



## SCHEDA INSEGNAMENTO

### MICROBIOLOGIA AMBIENTALE

(Modulo di Fisiologia generale e Microbiologia ambientale)

Corso di studi di riferimento	Scienze e Tecnologie per l'Ambiente
Dipartimento di riferimento	Scienze e Tecnologie Biologiche e Ambientali (Di.S.Te.B.A.)
Settore Scientifico Disciplinare	BIO/19
Crediti Formativi Universitari	6 CFU (5+1)
Ore di attività frontale	50
Ore di studio individuale	100
Anno di corso	secondo
Semestre	secondo
Lingua di erogazione	Italiano
Percorso	Comune

Prerequisiti	Il Corso non prevede propedeuticità. Tuttavia, ai fini di un più proficuo apprendimento di alcuni contenuti del corso sono necessarie le conoscenze di base acquisite nel primo anno del corso di studio nell'ambito della matematica, della fisica, e della chimica generale e inorganica.
Contenuti	<b>Nelle lezioni sono affrontati i seguenti argomenti:</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Microbiologia ambientale: definizione e campo d'azione.</li><li>• La storia della Vita della Terra. Evoluzione microbica.</li><li>• I tre domini della Vita: Bacteria, Archaea, Eukarya.</li><li>• Organizzazione della cellula batterica.</li><li>• I meccanismi di secrezione batterica.</li><li>• I meccanismi di motilità batterica</li><li>• L'endospora batterica e il meccanismo della sporulazione.</li><li>• Il differenziamento cellulare nei procarioti.</li><li>• La crescita e nutrizione microbica.</li><li>• I terreni di coltura.</li><li>• La determinazione della crescita microbica.</li><li>• Il controllo della crescita microbica.</li><li>• Il metabolismo microbico. Classi e tipi nutrizionali. Basi di bioenergetica.</li><li>• La chemiotrofia. Respirazione e fermentazione. Via di Embden-Meyerhof-Parnas. Via di Entner-Doudoroff. Via dei pentoso-fosfati. Via di Warburg-Dickens. Vie fermentative. Via di Ljungdahl-Wood. Ciclo di Krebs. Vie anaplerotiche e ciclo del glicossilato. Respirazione aerobia, anaerobiae denitrificazione. Metanogenesi. Metanotrofia. Catabolismo degli idrocarburi alifatici e aromatici. Biorisanamento microbico. Metabolismo dei batteri</li></ul>



	<p>chemiolitotrofi. Idrogenobatteri. Solfobatteri. Ferrobatteri. Batteri nitrificanti. Annamox.</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• La fototrofia. Fototrofia basata sulla batteriorodopsina. Fototrofia basata sulla clorofilla e/o batterioclorofilla.</li><li>• L'autotrofia e l'eterotrofia.</li><li>• La fissazione dell'anidride carbonica. La fissazione dell'azoto.</li></ul> <p><b>I laboratori vertono sulle tecniche microbiologiche:</b> Colorazione e osservazione dei batteri al microscopio; Preparazione e sterilizzazione dei terreni di coltura; Colture microbiche; Determinazione quantitativa dei batteri; Identificazione dei batteri con sistemi biochimici.</p>
Obiettivi formativi	<p><b>Breve presentazione e obiettivi del corso</b></p> <p>Il corso ha l'obiettivo di fornire le competenze di base nell'ambito della microbiologia ambientale, necessarie per operare, con ruoli tecnico-operativi, negli ambiti delle scienze e tecnologie ambientali che fanno uso di microrganismi o ne rilevano la presenza in varie matrici. Fornisce, inoltre, le basi culturali per accedere a successivi percorsi formativi che più ampiamente sviluppano temi come il ruolo dei microrganismi nei cicli biogeochimici, e il loro impiego nei processi di biorisanamento e nella produzione di biogas.</p> <p><b>Risultati di apprendimento previsti</b></p> <p>Conoscenze e comprensione relativamente a:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• struttura e ultrastruttura della cellula batterica</li><li>• nutrizione e metabolismo dei microrganismi</li><li>• crescita e coltivazione dei microrganismi</li><li>• principi di classificazione e filogenesi microbica</li><li>• interazione dei microrganismi con l'ambiente e con gli altri organismi</li><li>• i virus: caratteristiche generali e classificazione</li></ul> <p>Capacità di applicare conoscenze e comprensione relativamente a::</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• isolamento di microrganismi</li><li>• crescita e coltivazione dei microrganismi</li><li>• osservazione dei microrganismi al microscopio ottico</li><li>• identificazione dei microrganismi mediante metodiche convenzionali</li></ul> <p>L'autonomia di giudizio, le abilità comunicative e le capacità di apprendimento saranno implementate attraverso la redazione di relazioni nelle quali gli studenti</p>



