química en la que debe proporcionarse los siguientes elementos: C, N, S y O.

Requerimientos de C

Existen microorganismos que pueden utilizar el C en forma de CO_2 . Estos microorganismos son los microorganismos fotosintéticos o los que utilizan energía a partir de la oxidación de compuestos inorgánicos como p. ej., NH_3 . La energía necesaria para reducir el CO_2 a C de compuestos celulares deriva de la energía lumínica o de la oxidación.

Los otros microorganismos obtienen el C de compuestos orgánicos y además estos aportan la energía necesaria para el metabolismo celular.

Los microorganismos difieren tanto en número como en la clase de compuestos orgánicos que pueden usar como fuente principal de energía.

Por ej., ciertas bacterias del género *Pseudomonas* pueden usar cualquiera de 90 compuestos orgánicos como única fuente de C y energía. En el otro extremo están ciertas bacterias que descomponen celulosa que sólo pueden emplear este compuesto como fuente de C y energía.

Requerimientos de N y S

Como vimos estos son constituyentes de compuestos orgánicos celulares.

Muchos microorganismos pueden utilizarlos de los compuestos inorgánicos oxidados: NO_3^- ; SO_4^{2-} ; y deben reducirlos antes de incorporarlos a los materiales celulares.

Otros microorganismos no pueden producir estas reducciones y deben ser incorporados en forma reducida. Por ej., algunos microorganismos utilizan sales de amonio.

En cuanto a los compuestos reducidos del S, pueden tomarlo como sulfuro (S^{2-}) o como un compuesto orgánico (cisteína) que lo contiene como grupo sulfidrido ($-\text{SH}$).

Frecuentemente se les puede suministrar a los microorganismos estos elementos en combinación orgánica (aminoácidos, peptonas), cumpliendo también con el aporte de C y energía.

Varios grupos procarióticos pueden utilizar N_2 . Este proceso se denomina fijación de N_2 , y para ello los microorganismos poseen una enzima: la Nitrogenasa, que cataliza la reacción de reducción de N_2 a NH_3 .

Este NH_3 es luego incorporado al material celular. Entre estos microorganismos encontramos organismos que viven libres en el suelo como *Azotobacter sp*, *Derxia sp*, *Beijerickia sp*, *Clostridium pasteurianum*, etc; y otros que se asocian a plantas, como la conocida asociación entre Leguminosas y bacterias de los géneros *Rhizobium sp* y *Bradyrhizobium sp*.

Factores de crecimiento

A menudo algunos microorganismos requieren de algún compuesto orgánico que no pueden sintetizar a partir de fuentes de C más sencillas. Estos compuestos deben ser entonces suministrados como nutrientes. Son llamados factores de crecimiento. Pueden ser:

Aminoácidos: para constituir proteínas

Purinas y Pirimidinas: Para constituir ácidos nucleicos

Vitaminas: Para compuestos orgánicos que forman enzimas

Estos son requeridos en muy pequeñas cantidades y a menudo en los medios de cultivo se agregan al incorporar extracto de levadura.

Funciones del O en la nutrición

El O es un componente celular y es proporcionado por el H₂O en gran cantidad. Sin embargo muchos microorganismos necesitan O₂ para poder vivir. Estos microorganismos dependen de la respiración aeróbica para sus requerimientos energéticos y ocupan el O₂ como aceptor terminal de electrones.

Estos organismos son los aerobios estrictos (*Mycobacterium tuberculosis*). Otros organismos son inhibidos en su desarrollo por acción del O₂ y a estos se los llama anaerobios estrictos (*Clostridium*, *Propionibacterium*).

Otros microorganismos son capaces de crecer tanto en presencia como en ausencia de O₂. Estos son anaerobios facultativos, que a su vez pueden ser de dos tipos:

-aquellos que tienen un tipo productor de energía exclusivamente fermentativo, pero no es afectado por la presencia de O₂. (Alguna bibliografía la denomina anaerobios aerotolerantes, y son la bacterias del ácido láctico).

