

polisacáridos y otros carbohidratos que componen la mayor parte de los glúcidos hallados en el suelo (69).

Las proteínas son las moléculas orgánicas más abundantes en el interior de las células y constituyen más del 50% de su peso seco. Los polinucleótidos forman parte del núcleo celular y del citoplasma. Los diversos lípidos están en las membranas citoplasmáticas, las paredes celulares y los materiales de reserva de vegetales y microorganismos (1).

Muchos xenobióticos son agregados voluntariamente al suelo y tienen estructuras no reconocibles por la mayoría de las enzimas degradativas siendo considerados recalcitrantes o sea resistentes a la biodegradación (46).

#### **Microorganismos celulolíticos aerobios**

Mojar tiras de papel de filtro con la solución estéril de sales minerales y colocarlas en una caja de Petri. Distribuir una pequeña cantidad de muestra sobre las mismas e incubar a temperatura ambiente durante dos o tres semanas manteniendo la humedad. Sacar la tira de papel y colocarla en un portaobjetos para observar el ataque de las fibras bajo la lupa.

La solución de sales minerales contiene cloruro de amonio 300 mg, nitrato de sodio 500 mg, fosfato dipotásico 1 g, sulfato de magnesio 300 mg, cloruro de calcio 100 mg, sulfato ferroso 50 mg, agua corriente 1 L, pH 7 (74).

La celulosa consta de unidades de  $\beta$ -D-glucopiranosas reunidas por enlaces 1,4-glicosídicos y la molécula tiene regiones cristalinas alternadas con zonas amorfas. Su insolubilidad y alta resistencia mecánica se debe a la presencia de puentes de hidrógeno inter e intramoleculares y a fuerzas de Van der Waals.

Los microorganismos que degradan la celulosa se encuentran íntimamente asociados a las largas fibrillas. La celolisis es catalizada por tres enzimas, a veces llamadas en conjunto celulasas:

- exo- $\beta$ -1,4-glucanasa que separa el disacárido celobiosa desde los extremos de la molécula,
- endo- $\beta$ -1,4-glucanasa que ataca los enlaces  $\beta$ -1,4 en las regiones amorfas internas de la macromolécula dando largos fragmentos solubles (oligosacáridos),

- $\beta$ -glucosidasa que hidroliza la celobiosa con formación de glucosa (10).

La hidrólisis de la celulosa intacta se cumple mejor cuando estas tres enzimas operan al unísono, como ocurre en el celulosoma de *Clostridium thermocellum* que se encuentra entre la célula y el sustrato. El celulosoma está constituido por nueve sitios polipeptídicos de adhesión a la molécula de celulosa, unidos a segmentos duplicados que a su vez se unen a otro polipéptido sobresaliente de la capa S en la pared celular (88).

Muchos hongos son celulolíticos pero entre los microbios procarióticos esta propiedad está restringida a unos pocos grupos (bacterias deslizantes, clostridios y actinobacterias) (1).

Las bacterias no excretan celulasas al medio, pero se adhieren a las fibras para digerirlas, y algunas producen una sustancia carotenoides amarilla que sirve como indicador de la hidrólisis. En los ambientes anaeróbicos la celulosa es degradada por bacterias meso y termofílicas, por ejemplo *Clostridium thermocellum* que tiene la particularidad de crecer en un medio mineral con celulosa pero no con glucosa (88).

La celulolisis ocurre en un amplio rango de temperatura, de 5 a 65°C. Entre los organismos termófilos se encuentran los géneros *Clostridium*, *Streptomyces*, *Chaetomium*, *Humicola*, presentes en el estiércol y los vegetales en descomposición (46).

El sistema natural más eficiente es el rumen donde el 90% de la celulosa es metabolizado bajo condiciones anaeróbicas por las bacterias, como *Clostridium*, *Ruminococcus*, *Fibrobacter*, y los hongos *Neocallimastix* y otros (10). Las reacciones químicas que ocurren en este ambiente requieren la actividad combinada de una variedad de microorganismos entre los que predominan las bacterias anerobias estrictas, dado que el potencial de reducción es de -0,4 V y la concentración de O<sub>2</sub> a ese potencial es 10<sup>-22</sup> M.

*Fibrobacter* y *Ruminococcus* son las bacterias celulolíticas más abundantes del rumen, pero también degradan xilano. *Fibrobacter* posee una celulasa periplásmica (entre la membrana citoplasmática y la membrana externa) por lo que debe permanecer adherido a la fibrilla de celulosa mientras la digiere, en cambio *Ruminococcus* produce una celulasa que es secretada.

Los *Ruminobacter* y *Succinomonas* amilolíticos se encuentran en minoría, así como *Lachnospira* que digiere pectinas. Los productos de fermentación de estas y otras bacterias son utilizados por otros microorganismos. El succinato se convierte en propionato y CO<sub>2</sub>, y el lactato es fermentado a acetato y otros ácidos por *Megasphaera* y *Selenomonas* (1).

