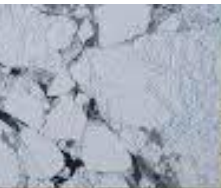


Ambientes extremos

- Profundidades marinas / subsuelo
- Fuentes hidrotermales
- Glaciares
- Salares / lagos hipersalinos
- Desiertos

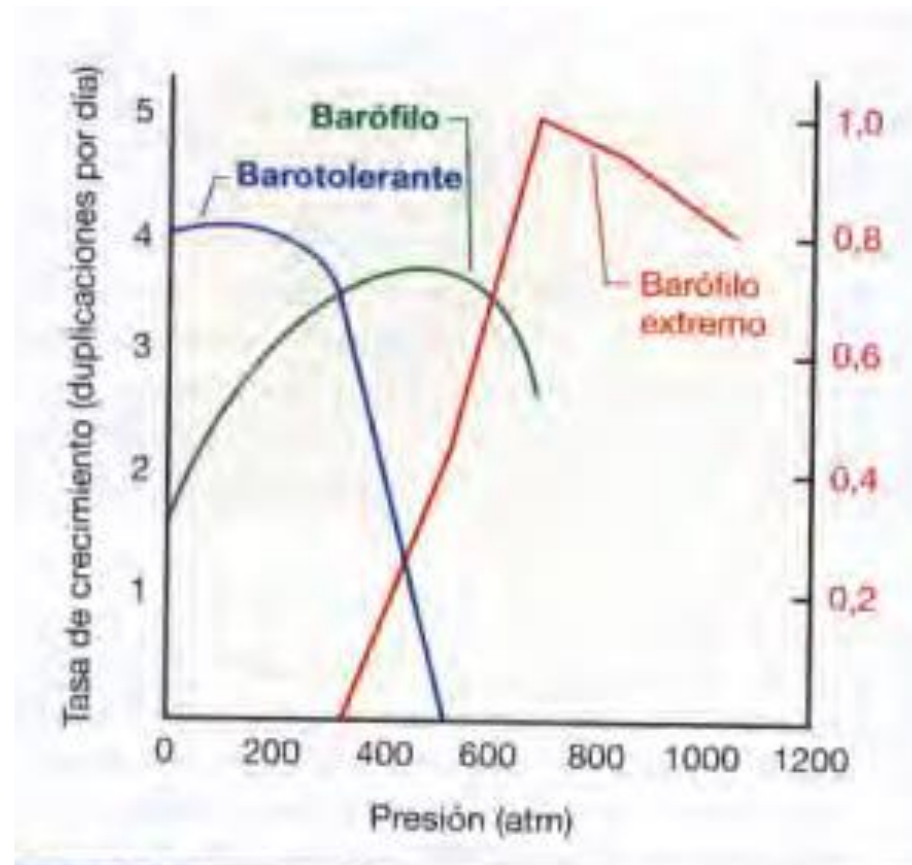


Profundidades Marinas

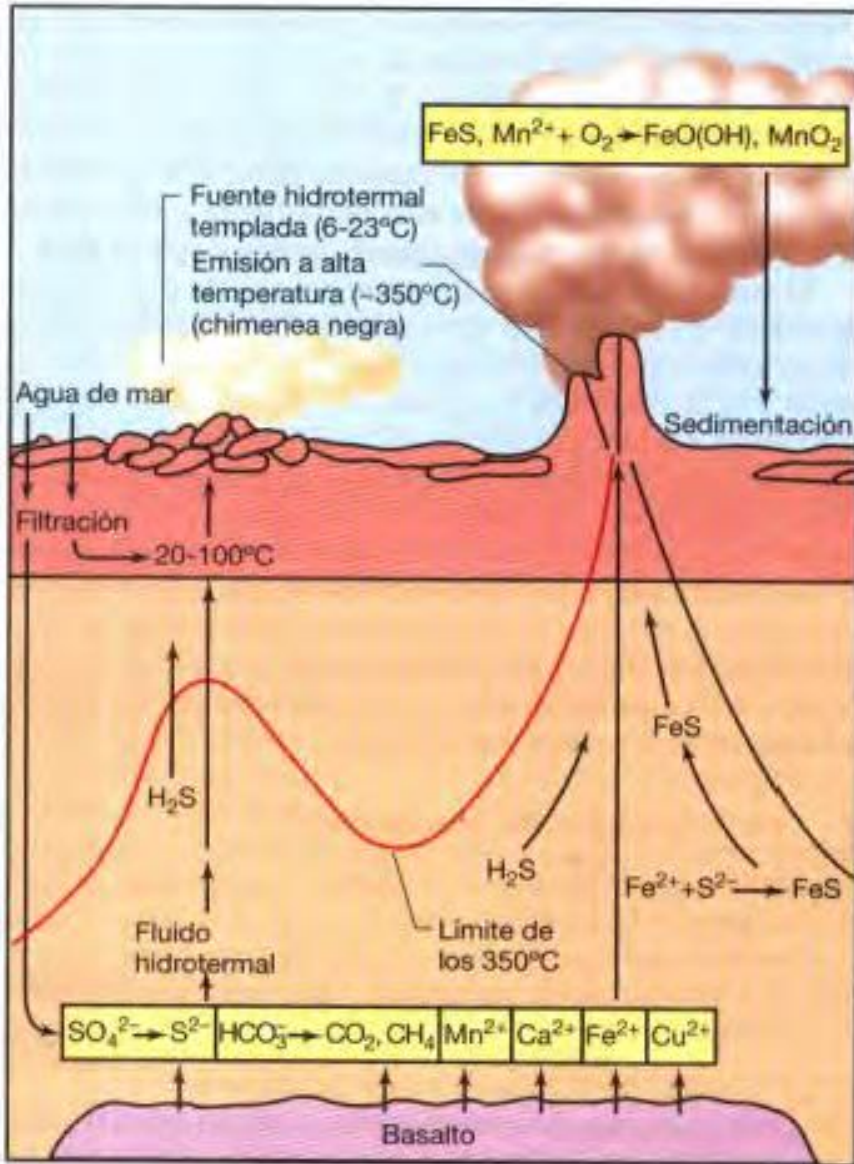
- Baja Temperatura
- Alta Presión
- Escasos Nutrientes



Figura 19.15 Brazo de muestreo del sumergible *Kaito* insertando un tubo en el sedimento del fondo marino en la Fosa de las Marianas (Océano Pacífico, frente a las Filipinas) a una profundidad de 10.897 metros. Los tubos de sedimento se recuperan y se utilizan para el enriquecimiento y aislamiento de las bacterias barófilas.

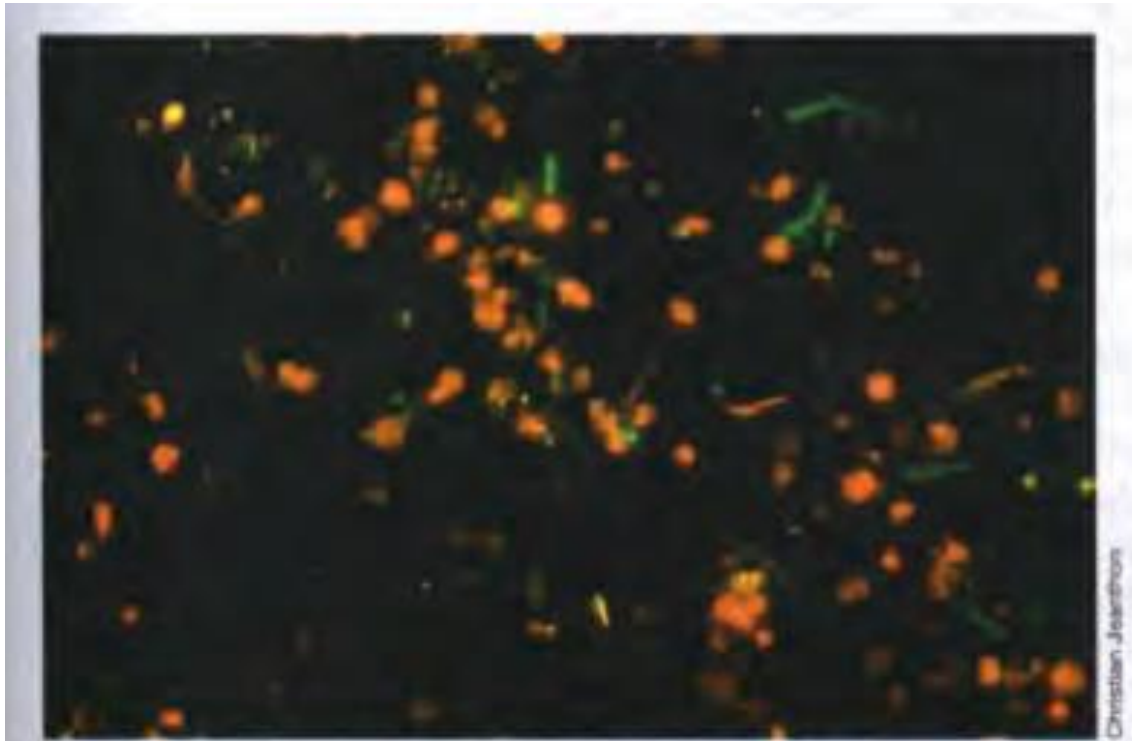


Fuentes Hidrotermales Submarinas



Quimiolitotrofos oxidadores de azufre - *Thiobacillus*

FISH: identificación del dominio Bacteria y Archaea en chimenea negra



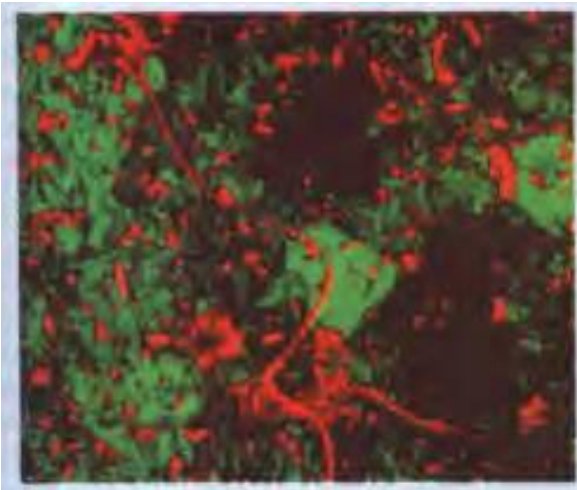
Sonda VERDE:
Complementaria al ARNr 16S
de *Bacteria*

Sonda ROJA:
Complementaria al ARNr 16S
de *Archaea*

Figura 19.20 Tinción filogenética de material procedente de una chimenea negra de Snake-Pit, en la cordillera submarina del Atlántico Medio (a 3500 m de profundidad). Se conjugó un colorante verde fluorescente con una sonda de rRNA 16S del dominio *Bacteria* y un colorante rojo con una sonda de rRNA 16S para el dominio *Archaea* (véanse Secciones 11.6 y 18.4). El número de células tiende a ser más elevado en las regiones externas de la pared de la chimenea (próximas a los 2°C del agua marina), y a disminuir en la región interior. El fluido hidrotermal que pasa a través de la chimenea estaba a 300°C.

Vida Microbiana en las profundidades de la tierra: en roca volcánica (basalto)

El basalto es una roca volcánica rica en hierro y con escasísima materia orgánica.



Fuente de energía: hidrógeno molecular

Aceptor final de electrones: CO_2 y sulfato

Verde: superficie del basalto

Rojo: bacterias teñidas con rojo Nilo

Ciclos Biogeoquímicos

▪ Resultado del conjunto de los procesos biológicos y químicos durante el reciclado de elementos esenciales en los sistemas vivos. Implica reacciones redox.

