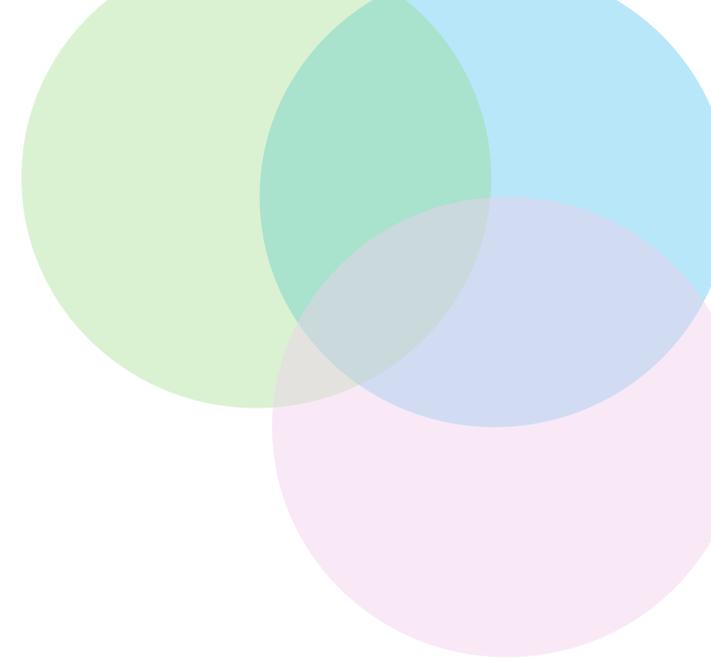


TEMA 4

Fisiología del crecimiento bacteriano

Requerimientos y factores nutricionales

- ✓ **Autótrofas** → usan carbono como única fuente en forma de CO_2 . Sintetizan glucosa a partir de CO_2 e H (agua, gas sulfhídrico, hidrógeno)
- ✓ **Heterótrofas** → usan carbono a partir de compuestos orgánicos. Glucosa es la fuente de carbono más común
- ✓ **Mixotróficas** → Poseen metabolismo litotrofo, pero requieren sustancias orgánicas como nutrientes para su metabolismo biosintético



Requerimientos y factores nutricionales

✓ NITRÓGENO

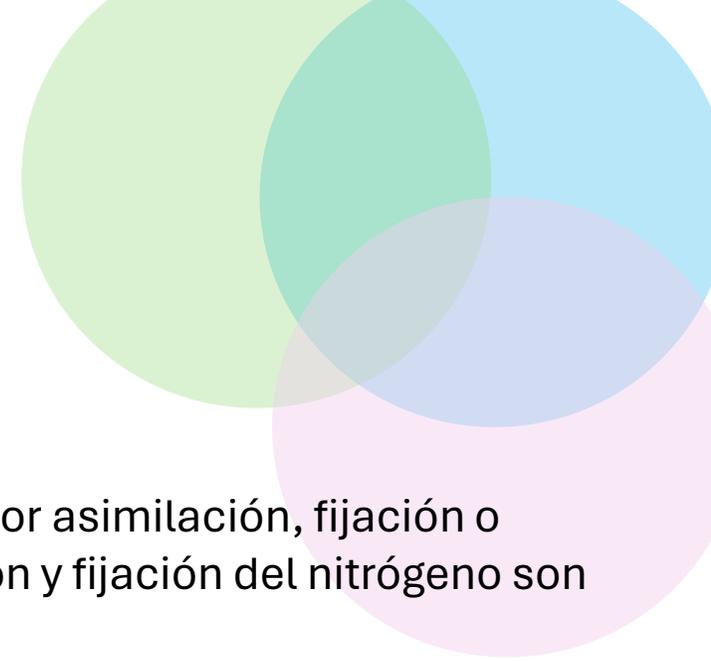
Gas nitrógeno, urea, amonio, nitratos, nitritos o sustancias nitrogenadas. Se obtiene por asimilación, fijación o reducción. Los procesos de amonificación, mineralización, nitrificación, desnitrificación y fijación del nitrógeno son realizados principalmente por bacterias.

✓ CARBONO

Utilizado en forma de CO, CO₂, CH₄, o compuestos orgánicos para fuente de energía

✓ OXÍGENO

Todas las células utilizan oxígeno y muchas requieren oxígeno gaseoso. Para un grupo de bacterias el oxígeno libre puede ser mortal. Se puede obtener del H₂O, compuestos orgánicos, CO₂ y el O₂ ambiental. En base a su utilización las bacterias se pueden clasificar en:



Requerimientos y factores nutricionales

✓ OXÍGENO

Todas las células utilizan oxígeno y muchas requieren oxígeno gaseoso. Para un grupo de bacterias el oxígeno libre puede ser mortal. Se puede obtener del H₂O, compuestos orgánicos, CO₂ y el O₂ ambiental. En base a su utilización las bacterias se pueden clasificar en:

- Aerobios obligados – Ej.: *Mycobacterium bovis*
- Anaerobios obligados – Ej.: *Clostridium tetani*
- Anaerobios facultativos – Ej.: *Escherichia coli*
- Anaerobios aerotolerantes – Ej.: *Clostridium*
- Microaerófilos
- Capnóicos

obligate
aerobes



A

obligate
anaerobes



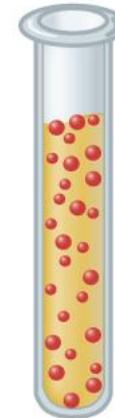
B

facultative
anaerobes



C

aerotolerant
anaerobes

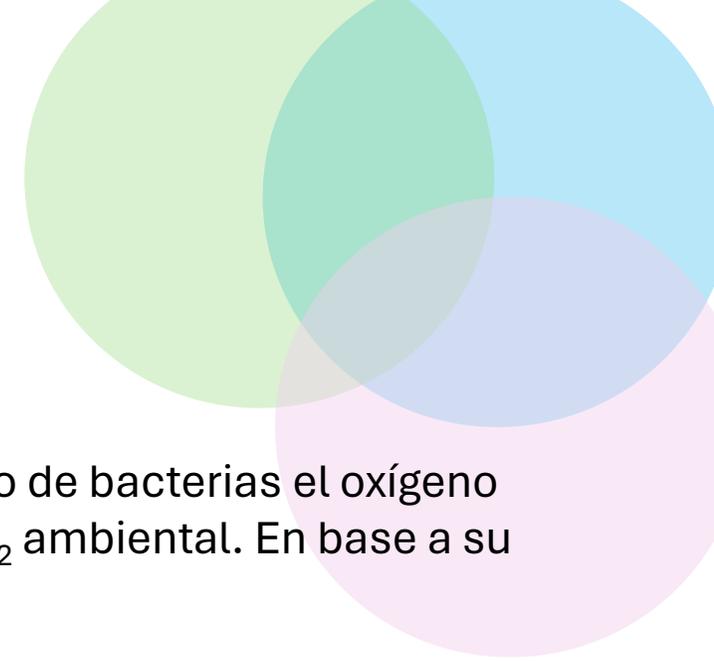


D

microaerophiles



E



Requerimientos y factores nutricionales

✓ FÓSFORO

Requiere de fuentes de fosfatos orgánicos e inorgánicos. Las bacterias pueden utilizar los fosfatos orgánicos a través de enzimas fosfatasas, y también pueden utilizar los inorgánicos.

✓ AZUFRE

Se obtiene de SO_4 , H_2S , S y azufre de compuestos orgánicos. Papel importante en la estructura terciaria de las proteínas.

✓ MAGNESIO

Se obtiene de sales y constituye un catión celular inorgánico y cofactor de ciertas enzimas.

✓ POTASIO

Se obtiene de sales y su función consiste en ser catión inorgánico y cofactor de ciertas enzimas.

✓ CALCIO

Se puede requerir en grandes cantidades o en pequeñas trazas. Posee función como catión celular inorgánico, cofactor de enzimas y constituyentes de las endosporas.



Requerimientos y factores nutricionales

✓ HIERRO

Se obtiene de sales y forma parte de los citocromos en la respiración y ciertas proteínas. Forma parte de los magnetosomas de algunas bacterias.

✓ MANGANESO

Es cofactor de ciertas enzimas y puede sustituir al magnesio en ciertos casos.

✓ COBALTO

Se requiere para la vitamina B12.

✓ CINC

Interviene en la estabilización de complejos enzimáticos como las ADN y ARN polimerasas.

✓ MOLIBDENO

Participan de proteínas asociadas a la asimilación de nitratos.



Requerimientos y factores nutricionales

✓ AGUA

Su disponibilidad se mide a través de un parámetro denominado Potencial Agua.

La fuente de agua puede ser exógena o endógena. Es un factor crítico de crecimiento celular. Depende de su presencia en la atmósfera, en solución o sustancia. La actividad del agua es afectada por la presencia de solutos disueltos.

✓ CLORURO DE SODIO

Los MO que tienen afinidad por el NaCl se denominan Halófitos.

- Halófitos moderados
- Halófitos extremos
- Halotolerantes
- Xerófitos



Factores de crecimiento

Compuestos orgánicos elementales requeridos por algunas bacterias. La falta de alguno de ellos puede producir un bloqueo de ciertos caminos metabólicos impidiendo su desarrollo. Se clasifican en:

- Aminoácidos.
- Bases púricas y pirimidínicas
- Vitaminas

Deben ser agregados en el medio de cultivo. No son utilizados directamente como fuente de carbono y energía.