El H<sub>2</sub> producido en el rumen durante los procesos fermentativos nunca se acumula, ya que es utilizado rápidamente por los metanógenos (*Methanobrevibacter*, *Methanomicrobium*) para reducir CO<sub>2</sub> a CH<sub>4</sub>. Otra fuente de H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> es el formiato. La composición media de los gases acumulados en el rumen es aproximadamente 65% CO<sub>2</sub> y 35% CH<sub>4</sub> (10).

#### **Microorganismos amilolíticos**

Sembrar la placa de medio estéril con la suspensión de la muestra e incubar a 25-30°C durante 1 a 5 días. Después cubrir la superficie con solución acuosa de yodo (Lugol). La zona de hidrólisis alrededor del crecimiento microbiano aparece clara sobre un fondo azul.

El medio de cultivo contiene: almidón soluble 2 g, cloruro de amonio 300 mg, nitrato de sodio 500 mg, fosfato dipotásico 1 g, sulfato de magnesio 300 mg, cloruro de calcio 100 mg, sulfato ferroso 50 mg, agar 15 g, agua 1 L, pH 7 (17).

El almidón es el material de reserva que predomina en las plantas y comúnmente se presenta en gránulos con una típica estructura en capas. Está compuesto de dos glucanos: amilosa y amilopectina. La amilosa es soluble en agua caliente y se tiñe de azul con una solución acuosa de yodo. Consiste de una cadena helicoidal no ramificada de unas 200 - 500 unidades de D-glucosa con enlaces 1,4- $\alpha$ -glicosídicos.

La amilopectina se hincha en agua caliente dando una pasta y toma un color pardo violáceo con yodo. Es también un polímero 1,4- $\alpha$ -D-glucosa que, como el glicógeno, está ramificado por enlaces 1,6- $\alpha$ -glucosídicos aproximadamente cada 25 unidades de glucosa. Los almidones de distinto origen difieren mucho en su ramificación, el número de unidades por cadena y los residuos fosfato e iones calcio y magnesio que los acompañan.

Hay tres tipos de descomposición enzimática de los glucanos. La fosforólisis por la  $\alpha$ -1,4-glucanfosforilasa sólo ocurre

intracelularmente, la transglicosilación que es la formación de ciclodextrinas con 6-8 unidades de glucosa a partir del almidón por acción de *Bacillus macerans* y otras bacterias, y la hidrólisis en la que intervienen varias enzimas (10).

La  $\alpha$ -amilasa ataca los enlaces 1,4- $\alpha$ -glicosídicos aún en el centro de la cadena, por lo que se la conoce como endoamilasa, produciendo glucosa, maltosa y oligómeros de 3 a 7 unidades. Está presente en plantas, animales y microorganismos. La viscosidad de la solución de almidón y el color de su reacción con yodo se reducen rápidamente durante la hidrólisis. Producen amilasas muchos hongos, así como bacterias de los géneros *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Streptomyces*, entre otras.

La  $\beta$ -amilasa, presente en plantas y bacterias, también degrada los enlaces 1,4- $\alpha$ -glicosídicos pero comienza su acción por el extremo libre no reductor del almidón, liberando maltosa mientras continúa el color frente al yodo. La hidrólisis se detiene en los puntos de ramificación de la amilopectina y el residuo se conoce como dextrina límite (1).

La pululanasa y la isoamilasa hidrolizan los enlaces 1,6- $\alpha$ -glicosídicos quitando las ramas de la amilopectina o las dextrinas. La glucoamilasa hidroliza la amilosa a glucosa. Si estas enzimas acompañan a las anteriores se logra una degradación total del almidón.

Las amilasas son inducibles, pero su producción depende del tipo de almidón empleado. Las  $\alpha$ -amilasas de *Bacillus stearothermophilus* y *B. licheniformis* son termoestables así como las excretadas por algunos clostridios termófilos, los que también forman pululanastas (10).

Los levanos o polifructosanos, son sustancias de reserva producidas por algunas plantas, por ejemplo la inulina de los tubérculos de dalia con enlaces  $\beta$ -2,1 glicosídicos, pero otros levanos tienen uniones  $\beta$ -2,6 glicosídicas. Los levanos son degradados por numerosas bacterias, actinobacterias y hongos. Algunos *Streptomyces* tienen una 2,6-fructosanasa que forma levánobiosa (fructobiosa) y ciertos hongos una 2,1-fructosanasa que origina oligómeros (89).

Las hemicelulosas son polímeros de pentosas (xilosa, arabinosa), hexosas (glucosa, manosa, galactosa) o ácidos urónicos (glucurónico, galacturónico) y la mayoría se encuentran asociados a la celulosa en las paredes vegetales.

El xilano es el polisacárido más abundante después de la celulosa. La cadena consta de 30-100 unidades de  $\beta$ -D-xilopiranosas con enlaces 1,4-glicosídicos. Algunos xilanos también presentan arabinosa, glucosa, galactosa y glucuronato en ramas laterales unidas al C<sub>3</sub> de la xilosa (10). El xilano es degradado más rápidamente que la celulosa. La xilanasa que es constitutiva en algunos clostridios e inducible en otros organismos, produce xilosa, xilobiosa y oligómeros de 2 a 6 unidades. Muchos organismos excretan xilanasas y en los ambientes neutros o alcalinos predominan *Bacillus*, *Sporocytophaga*, *Clostridium* y otras bacterias pero en los ácidos, los hongos. La temperatura óptima para la descomposición es 37°C, y para los actinobacterias termófilos entre 45 y 50°C.