	saranno invitati a descrivere e a valutare criticamente, partendo dalle conoscenze acquisite e secondo i dettami del metodo scientifico, i risultati che avranno ottenuto con le esperienze di laboratorio.
Metodi didattici	La modalità di erogazione della didattica è del tipo tradizionale, con 5 CFU di lezioni frontali in aula e 1 CFU di attività di laboratorio. Le lezioni in aula prevedono l'utilizzo di diapositive, talora con collegamenti ipertestuali a specifiche pagine Web.
Modalità d'esame	Il conseguimento dei crediti attribuiti è ottenuto mediante esame integrato consistente in una prova orale con votazione finale in trentesimi ed eventuale lode. La prova è volta ad accertare: <ul style="list-style-type: none"><li>• il livello delle conoscenze teoriche acquisite, attraverso la presentazione di argomenti del programma;</li><li>• il livello delle abilità pratiche acquisite, attraverso la descrizione di metodiche e metodologie;</li><li>• la capacità di applicare le conoscenze teoriche e le abilità pratiche acquisite alla soluzione di problemi semplici.</li></ul>
Programma esteso	<b><u>Programma delle lezioni</u></b> <b>Microbiologia ambientale: definizione e campo d'azione.</b> Il mondo dei microrganismi. Caratteristiche generali delle cellule e degli organismi viventi. Caratteristiche generali dei virus. <b>La storia della Vita della Terra. Evoluzione microbica.</b> La Terra dei primordi. Chimica prebiotica, RNA world, prime vie biosintetiche, e primi sistemi per l'arigenazione dell'ATP, il DNA come materiale genetico. Last Universal Common Ancestor (LUCA), la divergenza nella sintesi dei lipidi di membrana, la divergenza nella sintesi della parete batterica, l'evoluzione dei tre domini: Bacteria, Archaea, Eukarya. <b>Organizzazione generale della cellula batterica.</b> Struttura e ultrastruttura batterica: forma e aggregazione delle cellule batteriche. Il citoscheletro dei batteri. Proteine FtsZ, MreB, CreS. La membrana plasmatica dei batteri. Funzioni e struttura nei batteri e negli archeobatteri. Antibiotici che hanno come target la membrana plasmatica. La parete batterica. Peptidoglicano: struttura e funzioni. Biosintesi del peptidoglicano. Antibiotici che hanno come target il peptidoglicano. Acidi teicoici e lipoteicoici: struttura e funzioni. La membrana esterna dei batteri Gram-negativi. Il lipopolisaccaride: struttura e funzione. Endotossine batteriche. Il meccanismo dello shock endotossico da LPS o LTA. Tecniche di colorazione dei microrganismi: colorazione di Gram. Batteri privi di parete: micoplasmi e clamidie. La parete dei micobatteri. La colorazione di



Ziehl-Neelsen. La Parete degli Archaea. Capsule, strati mucosi e strati S. Organelli procariotici. Le inclusioni batteriche: granuli di glicogeno, di polimetafosfato e di polioidrossibutirrato. I vacuoli gassosi. I magnetosomi.

**I meccanismi di secrezione batterica** Sistemi ABC (I tipo), SecA-dipendenti (tipo II), Twin-arginine (tipo V), Sistemi di secrezione di III, IV, VI e VII tipo.

**I meccanismi di motilità batterica.** Le appendici del corpo batterico: flagelli e pili (fimbrie). La struttura e la biogenesi del flagello. Batteri monotrichi, anfitrichi, lofotrichi, peritrichi. Batteri con endoflagelli.