En relación con los factores de crecimiento:

- **Protótrofos**. Sintetizan sus propios factores de crecimiento
- **Auxótrofos**. Requieren una fuente exógena de factores de crecimiento por su incapacidad de elaborarlos



Cultivo de MO – Desarrollo o crecimiento

Multiplicación bacteriana en el medio de cultivo

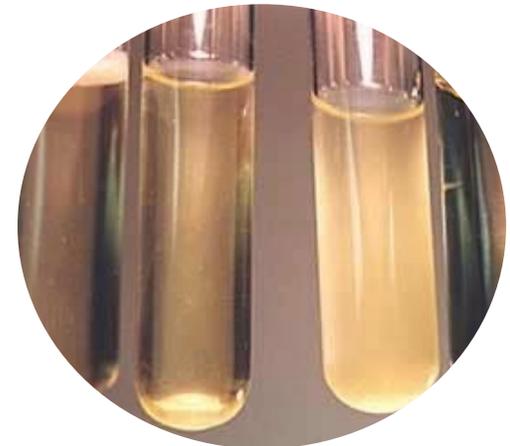
Mayoría de las bacterias poseen un tiempo de división de 20 minutos, otras de 12 horas

➤ Colonia

Crecimiento o clon originado a partir de una sola bacteria en medio sólido. Presenta características particulares de acuerdo con el género y especie bacteriana (forma, tamaño, color, bordes, altura, superficie, consistencia)

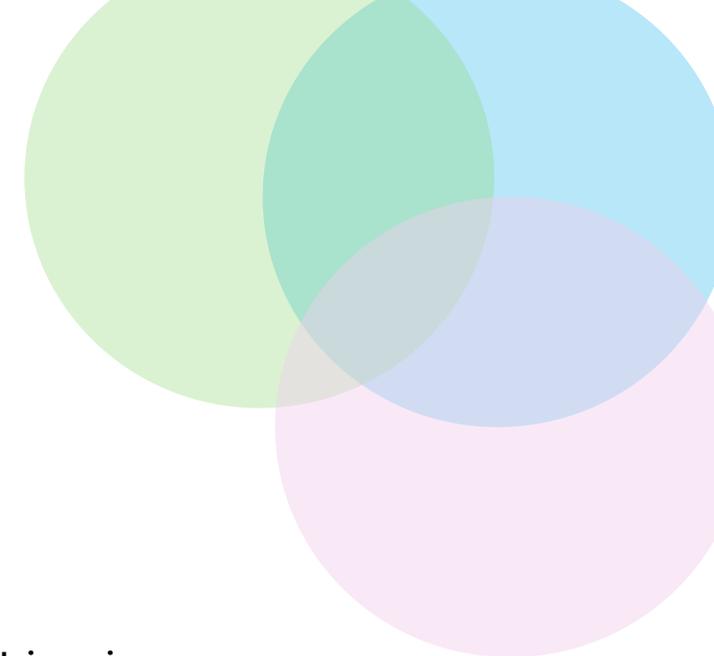
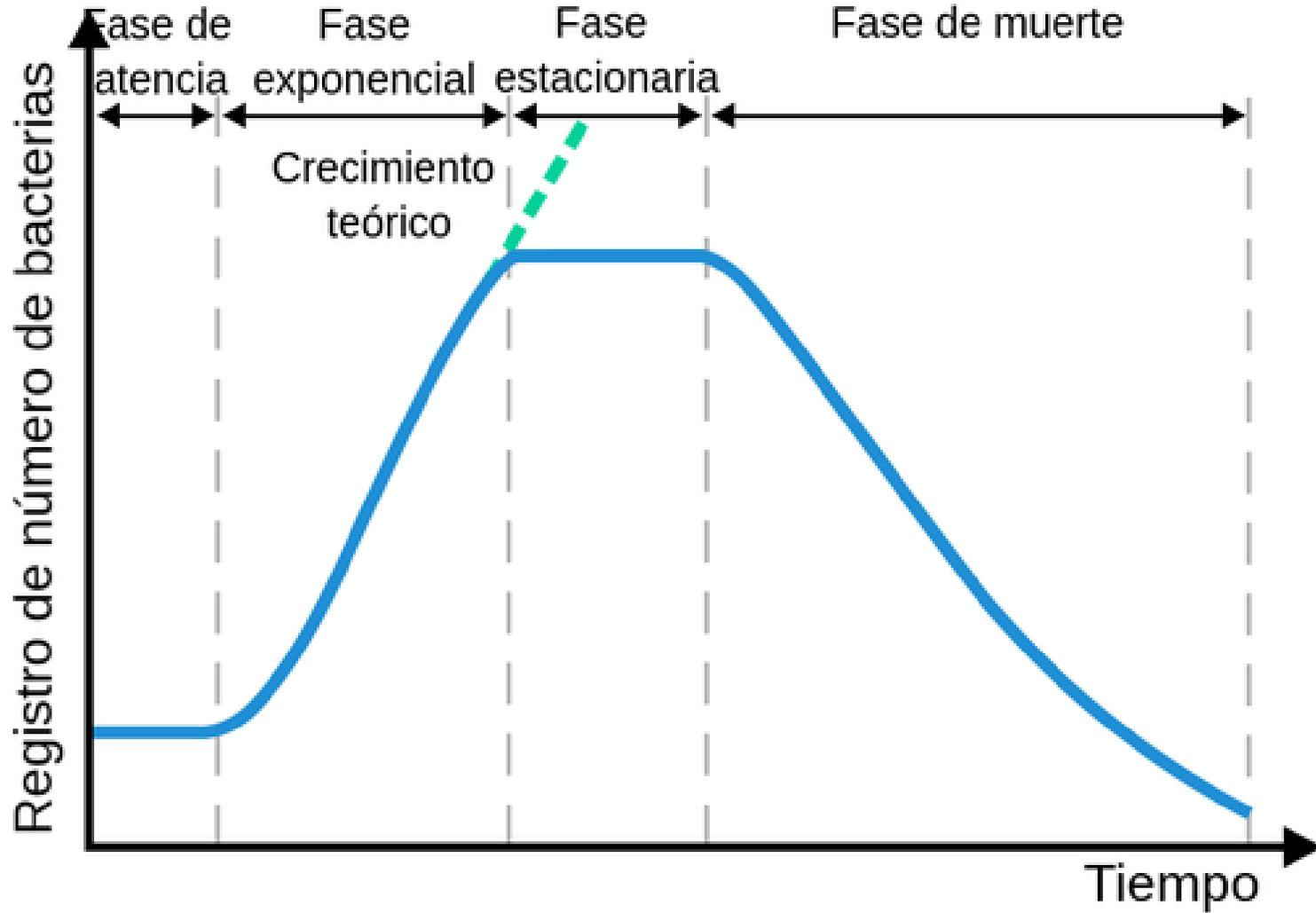
➤ Población

