



Microbiología

Licenciatura en Nutrición

Segundo Cuatrimestre

Enero- abril

Marco Estratégico de Referencia

Antecedentes históricos

Nuestra Universidad tiene sus antecedentes de formación en el año de 1978 con el inicio de actividades de la normal de educadoras “Edgar Robledo Santiago”, que en su momento marcó un nuevo rumbo para la educación de Comitán y del estado de Chiapas. Nuestra escuela fue fundada por el Profesor Manuel Albores Salazar con la idea de traer educación a Comitán, ya que esto representaba una forma de apoyar a muchas familias de la región para que siguieran estudiando.

En el año 1984 inicia actividades el CBTiS Moctezuma Ilhuicamina, que fue el primer bachillerato tecnológico particular del estado de Chiapas, manteniendo con esto la visión en grande de traer educación a nuestro municipio, esta institución fue creada para que la gente que trabajaba por la mañana tuviera la opción de estudiar por las tardes.

La Maestra Martha Ruth Alcázar Mellanes es la madre de los tres integrantes de la familia Albores Alcázar que se fueron integrando poco a poco a la escuela formada por su padre, el Profesor Manuel Albores Salazar; Víctor Manuel Albores Alcázar en julio de 1996 como chofer de transporte escolar, Karla Fabiola Albores Alcázar se integró en la docencia en 1998, Martha Patricia Albores Alcázar en el departamento de cobranza en 1999.

En el año 2002, Víctor Manuel Albores Alcázar formó el Grupo Educativo Albores Alcázar S.C. para darle un nuevo rumbo y sentido empresarial al negocio familiar y en el año 2004 funda la Universidad Del Sureste.

La formación de nuestra Universidad se da principalmente porque en Comitán y en toda la región no existía una verdadera oferta educativa, por lo que se veía urgente la creación de una institución de educación superior, pero que estuviera a la altura de las exigencias de los

jóvenes que tenían intención de seguir estudiando o de los profesionistas para seguir preparándose a través de estudios de posgrado.

Nuestra universidad inició sus actividades el 19 de agosto del 2004 en las instalaciones de la 4ª avenida oriente sur no. 24, con la licenciatura en puericultura, contando con dos grupos de cuarenta alumnos cada uno. En el año 2005 nos trasladamos a las instalaciones de carretera Comitán – Tzimol km. 57 donde actualmente se encuentra el campus Comitán y el corporativo UDS, este último, es el encargado de estandarizar y controlar todos los procesos operativos y educativos de los diferentes campus, así como de crear los diferentes planes estratégicos de expansión de la marca.

Misión

Satisfacer la necesidad de educación que promueva el espíritu emprendedor, basados en Altos Estándares de calidad Académica, que propicie el desarrollo de estudiantes, profesores, colaboradores y la sociedad.

Visión

Ser la mejor Universidad en cada región de influencia, generando crecimiento sostenible y ofertas académicas innovadoras con pertinencia para la sociedad.

Valores

- Disciplina
- Honestidad
- Equidad
- Libertad

Escudo



El escudo del Grupo Educativo Albores Alcázar S.C. está constituido por tres líneas curvas que nacen de izquierda a derecha formando los escalones al éxito. En la parte superior está situado un cuadro motivo de la abstracción de la forma de un libro abierto.

Eslogan

“Pasión por Educar”

Balam



Es nuestra mascota, su nombre proviene de la lengua maya cuyo significado es jaguar. Su piel es negra y se distingue por ser líder, trabaja en equipo y obtiene lo que desea. El ímpetu, extremo valor y fortaleza son los rasgos que distinguen a los integrantes de la comunidad UDS.

Modelo educativo

Microbiología

Objetivo de la materia:

1. Introducir al alumno al conocimiento de la diversidad de microorganismos existentes en la naturaleza, cómo han evolucionado y cómo se han adaptado.
2. Comprender su importancia para el hombre y la naturaleza.
3. Identificar los diferentes microorganismos y comprender su taxonomía y clasificación.

Unidad I

Historia de la microbiología

1.1 Concepto de generación espontánea.

Es sorprendente el impacto que causó sobre occidente la idea creada por Aristóteles sobre la generación espontánea, aunque hoy nos parezca absurda fue tomada en tiempos atrás como única verdad sobre el origen de la vida. Esta idea permaneció durante mil años y en ese lapso sufrió grandes cambios, sobre todo los hechos por la Iglesia, gracias a santo Tomás de Aquino (cuyas ideas aún permanecen vigentes), pero no fue sino hasta después de la creación del microscopio cuando la idea de la generación espontánea fue refutada por completo, los experimentos de Francisco Redi, Lazzaro Spallanzani, Luis Pasteur y John Tyndall dieron paso a la desaparición paulatina de la errónea creencia sobre el origen de la vida. El proceso de la extinción de la generación espontánea inicia con Francisco Redi (1626-1698) cuyos experimentos abren puerta al largo camino que significó un lucha político-religiosa e intelectual. Su inconformidad con las creencias establecidas lo llevaron a poner a prueba la veracidad de las mismas, por lo que ideó un experimento sencillo pero magistral, con el cual pudo comprobar su hipótesis. Redi colocó en varios frascos un trozo de carne; selló la mitad, después de una minuciosa esterilización y dejó abiertos la otra mitad. Al cabo de varios días descubrió que la mitad de los frascos con el trozo de carne y que no habían sido sellados tenían en su interior larvas de moscas deslizándose sobre la carne, en contraste con los otros frascos que a pesar de haberse podrido lo que contenían en el interior, no presentaban larva

alguna. Redi realizó otro experimento creyendo que el aire podría ser el culpable de la aparición de las larvas, por lo que haciendo algo similar que en la ocasión pasada, pero con el único detalle de que esta vez no selló los frascos herméticamente, sino que colocó una gasa que impidiera el paso de todo organismo (moscas) pero no el del aire, esperó para ver que sucedía, encontrándose días después con los mismos resultados que el experimento anterior. Estos sencillos resultados pusieron la piedra inicial que marcó el principio de la biogénesis. Aunque los descubrimientos de Redi sacudieron por completo todas las creencias sobre el origen de la vida, la generación espontánea resultó ser más resistente de lo pensado, esto gracias a los agregados del biólogo inglés John Needham, los cuales hablan sobre fuerzas vitales que animan la materia inerte. Muy a pesar de los descubrimientos de Lázaro Spallanzani la generación espontánea no se vio enterrada sino hasta la llegada de Luis Pasteur y su pasteurización.

Pasteur descubrió que el aire contenía organismos invisibles que eran los culpables de la descomposición de los alimentos, utilizó un matraz de cuello de cisne (matraz Pasteur) con el cual aseguró un libre flujo de aire dentro del matraz, pero no un libre flujo de los microorganismos que éste transportaba, quedando atrapados en un filtro dentro de la “u” del cuello, con este método aseguró que los alimentos perduraran durante tiempos largos sin echarse a perder. Gracias a esto y a los descubrimientos de Lázaro Spallanzani, la generación espontánea quedó bajo tierra, pero fue John Tyndall quien colocó el epitafio. John Tyndall estudió física y se interesó mucho en los fenómenos de la luz, con la que pudo estudiar las partículas suspendidas en el aire y que fueron llamadas tiempo atrás por Ferdinand Cohen “bacterias”. Tyndall descubrió que estas partículas desviaban la luz y se dio cuenta de que el proceso de putrefacción estaba estrechamente relacionado con la presencia de estas partículas suspendidas. Con esto se ha visto de manera somera la trayectoria que siguió la idea de la generación espontánea desde sus inicios hasta su desaparición total (hablando con hiperbolismo, pues aun hoy en día quedan secuelas de su paso por nuestra cultura) en la que se involucraron fuertemente Redi, Spallanzani, Pasteur y Tyndall. Creo que aunque en este trabajo no se habló con decencia sobre Spallanzani, es de menester decir que sus investigaciones junto con las de Redi, son el mazo que destruyó casi por completo la creencia de la generación espontánea.

1.2 Descubrimiento de los microorganismos.

Los microorganismos o microbios son organismos de pequeño tamaño, observables únicamente con la ayuda del microscopio. La Microbiología es la rama de la Biología que se encarga del estudio de los microorganismos.

Cuando aún el hombre no había alcanzado el desarrollo técnico suficiente para poder observar y estudiar los microorganismos y considerarlos como causa de las enfermedades infecciosas, relacionó estas con un origen místico o religioso. No faltaron, sin embargo, quienes no aceptaron estas ideas y emitieron pareceres que llevaron al inicio del pensamiento científico en la medicina y al concepto de la infección.

Aunque en el Papiro de Ebers (1600 a.n.e.) se describe la tenia (*Taenia saginata*) y se prescribe la infusión de corteza de raíz de granado para su tratamiento, y los hebreos en época de Moisés (¿1725-1605 a.n.e.?) conocían los áscaris y oxiuros como agentes vivos capaces de enfermar al hombre, corresponde a Hipócrates de Kos (460-370 a.n.e.) y a Galeno de Pérgamo (129-200), con sus escuelas, dar inicio al conocimiento de la teoría microbiana del origen de las enfermedades infecciosas al concebir y desarrollar la hipótesis miasmática, en la cual enunciaban que: “los miasmas que en forma gaseosa debían formar parte del aire, al ser respirados, eran los responsables de enfermedades y epidemias”. Y en trabajos de estos dos sabios como en los de Marco Terencio Varrón (116-27 a.n.e.), Lucrecio Caro (95-55 a.n.e.) y Plinio el Viejo (23-79), quedó enunciada también la forma más primitiva de la hipótesis de la naturaleza viva o *contagium vivum* de las enfermedades infecciosas.

Avicena Ibn Sina (980-1037) fue más explícito en sus ideas y llegó a considerar que la causa de la aparición de las enfermedades contagiosas la constituían diminutos seres vivos, invisibles a simple vista, y que se transmitían por medio del agua y del aire. Pero estas ideas no llegaron a tomar forma más orgánica hasta que al calor de algunas observaciones aisladas, pero evidentes, de transmisión directa de enfermedades, Girolamo Fracastoro (1478-1553), en 1546, enuncia la posibilidad de que las enfermedades fueran transmitidas por partículas demasiado pequeñas para ser vistas y escribe todo un libro, *De contagione et contagiosis morbis...* (1546), para exponer su concepto de *contagium vivum*.

Con el desarrollo de la física, la química y la medicina en la época del Renacimiento y durante el período de la Revolución Industrial de los siglos XVI a XVIII, en Europa se acumularon observaciones y resultados de investigaciones científicas, acerca de la esencia de las enfermedades infecciosas. A comienzos del siglo XVII, gracias a los progresos de la óptica, los investigadores pudieron descubrir el mundo misterioso de los organismos más pequeños, desconocido hasta entonces.

En 1590 dos constructores holandeses de gafas, Hans Janssen (+1619) y su hijo Zacharias (finales del siglo XVI y principios del XVII), construyeron un aparato con lentes de aumento que permitían ver los más pequeños objetos. En 1609 Galileo Galilei (1564-1642) construyó el primer microscopio simple. De 1617 a 1619, apareció ya un microscopio de dos lentes con un solo objetivo convexo y un ocular, cuyo autor, según se supone, fue el físico Cornelio Drebbel (1572-1634).

Al usar una variante de estos microscopios Athanasius Kircher (1602-1680), sacerdote jesuita alemán, vio lo que él llamó “mínima animácula” (animalia minuta) en la tierra y en el agua, y en 1668 creyó incluso haber encontrado “gusanos” en la sangre de febricitantes. Aunque su descripción no es muy convincente, lo importante es que Kircher puso el microscopio al servicio de las investigaciones diagnósticas y sus trabajos para descubrir un contagium animatum lo colocan entre los iniciadores de la microbiología. Pero el primero que vio y describió los microbios fue el investigador holandés Antonj Van Leewenhoek (1632-1723), el cual por sí mismo preparó sencillas lentes que daban aumento hasta de 160 a 300 veces. Este autor no sólo descubrió, indiscutiblemente, los microbios, sino que los dibujó con minuciosidad.

Los descubrimientos de Leewenhoek despertaron vivísimo interés en muchos hombres de ciencias y sirvieron de estímulo para el estudio del mundo microscópico, aunque, a pesar de ello, durante largo tiempo no pudieron aplicar los resultados de esas admirables investigaciones para explicar las causas de las enfermedades infecciosas. No obstante, desde el inicio de la microbiología se hicieron intentos para vincularla a la resolución de las tareas prácticas de la lucha contra las epidemias. Son de resaltar en este sentido las ideas de Marco

A. von Plenciz (1705-1786), médico vienés, que en 1762 emitió su opinión de que: las enfermedades infecciosas eran producidas por microorganismos; estos eran agentes vivos; que se reproducían en el organismo que atacaban; cada enfermedad tenía su propio germen y que este podía ser llevado de un sitio a otro por el aire y por las secreciones de los atacados. Aunque nada de esto pudo ser demostrado por el autor, la mayoría de sus conclusiones han resistido el tiempo, y hoy se consideran como hechos ya probados. También observó la presencia de “animálculos” en la harina para la preparación del pan, y los consideró como causantes de la fermentación.

Con el transcurso del tiempo el hombre mejoró su conocimiento sobre el origen de las enfermedades infecciosas. Cada vez eran menos los que aceptaban la concepción de base puramente mística de la generación espontánea y a la puramente miasmática de la infección sobre su propia fuente: el aire, suelo o agua, agregó el contacto directo de hombre a hombre o contagionismo y por contraposición a esta idea, al quedar sin explicación muchas enfermedades, había surgido el anticontagionismo.

La larga disputa entre contagionistas, miasmático-contagionistas y anticontagionistas por explicar la historia natural de todas las enfermedades infecciosas, fue resuelta, definitivamente, muchos años después, por nuestro genial Carlos J. Finlay (1833-1915) al descubrir la transmisión metaxénica, teoría del vector biológico; o sea, la necesidad de tres factores vivientes (hospedero, parásito y vector) para el completo ciclo de existencia del agente causal.

Con el desarrollo del capitalismo industrial, que determinó un intenso crecimiento de las ciencias naturales y técnicas, los estudios sobre microbiología entraron en la vía de un rápido auge. Ya en la primera mitad del siglo XIX fueron descubiertos algunos microorganismos agentes de enfermedades infecciosas y en la segunda mitad de ese siglo se fabricaron microscopios más perfectos que mejoraron considerablemente la técnica de su empleo. En el estudio de los microorganismos se comenzó a prestar atención, sobre todo, a los procesos bioquímicos, y se llegó a probar la capacidad de los mismos de fermentar sustancias orgánicas.

Al genial investigador francés Louis Pasteur (1822-1895) van asociados tan importantes descubrimientos de esa época en el campo de la microbiología, que Ferdinand Cohn (1828-1898) dividió la historia de esta ciencia, tomándolo como centro a él, en tres grandes períodos: el primero, que comprendería desde Kircher hasta 1860 en que se inician los grandes descubrimientos de Pasteur, al que califica como período de especulación o prepasteuriano; el segundo, de 1860 a 1880, en el cual se sientan las bases de los descubrimientos basales o pasteurianos; y el tercero, de 1881 a nuestros días, que se caracteriza por los rápidos y sorprendentes descubrimientos o período postpasteuriano. Pasteur confirmó brillantemente las predicciones del físico y filósofo del siglo XVII Robert Boyle (1627-1691), de que la naturaleza de las enfermedades infecciosas la comprendería quien explicase la naturaleza de la fermentación; echó por tierra definitivamente con sus experimentos la hipótesis de la generación espontánea y colocó en su lugar, mejorándola, la teoría microbiana.

Pero fue Gustav Henle (1809-1885) quien señaló por primera vez las pautas para considerar que un germen era la causa de una enfermedad determinada. Su argumento consistió en que para poder probar la relación existente entre un microorganismo y una entidad nosológica, es necesario que aquel se encuentre siempre presente en ella, poderlo aislar y comprobar posteriormente, inoculándolo a los animales, los efectos del mismo.

Los perfeccionamientos técnicos introducidos por el sabio y genial Robert Koch (1843- -1910) y sus colaboradores, tales como los medios de cultivos sólidos, los colorantes de anilina, importantes mejoras del microscopio y otros, permitieron a este, corroborando las ideas de Henle, emitir en 1882 sus famosos postulados, que son los siguientes:

1. El microorganismo debe estar presente, en abundancia, en los tejidos, sangre o excretas del animal que sufre la enfermedad.
2. Debe ser aislado y estudiado en cultivo puro.
3. Debe ser capaz de reproducir la misma enfermedad cuando es inoculado a animales sanos.
4. Debe ser encontrado, también en abundancia, en los animales así inoculados experimentalmente.

Aunque los postulados de Koch, derivados de las ideas de Henle, no son siempre totalmente

exactos y un nuevo concepto de la enfermedad infecciosa existe hoy en la medicina, ellos hicieron avanzar extraordinariamente la microbiología médica al extremo que, en las dos últimas décadas del siglo XIX, se describieron casi todos los microorganismos bacterianos principales causantes de enfermedades infecciosas

I.3 Estructura celular e historia evolutiva.

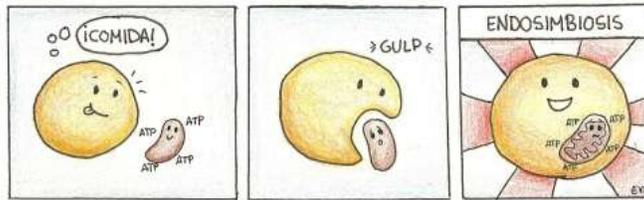
Una de las características de los seres vivos es su organización. Si la química prebiótica nos da pistas sobre la manera en que pudieron surgir las **primeras biomoléculas**, el siguiente paso sería la organización de las mismas en una estructura precursora de las células. Era, por tanto, necesario el **desarrollo de una membrana externa**. De esta manera, las proteínas que se sintetizasen por una hipotética molécula de ARN (gracias a primitivas rutas metabólicas) estarían retenidas y disponibles sólo para el ARN que las había sintetizado.

Estas **primeras estructuras “celulares”** debieron ser tremendamente sencillas y pequeñas. En algún momento del proceso evolutivo se produjo la **aparición del ADN**, que desplazaría al ARN en la función de almacenar la información para la síntesis de proteínas. Las primeras células eran **procariotas** y, al parecer, **heterótrofos**: obtenían la energía necesaria de los compuestos orgánicos disponibles, mediante rutas metabólicas anaróbicas (sin oxígeno).

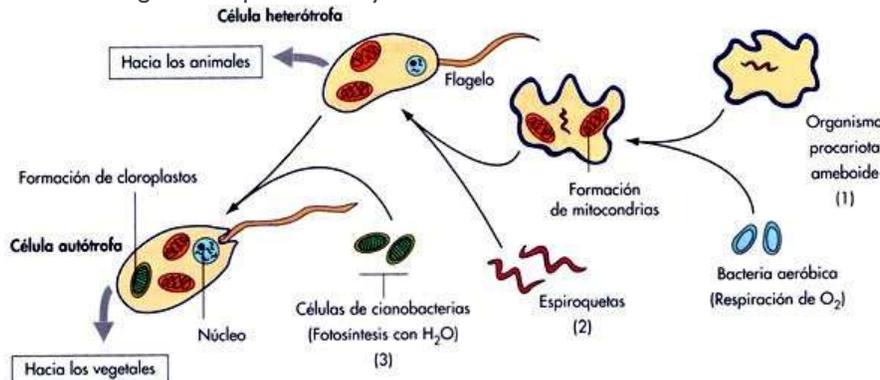
Con el tiempo, o quizá al mismo tiempo, surgieron las primeras **células autótrofas** que, en un principio, se servían del hidrógeno y el sulfuro de hidrógeno, muy abundantes en la atmósfera. Cuando comenzaron a escasear estos compuestos, los **antepasados de las cianobacterias** actuales descubrieron cómo utilizar el agua, prácticamente inagotable, para obtener hidrógeno, por lo que proliferaron con rapidez. El oxígeno que liberaban en su metabolismo fue acumulándose en la atmósfera, lo cual resultó letal para la mayoría de las células anaeróbicas. El **aumento de oxígeno en la atmósfera** permitió la formación de ozono, que formó una capa protectora de la radiación ultravioleta, de manera que la síntesis abiótica de productos orgánicos cesó.

La abundancia de oxígeno supuso la aparición de **organismos con metabolismo aeróbico**, energéticamente más eficiente. Las cianobacterias proliferaron, se hicieron más complejas y colonizaron todo el planeta.

Lynn Margulis, en su teoría endosimbiótica, propone que **las células eucariotas evolucionaron por la incorporación de organismos procariontes en su citoplasma.**



Según esta teoría, las mitocondrias, los cloroplastos, los centriolos, los cilios y los flagelos se formaron por una relación simbiótica entre organismos procariontes y la célula eucariota ancestral.



Esta teoría se ve reforzada por los siguientes hechos.

Las mitocondrias y los cloroplastos poseen su propio material genético, formado por un cromosoma circular, y sus propios ribosomas, parecidos a los que aparecen en las células procariontes. Las mitocondrias y los cloroplastos son capaces de realizar la síntesis de proteínas a escala limitada. Las mitocondrias y los cloroplastos pueden ser destruidos por antibióticos que matan bacterias pero no células eucariotas.

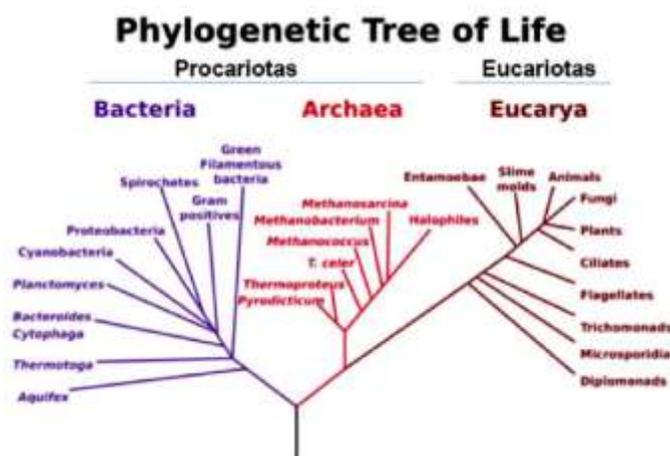
1.4 Diversidad de los microorganismos.

Los microorganismos los podemos clasificar en dos grupos. Por un lado, aquellos formados por células (unicelulares o pluricelulares) que pueden ser procariontes (bacterias y arqueas) o eucariotas (hongos microscópicos, algas microscópicas y protozoos). Por otro lado, distinguimos aquellos que no están formados por células (acelulares) y son parásitos estrictos. En este grupo encontramos virus, viroides y priones.

Los procariontes no tienen núcleo ni membrana nuclear sino un material genético nucleico no envuelto. Los eucariotas, sin embargo, sí tienen núcleo y el material

genético envuelto en una membrana nuclear. Además, poseen una serie de orgánulos celulares como mitocondrias, ribosomas... El primer investigador que incluyó los microorganismos en la clasificación de reinos fue Haeckel, al incluir un nuevo reino que llamado Protista. Este reino incluía a todos los organismos unicelulares. Dentro de este reino estaría incluido un grupo donde se encontrarían bacterias y cianobacterias. Whittaker, en el año 1969, clasifica los organismos en 5 reinos: Monera, Protista, Plantas, Hongos y Animales. Después, cuando se empiezan a desarrollar una serie de herramientas genéticas, Woese, hace una nueva clasificación utilizando métodos de secuenciación genética del rRNA 16s (animales) y 18s (procariotas). Se trata de genes muy conservados. Dentro de los procariotas, distingue unas bacterias que las denomina eubacterias y otras denominadas arqueobacterias. Después estarían los eucariota.

Las arqueas tienen diferencias estructurales y genéticas con las bacterias. Tienen una relación más estrecha con los eucariotas. Por ejemplo, utilizan histonas en el empaquetamiento del DNA. Las arqueas, tienen una serie de características que les hacen crecer en ambientes muy extremos de pH, temperatura, sales... Tienen unas morfologías bastante similares, en algunos casos, a las bacterias, y en otros bastante irregulares. La taxonomía bacteriana, por tanto, es bastante compleja. Ha habido muchos intentos de clasificación



Una especie bacteriana es un grupo de organismos que muestran un elevado grado de similitud global, y que se diferencian considerablemente de otros grupos relacionados con respecto a muchos caracteres fenotípicos y genotípicos. Una cepa es un conjunto de

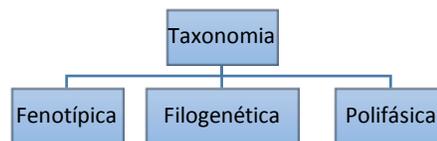
organismos que descienden de un único individuo (=clon). El conjunto de cepas que comparten muchas características estables y difieren significativamente de otras es lo que se denomina especie. Para considerarlas de la misma especie deben tener una hibridación del 70% DNA-DNA y parecido de secuencia en el gen 16s rRNA de al menos el 97%. Los microorganismos se diferencian en la composición de la pared celular. Según esta composición van a ser Gram (-) o Gram (+) (firmicutes y actinobacterias). Esta diferencia en su pared va a definir las distintas formas de tinción para la identificación de los diferentes organismos. Lynn Margulis, en 1980, propuso la teoría de la endosimbiosis para explicar el origen de la mitocondria y los cloroplastos.

1.5 Clasificación, taxonomía.

Es muy habitual que cada vez aparezcan más especies bacterianas. La palabra taxonomía significa la ciencia de la clasificación, con la que pretendemos separar microorganismos en base a ciertas similitudes genéticas o fenotípicas. Hay que entender que la taxonomía es una ciencia artificial que está sometida a los avances tecnológicos y, por tanto, en continuo cambio. Hay tres pilares dentro de esta ciencia: Clasificación: ordenación de los microorganismos según semejanzas o parentescos evolutivos en diferentes grupos o taxones Nomenclatura: pretende asignar un nombre científico en base a ciertas reglas ya establecidas y admitidas internacionalmente Identificación: es la parte más práctica, pues nos permite meter a un microorganismo dentro de un taxón ya establecido.

1.5.1. Tipos de taxonomía

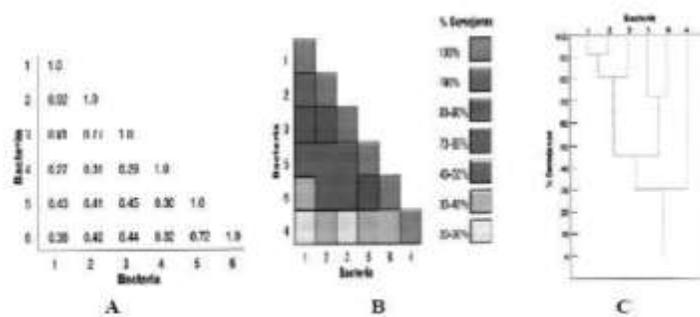
La taxonomía ha ido evolucionando de tal forma que las pautas para clasificar a las bacterias ha cambiado desde la clasificación fenotípica a la filogenética o la polifásica.



1.5.1.1. Taxonomía fenotípica

La fenotípica es la más sencilla pues intentamos clasificar según las semejanzas entre apariencia en el momento actual, sin tener en cuenta la evolución de los mismos. Lo que hacían era tener en cuenta unos pocos caracteres a los que se le daba mucha importancia.

Una vez que se dieron cuenta de los errores de la clasificación según unos pocos Caracteres lo que intentaron es clasificar en cuenta a muchos factores de apariencia, esto era la taxonomía numérica, cuantas más características mejor. Así se conseguían matrices de semejanza o similaridad, se podía decir si dos organismos tenían semejanzas.