Los mananos constituyen el 11% del peso seco de la madera de algunas coníferas. Son hidrolizados por muchos organismos que también actúan sobre galactomananos y glucomanos. Los galactanos son degradados más lentamente que otras hemicelulosas y tienen enlaces  $\beta$ -1,4 y  $\beta$ -1,3 glicosídicos. Las galactanasas microbianas producen galactosa, galactobiosa y galactotriosa. Algunos organismos sintetizan varias enzimas simultáneamente que hidrolizan arabanos, xilanos, galactanos, glucanos, como *Fusarium oxysporum* (89).

Las hemicelulosas de plantas maduras son hidrolizadas más lentamente que las del tejido más joven y la degradación también está limitada por la disponibilidad de nitrógeno. Por otra parte, al mismo tiempo que se degradan los polímeros vegetales, los microorganismos sintetizan otros polisacáridos como los glucanos y pentosanos de los mohos, los mananos de las levaduras, los glucanos y levanos de las cápsulas bacterianas (6).

Las pectinas son sustancias intercelulares de los tejidos de plantas jóvenes y abundantes en las frutas. Están constituídas por cadenas no ramificadas de ácido D-galacturónico con enlaces 1,4- $\alpha$ -glicosídicos, parcial o completamente esterificadas con metanol (10). En las pectinas insolubles (protopectina) las cadenas están

entrecruzadas por cationes  $\text{Ca}^{++}$  y  $\text{Mg}^{++}$  unidos a los grupos carboxilos (89).

La degradación microbiológica de las pectinas es llevada a cabo por esterasas y despolimerasas. La pectinesterasa hidroliza los ésteres y libera metanol. La poligalacturonasa hidroliza las uniones glicosídicas de los ácidos poligalacturónicos residuales (coloidales o solubles), produciendo monómeros y oligómeros del ácido D-galacturónico. La polimetilgalacturonasa hidroliza los enlaces glucosídicos de las pectinas (6). Las enzimas que fragmentan las cadenas por transferencia de protones generando desoxiácidos (transeliminación) se denominan pectinliasa o pectatoliasa según actúen sobre pectinas o ácidos pécticos (89).

La quitina le sigue a la xilosa en abundancia. Forma parte del exoesqueleto de artrópodos y de la pared celular de hongos filamentosos. Está constituida por unidades de N-acetilglucosamina con enlaces  $\beta$ -1,4-glicosídicos (1).

La degradación por la quitinasa produce poca N-acetilglucosamina y predominan los oligómeros (quitobiosa, quitotriosa). Los oligómeros son convertidos en monómero por la  $\beta$ -N-acetilglucosaminidasa. La quitin-desacetilasa transforma la quitina en quitosano y acetato por hidrólisis de los grupos acetamida (87). Un gran número de bacterias y actinobacterias pueden hidrolizar quitina. Entre los hongos con tal propiedad se encuentran *Mucor* y algunos *Aspergillus* (10). La síntesis de las quitinasas en las plantas es inducida por los agentes patógenos.

El contenido en lignina del tejido leñoso varía entre 18 y 30% del peso seco. Está ubicada en la lámina secundaria de las paredes celulares y es el componente de las plantas degradado más lentamente. No es químicamente uniforme y tiene una estructura muy compleja (89).

Los monómeros son todos derivados del fenilpropano, principalmente el alcohol coniferilo. La complejidad resulta del gran número de diferentes enlaces que unen a los monómeros (10). Las unidades fenilpropano están entrecruzadas por múltiples enlaces éter y C-C, que son extremadamente resistentes al ataque enzimático. La lignina es un producto final inerte del metabolismo vegetal y solamente es degradada por microorganismos (6).

Se distinguen dos grupos de hongos entre los destructores de madera: los que causan la podredumbre parda que degradan celulosa y hemicelulosas dejando la lignina como residuo. y los que provocan la podredumbre blanca que degradan también lignina. Entre estos últimos se encuentran *Stereum*, *Phanerochaete*, *Pleurotus*, *Ganoderma*, *Polyporus*, *Xylaria* (53).

La hidrólisis de la lignina ocurre en presencia de oxígeno y glucosa. El sistema enzimático contiene peroxidasas que catalizan la ruptura oxidativa de los enlaces  $\beta$ -O-4 éter y los C-C de la lignina y requieren  $H_2O_2$  proveniente de la oxidación por la glucosa-oxidasa. La formación de peroxidasas es promovida por la limitación de nitrógeno y la descomposición de la lignina por los microbios parece tener como principal objetivo el acceso a los componentes nitrogenados de la madera. Sobre los compuestos fenólicos de bajo peso molecular liberados actúan luego las fenoloxidasas (10).

