

ZANICHELLI

Fabio Fanti

Biologia, microbiologia e tecnologie di controllo ambientale

La biodegradazione dei composti organici naturali e di sintesi

Biodegradabilità e fattori condizionanti /1

Una sostanza si definisce **biodegradabile** quando può essere metabolizzata e trasformata per via microbica.

Se la degradazione è completa si dice **mineralizzazione**.

Quando invece una sostanza non è suscettibile di degradazione si parla di **recalcitranza** e la sostanza viene definita **persistente** se è in grado di rimanere inalterata nell'ambiente per tempi molto lunghi.

Biodegradabilità e fattori condizionanti /2

Degradazione della lignina

La lignina è, dopo la cellulosa, il materiale rinnovabile più importante in natura e il polimero naturale più resistente alla degradazione microbica.

I principali agenti biologici della sua degradazione sono:

- funghi basidiomiceti del marciume bianco
- funghi basidiomiceti del marciume bruno
- ascomiceti e deuteromiceti

Enzimi coinvolti: lignina perossidasi, manganese perossidasi, laccasi, produttori di H_2O_2 .

Biodegradazione dei derivati del petrolio

Il petrolio è costituito da una miscela di **idrocarburi** con altri composti minoritari.

Gli idrocarburi (molecole formate da carbonio e idrogeno) possono essere suddivisi in:

- **aromatici**, in cui sono presenti uno o più anelli benzenici
- **alifatici**, costituiti da catene lineari o ramificate oppure a struttura ciclica. Comprendono idrocarburi saturi (**alcani**) e insaturi (**alcheni** e **alchini**).

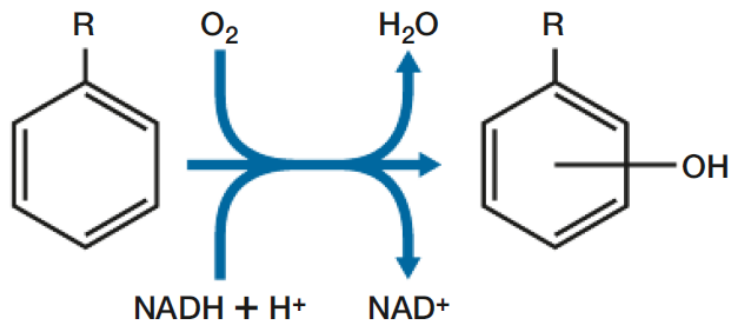
I **batteri idrocarburo-ossidanti** sono in grado di utilizzare gli idrocarburi come unica fonte di carbonio e sorgente di energia.

Biodegradazione aerobia degli idrocarburi /1

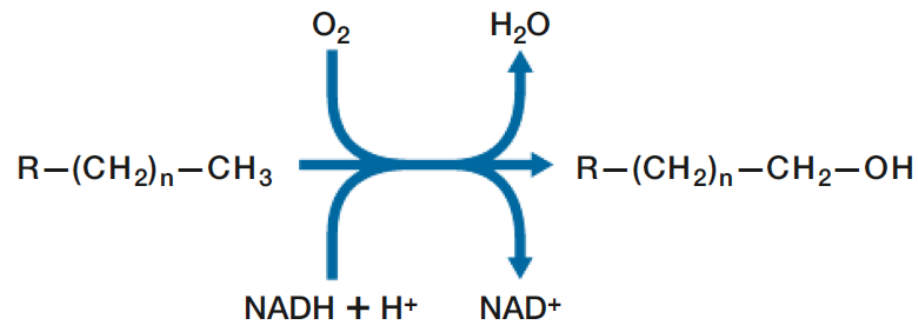
La capacità biodegradativa dei batteri idrocarburo-ossidanti è dovuta al possesso di **enzimi** chiamati **ossigenasi**.

Gli **enzimi monossigenasi** agiscono sugli idrocarburi alifatici e aromatici: catalizzano l'incorporazione di un solo atomo di ossigeno molecolare sul substrato.