Grupos y semejanzas en taxonomía numérica. A, Matriz de semejanza donde se comparan seis cepas bacterianas. El grado de semejanza varía desde 0,0 (ninguna semejanza), hasta 1,0 (identidad total). **B,** Las bacterias se han reorganizado y agrupado para establecer grupos de cepas similares. **C,** Dendrograma que muestra de una manera gráfica el grado de semejanza las seis cepas entre sí.

1.5.1.2. Taxonomía filogenética

La taxonomía filogenética se basa en el establecimiento de relaciones evolutivas más que en semejanzas generales. Realmente hubo otro paso hacia delante, cuando se observó teniendo en cuenta otro tipo de parámetros podíamos obtener más relaciones entre bacterias que fijándonos únicamente en su parecido. El desarrollo de los cronómetros evolutivos nos permitió dar un gran paso de esta ciencia; pues nos permite ver el parecido evolutivo en función de las secuencias de los nucleótidos. El número de diferencias que nosotros vamos a ver va a ser proporcional al número de cambios en las mutaciones fijas que están presentes en la secuencia del gen que codifica estos marcadores.

Por hablar de mutaciones nos metemos ya en el concepto de evolución.

Para considerar una molécula como cronómetro evolutivo deben ser:

- Moléculas que aparecen de forma universal (moléculas conservadas, si en algún momento una bacteria perdiese o le quedase inhabilitada este gen moriría), han de
- Tener la misma función

- Sus secuencias deben permitir la identificación de regiones de homología y heterogeneidad
- Poder alinearse para determinar homologías y variaciones.
- La tasa de cambio es lo que nos permite identificar la distancia evolutiva.

La siguiente pregunta que nos planteamos es *qué cronómetros podemos utilizar* para estudiar estos parentescos evolutivos.

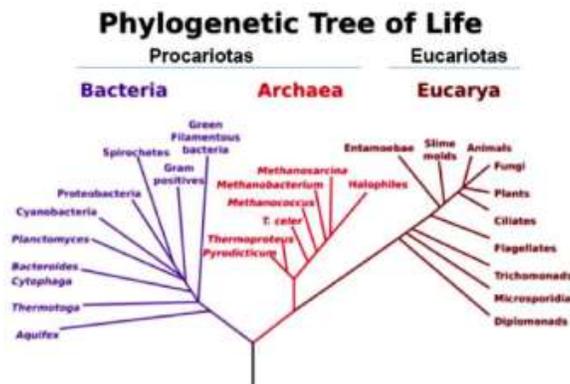
- El más habitual es el gen que codifica para el 16S ARNr
- Cada vez es más habitual que se utilicen los genes housekeeping.
- Proteínas del shock térmico
- ATPasa
- Citocromos
- recA; sodA; rpoB; cpn60

A nivel de 16S existen 16 zonas hipervariables, para saber si se trata de la misma bacteria o no. Lo que se suele hacer es comparar los nucleótidos de la región v1, y dependiendo de su nivel de parentesco se puede deducir si son de la misma especie o no. Esto no nos permite decir cuál viene primero.

La *evolución* de estos *cronómetros evolutivos* ha permitido aumentar de forma extraordinaria las bases de las secuencias de nuevas bacterias (cada vez hay más nuevas bacterias y más clasificaciones).

La utilización de estos cronómetros nos permitió clasificar los organismos en el árbol de la vida o filogenético; que se puede ir acotando y acercándose

Cuanto más alejadas estén las especies entre sí más diferencias de nucleótidos habrá en sus bases.



Tenemos que hacer estas clasificaciones basándonos en más de un algoritmo, y la topología ha de ser estable; para esto tenemos que correr los arboles muchas veces, el algoritmo ha de ser corrido mil veces para saber que esta topología es estable.

1.5.1.3. Taxonomía polifásica

Estas relaciones no tendrían nada que ver con el árbol que me surgiría de establecer las relaciones fenotípicas. Así se tiene que llegar a un consenso, por ello

nació la taxonomía polifásica, intenta armonizar las clasificaciones fenotípicas y filogenéticas mediante el análisis conjunto e integración del mayor número posible de características fenotípicas, quimiotaxonómicas, genéticas y filogenéticas utilizadas en taxonomía bacteriana. Esta unión será la que nos permita clasificar a las bacterias. No todas las técnicas se utilizan con las mismas bacterias. Una de estas características es el estudio de los ácidos grasos (FAME) mediante cromatografía de gases,

El perfil de ácidos grasos es particular de cada especie bacteriana: dos bacterias de la misma especie van a presentar el mismo porcentaje de ácidos grasos. Siempre hay que decir cómo se realiza la técnica, pues la forma en la que se cultivan las bacterias hace que varíe la proporción de ácidos grasos, por lo que muchas veces hay que estandarizar las cifras. En ocasiones es imposible realizar esta técnica con algunos organismos. Otra de las técnicas es el contenido de guanina y citosinas que existe en un cromosoma bacteriano:

Se estudia el porcentaje de guaninas y citosinas en el DNA genómico. Los valores de este porcentaje oscila entre 20-80% en Bacteria y Archaea. El DNA con mayor porcentaje de G+C se desnatura a mayor temperatura, por esto, la temperatura de desnaturación del ADN es proporcional al contenido de G+C Si 2 organismos difieren en más del 5% de G+C, entonces no estarían estrechamente relacionados. Sin embargo, 2 organismos con igual contenido G+C pueden ser muy distintos La hibridación ADN ADN te dice si una bacteria es igual a otra o no:

Comparación de secuencias de DNA. Dos DNA se hibridan en proporción su similitud.

El grado de similitud de las dos hebras podrá determinar si los organismos estrechamente relacionados. Útil en organismos muy cercanos. Este criterio es el actual para definir las especies

Se basa en: Porcentaje de hibridación ADN-ADN

Temperatura de desnaturación del híbrido

1.5.2. Rangos taxonómicos

La especie es la unidad taxonómica básica, y para poder incluir a una bacteria en la misma especie tiene que cumplir las distintas características: Hibridación mayor al 70 por ciento

Diferencias en el ARN 16S han menores al 3,4 por ciento, es decir, tiene que haber aproximadamente un 97% de similitud. Además de la especie podemos vañar otro escalón llegando a las cepas.

1.5.3. Nomenclatura

La nomenclatura es la ciencia que nos permite asignar a los microorganismos un nombre científico concreto y admitido internacionalmente. Para poner un nombre tengo que basarme en una serie de reglas que se recogen en lo que se denomina como nomenclatura binomial:

Nombre género y especie latinizados

Inicial denominación genérica: mayúscula

Género y especie cursiva o itálica, o en su defecto subrayados (*Staphylococcus aureus* o Staphylococcus aureus).

Denominación de especie (ejm *S. aureus*)

No es arbitraria (The Internatinal Code of Nomenclature of Bacteria) Referencia a alguna característica del organismo, tales como su apariencia, procedencia, alguna propiedad característica, el investigador que la descubrió.

1.5.4. Identificación

La identificación es parte de la taxonomía que permite encuadrar un determinado organismo en un grupo taxonómico previamente establecido. Esta es la parte práctica, pues tengo que hacer una serie de pruebas para ver si lo que he descubierto es un nuevo microorganismo o no. Para esto hay que hacer una selección de un número, el menor posible, de caracteres fenotípicos que se puedan determinar fácilmente en el laboratorio.

1.5.5. Tipificación

Para ir un escalón más abajo y clasificar la cepa utilizamos la tipificación. Para esto se utilizan tanto métodos fenotípicos como métodos moleculares: - análisis de proteínas - análisis de ADN

1.5.6. Manuales

Los manuales son los que todo microbiólogo utiliza. Para patentar o incluir un nuevo microorganismo en uno de estos manuales yo tengo que donar mi microorganismo a centros oficiales que van a asegurar que realmente es lo que yo quiero describir evitando que existan fraudes científicos. Además nos permite patentar algo. Dentro de estas colecciones yo puedo hablar de: cepa tipo, cepa neotipo, cepa de referencia...

1.6 La célula procariota.

Las células procariotas carecen de núcleo, por lo cual el ADN (una molécula única y circular) se encuentra en el citoplasma. En dicho espacio se llevan a cabo los procesos de transcripción y traducción. Los ribosomas de las procariotas son más pequeños que los de las células eucariotas.

Muchas procariotas contienen una molécula extra de ADN con información que no es esencial para la vida de la célula, llamada plásmido.

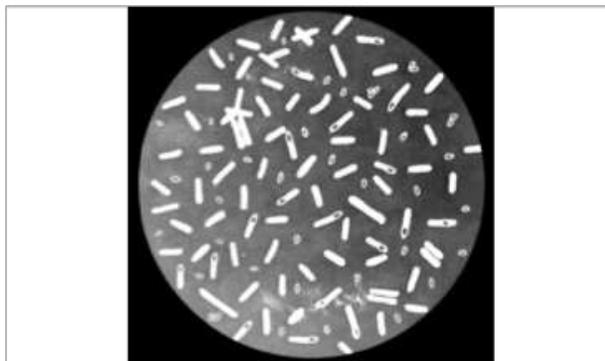
Las células procariotas pueden tener además otras estructuras superficiales o internas. Muchas presentan en su exterior una capa formada por materiales viscosos que no son considerados parte de la pared celular ya que no aportan ninguna resistencia estructural significativa, a esta capa se la llama cápsula.

Las fimbrias y los pelos son estructuras filamentosas que aparecen en el exterior de las células bacterianas. La función principal de las fimbrias es colaborar en la adhesión de los microorganismos a superficies (ej: tejidos humanos que serán colonizados por las bacterias patógenas).

Los pelos o pili son similares a las fimbrias pero típicamente son estructuras más largas y se presentan solo uno o unos pocos sobre la superficie celular. Además de colaborar en los procesos de adhesión, los pelos facilitan el intercambio de material genético entre células procariotas durante el proceso de conjugación.

Como se indicó anteriormente las células procariotas pueden presentar algunas estructuras internas, de estas las que mencionaremos son las llamadas esporas o endosporas. Las esporas son células diferenciadas que resisten de manera muy eficiente las altas temperaturas, agentes químicos agresivos y la radiación. Estas funcionan como estructuras de supervivencia que le otorgan al organismo la capacidad de resistir condiciones muy adversas. Las esporas representan al estado durmiente de un ciclo de vida bacteriano del tipo: célula vegetativa-espora-célula vegetativa. Las esporas son también una estructura ideal de dispersión por el agua, el viento y el intestino de animales.

Las bacterias que habitan el suelo son productoras de esporas (*Bacillus* y *Clostridium*).



Esporas

Figura 2. Las formas tipo bastón oscuras son bacterias. Los puntos blancos, sueltos o dentro de una bacteria son las esporas (imagen original: Center for Disease Control and Prevention / imagen en dominio público).

De manera general, las bacterias se desarrollan en medios hipotónicos y debido a la fragilidad

de la membrana citoplasmática correrían el riesgo de la lisis celular si no fuera por la presencia de una pared celular rígida, siendo, por lo tanto, la protección osmótica, una de sus funciones. Esta pared es también la responsable del mantenimiento de la forma de las bacterias y del comportamiento de las mismas frente a la coloración de Gram.

Desempeña, además, un papel importante en la división celular e interviene en su propia biosíntesis. Diferentes capas de la pared celular son sitios de determinantes antigénicos de la superficie bacteriana. Dado el elevado número de bacterias existentes, se hace necesario clasificarlas de alguna manera. Para realizar una clasificación preliminar se utiliza su tamaño (de 1 a 20 μm o más), forma (esferas, bastoncitos y espirales) y su disposición espacial (células aisladas, en cadenas y formando grupos). Mientras que la clasificación definitiva se refiere a sus propiedades genotípicas.

El organismo humano está habitado por miles de especies bacterianas distintas; mientras algunas mantienen una relación parasitaria temporal, otras habitan en el ser humano de manera permanente. También se encuentran bacterias en el ambiente, como el aire que se respira, el agua que se bebe y los alimentos que se comen; aunque muchas de ellas son relativamente inofensivas, otras son capaces de provocar enfermedades potencialmente mortales. La enfermedad puede deberse a los efectos tóxicos de los productos bacterianos (toxinas) o bien a la invasión de regiones corporales que acostumbran a ser estériles.

Membrana citoplásmica- Esta estructura bacteriana, también conocida como membrana celular, rodea al citoplasma y es, por lo tanto, una barrera entre el exterior y el interior de la célula. Con una espesura de 5-10 nm, su estructura es similar a la que presentan las membranas de todas las células vivas; está constituida por una doble capa de fosfolípidos donde se insertan proteínas y se asocian proteínas periféricas. Las membranas de los procariotas se diferencian de las membranas de las células eucarióticas por la ausencia de esteroides, salvo en los micoplasmas, los cuales los incorporan a sus membranas al crecer en medios ricos en esteroides.

La principal función de la membrana celular es regular el movimiento de material hacia el interior y el exterior de la célula mediante los mecanismos de permeabilidad selectiva, generalmente permeable a moléculas lipófilas e impermeable a moléculas hidrófilas. Por medio del transporte activo de solutos también realiza esta función reguladora. Los sistemas enzimáticos presentes facilitan la difusión pasiva de solutos específicos y a la vez catalizan el transporte activo.

Las invaginaciones de la membrana citoplásmica denominadas mesosomas son estructuras especializadas, de los cuales se describen dos tipos con diversas funciones: los mesosomas de tabique, que funcionan en la formación de paredes transversas durante la división celular; y

los mesosomas laterales, donde los citocromos y otras enzimas de la cadena respiratoria se encuentran concentrados. Se puede señalar, por lo tanto, como función importante de la membrana citoplásmica de los procariotas, el transporte de electrones y la fosforilación oxidativa.

La membrana citoplásmica procariótica lleva a cabo, también, funciones de biosíntesis (síntesis de la pared celular) y de sistemas quimiotácticos. Las zonas de adhesión de las membranas constituyen receptores de los fagos y una vía de entrada de compuestos que la célula bacteriana utilizará en su metabolismo.

Estructuras externas. Cápsula y estructuras análogas

Algunas especies bacterianas son capaces de sintetizar grandes cantidades de polímeros extracelulares, los cuales forman un condensado organizado, en forma de capa bien definida que rodea a la pared celular, nombrado cápsula. Esta estructura es, generalmente, de naturaleza polisacárida, pero puede estar constituida por polipéptidos, como aparece en los *Bacillus anthracis*. Las bacterias capsuladas son a menudo más virulentas para el hombre dadas las propiedades antifagocitarias de las cápsulas, salvo cuando estas están recubiertas de anticuerpos anticapsulares y, además, más protegidas contra la desecación.

Cuando los polímeros forman una maraña de fibras que se extiende fuera de la célula, se denomina glicocálix y tiene un papel importante en la adherencia de la bacteria a otras superficies celulares, incluyendo las células de sus hospederos. Los polímeros pueden presentarse en masas no organizadas, como una estructura difusa de superficie, que aparentemente están separados de las células, pero pueden atraparlas; por lo general son más finos que la cápsula y se les llama “envoltura mucoide” (slime layer). Su función es aún motivo de discusión, pero diferentes autores le atribuyen un mecanismo protector contra la desecación de la célula, que contribuye a acercar nutrientes a esta y algunas veces adhiere las bacterias a otras estructuras que se encuentran en su medio.

Flagelos. Una gran parte de las bacterias conocidas son móviles y en la mayoría de estas, dicha función está dada por la presencia de unos apéndices filiformes, de origen endocelular, que se proyectan hacia el exterior de la célula y se denominan flagelos. Los flagelos bacterianos miden de 12 a 30 nm de diámetro y están constituidos por subunidades proteicas denominadas flagelina que se autoorganizan por asociación y forman la estructura flagelar hueca. El flagelo se inserta en el cuerpo de la bacteria mediante una estructura que presenta un gancho y un cuerpo basal, el cual porta una serie de anillos. En el caso de las bacterias gramnegativas, un par de anillos se localiza en la membrana celular y otro par en la pared celular. Las bacterias grampositivas presentan un anillo en la membrana celular y otro en la pared bacteriana. La disposición de los flagelos en la célula bacteriana tiene un significado taxonómico y se denominan: bacterias monótricas, cuando presentan un solo flagelo polar;

ofótricas, cuando poseen mechones de flagelos polares; y perítricas, cuando la ubicación de los flagelos es alrededor de toda la célula. Algunos autores llaman anfítricas a aquellas bacterias que presentan un flagelo en cada extremidad de la célula.

Se han descrito otros procesos de locomoción bacteriana, entre los que podemos citar: el movimiento de las espiroquetas debido a la contractura de un conjunto de fibras situadas en el periplasma bacteriano y denominado filamento axial. Se han descrito también movimientos originados en las bacterias por la propiedad de la quimiotaxis y de la fototaxis. Existen algunos movimientos bacterianos, no bien esclarecidos, como es el movimiento deslizante que producen las mixobacterias y las cianobacterias en medios de cultivo sólidos.

Pili o fimbrias. Son apéndices rígidos de la superficie bacteriana, más cortos y finos que los flagelos bacterianos. Están constituidos por subunidades proteicas denominadas pilina. Se diferencian dos tipos de pili: el pili sexual, que media en el contacto entre bacterias de “sexos” diferentes, F⁺ y F⁻, y permite, durante el proceso de recombinación genética denominado conjugación, la aproximación de las dos células. El otro tipo de pili (adhesinas) es el que interviene en la adherencia de la célula bacteriana a las células del hospedero, las cuales al reconocer receptores celulares de superficie, facilitan la colonización e infección de las mucosas y epitelios. Actualmente se describen antígenos de superficie situados en los pili de diferentes especies bacterianas.

Estructuras internas. Citoplasma

Debido a que las células procarióticas tienen muy pocas estructuras internas claramente definidas, tales como cromosoma y algunos ribosomas, la mayor parte del contenido celular situado en el interior de la membrana celular está constituido por una sustancia semifluida denominada citoplasma. El citoplasma tiene un alto contenido en agua y diversas sustancias (enzimas, carbohidratos, lípidos, otras proteínas y sustancias inorgánicas) suspendidas en ella. Diferentes reacciones químicas, anabólicas y metabólicas tienen lugar en el citoplasma bacteriano.

Nucleoide. Como ya hemos señalado, una de las características de la célula procariótica es la ausencia de un núcleo verdadero, encontrándose en su lugar el nucleoide o región nuclear, que es la zona de la célula donde se halla el material genético (ADN). Es característica la ausencia de membrana nuclear y de aparato mitótico. La región nuclear está llena de fibrillas de ADN, el cual aparece enroscado alrededor de un centro de ARN que sirve para sostenerlo en su forma compacta. Puede considerarse como un cromosoma único, de aproximadamente 1 mm de longitud cuando está desenrollado.

Algunas bacterias contienen también pequeñas moléculas circulares de ADN, extracromosómicas, denominadas plásmidos.

Ribosomas. Son estructuras compuestas de ácido ribonucleico (ARN) y proteínas, con un diámetro aproximado de 20 nm, muy abundantes y dispersas por el citoplasma celular. Los ribosomas son centros activos para la síntesis de proteínas. A veces aparecen agrupados en largas cadenas y se nombran polirribosomas. Los tamaños relativos de los ribosomas y de sus dos subunidades constitutivas se determinan por sus coeficientes de sedimentación, expresados en términos de unidades Svedberg (S).

Los ribosomas bacterianos, que son menores que los de las células eucarióticas, poseen un coeficiente de 70 S y sus subunidades tienen coeficientes de 50 S y de 30 S. En los organismos fotosintéticos, los pigmentos correspondientes a la fotosíntesis se encuentran en laminillas por debajo de la membrana celular. En algunas bacterias fotosintéticas las laminillas se vuelven contorneadas y se presentan en forma de vesículas o de sistemas de membranas yuxtapuestas, ricas en los pigmentos fotosintéticos y denominados cromatóforos. Con frecuencia, las bacterias almacenan material de reserva en forma de gránulos citoplásmicos, que se depositan como polímeros neutrales y osmóticamente inertes. Entre estas sustancias podemos citar: gránulos de volutina (gránulos metacromáticos), de azufre, de glucógeno y lipídicos. La presencia y la cantidad de estos gránulos varían con el tipo de bacteria y con su actividad metabólica.

Endosporas. Las bacterias pertenecientes a algunos géneros (*Bacillus*, *Clostridium*, *porosarcina*) son capaces de formar endosporas, en respuesta a condiciones desfavorables del medio, tales como: depauperación nutricional, desecación, agentes físicos y químicos con acción antibacteriana, etcétera.

Flora bacteriana comensal y patógena en el ser humano. La microbiología estudia las interacciones que existen entre el hombre y los microorganismos como las bacterias, los virus, los hongos y los parásitos. Aunque su principal interés radica en las enfermedades causadas por estas interacciones, también debe tenerse en cuenta que los microorganismos tienen un rol importante en la supervivencia del ser humano. La población comensal normal de microorganismos participa en el procesamiento de los productos alimentarios, brinda factores esenciales para el crecimiento, protege frente a las infecciones provocadas por gérmenes de alta virulencia y estimula la respuesta inmunitaria. Si estos microorganismos no estuvieran presentes no sería posible la vida tal como la conocemos.

La flora microbiana que se encuentra en el exterior y en el interior del organismo humano depende de diversos factores como edad, dieta, estado hormonal, estado de salud e higiene personal. Así la población de microorganismos experimenta cambios durante toda la vida de un individuo. Como se indicó anteriormente, los cambios en el estado de salud pueden alterar el estado de equilibrio que alcanza la flora microbiana normal de una persona. La hospitalización un paciente puede generar que microorganismos no virulentos de la

orofaringe sean sustituidos por otros capaces de invadir los pulmones y producir neumonía.

Tal es el caso de *Clostridium difficile* que en el tracto digestivo es controlado por las bacterias presentes en el intestino. En presencia de un antibiótico se elimina esta flora microbiana autóctona y *C. difficile* logra proliferar y producir diarrea y colitis.

Por otra parte muchas bacterias son en toda circunstancia patógenas para el ser humano, es decir su presencia en el organismo desencadena una serie de procesos que llevan indefectiblemente al desarrollo de enfermedad.

Clasificación bacteriana

Se puede clasificar a las bacterias según su aspecto macroscópico y microscópico, por los requerimientos para crecer, por su capacidad de despertar la respuesta inmune y por último por su genotipo. Distinción macroscópica y microscópica

Las bacterias crecen en colonias y cada una de ellas equivaldría a una ciudad con un millón o más de organismos. La suma de sus características condiciona los rasgos que definen a una colonia, como su color, tamaño, forma u olor. La capacidad de resistir frente a determinados antibióticos, de fermentar azúcares específicos (ej: la lactosa que permite distinguir *E. coli* de *Salmonella*), de lisar eritrocitos (capacidad hemolítica) o de hidrolizar los lípidos (ej: la lipasa de *Clostridium*) se puede determinar también mediante el uso de los medios de cultivo adecuados

1.7 Virus

Los virus son organismos dotados de extraordinaria simplicidad, pertenecen a un nivel de organización subcelular, y marcan la barrera entre lo vivo y lo inerte. No se nutren, no se relacionan, carecen de metabolismo propio y para reproducirse utilizan la maquinaria metabólica de la célula a la que parasitan; su simplicidad estructural y funcional los convierte en parásitos intracelulares obligados, tanto de bacterias (bacteriófagos o fagos), como de las células animales y vegetales.

Las partículas víricas, llamadas también viriones, están constituidas por una molécula de ADN o ARN, nunca los dos en un mismo virus, contenida en el interior de una cápsula proteica y, en ocasiones, una envoltura membranosa.

Información: En realidad, los virus pueden considerarse como fragmentos independizados del genoma celular que han adquirido los genes necesarios para rodearse de una envoltura protectora y poseen la capacidad de desplazarse de una célula a otra. Mientras que los

transposones son genes que se desplazan de un sitio a otro del cromosoma de una célula , los virus representarían a otro grupo de genes similares, pero que por haber adquirido la cápsula protectora se aventuraron a dar "saltos" mayores. La destrucción celular es la consecuencia de la infección provocada por el virus, y las repercusiones para el organismo dependen de la importancia del tejido lesionado; así, mientras el virus de la gripe causa la destrucción de células de la mucosa respiratoria y " no reviste gravedad", el virus de la rabia, sin embargo, destruye neuronas y puede ser mortal si alcanza los centros vitales del encéfalo; otros, como el virus del SIDA, destruyen el sistema inmunitario, y el organismo queda expuesto a todo tipo de infecciones oportunistas que terminan por causar la muerte.

ESTRUCTURA Y CARACTERÍSTICAS DE LOS VIRUS. Como ya se ha dicho, todo virus está formado por una envuelta proteica: la cápsida y por un ácido nucleico; además, algunos virus más complejos pueden tener una envoltura membranosa de lípidos y proteínas.

Los virus son muy pequeños y sólo son visibles mediante microscopía electrónica. Su tamaño oscila desde los 10 nm, en los pequeños virus de la poliomielitis, hasta los 300 nm en el virus de la viruela, el mosaico del tabaco -TMV- y otros. Se diferencian entre ellos, además de por el tamaño, por las características estructurales de la cubierta (la cápsida), por la naturaleza de su ácido nucleico, el modo de penetración en la célula hospedadora y el mecanismo de replicación.

1.7.1) Constitución y morfología de la cápsida.

Todos los virus presentan, sin excepción, una envoltura proteica, denominada, cápsida, compuesta por el ensamblaje de una o varias subunidades proteicas llamadas capsómeros, dispuestas a menudo en varias capas concéntricas. La geometría de la cápsida es uno de los criterios que permite clasificar los virus en cuatro grupos: icosaédricos, helicoidales, complejos y con envoltura.

* Icosaédricos: son los virus de aspecto esférico, cuya cápsida adopta la estructura de un icosaedro (poliedro de 20 caras triangulares, 30 aristas y 12 vértices); por ejemplo: los adenovirus, el virus de la polio y los picornavirus.

* Helicoidales o cilíndricos: están representados por el virus del mosaico del tabaco y el virus de la rabia; presentan un aspecto alargado, que en realidad corresponde a un cilindro hueco, donde los capsómeros se ensamblan siguiendo un ordenamiento helicoidal, similar a los peldaños de una escalera de caracol.

* Complejos, como bacteriófagos (virus parásitos de bacterias) que parecen adoptar las dos estructuras anteriores. Al igual que los icosaédricos poseen una región icosaédrica llamada cabeza donde se aloja el ADN y una cola formada por una banda de simetría helicoidal en cuyo interior se encuentra un eje tubular. La cola está terminada en un conjunto de fibras y espinas caudales que constituyen el sistema de anclaje del virus a la bacteria a la que infecta.

* Virus con envoltura membranosa: La mayoría de los virus animales, como los de la gripe, la viruela, la hepatitis, el virus del SIDA, etc. poseen, además de la cápsida, una envoltura

membranosa que no es mas que un fragmento de la membrana plasmática de la célula hospedadora que el virus arrastra al abandonarla mediante un proceso de gemación. La bicapa lipídica que forma esta envoltura posee un conjunto de glucoproteínas codificadas por el virus y dispuestas hacia el exterior, a modo de espículas, que constituyen su sistema de anclaje en los receptores de membrana de las células hospedadoras y, por tanto, median en el mecanismo de penetración por endocitosis o por fusión de membranas. La envoltura membranosa es muy importante desde el punto de vista inmunológico .

1.7.2) El ácido nucleico.

Es el componente esencial del virus y puede ser ADN monocatenario, por ejemplo, en el fago O-X-174, o ADN bicatenario, como el fago T4 y los adenovirus; pero también existen virus con ARN bicatenario (los reovirus) y otros portadores de ARN monocatenario, como es el caso de los virulentos retrovirus, entre los que se encuentran el de la gripe, el sarampión, la rabia, el SIDA y determinados virus oncógenos causantes de ciertos tipos de cáncer (sarcoma de Rous, determinadas leucemias, etc.). Este último grupo contiene, además de los otros componentes mencionados, un enzima particular llamado retro transcriptasa o transcriptasa inversa, que le va a permitir transcribir su ARN en un ADN dentro de la célula infectada.