#### **Microorganismos proteolíticos**

Sembrar la placa de medio estéril con la suspensión de la muestra e incubar a 30-35°C durante 24 a 48 hs. La zona de hidrólisis alrededor del crecimiento microbiano aparece clara sobre un fondo blanco.

El medio de cultivo contiene: peptona 5 g, extracto de carne 3 g, cloruro de sodio 6,5 g, agar 15 g, agua 900 mL, pH 7. Una vez esterilizado agregar 100 mL de leche descremada tindalizada (24).

Las proteínas están constituidas por una o varias cadenas polipeptídicas donde los  $\alpha$ -aminoácidos están unidos por enlaces amida. Las proteínas conjugadas tienen además otros componentes como nucleótidos, lípidos, glúcidos, cationes metálicos o grupo hemo. Los catalizadores biológicos (enzimas) son también proteínas. Antes que las proteínas puedan incorporarse a las rutas catabólicas deben experimentar hidrólisis completa hasta transformarse en aminoácidos, ya que las moléculas proteicas intactas y la mayoría de los péptidos no pueden atravesar la membrana citoplasmática, mientras que los aminoácidos libres son absorbidos fácilmente (1).

Las proteinasas excretadas por los microbios producen aminoácidos y oligopéptidos al hidrolizar las uniones peptídicas del interior de la cadena proteica y son muy específicas, pues

hidrolizan sólo los enlaces formados por determinados aminoácidos. Los péptidos son hidrolizados por las exo- y endopeptidasas. Las exopeptidasas se dividen en dos grupos: unas comienzan su acción por el enlace peptídico adyacente al grupo amino terminal y otras lo hacen por el cercano al carboxilo terminal (10).

Las proteínas de los organismos muertos son descompuestas por un gran número de hongos y bacterias. Las bacterias termofílicas producen proteinasas termoestables. Algunas proteinasas extracelulares actúan como toxinas, mientras que ciertos polipéptidos bacterianos son antibióticos. La degradación de proteínas en el suelo va seguida de la formación de amonio por la posterior descomposición de los aminoácidos (1). La ureasa no es una peptidasa pero, al igual que éstas, hidroliza las uniones  $\text{—CO-NH—}$ .

#### **Microbios amonificantes**

Sembrar unos gránulos de suelo en un tubo con el medio estéril e incubar a 25-27°C. Después de una semana agregar 0,5 mL de reactivo de Nessler A y 0,5 mL del B, un color ladrillo indica la presencia de amoniaco.

El medio de cultivo contiene peptona 0,2 g, fosfato dipotásico 1 g, sulfato de magnesio 300 mg, cloruro de sodio 300 mg, cloruro de calcio 100 mg, sulfato ferroso 50 mg, agua corriente 1 L.

El reactivo de Nessler consta de: A) Colocar en un mortero 5 g de ioduro mercúrico y 3,65 g de ioduro de potasio, añadir un poco de agua destilada y triturar hasta disolver. Completar a 100 mL con agua.

B) Disolver 15 g de hidroxido de potasio en lentejas en 100 mL de agua (17).

Los nucleótidos están formados por una base nitrogenada derivada de la purina o la pirimidina, una pentosa y ácido fosfórico. Son los monómeros de los polinucleótidos donde están unidos por puentes fosfodiéster. Los ácidos nucleicos son el 0,2-2,5% de los compuestos fosforados del suelo y su hidrólisis da oligonucleótidos y mononucleótidos con baja relación C/N (69). Los mononucleótidos a su vez son convertidos en nucleósidos (N-glicósidos de purinas o pirimidinas). Éstos son después hidrolizados en las bases nitrogenadas y pentosas. Luego en el

suelo el proceso continua con la amonificación de las purinas y pirimidinas

Las exonucleasas atacan solamente los extremos de las cadenas polinucleotídicas mientras que las endonucleasas hidrolizan enlaces de cualquier punto de las mismas. Las desoxirribonucleasas degradan el ADN y las ribonucleasas el ARN, aunque algunas fosfodiesterasas hidrolizan uniones de nucleótidos de ambos ácidos nucleicos. Entre los numerosos organismos que excretan nucleasas se encuentran algunos *Clostridium* (10).

La descomposición de aminoácidos, nucleótidos y urea conduce a la liberación de amoníaco, que puede ser asimilado directamente por los otros organismos del suelo, aunque parte suele perderse por volatilización. La evolución de la microbiota varía según la materia orgánica transformada, en general primero parecen bacterias, luego actinobacterias y más tarde mohos (89).

Entre 1,2 y 6,3% de la materia orgánica residual se encuentra como grasas, ceras y resinas. Los fosfolípidos constituyen el 1-5% de los compuestos fosforados y son de origen microbiano. La fracción hidrófoba de las gramíneas es de unos 2% de la materia seca, pero es más abundantes en ciertos microorganismos que contienen más de 10%. Algunos de los componentes de los lípidos (vitaminas) estimulan el crecimiento de varios organismos (69).