1) Monossigenasi aromatiche



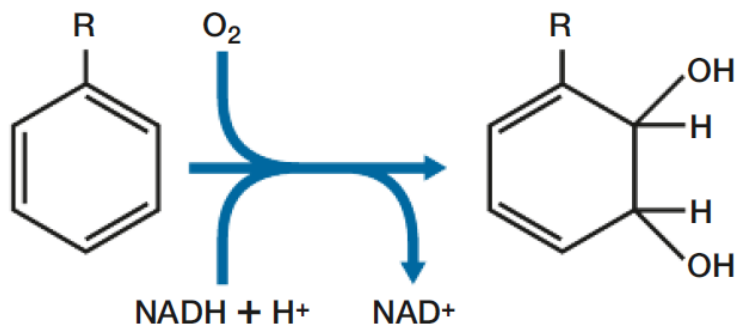
2) Monossigenasi di gruppi alchilici



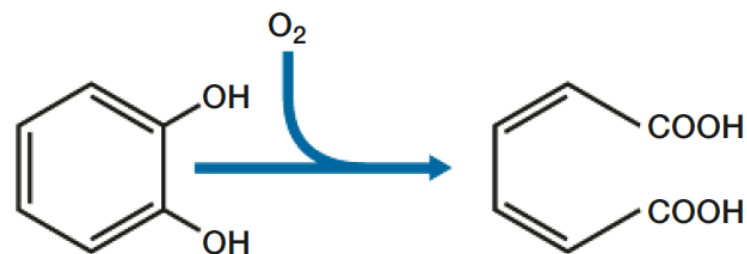
Biodegradazione aerobia degli idrocarburi /2

Gli enzimi diossigenasi agiscono sugli idrocarburi aromatici: catalizzano l'incorporazione di entrambi gli atomi di ossigeno molecolare sul substrato.