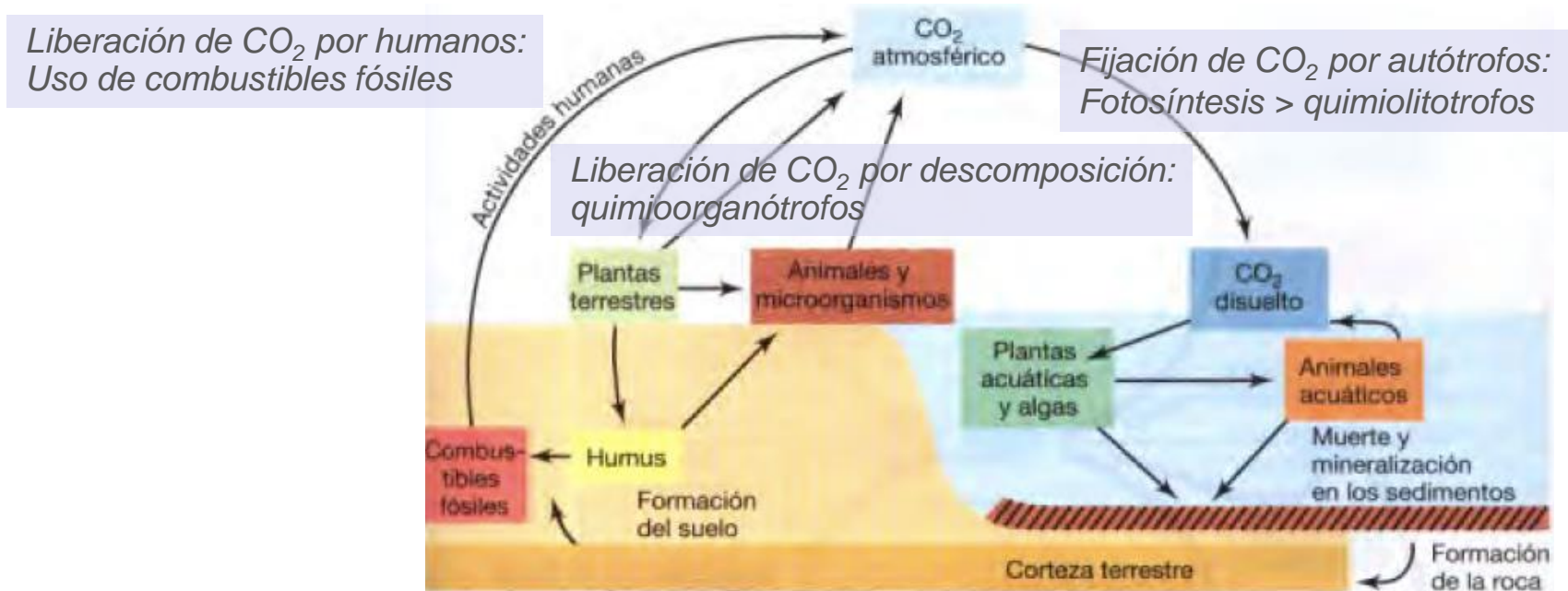
- **Ciclo del Carbono**
- **Ciclo del Nitrógeno**
- **Ciclo del Azufre**
- **Ciclo del Hierro**

Todos los organismos vivos están involucrados:

Bacterias, Archaea y Eucarya

Ciclo del Carbono

- El carbono es reciclado en todos los ambientes.
- Mayor reservorio en rocas y corteza: pero su disponibilidad aumenta muy lento.
- El CO_2 atmosférico está más disponible para los organismos.
- El carbono orgánico se encuentra en organismos vivos (gran parte en plantas) y en humus (la mayor parte).
- *Humus*: materia orgánica muerta sin descomponer.
- Unicas vías para producir C orgánico es por fotosíntesis o quimiolitotrofía.



Reservorios de carbono

TABLA 19.3 Principales reservorios de carbono en la Tierra

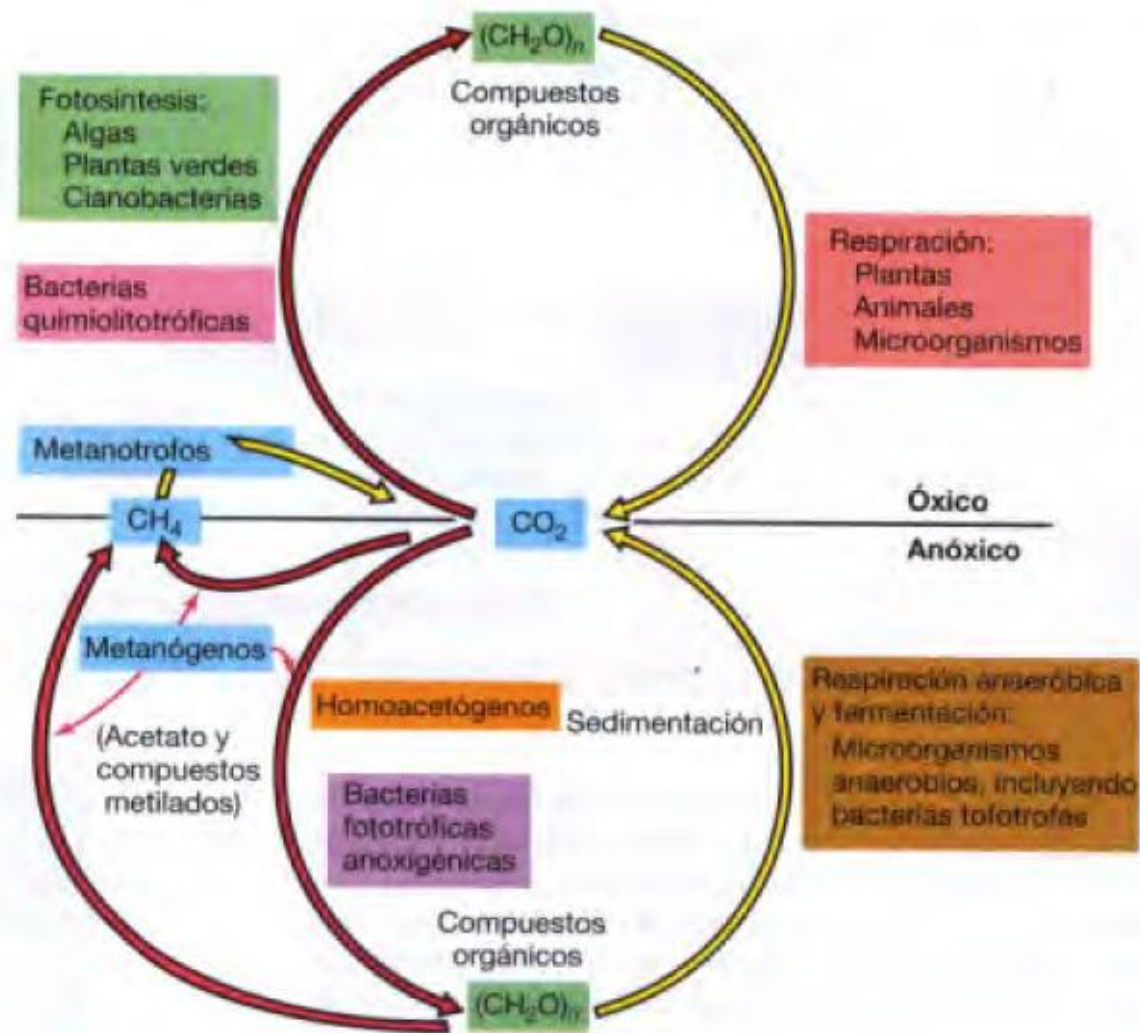
Reservorio	Carbono (gigatoneladas) ^a	Porcentaje del carbono total en la Tierra
Océanos	38×10^3 (>95% es C inorgánico)	0,05
Rocas y sedimentos	75×10^6 (>80% es C inorgánico)	> 99,5
Biosfera terrestre	2×10^3	0,003
Biosfera acuática	1-2	0,000002
Combustibles fósiles	$4,2 \times 10^3$	0,006
Hidratos de metano	10^4	0,014

^a Una gigatonelada son 10^9 toneladas. Datos adaptados de *Science* 290: 291-295 (2000).

Ciclo del Carbono

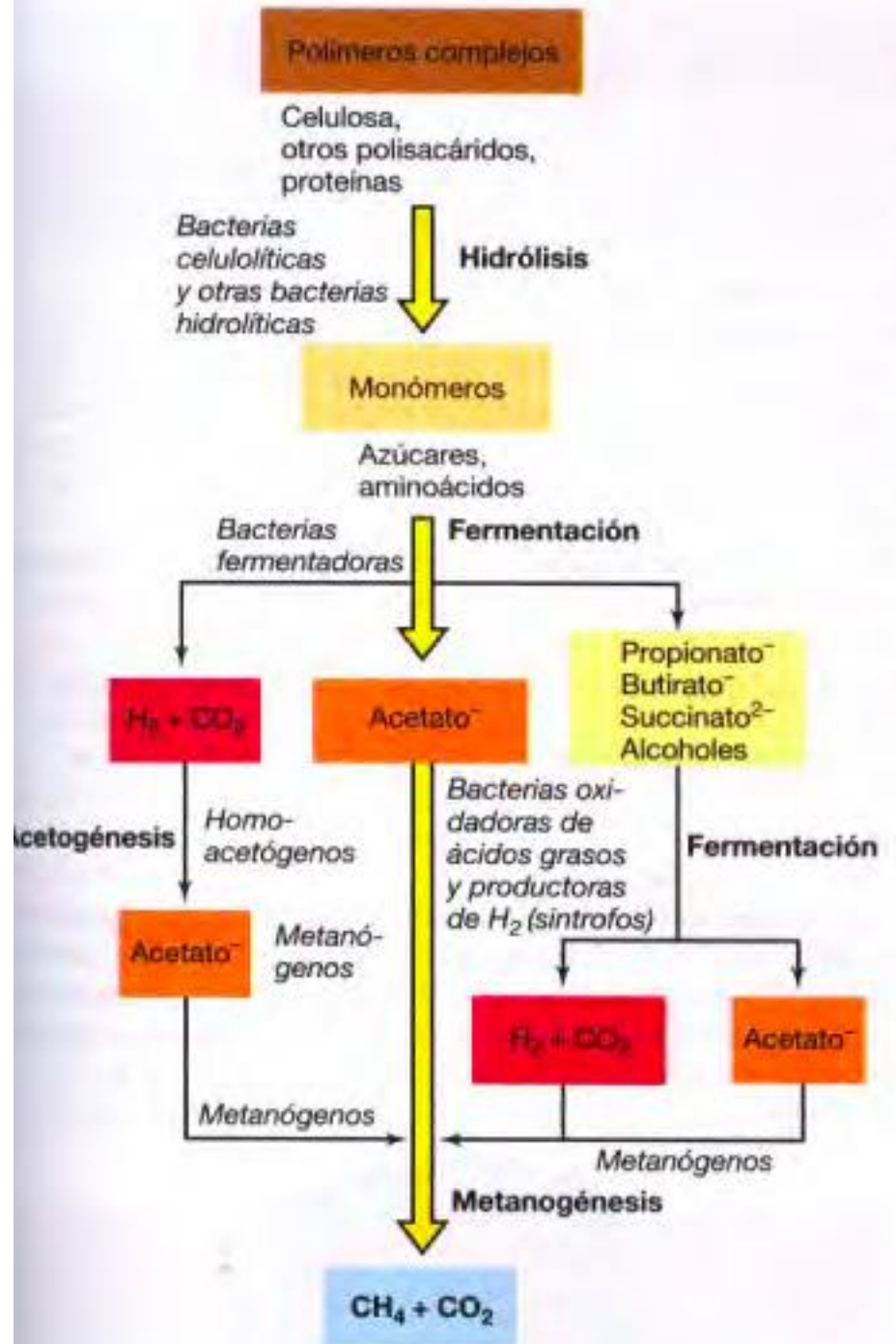
- Oxidaciones (amarillo)
- Reducciones (rojas)

- Fijación por fotosíntesis o quimiolitotrofia
- Liberación por microorganismos: 2 estados de oxidación: **metano (CH_4)** y **CO_2** .
- Metanotrofos: oxidan metano a CO_2 .
- Producción de CO_2 por quimiorganótrofos (resp. aerobia, anaerobia, fermentación).



metanogénesis

Sucede mucho en pantanos y vacas!



Descomposición anaeróbica

TABLA 19.4 Principales reacciones que tienen lugar en la conversión anóxica de compuestos orgánicos a metano^d

Tipo de reacción	Reacción	Intercambio de energía libre (kJ/reacción)	
		$\Delta G^{0, b}$	ΔG^c
Fermentación de glucosa a acetato, H ₂ y CO ₂	Glucosa + 4 H ₂ O → 2 acetato ⁻ + 2 HCO ₃ ⁻ + 4 H ⁺ + 4 H ₂	-270	*-319
Fermentación de glucosa a butirato, CO ₂ y H ₂	Glucosa + 2 H ₂ O → butirato ⁻ + 2 HCO ₃ ⁻ + 2 H ₂ + 3 H ⁺	-135	-284
Fermentación de butirato a acetato y H ₂	Butirato ⁻ + 2 H ₂ O → 2 acetato ⁻ + H ⁺ + 2 H ₂	+48,2	-17,6
Fermentación de propionato a acetato, CO ₂ y H ₂	Propionato ⁻ + 3 H ₂ O → acetato ⁻ + HCO ₃ ⁻ + H ⁺ + H ₂	+76,2	-5,5
Fermentación de etanol a acetato y H ₂	2 Etanol + 2 H ₂ O → 2 acetato ⁻ + 4 H ₂ + 2 H ⁺	+19,4	-37
Fermentación de benzoato a acetato, CO ₂ y H ₂	Benzoato ⁻ + 6 H ₂ O → 3 acetato ⁻ + 2 H ⁺ + CO ₂ + 3 H ₂	+47	-18
Metanogénesis a partir de H ₂ + CO ₂	4 H ₂ + HCO ₃ ⁻ + H ⁺ → CH ₄ + 3 H ₂ O	-136	-3,2
Metanogénesis a partir de acetato	Acetato ⁻ + H ₂ O → CH ₄ + HCO ₃ ⁻	-31	-24,7
Acetogénesis a partir de H ₂ + CO ₂	4 H ₂ + 2 HCO ₃ ⁻ + H ⁺ → acetato ⁻ + 4 H ₂ O	-105	-7,1

^a Datos adaptados de Zinder, S. 1984. Microbiology of anaerobic conversion of organic wastes to methane: Recent developments. *Am. Soc. Microbiol. News* 50:294-298.

