

**BIOLOGIA
MICROBIOLOGIA
BIOTECNOLOGIE**

VOLUME 1

Sommario della sezione online

ESERCITAZIONI DI LABORATORIO

Introduzione

Il reperimento di materiale microbico per le ricerche scolastiche

La realizzazione di uno stagno didattico

Le colture microbiche

1. Preparazione di un terreno di coltura liquido
2. Preparazione di un terreno di coltura agarizzato
3. Semina e coltura di microrganismi in un terreno di coltura liquido
4. Semina e coltura di microrganismi in un terreno di coltura agarizzato
5. Coltivare un lievito (*Saccharomyces cerevisiae*) in terreni di coltura liquidi e agarizzati
6. Coltivare una muffa (*Penicillium glaucum*)
7. Coltivare le alghe
8. Coltivare i protozoi
9. Coltivare un batterio (*Bacillus clausii*)

Osservazioni microscopiche a fresco

10. Allestimento di un preparato a fresco e osservazione microscopica di *Saccharomyces cerevisiae* in gemmazione
11. Allestimento di un preparato a fresco e osservazione microscopica dell'epidermide di bulbo di cipolla
12. Allestimento di un preparato a fresco e osservazione microscopica di foglie di *Elodea canadensis*
13. Allestimento di un preparato a fresco e osservazione microscopica di ife settate in muffe del genere *Penicillium*
14. Allestimento di un preparato a fresco e osservazione microscopica dei batteri dello yogurt
15. Allestimento di un preparato a fresco e osservazione microscopica di bacilli e spore del *Bacillus clausii*
16. Allestimento di un preparato a fresco e osservazione microscopica del carpoforo di un basidiomicete
17. Le briofite (muschi): allestimento di preparati a fresco e osservazione stereomicroscopica e microscopica
18. Le pteridofite (felci): allestimento di preparati a fresco e osservazione stereomicroscopica e microscopica
19. Le angiosperme (piante con semi, fiori e frutti): allestimento di preparati a fresco e osservazione stereomicroscopica e microscopica
20. Allestimento di un preparato a fresco e osservazione microscopica di cellule muscolari striate

21. Allestimento di un preparato a fresco e osservazione microscopica di cellule dell'epitelio della mucosa orale
22. Allestimento di un preparato a fresco con blu di metilene e osservazione microscopica di cellule muscolari striate
23. Allestimento di un preparato a fresco con blu di metilene e osservazione microscopica di cellule dell'epidermide di cipolla
24. Allestimento di un preparato a fresco con blu di metilene e osservazione microscopica di cellule dell'epitelio della mucosa orale

Osservazioni microscopiche dopo colorazione

25. Allestimento di preparati batteriologici essiccati e colorati
26. Colorazione monocromatica e osservazione microscopica di campioni microbici
27. Colorazione di Gram e osservazione microscopica di stafilococchi e di enterobatteri
28. Colorazione di Alessandrini e osservazione microscopica di spore e di batteri sporigeni
29. Colorazione con verde malachite e osservazione microscopica di spore e di batteri sporigeni
30. Colorazione e osservazione microscopica di batteri dello yogurt
31. Colorazione con orceina acetica e osservazione microscopica delle mitosi in apici radicali della cipolla
32. Colorazione di May-Grünwald-Giemsa e osservazione microscopica di cellule ematiche

GLOSSARIO

I principali termini impiegati in ambito chimico-biologico

APPENDICI

Abbreviazioni chimico-biologiche
Aminoacidi e abbreviazioni
Codice genetico
Unità di misura e abbreviazioni
Prefissi e abbreviazioni del Sistema Internazionale di Misura
Costanti fisiche utilizzate in termodinamica
Alfabeto greco antico
Elementi chimici: simboli, nomi e numeri atomici



LA SEZIONE SCARICABILE ONLINE
è disponibile all'indirizzo

<http://www.piccin.it/libri/9788829927678/biologia-microbiologia-biotecnologie.html>

BRUNO TINTI

BIOLOGIA MICROBIOLOGIA BIOTECNOLOGIE

Per i corsi di Biotecnologie sanitarie

VOLUME 1

- Le basi della biologia
- Il laboratorio di biologia-microbiologia
- La crescita microbica
- Bioenergetica e metabolismo
- Riproduzione ed ereditarietà
- I microrganismi eucariotici
- Tassonomia ed identificazione dei procarioti

Con espansione online:

- Schede di laboratorio
- Glossario
- Appendici chimico-biologiche

PICCIN

Opera coperta dal diritto d'autore – tutti i diritti sono riservati.