El material genético.

| Tipo de Virus | Acido nucleico | Cápsida | Envoltura | Ejemplo |
|-----------------|--------------------|--------------|-----------|--------------------|
| Virus vegetales | ARN monocatenario | Helicoidal | No | Mosaico del tabaco |
| Bacteriófagos | ADN bicatenario | Compleja | No | Bacteriófago T4 |
| Virus animales | De todos los tipos | Icosaédricos | Frecuente | Gripe, SIDA, etc. |

MECANISMOS DE REPLICACIÓN: CICLO VITAL DE LOS VIRUS

Aunque el genoma de un virus contiene escaso número de genes, es suficiente para inhibir la expresión génica de la célula hospedadora y obligarla a transcribir y traducir su breve mensaje. El modo de penetración , los mecanismos y los compartimentos celulares utilizados para la replicación, son diferentes en los distintos tipos de virus. De todos ellos, se pondrán como ejemplo el de los retrovirus y los bacteriófagos.

a) Ciclo vital de un retrovirus: El VIH causante del SIDA.

Los retrovirus son un grupo especial de virus animales cuyo ácido nucleico es ARN, poseen envoltura y la enzima transcriptasa inversa. EL VIH es un retrovirus relativamente complejo. Está constituido por una membrana lipídica con glucoproteinas dispuestas hacia el exterior a modo de espínas. En el interior encontramos una cápsida proteica que encierra el material genético, formado por dos moléculas de ARN monocatenario y se encuentran ligadas, cada

una de ellas, a una molécula de una enzima, la transcriptasa inversa.

b) Ciclo vital del fago T4.

El bacteriófago T4 es un virus complejo con una cabeza icosaédrica y una cola en la que hay una placa basal y fibras de fijación. El genoma se compone de una molécula de ADN bicatenaria que se encuentra profusamente empaquetada dentro de la cabeza. El fago se fija en la pared bacteriana, en las regiones denominadas puntos de adherencia, a través de los cuales inyecta su cola ADN mediante la contracción de la vaina de la cola. Una vez en el protoplasma bacteriano, el ADN puede seguir dos caminos: multiplicarse y originar nuevos virus (vía lítica), con lo que se produce la destrucción de la bacteria, o integrarse en el cromosoma bacteriano y adoptar la forma de profago (vía lisogénica).

i) Ciclo lítico.

1) Fijación y entrada: El bacteriófago fija su cola a receptores específicos de la pared de la bacteria, donde una enzima localizada en la cola del virus debilita los enlaces de las moléculas de la pared. A continuación, el fago contrae la vaina helicoidal, lo que provoca la inyección del contenido de la cabeza a través del eje tubular de la cola del fago: el ácido nucleico del virus penetra en la célula.

2) Multiplicación: Una vez dentro, el ADN del virus, utilizando nucleótidos y la enzima ARNpolimerasa de la bacteria, dirige la síntesis de gran cantidad de ARNm viral. Este ARNm viral sirve de base para la síntesis de proteínas del virus (capsómeros, endonucleasas, endolisinas). El ADN vírico, utilizando los complejos enzimáticos de la bacteria, se replica muchas veces. Tanto los ácidos nucleicos replicados como el resto de los componentes víricos que se han sintetizado se ensamblan, dando lugar a nuevos virus.

3) Lisis y liberación. En una bacteria pueden formarse unos 100 bacteriófagos, que salen al exterior debido a la acción de la endolisina, enzima que lisa la pared bacteriana. Debido a ello, se produce la ruptura de la pared bacteriana y la muerte de la célula. Los virus quedan libres para infectar nuevas células.

ii) Ciclo lisogénico.

No siempre se produce la lisis inmediata de la célula. Hay fagos atemperados o atenuados que se integran en el ADN bacteriano por entrecruzamiento de dos regiones idénticas del fago y de la bacteria, del mismo modo a como ocurre en los plásmidos. Estos fagos integrados se denominan profagos, y se replican pasivamente con el ADN de la bacteria. Las bacterias capaces de establecer esa relación con los fagos atenuados se denominan lisogénicas.

El ADN del profago puede permanecer en forma latente durante varias generaciones de la bacteria, hasta que un estímulo induzca la separación del profago, lo que iniciará un ciclo lítico típico. Mientras la célula posea el ADN profago será inmune frente a infecciones de este mismo virus. Otros virus que no son bacteriófagos pueden también tener ciclos lisogénicos.

VIROIDES

Son extremadamente sencillos y forman un escalón inferior a los virus. Son simplemente genomas desnudos, ARN de una cadena (pero en forma de horquilla, pues hay complementariedad entre sus bases, simulando un ARN doble para protegerse de las enzimas hidrolíticas celulares que atacan a los ARN simples) y no presentan cápsida proteica. Solamente causan enfermedades en los vegetales. Han producido pérdidas económicas importantes: en cultivos de patata en USA y en cocoteros en Filipinas. Los viroides son de menor tamaño que cualquiera de los genomas víricos conocidos, pero suficiente para poder codificar una proteína, pero no se cree que lo hagan, ya que el ARN de los viroides carece de señales que se necesitan para la traducción del ARN a una proteína.

Por lo tanto su información no se traduce, solo se replica. Parece probable que sea la ARN polimerasa del hospedador, que está en el núcleo de las plantas, la que replica el genoma del viroide. No está claro cómo se transmiten entre células (dada la pared celular de las células vegetales), y mucho menos entre individuos.

LOS PRIONES: De estos "organismos" sabemos aún menos. Se descubren en 1983 como agentes causantes de afecciones neuronales esporádicas. Ahora aumenta su interés debido al mal de las vacas locas. Es una partícula infecciosa proteínica (proteína patológica). Las pruebas obtenidas hasta el momento parecen indicar que el prión carece de ácido nucléico. Se conocen dos enfermedades causadas por priones: La Tembladera, una alteración neurológica de ovejas y cabras, conocida desde el siglo XVII y la enfermedad de Creutzfeld-Jacob, una rara demencia humana.

Los priones también se consideran agentes probables de otras enfermedades humanas que afectan al sistema nervioso: el Kuru, observado sólo en tribus de Nueva Guinea, asociándose al canibalismo tradicional (la enfermedad fue desapareciendo conforme cesaban las prácticas necrófagas).

La enfermedad de Creutzfeld-Jacob en individuos menores de 35 años se relacionó con el consumo de subproductos de vacas enfermas, que estaban alimentadas con piensos fabricados con restos de ovejas con tembladera. La infección por priones no provoca una respuesta inmunitaria, debido a que el prión está dentro de nuestras propias células. El agente causante es una proteína propia de la membrana plasmática de las neuronas. Se sabe que está codificada por un gen del cromosoma 20. Esta proteína sufre una alteración que la convierte en patológica (prión). Las proteínas defectuosas actúan como agentes infecciosos que cambian las proteínas normales en defectuosas. La aparición de la demencia es consecuencia de que se acumulan cristalizadas en las neuronas provocando su destrucción y muerte.

Comparando las dos proteínas, normal y patológica, se comprueba que tienen la misma secuencia de aminoácidos (estructura primaria), pero tienen un plegamiento distinto. Se han encontrado casos de transmisión hereditaria de la enfermedad, debido a una mutación puntual que implica modificación en la estructura primaria de la proteína, sustituyéndose una prolina por una leucina.

CLASIFICACIÓN DE LOS VIRUS (sólo para consultar)

Los criterios básicos de clasificación son el tipo de ácido nucleico que contienen, el tipo de cápsida, la posesión de envolturas membranosas y el tipo de célula a la que parasita. Según este último criterio existen virus animales, virus vegetales y virus bacterianos o bacteriófagos.

A continuación, y a modo de consulta veamos los más importantes grupos de virus animales. Clasificación de los virus parásitos de células animales. Los virus animales pueden clasificarse por su material genético y por la forma de sintetizar su ARN mensajero.

Grupo I: Tienen como material genético ADN de cadena doble (hebras + y -). La hebra (-) se transcribe en un ARNm. Ejemplo: virus del herpes.

Grupo II: Tienen como material genético ADN de cadena simple (+ ó -). La hebra de ADN sintetiza una molécula complementaria de ADN formándose un ADN de cadena doble. De estas dos hebras, la hebra (-) se transcribe en un ARNm. Ejemplo: Parvovirus.

Grupo III: Tienen como material genético ARN de cadena doble (hebras + y -). De estas dos hebras, la hebra (-) sirve de molde para la síntesis de un ARNm complementario. Ejemplo: Reovirus.

Grupo IV: Tienen como material genético ARN de cadena simple (hebra +). Esta hebra de ARN sintetiza una molécula complementaria de ARN: hebra (-) que sirve de molde para sintetizar un ARNm complementario. Ejemplo: Virus de la polio de los primates.

Grupo V: Tienen como material genético ARN de cadena simple (hebra -). Esta hebra de ARN sirve de molde para sintetizar un ARNm complementario. Ejemplo: Gripe.

Grupo VI: Tienen como material genético ARN de cadena simple (hebra +). Esta hebra de ARN sirve de molde para sintetizar un ADN complementario: hebra (-) que a su vez sirve de molde para sintetizar un ADN +. Se forma así un ADN de doble cadena (+ y -). La hebra de ADN (-) se transcribe formándose un ARNm +. Ejemplo: Retrovirus.

Actividades: El alumno realizará un ensayo de la unidad.

Unidad 2

Dominio Eukarya

Los Eukarya (escrito también Eucaria) son Eukariotas. Como las Bacterias, tienen membranas compuestas de cadenas de carbono rectas unidas al glicerol por uniones éster. Si tienen pared celular, no contiene ningún peptidoglicano. No son sensibles a los antibióticos antibacterianos tradicionales y tienen rRNA y regiones del tRNA claramente diferentes de Bacterias y Archaea. Incluyen a protistas, hongos, plantas, y animales.

2.1 Diversidad y taxonomía: cinco grandes grupos.

La taxonomía es, en su sentido general, la ciencia de la clasificación.

Habitualmente, se emplea el término para designar a la taxonomía biológica, la ciencia de ordenar a los organismos en un sistema de clasificación compuesto por una jerarquía de taxones anidados entre ellos.

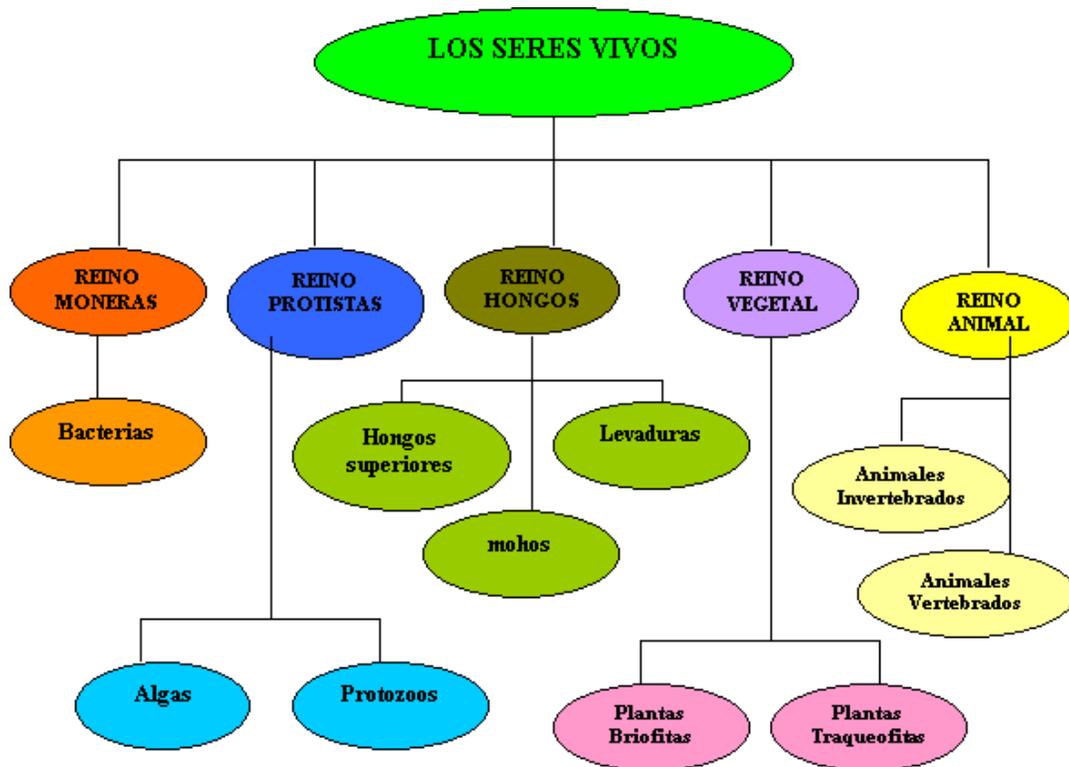
Los taxones o grupos en que se clasifican los seres vivos se estructuran en una jerarquía de inclusión en la que un grupo abarca a otros menores y este, a su vez, está subordinado a uno mayor.



El ser humano clasifica la biodiversidad para ordenar y entender a los seres vivos. A lo largo de la historia se han construido distintos modelos taxonómicos gracias a que el avance de la ciencia brinda nuevos conocimientos. Así, a lo largo de la historia, se van creando nuevos modelos taxonómicos con diferentes criterios de clasificación.

En los años sesenta, los modelos o sistemas clasificatorios sufrieron una revolución por el uso de nuevas técnicas bioquímicas y microscópicas.

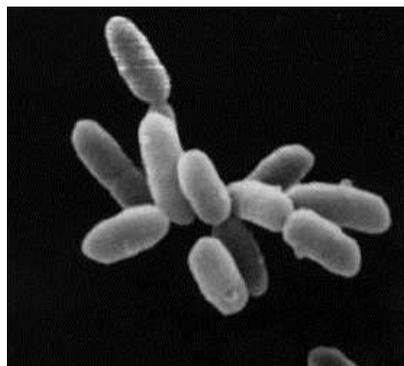
Whittaker (1959) crea un nuevo sistema de clasificación en el que organiza a los seres vivos en 5 Reinos: Moneras, Protocistas, Hongos, Plantas y Animales.



Los científicos Woese, Kandler y Wheelis (1990), aplicando técnicas moleculares, crearon un nuevo modelo de la taxonomía de los seres vivos.

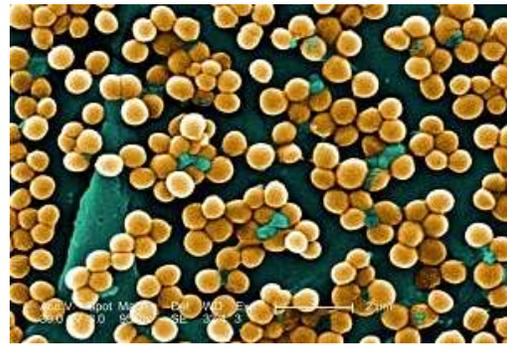
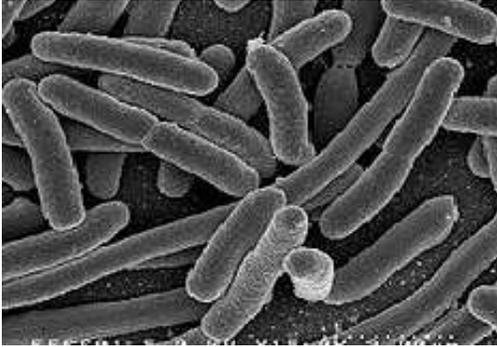
Esta taxonomía se organiza en Dominios: Archaea, Bacteria y Eukarya. A su vez, el Dominio Eukarya se subdivide en 4 Reinos: protistas, fungi, plantae y animalia.

Dominio Archaea



En el pasado se las consideró un grupo inusual de bacterias pero, como tienen una historia evolutiva independiente y presentan muchas diferencias en su bioquímica respecto al resto de las formas de vida, actualmente se las clasifica como un dominio distinto en el sistema de tres dominios. No tienen núcleo definido por lo que son procariotas.

Dominio Bacteria



Las bacterias son microorganismos unicelulares que presentan diversas formas incluyendo esferas, barras y hélices. Las bacterias son procariotas y, por lo tanto, a diferencia de las células eucariotas (animales, plantas, hongos y protistas), no tienen el núcleo definido.

a. Reino Protistas

El reino Protista, también llamado Protoctista, es el que contiene a todos aquellos organismos eucariotas (es decir, con núcleo definido en sus células) que no pueden clasificarse dentro de alguno de los otros tres reinos eucarióticos: Fungi (hongos), Animalia (animales) o Plantae (plantas).



Ninguno de sus representantes está adaptado plenamente a la existencia en el aire, de modo que, los que no son directamente acuáticos, se desarrollan en ambientes terrestres húmedos o en el medio interno de otros organismos.

Los protistas se cuentan entre los más importantes componentes del plancton (organismos que viven en suspensión en el agua), del bentos (fondo de ecosistemas acuáticos) y de la comunidad que habita en los suelos.

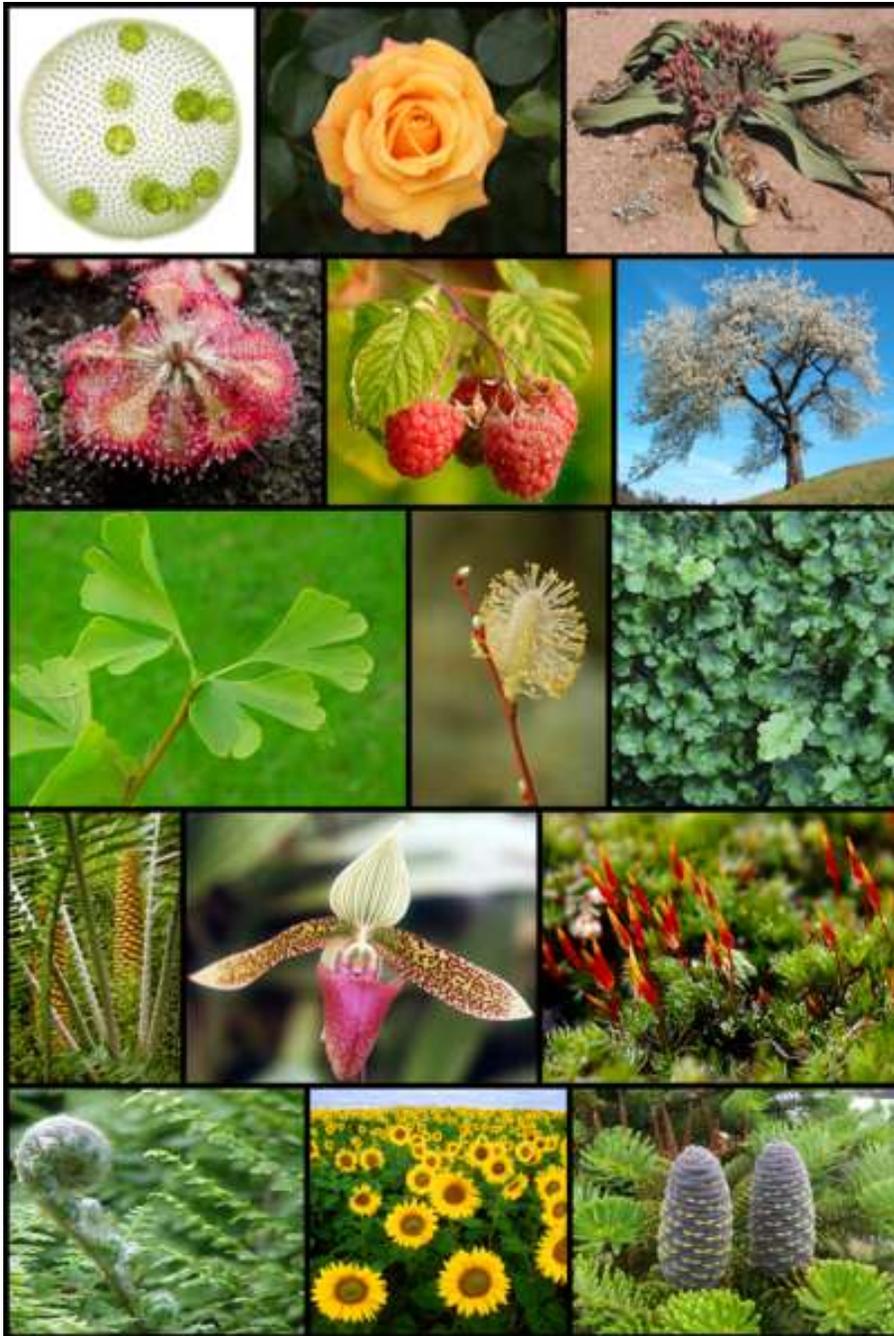
b. Reino Fungi

Son un grupo que también puede llamarse hongos. Sus células tienen la característica de tener una pared celular compuesta por quitina, a diferencia de las plantas, que contienen celulosa. Algunos crecen y actúan como parásitos de otras especies.



c. Reino Plantae

Dentro de este grupo se encuentran las "plantas terrestres y algas". A este reino pertenecen todos los organismos eucariotas multicelulares que realizan fotosíntesis (son organismos autótrofos).



d. Reino Animalia

Los animales son eucariotas y pluricelulares. Su nutrición es heterótrofa por ingestión (no realizan fotosíntesis, no son autótrofos como las plantas). Su reproducción es sexuada.



2.2 Origen y evolución de las eucariotas.

El dominio Eukarya incluye a todos los microorganismos con estructura eucariota así como a las plantas y animales que son los eucariota mas recientes desde el punto de vista evolutivo.

Los Eucariotas mas antiguos son los de estructura mas sencilla y carecen de mitocondrias y de otros orgánulos celulares importantes, presentan en la mayoría de los casos, deficiencias metabólicas y son parásitos patógenos del hombre y otros animales.

La teoría endosimbiótica postula que la célula eucariótica moderna, evolucionó en etapas mediante la incorporación estable de simbioses quimiorganotrofos y fototrofos del dominio Bacteria, que pasaron a ser mitocondrias y cloroplastos, respectivamente. Estos orgánulos, auténticas factorías de energía, permitieron una explosión de diversidad biológica a las células eucarióticas.

El periodo comprendido entre hace 1500 millones de años y el presente fue testigo de la aparición y diversificación de los microorganismos eucarióticos unicelulares y los metazoos que culminó con las plantas y animales superiores.

En el Reino Protista se localizan organismos unicelulares eucariontes, aunque también en varios de los individuos que se incluyen en este reino se observa una tendencia a la pluricelularidad, pero sin formar verdaderos tejidos. En este reino se ha integrado con grupos de organismos eucariontes de características heterogéneas:

Protozoarios o animales unicelulares.

Algas unicelulares y pluricelulares. Pero nunca formando verdaderos tejidos u órganos.

Myxomycetes. Forman plasmodios que son masas citoplasmáticas con muchos núcleos.

Acrasiomycota. Casi todos terrestres. Se llaman mixamibas porquen se parecen a las amibas con paredes de celulosa.

Oomycota. Llamados mohos acuáticos, producen esporas sexuales llamadas zoosporas.

Dentro del dominio encontramos organismos Fototrofos, como las Algas, que están distribuidos en ambientes terrestres y acuáticos y que son los principales productores primarios en la naturaleza.

Los Hongos, heterotrofos, son importantísimos en los procesos de biodegradación y reciclaje de materia orgánica en los suelos y otros ecosistemas. Ambos grupos presentan paredes celulares, salvo los hongos mucosos.

No ocurre lo mismo con los Protozoos, que son móviles y carentes de pared celular. Se encuentran en hábitat acuáticos y muchos son patógenos de animales y del hombre.

En el árbol filogenético varios eucariotas microscópicos como Diplomonadas, Microsporidios o Tricomónadas, representan los linajes más antiguos, mientras que los Metazoos son los más evolucionados. Las algas, están repartidas por todo el árbol eucariótico, en linajes relativamente recientes, mientras que los hongos, exceptuando los Oomicetos, forman un grupo bastante reciente y muy compacto desde el punto de vista filogenético.

Importancia de los organismos eucariontes.

Protistas. La importancia de este grupo de protistas se concentra sobre todo en el aspecto médico, porque existen varias especies de protozoarios que parasitan plantas, animales y hombre.

Algas unicelulares. Éstas representan un porcentaje muy notable del fitoplancton de los océanos (y aguas dulces), que es donde se lleva a cabo no menos del 50% del total de la fotosíntesis que se realizan en nuestro planeta. Son muy importantes especialmente las diatomeas dinoflagelados y clorofitas unicelulares porque son los principales productores de alimentos del ecosistema marino, que es donde se encuentra la principal reserva de alimentos y fuente renovadora del oxígeno de la atmósfera terrestre.

Los grandes depósitos de las cubiertas de diatomeas muertas se han acumulado por miles de años (tierra de diatomeas) como son de sílice (vidrio), tienen aplicaciones industriales como abrasivos (pulidores) aislantes del ruido, sellador de bacterias y pilas secas, etc.

Hongos unicelulares. Las levaduras son hongos unicelulares que pertenecen al grupo de los ascomicetos. Son organismos heterótrofos de pared celular rígida. Generalmente, son de forma ovoide y algunas esféricas. Su tamaño oscila entre 5 a 30 micras de largo. Se reproducen en forma asexual por gemación y sexualmente mediante la fusión de dos células para formar un cigoto. Carecen de hifas (estructuras características de los hongos), pero por formar ascas se les clasifica entre los ascomicetos.

Las levaduras se encuentran muy difundidas en la naturaleza, muchas son saprofitas y algunas parásitas. Las de la vida libre se encuentran también en el suelo, en lugares árido con vegetación, e incluso en agua dulce o salada.

Las levaduras forman un grupo de aproximadamente 350 especies. Entre las de valor comercial se encuentran las utilizadas en la fabricación de diversos tipos de bebidas alcohólicas, también son importantes las utilizadas para la elaboración de pan y pasteles. Las levaduras son muy utilizadas en la síntesis de vitaminas, grasas y proteínas, en la elaboración de vinagre, en el procesamiento del cacao, de la glicerina y otros usos.

En el terreno científico se utilizan en investigaciones en ingeniería genética y han contribuido al estudio de procesos bioquímicos y metabólicos celulares.

Dentro de las enfermedades causadas por hongos unicelulares están las moniliasis que infecta cualquier tipo de tejido, la criptococosis que inicia la infección en pulmones pero puede llegar al cerebro y meninges. La blastomicosis invade pulmones y pleura causando lesiones crónicas; la torulosis tiene afinidad por los tejidos del sistema nervioso central y pulmones.

2.3 Filogenia y árboles filogenéticos. Tendencias y clasificación.

Un árbol filogenético es un diagrama que representa las relaciones evolutivas entre organismos. Los árboles filogenéticos son hipótesis, no hechos definitivos. El patrón de ramificación en un árbol filogenético refleja cómo las especies u otros grupos evolucionaron a partir de una serie de ancestros comunes.

En los árboles, dos especies están más relacionadas si tienen un ancestro común más reciente y menos relacionadas si tienen un ancestro común menos reciente. Los árboles filogenéticos pueden dibujarse en varios estilos equivalentes. Rotar un árbol alrededor de sus puntos de ramificación no cambia la información que contiene.

Los humanos como grupo somos muy buenos para organizar cosas. No necesariamente cosas como armarios o habitaciones, que personalmente confieso me cuestan mucho trabajo. En cambio, a la gente a menudo le gusta agrupar y ordenar las cosas que ve en el mundo que

le rodea. Empezando por el filósofo griego Aristóteles, este deseo de clasificar se ha extendido a los muchos y diversos seres vivos de la tierra.