^b Condiciones estándar; solutos, 1 M; gases, 1 atm.

^c Concentraciones de los reactantes en un ecosistema anóxico de agua dulce típico: ácidos grasos, 1 mM; HCO₃⁻, 20 mM; glucosa, 10 μM; CH₄, 0,6 atm; H₂, 10⁻⁴ atm. Para calcular ΔG a partir de ΔG⁰, véase Apéndice 1.

Composición tema: “la vaca”

Organismo	Tinción de Gram	Dominio Filogenético ^a	Morfología	Movilidad	Productos de la fermentación	DNA (GC mol %)
Degradadores de celulosa						
<i>Fibrobacter succinogenes</i> ^b	Negativo	B	Bacilo	–	Succinato, acetato, formiato	45-51
<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i> ^c	Negativo	B	Bacilo curvado	+	Acetato, formiato, lactato, butirato, H ₂ , CO ₂	41
<i>Ruminococcus albus</i> ^b	Positivo	B	Coco	–	Acetato, formiato, H ₂ , CO ₂	43-46
<i>Clostridium lochheadii</i>	Positivo	B	Bacilo (esporas)	+	Acetato, formiato, butirato, H ₂ , CO ₂	—
Degradadores de almidón						
<i>Prevotella ruminicola</i>	Negativo	B	Bacilo	–	Formiato, acetato, succinato	40-42
<i>Ruminobacter amylophilus</i>	Negativo	B	Bacilo	–	Formiato, acetato, succinato	49
<i>Selenomonas ruminantium</i>	Negativo	B	Bacilo curvado	+	Acetato, propionato, lactato	49
<i>Succinomonas amylolytica</i>	Negativo	B	Ovalado	+	Acetato, propionato, succinato	—
<i>Streptococcus bovis</i>	Positivo	B	Coco	–	Lactato	37-39
Degradadores de lactato						
<i>Selenomonas lactilytica</i>	Negativo	B	Bacilo curvado	+	Acetato, succinato	50
<i>Megasphaera elsdenii</i>	Positivo	B	Coco	–	Acetato, propionato, butirato, valerato, coproato, H ₂ , CO ₂	54
Degradadores de succinato						
<i>Schwartzia succinovorans</i>	Negativo	B	Bacilo	+	Propionato, CO ₂	46
Degradadores de pectina						
<i>Lachnospira multiparus</i>	Positivo	B	Bacilo curvado	+	Acetato, formiato, lactato, H ₂ , CO ₂	—
Metanógenos						
<i>Methanobrevibacter ruminantium</i>	Positivo	A	Bacilo	–	CH ₄ (a partir de H ₂ + CO ₂ o de formiato)	31
<i>Methanomicrobium mobile</i>	Negativo	A	Bacilo	+	CH ₄ (a partir de H ₂ + CO ₂ o de formiato)	49

Estimación de la liberación de metano a la atmósfera

TABLA 19.5 Estimaciones de la liberación de CH₄ a la atmósfera^a

Fuente	Emisión CH ₄ (10 ¹² g/año)	
Biótica		
Rumiantes	80-100	
Termes	25-150 ^b	
Zonas agrícolas encharcadas	70-120	
Humedales naturales	120-200	
Vertederos	5-70	
Océanos y lagos	1-20	
Tundra	1-5	
Abiótica		
Minería de carbón	10-35	
Emisiones naturales de gas	10-30	
Escapes industriales y de gasoductos	15-45	
Combustión de biomasa	10-40	
Hidratos de metano	2-4	
Volcanes	0,5	
Automóviles	0,5	
Total	350-820	
Total biótico	302-665	81-86% del total
Total abiótico	48-155	13-19% del total

^a Datos adaptados de las estimaciones de Tyler, S.C., 1991, The global methane budget, pp. 7-58, en E. J. Rogers y W. B. Whitman (eds.), *Microbial Production and Consumption of Greenhouse Gases: Methane, Nitrogen Oxides, and Halomethanes*, American Society for Microbiology, Washington, DC.

^b Estimaciones más recientes indican que el valor más bajo es probablemente el más exacto.

Sintrofía



Archie Boethius y Armin Glöckler

(a)

Reacción	Organismo	$\Delta G^{0'}$ (kJ)
$\text{CH}_4 + 2 \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{CO}_2 + 4 \text{H}_2$	Metanógeno	+131
$\text{SO}_4^{2-} + 4 \text{H}_2 + \text{H}^+ \longrightarrow \text{HS}^- + 4 \text{H}_2\text{O}$	Sulfato reductor	-156
Sum: $\text{SO}_4^{2-} + \text{CH}_4 \longrightarrow \text{HCO}_3^- + \text{HS}^- + \text{H}_2\text{O}$	Reacción sintrófica	-25

(b)

Figura 19.25 Oxidación anóxica de metano. (a) Agregados celulares de sedimentos marinos que oxidan metano. Los agregados contienen bacterias metanógenas (rojo), rodeadas por bacterias sulfato reductoras (verde). Cada tipo celular está teñido con un colorante filogenético FISH diferente (véase Sección 18.4). (b) Posible mecanismo de la oxidación sintrófica anóxica de metano en los agregados celulares.

Ciclo del Nitrógeno

- Estados de oxidación del N

Compuesto	Estado de oxidación
N orgánico (R—NH ₂)	-3
Amoníaco (NH ₃)	-3
Gas nitrógeno (N ₂)	0
Óxido nitroso (N ₂ O)	+1 (promedio por N)
Óxido de nitrógeno (NO)	+2
Nitrito (NO ₂ ⁻)	+3
Dióxido de nitrógeno (NO ₂)	+4
Nitrato (NO ₃ ⁻)	+5

VOLATIL

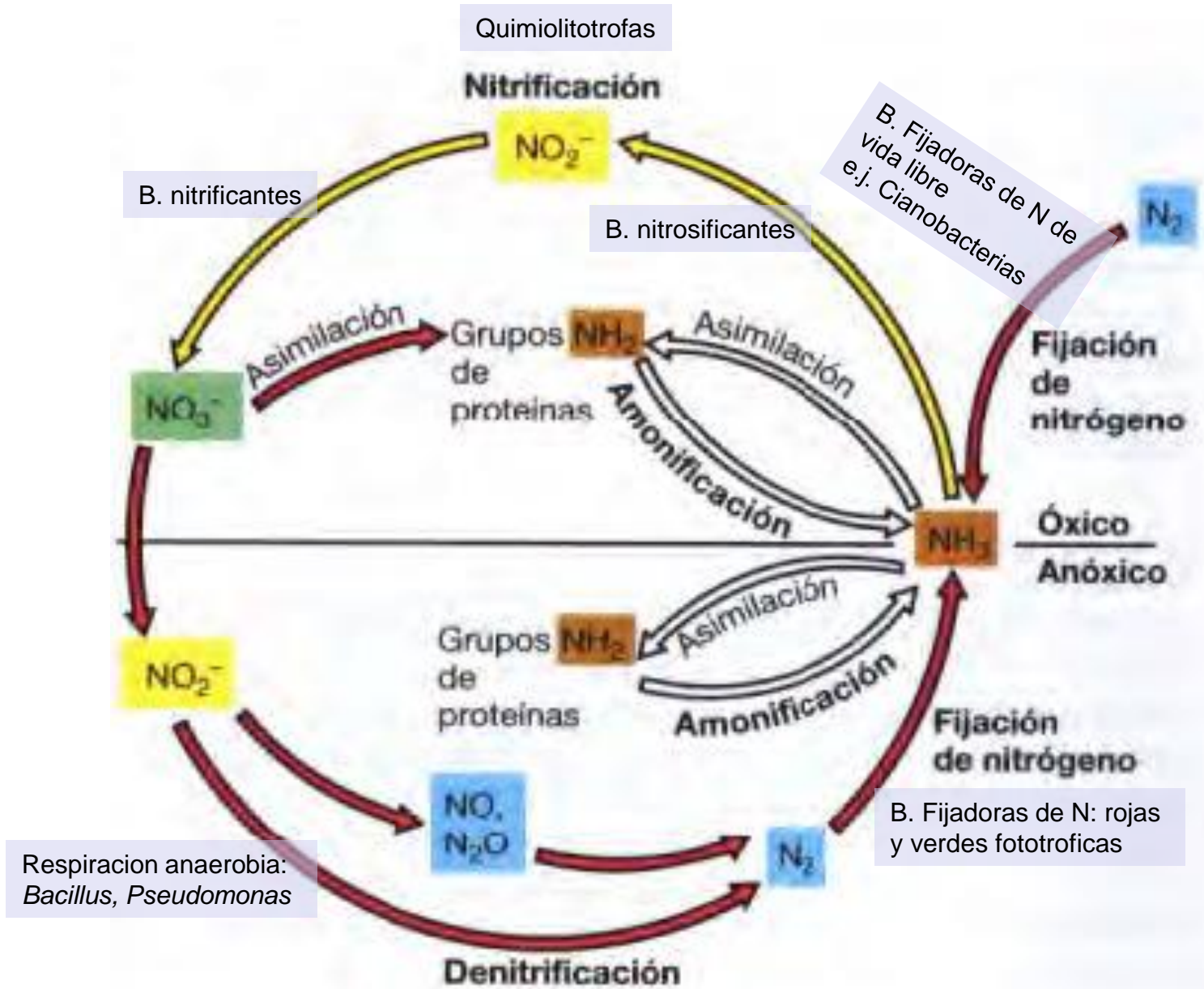
GAS

SOLUBLE EN AGUA

- N₂ es la forma más estable (triple enlace)
- Atmósfera es el mayor reservorio.

Ciclo del Nitrógeno

- Oxidaciones (amarillo)
- Reducciones (rojas)



Ciclo del Nitrógeno

✓ **Nitrificación**

- oxidación de compuestos de N (NH_3 y NO_2^-) a nitrato (NO_3^-) por bacterias nitrosificantes y nitrificantes (quimiolitótrofos aerobias).

✓ **Desnitrificación**: compuestos de N como aceptores de e- en la respiración anaeróbica (reducción de compuestos de N; e.g. nitrato a óxido nitroso o N_2).

Procesos clave y procariotas del ciclo del nitrógeno

Procesos	Organismos
Nitrificación ($\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NO}_3^-$)	
$\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NO}_2^-$	<i>Nitrosomonas</i>
$\text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^-$	<i>Nitrobacter</i>
Desnitrificación ($\text{NO}_3^- \rightarrow \text{N}_2$)	<i>Bacillus</i> , <i>Paracoccus</i> , <i>Pseudomonas</i>
Fijación de N_2 ($\text{N}_2 + 8\text{H} \rightarrow \text{NH}_3 + \text{H}_2$)	
Vida libre	
Aerobia	<i>Azotobacter</i> Cianobacterias
Anaerobia	<i>Clostridium</i> , bacterias fototróficas rojas y verdes
Simbiótica	<i>Rhizobium</i> <i>Bradyrhizobium</i> <i>Frankia</i>
Amonificación (N orgánico $\rightarrow \text{NH}_4^+$)	Pueden hacerla muchos microorganismos

Fijación de N:

- Gran cantidad de E para romper N_2 .
- Solo algunos microorganismos son capaces.

Asimilación:

- Absorción de compuestos inorgánicos de N (NH_3 , etc.) como nutriente.
- Nitrato NO_3^- es fácilmente asimilable por plantas.

Amonificación:

- Descomposición de compuestos orgánicos de N produce amoníaco (NH_3 o NH_4^+).