Desarrollo bacteriano en medio líquido. No se diferencian entre sí los MO. Turbidez, velo superficial, presencia de sedimento.



CRECIMIENTO BACTERIANO

Curva de crecimiento



- Fisión binaria
- En cada generación se duplica el número de individuos
- Crecimiento exponencial

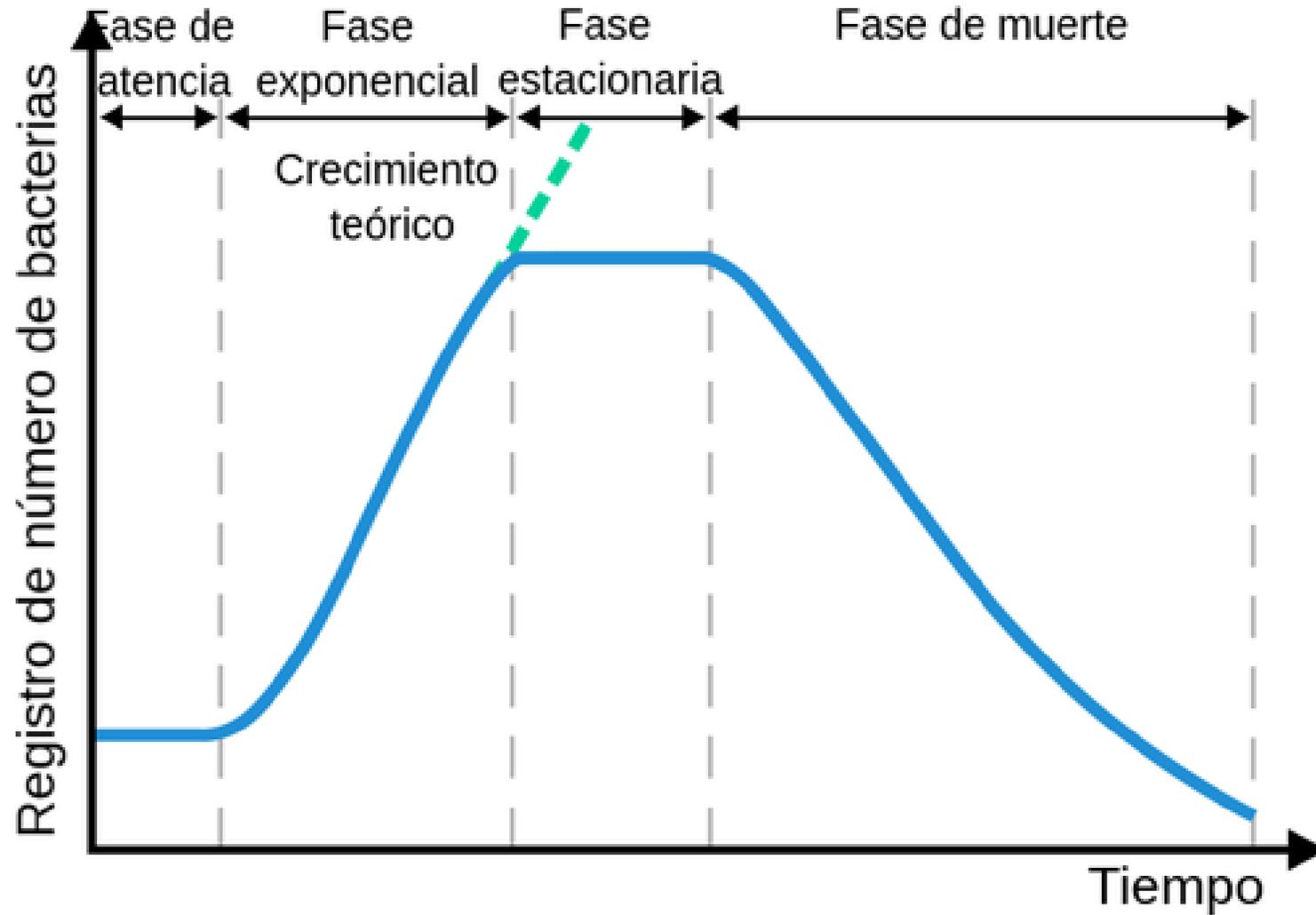
1° generación $\rightarrow 2 \times N_0$