Los sistemas de clasificación más modernos se basan en las relaciones evolutivas entre organismos, esto es, en su filogenia. Los sistemas de clasificación basados en la filogenia organizan las especies u otros grupos de manera que reflejen nuestra comprensión de su proceso evolutivo a partir de sus ancestros comunes.

A continuación, daremos un vistazo a los árboles filogenéticos, diagramas que representan las relaciones evolutivas entre organismos. Veremos exactamente qué podemos (y que no podemos) inferir a partir de un árbol filogenético, así como qué significa que los organismos estén más o menos relacionados en el contexto de estos árboles.

Anatomía de un árbol filogenético

Cuando dibujamos un árbol filogenético, estamos representando nuestra mejor hipótesis sobre cómo evolucionó un conjunto de especies (u otros grupos) a partir de un ancestro común. Cómo construir árboles, esta hipótesis se basa en la información que hemos recopilado acerca de nuestro conjunto de especies, cosas como sus características físicas y la secuencia de ADN de sus genes.

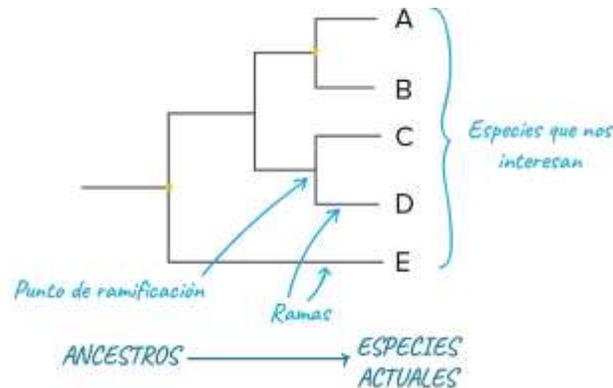
¿Los árboles filogenéticos solo son para especies?

¡Claro que no! Un árbol filogenético puede mostrar relaciones a varios niveles. Por ejemplo, podríamos construir diferentes árboles filogenéticos que mostraran las relaciones entre poblaciones, subespecies, especies o grandes conjuntos de especies relacionadas. Todos estos diversos tipos de grupos se conocen como taxones, un término general para una población o grupo de poblaciones que forman una unidad. Así que podemos construir árboles filogenéticos para diferentes tipos de taxones.

Para simplificar, en este artículo nos referiremos sobre todo a los árboles que representan especies; pero los principios básicos que describiremos pueden utilizarse con cualquier árbol

que "se enfoque" en las poblaciones o "se aleje" hacia los grandes grupos de especies relacionadas.

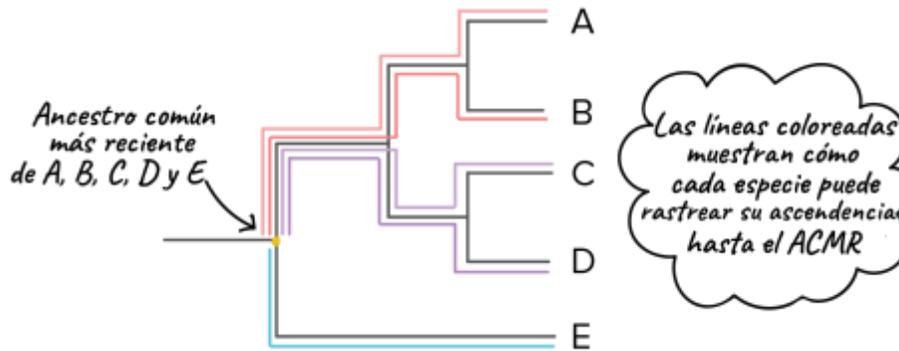
En un árbol filogenético, las especies o grupos de interés se encuentran en los extremos de las líneas a las que consideramos las ramas del árbol. Por ejemplo, el árbol filogenético siguiente representa las relaciones entre cinco especies A, B, C, D y E, las cuales se ubican en las puntas de las ramas:



El patrón en el que se conectan ramas representa nuestra comprensión de cómo evolucionaron las especies del árbol a partir de una serie de ancestros comunes. Cada punto de ramificación (también llamado nodo interno) representa un evento de divergencia o separación de un grupo en dos grupos descendientes.

En cada punto de ramificación se encuentra el ancestro común más reciente de todos los grupos que descienden de esa ramificación. Por ejemplo, en el punto de ramificación que conduce a las especies A y B, encontraríamos al ancestro común más reciente de esas dos especies. En el punto de ramificación que se encuentra justo por arriba de la raíz del árbol, encontraríamos al ancestro común más reciente de todas las especies en el árbol (A, B, C, D, E).

El diagrama de abajo muestra como cada especie en el árbol puede rastrear su ascendencia hasta el ancestro común más reciente en el punto de ramificación que está por arriba de la raíz:



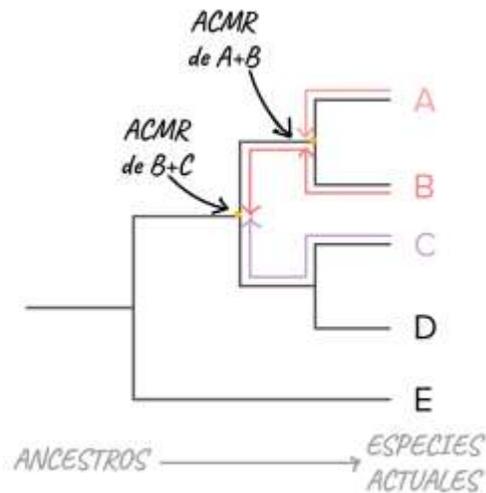
Cada línea horizontal en nuestro árbol representa una serie de ancestros que al final lleva una especie. Por ejemplo, la línea que lleva hacia la especie E representa a los ancestros de la especie desde que divergió de las otras especies en el árbol. De manera similar, la raíz representa una serie de ancestros que conducen hasta el ancestro común más reciente de todas las especies en el árbol.

¿Qué especies están más relacionadas?

En un árbol filogenético, la relación entre dos especies tiene un significado muy específico. Dos especies están más relacionadas si tienen un ancestro común más reciente y menos relacionadas si tienen un ancestro común menos reciente.

Podemos usar un método bastante directo para encontrar al ancestro común más reciente de cualquier par o grupo de especies. En este método, empezamos en la rama en cuyos extremos se encuentran las dos especies de nuestro interés y "retrocedemos" en el árbol hasta que encontramos el punto donde convergen las líneas de ambas especies.

Por ejemplo, supón que queremos saber qué especies están más cercanamente relacionadas, si A y B o B y C. Para hacerlo, seguiríamos las líneas de ambos pares de especies hacia atrás en el árbol. Dado que A y B convergen primero en un ancestro común, y que B solo se une con C después de su punto de unión con A, podemos decir que A y B están más relacionadas que B y C.



Es importante destacar que hay algunas especies cuyo parentesco no podemos comparar usando este método. Por ejemplo, no podemos decir si A y B están más relacionadas que C y D. Esto es porque, por defecto, el eje horizontal del árbol no representa el tiempo de manera directa. Así que solo podemos comparar el momento de ramificación de los eventos que ocurren en el mismo linaje (misma línea directa desde la raíz del árbol) y no los que suceden en diferentes linajes.

Algunas recomendaciones para leer árboles filogenéticos

Puedes ver árboles filogenéticos dibujados en muchos formatos diferentes. Algunos usan bloques, como el árbol inferior izquierdo. Otros usan líneas diagonales, como el árbol inferior derecho. También puedes ver árboles de cualquiera de estos tipos orientados de manera vertical o volteados lateralmente, como se muestra el árbol de bloques.

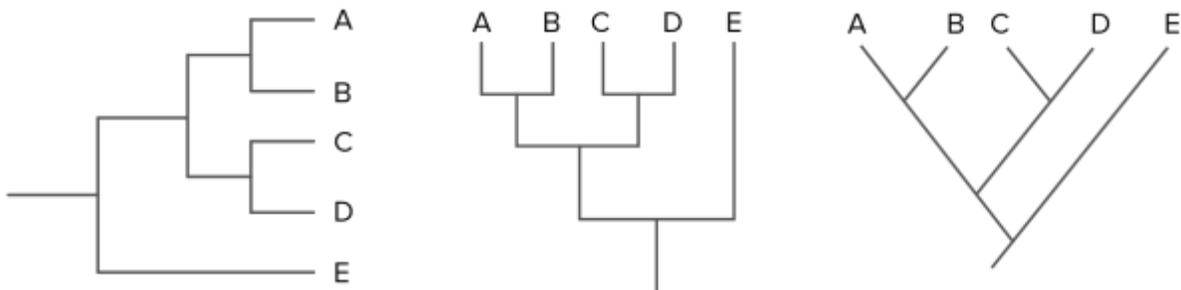


Imagen modificada de [Taxonomía y filogenia: Figura 2](#) de Robert Bear et al., [CC BY 4,0](#)

Los dos árboles de arriba representan relaciones idénticas entre las especies A, B, C, D y E. Puede que quieras tomarte un momento para convencerte que así es, que no hay

diferencias en el patrón de ramificación ni en lo recientes que son los ancestros comunes en ambos árboles. La información idéntica en estos árboles de apariencia distinta nos recuerda que lo importante en un árbol típico es el patrón de ramificación (y no la longitud de sus ramas).

Otro punto crítico acerca de estos árboles es que si rotas las estructuras usando uno de los puntos de ramificación como pivote, no cambias las relaciones. Del mismo modo que los dos árboles de arriba muestran las mismas relaciones aunque su formato sea distinto, todos los árboles de abajo muestran las mismas relaciones entre cuatro especies:

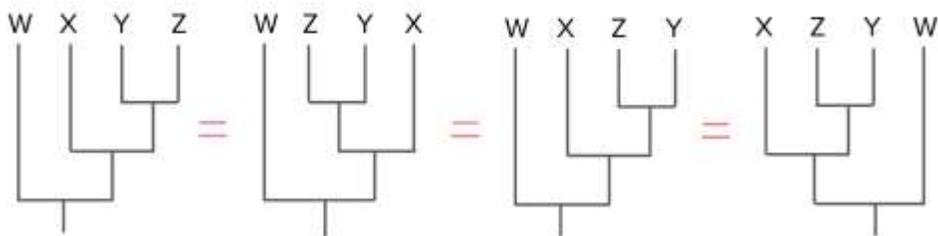
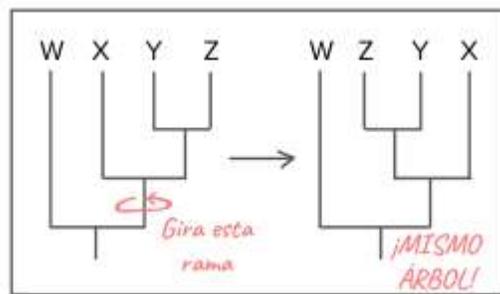


Imagen modificada de [Taxonomía y filogenia: Figura 3](#) de Robert Bear et al., [CC BY 4.0](#)

Si no logras ver de inmediato que lo anterior es cierto (¡a primera vista, yo tampoco pude!), solo concéntrate en las relaciones y los puntos de ramificación en lugar del orden de las especies (W, X, Y y Z) en la parte superior de los diagramas. Ese orden en realidad no nos da información útil. En cambio, es la estructura de las ramas de cada diagrama la que nos dice lo que necesitamos para entender el árbol.

Hasta ahora, todos los árboles que hemos visto tienen patrones de ramificación limpios y bonitos, con solo dos linajes (líneas de descendencia) que surgen de cada punto de ramificación. Sin embargo, puedes encontrar árboles con una politomía (poli, muchos; tomía, corte), lo que significa que un punto de ramificación tiene tres o más especies

diferentes que surgen de él. En general, una politomía nos muestra dónde no tenemos suficiente información para determinar el orden de las ramas.

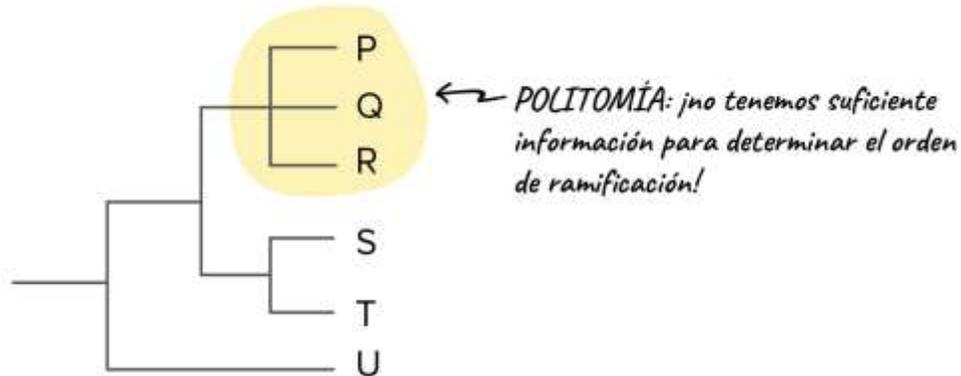


Imagen modificada de [Taxonomía y filogenia: Figura 2](#) de Robert Bear et al., [CC BY 4,0](#)

Si más adelante obtenemos más información acerca de las especies en un árbol, es posible que podamos resolver la politomía usando la información nueva.

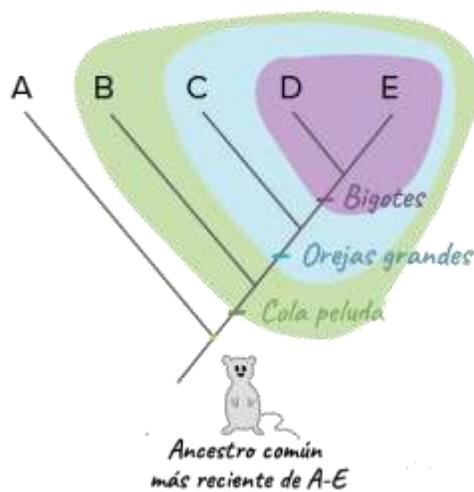
¿De dónde vienen estos árboles?

Para generar un árbol filogenético, los científicos a menudo comparan y analizan muchas características de las especies o grupos involucrados. Estas características pueden incluir la morfología externa (forma y apariencia), la anatomía interna, el comportamiento, las rutas bioquímicas, las secuencias de ADN y proteínas, e incluso las características de fósiles.

Para construir árboles precisos y significativos, los biólogos a menudo usan muchas características distintas (lo que reduce las posibilidades de que cualquier información imperfecta resulte en un árbol erróneo). Aun así, los árboles filogenéticos son hipótesis, no respuestas definitivas, y son tan buenos como la información disponible con la que fueron construidos. Los árboles se revisan y actualizan con el tiempo a medida que hay nueva información disponible que pueda ser añadida al análisis. Esto es particularmente cierto hoy en día, ya que la secuenciación de ADN aumenta nuestra habilidad de comparar genes entre especies.

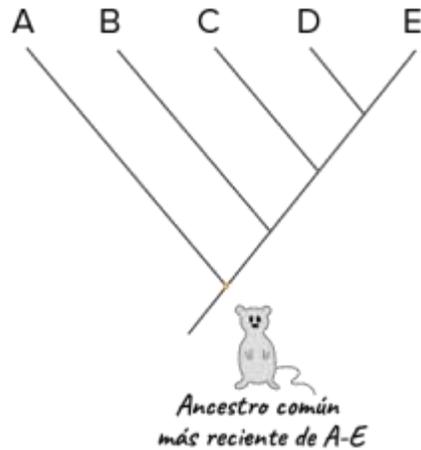
La idea detrás de la construcción de árboles ¿Cómo construimos un árbol filogenético? El principio subyacente es la idea de Darwin de "descendencia con modificación". Básicamente,

al ver el patrón de modificaciones (rasgos nuevos) en los organismos actuales, podemos determinar —o al menos, proponer hipótesis de— su linaje a partir de un ancestro común. Como ejemplo, consideremos el árbol filogenético siguiente (que muestra la historia evolutiva de un grupo inventado de especies parecidas a ratones). Vemos que surgen tres rasgos nuevos en diferentes puntos durante la historia evolutiva del grupo: una cola esponjada, orejas grandes y bigotes. Cada rasgo nuevo es compartido por todas las especies descendientes del ancestro en el que apareció la característica (indicado por las marcas con forma de palomita), pero está ausente de las especies que se separaron antes de que el carácter apareciera.

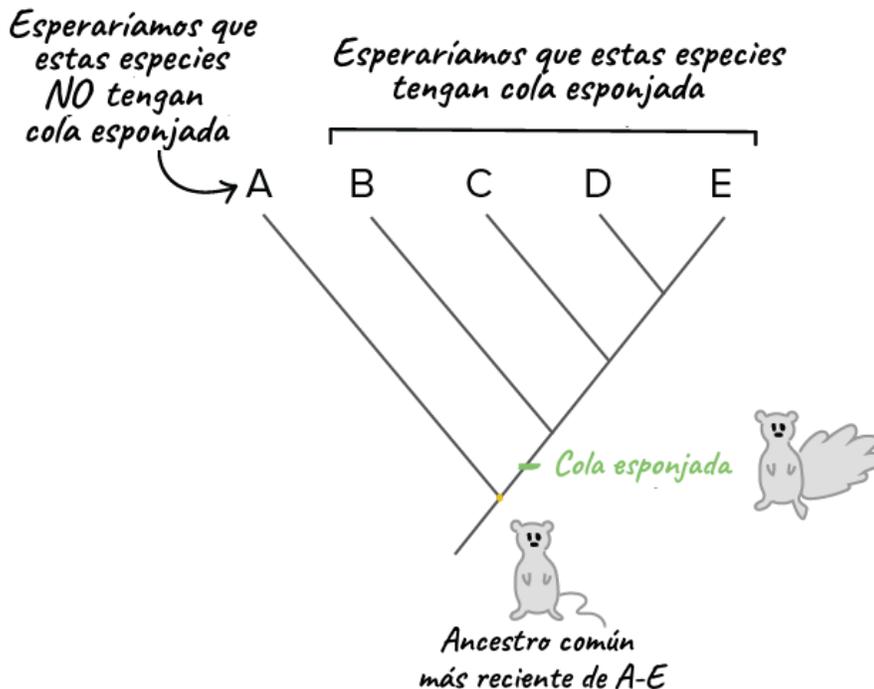


¡Hay mucha información en el árbol de arriba! Vayamos paso a paso y veamos lo que nos dicen el árbol y las marcas que hay en él.

Empecemos con un árbol sin caracteres marcados. El árbol muestra las relaciones evolutivas de un grupo (inventado) de animales parecidos a ratones. Las letras A, B, C, D y E representan especies actuales en el grupo. La base, o raíz, del árbol muestra al ancestro común más reciente del grupo. Este es un animal que vivió hace mucho tiempo, cuyos rasgos conocemos en este ejemplo inventado (aunque puede que este no sea el caso en un ejemplo de la vida real).

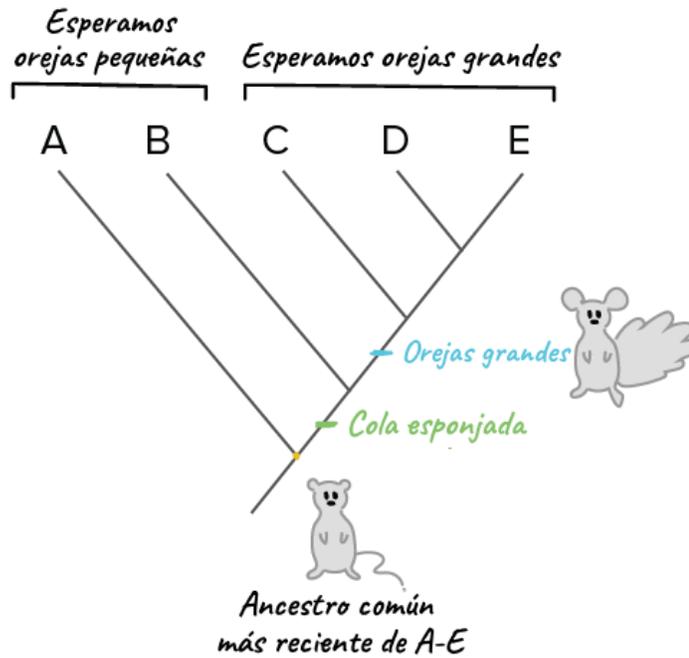


Ahora, imaginemos que algún tiempo después la especie A se separó del linaje dando lugar a las otras especies (B-E), un nuevo carácter surgió en el linaje B-E: una cola esponjada, parecida a la de una ardilla. Si no se da ningún otro cambio en ninguno de los linajes, esperaríamos que las especies B, C, D y E tuvieran una cola esponjada y que la especie A no la tuviera. Esto es porque las especies B-E heredarían la cola esponjada del ancestro común en el que surgió ese rasgo.

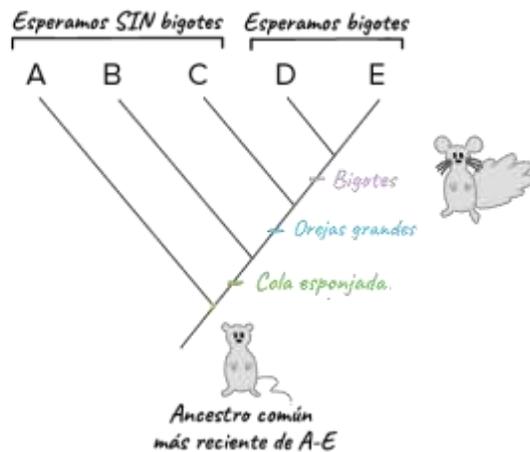


Ahora, imaginemos que surge otro carácter nuevo. Después de que el linaje B se separara del que conduce a las especies C-E, imaginemos que el rasgo de orejas grandes apareció en el linaje C-E. Si no ocurre ningún evento evolutivo que afecte el tamaño de las orejas en

ninguno de los grupos, esperaríamos que las especies C, D y E tuvieran orejas grandes y que las especies A y B las tuvieran pequeñas.

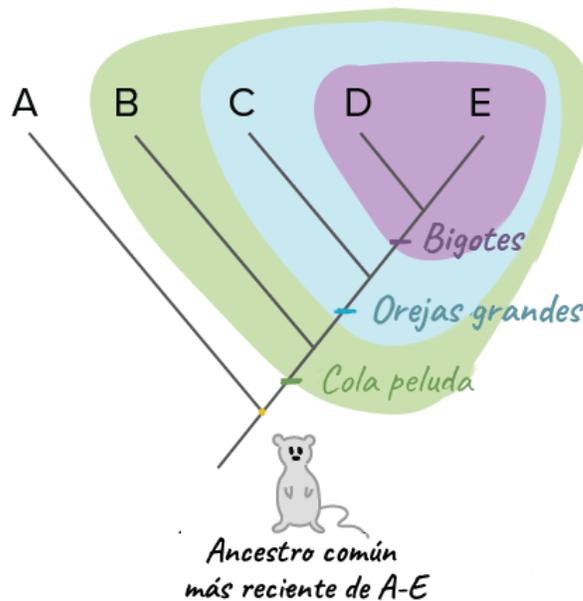


Finalmente, imaginemos que surge otro carácter nuevo, esta vez después de que el linaje C se separara del que conduce a las especies D y E. En el ancestro común que solo comparten D y E, aparece el carácter de bigotes. Si no ocurren eventos que afecten los bigotes en ninguno de los grupos, esperaríamos que las especies D y E tuvieran bigotes, pero todas las demás (A, B y C), no.



El diagrama en el texto principal es una representación condensada de la información que analizamos en árboles separados en esta ventana desplegable. Las regiones sombreadas anidadas dentro de cada una muestran qué especies esperaríamos que tuvieran cada carácter,

con base en el punto en la historia evolutiva en el que surgió el rasgo. Por ejemplo, esperaríamos que las especies C, D y E (sombra azul) tuvieran orejas grandes.



Cuando construimos árboles filogenéticos, las características que surgen durante la evolución de un grupo y que difieren de las del ancestro del grupo se llaman caracteres derivados. En nuestro ejemplo, una cola esponjada, unas orejas grandes y los bigotes son caracteres derivados, mientras que una cola delgada, orejas pequeñas y la falta de bigotes son caracteres ancestrales. Un punto importante es que un carácter derivado puede aparecer por pérdida o ganancia de una característica. Por ejemplo, si hubiera otro cambio en el linaje E que resultara en la pérdida de la cola, la falta de cola se consideraría un carácter derivado.

Los caracteres derivados compartidos entre especies u otros grupos en un conjunto de datos son claves para ayudarnos a construir árboles. Como se muestra arriba, los caracteres derivados tienden a formar patrones anidados que proporcionan información acerca de cuándo ocurrieron los eventos de ramificación en la evolución de las especies.

Cuando construimos un árbol filogenético a partir de un conjunto de datos, nuestra meta es usar los caracteres derivados compartidos de las especies actuales para inferir los patrones de ramificación de su historia evolutiva. El problema, sin embargo, es que no podemos observar la evolución de nuestras especies de interés y ver cuándo surgieron los caracteres nuevos en cada linaje.

En su lugar, tenemos que trabajar en retrospectiva. Esto es, tenemos que ver a nuestras especies de interés —como A, B, C, D y E— y averiguar cuáles caracteres son ancestrales y cuáles derivados. Luego, podemos usar los caracteres derivados compartidos para organizar las especies en grupos anidados como los que se muestran arriba. Un árbol hecho de esta manera es una hipótesis sobre la historia evolutiva de las especies, generalmente, aquella con el patrón de ramificación más sencillo para explicar sus caracteres.

2.4 Hongos y levaduras.

HONGOS

La contaminación fúngica de un alimento tiene mucha importancia, no tan sólo por su acción deteriorante, que pudre y malogra materias primas y productos manufacturados, sino también por la capacidad de algunos hongos para sintetizar gran variedad de micotoxinas, para provocar infecciones y, incluso, para provocar reacciones alérgicas en personas hipersensibles a los antígenos fúngicos. Por estos motivos, para conocer la calidad microbiológica de un producto, es pertinente realizar un recuento de hongos y levaduras.

En general, los hongos son microorganismos eucariotas pluricelulares filamentosos, no presentan pigmentos fotosintéticos y son quimioheterótrofos aerobios estrictos. A diferencia de las plantas, presentan un bajo grado de diferenciación en los tejidos.

Poseen pared celular contiene quitina un polisacárido que le da rigidez y es responsable de su morfología y en ocasiones celulosa. Algunos hongos presentan cápsula, formada por polisacáridos, con propiedades inmunógenas y antifagocitarias.

La estructura o cuerpo vegetativo de un hongo se denomina talo. El talo esta formado por filamentos, o hifas, de unas 5 μm de diámetro, que generalmente están ramificadas.

Las hifas son tubos largos que están formadas por la pared celular de quitina (componente mayoritario) y el citoplasma con sus inclusiones y núcleos con la información genética. En el citoplasma se realiza la actividad bioquímica del hongo. Las hifas pueden estar separadas en

células por paredes transversales (septos) en los hongos superiores (Eumicetos), o carecer de paredes en los hongos inferiores (Ficomictos). El conjunto de hifas se llama micelio. En el micelio se distinguen dos partes: una que penetra en el medio de cultivo y se extiende por su superficie (micelio vegetativo), y otra que se proyecta y contiene las esporas (micelio reproductor o aéreo).

Los hongos crecen por el extremo de las hifas (crecimiento apical). Una pequeña cantidad de micelio es suficiente para la formación de un nuevo talo.