-otros pueden pasar de un metabolismo respiratorio (en presencia de O₂) a uno de tipo fermentativo (cuando no tienen O₂) o de respiración anaeróbica. Ejemplo de esto son las bacterias Coliformes: *Escherichia coli*, *Aerobacter aerógenes*, *Klebsiella sp*, etc. Otros: *Pseudomonas sp*, *Bacillus sp*, *Alcaligenes sp*.

Por otra parte están los microorganismos microaerófilicos, que son aquellos que poseen enzimas que se inactivan en condiciones de alta disponibilidad de O₂, y sólo pueden actuar con bajas presiones de este elemento. *Azospirillum sp* es un ejemplo de microorganismo microaerófilico, ya que tiene la capacidad de fijar N₂ (por poseer la enzima Nitrogenasa) sólo cuando está en un ambiente con baja tensión de O₂.

Categorías nutricionales

Una forma sencilla de clasificar los organismos se basa en la naturaleza de la fuente de energía y fuente principal de C.

Con respecto a la fuente de energía:

- fotótrofos: capaces de usar la luz como fuente de energía.
- quimiótrofos: usan una fuente de energía química.

Según la fuente de C:

- autótrofos: utilizan CO₂.
- heterótrofos: utilizan una fuente orgánica de C.

Las categorías nutricionales según estos criterios quedan organizadas así:

* fotoautótrofos: incluye algunos microorganismos fotosintéticos (vegetales superiores); dentro de los cuales tenemos algas, bacterias fotosintéticas (Cianobacterias).

* fotoheterótrofos: incluye algunas de las bacterias rojas y verdes (son fotosintéticas pero no productoras de O₂ y al H lo obtienen de compuestos de SH₂ o de H₂). No ocupan CO₂ sino compuestos orgánicos.

* quimioautótrofos: oxidan compuestos inorgánicos (NH₃ , NO₂ , H₂, SH₂ , etc.) Por ej., las bacterias nitrificantes que transforman el NH₃ a NO₂⁻ y luego a NO₃⁻. En esta reacción se libera energía , que la bacteria utiliza para captar el CO₂ como fuente carbonada.

Dentro de bacterias nitrificantes tenemos: *Nitrosomonas europea*, *Nitrobacter winogradsky*.

*quimioheterótrofos: en estos tanto la energía como el C pueden obtenerse del metabolismo de un mismo sustrato orgánico.

Por ej., glucosa que aporta energía (ATP) y los esqueletos carbonados a partir de los intermediarios del ciclo de Krebs. Tabla 3.

Tabla 3. Clasificación de los microorganismos en base a sus categorías nutricionales.

		REQUERIMIENTOS DE ENERGÍA	
		FOTÓTROFOS Utilizan la energía luminosa	QUIMIÓTROFOS Utilizan energía química
REQUERIMIENTO DE CARBONO	AUTÓTROFOS Utilizan C inorgánico	FOTOAUTÓTROFOS cianobacterias	QUIMIOAUTÓTROFOS bacterias nitrificantes
	HETERÓTROFOS Usan C orgánico	FOTOHETERÓTROFOS Bacterias verdes y rojas	QUIMIOHETERÓTROFOS la mayoría de las bacterias (simbiontes, parásitas, saprófitas)

BIBLIOGRAFÍA SUGERIDA

- ✓ BROCK, T. & MADIGAN, M. *Microbiología*. 6º Ed. México. Prentice Hall Hispanoamericana S.A. 1993. 956 pag.
- ✓ PAUSTIAN, T. <http://www.bact.wisc.edu/microtextbook/Metabolism>. 2000
- ✓ STANIER, R.; ADELBERG, E. INGRAHAM, J. *Microbiología*. (The microbial world. Fourth Edition). Barcelona. Editorial Reverté. 1986.