2° generación $\rightarrow 2 \times 2 \times N_0 = 2^2 \times N_0$

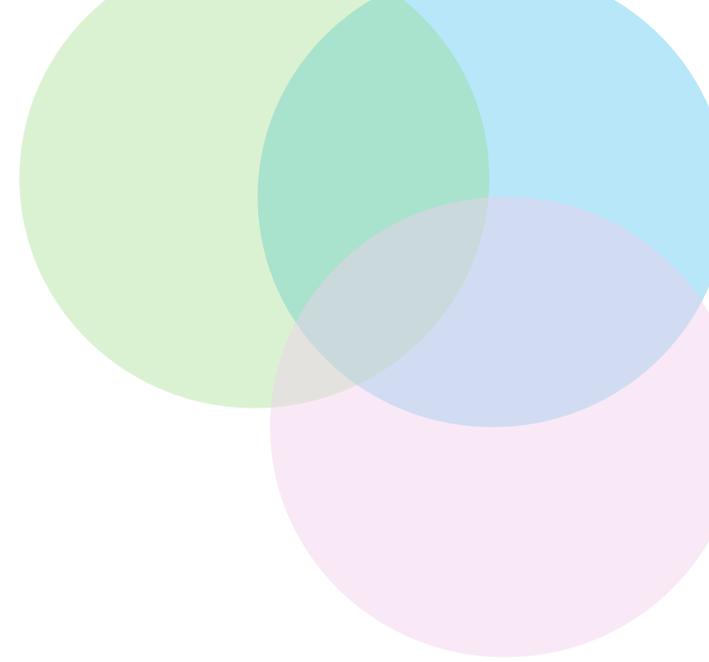
3° generación $\rightarrow 2 \times 2 \times 2 \times N_0 = 2^3 \times N_0$

CRECIMIENTO BACTERIANO

Curva de crecimiento



- Agotamiento del medio de cultivo, metabolitos tóxicos, variación de pH, etc.



Factores que influyen en el crecimiento

❖ Temperatura

Cada MO posee temperatura óptima de crecimiento

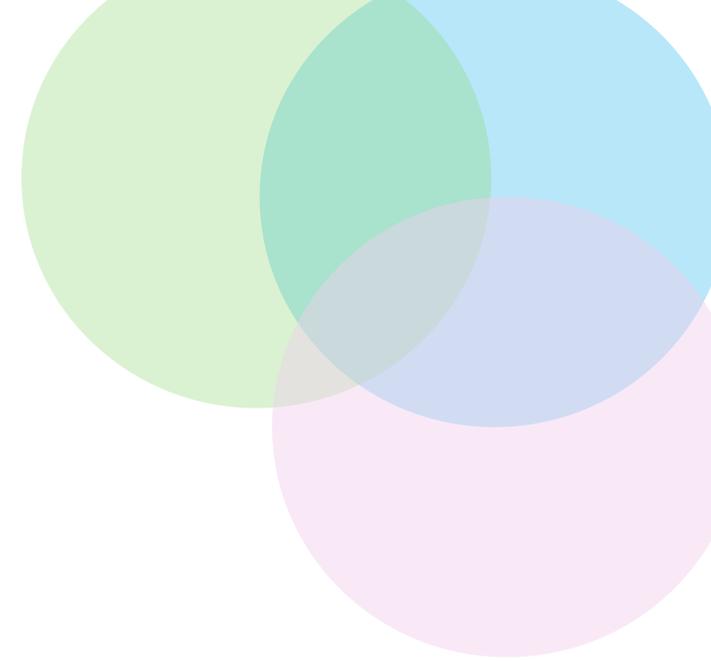
- Psicrófilos: 10-20°C
- Mesófilos: 20-40°C
- Termófilos: 50-60°C
- Termotolerantes: rango de los mesófilos, pero toleran hasta 50°C

❖ pH

La mayoría crecen cerca de la neutralidad (6,8 – 7,4). Pocos son acidófilos o toleran la acidez. Es una característica a tener en cuenta para los aislamientos.

❖ Actividad del agua

El agua disponible es fundamental. Prácticamente no crecen en soluciones azucaradas o hipersaladas. Especies marinas no crecen con una concentración de sal menor al 1% p/v.