Absorción de nutrientes: Debido a que su pared celular es rígida no pueden englobar los alimentos (pinocitosis, fagocitosis). Los extremos en crecimiento de las hifas expulsan enzimas sobre la materia orgánica en que crecen. Las cadenas de carbohidratos se rompen en compuestos más sencillos como glucosa o aminoácidos, lo suficientemente pequeños como para absorberlos por las paredes de las hifas, hasta el citoplasma del hongo.

Según el tipo de sustrato nutritivo que empleen se clasifican en:

1. Hongos saprófitos (utilizan materia orgánica muerta)
2. Hongos parásitos (organismos vivos, plantas o animales)

TIPOS DE REPRODUCCIÓN.

Las formas y mecanismos de reproducción sexual y asexual son muy variados y constituyen la base de la clasificación de los hongos. (Fig. 7.1)

2.4.1. Reproducción sexual: (Hongos perfectos) Por unión de gametos, estado teleomorfo. Zigósporas, Ascósporas, Basidiósporas.

Zigomicetos. Hongos que se reproducen sexualmente por zigosporas. Constituyen el grupo de Ficomictos más evolucionado y mejor adaptado a la vida terrestre. Eumicetos (hongos superiores) abarcan a los ascomictos y a los basidiomicetos. Es característico de los mismos la posesión de un micelio septado y la formación de conidiosporas. No presentan células flageladas. Setas (hongos erectos): En el momento propicio, y en lugares cercanos a la superficie, las hifas del micelio vegetativo de un hongo basidiomiceto, forman una masa de

crecimiento (cuerpo fructífero) de aspecto tisular denominado plecténquimas (setas). Es la parte reproductiva de un conjunto más amplio. Una vez desarrollado emite esporas de forma variable según las especies (p.ej. 100.000 esporas/h durante 4-5 días).

2.4.2. Reproducción asexual (hongos imperfectos) Los hongos que tienen reproducción asexual o desconocida (estado anamorfo) se denominan Deuteromycetos.

- a. Gemación en levaduras (unicelulares)
- b. Fragmentación de las hifas (utilizado para resiembras en laboratorio)
- c. Esporulación por germinación de esporas

Las esporas son estructuras unicelulares de resistencia que contienen toda la información genética necesaria para el desarrollo completo de un nuevo hongo.

La estructura del hongo que produce las esporas asexuales se denomina conidiófora. Se forman por estrangulamiento del extremo de las hifas. Los conidióforos son hifas especializadas que presentan gran diversidad de forma, color, tamaño, tipo de septación, etc. Dichas estructuras formadoras de esporas tienen gran importancia en la determinación taxonómica de los hongos. Las agrupaciones de esporas que allí se forman se denominan conidios. Otros tipos de estructuras formadoras de esporas son los Esporangios, Clamidosporas, etc. [Fig. 7.1.](#)

Las esporangiosporas (esporas formadas en el interior de esporangios) de hongos inferiores presentan a menudo flagelos y se denominan zoosporas.

Algunos hongos, como los dermatofitos, producen macroconidias y microconidias ([fig.7.1](#)). Si las conidias se forman por fragmentación de la hifa en células individuales, se habla de artroconidias o atrosporas (oidios). Estas células, se hallan rodeadas en algunos hongos de una pared gruesa formada por condensación del citoplasma y espesamiento de la pared, son formas de reproducción y resistencia denominadas clamidosporas o clamidoconidias

[Fig. 7.1](#) Tipos de esporas y estructuras formadoras de esporas

[Fig. 7.2](#) Aspecto morfológico de hongos filamentosos

[Fig. 7.3](#) Tipos de hongos que se pueden observar creciendo en alimentos

MOHOS

Se da comúnmente el nombre de moho a ciertos hongos multicelulares filamentosos, dotados de un micelio verdadero, microscópicos, y cuyo crecimiento en los alimentos se conoce fácilmente por su aspecto aterciopelado o algodonoso.

LEVADURAS

Las levaduras son hongos que crecen generalmente por gemación, en forma de agregados sueltos de células independientes, que pueden ser globosas, ovoides, cilíndricas o alargadas. En algunos casos, forman cadenas de células alargadas (pseudohifas), adheridas de modo suelto (blastospora), semejantes a un micelio, por lo que se les denomina pseudomicelio.

Algunas especies forman breves extensiones de verdadero micelio, con frecuencia septado (tabicado). Hay especies de levaduras esporógenas. No existe, por tanto, un límite de separación definido entre levaduras y otros hongos que forman un micelio típico. Algunos hongos patógenos para el hombre presentan dimorfismo, pueden existir en la naturaleza en forma de levadura (forma parasitaria) o en forma filamentosas (forma saprófita).

Las levaduras, cuando crecen sobre medios sólidos, forman colonias de aspecto característico que recuerdan a las colonias bacterianas. En casi todas las especies de interés industrial, el modo habitual de reproducción vegetativa es por gemación. A diferencia de los mohos, las levaduras no pueden identificarse solamente por sus caracteres morfológicos; se precisa la ayuda de pruebas bioquímicas para la identificación específica.

LOS MICROORGANISMOS EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA

No todos los microorganismos son patógenos o alterantes, sino que algunos de ellos pueden ser aprovechados por el hombre en la fabricación de diferentes productos. Éste es el caso de las levaduras, que se emplean, por ejemplo, en la elaboración de pan y bebidas alcohólicas como vino y cerveza.

Preparación de cerveza

La cerveza es el producto que se obtiene de una fermentación alcohólica llevada a cabo por levaduras sobre distintos cereales: cebada, maíz, arroz. Estos cereales contienen almidón que no es fermentable por las levaduras, por lo que previamente debe ser hidrolizado a azúcares más sencillos: glucosa y maltosa. La harina de malta es la cebada germinada y contienen gran cantidad de amilasas, enzimas responsables de la hidrólisis del almidón. La activación de estas enzimas se produce a 75 °C, actuando sobre el almidón para romperlo en sus azúcares fermentables. De esta forma, la levadura puede llevar a cabo la fermentación alcohólica para dar CO₂ y C₂H₅OH.

La cerveza es el producto que se obtiene de una fermentación alcohólica llevada a cabo por levaduras sobre distintos cereales: cebada, maíz, arroz.

Preparación de yogur

La fermentación láctica es producida por bacterias capaces de transformar azúcares en ácido láctico, disminuyendo de tal manera el pH del medio, que impiden el crecimiento de otros microorganismos. De este modo, la fabricación de yogur y de otros productos lácteos fermentados tuvo su origen como un método de conservación de la leche. La leche fresca tiene un pH aproximado de 6,6. A este pH la caseína (proteína de la leche) está formando una suspensión coloidal de caseinato cálcico. Conforme las bacterias lácticas van fermentando los azúcares con producción de ácido láctico, el pH disminuye y, al llegar a 4,6, la caseína se desnaturaliza y la leche se coagula formando un producto semisólido, que es el yogur.

CONTAMINACIÓN FÚNGICA DE LOS ALIMENTOS

De la amplia capacidad de dispersión de las esporas fúngicas, se deriva la facilidad y frecuencia con que provocan problemáticas de producción, conservación de alimentos, así como de tipo sanitario.

A. Deterioro de los alimentos:

1. Defectos de aspecto
2. Modificaciones químicas (valor nutritivo, caracteres organolépticos, dificultades de conservación)

B. Problemática sanitaria:

1. Patógena (infecciones micóticas)
2. Alérgica (alergias al polen)
3. Tóxica (micotoxinas)

Las levaduras desarrollan problemáticas meramente infectivas (*Candida albicans*...)

2.5 **Generalidades.** Morfología. Transformaciones micelares. Esporas, clasificación. Reproducción. Ubicación sistemática. Divisiones principales. Caracteres morfológicos diferenciales de cada división. Agrupación en clases, órdenes y familias. Técnicas de identificación.

ENFERMEDADES MICÓTICAS I I: Las principales barreras fisiológicas para el crecimiento de los hongos en los tejidos humanos son:

- Temperatura. La mayor parte de los hongos crecen de forma óptima a temperaturas inferiores a 37 °C.
- Potencial redox. La mayor parte de sus sistemas enzimáticos actúan con mayor eficacia con potenciales redox propios de sustratos muertos, que en el estado relativamente más reducido de los tejidos metabólicamente activos.

Los hongos patógenos primarios o verdaderos poseen una capacidad de adaptación al organismo humano muy alta, que se manifiesta por su dimorfismo. Cuando invaden el organismo humano, forman levaduras gemantes unicelulares (forma levaduriforme). En este estado parasitario, el metabolismo fúngico aumenta con mayor rapidez que en estado vegetativo/saprófito (hongo filamentoso multicelular). El resultado es un microorganismo que crece y se multiplica con mucha mayor rapidez que en su estado natural a temperaturas más bajas (dimorfismo térmico). Estas formas parasitarias son más susceptibles a la fagocitosis de los macrófagos. Muchas de estas infecciones se resuelven de manera espontánea.

Tipos de micosis

1. Micosis cutáneas superficiales: *Microsporum*, se encuentran en general en la piel de mamíferos. Los hongos crecen en lugares en que exista queratina (capa córnea de los epitelios, pelos, uñas)

Se denomina dermatomicosis si afecta a la piel y tiñas si afecta a pelo o uñas.

2. Micosis sistemáticas (generalizadas o profundas), afectan a órganos y vísceras, se inicia la infección por inhalación de esporas que se encuentran en el suelo o el ambiente (mayor frecuencia en zonas cálidas y húmedas de África y América)

3. Micosis subcutáneas (por presencia directa de esporas o fragmentos de micelios en heridas de la piel)

4. Hongos oportunistas: son hongos saprófitos muy difundidos en la naturaleza que solo causan problemas a personas susceptibles o inmunodeprimidas por algún otro cuadro médico, o sometidas por periodos prolongados a tratamiento con inmunosupresores o agentes antibacterianos. Este tipo de micosis puede ser generalizada, localizarse en la piel o mucosas o incluso afectar a algún aparato, generalmente el respiratorio.

La candida albicans es frecuente en las mucosas de la boca, vagina y tubo digestivo. En situaciones de "bajada de defensas" puede desarrollar un proceso invasivo, produciendo lesiones conocidas por el nombre de candidiasis, siendo las más frecuentes:

- a. Las aftas. Placas blanquecinas en la mucosa de boca y faringe (las placas contienen gran cantidad de levaduras y pseudohifas)
- b. Muguet. Lengua blanquecina
- c. Candidiasis vaginal, broncopulmonar,...

| Clase | Reproducción sexual | Ejemplo | Reproducción asexual | Morfología microscópica |
|----------------|--------------------------|--|--------------------------------|-----------------------------|
| Zigomicetos | Zigosporas | Rhizopus | Esporangiosporas / Esporangios | Micelio sin septos |
| Ascomicetos | Ascosporas / Ascas | Estado teleomorfo de la gran mayoría de hongos. Ej. Aspergillus | Esporas externas o conidias | Micelio septado / Levaduras |
| Basidiomicetos | Basidios / Basidiosporas | Estado teleomorfo de C.neoformans | Esporas externas / Conidias | Micelio septado / levaduras |
| Deuteromicetos | Desconocida | Hongos imperfectos y estado anamorfo de todos los hongos | Esporas externas / Conidias | Micelio septado / levaduras |

Recuento de hongos.

Procedimiento:

Muestra problema: Ringer con esporas de *Penicillium* sp., *Mucor* mucedo.

1. Preparar 2 placas de agar Sabouraud.
2. Preparar diluciones -1, -2, -3, -4 de la muestra.
3. Sembrar en superficie, alícuotas de 0,1 ml de las diluciones -1, -2, -3, -4.
4. Incubar las placas a 22 ± 2 °C durante 5 días.
5. Realizar una observación a las 48 h. Si se observa un crecimiento rápido de las colonias, realizar el recuento antes de que la placa sea totalmente invadida.
6. Resultados . Observar la presencia de colonias en la superficie del medio de cultivo. Antes de hacer el recuento hay que distinguir entre las colonias de levaduras y las colonias formadas por las bacterias presentes en la muestra. Para ello, sólo es preciso realizar una tinción Gram de todos los tipos coloniales que puedan inducir a error.
7. Contar las colonias de las placas, procedentes de la misma disolución, que presenten entre 0-50 colonias fúngicas. Calcular el número de ufc de hongos/g-ml. de alimento.

7.2.2. Observación macroscópica de hongos

Procedimiento:

1. Con el asa recta coger una pequeña cantidad de micelio y depositarlo, sin extender la muestra, sobre la superficie del medio de cultivo (Extracto de malta al 5 % de grosor mínimo). Repetir la operación con cada uno de los distintos tipos de colonias fúngicas que se aprecie en la muestra problema (máximo de tres muestras por placa).
2. Incubar las placas entre 5-7 días a 20-25 °C.
3. Con la lupa o con el objetivo de menor aumento, observar y anotar las siguientes características:
 - a. Tipos de colonias fúngicas
 - b. grado de crecimiento
 - c. aspecto de las colonias: forma, textura superficial y color
 - d. formación y tipo de exudado
 - e. producción de pigmentos
 - f. olor

7.2.3. Observación microscópica de hongos.

1. Partiendo de una colonia de hongos de un cultivo puro y utilizando un asa de micología (o bien un asa de picadura), transferir una pequeña cantidad de micelio (cortar un cuadrado de agar malta de 7.2.2) a un portaobjetos, procurando no dañar las estructuras del hongo.
2. Añadir una gota de azul de lactofenol.
3. Colocar un cubre y absorber con papel de filtro el exceso.
4. Observar al microscopio con objetivo de inmersión.
5. Resultados. El lactofenol actúa como líquido de soporte, agente fijador y tiñe el micelio y las esporas de color azul.

Cultivo de Hongos en portaobjetos

Preparación del portaobjetos

1. En una placa de Petri de vidrio, colocar:
 - a. Un disco de papel de filtro en el fondo.
 - b. Un tubo de vidrio en forma de "V"
 - c. Dos vidrios portaobjetos (uno excavado)
 - d. Dos cubreobjetos.
 - e. Esterilizar el conjunto en horno Pasteur

Método A

1. Colocar un cuadrado de A. Sabouraud (de poco grosor) de 0,5 cm. de lado sobre un portaobjetos.
2. Inoculación del hongo: Tomar con asa de micología (o con asa de picadura) una muestra mínima de micelio de la colonia a investigar. Inocularla en el centro del cuadrado. Cubrir con un cubreobjetos estéril.
3. Añadir agua destilada hasta empapar el papel de filtro y colocar en su posición el vidrio portaobjetos con el inóculo. Tapar la placa petri.
4. Incubar a 25 °C. , observándolas diariamente, hasta que se considere que el crecimiento es adecuado para la observación al microscopio (añadir agua si es preciso, para mantener húmedo el ambiente en la cápsula petri)
5. Observar con objetivo (×10, ×40).

Método B

1. Con pipeta Pasteur estéril, añadir en 1 gota de A. Sabouraud (medio fundido a 45°C) en la concavidad del porta excavado. Esperar 2 minutos a que el agar solidifique.
2. Con asa de Kolle, sembrar con esporas del hongo a estudiar.
3. Con un palillo añadir silicona a los 3 lados alrededor del pocillo, dejando el cuarto sin silicona para permitir la entrada de aire, manteniendo así el ambiente aerobio.
4. Colocar un cubre.
5. Añadir agua destilada hasta empapar el papel de filtro y colocar en su posición el vidrio portaobjetos con el inóculo. Tapar la placa petri.
6. Incubar a 25 °C. , observándolas diariamente, hasta que se considere que el crecimiento es adecuado para la observación al microscopio (1 semana).
7. Observar con objetivo (x10, x40).

1. Pruebas morfológicas:

Aspecto de las colonias

Observación microscópica de los cultivos

Presencia de ascosporas

2. Pruebas fisiológicas

- a. Temperatura máxima de crecimiento⁹
- b. Crecimiento en presencia de cicloheximida
- c. Capacidad de utilizar diversos compuestos como fuente única de carbono
- d. Capacidad de utilizar diversos compuestos como fuente única de nitrógeno
- e. Capacidad de fermentación de diferentes azúcares
- f. Capacidad de crecimiento con altas concentraciones de glucosa.
- g. Actividad ureasa

7.3.1. Observación de levaduras. Las colonias de levaduras suelen ser de color crema, más o menos lisas, o de aspecto seco y plegadas, y de tamaño variable. Por ello, el aspecto morfológico de la colonia no representa un habitualmente carácter distintivo importante entre las diferentes especies.

Observación macroscópica de levaduras

Procedimiento

1. Dividir una placa de agar Sabouraud en dos zonas.
2. Sembrar en estría por agotamiento, cultivos frescos de levaduras: *Saccharomyces* y *Cryptococcus* sp.
3. Lectura de resultados en el microscopio. Utilizar el objetivo que resulte más adecuado partiendo siempre del de menor aumento.
4. Realizar una tinción para cada levadura:
 - a. Tinción Gram - *Saccharomyces* (Gram positiva)
 - b. Tinción negativa (presenta cápsula)

Preparación de cerveza.

Procedimiento

1. Preparar en un vaso de precipitados una suspensión de harina de malta al 5 %. (es necesario mantener la suspensión con agitación, ya que la harina no es perfectamente soluble en agua).
 2. Llenar dos tubos con tapón de rosca prácticamente hasta el borde, de manera que se genere una atmósfera microaerófila.
 3. Incubar los tubos a 75 °C, 1 h. para que se activen las amilasas y rompan el almidón.
 4. Al cabo de este tiempo esterilizar en autoclave a 120 °C durante 10 min para eliminar los posibles microorganismos presentes y asegurar que la fermentación se debe únicamente a la levadura.
 5. Una vez enfriados los tubos a temperatura ambiente, inocular uno de ellos con *Sacharomyces cerevisiae*, mientras que el otro tubo no se modifica en absoluto (tubo control).
- Nota: el inóculo puede prepararse resuspendiendo 1 g de la levadura en 50 ml de solución salina estéril.
6. Incubar los 2 tubos a temperatura ambiente durante varios días. En función del inóculo añadido varía el tiempo necesario para la producción de cerveza.
 7. Solamente en el tubo que contiene la levadura se producirá la fermentación alcohólica, que se visualiza por la aparición de burbujas de CO₂. Mediante una tinción

simple se comprueba que la fermentación se debe a levaduras. El tubo en el que no ha habido fermentación permanece estéril. Nota: la cerveza así obtenida se puede filtrar y beber, aunque su sabor no es el de una cerveza comercial, ya que no se le ha añadido el lúpulo.

Preparación de yogurt.

Procedimiento

1. Añadir con pipeta estéril 5 ml de leche pasteurizada a 2 tubos estériles.
2. Uno de los tubos es inoculado mediante el asa de siembra con el cultivo iniciador de la fermentación procedente de un yogur comercial. En estos yogures los géneros más utilizados son: *Lactobacillus* y *Streptococcus*. El otro tubo no se inocula y queda como control.
3. Incubar los 2 tubos durante 16 horas a 46-48 °C para favorecer el crecimiento de estas bacterias, ya que son termófilas (24 h. a 37 °C).
4. Comprobar que se ha producido una fermentación láctica si la leche ha coagulado en el tubo inoculado. Mediante tinción de Gram se confirma la presencia de bacilos y cocos responsables de la fermentación. En el tubo control no inoculado se mantienen las características iniciales: la leche es líquida, y al realizar tinción de Gram no se observa ninguna bacteria (se parte de leche pasteurizada).

Actividades: El alumno realizará un mapa conceptual de la unidad.

Unidad 3

Algas y Protozoos

En este capítulo se estudian los organismos eucariotas más sencillos que existen. Estos son los protozoos, que no más constan de una célula, y las algas y los hongos, que presentan tanto especies unicelulares como especies pluricelulares, pero que son muy sencillas porque todas sus células son prácticamente iguales entre sí. Es decir las algas y los hongos no tienen diferentes tipos de células como si tenemos nosotros. Hace falta recordar que ser sencillos no quiere decir necesariamente ser pequeño. De hecho los organismos vivos más grandes que existen son unas algas denominadas "sargazos", que viven en algunos mares tropicales, y que llegan a tener 200 metros de longitud, por lo que son los organismos más grandes que existen.

Los protozoos y las algas no pueden vivir fuera del agua o de lugares donde siempre hay agua, pero los hongos sí pueden hacerlo gracias a que sus células presentan una sustancia impermeable denominada quitina. Otro motivo por el cual vale la pena estudiar estos grupos de organismos, es que algunas especies de protozoos y de hongos son los responsables de muchas enfermedades de plantas y de animales, incluidos los humanos. Por ejemplo el protozoo Plasmodium que es transmitido por el mosquito Anopheles provoca la malaria o paludismo, que es la principal causa de mortandad en los humanos y contra la cual desgraciadamente todavía no existe ninguna vacuna

3.1 Origen de las algas: endosimbiosis.

Las algas. Son seres eucariotas, unicelulares o pluricelulares talofíticos, autótrofos fotosintéticos, es decir que se nutren de materia inorgánica gracias a que captan la energía luminosa.

Ser pluricelulares talofíticos quiere decir que todas sus células son del mismo tipo, es decir no poseen células especializadas que formen tejidos diferentes. Este tipo de estructura se denomina talo. Debido a esto, las algas carecen de un tejido epidérmico impermeable que evite su desecación y, por lo tanto, no pueden vivir fuera del agua, salvo que se trate de lugares muy húmedos. Algunas presentan formas parecidas a hojas, tallos y raíces pero como

estas estructuras carecen de tejidos conductores internos, no son auténticas hojas, tallos y raíces y no se pueden incluir en el Reino de las Plantas. Es decir no son plantas.

Se reproducen asexualmente por bipartición, fragmentación o mediante esporas, y sexualmente mediante gametos. Generalmente la reproducción es alternante.

En cuanto a los pigmentos, las macroalgas que forman grandes bosques marinos en las profundidades de océanos templados y polares, no reciben la intensidad lumínica normal, debido a que al vivir en grandes profundidades los rayos de luz son filtrados, por lo tanto, cuentan con pigmentos accesorios que les permiten realizar la fotosíntesis. Dado la presencia de pigmentos de diferentes colores, se han generado sistemas de clasificación, pero no es pertinente clasificarlas por su coloración debido a que el filo de algas rojas puede contener algas de color azul o púrpura, por ejemplo.

Algunas forman asociaciones simbióticas con arrecifes de coral e invertebrados marinos, un ejemplo de esto son las zooxantelas que pueden crecer al interior de los arrecifes de coral a pocas profundidades. A esas profundidades pueden realizar fotosíntesis y brindar alimento y oxígeno al coral, el coral, por su parte, libera CO_2 necesario para el alga.

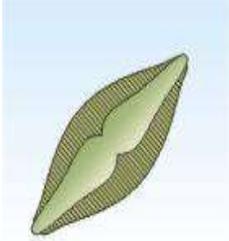
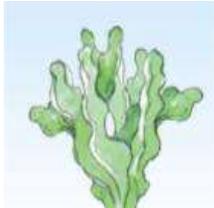
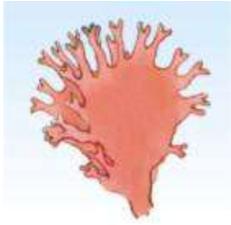
En agua dulce tienden a ser pequeñas (microalgas) y forman grandes películas consideradas como fitoplancton. En estos ambientes se encargan de ser los productores primarios que inician el ciclo de nutrientes y oxigenan el agua. Actualmente, los análisis de calidad del agua incluyen la revisión de las algas presentes en los ecosistemas de agua dulce, por lo general, ecosistemas con sustancias tóxicas tendrán una menor riqueza de algas y albergarán unos tipos de algas característicos; así mismo, ecosistemas con excesos de nutrientes generarán una película de algas en la superficie y saturarán de oxígeno la misma, dejando poca disponibilidad de luz para la zona bentónica, por lo tanto, se reducirá la cantidad de oxígeno dada la muerte de las algas en la profundidad.

3.2 Características de los organismos fotosintéticos Criterios de clasificación.

La clasificación de las algas que permite conocerlas con mayor facilidad se basa en si son unicelulares o multicelulares. Las multicelulares son por lo general clasificadas en tres grupos, Chlorophyta (algas verdes), Phaeophyta (algas pardas) y Rhodophyta (algas rojas). Las

unicelulares, generalmente llamadas microalgas, son Chrysophyta, Diatomeas y Dinoflagelados.

Se clasifican en parte según los pigmentos fotosintéticos que poseen. Estos pueden ser verdes (algas verdes), marrones (algas marrones o pardas) o rojos (algas rojas).

| | | | | |
|--|--|--|---|--|
| <p>Algas flageladas. Son unicelulares y flageladas Forman parte del plancton</p>  | <p>Algas diatomeas. Son unicelulares. Presentan un estuche de sílice y un pigmento fotosintético amarillento. Forman parte del plancton.</p>  | <p>Algas verdes. Pueden ser unicelulares (planctónicas) o pluricelulares (bentónicas) y en ellas predomina el pigmento verde clorofia</p>  | <p>Algas pardas. Son pluricelulares y en ellas predominan los pigmentos marrones. Pueden vivir fijadas al fondo (bentónicas) o flotando en el mar</p>  | <p>Algas rojas. Son pluricelulares y en ellas predominan los pigmentos rojos. Son bentónicas y algunas acumulan carbonatos por el que contribuyen a formar los arrecifes coralinos.</p>  |
|--|--|--|---|--|

3.3 Descripción de las siguientes Divisiones: Clorofita, Rodofita, Heterocontofita, Criptofita, Haptofita, Dinofita, Caracteres morfológicos, ultra estructurales. Formas de reproducción.

Chlorophyta (algas verdes)

El grupo de las algas verdes se considera que abarca entre 6.000 y 8.000 especies, de las cuales la mayoría son pertenecientes a ecosistemas dulceacuícolas y una pequeña proporción se distribuye en los océanos. La tendencia es a ser sésiles (sin movimiento), aunque algunas se pueden encontrar flotando en la columna de agua. Como su nombre indica, son verdes dada la presencia de clorofila, pero algunas presentan diferentes pigmentos accesorios que pueden hacer variar su coloración y presentarlas con tonos oscuros o amarillos. Pueden

reproducirse asexualmente por fragmentación, sin embargo, la tendencia es reproducirse sexualmente.

Rodophyta (algas rojas)

Son macroalgas que se presentan en ecosistemas marinos ubicados principalmente en regiones tropicales. Agrupan aproximadamente 6.000 especies y la coloración roja característica se debe a la acumulación de un pigmento llamado ficoeritrina. Este pigmento es considerado un pigmento accesorio a la clorofila, el cual permite absorber la poca luz que ingresa a grandes profundidades.

Comercialmente las algas rojas son de gran importancia gastronómica para la cocina Japonesa (Nori), sus paredes celulares son procesadas para producir polímeros espesantes de alimentos, así mismo, los géneros *Gelidium* y *Gracilaria* son utilizados para la elaboración de agarosa empleada en laboratorios.

Phaeophyta (algas pardas)

Las algas pardas son las que comúnmente forman los bosques marinos en zonas templadas y árticas. Este grupo es netamente marino y abarca aproximadamente 1.500 especies. Por lo general, son muy grandes (macroalgas) representadas por los géneros *Laminaria*, *Macrocystis* y *Nerocystis*. La coloración se considera que está dada por un pigmento accesorio llamado fucoxantina, en función de su cantidad pueden ser más oscuras o más claras.

Chrysophyta

Es un grupo muy diverso que se encuentra principalmente en ambientes de agua dulce con temperaturas bajas. Son organismos generalmente flagelados y unicelulares, pueden contener fucoxantina y diferentes tipos de clorofila. La reproducción es asexual y, en condiciones de ausencia de luz, se ha evidenciado que pueden llegar a consumir otros organismos, presentando características heterótrofas.