Ciclo del azufre

Procesos clave y organismos procariotas en el ciclo del azufre

Proceso	Organismos
Oxidación de sulfuro/azufre Aeróbico	$(\text{H}_2\text{S} \rightarrow \text{S}^0 \rightarrow \text{SO}_4^{2-})$ Quimiolitotrofos del azufre (<i>Thiobacillus</i> , <i>Beeggiatoa</i> , otros)
Anaeróbico	Bacterias fototróficas rojas y verdes, algunos quimiolitotrofos
Reducción de sulfato (anaeróbico) ($\text{SO}_4^{2-} \rightarrow \text{H}_2\text{S}$)	<i>Desulfovibrio</i> , <i>Desulfobacter</i> ,
Reducción de azufre (anaeróbico) ($\text{S}^0 \rightarrow \text{H}_2\text{S}$)	<i>Desulfuromonas</i> , muchas <i>Archaea</i> hipertermófilas
Desproporción de azufre ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-} \rightarrow \text{H}_2\text{S} + \text{SO}_4^{2-}$)	<i>Desulfovibrio</i> , y otros
Oxidación o reducción de compuestos orgánicos de azufre ($\text{CH}_3\text{SH} \rightarrow \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{S}$) ($\text{DMSO} \rightarrow \text{DMS}$)	
Desulfurilación (orgánica-S $\rightarrow \text{H}_2\text{S}$)	Muchos organismos pueden hacerlo

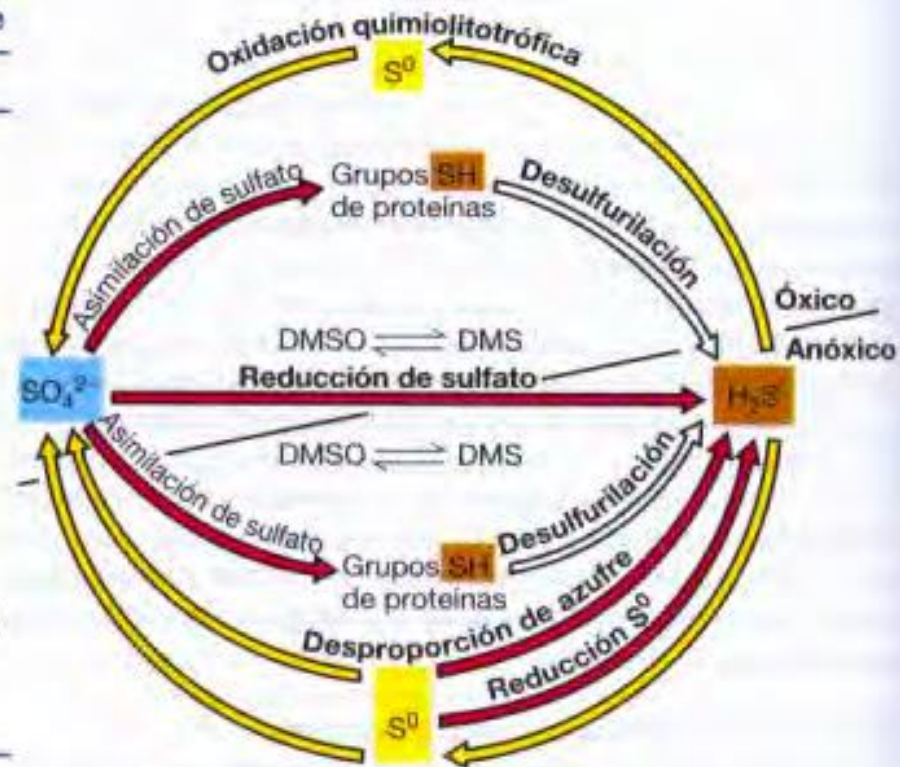


Figura 19.30 Ciclo de óxido-reducción del azufre: las reacciones de oxidación se representan por flechas amarillas y las reducción por rojas. DMSO, dimetilsulfóxido; DMS, dimetilsulfuro.

Ciclo del hierro

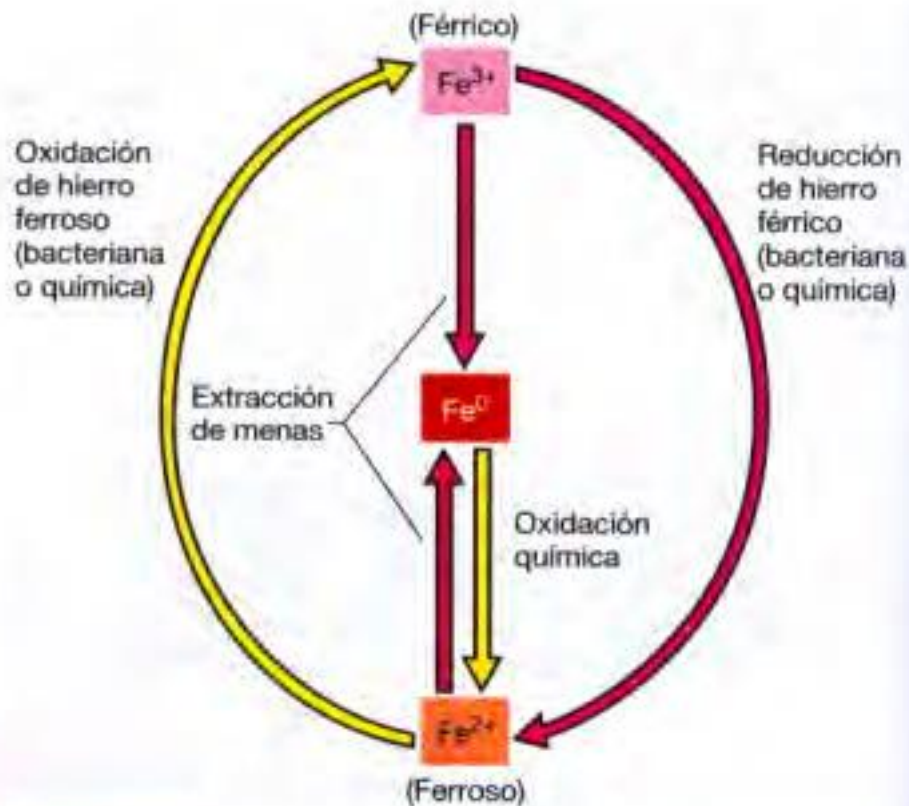
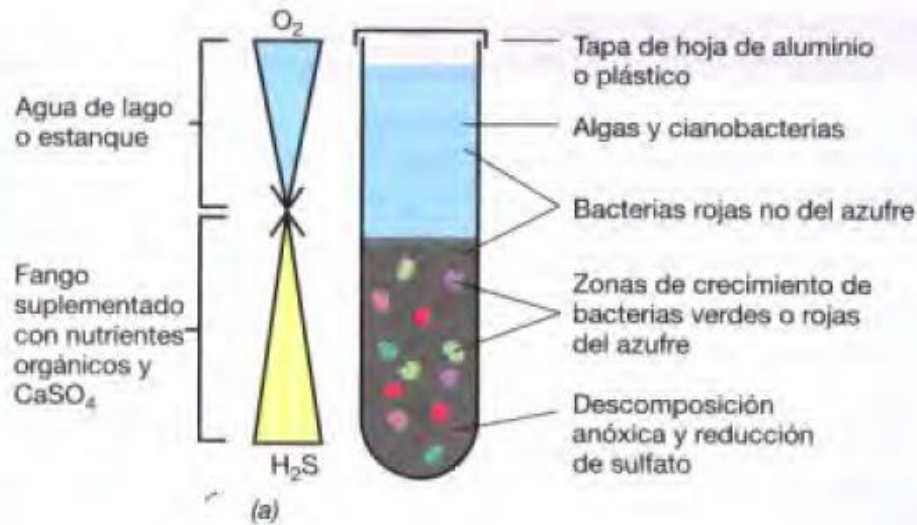


Figura 19.32 Ciclo de óxido-reducción del hierro. La forma principal del hierro en la naturaleza es Fe^{2+} y Fe^{3+} ; Fe^0 es producto de la actividad humana en la extracción de mena de hierro. La oxidación de hierro ferroso es un proceso aeróbico que llevan a cabo los quimiolitotrofos (o químico a pH neutro) y anaeróbico por algunas bacterias fototróficas anoxigénicas y bacterias desnitrificantes. Las oxidaciones se representan mediante flechas amarillas y las reducciones por flechas rojas.

Técnicas de ecología microbiana

Ver lo invisible

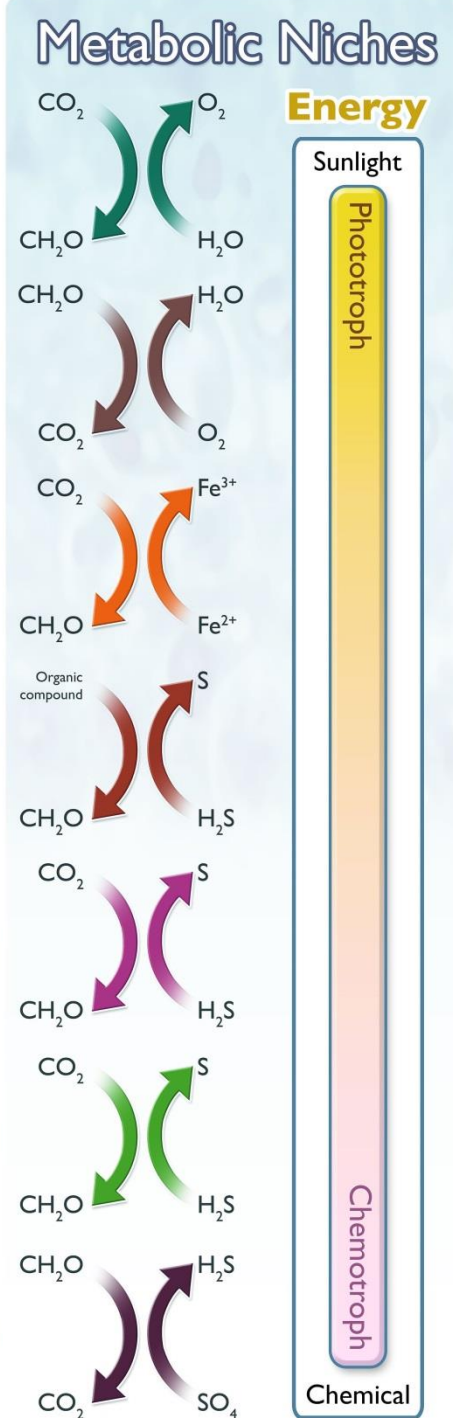
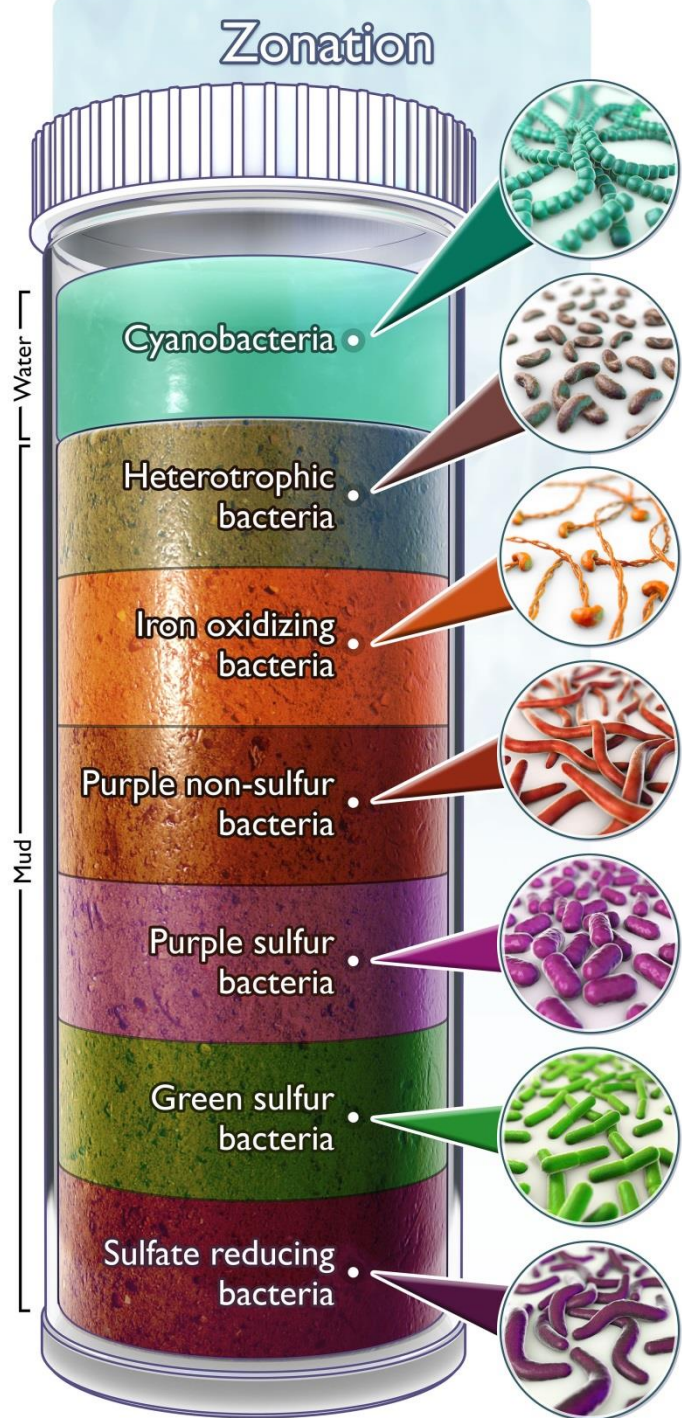
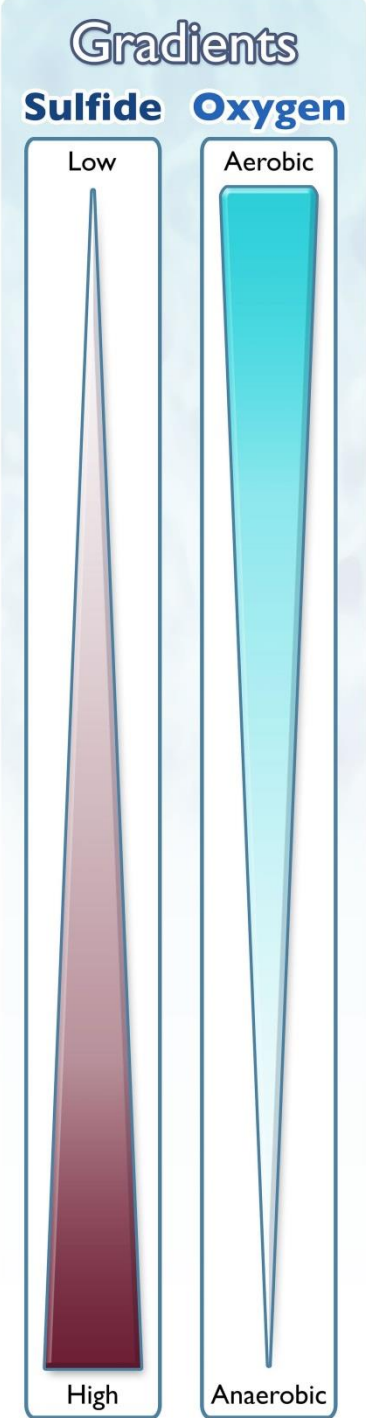
Columna de Winogradwsky