Numerosos microorganismos producen lipasas, capaces de hidrolizar los glicéridos dando glicerol y ácidos grasos, así como fosfolipasas. El catabolismo posterior de los ácidos grasos se lleva a cabo por una serie de  $\beta$ -oxidaciones que producen acetyl-CoA, pero esta degradación es lenta y limitada. Muchas levaduras de la filosfera degradan las ceras de la epidermis vegetal, también mohos tales como *Penicillium* y Mucorales, y algunas bacterias (6).

Los hongos suelen excretar ácidos orgánicos (oxálico, cítrico, etc.) y pueden disolver fosfatos insolubles como polvo de huesos y apatita. Algunos organismos quimiolitotróficos como *Nitrosomonas* y *Thiobacillus* solubilizan fosfatos pues producen ácidos nítrico y sulfúrico, respectivamente (46).

**Microorganismos solubilizadores de fosfatos**

Sembrar la suspensión de suelo sobre la placa de medio estéril e incubar a 25-27°C. Observar la formación de una zona transparente alrededor de las colonias.

El medio de cultivo contiene extracto de levadura 2 g, glucosa 20 g, agar 15 g, fosfato tricálcico 2 g, agua corriente 1 L (17).

**BIOSÍNTESIS**

En el metabolismo normal, todos los compuestos que necesita la célula se sintetizan en la cantidad justa. Este control se realiza por una serie de reacciones reguladoras estrictas que detienen la formación de productos intermedios y finales de una ruta metabólica, cuando un compuesto dado alcanza una determinada concentración. Sin embargo, existen mutantes en los que el mecanismo de regulación es tan defectuoso que hay una sobreproducción de algunos metabolitos y los excretan al medio, lo que es aprovechado en la producción industrial (10).

**SÍNTESIS DE PROTEÍNAS**

Casi todos los organismos están capacitados para convertir el nitrógeno inorgánico en proteínas y ácidos nucleicos, puede ser asimilado en forma de iones amonio y por algunas especies en forma de iones nitrato. Ningún moho o ni levadura fijan nitrógeno gaseoso como lo hacen algunas bacterias, por ejemplo, *Azotobacter* que vive libre en el suelo y *Rhizobium* que crece como simbiote en los nódulos de las raíces de leguminosas.

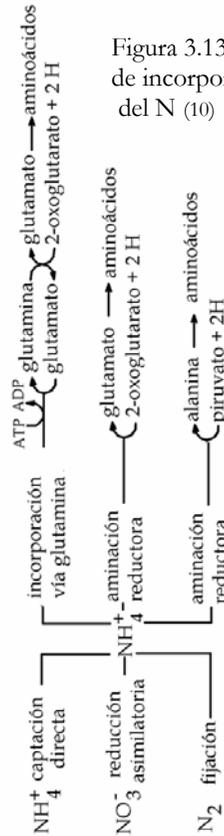


Figura 3.13. Vías de incorporación del N (10)

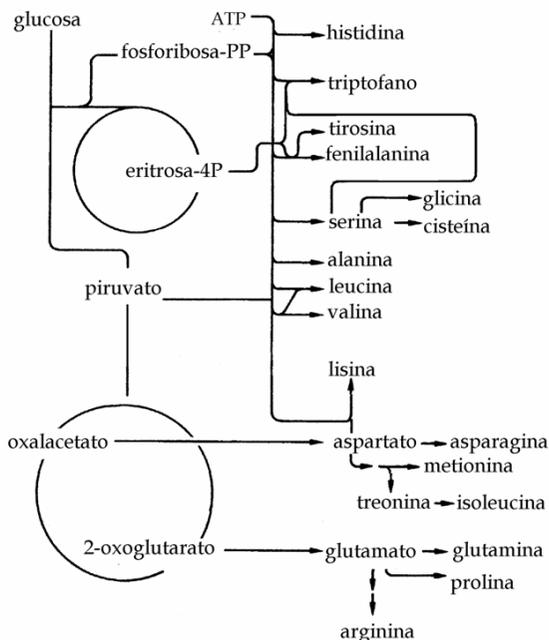


Figura 3.14. Vías de síntesis de los aminoácidos (2)

. La asimilación del nitrógeno inorgánico implica una reducción a amonio antes de su incorporación al compuesto orgánico (2).

La mayoría de los organismos son capaces de sintetizar todos los aminoácidos requeridos para la síntesis de proteínas. El grupo amino es introducido por aminación directa de los cetoácidos (oxoglutarato, piruvato) o por transaminación que es la formación de un nuevo aminoácido a partir de glutamato y algunos otros.

Para la síntesis de las proteínas, la información contenida en el ADN es transcrita en el ARN mensajero (ARN-m) monocatenario y los ARN de transferencia. El ARN-m llega a los ribosomas donde los aminoácidos son reunidos en una cadena polipeptídica, según la secuencia determinada por el mismo durante su traducción. La síntesis implica la participación de los ARN-t que aportan los aminoácidos específicos, además de varias enzimas y ATP (90).