Dinoflagelados

Son muy conocidas porque algunas especies pueden ser bioluminiscentes y, en la oscuridad, generan un patrón de luminiscencia característico en determinados océanos. Se considera que existen en promedio 2.000 especies, las cuales se pueden distribuir en diferentes hábitats, como lo son aquellos a temperaturas menores a 0 °C. En este grupo se encuentran la mayoría de algas que tienen endosimbiosis con otros organismos, también se agrupan algunas otras que secretan toxinas, las cuales pueden ser letales para peces y determinados vertebrados.

Diatomeas

Son organismos comunes en agua dulce que presentan una morfología característica debido a la presencia de un caparazón calcáreo constituido muchas veces por silicio. En los ecosistemas se ubican principalmente en las rocas del bentos, allí, proporcionan alimento para especies raspadoras y oxigenan las profundidades.

3.4 Origen de “protistas”, características distintivas.

Los científicos consideran que los primeros protistas surgieron hace unos 1.400 millones de años siendo organismos aerobios que tenían la capacidad de realizar la fotosíntesis. De ellos surgieron muchos grupos que dieron lugar a los protistas heterótrofos. La evolución de los protistas básicamente es la historia de la célula eucariota. Posiblemente los primeros protistas fueron ameboides que capturaban las partículas por medio de fagocitosis y tenían flagelos, antes o después de que adquirieran mitocondrias, y muchos también poseían cloroplastos, que se cree se originaron mediante una asociación entre primitivos flagelados eucariotas fagocíticos y procariotas simbiotes.

Los protistas son una colección diversa de muchos organismos. Si bien existen algunas excepciones, son principalmente microscópicas y unicelulares, y se encuentran formadas por una sola célula. Las células de los protistas se encuentran altamente organizadas con un núcleo y una maquinaria celular especializada conocidas con el nombre de organelos. En un momento, los organismos simples como las amebas y las algas unicelulares se clasificaron

juntas en una sola categoría taxonómica: el reino Protista. Sin embargo, la aparición de una mejor información genética ha llevado a una comprensión más clara de las relaciones evolutivas entre los diferentes grupos de protistas. Comprender a los protistas y su historia evolutiva siempre está en discusión científica.

Las principales características del reino Protista son las siguientes:

- Muchos de estos organismos son unicelulares y muy pocos son multicelulares.
- Por lo general son bacterias que pueden llegar a causar diversas enfermedades.
- Derivan de otros organismos antiguos, y poseen una estructura simple y propia de los organismos eucariotas.
- Su nutrición es autótrofa, heterótrofa o por fotosíntesis.
- Necesitan de la humedad para sobrevivir, y ninguno puede vivir en el aire.
- Pueden reproducirse de forma asexual como sexual.
- Tienen un sistema respiratorio que funciona por medio de un proceso aeróbico.
- Son capaces de moverse y desplazarse, bien sea por reptación, flagelos o cilios.
- Pueden llegar a ser patógenos por sus características y causar problemas de salud.

3.5 Evolución, taxonomía y diversidad. Formas de identificación. Uso de claves de determinación.

Los protistas tienen muchas líneas evolutivas difíciles de definir. La mayoría son unicelulares y microscópicos, aunque algunos forman colonias. Esta organización casi alcanza los organismos pluricelulares superiores indicando evolución a partir de ancestros protistas. Los protistas se ubican en un reino intermedio, y se pueden encontrar desde los organismos unicelulares eucariotas y las colonias simples, hasta algunas algas superiores y grupos de transición.

El reino Protista se divide en dos grandes grupos que son:

- **Algas:** son organismos que tienen una única célula o unicelulares, y por lo general viven en el agua, aunque algunos pueden habitar lugares húmedos. Su reproducción es sexual o asexual y entre ellas tenemos las algas rojas, verdes, pardas.

- Protozoarios: son también unicelulares que poseen un tipo de nutrición heterótrofa. Se reproducen asexualmente por bipartición. Algunos de ellos son parásitos y se clasifican dependiendo de su locomoción, de manera que podemos encontrar flagelados, ciliados, rizópodos y esporozoarios.
- El dominio del reino Protista pertenece al dominio Eukarya que contiene cuatro reinos. Esta agrupación se fundamenta en que este tipo de organismo no encajan en ninguno de los otros tres reinos de eucariotas.

El hábitat del reino Protista se adapta principalmente a la existencia en el aire, por lo que los protistas no son directamente acuáticos, aunque pueden desarrollarse en ambientes terrestres húmedos o en el medio interno de otros organismos.

Algunos integrantes del reino Protista son beneficiosos para el ser humano, muchas convierten el nitrógeno atmosférico en nitrógeno orgánico necesario para que las plantas puedan crecer. Las algas verdes producen también oxígeno. Algunos protozoarios también son el alimento para otros animales pequeños y algunos se encargan de secretar sustancias minerales que forman depósitos en los mares formando la piedra caliza. También están los que ayudan al ganado vacuno para digerir los alimentos.

Los protistas son la parte más importantes del plancton esencial para los ecosistemas acuáticos y para las criaturas que habitan en los suelos. El reino Protista es el que representa el origen y la evolución de la célula eucariota. Muchos de ellos son organismos que ayudan a mantener el equilibrio entre los animales vivos. Son además, el primer escalón de la cadena trófica porque de ellos se alimentan pequeñas criaturas que más tarde serán el alimento de otros animales, o pasarán a ser compuestos orgánicos de los que se alimentan las plantas.

3.6 Crecimiento, nutrición, formas de reproducción.

Los animales que pertenecen al reino Protista son autótrofos, esto quiere decir que se alimentan por fotosíntesis, aunque también pueden ser heterótrofos. Muchos de ellos pueden presentar al mismo tiempo los dos modos de nutrición. Los heterótrofos pueden serlo

por ingestión o por absorción osmótica. Algunos de estos animales son parásitos, que pueden incluso llegar a causar enfermedades muy graves en los seres humanos.

El tipo de reproducción que se da en el reino Protista puede ser asexual o sexual, dependiendo de las características del ambiente, y en ocasiones se puede alternar entre los dos tipos de reproducción. Cuando las condiciones son óptimas se puede reproducirse asexualmente y generar una colonización del ambiente; y cuando hay presiones fuertes para la especie y condiciones adversas se da la reproducción sexual.

Los integrantes del reino Protista no tienen ningún tipo de sistema respiratorio por lo que el mecanismo de respiración es por medio de difusión de gases por la membrana plasmática. Pueden ser aerobios y anaerobios y el tipo de respiración que se da es la respiración celular que se realiza por medio de las mitocondrias en los protistas.

Algunos ejemplos de organismos protistas son los siguientes:

- Plasmodium falciparum que provoca malaria, transmitida por el mosquito Anopheles.
- Trypanosoma cruzi que produce el mal de Chagas en Latinoamérica.
- Plasmodium vivax causante de la malaria.
- Plasmodium malariae que también transmite malaria.
- Leishmania donovani que provoca la enfermedad de leishmaniasis.
- Cyclospora cayetanensis que provoca enfermedades en humanos y primates.
- Babesia canis que infecta los glóbulos rojos y produce anemia.

Actividades: El alumno realizará un cuadro sinóptico de la unidad.

Unidad 4

Aspectos ecológicos e importancia de las algas y protistas.

Los protozoos juegan un papel ecológico importante: forman un eslabón de la cadena alimenticia, son productores de materia orgánica, depredadores naturales de bacterias (principalmente Gram negativas), conforman el zooplancton en mares, océanos y cuerpos de agua, donde representan la conexión trófica entre los productores y recicladores de nutrientes. Aparte del valor intrínseco que poseen, el valor económico se ve reflejado en los procesos industriales (bioinsecticidas) y de transformación (tratamiento de aguas residuales, bioremediación) y la importancia que tienen en la salud como agentes infecciosos causantes de la malaria o la amibiasis.

4.1 Importancia económica: alimento, industria, acuicultura.

Las algas durante la historia han sido utilizadas con diferentes fines, tal es el caso de la agarosa empleada en los laboratorios para la elaboración de medios de cultivo. Actualmente, existen varias aplicaciones en la industria de alimentos, como lo son espesantes naturales y la generación de biopolímeros como conservantes.

Otra aplicación está enmarcada principalmente por microalgas, que están siendo utilizadas para la producción de biodiesel, combustible alternativo a los combustibles fósiles, que generan afectaciones grandes para la biosfera. El biodiesel se degrada mucho más rápido que los combustibles fósiles y genera menor cantidad de emisiones gaseosas que contaminan la atmósfera. La utilización de las algas con estos fines, se debe a la gran acumulación de ácidos grasos y lípidos en general, además, el crecimiento es rápido y pueden ser cultivadas en biorreactores o pequeños recipientes por lo cual no es necesario ocupar grandes espacios.

4.2 Indicadores biológicos.

El grupo de los denominados indicadores biológicos o bioindicadores incluye especies de plantas y animales; muestra cambios en sus números, presencia/ausencia, condición y/o comportamiento, y proporciona información sobre la salud de un ecosistema, pues la

tensión – sin importar los factores que la causen – ocasiona cambios cuantitativos y cualitativos en la estructura y el funcionamiento de las comunidades. Si se conocen los patrones de respuestas de las comunidades bióticas a la tensión, identificarlos puede exponer las clases de tensión que operan y, a veces, sus posibles fuentes.

Por lo general, los cambios estructurales pueden ser medidos a través del análisis de la diversidad de especies y/o su composición. Los funcionales pueden identificarse midiendo la actividad fotosintética, o las tasas de crecimiento y fecundidad, que no requieren la frecuencia de medición de los estructurales. Un enfoque de ICM debería detener los múltiples impactos en el ambiente marino. Mientras el uso de bioindicadores no se ha formalizado, las investigaciones indican la conveniencia de emplear varios organismos como indicadores tempranos de degradación de los ecosistemas costeros.

Las especies indicadoras son aquellos organismos (o restos de los mismos) que ayudan a descifrar cualquier fenómeno o acontecimiento actual (o pasado) relacionado con el estudio de un ambiente. Las especies tienen requerimientos físicos, químicos, de estructura del habitat y de relaciones con otras especies. A cada especie o población le corresponden determinados límites de estas condiciones ambientales entre las cuales los organismos pueden sobrevivir (límites máximos), crecer (intermedios) y reproducirse (límites más estrechos). En general, cuando más estenoica sea la especie en cuestión, es decir, cuando más estrechos sean sus límites de tolerancia, mayor será su utilidad como indicador ecológico. Las especies bioindicadoras deben ser, en general, abundantes, muy sensibles al medio de vida, fáciles y rápidas de identificar, bien estudiadas en su ecología y ciclo biológico, y con poca movilidad.

A principios de siglo se propuso la utilización de listas de organismos como indicadores de características del agua en relación con la mayor o menor cantidad de materia orgánica. La idea de usar como indicadores a las especies se generalizó, aplicándose a la vegetación terrestre y al plancton marino. En determinadas zonas las plantas se usaron ampliamente como indicadores de las condiciones de agua y suelo; algunas plantas, de la presencia de uranio, etc. Distintos organismos planctónicos se utilizan como indicadores de eutroficación.

En oceanografía los bioindicadores se utilizan en estudios de hidrología, geología, transporte de sedimentos, cambios de nivel oceánico, o presencia de peces de valor económico, por ejemplo. Los indicadores hidrológicos son organismos mediante los cuales se pueden diferenciar las distintas masas de agua de mar (masas que difieren en sus características físicas, químicas, de flora y fauna, y que se caracterizan, en general, por su temperatura y salinidad) y determinar sus movimientos. Los organismos pueden ser usados como sensores de una masa de agua, requiriéndose que sean fuertemente estenoicos para que no sobrevivan a condiciones diferentes a las de la masa de agua que caracterizan, o bien como trazadores de una corriente, si son más o menos resistentes a los cambios ambientales y sobreviven en condiciones diferentes, indicando la extensión de una corriente que puede atravesar varias masas de agua. Estos métodos biológicos son más útiles que las determinaciones físicas o químicas especialmente en las zonas marginales, de cambio, y, además, informan sobre el grado de mezcla de dos tipos de agua en las zonas intermedias.

La utilización de organismos vivos como indicadores de contaminación es una técnica bien reconocida. La composición de una comunidad de organismos refleja la integración de las características del ambiente sobre cierto tiempo, y por eso revela factores que operan de vez en cuando y pueden no registrarse en uno o varios análisis repetidos. La presencia de ciertas especies es una indicación relativamente fidedigna de que durante su ciclo de vida la polución no excedió un umbral.

Muchos organismos, sumamente sensibles a su medio ambiente, cambian aspectos de su forma, desaparecen o, por el contrario, prosperan cuando su medio se contamina. Cada etapa de autodepuración en un río que sufrió una descarga de materia orgánica se caracteriza por la presencia de determinados indicadores. Según su sensibilidad a la polución orgánica se clasificaron especies como intolerantes, facultativas, o tolerantes.

Los indicadores de contaminación por desechos industriales generalmente son resistentes a la falta total o parcial de oxígeno, la baja intensidad de luz, etc. Los monitoreos biológicos

son muy útiles, ya que, por ej., la acumulación de metales pesados en organismos acuáticos puede ser 10 millones de veces mayor a la del ambiente donde viven.

El uso de organismos indicadores de contaminación requiere conocer las tolerancias ecológicas y los requerimientos de las especies, así como sus adaptaciones para resistir contaminantes agudos y crónicos. Las investigaciones sobre organismos indicadores de polución comprenden el estudio autoecológico, en el laboratorio, para establecer los límites de tolerancia de una especie a una sustancia o a una mezcla de ellas mediante ensayos de toxicidad; y el sinecológico, que se basa en la observación y análisis de las características ambientales de los sitios en los cuales se detectan con más frecuencia poblaciones de organismos de cierta especie. Algas, bacterias, protozoos, macroinvertebrados y peces son los más usados como indicadores de contaminación acuática.

La mayoría de los estudios estiman características estructurales a diferentes niveles de organización, como cambios en la estructura celular, o en la diversidad de especies, pero, más recientemente, se han incluido características funcionales, como producción y respiración.

Los resultados del estudio de las especies indicadoras de niveles de calidad de agua son más inmediatos, pero requieren un profundo conocimiento para identificar los organismos y sólo son adecuados para las condiciones ecológicas y características regionales; mientras que los resultados numéricos de los estudios de estructura de comunidades, si bien requieren su interpretación ecológica, demandando más tiempo, son independientes de las características geográficas regionales y tienen aplicabilidad aún con informaciones sistemáticas y ecológicas deficientes.

En las evaluaciones de riesgo ecológico se ha propuesto el uso de indicadores de conformidad, de diagnóstico, y tempranos de daño.

Linton y Warner (2003) proponen una serie de bioindicadores para monitorear ecosistemas costeros en el Caribe, que pueden ser adaptados para el monitoreo ambiental de los puertos. Los manglares, los pastos marinos y los arrecifes están estrechamente relacionados

y existen en un equilibrio dinámico influido por el contacto con tierra firme (Ogden, 1988). Los sedimentos y los nutrientes provenientes de la escorrentía son filtrados primero por los bosques costeros, luego por los manglares y, finalmente, por las praderas de pastos marinos. Los arrecifes dependen directamente de la capacidad tampón de los ecosistemas costeros, que ayudan a crear las condiciones oligotróficas en las cuales aquellos prosperan y, por su parte, mitigan los efectos del océano abierto sobre tierra firme.

Algunos problemas potenciales del uso de bioindicadores en el ICM incluyen las fluctuaciones naturales, inherentes a sistemas complejos como arrecifes de coral o la manifestación de una respuesta a varios agentes causales (v.g.: blanqueamientos de corales). La verificación de la abundancia de una especie particular puede no ser concluyente o hasta errónea (Spellerberg, 1991), pero un monitoreo de ensambles multiespecíficos puede reducir

este problema, pues respuestas demográficas similares de varias especies reducen el ruido asociado con las fluctuaciones naturales en los números de una particular (Soulé, 1988). La supervisión de los cambios estructurales mediante diversidad y abundancia puede no ser suficientemente sensible, así que se pueden emplear las tasas de crecimiento o fecundidad (p.e. tamaño de la primera reproducción, promedio de huevos/hembra, reclutamiento) o la distribución de frecuencia de tallas.

La selección de bioindicadores más apropiados depende de los objetivos de una evaluación particular o un programa de monitoreo, pues pueden variar enormemente entre islas, países y

regiones, según el estado de los ecosistemas, la estructura de dirección en el lugar y las condiciones socioeconómicas y políticas; no obstante, se debe tener en cuenta que ninguna especie bioindicadora satisface todos los requerimientos. Los monitoreos bióticos deberían ser

costo-efectivos, emplear metodologías científicas rigurosas, fáciles de aprender y adaptables y, además, requerir equipo relativamente barato para poder ser adoptados en programas ICM, en países en desarrollo.

Para cada bioindicador, se reseña su potencial y se recopilan las metodologías descritas

para muestreo y uso. El desarrollo de las metodologías varía ampliamente, mientras algunos indicadores cuentan con bioíndices y escalas de calificación y protocolos estrictos de muestreo, otras metodologías son incipientes.

4.3 Especies problemáticas: tóxicas, floraciones algales.

Las algas planctónicas constituyen la base de la cadena trófica marina y su crecimiento y multiplicación celular es de gran importancia en la economía del mar ya que dicho proceso regula en forma directa o indirecta la abundancia de los demás organismos marinos. Sin embargo, en ocasiones florecen algunas especies de microalgas que alteran los ecosistemas, causan mortalidad de peces y/o contaminan los alimentos con toxinas produciendo serios problemas a la salud humana.

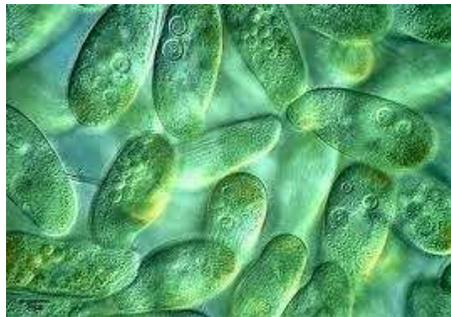
Aunque popularmente conocidos por el nombre de "Mareas Rojas", la comunidad científica ha coincidido en denominar a estos eventos con el nombre genérico de "Florecimientos de Algas Nocivas" (FAN; o "HAB" en inglés, de "Harmful Algal Blooms"). En una primera clasificación suelen distinguirse dos grupos principales de organismos causantes de FAN: Los que producen toxinas y por lo tanto pueden contaminar los alimentos marinos o producir mortalidad de peces, y Los que no producen toxinas pero causan otros efectos nocivos, tales como mortalidad de organismos por anoxia, mortalidad de peces por daño físico a sus branquias u otros órganos, producción de mucílagos que se acumulan en las playas o de otros metabolitos que afectan la calidad del ambiente.

Entre los organismos fitoplanctónicos causales de FAN se incluyen los dinoflagelados, las cianobacterias, las diatomeas y otros grupos del fitoplancton (prymnesiophyta y raphidophyta) de menor importancia. No todos los eventos causados por algas nocivas están asociados al desarrollo de grandes acumulaciones de biomasa capaces de producir un cambio de color en la superficie del mar. Muchas especies son nocivas aún en muy bajas concentraciones. También debe señalarse que algunos FAN son causados por la proliferación de microalgas bentónicas capaces de producir toxinas que pueden ser transferidas a otros organismos a través de la trama alimentaria. Se ha estimado que de las 3000 a 4000 especies de microalgas reconocidas en el fitoplancton marino, sólo alrededor

de 200 especies han producido florecimientos masivos. La capacidad de producir potentes toxinas es aún más reducida ya que sólo se han reconocido alrededor de unas 80 especies tóxicas, aunque este número se está incrementando rápidamente.

4.4 Causantes de enfermedad.

Los *protistas* son en su mayoría organismos unicelulares que pueden causar muchas enfermedades graves que pueden llegar a ser mortal si no se trata adecuadamente. Sin embargo, la mayoría de estas enfermedades se pueden tratar y la causa de la infección puede ser establecido.



Los protistas son eucariotas, es decir que tienen un núcleo, y se clasifican en el reino Protista, que incluye también las algas, protozoos y algunos tipos de hongos. Estos organismos no son ni plantas ni animales, por lo que se clasifican en su propio reino. El término "protista" fue acuñado en 1886 por Ernst Haeckel, un zoólogo y evolucionista alemán. Los protistas pueden ser parásitos, lo que significa que causen daños mientras vivan en los ejércitos. Estos protistas parásitos son transportados por vectores, organismos que transmiten el parásito e infectan a la población humana.

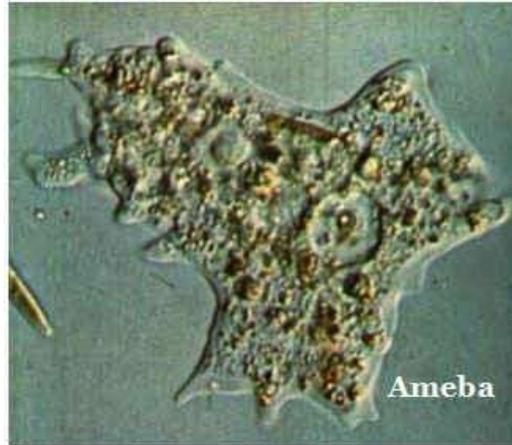
La *malaria* es una enfermedad infecciosa que mata hasta 2,7 millón de personas al año, sobre todo en climas tropicales y subtropicales, como las áreas por debajo del desierto del Sahara en África. Aunque no se ve mucho en los Estados Unidos, los viajeros procedentes de países como África o América del Sur pueden transmitir la enfermedad a su regreso a casa. La malaria es causada por un protista parasitaria que es transportado por el mosquito, un insecto chupador de sangre, que también se conocen casos de transmisión del virus del Nilo Occidental. El protista se instala en el torrente sanguíneo, causando capilares se tapen y los

glóbulos rojos mueran. Los síntomas incluyen fiebre, sudoración excesiva, escalofríos intensos , malestar, vómitos y diarrea.

Enfermedad africana del sueño , también conocida como tripanosomiasis , es que se encuentran principalmente en las zonas por debajo del desierto del Sahara en África. El protista parásito que causa esta enfermedad , tripanosoma , se realiza por la mosca tsé-tsé , que sólo se encuentra en África. Tras la infección inicial , los síntomas pueden incluir dolor de cabeza , fiebre y dolor articular severo . Una vez que el protista se mueve en el sistema nervioso central , el anfitrión va a experimentar problemas de coordinación , fatiga y confusión general . La tripanosomiasis es mortal sin tratamiento médico. Giardiasis

Esta enfermedad es causada por la giardia protistas , que es uno de los parásitos que se encuentran más frecuentemente transmitidas por el agua en Estados Unidos. La infección se produce normalmente después de beber agua contaminada, por lo general de un lago , arroyo o pozo. El parásito también puede contaminar el agua a través de las heces de animales infectados . Estos protistas pueden ser ingeridos directamente o como quistes, que se romperá abierto en el interior del cuerpo humano , liberando el parásito . Giardia se adhiere a la pared intestinal , que causa diarrea acuosa o heces aceitosas , náuseas, dolores de estómago y fatiga.

Amebiana Disentería. disentería amebiana es más comúnmente conocido como " venganza de Moctezuma ". Esta aflicción es causada por la ameba Entamoeba histolytica y se transmite de manera similar a la giardiasis , infección del huésped a través de la ingestión de agua o alimentos contaminados . El parásito puede ser ingerido , ya sea como amebas libres , que por lo general mueren en el ambiente ácido del estómago , o quistes infecciosos , que pueden reventar y liberar el parásito en los intestinos . Esta enfermedad generalmente afecta a los viajeros que visitan países extranjeros donde el agua puede estar contaminada . Los síntomas incluyen diarrea con sangre , dolor al defecar o peritonitis, que es una infección de la mucosa intestinal.



4.5 Crecimiento y nutrición microbian.

Los factores de crecimiento son moléculas orgánicas específicas que, en muy pequeña cantidad, algunas bacterias necesitan para crecer. Salvo excepciones no tienen función plástica (no son sillares de macromoléculas) ni sirven como fuente de energía. Suelen ser coenzimas o sus precursores, vitaminas, que determinadas bacterias no pueden fabricar por sí mismas, al carecer de parte o toda una ruta biosintética.

Ejemplos: las bacterias del género *Brucella* requieren como factores de crecimiento en sus medios de cultivo la biotina, niacina, tiamina y ácido pantoténico. *Haemophilus* necesita suplementos de grupos hemo y piridín-nucleótidos.

4.5.1 El H₂O

Las bacterias necesitan grandes cantidades de agua. De hecho, salvo excepciones, se pueden considerar como organismos acuáticos. Requieren cierto grado de humedad para crecer. Desde el punto de vista de sus posibles papeles, el agua es:

- el principal constituyente del protoplasto bacteriano;
- el medio universal donde ocurren las reacciones biológicas;
- un reactante en exceso (es decir, un producto resultante de algunas reacciones bioquímicas).

Las fuentes de agua pueden ser:

- endógena: procedente de procesos de oxidación-reducción;

- exógena (la más importante): procedente del medio, y que difunde a través de las membranas.

Ahora bien, no toda el agua de un ambiente está disponible para la bacteria:

- Existen determinadas sustancias que absorben y superficies que adsorben de modo más o menos intenso moléculas de agua, dejándolas inasequibles para la bacteria.
- Los solutos disueltos en agua (p. ej., sales, azúcares) tienen afinidad por las moléculas de H₂O que los rodean, por lo que éstas tampoco estarán a disposición del microorganismo.

La disponibilidad de agua se mide por un parámetro llamado actividad de agua o potencial de agua, indicativo del agua libre, y que se expresa como $a_w = P_s/P_w$

donde P_s es la presión parcial de vapor de agua en la solución problema y P_w es la presión parcial de vapor del agua destilada.

¿Cómo medir el potencial de agua de un medio líquido determinado? Se mide la humedad relativa del aire que hay encima del medio (en frascos), y este valor se refiere al valor de 100, que es la humedad del aire encima del agua destilada. O sea, la $a_w = \text{humedad relativa}/100$).

Las bacterias tienen valores de a_w normalmente entre 0.90 y 0.99.

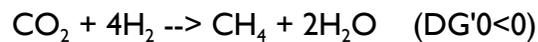
- Bacterias de hábitats oligotróficos (como *Caulobacter*, *Spirillum*) tienen a_w cercanos a 1.
- Bacterias como *Escherichia* y *Streptococcus*, que viven en sangre y fluidos corporales, tienen a_w de alrededor de 0.995.
- Bacterias marinas como ciertos *Vibrio* y *Pseudomonas* encuentran valores de 0.980.
- Ciertos bacilos Gram-positivos que resisten mejor la sequedad poseen valores de 0.950.
- En el extremo de resistencia encontramos ciertas bacterias xerófilas, capaces de vivir a a_w muy bajos (en torno a 0.75). Muchas de estas bacterias viven de hecho en medios acuosos, pero donde gran parte del agua no está disponible por las razones arriba citadas:

- procariotas halófilos extremos, como la arquea Halobacterium, que habita en lagunas hipersalinas;
- bacterias (y sobre todo, ciertos microorganismos eucarióticos como levaduras) sacarófilos, que viven en jugos y zumos con altas concentraciones de azúcares.

4.5.2 EL CO₂

El anhídrido carbónico es requerido por todo tipo de bacterias:

- Las autotrofas lo requieren como fuente de carbono, y lo reducen usando como fuente de energía la luz (en el caso de las fotoautotrofas) u oxidaciones de determinadas sustancias inorgánicas (los quimioautolitotrofos).
- Las arqueas metanogénicas pueden usar el CO₂ como aceptor de los electrones procedentes de la oxidación del H₂, proceso por el que obtienen su energía de modo litotrofo:



Además, algunas arqueas no sólo usan CO₂ como aceptor de electrones para obtener energía, sino que, además lo usan como fuente de carbono celular (arqueas metanogénicas autotrofas).