(b)

Figura 18.2 Columna de Winogradsky. (a) Esquema de una columna típica. La columna se coloca de manera que reciba luz solar débil. Las bacterias quimioorganotróficas crecen a lo largo de toda la columna, los aerobios y microaerófilos en la parte superior, los anaerobios en las zonas que contienen H₂S. La descomposición anóxica que da lugar a la reducción de sulfato crea el gradiente de H₂S. Las bacterias verdes y rojas del azufre se estratifican de acuerdo con la tolerancia al H₂S. (b) Foto de columnas de Winogradsky que se han mantenido anóxicas hasta la parte superior; obsérvese el crecimiento masivo de tres tipos diferentes de bacterias fototróficas en la parte de la columna de agua que está encima del lodo. De izquierda a derecha: *Thiospirillum jenense*, *Chromatium okenii* (ambas bacterias rojas del azufre, Sección 12.2) y *Chlorobium limicola* (bacteria verde del azufre, véase Sección 12.32).

Columna de Winogradsky



Columna de Winogradsky

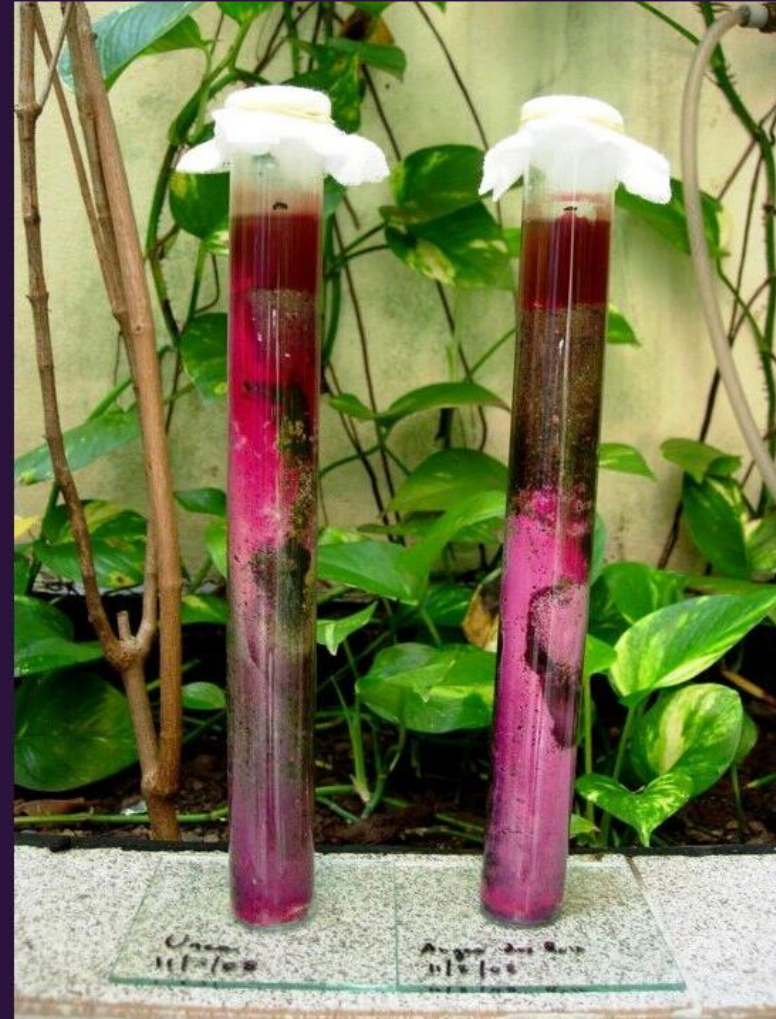


- **Algas fotosintéticas**
- **Cianobacterias:** fotosintéticas, zona color verde.
- ***Beggiatoa* y *Thiobacillus*:** bacterias que oxidan azufre, utilizan lo que quedó de $H_2S \rightarrow S^0$
- ***Rhodospirillum* y *Rhodopseudomonas*:** bacterias púrpura, se ven como una franja rojo-anaranjado. El H_2S inhibe su crecimiento
- ***Chromatium*** bacterias púrpuras del azufre Gram (-), aparecen donde la concentración de H_2S no es tan alta.
- ***Chlorobium*:** bacterias verdes del azufre, usan el H_2S como donante de electrones $\rightarrow S^0$
- ***Desulfovibrio*:** reductoras de azufre Gram (-), usan productos de fermentación, respiración anaerobia $\rightarrow H_2S$. Se ven como una franja negra
- ***Clostridium*:** bacilos grandes móviles Gram (-), usan la celulosa \rightarrow glucosa \rightarrow fermentación

Zona aerobia: la parte superior de la columna de agua puede contener abundantes microorganismos aerobios, los que se encuentran habitualmente en hábitats acuáticos ricos en materia orgánica. Suelen ser flagelados.

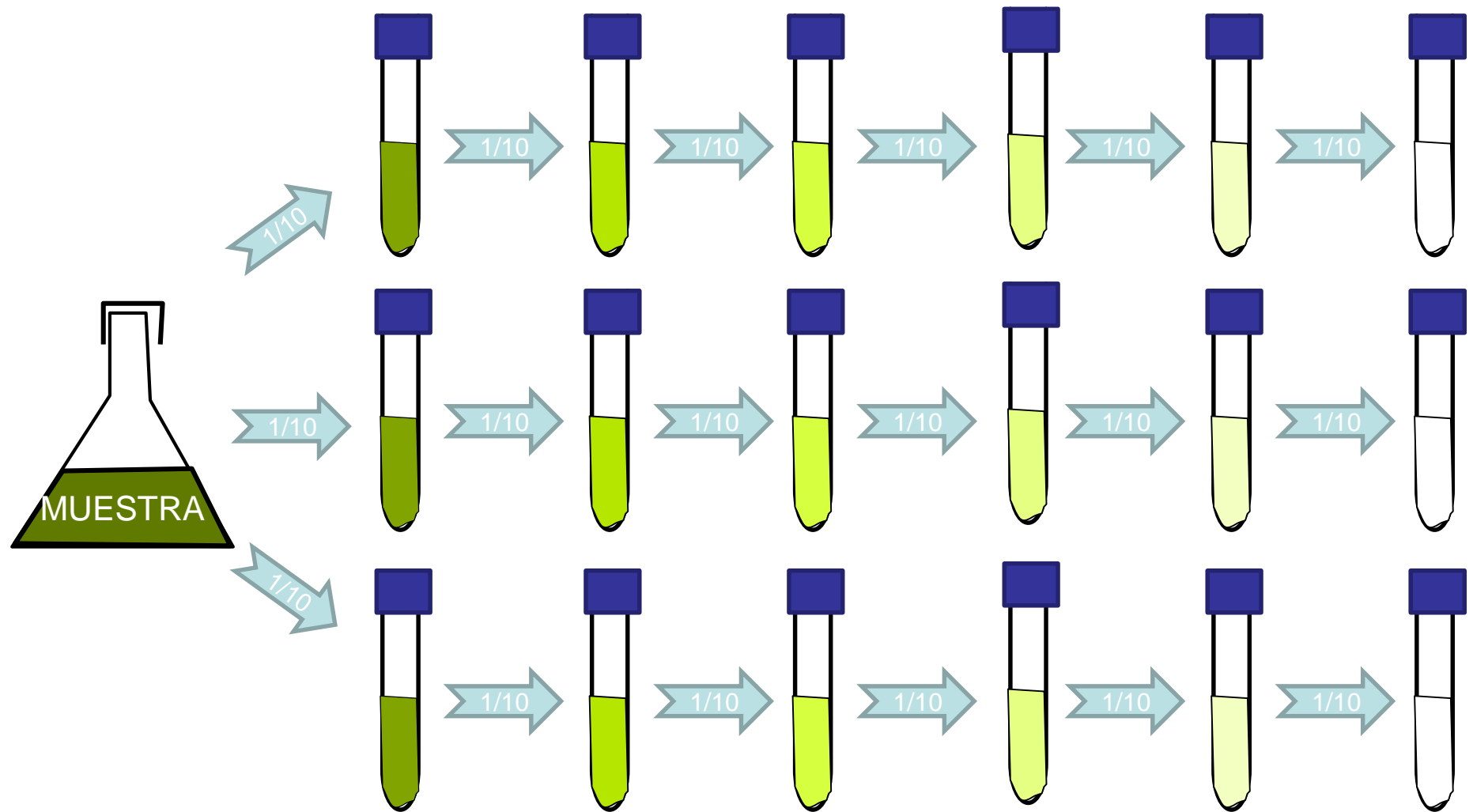
Zona anaerobia: pueden crecer dos tipos de microorganismos, los que fermentan la materia orgánica, y los que respiran anaeróbicamente. En el nivel más bajo de la columna (alta concentración de H_2S) aparecen varios grupos de microorganismos diferentes.

COLUMNAS DE WINOGRADSKY (



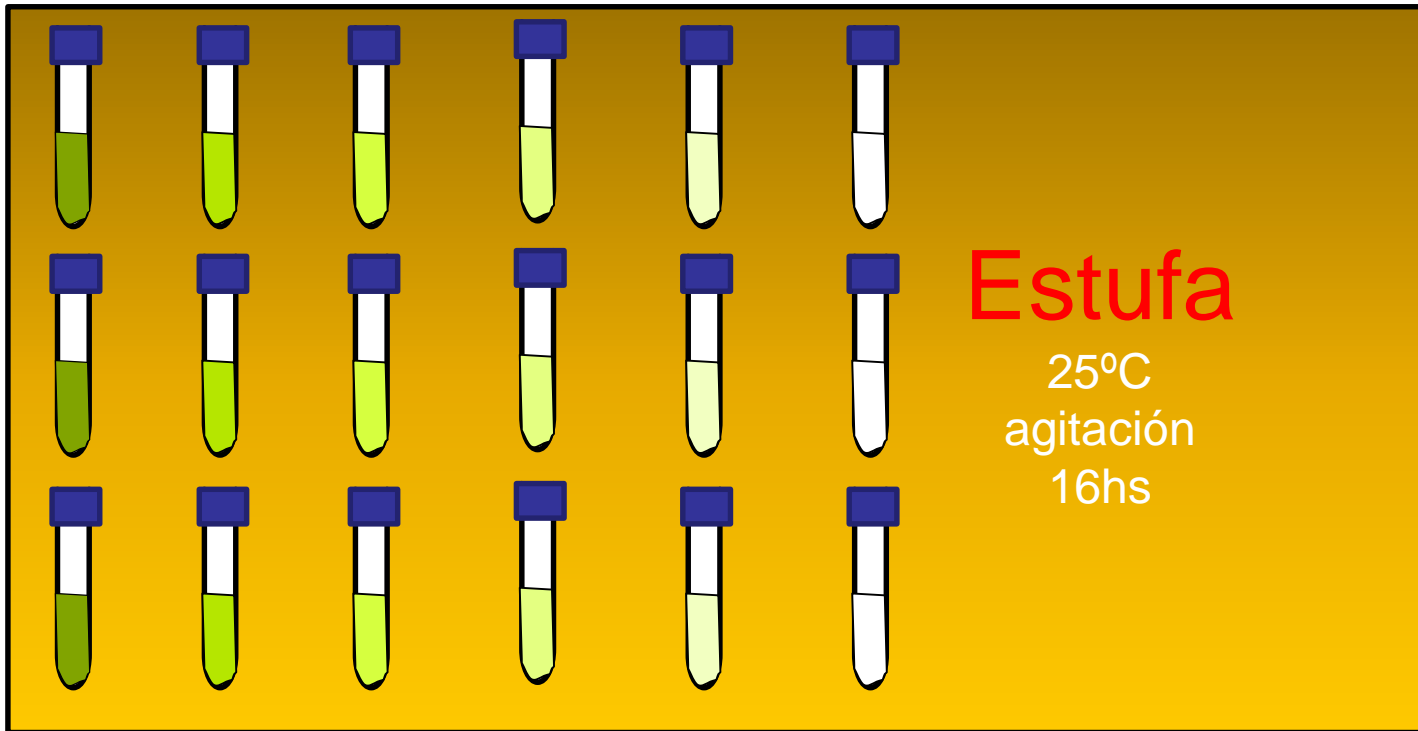
METODO DEL NÚMERO MÁS PROBABLE PARA RECuento DE BACTERIAS