Factores que influyen en el crecimiento

❖ Nutrientes

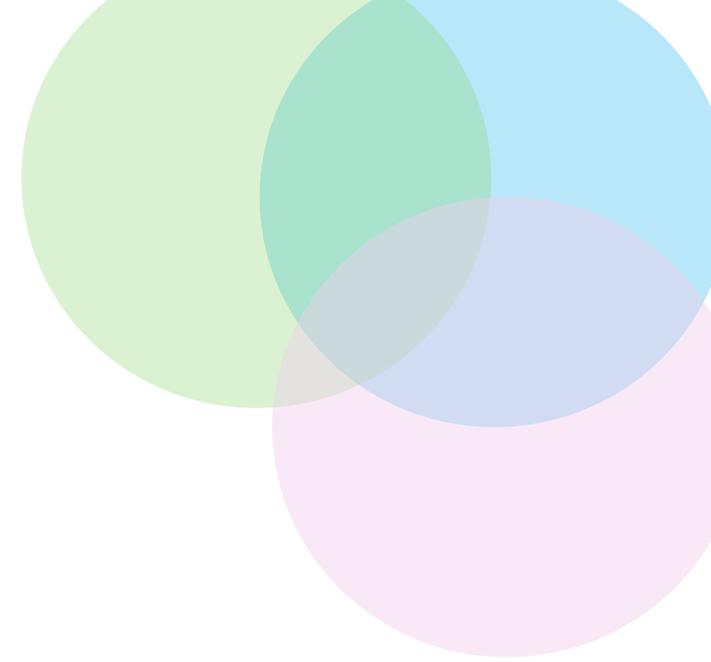
Su calidad y cantidad influye directamente en el crecimiento.

❖ Potencial de oxidorreducción

Aerobias: 0,2 – 0,4

Anaerobias estrictas: -0,2 o menor

En cultivos mixtos, las bacterias aerobias consumen el O₂ y crean las condiciones para el desarrollo de los anaerobios.



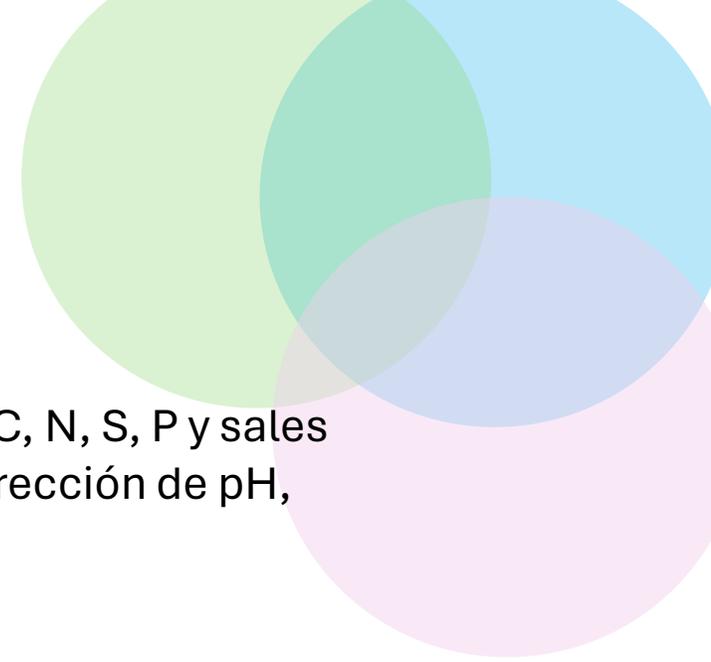
Medios de cultivo

Composición y propiedades

Definidos – No definidos. Peptonas, cloruro de sodio. Deben contener como mínimo C, N, S, P y sales inorgánicas. Vitaminas e inductores de crecimiento. Líquidos/sólidos. Autoclave, corrección de pH, filtración.

Clasificación

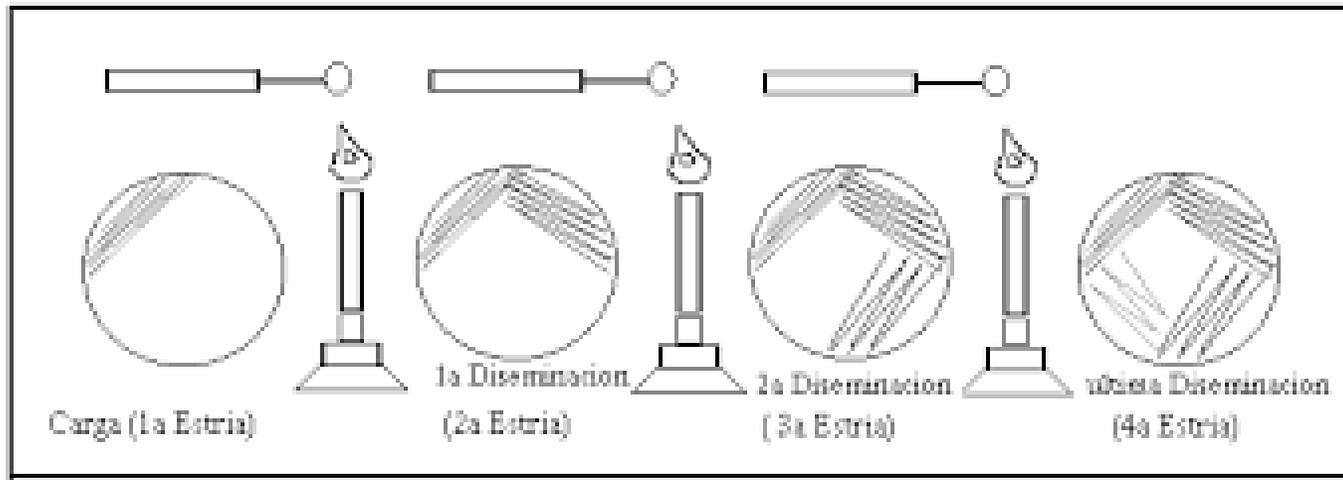
1. Por su consistencia → Líquido, sólido, semisólido
2. Por su finalidad
 - Medio de transporte. Líquido o semisólido. No posee nutrientes, sino agua, sales y corrector de pH
 - Medio de enriquecimiento. Líquido selectivo para crecimiento preferencial
 - Medio mínimo. Mínima cantidad de nutrientes
 - Común o simple. Permite el desarrollo de la mayor parte de las bacterias no exigentes
 - Enriquecido. Medio simple con el agregado de sustancias nutritivas. Para bacterias exigentes
 - Selectivo. Permite seleccionar algunos MO, frenando a otros. Antibióticos, colorantes, sales biliares, etc. Temperatura de incubación
 - Diferencial. Permite diferenciar por actividad metabólica. Viraje de pH y cambio de color
 - Especial. Cumple exigencias vitales de determinados MO