Il controllo genetico della biogenesi del flagello. Geni *fla*, *fli* e *mot*. Chemiotassi, aerotassi, fototassi. Il controllo genetico della biogenesi dei pili di tipo IV. Il meccanismo di funzionamento del motore flagellare e della chemiotassi. Proteine MCP, CheW, CheA, CheY, CheB, CheR, CheZ. Motilità non flagellare.

**L'endospora batterica e il meccanismo della sporulazione.** L'endospora batterica: struttura e funzione. Basi molecolari della resistenza dell'endospora. I sistemi di riparazione del DNA nell'endospora e nella cellula vegetativa. La sporulazione come modello di studio del differenziamento. Il controllo della sporulazione a livello genetico in *Bacillus subtilis*.

**Il differenziamento cellulare nei procarioti.** Esempi di differenziamento cellulare tra i procarioti. Caratteristiche e ciclo cellulare di *Caulobacter crescentus*, *Myxococcus xanthus*, *Streptomyces coelicolor*.

Sporulazione e cristallo parasporale di *Bacillus thuringensis*.

**Crescita e nutrizione microbica.** Composizione elementare e molecolare della cellula microbica. Macronutrienti e micronutrienti. Diffusione e trasporto di nutrienti. Diffusione semplice e facilitata (uniporto). Trasporto secondario (simporto e antiporto). Trasporto primario (trasportatori ABC). Traslocazione di gruppo.

**Terreni di coltura.** Classificazione dei terreni di coltura. Terreni a composizione chimica definita. Terreni complessi. Terreni selettivi. Terreni differenziali. Terreni selettivi e differenziali. Esempi di terreni di coltura. Allestimento di un terreno di coltura.

**Determinazione della crescita microbica.** Crescita per scissione binaria e modalità di crescita diverse dalla scissione binaria. Misura della torbidità. Peso secco e peso umido. Conta totale al microscopio. Conta vitale inepifluorescenza. Conta vitale in piastra delle unità formanti colonie. Matematica della crescita microbica. Tempo di generazione. Tasso di accrescimento. Rappresentazione della crescita microbica.



Crescita in batch e in fed-batch. Crescita continua. Chemostato e turbidostato. Parametri fisico-chimici della crescita microbica: temperatura, pH, salinità, acqua libera, ossigeno. Classificazione dei microrganismi rispetto alla temperatura: psicrofili, mesofili, termofili, termofili estremi. Classificazione dei microrganismi rispetto al pH: acidofili, alcalofili. Classificazione dei microrganismi rispetto alla richiesta di NaCl: non alofili, alotolleranti, alofili, alofili estremi.

Classificazione dei microrganismi rispetto alla richiesta di ossigeno: aerobi, microaerofili, anaerobi obbligati, anaerobi facoltativi, anaerobi aerotolleranti. Tossicità dell'ossigeno e meccanismi di detossificazione. Coltivazione di anaerobi.

**Controllo della crescita microbica.** Controllo della crescita microbica con metodi fisici: il calore. Tempo di riduzione decimale (valore D) e

valore z. L'autoclave. Controllo della crescita microbica con metodi fisici: la filtrazione. Filtrazione a caduta e a pressione (negativa e positiva) Cappa a flusso laminare. Controllo della crescita microbica con metodi chimici: antisettici e disinfettanti. Antibiotici. Antibiotici batteriostatici, battericidi e batteriolitici. Test di Kirby-Bauer. Determinazione della MIC.

**Metabolismo microbico.** Classi e tipi nutrizionali. Basi di bioenergetica.

Metabolismo microbico. Classi e tipi nutrizionali. Schema generale del metabolismo. Basi di bioenergetica. Fosforilazione ossidativa e a livello del substrato. Le catene respiratorie dei batteri.