Metodología I: réplicas de diluciones

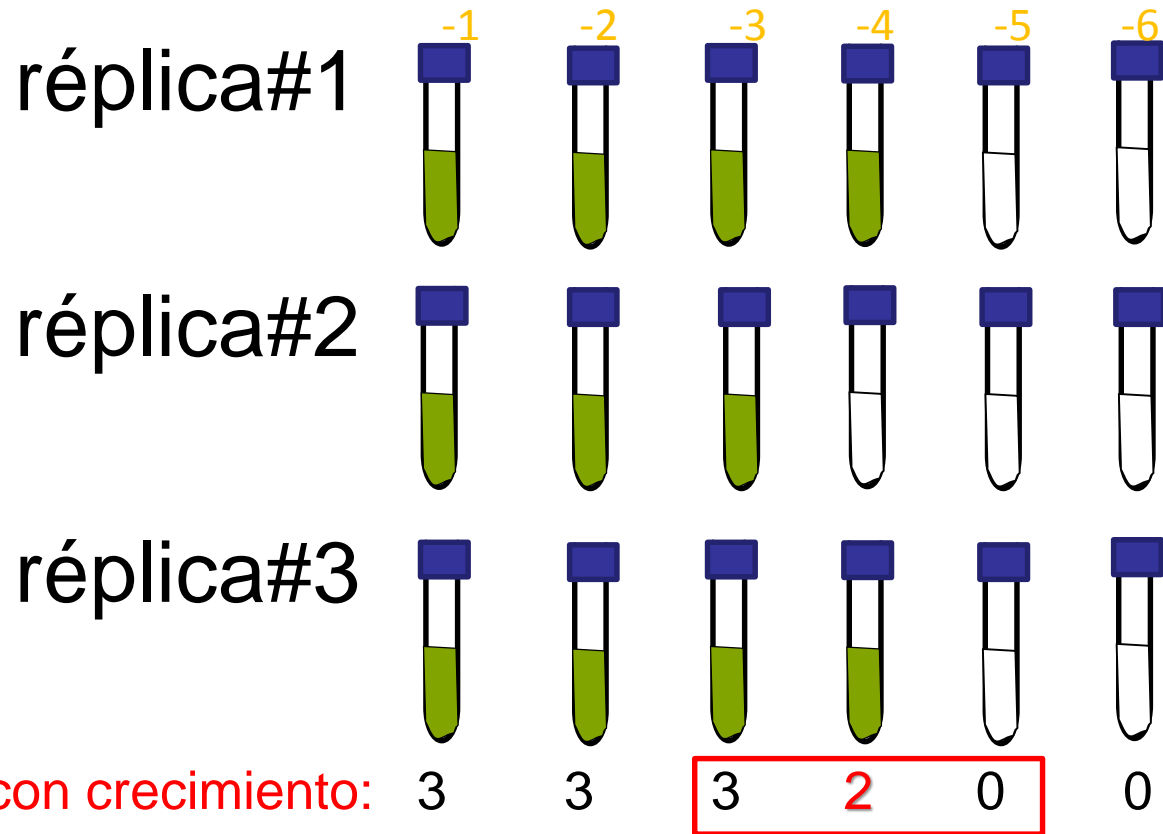


Tenemos aquí 3 eventos independientes de diluciones seriadas con factor de dilución 10.

Metodología II: incubar diluciones



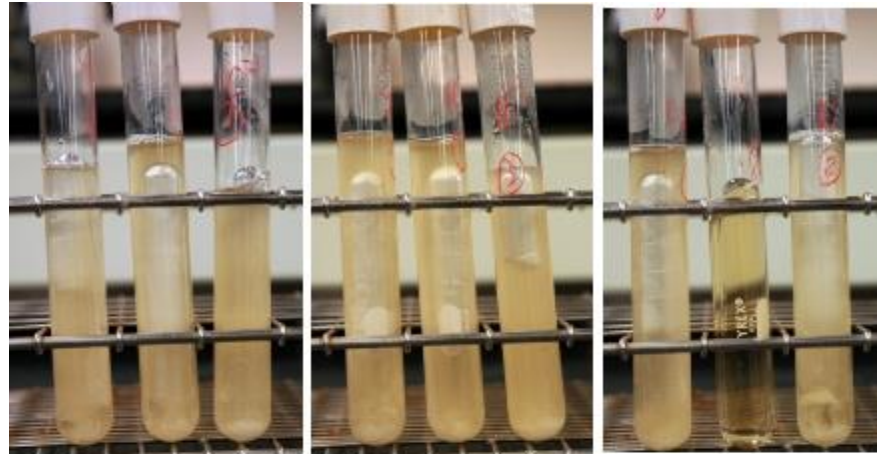
Resultado



La cantidad de bacterias en la muestra original está alrededor de 10^4 .

Según la tabla en uso, se elige la última dilución con crecimiento en las tres réplicas y las dos subsiguientes. El NMP puede calcularse buscando el coeficiente correspondiente a la triada 3-2-0. Luego, se multiplica el coeficiente por el factor de dilución acumulado en el primer tubo donde comienzan a extinguirse las bacterias (10^4).

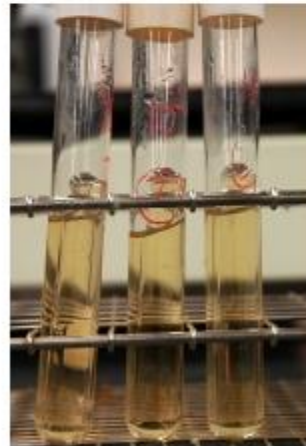
En la vida real...



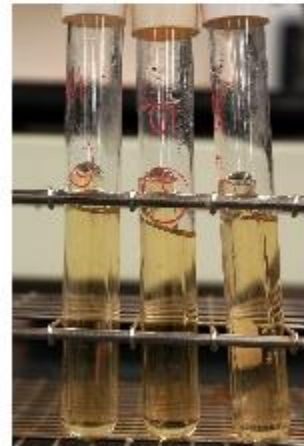
10^{-2}

10^{-3}

10^{-4}



10^{-5}



10^{-6}

Por último, buscar el coeficiente y calcular:

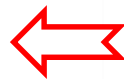
No of Tubes Positive In				No of Tubes Positive In			
first	middle	last	MPN	first	middle	last	MPN
0	0	0	<0.03	2	0	0	0.091
0	0	1	0.03	2	0	1	0.14
0	0	2	0.06	2	0	2	0.20
0	0	3	0.09	2	0	3	0.26
0	1	0	0.03	2	1	0	0.15
0	1	1	0.061	2	1	1	0.20
0	1	2	0.092	2	1	2	0.27
0	1	3	0.12	2	1	3	0.34
0	2	0	0.062	2	2	0	0.21
0	2	1	0.093	2	2	1	0.28
0	2	2	0.12	2	2	2	0.35
0	2	3	0.16	2	2	3	0.42
0	3	0	0.094	2	3	0	0.29
0	3	1	0.13	2	3	1	0.36
0	3	2	0.16	2	3	2	0.44
0	3	3	0.19	2	3	3	0.53
1	0	0	0.036	3	0	0	0.23
1	0	1	0.072	3	0	1	0.39
1	0	2	0.11	3	0	2	0.64
1	0	3	0.15	3	0	3	0.95
1	1	0	0.073	3	1	0	0.43
1	1	1	0.11	3	1	1	0.75
1	1	2	0.15	3	1	2	1.2
1	1	3	0.19	3	1	3	1.6
1	2	0	0.11	3	2	0	0.93
1	2	1	0.15	3	2	1	1.5
1	2	2	0.5	3	2	2	2.1
1	2	3	0.24	3	2	3	2.9

Factor de dilución acumulado = 10^4

Coeficiente = 0,93

NMP = $0,93 \times 10^4$

NMP = $9,3 \times 10^3$



DAPI

Tiñe ADN inespecíficamente.

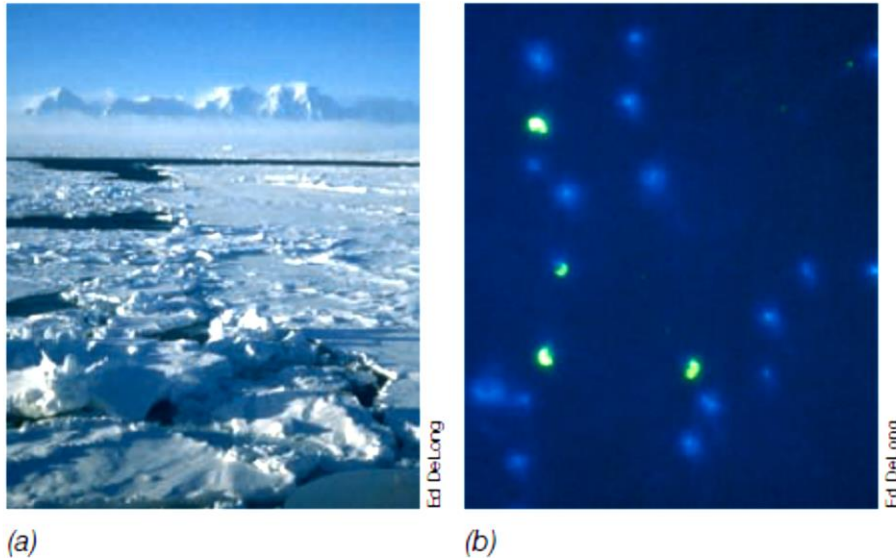
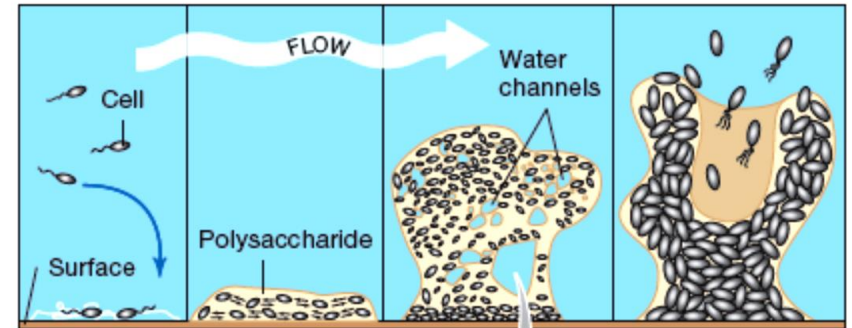
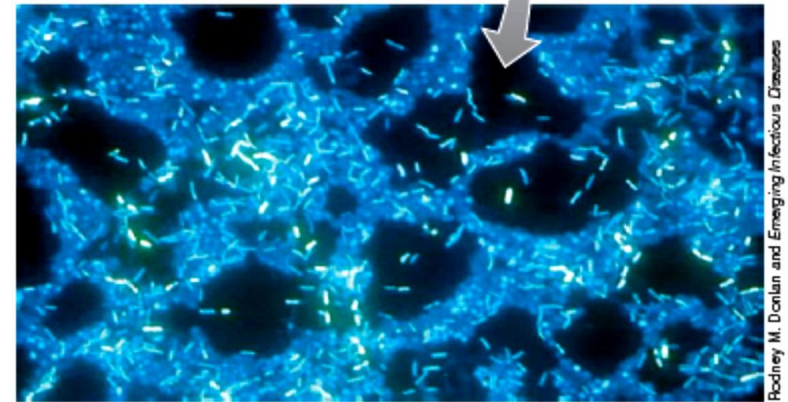


Figure 16.15 Cold-dwelling *Thaumarchaeota*. (a) Photo of the Antarctic Peninsula taken from shipboard. The frigid waters that lie under the surface ice shown here are habitats for cold-dwelling *Thaumarchaeota*. (b) Fluorescence photomicrograph of seawater treated with a FISH probe (↔ Section 18.4) specific for species of *Thaumarchaeota* (green cells). Blue cells are stained with DAPI, a fluorescent DNA stain that stains all cells.