Aislamiento

Conjunto de métodos para conseguir bacterias en cultivo puro. Se realizan en medios sólidos

Diseminación en placa



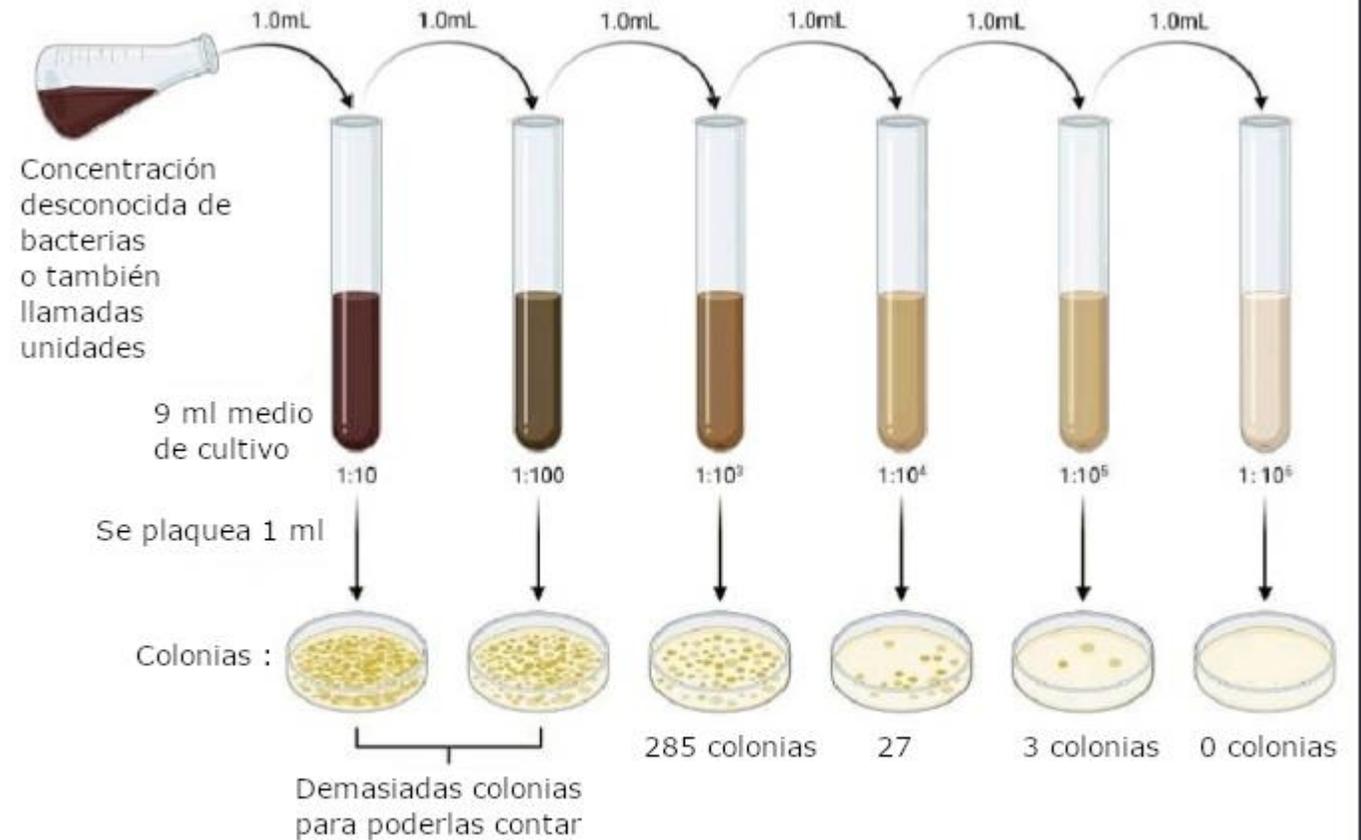
Diseminación en varias placas



Aislamiento

Conjunto de métodos para conseguir bacterias en cultivo puro. Se realizan en medios sólidos

Dilución – Conteo de viables o unidades formadoras de colonias



$$\text{UFC/ml} = (\text{n}^\circ \text{ colonias} \times \text{factor de dilución}) / \text{volumen plaqueado en la placa Petri}$$