1) Diossigenasi di **attivazione** dell'anello aromatico

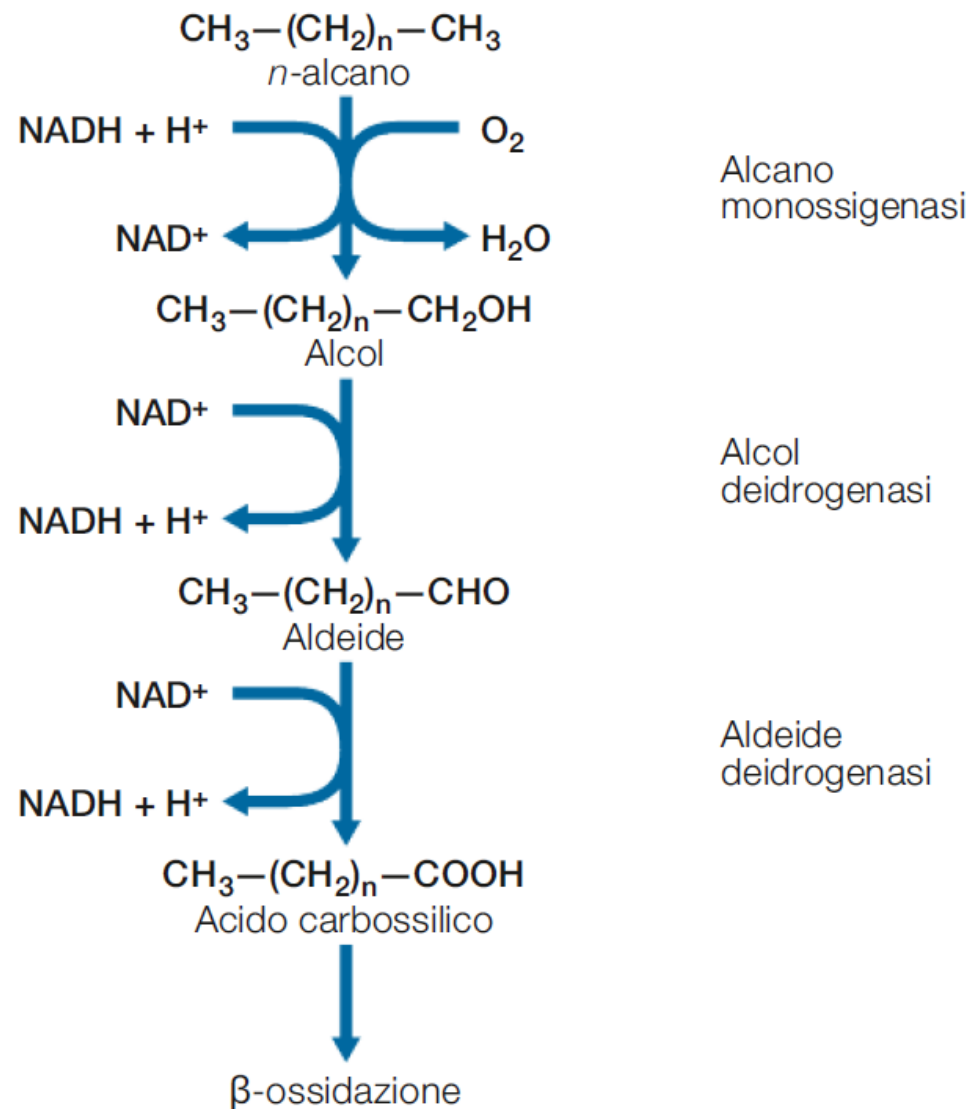


2) Diossigenasi di **apertura** dell'anello aromatico



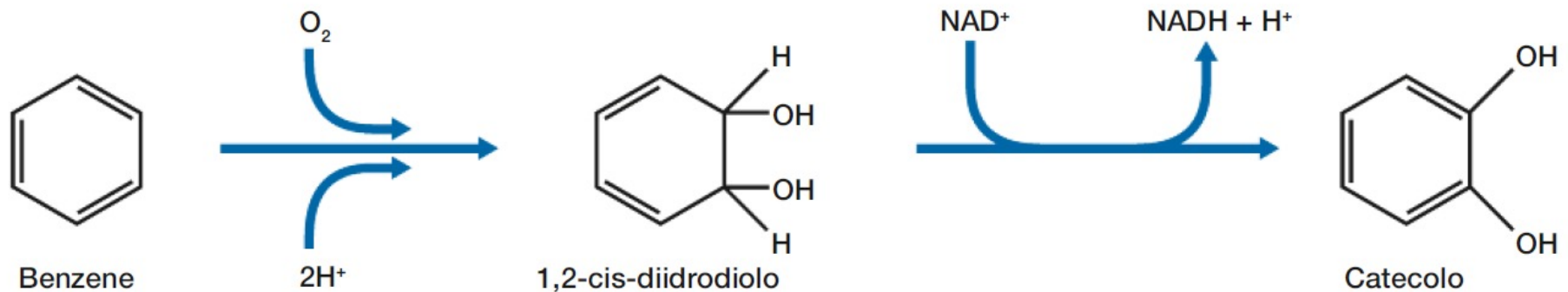
Biodegradazione aerobia degli idrocarburi /3

Degradazione di un idrocarburo alifatico con ossidazione del gruppo metilico terminale.



Biodegradazione aerobia degli idrocarburi /4

Biodegradazione aerobia del benzene con formazione di catecolo.



Biodegradazione anaerobia degli idrocarburi

La degradazione degli idrocarburi in **ambiente anaerobio** avviene grazie all'azione di diversi batteri appartenenti al gruppo dei **solfo-riduttori** (anaerobi obbligati) o **denitrificanti** (facoltativi), nonché alcuni **batteri rossi non sulfurei**.

Per gli idrocarburi alifatici è noto il sistema di attivazione per **addizione di acido fumarico** che porta alla produzione di acidi grassi.

Per gli idrocarburi aromatici l'evento centrale dell'attivazione microbica consiste nella **conversione in benzoil-CoA**.

Biodegradazione degli altri composti

Gli **xenobiotici** sono composti organici che possiedono una struttura non rilevabile in alcun composto di origine naturale. Alcuni possono scomparire per reazioni spontanee, volatilizzazione, lisciviazione; altri sono degradati da microrganismi con reazioni di co-metabolismo.

Composti organici alogenati: la possibilità di biodegradazione è legata all'attività di microrganismi in grado di allontanare l'alogeno, rendendo disponibile la parte restante della molecola per altri microrganismi in grado di utilizzarla.

I **PCB** (bifenilipoliclorurati) sono composti impiegati come pesticidi, lubrificanti e isolanti. Non sembra che esistano microrganismi in grado di compierne la degradazione, ma sono noti casi di trasformazione microbica parziale.

Trasferimento di geni estranei nei procarioti /1

Fenomeni di **ricombinazione genetica** si verificano naturalmente nelle popolazioni batteriche attraverso:

- **Coniugazione:** passaggio di DNA plasmidico o cromosomico da batteri donatori (F^+) a batteri riceventi (F^-) attraverso il pilum F che come un ponte citoplasmatico unisce temporaneamente due cellule.
- **Trasformazione:** molti batteri hanno la capacità di acquisire frammenti di DNA (plasmidi) liberi nel mezzo colturale.
- **Trasduzione:** il trasferimento di geni si verifica attraverso l'intervento di virus batteriofagi come risultato di un'infezione.