- Los heterotrofos, aunque no usan el CO₂ como fuente de C ni como aceptor de electrones, necesitan pequeñas cantidades para las carboxilaciones en determinadas rutas anabólicas y catabólicas.

El origen del CO₂ puede ser:

- endógeno: procedente de descarboxilaciones que ocurren al degradar la fuente orgánica de carbono;
- exógeno: el CO₂ de la atmósfera o disuelto en las soluciones acuosas.

Normalmente, las bacterias crecen a la concentración de CO₂ atmosférico (0.03%), pero algunas bacterias (Neisseria, Brucella), cuando se aíslan por primera vez, requieren atmósferas enriquecidas, con 5-10% de CO₂. Ello parece deberse a que poseen alguna enzima con baja afinidad hacia el carbónico; sin embargo, tras varios subcultivos, suelen adaptarse a crecer a tensiones normales.

4.5.3 FÓSFORO

Suele requerirse en forma de fosfatos, sea orgánicos o inorgánicos. Las bacterias que pueden usar los fosfatos orgánicos (merced a la posesión de fosfatasa) no dependen absolutamente de ellos, ya que pueden recurrir igualmente a los fosfatos inorgánicos. Los fosfatos orgánicos son hidrolizados por fosfatasa extracelulares o (en las Gram-negativas) periplásmicas (p.ej., la fosfatasa alcalina).

El fósforo se usa principalmente para la síntesis de los ácidos nucleicos y los fosfolípidos, pero aparece también en coenzimas y en proteínas.

4.5.4 SALES MINERALES

Las sales minerales son la fuente de aniones (p. ej. el Cl^-) y de cationes para la célula. Los siguientes cationes, concretamente, se necesitan en cantidades relativamente grandes: K^+ , Mg^{++} , Ca^{++} , Fe^{++} .

- El ión potasio (K^+):
 - interviene en la activación de una variedad de enzimas, incluyendo las que participan en la síntesis de proteínas.
 - En Gram-positivas está asociado con los ácidos teicoicos de la pared.

- El ión magnesio (Mg^{++}):
 - estabiliza ribosomas, membranas y ácidos nucleicos;
 - como cofactor en muchas reacciones, especialmente las que implican transferencia de grupos fosfato. Por ejemplo, en las reacciones que requieren ATP, el Mg^{++} puede unir la enzima al sustrato durante el mecanismo de acción de la primera.
 - Participa de las clorofilas y bacterioclorofilas de bacterias fotosintéticas.

- El ión calcio (Ca^{++}):
 - es un cofactor de ciertas enzimas, como proteinasas.

- El hierro (principalmente como ión ferroso, Fe^{++}) suele estar acomplejado en la naturaleza, formando sales insolubles. Las bacterias disponen de una serie de

moléculas, denominadas sideróforos, capaces de captar ese hierro (p.ej., hidroxamatos y enterobactina). El hierro

- participa en muchas moléculas implicadas en procesos de respiración, como citocromos y ferroproteínas no hémicas (proteínas con Fe-S);
- interviene como cofactor en ciertas enzimas.

Aparte de estos iones que se requieren en cantidades relativamente grandes, las bacterias necesitan minúsculas cantidades de otros elementos (oligoelementos), a los que también se denomina como micronutrientes o elementos traza:

- El manganeso (Mn^{++}) es un cofactor de ciertas enzimas, y a veces puede sustituir al Mg^{++} .
- El cobalto (Co^{++}) se requiere casi exclusivamente para la vitamina B12 (de hecho, si suministramos esta vitamina al medio, la bacteria se vuelve independiente del Co^{++} libre).
- El zinc interviene en la estabilización de complejos enzimáticos como las ADN- y ARN-polimerasas.
- El molibdeno participa en las llamadas molibdoflavoproteínas, implicadas en la asimilación de nitratos. Por otro lado, participa como cofactor, junto con el Fe, en el complejo nitrogenasa de las bacterias fijadoras de N_2 atmosférico.
- El níquel participa en hidrogenasas, enzimas que captan o liberan H_2 .

Dentro de los nutrientes particulares. Se trata de elementos que pueden ser cubiertos de modo muy distinto, dependiendo del tipo de bacteria que consideremos. Concretamente, los elementos N y S (que requieren todos los seres vivos) pueden ser captados por las bacterias de modos muy distintos, dependiendo de sus capacidades biosintéticas.

Tanto el N como el S se encuentran en la célula en estado reducido:

- el radical $-NH_2$ forma parte de los aminoácidos (que a su vez son los sillares de las proteínas) y de las bases nitrogenadas (que participan en los ácidos nucleicos y en algunas coenzimas);

- el radical -SH interviene en determinados aminoácidos y en coenzimas como la CoA.

¿En qué formas químicas entran N y S a las bacterias?

- La mayoría de bacterias fotosintéticas y muchas heterotrofas asimilan estos elementos en forma combinada inorgánica oxidada:
 - como NO_3^- , merced a la actuación secuencial de nitrato-reductasas y nitrito-reductasas asimilatorias.
 - como SO_4^{2-} . Este sulfato se activa con ATP, y luego se reduce hasta sulfito y finalmente sulfhídrico, que ya tiene el estado de reducción adecuado para la incorporación del S.
- Muchas bacterias heterotrofas pueden usar alguna forma reducida
 - de N inorgánico: amonio (NH_4^+)
 - de S inorgánico: sulfuros (S^{2-} , SH^-)
 - de N orgánico: aminoácidos, péptidos
 - de S orgánico: cisteína.

Muchas de las bacterias que pueden usar amonio como única fuente de nitrógeno también pueden usar nitratos.

4.6 Influencia de los factores químicos y físicos sobre los microbio.

Debido a su pequeño tamaño y a su estilo de vida individual, las células procarióticas sufren los cambios ambientales de un modo mucho más directo e inmediato que las células de los organismos pluricelulares. A lo largo de miles de millones de años, los procariotas han venido estando sometidas a diversas presiones ambientales, y han respondido evolutivamente creando numerosos mecanismos de adaptación. Actualmente, las únicas formas de vida existentes en determinados ambientes extremos son exclusivamente procarióticas. Desafiando a nuestras ideas preconcebidas de lo que es la vida “normal”, encontramos extraordinarios seres vivos unicelulares viviendo “cómodamente” a pHs muy ácidos o muy alcalinos, medrando en salmueras y salinas, o reproduciéndose a temperaturas de más de 100°C y a grandes presiones. Este tipo de microorganismos que habitan medios que los

humanos consideramos como “extremos” reciben el calificativo de extremófilos. En este capítulo veremos algunas de estas notables adaptaciones.

Hasta ahora hemos venido considerando el crecimiento de las bacterias en función de su fondo genético, en relación con los nutrientes, y en unas hipotéticas condiciones ideales (óptimas). Sin embargo, el trabajo experimental con microorganismos ha de tener en cuenta los factores ambientales, es decir, una serie de agentes físicos y químicos que

- 1) modifican la velocidad de crecimiento, provocando cambios que, a determinados valores de dichos factores pueden llegar a ocasionar la muerte de microorganismos;
- 2) condicionan la distribución de los microorganismos en sus ecosistemas y hábitats naturales;
- 3) permiten a los humanos controlar el crecimiento microbiano, por medio de la fijación de parámetros para:
 - a) la mutagénesis,
 - b) la esterilización y desinfección,
 - c) la quimioterapia.

No todos los microorganismos toleran del mismo modo un determinado factor ambiental. Así, unas determinadas condiciones pueden ser nocivas para una especie bacteriana, y en cambio ser neutras o beneficiosas para otra.

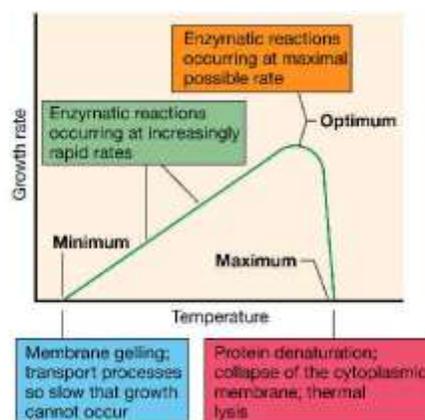
Antes de abordar el estudio de distintos agentes ambientales, conviene distinguir entre los efectos que un determinado agente puede tener sobre la viabilidad y los efectos que pueden simplemente afectar al crecimiento, a la capacidad de diferenciación (si la hubiera) o de reproducción.

Los principales tipos de factores a considerar se pueden desglosar de la siguiente manera:

| Agentes físicos | Agentes químicos (tema |
|----------------------|-------------------------------|
| Temperatura | Desinfectantes y antisépticos |
| Desección | Quimioterápicos de síntesis |
| Radiaciones | Antibióticos |
| Ondas sonoras | |
| Presión hidrostática | |
| Presión osmótica | |
| pH | |

La temperatura es uno de los parámetros ambientales más importantes que condicionan el crecimiento y la supervivencia de los microorganismos.

La temperatura afecta a la velocidad de crecimiento (y, por lo tanto al tiempo de generación, g). Cada bacteria (y suponiendo que el resto de condiciones ambientales se mantienen constantes) muestra una curva característica de tasa de crecimiento en función de la temperatura, donde podemos distinguir tres puntos característicos llamados temperaturas cardinales:



El margen entre la temperatura mínima y la máxima se suele llamar margen de crecimiento, y en muchas bacterias suele comprender unos 40 grados.

La temperatura mínima se puede explicar en función de un descenso de la fluidez de la membrana, de modo que se detienen los procesos de transporte de nutrientes y el gradiente de protones.

Por encima de la temperatura mínima la tasa de crecimiento va aumentando proporcionalmente hasta alcanzar la temperatura óptima, debido a que las reacciones metabólicas catalizadas por enzimas se van aproximando a su óptimo. En dicha temperatura óptima las enzimas y reacciones se dan a su máxima tasa posible.

A partir de la temperatura óptima, si seguimos subiendo la temperatura se produce un descenso acusado de la tasa de crecimiento hasta alcanzar la temperatura máxima. Dicha temperatura refleja desnaturalización e inactivación de proteínas enzimáticas esenciales, colapsamiento de la membrana citoplásmica y a veces lisis térmica de la bacteria.

Obsérvese en el gráfico que la temperatura óptima está más cerca de la máxima que de la mínima

Cada especie o cepa bacteriana tiene temperaturas cardinales distintas, de modo que una bacteria puede presentar una temperatura óptima superior a la temperatura máxima de otra, o inferior a la temperatura mínima de una tercera. Según el rango de temperaturas al que pueden crecer las distintas bacterias, se pueden establecer tres tipos principales:

Las psicrófilas o criófilas: crecen a partir de entre -5 a 5°C.

- a) Las llamadas psicrófilas obligadas tienen temperatura óptima a 15-18°C, como por ejemplo *Flavobacterium*. La bacteria *Polaromonas vacuolata*, recientemente aislada en aguas heladas de la Antártida es lo que pudiéramos llamar un psicrófilo extremo: tiene su óptimo de crecimiento en 4°C, y es incapaz de crecer a 14°C (¡se muere de calor!).
- b) Las psicrófilas facultativas o psicrotolerantes (también llamadas psicrotrofas) presentan temperatura óptima en torno a los 20-30°C y máximas a los 35°C. Las

bacterias y hongos psicrotrofos son los responsables de que los alimentos guardados en nevera se estropeen al cabo del tiempo.

Ejemplos de medios permanentemente fríos son la mayor parte de las aguas oceánicas (cuya temperatura media es de unos 5°C, pero que en las profundidades alcanzan sólo 1-2°C por encima de cero) y las áreas permanentemente heladas del Ártico y de la Antártida. En los medios helados existen pequeñas bolsas o microcavidades de agua líquida, donde pueden medrar algunos microorganismos. Un ejemplo no bacteriano muy característico es el alga de las nieves (*Chlamydomonas nivalis*), que llega a conferir color rojo a la nieve en algunas zonas de montaña a mitad de la estación estival.

Las principales adaptaciones bioquímicas a medios fríos exhibidas por estos microorganismos psicrófilos son:

- enzimas más resistentes al frío;
- sistemas de transporte adaptados a bajas temperaturas;
- los fosfolípidos de la membrana celular aumentan la proporción de ácidos grasos insaturados (y en algunas bacterias, poliinsaturados, con entre 4 y 9 dobles enlaces); ello supone que la membrana sigue en su estado semifluido, evitándose su congelación.

Los psicrotrofos (psicrófilos facultativos) son más abundantes, ya que están adaptados a soportar grandes oscilaciones térmicas, y en verano pueden crecer a unos 30°C-40°C. Algunas bacterias y hongos pueden crecer en alimentos (carne, leche, frutas y hortalizas) que se guardan en frigoríficos, alterando las cualidades organolépticas e incluso, echándolos a perder (una experiencia que casi todos hemos tenido).

Los mesófilos presentan temperaturas óptimas a los 25-40°C y máximas entre 35 y 47°C. La mayor parte de las eubacterias (incluyendo las patógenas) pertenecen a esta categoría. La

mayor parte de los microorganismos que viven en ambientes templados y tropicales, incluyendo los simbioses y parásitos, pertenecen a esta categoría.

Las únicas formas de vida capaces de vivir por encima de 65°C son todas procariotas. Los termófilos presentan óptimos a 50-75°C y máximos entre 80 y 113°C. Dentro de esta categoría se suele distinguir las termófilas extremas (=hipertermófilas), que pueden llegar a presentar óptimos cercanos a los 100°C, y que taxonómicamente pertenecen al dominio de las Archaea.

Los hábitats naturales con temperaturas permanentemente altas (por encima de 45-50°C) están restringidos a unas pocas zonas de la biosfera, normalmente relacionadas con fenómenos volcánicos:

- fuentes termales volcánicas terrestres (en zonas de EE. UU., Japón, Nueva Zelanda e Islandia);
- fuentes termales submarinas: los llamados “humeros” (fumarolas hidrotermales) asociados a las grandes dorsales oceánicas);
- fumarolas
- Los materiales en fermentación como acúmulos de abono (compost) y ensilados pueden alcanzar 65°C.

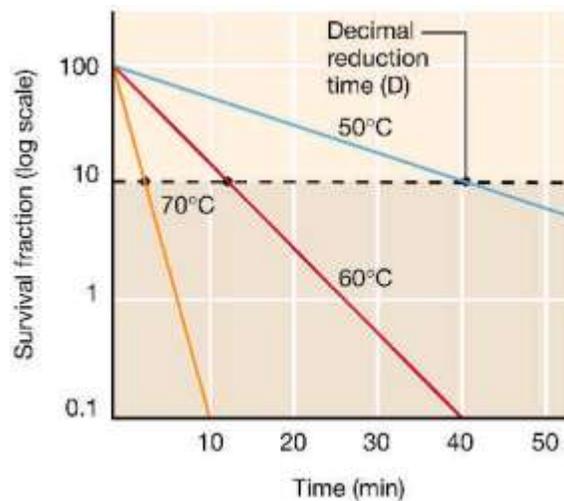
Al subir la temperatura por encima de la temperatura máxima de crecimiento, se dejan sentir los efectos sobre la viabilidad: la pérdida de viabilidad significa que las bacterias dejan de ser capaces de crecer y dividirse, aun cuando las transfiramos a un medio idóneo. La muerte por calor es una función exponencial de primer orden

O sea, y como se puede constatar en el gráfico adjunto, la acción del calor supone la muerte de una fracción constante (KT) de la población sobreviviente en cada momento.

La cinética de primer orden sugiere que no existen efectos acumulativos, sino que la muerte se debe a la destrucción o inactivación irreversible de una molécula o estructura esencial (como p. ej. el ADN cromosómico o por creación de un daño irreparable en la membrana).

¿Cómo podemos caracterizar o medir en la práctica la inactivación por calor de una suspensión bacteriana? He aquí algunos parámetros utilizados:

- tiempo térmico mortal: es el tiempo mínimo requerido para que mueran todas las bacterias de una determinada suspensión a una determinada temperatura;
- tiempo de reducción decimal: es el tiempo requerido para reducir al 10% la densidad de la suspensión, a una determinada temperatura (también llamado valor D);
- punto térmico mortal: es la temperatura mínima que mata a todas las bacterias en un tiempo determinado (normalmente el tiempo de referencia empleado es de 10 min).



Ejemplo:

| punto térmico mortal | Especies |
|----------------------|---|
| 55°C | <i>Escherichia coli</i> |
| 60°C | <i>Mycobacterium tuberculosis</i> |
| 120°C | endosporas de especies muy resistentes de <i>Bacillus</i> . |

Estos tres parámetros se emplean frecuentemente en industrias alimentarias, como en las de fabricación de conservas, centrales lecheras, etc.

Antes de seguir adelante, es importante tener claro que, dependiendo de la temperatura y el tiempo a que sometamos un material a tratamiento térmico, lograremos inactivación parcial de la población microbiana (es decir, queda una fracción de células viables) o bien esterilización (=inactivación total).

En general, entendemos por esterilización todo tratamiento de un material con un agente físico (como el calor, que nos ocupa en este momento) o químico que acarrea la eliminación de toda forma de vida en él. Una vez estéril, el material sigue estéril indefinidamente con tal de que esté encerrado en un compartimento estanco, sellado y libre del contacto con microorganismos del ambiente exterior.

Centrándonos de nuevo en el calor, la inactivación parcial o la esterilización se pueden lograr por calor húmedo o por calor seco.

La inactivación (total o parcial) por calor se debe a la desnaturalización de proteínas y a la fusión de lípidos de membrana, debido a que se rompen muchos enlaces débiles, sobre todo los puentes de hidrógeno entre grupos $-C=O$ y H_2-N- . Estos enlaces se rompen más fácilmente por calor húmedo (en atmósfera saturada de vapor de agua), debido a que las moléculas de agua pueden desplazar a los puentes de hidrógeno.

Por lo tanto, la inactivación por calor húmedo requiere menores temperaturas que la que se realiza en ausencia de agua. Veamos algunos ejemplos de condiciones de inactivación total por calor húmedo:

| Microorganismo | condiciones |
|---|----------------------|
| La mayoría de células vegetativas, de bacterias, levaduras y hongos | 80°C , 5-10 min |
| Bacilo tuberculoso | 58°C , 30 min |
| Bacilo tuberculoso | 59°C , 20 min |
| Bacilo tuberculoso | 65°C , 2 min |
| <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> | 60°C , 60 min |
| La mayoría de esporas de bacterias patógenas | 100°C , pocos min |
| esporas del patógeno <i>Clostridium botulinum</i> | 100°C , 5,5 horas |
| esporas de <i>Clostridium</i> y <i>Bacillus</i> saprofitos | 100°C , muchas horas |
| esporas de <i>Clostridium</i> y <i>Bacillus</i> saprofitos | 120°C , 15 minutos |

Veamos los métodos principales de lograr esterilización de materiales por calor húmedo:

Autoclave (introducido por Chamberland en 1884): Es un aparato que permite calentar muestras por calor húmedo a temperaturas superiores a las de ebullición del agua (sin que ésta hierva), debido a que el tratamiento se efectúa en un compartimento estanco saturado con vapor de agua y a presiones superiores a la atmosférica. (El funcionamiento del autoclave será oportunamente explicado en clases prácticas). Los parámetros de esterilización suelen ser: temperatura 121°C y 10-15 min. Como se puede deducir, estos parámetros vienen fijados por la resistencia de las esporas de especies saprofitas (ver última línea de la tabla anterior), que son las formas de vida que más aguantan el calor sin perder viabilidad.

(Hay que tener en cuenta que, en la práctica, a veces hay que emplear condiciones diferentes; por ejemplo: si queremos esterilizar grandes volúmenes de líquido, habrá que prolongar el tratamiento, 30 o 40 min, ya que el centro del recipiente donde va el líquido tarda más en alcanzar la temperatura de esterilización. Los medios de cultivo que incluyen glucosa deben esterilizarse a 115°C, ya que a temperaturas superiores la glucosa "carameliza"; por lo tanto, en estas ocasiones, el tiempo también es mayor: 30 min).

La acción rápida del calor húmedo depende en buena parte del alto valor de calor latente del agua (540 cal g⁻¹); ello hace que los objetos más fríos (como las muestras a esterilizar) se calienten rápidamente por condensación de agua en su superficie.

Tindalización (nombre en honor de John Tyndall): Es un método de esterilización fraccionada para materiales que se inactivan o estropean a más de 100°C. Consiste en someter el material a varios ciclos (normalmente 3 ó 4) de dos fases sucesivas cada uno:

- a) en la primera fase el material se calienta a una temperatura entre 50 y 100°C, durante 1 ó 2 horas;
- b) en la segunda fase el material se incuba en una estufa, a 30-37°C durante 24 horas.

Durante las fases de tipo a) mueren todas las células vegetativas de la muestra, pero permanecen viables las esporas, que quedan activadas para germinar. Durante las fases de tipo b) se produce la germinación de las esporas activadas en la respectiva fase anterior. En la siguiente fase de tipo a) morirán las células vegetativas procedentes de la germinación en la

fase anterior; y así sucesivamente, hasta que al cabo de unos cuantos ciclos no queda ningún microorganismo en la muestra.

Como se puede ver, este método es bastante engorroso y consumidor de tiempo, por lo que en los últimos años ha sido reemplazado por otro método de esterilización, aunque ya no dependiente del calor: se trata de la esterilización por filtración. Consiste de hacer pasar una solución a través de una membrana o filtro de un tipo de material (normalmente nitrato de celulosa) que presenta poros de un tamaño inferior al de cualquier célula bacteriana (diámetro de poro = 0,22 μ m).

Aplicaciones principales del calor húmedo:

1. En la práctica cotidiana del laboratorio de microbiología, en la esterilización de medios de cultivo y soluciones.
2. En la esterilización de material quirúrgico.
3. En la esterilización o inactivación parcial, en las industrias alimentarias (conservas, leche y derivados).
 - a) En la industria láctea se emplean como métodos de esterilización la llamada uperización. La uperización o tratamiento UHT consiste en un tratamiento de calor húmedo donde se emplean temperaturas muy altas durante unos pocos segundos (p. ej.: 135-150°C durante 1-2 seg).
 - b) Pero no siempre es imprescindible esterilizar la leche, sino que puede bastar eliminar los posibles microorganismos patógenos que pueden contaminarla, y que son más sensibles al calor que los saprófitos inofensivos. Con esta inactivación parcial de la población microbiana de la leche logramos que ésta se conserve durante unos días, sin alterar apenas sus cualidades organolépticas y nutricionales. He aquí los procedimientos más habituales para conseguir esto:

- i. La pasteurización (en honor a Pasteur, que la introdujo en los años 1860) consiste en tratar la leche a 63°C durante 30 min, tras los cuales se enfría y envasa rápidamente.
- ii. La pasteurización instantánea (también conocida por sus siglas en inglés HTST, de high temperature-short time) se logra calentando a 72°C durante sólo 15 segundos, tras de lo cual la muestra se enfría rápidamente.

Aplicaciones del calor seco:

1. El llamado horno de Pasteur, mediante calentamiento a 160-170°C durante 2-3 horas permite esterilizar materiales inertes de laboratorio resistentes al calor: material de vidrio y metálico, aceites y jaleas, etc.
2. Flameado a la llama (hasta el rojo) de asas metálicas de siembra, con las que se inoculan las bacterias.
3. Incineración de materiales de desecho.

Las bajas temperaturas (por debajo de la temperatura mínima) no son útiles para la esterilización, ya que, aunque existen algunas bacterias que mueren por congelación (p. ej., especies patógenas de *Neisseria*), el efecto de este tratamiento sobre otras muchas es, sobre todo, bacteriostático, sin contar aquellos organismos psicrófilos o psicrotrofos.

En general, el enfriamiento rápido es más lesivo que el lento, existiendo una velocidad óptima. Cuando una bacteria se enfría rápidamente a -35°C se producen cristales de hielo que provocan daños cuando la muestra se descongela.

Por lo tanto, otro factor a tener en cuenta es la manera de realizarse la descongelación, y el número de ciclos de congelación-descongelación. La descongelación lenta es más letal que la rápida, ya que aumenta el volumen de cristales de hielo.

Aplicaciones de la congelación:

La congelación se aplica, en laboratorio, para preservar muestras bacterianas durante largos periodos de tiempo. Como acabamos de ver, y con objeto de maximizar la viabilidad bacteriana el mayor tiempo posible, es importante cómo se efectúa tanto la congelación como la descongelación. Una vez congeladas, las bacterias supervivientes conservan su viabilidad durante mucho tiempo, siempre que la temperatura se mantenga por debajo del punto eutéctico:

La suspensión bacteriana puede aguantar varios meses congelada con estas sustancias entre -25 a -30°C, en congelador. Si se hace con nitrógeno líquido, la conservación puede ser de varios años.

La liofilización es la desecación al vacío de una muestra previamente congelada. Aplicada a bacterias, es uno de los métodos que mantiene por más tiempo la viabilidad bacteriana (varios años). Para obtenerla, el cultivo bacteriano se adiciona de leche o suero (véase epígrafe anterior), se congela sobre nieve carbónica (-78°C), y se conecta a una bomba de vacío, que provoca la desecación. La eliminación de toda el agua sobre la muestra congelada aumenta la viabilidad de ésta, que se guarda en ampollas cerradas de vidrio a temperatura ambiente, hasta su uso, que como vemos, puede ser incluso muchos años después.

La desecación al aire (sin vacío) mata a las células vegetativas bacterianas, pero no a las endosporas. La sensibilidad a la desecación varía de una especie a otra

Se puede definir la radiación como la propagación de energía por el espacio. Los principales tipos de radiaciones que pueden tener efectos sobre los seres vivos son:

| radiación electromagnética | λ (longitudes de onda, en nm) |
|----------------------------|---------------------------------------|
| radiación infrarroja (IR) | 800-10 ⁶ |
| radiación visible | 380-800 |
| ultravioleta (UV) | 13,6-380 |
| rayos X | 0.14-13.6 |
| rayos γ | 0.001-0.14 |
| rayos cósmicos | < 0.001 |

1) Si la energía es $E > 10$ eV, hablamos de radiaciones ionizantes: son los rayos X y los rayos γ (estos últimos se emiten como resultado de la desintegración de radioisótopos). Un fotón de gran energía incide sobre un átomo, provocando la expulsión de un electrón de gran energía (fotoelectrón), y quedando el átomo en forma ionizada (cargado positivamente). El electrón expulsado suele tener energía suficiente para originar una nueva ionización, de la cual surge otro electrón de alta energía, etc... produciéndose una cadena de ionizaciones, con transferencia lineal de energía, hasta que ésta se disipa en el material: el último electrón de la cadena es captado por otro átomo o molécula, que queda cargado negativamente. El resultado final es que se forman pares de iones (uno positivo y otro negativo). A su vez, esos iones originados tienden a experimentar reorganizaciones electrónicas ulteriores, que dan pie a cambios químicos en el sistema que se había sometido a la irradiación.

2) Si la energía es $E < 10$ eV, no se producen ionizaciones: los electrones del átomo o molécula pasan transitoriamente (de 10^{-8} a 10^{-10} segundos) a un nivel energético superior (entonces se habla de que el átomo o molécula están excitados), pero enseguida dicho electrón vuelve al estado energético inicial. En su regreso a su nivel energético previo, el electrón puede dar origen a una variedad de fenómenos:

Aunque la unidad de radiación emitida es el roentgen (R), a efectos biológicos se usan parámetros que miden la energía absorbida por el sistema: las unidades son el rad (100 erg/g) y el gigaray (1 Gy = 100 rads).