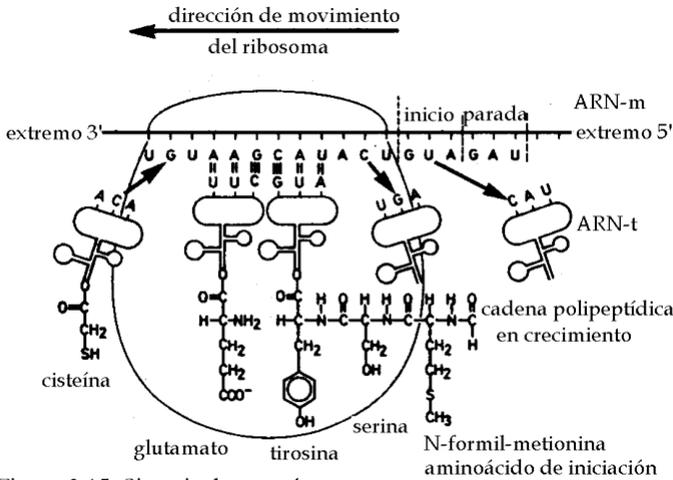


Figura 3.15. Síntesis de proteínas (57)

**FIJACIÓN DE N<sub>2</sub>**

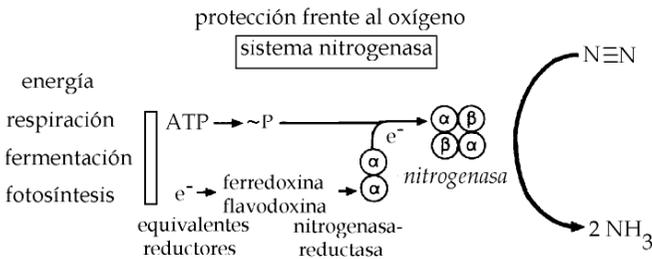


Figura 3.16. Reducción del N<sub>2</sub> (10)

La reacción química responsable del proceso de fijación consiste en la transferencia de seis electrones al N<sub>2</sub> para dar NH<sub>4</sub><sup>+</sup> con el aporte de energía en forma de ATP. La reacción debe estar acoplada a la fermentación o a la respiración de azúcares u otros compuestos energéticos, o bien a la fotofosforilación del ADP, para que transcurra espontáneamente. Los electrones son provistos a través de la ferredoxina y la flavodoxina. El sistema nitrogenasa está constituido por dos enzimas, la dinitrogenasa y la dinitrogenasa reductasa. La primera posee dos unidades de un cofactor que contiene átomos de hierro y molibdeno. La

dinitrogenasa reductasa tiene un cofactor sulfoférrico. Algunos organismos sintetizan una nitrogenasa alternativa con vanadio cuando hay una carencia de molibdeno en el suelo (10). La nitrogenasa también puede reducir otros compuestos como el acetileno, lo que proporciona un método de medida de la actividad de los sistemas fijadores de nitrógeno.

En la fijación simbiótica, la expresión de la nitrogenasa en los bacteroides se modifica por diversos factores aportados por la planta. La enzima se inhibe en presencia de nitrógeno combinado y cesa cuando comienza el desarrollo de las semillas en la planta hospedadora (senescencia de los nódulos). Otro factor que afecta la fijación es la temperatura del suelo (91).

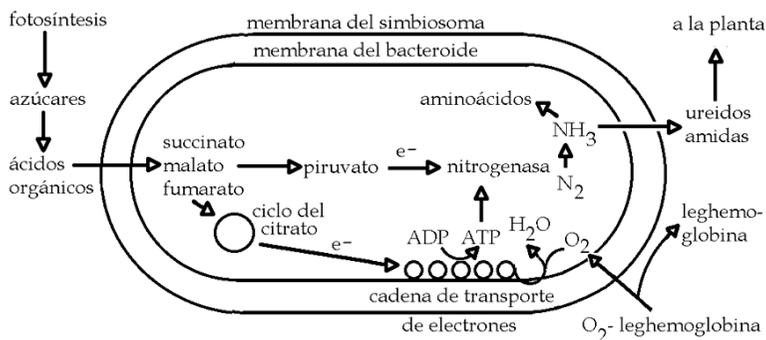


Figura 3.17. Fijación de nitrógeno en un bacteroide (1)

Dada la rápida inactivación de la nitrogenasa en presencia de oxígeno, los organismos fijadores de vida libre han desarrollado diversas estrategias para evitarla: una alta tasa respiratoria, la formación de estructuras protectoras, la compartimentación celular o el crecimiento en condiciones anaeróbicas o microaerófilas (91).

Las cianobacterias filamentosas son tolerantes al oxígeno ambiental debido a que la actividad nitrogenasa se localiza generalmente en una célula especial, llamada heterocisto. Los heterocistos poseen una pared poco permeable al oxígeno y pueden generar ATP por fotofosforilación cíclica y fosforilación oxidativa, con lo cual se eliminan las trazas de  $O_2$ . Los

transportadores de hidrógeno necesarios para la fijación provienen de las otras células fototróficas (1).