Ejemplo: $(285 \text{ colonias} \times 10^3) / 1 \text{ ml} = 2.85 \times 10^5 \text{ UFC/ml}$

Actuaciencia

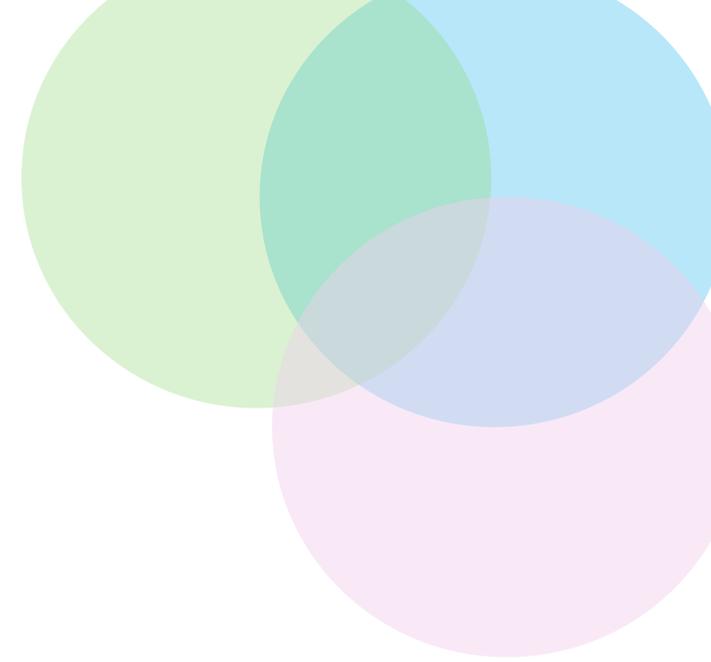
CRECIMIENTO BACTERIANO

Cultivos puros a partir de contaminados

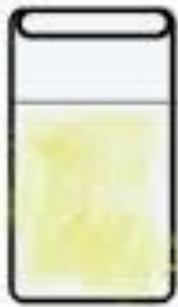
- Calor para bacterias esporuladas
- Medios de cultivos disgénicos
- Sustancias químicas (para esporulados)
- Filtración biológica – Inoculación de animales de laboratorio

Técnicas de cultivo - Repique

- Líquido a líquido
- Líquido a sólido en tubo
- Sólido a líquido
- Sólido a sólido



Morfología y aspecto de las colonias/poblaciones



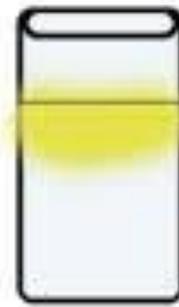
TURBIDEZ



GRUMOS



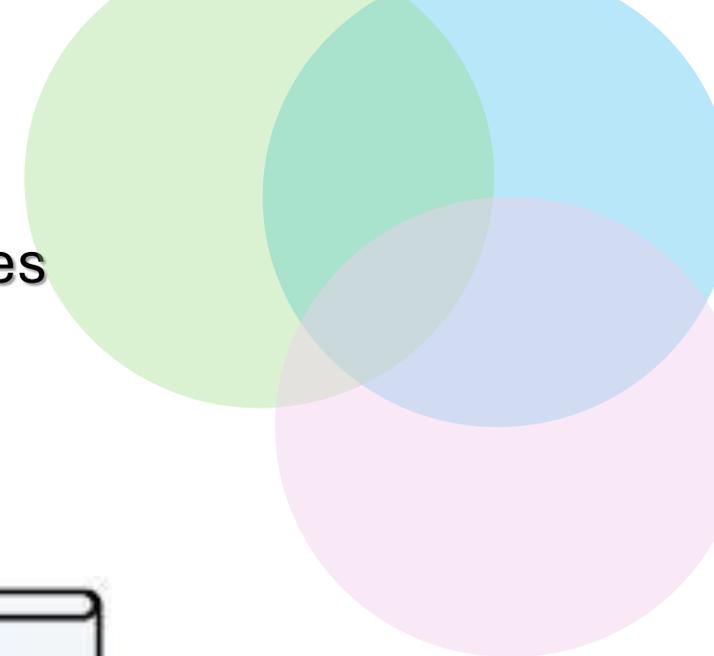
SEDIMENTOS



VELO SUPERFICIAL



COLOR



CRECIMIENTO BACTERIANO

Morfología y aspecto de las colonias/poblaciones



CRECIMIENTO BACTERIANO

Morfología y aspecto de las colonias/poblaciones



Cultivo de MO anaerobios

Métodos para obtener anaerobiosis

- Físicos → Producción de vacío, Ebullición, Reemplazo de gases
- Químicos → Agregado de agentes reductores: glucosa, tioglicolato de sodio, hierro, cisteína, ácido ascórbico, formaldehído sulfoxilado de sodio
- Combinados → Jarra de anaerobiosis

Indicadores

- Químicos (colorantes)
- Biológicos (*Bacillus stearothermophilus*)
- Físicos (placas indicadoras de la atmósfera)





**MUCHAS
GRACIAS!!!**