Attachment (adhesion of a few motile cells to a suitable solid surface)	Colonization (intercellular communication, growth, and polysaccharide formation)	Development (more growth and polysaccharide)	Active Dispersal (triggered by environmental factors such as nutrient availability)
--	---	---	--



(a)

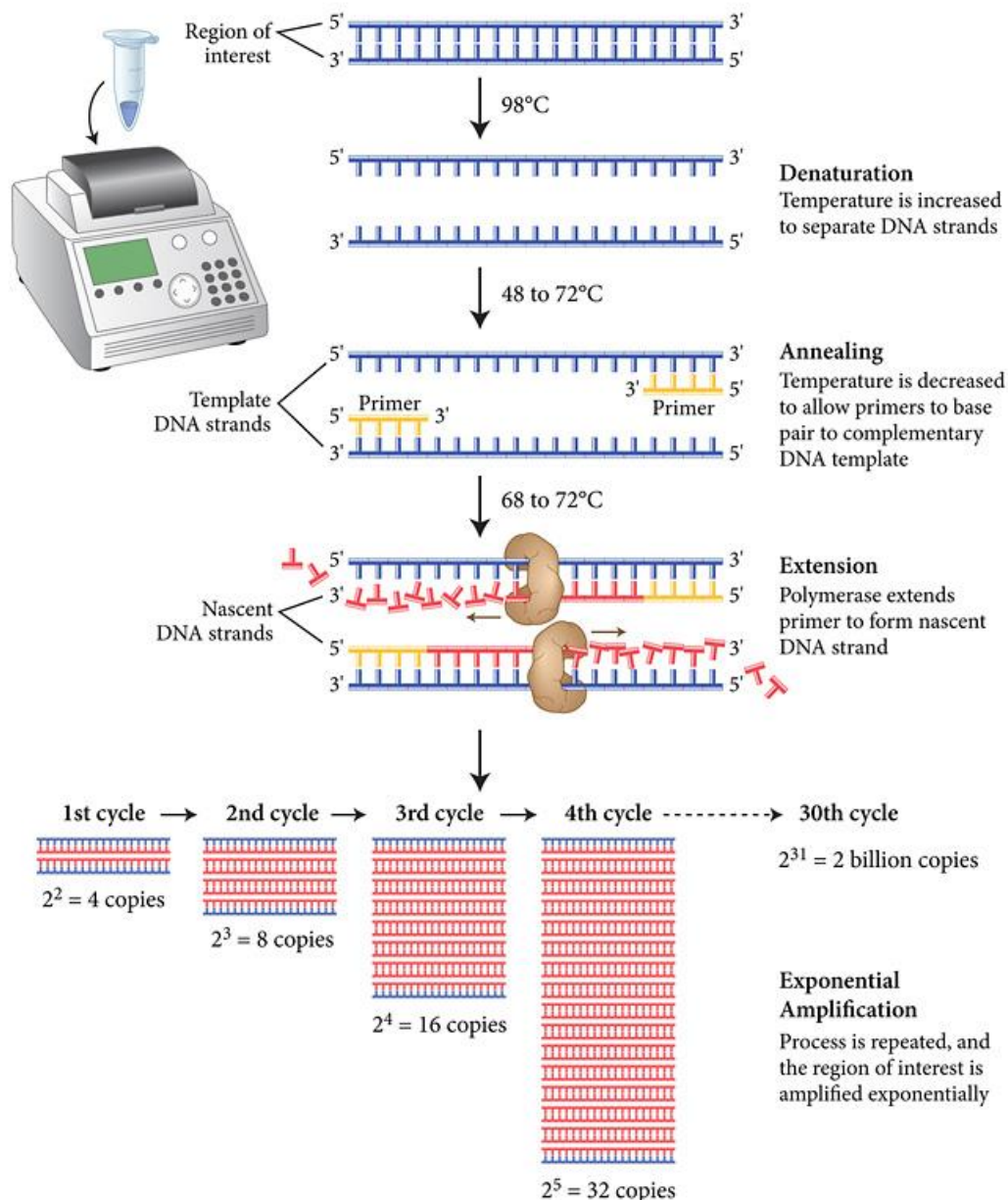


(b)

Figure 19.6 Biofilm formation. (a) Biofilms begin with the attachment of a few cells that then grow and communicate with other cells. The matrix is formed and becomes more extensive as the biofilm grows, eventually releasing cells. (b) Photomicrograph of a DAPI-stained biofilm that developed on a stainless steel pipe. Note the water channels.

Rodney M. Denton and Emerging Infectious Diseases

PCR: *amplificación de ADN*



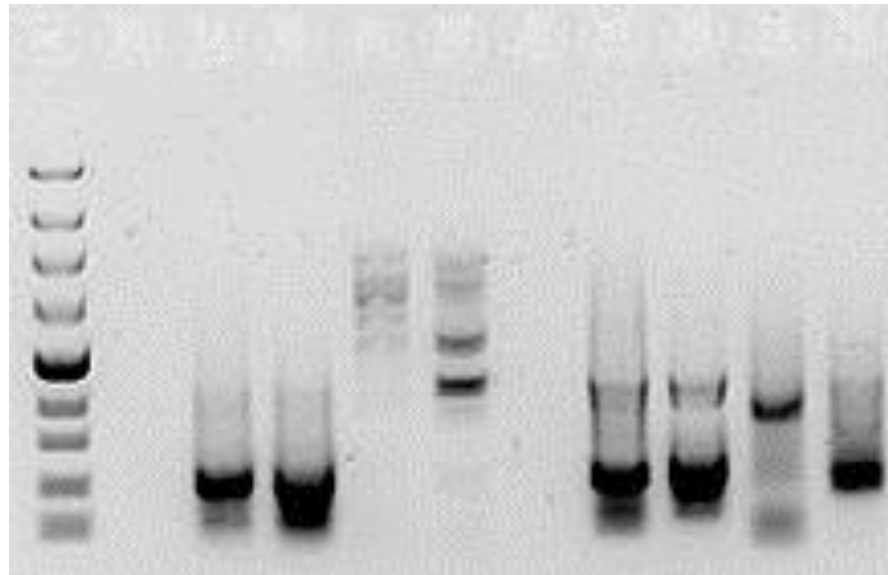
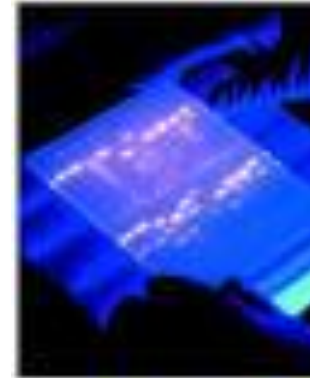
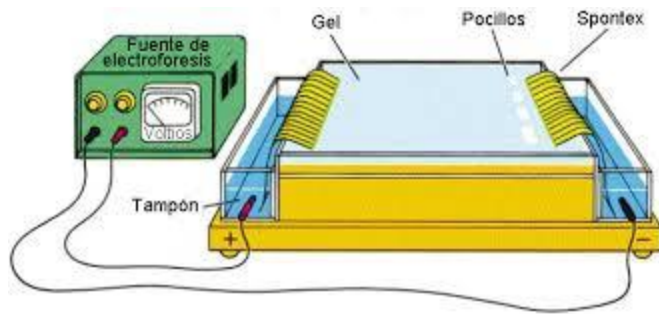
1. **Desnaturalización: Separación de las hebras de ADN**, se realiza por aumento de temperatura (95° C). Se rompen las uniones puentes de H que unen las bases de las dos hebras.

2. **Anneling: Unión de los cebadores**, disminución de la temperatura (Tm), hibridación de cebadores a hebras del ADN. Los cebadores se unen por complementariedad de bases a cada una de las cadenas del fragmento de ADN que se desea amplificar, uno se une a la cadena 5'-3' y otro a la cadena 3'-5'.

3. **Extensión: Copia del ADN**, aumento de la temperatura para que actúe la ADN polimerasa (72° C), síntesis de la cadena complementaria.

Visualización de resultados de la PCR

Electroforesis en gel de agarosa 1%. Detección de bandas por tinción con bromuro de etidio y exposición a luz UV



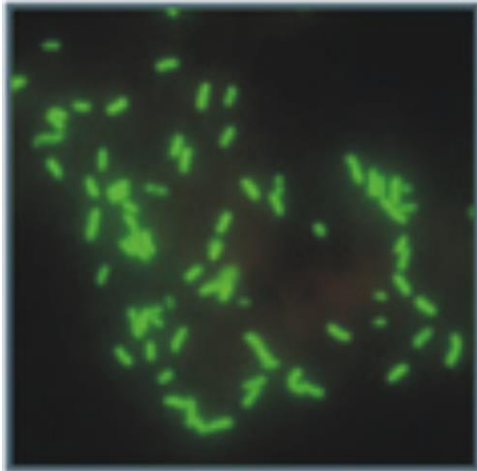
Hibridación con sondas

Se fundamenta en la complementariedad de bases de ácidos nucleicos. Utilizan secuencias de oligonucleotidos de ADN marcados (sondas) con:

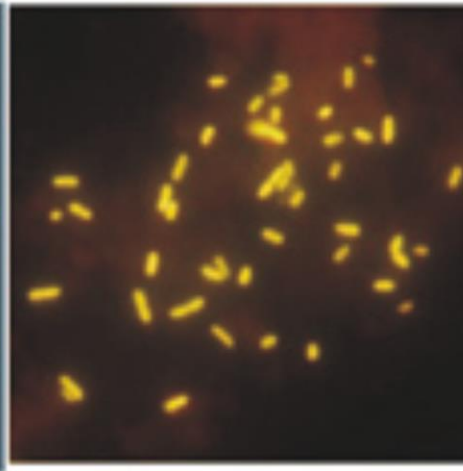
- radioactividad (^{32}P , ^{125}I , ^{35}S)
- Enzima: genera un producto coloreado que se puede medir (Abs).
Ej: fosfatasa alcalina
- Molécula fluorescente.

También se pueden usar sondas para detectar **ARN (2)** con el mismo fundamento

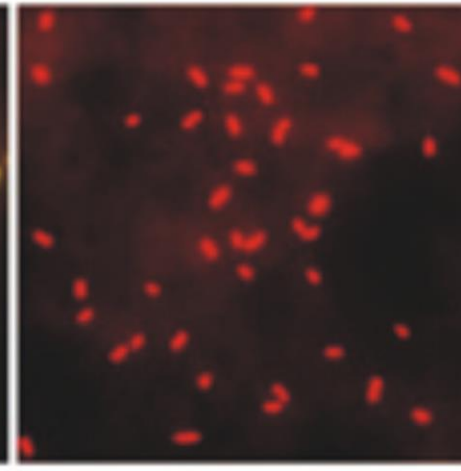
FISH: Hibridación con sondas Fluorescentes



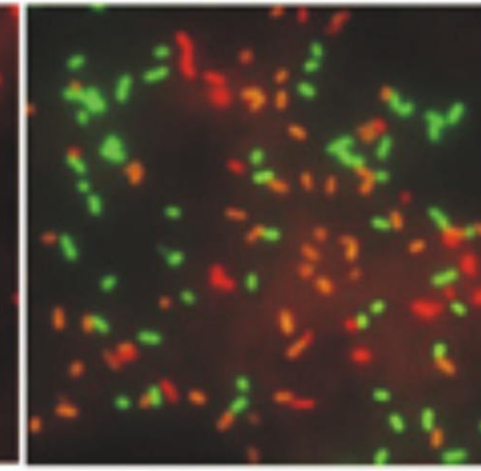
Green fluorescing cells
(*E. coli*)



Yellow fluorescing cells
(*K. pneumoniae*)



Red fluorescing cells
(*P. aeruginosa*)