Cuando las bacterias crecen sobre lactato, piruvato, acetato u otro compuesto, se desarrollan rutas metabólicas adicionales (reacciones anapleróticas) para mantener funcionando el ciclo del citrato y proveer moléculas intermediarias para la síntesis de los azúcares (1).

### SÍNTESIS DE OTROS COMPUESTOS

Muchas bacterias autotróficas y fototróficas, así como las cianobacterias y las plantas, fijan  $\text{CO}_2$  como única fuente de carbono a través del ciclo de la ribulosa-difosfato (Calvin). Pero las metanogénicas y acetogénicas, que también son autotróficas, lo

hacen por la vía reductora del acetil-CoA, mientras que las bacterias verde del azufre fijan  $\text{CO}_2$  por el ciclo del citrato inverso (10).

La actividad de los pigmentos en la fotosíntesis de las bacterias no libera oxígeno como ocurre con las cianobacterias y las plantas. Hay dos tipos de bacterias de color púrpura (rojo o pardo) porque contienen carotenoides, uno comprende a las anaeróbicas, por ejemplo *Chromatium* dependiente del azufre y *Rhodospirillum* no dependiente, y otro a las aeróbicas como *Erythromonas*. En cuanto a las verde, algunas, por ejemplo *Chlorobium*, utilizan  $\text{H}_2\text{S}$  como dador de electrones y otras, por ejemplo *Chloroflexus*, no.

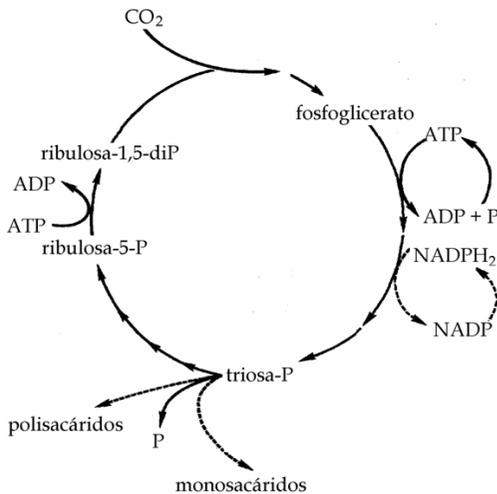


Figura 3.18. Ciclo de la ribulosa-diP (10)

También hay bacterias fototróficas Gram-positivas, anaeróbicas y esporuladas, por ejemplo *Heliobacterium* frecuente en suelos tropicales anegados. Cualquiera sea el mecanismo de captación de la luz y transporte de electrones, se genera una fuerza motriz de protones que permite sintetizar ATP (fotofosforilación) (92).

Cuadro 3.1. Rutas para la fijación autotrófica de CO<sub>2</sub> (10)

Vía reductora del acetil-CoA	Bacterias fermentadoras homoacetogénicas	<i>Clostridium thermoaceticum</i> <i>Acetobacter woodii</i> <i>Sporomusa</i> sp.
	Bacterias reductoras del sulfato	<i>Desulfobacterium autotrophicum</i> <i>Desulfovibrio baarsii</i>
	Bacterias metanogénicas	<i>Methanobacterium thermoautotrophicum</i> <i>Methanosarcina barkeri</i>
Ciclo inverso del citrato (reductor)	Bacterias verde del azufre	<i>Chlorobium limicola</i>
	Bacterias termofílicas del hidrógeno	<i>Hydrogenobacter thermophilus</i>
	bacterias reductoras del sulfato	<i>Desulfobacter hydrogenophilus</i>
Ciclo de la ribulosa-difosfato (Calvin)	Bacterias fototróficas anoxigénicas	<i>Chromatium vinosum</i> <i>Rhodospirillum rubrum</i>
	Bacterias quimioautotróficas	nitrificantes oxidantes del azufre bacterias del hidrógeno y el CO oxidantes del hierro
	Organismos fototróficos oxigénicos	Cianobacterias Algas y plantas

En los organismos procarióticos los monómeros para la síntesis de polisacáridos son la uridin-difosfo-glucosa o la adenosin-difosfo-glucosa. Cuando la célula crece sobre un sustrato que no es glucosa debe sintetizarla, en un proceso conocido como gluconeogénesis, desde el fosfoenolpiruvato que puede ser obtenido a partir del oxalacetato, un intermediario del ciclo del citrato.

Las purinas y pirimidinas que constituyen los nucleótidos son construídas a partir de varios precursores. La ribosa necesaria para la síntesis del ARN se obtiene del ciclo de las pentosas. Una vez formados los ribonucleótidos, una reductasa los convierte en los desoxirribonucleótidos para la síntesis del ADN.