Trasferimento di geni estranei nei procarioti /2

Procedimento per ottenere microrganismi geneticamente modificati:

1. isolamento del DNA esogeno da trasferire
2. inserimento del DNA in un vettore di clonaggio (plasmidi, virus batteriofagi o retrovirus), ottenendo un vettore ricombinante in grado di replicarsi nelle cellule ospiti
3. incorporazione del vettore ricombinante nelle cellule ospiti
4. identificazione delle cellule trasformate e verifica dell'espressione del gene esogeno trasferito

Altre tecniche impiegate

- **Trasferimento di geni già esistenti in altro ospite:** uno dei generi batterici più utilizzati è *Pseudomonas*, in quanto dotato di diversi «plasmidi metabolici» che portano l'informazione genetica per la sintesi di enzimi degradativi di specifico interesse.
- **Modificazione dei geni codificanti enzimi degradativi:** si attua attraverso lo scambio di geni che codificano per subunità di un enzima provenienti da specie correlate o con il riassortimento di alcune loro porzioni, mutazioni sito-dirette e modifica delle proteine di regolazione.

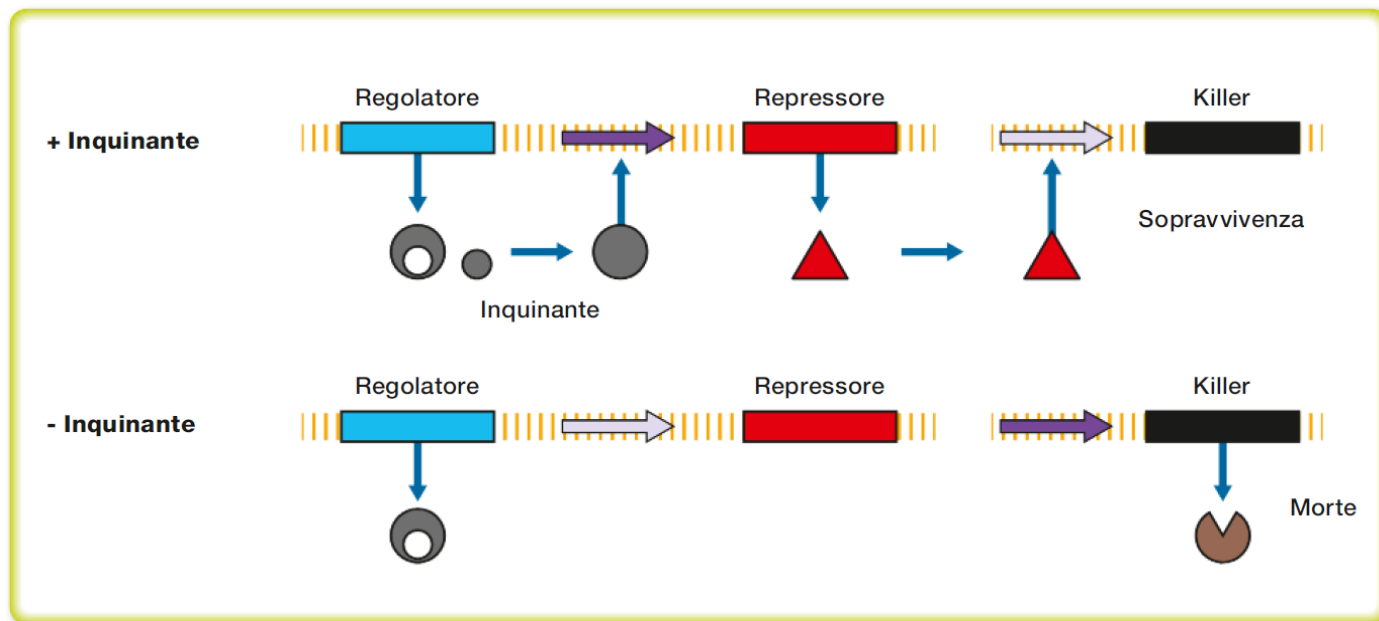
MGM in ambiente: sopravvivenza e stabilità genetica

Lo sfruttamento dei **microrganismi geneticamente modificati (MGM)** in ambiente è legato a due ordini principali di fattori:

- capacità del microrganismo trasformato di crescere e moltiplicarsi in ambiente, mantenendo inalterato il genotipo acquisito
- possibilità di trasferimento dei geni inseriti a microrganismi indigeni con conseguenze non prevedibili (**trasferimento genico orizzontale**).

I ceppi microbici suicidi e i geni killer /1

Per ottenere ceppi microbici «suicidi» si inseriscono negli MGM **geni killer**: quando la concentrazione della sostanza inquinante scende al di sotto di una soglia prestabilita, viene espresso il gene killer e il microrganismo muore.



I ceppi microbici suicidi e i geni killer /2

La morte programmata (apoptosi) può essere evitata con l'inserimento di un **gene killer** e di uno **anti-killer**:

- l'anti-killer viene espresso in presenza dell'inquinante
- quando l'inquinante è degradato, l'anti-killer è bloccato e la cellula muore perché viene espresso il gene killer