**Chemiotrofia.** Respirazione e fermentazione. Via di Embden-Meyerhof-Parnas (glicolisi). Via di Entner-Doudoroff. Via dei pentoso-fosfati Fermentazione omolattica. Via di Warburg-Dickens (Fermentazione eterolattica). Via fermentativa dei bifidobatteri. Fermentazione alcolica. Fermentazione glicero-piruvica. Fermentazione acido-mista. Fermentazione 2,3-butandiolica. Fermentazione propionica. Fermentazione butirrica e isopropilica nei clostridi. Via di Ljungdahl-Wood negli omoacetogeni. Fermentazione degli aminoacidi nei clostridi. Metabolismo ossidativo nei batteri acetici. Ciclo di Krebs. Vie anaplerotiche e ciclo del glicosilato. Respirazione aerobia, anaerobia e denitrificazione. Sistemi di denitrificazione di batteri e funghi. Respirazione anaerobia del solfato in *Desulfovibrio*. Fe<sup>+3</sup> come accettore di elettroni. Metanogenesi. Metanotrofia e metilotrofia. Catabolismo degli idrocarburi alifatici e aromatici. Biorisanamento microbico. Metabolismo dei batteri chemiolitotrofi. Energetica e



	<p>flusso di elettroni durante l'ossidazione dell'idrogeno in <i>Ralstonia eutropha</i>. Ossidazione dei composti ridotti dello zolfo nei solfobatteri chemiolitotrofi. Energetica e flusso di elettroni durante ossidazione del tiosolfato in <i>Paracoccus</i> e <i>Thiobacillus</i>. Energetica e flusso di elettroni durante l'ossidazione del ferro in <i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>. Energetica e flusso di elettroni durante l'ossidazione dell'ammoniaca in <i>Nitrosomonas</i> e del nitrito in <i>Nitrobacter</i>. Energetica e flusso di elettroni durante l'ossidazione dell'ammoniaca in anaerobiosi (anammox) in <i>Brocardia anammoxidans</i>.</p> <p><b>Fototrofia.</b> Fototrofia basata sulla batteriorodopsina e pompe protoniche primarie. Fototrofia basata sulla clorofilla e/o batterioclorofilla e pompe protoniche secondarie. Struttura del clorosoma nei batteri Verdi. Pigmenti fotosintetici: struttura del beta-carotene.</p> <p><b>Autotrofia ed eterotrofia.</b> Assimilazione e biosintesi. Fissazione dell'anidride carbonica: ciclo di Calvin-Benson, ciclo riduttivo degli acidi tricarbossilici e ciclo dell'idrossipropionato. Eterotrofia. Principali vie metaboliche biosintetiche. Assimilazione dell'ammoniaca. Assimilazione dell'ammoniaca via carbamilfosfato sintetasi e glutammato deidrogenasi. Assimilazione dell'ammoniaca via glutammina sintetasi/glutammato sintasi. Fissazione dell'azoto: saggio dell'acetilene. Complesso della nitrogenasi.</p> <p><b><u>Programma dei laboratori</u></b></p> <p><b>Tecniche microbiologiche.</b> Colorazione e osservazione dei batteri al microscopio; Preparazione e sterilizzazione dei terreni di coltura; Colture microbiche; Determinazione quantitativa dei batteri; Identificazione dei batteri con sistemi biochimici.</p>
Testi di riferimento	<ul style="list-style-type: none"><li>• G. Dehò, E. Galli. <i>Biologia dei microrganismi</i>. Terza edizione (2018). Casa Editrice Ambrosiana. Distribuzione esclusiva Zanichelli.</li><li>• M. T. Madigan, J. M. Martinko, D. A. Stahl, D. P. Clark. <i>Brock, Biologia dei microrganismi</i>. Vol.1, 2, 3. Edizione 2012. Pearson.</li><li>• M. Willey, M. Sherwood, J. Woolverton. <i>Prescott, Microbiologia</i>. Vol. 1, 2, 3. Edizione 2009. McGraw-Hill.</li><li>• P. Barbieri, G. Bestetti, E. Galli, D. Zanoni. <i>Microbiologia ambientale ed elementi di ecologia microbica</i>. Edizione 2008. Casa Editrice Ambrosiana. Distribuzione esclusiva Zanichelli.</li></ul>
Altre informazioni utili	