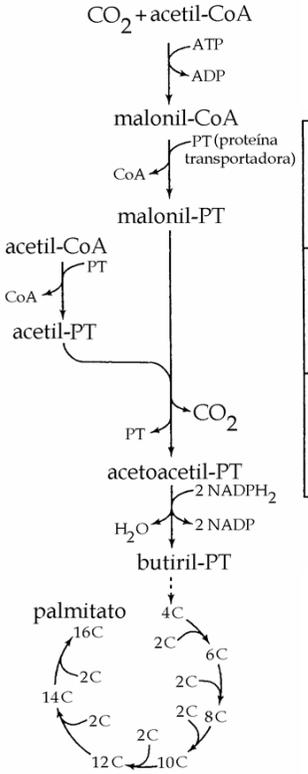


Figura 3.21. Síntesis de ácidos grasos (2).

los lípidos complejos donde un grupo OH del glicerol está esterificado con fosfato o un azúcar. El grupo fosfato a su vez está esterificado con serina, etanolamina o glicerol. La formación de los ácidos grasos de cadena larga comienza con la condensación de los grupos acetilo al malonil-PT (PT: proteína transportadora) para dar butiril-PT y después, se alarga la cadena con dos

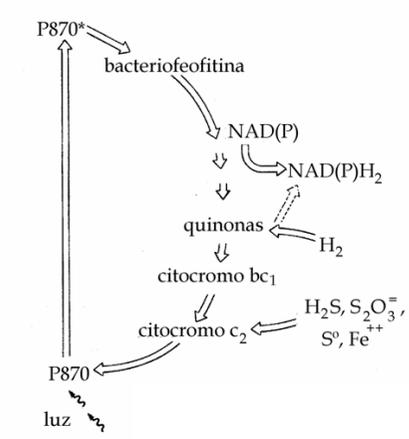


Figura 3.19. Flujo de electrones en bacterias púrpura (1)

Entre los lípidos bacterianos predominan los ácidos grasos saturados o monoinsaturados, son raros los triglicéridos, esteroides y hopanoides. Los más importantes son

carbonos en cada paso sucesivo. La etapa final consiste en la adición de los ácidos grasos a la molécula de glicerol (1).

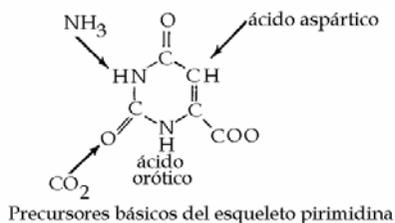
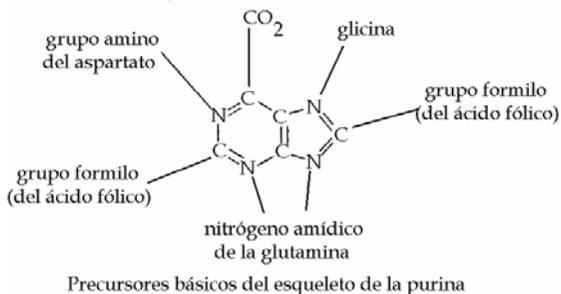


Figura 3.20. Precusores de purinas y pirimidinas (1)

Los metabolitos secundarios son compuestos no requeridos para la biosíntesis celular. Estos productos son sintetizados por algunos microorganismos, generalmente en las últimas fases del ciclo de crecimiento. Los ejemplos más conocidos son los antibióticos y las micotoxinas. No participan en la obtención de energía ni en el crecimiento, sino que contribuyen a la supervivencia al inhibir la acción de los competidores que pudieran ocupar el mismo nicho ecológico (46).

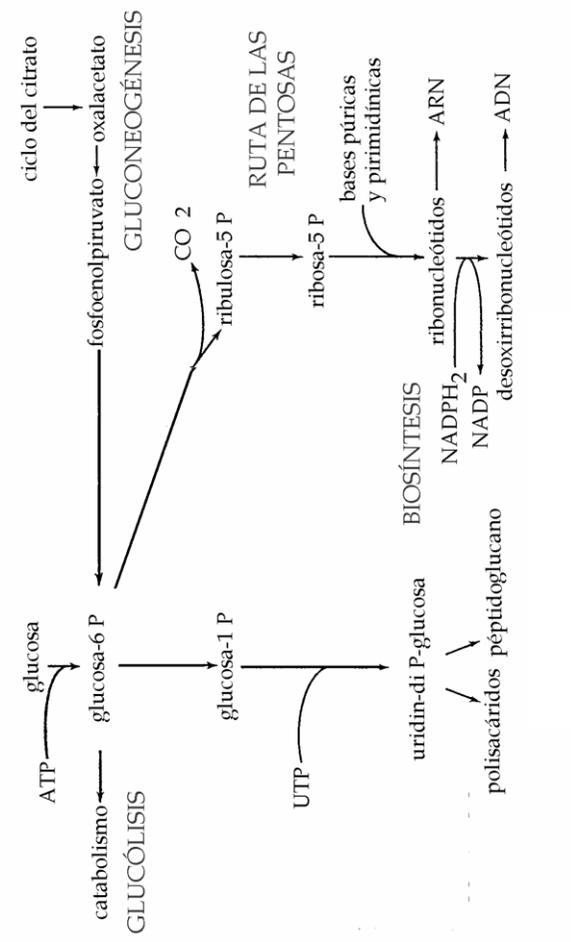


Figura 3.22. Vías para la biosíntesis de azúcares (1)