Mixed Positive

Verde: *E. coli*

Amarrillo: *K. pneumoniae*

Rojo: *P. aeruginosa*

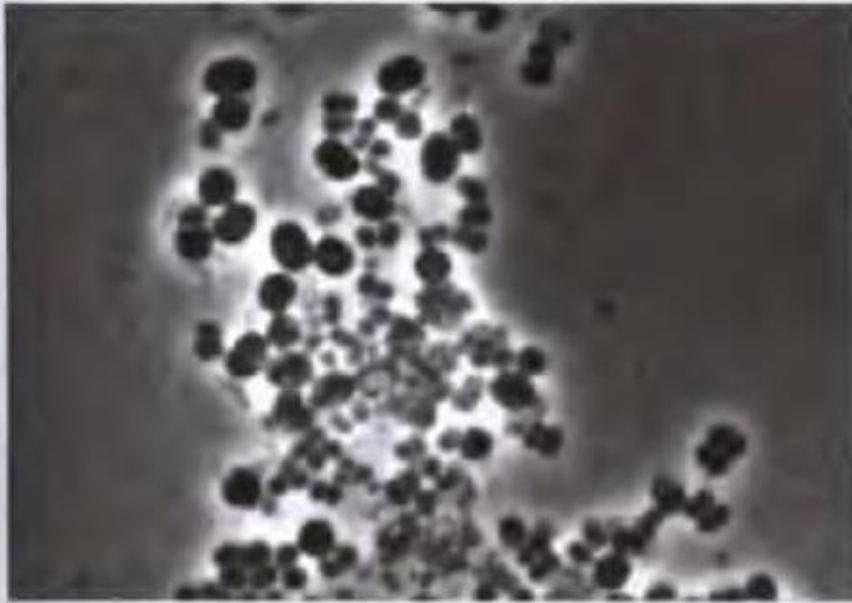
Secuencia de la sonda usada

GCTGCCTCCCGTAGGAGT

GCCTTCCCACCTTCGTTT

TATAGTTACCACCGCGT

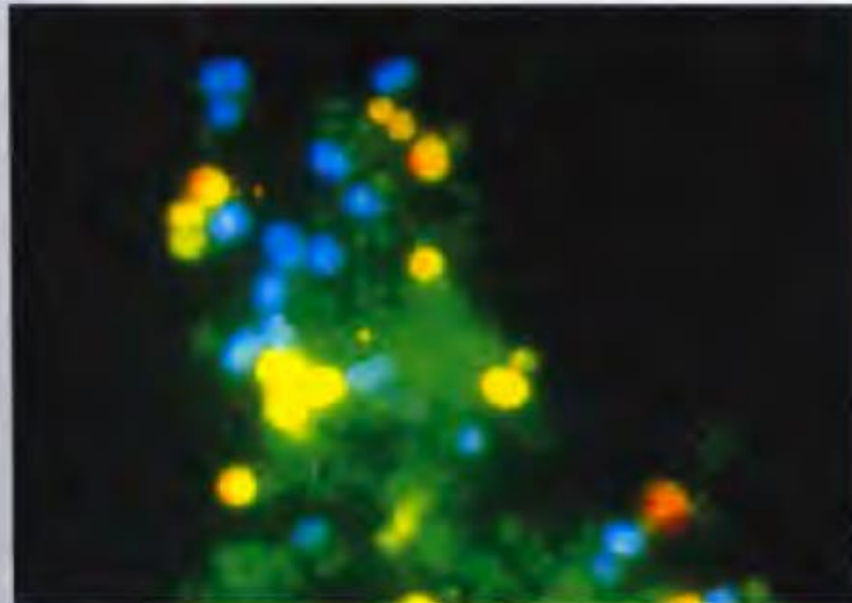
Microscopía de una muestra ambiental de suelo



Alex T. Nielsen

Campo claro

(a)

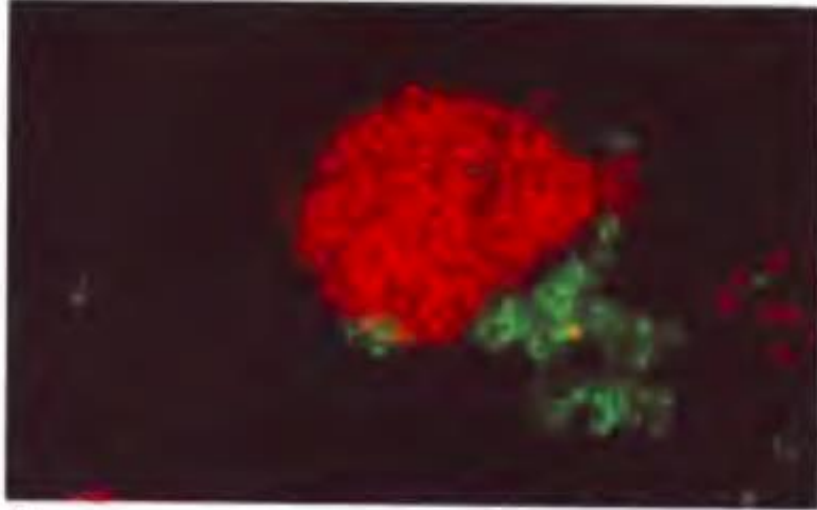


Alex T. Nielsen

Microscopía de fluorescencia:
sondas de ARN ribosomal 16s

(b)

Hibridación in situ para búsqueda de bacterias funcionales

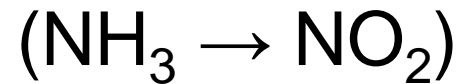


(a)

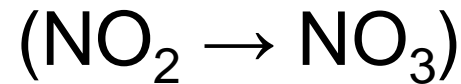
David A. Stahl

Bacterias de aguas cloacales:

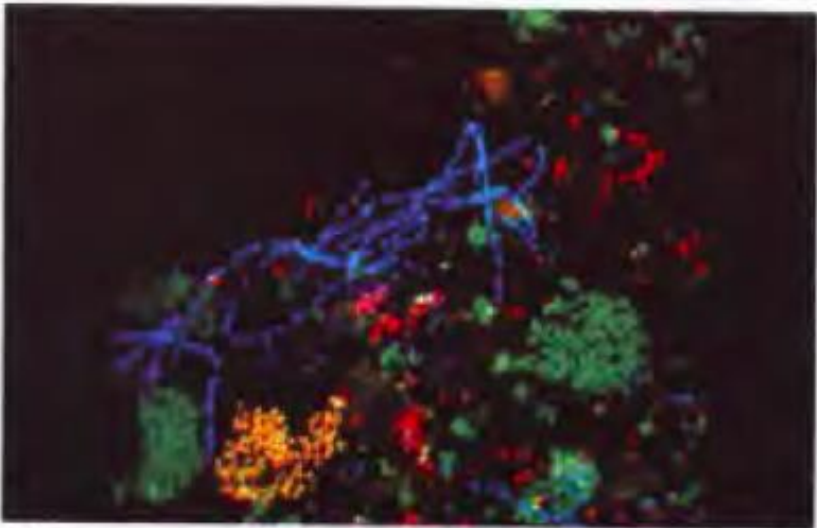
Rojo, oxidadoras de amoníaco



Verde, oxidadoras de nitritos



Ecosistema: $\text{NH}_3 \rightarrow \text{NO}_3$



(b)

Jeh Sinsch

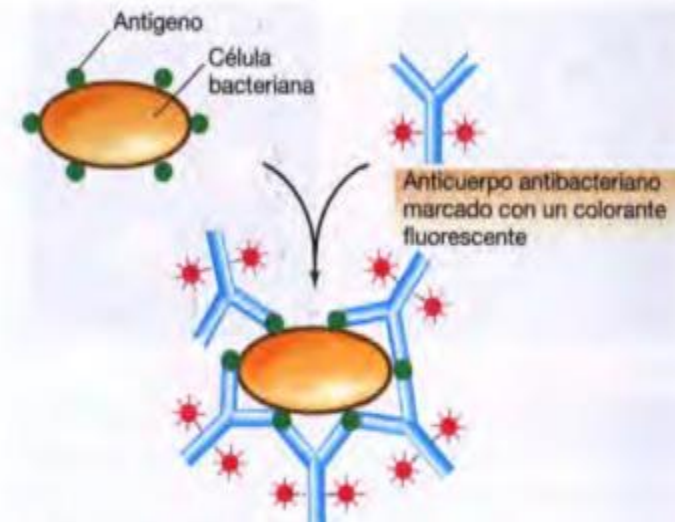
MÉTODOS BASADOS EN DETECCIÓN MOLECULAR

3. Detección de proteínas

Se utilizan anticuerpos para detectar proteínas específicas que son propias de un determinado agente microbiano. Se basan en la reacción de un antígeno presente en el agente microbiano con su anticuerpo correspondiente.

Al igual que las sondas, los anticuerpos se visualizan por unión a moléculas marcadas (radiactivas, enzimas o fluorescentes)

Analizan el fenotipo.



Ej: inmunofluorescencia de *Sulfolobus acidocalcarius*

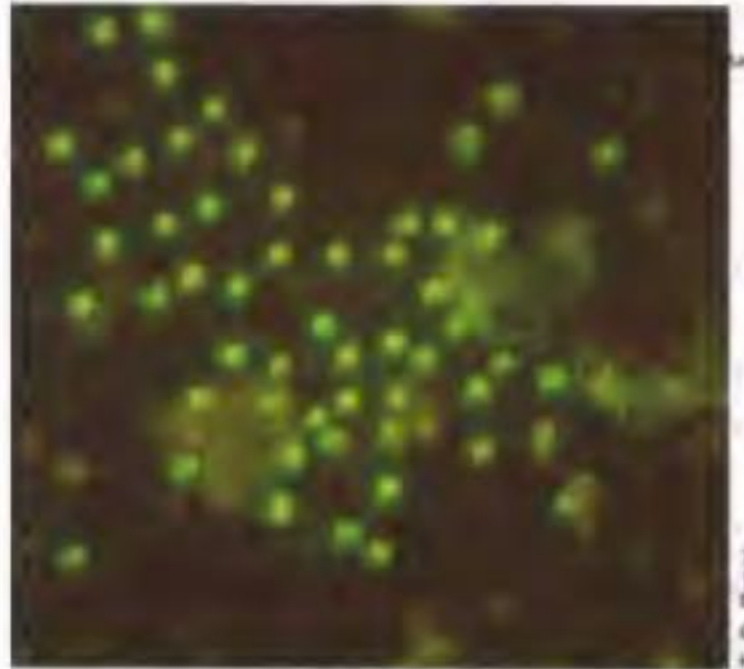


Figura 18.8 Etiquetado celular con anticuerpos fluorescentes. Mediante la técnica de anticuerpos fluorescentes se observan microcolonias bacterianas (las células aparecen como puntos verde-amarillentos) y la arquea hipertermófila *Sulfolobus acidocaldarius* en la superficie de partículas del suelo de una solfatara. Las células miden alrededor de $1\ \mu\text{m}$ de diámetro.

Medición de la actividad microbiana

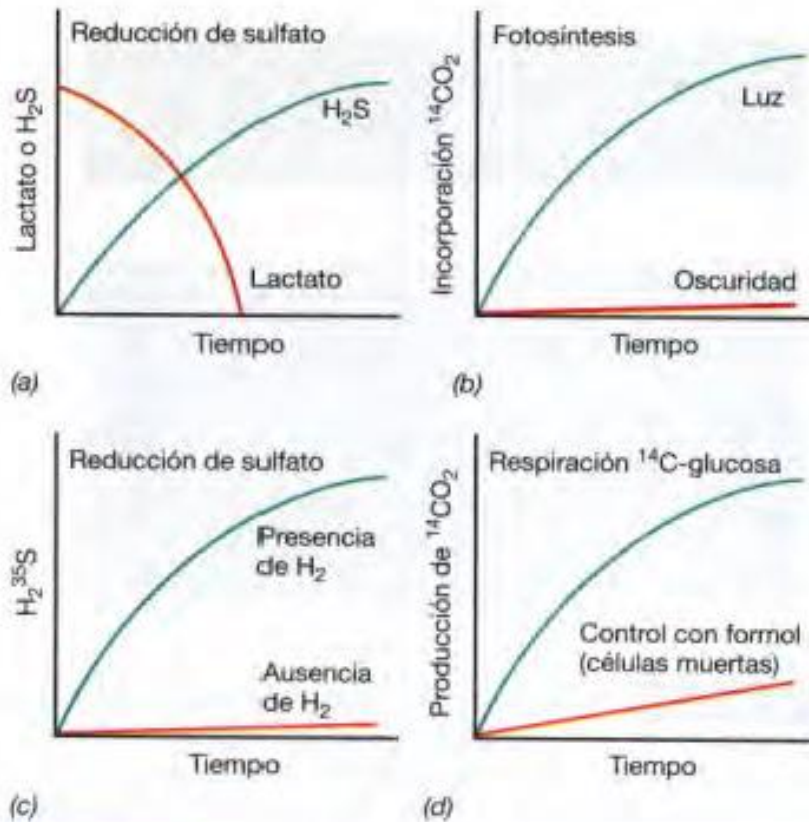


Figura 18.16 Medidas de la actividad microbiana. (a) Ensayo químico para lactato y H₂S durante la reducción de sulfato. (b-d) Uso de isótopos radiactivos. (b) Medida de la fotosíntesis en agua de mar con ¹⁴CO₂. (c) Reducción de sulfato en fango medida con ³⁵SO₄²⁻. (d) Producción de ¹⁴CO₂ a partir de glucosa marcada con ¹⁴C.