En general, los microorganismos son más resistentes a las radiaciones ionizantes que los seres superiores. Por ejemplo, la dosis de reducción decimal (D10) para las endosporas de ciertas especies de Clostridium es de 2000-3000 Gy. Las células vegetativas de la bacteria Deinococcus radiodurans (observe el nombre específico) es de 2.200 Gy. Otras especies más “normales” poseen una dosis de reducción decimal en torno a 200-600 Gy. Compara estos datos con el valor de sólo 10 Gy como dosis letal para humanos.

Las fuentes de radiaciones ionizantes son los aparatos de rayos X, los rayos γ y los radioisótopos, como el Co^{60} o el Cs^{137} .

Los efectos de las radiaciones ionizantes son letales, tanto directos como indirectos, así como mutagénicos. Los efectos letales directos se logran a altas dosis de radiación, mientras que los letales indirectos y mutagénicos se consiguen a menores dosis.

1. Efecto letal directo: por impacto de cuantos de radiación ionizante sobre alguna molécula esencial para la vida, que es el ADN (ya que obviamente es absolutamente esencial y suministra una sola copia de la mayoría de los genes bacterianos). Los daños al ADN son, principalmente: roturas en ambas cadenas, y entrecruzamiento entre dichas cadenas, que no puedan repararse.

2. Efecto mutagénico: deriva de la producción de daños menores al ADN que pueden repararse por mecanismos propensos a error.
3. Efecto letal indirecto: este tipo de efecto es el más importante, y deriva de la radiolisis del agua, que genera hidrógeno naciente (H) y radical hidroxilo (OH). El radical hidroxilo reacciona fácilmente con macromoléculas, sobre todo con ADN, provocando roturas en ambas cadenas, lo cual se traduce en efectos de letalidad. Si, además, la bacteria está expuesta al oxígeno mientras se la está irradiando, el efecto es aún más intenso, debido a que el O₂ reacciona con los radicales libres, originando cadenas de reacciones de autooxidación, muy destructivas, y promoviendo la formación de peróxidos y epóxidos, asimismo letales.

Los fotoproductos generados por la luz UV en el ADN derivan principalmente de alteraciones en las bases pirimidínicas (citosina, timina):

- a) dímeros de pirimidina (anillo ciclobutano)
- b) fotoproducto de la endospora (5-timinil-5,6-dihidrotimina)
- c) hidratos de pirimidina

Los dímeros de pirimidina son los fotoproductos más importantes en las células vegetativas bacterianas. El principal es el dímero de timina (T-T), aunque también se producen T-C y C-C. Como se puede observar, se trata de aductos (uniones) entre dos pirimidinas adyacentes en la misma hebra de ADN, mediante la creación de un anillo de ciclobutano. Su efecto principal es la distorsión local de la configuración de la doble hélice, que interfiere en el normal emparejamiento de bases complementarias; ello, a su vez, provoca una interferencia en los procesos de replicación y transcripción, y secundariamente en el crecimiento y la respiración.

A dosis muy altas de rayos UV se forman también dímeros entre pirimidinas de las dos cadenas, es decir, se provocan entrecruzamientos de las dos hebras que igualmente afectan a la replicación y a la transcripción, aunque este tipo de daños reviste menos significación biológica.

El fotoproducto de la espora es la 5-timinil-5,6-dihidrotimina. Como vimos en el capítulo 9, se forma en la endospora bacteriana debido al alto grado de deshidratación, pudiendo ejercer igualmente efectos inactivantes.

Los hidratos de pirimidina (como la 6-hidroxi-5,6-dihidrotimina) se forman a altas dosis de luz UV. Tienen efecto mutagénico (no letal), favoreciendo la aparición de transiciones T=A a C□G.

Las ondas sonoras audibles para los humanos poseen un rango de frecuencias entre los 9 kilociclos y los 20 kilociclos/segundo. Por encima de 20 Kc se sitúan las ondas supersónicas (hasta los 200 Kc/seg) y las ultrasónicas (desde 200 hasta 2000 Kc/seg). Estos tipos de ondas

de frecuencias superiores a las audibles (sobre todo las ultrasónicas) tienen el efecto de desintegrar las células.

El fundamento de esta acción es el siguiente: el paso del sonido a través de un líquido produce cambios de presión alternantes (por los sucesivos frentes de ondas), que a grandes frecuencias originan cavidades (burbujas de gases disueltos) de unos 10 μm de diámetro (fenómeno de cavitación). Dichas cavidades van aumentando de tamaño y terminan colapsando violentamente, dando lugar a enormes presiones locales (de hasta 1000 atmósferas o 10 Tm/cm^2). Las consecuencias del colapso son:

- la célula se desintegra;
- si existe oxígeno en el líquido de suspensión, se forman peróxidos (como el H_2O_2);
- despolimerización de macromoléculas;
- cortes en ambas hebras del ADN.

Las bacterias son variables en cuanto a su susceptibilidad a las vibraciones sonoras. En general, son más sensibles las Gram-negativas y más resistentes las Gram-positivas. Sin embargo, ante un tratamiento por ultrasonidos siempre cabe la posibilidad de que sobrevivan algunos individuos, por lo que este método no tiene utilidad para la esterilización.

El uso habitual de los supra- y ultrasonidos en laboratorio es para la llamada “sonicación” o disrupción ultrasónica de células para obtener extractos celulares, en investigaciones bioquímicas. El tratamiento se realiza en un aparato llamado generador de ultrasonidos o “sonicador”, que opera en un rango de frecuencias desde 9 hasta 100 Kc/seg.

La mayor parte de las especies bacterianas de hábitats continentales no pueden crecer (e incluso mueren) cuando son sometidas a altas presiones (unos 600 Kg/cm^2). Ello se debe a los siguientes efectos adversos:

aumento de la viscosidad del citoplasma;
disminución de la capacidad de las enzimas de unirse a sus respectivos sustratos;
interferencia en la división celular: las bacterias se alargan, se filantan, pero sin producción de tabique transversal (crecimiento sin división celular).

Sin embargo, existen bacterias (sobre todo marinas) que toleran o requieren altas presiones (barotolerantes y barófilas, respectivamente):

Bacterias barotolerantes: Crecen a la presión atmosférica, pero aguantan hasta unas 500 atmósferas. Su hábitat son las aguas oceánicas, entre los 2000 y los 4000 metros de profundidad.

Bacterias barófilas: Crecen óptimamente a más de 400 atmósferas. Podemos distinguir entre barófilas moderadas (facultativas) y barófilas extremas (obligadas):

- Las barófilas moderadas son aquellas bacterias que pueden crecer a presión atmosférica, aunque su óptimo está a unas 400 atmósferas. Habitan profundidades entre los 5000 y 7000 metros.
- Las barófilas extremas presentan óptimos de crecimiento a muy altas presiones (por encima de 600-700 atmósferas), y son incapaces de crecer a presión atmosférica. Se han llegado a aislar a más de 10000 metros de profundidad. Debido a que a esas profundidades la temperatura del agua es de sólo 2-3°C, suelen ser simultáneamente criófilas. Este tipo de bacterias está empezando a ser investigado actualmente, y su manejo es engorroso, ya que hay que cultivarlas en cámaras especiales presurizadas que suministran las altas presiones que requieren.

Aplicación práctica de las altas presiones a bacterias barosensibles:

La llamada prensa de French (que frecuentemente se denomina incorrectamente como “prensa francesa”) es un aparato de laboratorio que permite aplicar grandes presiones y brusca descompresiones, lo que logra la rotura mecánica de las bacterias, con objeto (al igual que la sonicación) de obtener extractos libres de células.

Exceptuando los micoplasmas, que carecen de pared celular, las bacterias pueden vivir en medios tanto hipotónicos como hipertónicos, debido a la protección de una pared celular rígida y a la membrana citoplásmica semipermeable.

Normalmente el citoplasma de las bacterias poseen una osmolaridad ligeramente superior a la del entorno, lo que garantiza el paso de agua al interior. La presión de turgor es relativamente constante porque la membrana citoplásmica se topa con la rigidez de la pared celular. Esta presión de turgor permite que la bacteria aguante cambios bruscos de concentración de solutos en su entorno (dentro de ciertos límites). Pero esto plantea una pregunta (que intentaremos responder a continuación): ¿cómo logra la bacteria ajustar su osmolaridad interna a esos cambios exteriores?

A) En medios hipotónicos (con una $a_w > a_w$ del citoplasma) es la pared celular la que ejerce todo el papel: su rigidez se opone a la entrada de agua, y por lo tanto, evita que la membrana citoplásmica tienda a sufrir una presión de turgor excesiva.

B) En medios hipertónicos (cuando la a_w del exterior es menor que la del citoplasma). Las bacterias poseen mecanismos compensatorios por los que tienden a aumentar la osmolaridad interior por encima de la del medio (para garantizar la entrada de agua del ambiente y mantener su metabolismo). Ello se logra esencialmente aumentando la concentración de un soluto muy soluble en agua en el interior celular, soluto llamado genéricamente soluto compatible, lo cual se puede lograr por varios posibles mecanismos:

bombeando iones al interior;
sintetizando una molécula orgánica osmóticamente activa;

bombeando sustancias osmoprotectoras.

- 1) En el caso de los iones, el ión bombeado suele ser el potasio (K^+), por un sistema de antiporte K^+/H^+ .
- 2) Como ejemplos de síntesis de solutos orgánicos compatibles y osmóticamente activos tenemos el glutamato, la glutamina y la trehalosa. En levaduras es frecuente que el soluto compatible sea un poliol (sorbitol, manitol, etc.).

Ahora bien, si el medio es muy hipertónico, estos mecanismos ya son incapaces de evitar la salida de agua desde el citosol, lo cual conlleva una retracción de la membrana citoplásmica. La pérdida de agua puede suponer la deshidratación del citoplasma, lo que conlleva la detención del crecimiento.

En Gram-positivas se produce una plasmolisis auténtica (retracción de la membrana citoplásmica respecto de la pared rígida suprayacente)

En Gram-negativas no existe auténtica plasmolisis, ya que la pared celular y la membrana citoplásmica se retraen al mismo tiempo. Las bacterias entéricas crecen lentamente por encima de 0.65M de NaCl.

- 3) Sin embargo, las bacterias pueden crecer a osmolaridades superiores a la máxima teórica, si en el medio existen determinados compuestos llamados osmoprotectores. La bacteria bombea esos compuestos a su interior, usándolos como solutos compatibles. Ejemplos de osmoprotectores exógenos que pueden ser bombeados al interior celular:

Prolina (p. ej., en *Salmonella typhimurium* y *Staphylococcus aureus*)

Betaína (glicínbetaína), un derivado trimetilado de la glicocola (en cianobacterias y en algunas Gram-positivas).

Colina (en *Escherichia coli*).

Ectoína en enterobacterias.

Por ejemplo, *S. typhimurium* crece muy lentamente en 1M de ClNa, pero mejora si al medio se añade 1mM de prolina. Un método normal de aislar *S. aureus* es comprobar el crecimiento en medio con 7.5% de ClNa en presencia de prolina.

Existen ciertos microorganismos especializados que viven en medios hipertónicos, y en general se llaman osmófilos. Entre los osmófilos podemos distinguir los sacarófilos y los halófilos.

Uno de los mejores ejemplos de microorganismos sacarófilos no es una bacteria, sino las levaduras, que viven en jugos vegetales, néctares, zumos, etc. Utilizan como solutos compatibles polioles como el sorbitol, el ribitol, etc.

Entre los organismos halófilos, podemos distinguir los halófilos moderados y los halófilos extremos o hiperhalófilos.

Halófilos moderados: suelen ser bacterias marinas (ej.: *Vibrio fischeri*) que viven en

3.5% de NaCl, y que ven inhibido su crecimiento a concentraciones mayores o menores de sales. Los halófilos moderados tienen requerimientos concretos de una a_w equivalente a la de agua de mar, así como concentraciones determinadas de iones Na^+ . El papel jugado por este Na^+ es:

- mantenimiento de los sistemas de membrana citoplásmica y transporte;
- estabilización de la pared celular;
- requerimiento por parte de muchas enzimas.

Halófilos extremos (hiperhalófilos), representados paradigmáticamente por las arqueas del género Halobacterium, que viven en (y de hecho requieren) concentraciones saturantes de sales (salitrales, lagunas salinas). Usan como soluto compatible el K^+ , concentrándolo a partir del medio donde viven, hasta que el citoplasma queda prácticamente saturado con él (4 a 7 M). Esta gran concentración de potasio es esencial para mantener la estabilidad y actividad de sus ribosomas, enzimas y sistemas de transporte. Pero las estructuras superficiales de estas arqueas requieren altas concentraciones de cloruro sódico.

Dejando aparte las bacterias halófilas, hay algunas bacterias halotolerantes (como por ejemplo, Staphylococcus aureus), pero la inmensa mayoría de los procariontes viven a valores de actividad de agua de 0.98. Por ello, un método que ya se conocía empíricamente en la antigüedad para conservar ciertos alimentos era el desecarlos o salarlos, o añadirles grandes cantidades de azúcar (como en las mermeladas).

La mayoría de las bacterias pueden crecer dentro de un margen de pH de su medio, manteniendo al mismo tiempo su pH interno óptimo prácticamente constante.

Por ejemplo, Escherichia coli puede crecer bien entre pH 6 y pH 8, pero su pH interno es siempre 7.6 o muy cercano a ese valor.

Respecto del margen normal de pH a los que crecen las bacterias, éstas se pueden clasificar en:

- Neutrófilas, si crecen de modo óptimo en torno a la neutralidad (entre pH 5.5 y 8).
- Acidófilas, si crecen normalmente entre pH 0 y pH 5.
- Alcalófilas, si crecen entre pH 8.5 y pH 11.5.

La mayor parte de las bacterias son neutrófilas. Muchas bacterias neutrófilas modifican el pH del medio, y resisten entornos relativamente ácidos o alcalinos. Por ejemplo, algunas bacterias fermentativas excretan ácidos, mientras otras alcalinizan el medio, p. ej., produciendo amonio a partir de desaminación de aminoácidos. Por otro lado, la mayor parte de los hongos y levaduras requieren pHs ligeramente ácidos (en torno a 4-5).

Aunque los microorganismos pueden crecer en un margen más o menos amplio de pH (alrededor de un óptimo), los cambios bruscos pueden ser lesivos (afectando a la membrana y al transporte de solutos, e inhibiendo enzimas). Si el pH citoplásmico cae rápidamente hasta 5 o menos, la bacteria puede morir.

Uno de los mecanismos que, al menos en neutrófilos parece controlar el pH interior es un sistema de antiporte H^+/K^+ : a pH ácidos, el interior celular puede quedar en principio más alcalino que el exterior. Este sistema introduce protones en el interior y saca iones potasio. De esta manera neutralizan el pH interior y siguen teniendo un potencial de membrana para establecer una fuerza protón motriz que les suministre energía.

Si el pH interior cae en torno a 6 o 5.5, bacterias como *E. coli* o *S. typhimurium* inducen una respuesta de tolerancia a ácidos, consistente en ATPasas translocadoras de protones (expulsan protones al exterior) y chaperonas (proteínas celadoras) para corregir las proteínas desnaturalizadas.

Existen algunos notables procariotas cuyo pH óptimo es muy bajo (acidófilos extremos u obligados): Algunas eubacterias del género *Thiobacillus* (*T. thiooxidans*, *T. ferrooxidans*) y las arqueas de los géneros *Sulfolobus*, *Thermoplasma* y *Ferroplasma* tienen su óptimo a pH 2, y generan ellas mismas estos bajos pH al oxidar sulfuros hasta ácido sulfúrico. (*Sulfolobus* es un Secciones un termoacidófilo). De hecho, estas bacterias necesitan esas altas concentraciones de H^+ para mantener la integridad de sus membranas y envueltas: a pH neutro esas envueltas se desintegran. Una arquea sorprendentemente acidófila es *Picrophilus oshimae*, cuyo pH óptimo es nada menos que 0.7 (aparte de que es una termófila que necesita temperaturas de más de 60°C).

Las especies alcalófilas obligadas tienen óptimos de pH en torno a 10-11. Por ejemplo, *Bacillus alcalophilus*, cuyo pH interno es de 9. Sus hábitats típicos son suelos carbonatados y lagunas alcalinas (algunos son también halófilos, como *Natronobacterium gregoryi*). Estos organismos tienen gran interés industrial, porque de ellos se obtienen enzimas hidrolíticas como proteasas y lipasas que se usan como aditivos en detergentes.

4.7 Influencia de los factores biológicos sobre los microbios.

La radiación UV tiene un efecto letal y mutagénico, que depende de su longitud de onda. Ello se debe a la absorción selectiva de longitudes de onda por parte de ciertas moléculas biológicas:

- Las proteínas tienen dos picos (es decir, máximos) de absorción: uno a 280 nm, debido a los aminoácidos aromáticos (Trp, Tyr, Phe), y otro a 230 nm, debido a los enlaces peptídicos.
- El ADN y el ARN absorben a 260 nm, debido al enlace doble entre las posiciones 4 y 5 de las bases púricas y pirimidínicas.

Los rayos UV no tienen actividad ionizante, pero provocan cambios químicos en las moléculas absorbentes, de modo que aparecen moléculas alteradas denominadas genéricamente fotoproductos. Los fotoproductos originan la inactivación de macromoléculas, aunque, como veremos enseguida, el ADN dispone de mecanismos para paliar o eliminar estas modificaciones potencialmente lesivas.

Las consecuencias de inactivar proteínas o ARN no se dejan sentir a efectos de letalidad, ya que existen muchas copias de cada uno de estos tipos de macromoléculas, y se pueden volver a sintetizar. En cambio, la inactivación del único cromosoma de la bacteria tiene efectos letales primarios y efectos mutagénicos secundarios. Por lo tanto, el espectro de acción biológica de la luz UV equivale al de absorción del UV por el ADN (260 nm).

Los problemas de las infecciones dependen del tipo de patógeno, el modo como se transfiere, dosis o concentración de patógenos, persistencia de los microorganismos y la resistencia de la persona infectada.

La dosis de infección significa el número de microorganismos que entra en el cuerpo antes de que se produzca la infección o enfermedad. Esta dosis es muy baja para los virus y protozoos parásitos. La persistencia de los microorganismos depende del tiempo viable de los microorganismos cuando no se encuentra en el huésped humano. Por ejemplo las bacterias son generalmente menos persistentes mientras los quistes protozoitos son los más persistentes.

Los jóvenes, personas mayores y enfermos son los menos resistentes a las enfermedades y por lo tanto son más frágiles. Cuando una persona es infectada, los patógenos se multiplican en el huésped (alquilan el cuerpo), y esto supone un riesgo de infección o enfermedad (podríamos poner de ejemplo al Sida). No todas las personas infectadas por patógenos enferman (mueren). Las personas que enferman pueden contagiar y extender la enfermedad mediante las secreciones y mediante contacto directo de alguna manera con mucosa de infectado.

Los alimentos pueden nutrirnos y permitirnos realizar diferentes actividades:

- correr
- caminar
- movernos

Sin embargo también pueden llegar a ser letales y peligrosos cuando se hallan contaminados.

En algunos casos se trata de alimentos en mal estado, en otros son alimentos que se descomponen estando en nuestro poder por no ser tratados adecuadamente.

La mayoría de diarreas, fiebres, vómitos y hasta las muertes, son causados por la ingestión de alimentos contaminados. En la mayoría de los casos los agentes contaminantes son microorganismos entre los que figuran bacterias, virus, hongos, parásitos.

Es importante destacar que alimentos como las carnes rojas crudas y cocidas, el pollo, la carne de cerdo, los pasteles, las cremas, los sandwiches, entre otros, son clasificados como

alimentos de alto riesgo, ya que en estos alimentos los microorganismos encuentran condiciones adecuadas y óptimas para su desarrollo y crecimiento.

Otros alimentos como las lentejas, el arroz crudo, los aceites, las harinas, el vinagre, las mermeladas, etc, son considerados alimentos de bajo riesgo debido a que en estos últimos las condiciones no van a permitir un buen desarrollo de los microorganismos.

En muchas ocasiones estos alimentos se transforman en alimentos de alto riesgo cuando se cocinan y se conservan en forma inadecuada. La higiene en la persona que elabora los alimentos es esencial a fin de evitar que esta actúe como intermediaria para el transporte de los microorganismos.

La contaminación cruzada se produce cuando se transfieren los microorganismos de un alimento contaminado a otro que no lo está; por ejemplo si con un cuchillo se corta un pollo crudo y con ese mismo cuchillo, sin lavarlo, se corta una rebanada de queso los microorganismos que estaban en el pollo crudo pasarán al queso y de esta forma lo contaminarán.

Actividades: El alumno realizará un resumen de la unidad.

Criterios de evaluación:

| No | Concepto | Porcentaje |
|---|-------------------------|-------------------|
| 1 | Trabajos Escritos | 10% |
| 2 | Actividades web escolar | 20% |
| 3 | Actividades Áulicas | 20% |
| 4 | Examen | 50% |
| Total de Criterios de evaluación | | 100% |

Bibliografía básica y complementaria:

- LANSING M. Precott. (2004) Microbiología. México.McGraw Hill .
- MOSSEL D. A. A. (2006) microbiología de los alimentos. Editorial Acriba
- PASCUAL Andersen María Del Rosario (2000) Microbiología Alimentaria Ediciones Díaz De Santos
 - Gama, F. Ma de A. (2004). Biología , Biogénesis y microorganismos. Edit. Pearson, Prentice Hall. 2da Reimpresión. México.
 - Curtis, H., Barnes, N. S. (2001) Invitación a la Biología. 5ª Reimpresión. Edit. Médica Panamericana. España.
 - <http://erasmus.ugr.es/filo/eukarya.html>
 - <http://bc.inter.edu/facultad/yserrano/ALGASmicro.htm>
 - <https://library.conservation.org/Published%20Documents/1992/La%20Importancia%20de%20la%20Diversidad%20Biologica%20de%20Mexico.pdf>

AA.VV., “Animal diversity” [imagen en línea], Wikimedia Commons [https://commons.wikimedia.org], s.l, 2010. Disponible en Internet: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Animal_diversity.png [Fecha de última consulta: diciembre de 2017]. CC BY-NC-SA

BORGQUEEN, “Fungicollage” [imagen en línea], Wikimedia Commons [https://commons.wikimedia.org], s.l, 2009. Disponible en Internet: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Fungi_collage.jpg [Fecha de última consulta: diciembre de 2017]. CC BY-NC-SA

CONVENTION ON BIOLOGICAL DIVERSITY, “Video oficial del Año Internacional de la Diversidad Biológica 2010” [video en línea], en: YouTube [www.youtube.com], s.l., marzo de 2010. Disponible en Internet: https://www.youtube.com/watch?v=JHY4u9IBGDg [Fecha de última consulta: diciembre de 2017]. CC BY-NC-SA

DROPUS, “Araña rincón” [imagen en línea], Wikimedia Commons [https://commons.wikimedia.org], s.l, 2014. Disponible en Internet: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Ara%C3%B1a_rincon_1.jpg [Fecha de última consulta: diciembre de 2017]. CC BY-NC-SA

EN ROUGE, “Treponema Pallidum” [imagen en línea], Wikimedia Commons [https://commons.wikimedia.org], s.l, 2005. Disponible en Internet: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:TreponemaPallidum.jpg [Fecha de última consulta: diciembre de 2017]. CC BY-NC-SA

EWIN P., "Vibrio cholerae" [imagen en línea], Wikimedia Commons [https://commons.wikimedia.org], s.l, 1976. Disponible en Internet: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Vibrio_cholerae_01.jpg [Fecha de última consulta: diciembre de 2017]. CC BY-NC-SA

GERALT, "Tierra" [imagen en línea], Pixabay [https://pixabay.com], s.l, abril de 2014. Disponible en Internet: https://pixabay.com/es/tierra-globo-nacimiento-nuevo-405096/ [Fecha de última consulta: diciembre de 2017]. CC BY-NC-SA

HANEY CARR, Janice, "Bacilos" [imagen en línea], Pixnio [, https://pixnio.com], s.l, s.d., Disponible en Internet: https://pixnio.com/es/ciencia/imagenes-microscopia/salmonella-salmonelosis/gram-negativos-bacilos-bacterias-salmonella [Fecha de última consulta: diciembre de 2017]. CC BY-NC-SA

HANEY CARR, Janice, "Estafilococo" [imagen en línea], Pixnio [, https://pixnio.com], s.l, s.d., Disponible en Internet: https://pixnio.com/es/ciencia/imagenes-microscopia/staphylococcus-aureus-es/electrones-micrograp-numerosas-grupos-meticilina-y-resistentes-el-estafilococo-aureus-bacterias [Fecha de última consulta: diciembre de 2017]. CC BY-NC-SA

LEUKOFIGHT, "Abeja", [imagen en línea], Pixabay [https://pixabay.com], s.l, julio de 2017. Disponible en Internet: https://pixabay.com/es/abeja-flor-la-naturaleza-2984154/ [Fecha de última consulta: diciembre de 2017]. CC BY-NC-SA

NASA, "Halobacteria" [imagen en línea], Wikimedia Commons [https://commons.wikimedia.org], s.l, 2007. Disponible en Internet: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Halobacteria.jpg [Fecha de última consulta: diciembre de 2017]. CC BY-NC-SA

RKITKO, "Diversity of plants" [imagen en línea], Wikimedia Commons [https://commons.wikimedia.org], s.l, 2009. Disponible en Internet: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Diversity_of_plants_image_version_5.png [Fecha de última consulta: diciembre de 2017]. CC BY-NC-SA

SCHREIB-ENGEL, "Boardwalk", [imagen en línea], Pixabay [https://pixabay.com], s.l, agosto de 2017. Disponible en Internet: https://pixabay.com/es/boardwalk-puente-de-madera-web-2775982/ [Fecha de última consulta: diciembre de 2017]. CC BY-NC-SA

SOLOMON, Villee Davis, "Biología", Ed. Interamericana, Madrid, 1987.

SVDMOLEN, "Fungi-05" [imagen en línea], Wikimedia Commons [https://commons.wikimedia.org], s.l, 2006. Disponible en Internet: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Fungi-05_(xndr).jpg [Fecha de última consulta: diciembre de 2017]. CC BY-NC-SA

柑橘類 “Protist collage” [imagen en línea], Wikimedia Commons [https://commons.wikimedia.org], s.l, 2007. Disponible en Internet: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Protist_collage.jpg [Fecha de última consulta: diciembre de 2017]. CC BY-NC-SA

Garibay Hernández, A., Vázquez-Duhalt, R., Sánchez Saavedra, M., Serrano Carreón, L., & Martínez Jiménez, A. (2009). Biodiesel a partir de microalgas. *BioTecnología*, 13(3), 38-61.

Graham, L., Graham, J., & Wilcox, L. (2009). *Algae* (1st ed.). San Francisco: Benjamin Cummings.

Hollar, S. (2011). *A closer look at bacteria, algae, and protozoa*. Britannica Educational Publishing.

-BUIKEMA, A. L., Jr., B. R. NIEDERLEHNER y J. CAIRNS, Jr., 1982. *Biological monitoring. Part IV. Toxicity testing*. *Water Res.* **16**: 239 - 262 .

-BAUDO, R., 1987. Ecotoxicological testing with *Daphnia*, en PETERS, R. H. y R. DE BERNARDI (Eds.) *Daphnia*. *Mem. Ist. Ital. Idrobiol.* 45: 461 - 482.

-REISH, D. L. y P. S. OSHIDA., 1985. *Manual of methods in aquatic environment research. Part 10 - Short-term static bioassays*. *FAO Fish. Tech. Paper* 247: 62 pp.