Questo testo contiene materiale, testi ed immagini, coperto da copyright e non può essere copiato, riprodotto, distribuito, trasferito, noleggiato, licenziato o trasmesso in pubblico, venduto, prestato a terzi, in tutto o in parte, o utilizzato in alcun altro modo o altrimenti diffuso, se non previa espressa autorizzazione dell'editore. Qualsiasi distribuzione o fruizione non autorizzata del presente testo, così come l'alterazione delle informazioni elettroniche, costituisce una violazione dei diritti dell'editore e dell'autore e sarà sanzionata civilmente e penalmente secondo quanto previsto dalla L. 633/1941 e ss.mm.

ISBN 978-88-299-2767-8

In copertina: diatomea a simmetria radiale
(foto di Bruno Tinti)

Stampato in Italia

A Loredana

*Piena di altruismo,
sempre un sorriso,
una parola d'amore,
una carezza per chi soffriva,
lasciando da parte se stessa,
anche quando da Lei
la vita se ne stava andando.*

*A Lei che dal cielo continua ad ispirarmi
e mi sprona a continuare
quello che abbiamo iniziato,
utilizzando i motori della vita
che sono il cuore e la ragione.*

*A Lei che m'insegna,
ad esser sincero,
sia con me che con gli altri,
ad amare me e gli altri,
ad apprezzare chi è positivo
ed a comprendere chi non lo è.*

Prefazione

La *biologia* (dal greco *bios* = *vita* e *lògos* = *discorso*) è la scienza che studia tutto ciò che riguarda la vita; studia, pertanto, le caratteristiche strutturali, funzionali e comportamentali degli organismi, oltre che la loro classificazione.

La scuola greca fu la prima a studiare i fenomeni naturali con due indirizzi diversi:

- un indirizzo filosofico che mirava a scoprire le leggi della natura;
- un indirizzo medico che studiava l'anatomia e la fisiologia.

Aristotele fu il primo a separare lo studio dei viventi da quello della medicina. Fu in grado di ordinare più di 500 specie di animali in classi, nelle quali incluse anche l'uomo. Distinse gli animali con sangue da quelli senza sangue; divise gli animali con sangue in: pesci, animali terrestri che depongono uova, uccelli e mammiferi. Distinse, inoltre, i cetacei dai pesci.

Gli studi biologici furono scarsamente importanti nel periodo romano. Una figura di rilievo di questo periodo è rappresentata da *Galeno*, il medico dei gladiatori, che dimostrò una notevole conoscenza del corpo umano. Alla caduta dell'Impero Romano gli studi scientifici si spostarono nel mondo orientale; da personaggi del mondo arabo sorse la *Scuola Medica Salernitana*, la più importante istituzione medica del Medioevo.

Lo studio dell'anatomia umana fece notevoli progressi nel periodo rinascimentale con *Leonardo da Vinci* (1452-1519); di lui restano importanti testimonianze degli studi anatomici eseguiti con grande cura sui cadaveri. Un'altra figura di rilievo di questo periodo è rappresentata da *Andrea Vesalio* (*Andreas van Wesel*, 1514-1564) medico e anatomista fiammingo che deve essere considerato il fondatore della moderna anatomia. Di rilievo una sua pubblicazione (*"De humani corporis fabrica"*) basata su studi anatomici da lui stesso eseguiti.

Come tutte le altre scienze, quelle biologiche furono influenzate in modo decisivo dall'opera di *Galileo Galilei* (1564-1642), che evidenziò la necessità di giungere per qualsiasi attività scientifica a "sensate esperienze" insieme alla formulazione delle ipotesi.

Nel diciassettesimo secolo *William Harvey* dimostrò che nel corpo umano il sangue circolava continuamente. *Cartesio* (*René Descartes*, 1596-1650) sostenne che il corpo umano funzionava come una macchina basata su leve e che ogni singola funzione potesse essere spiegata in modo meccanico. *Georg Ernst Stahl* (1660-1734) si contrappose in modo netto a Cartesio; affermò che le parti che compongono l'uomo sono indivisibili e irriproducibili perché tenute insieme da un'anima e le funzioni vitali ubbidiscono a leggi diverse da quelle fisiche.

In questo stesso secolo *Antony van Leeuwenhoek* (1632-1723), impiegando microscopi dotati di una sola lente, da lui stesso costruiti, eseguì osservazioni su numerosi campioni che gli consentirono di scoprire l'esistenza di minuscoli organismi (batteri, protozoi, lieviti, ecc.). Con l'impiego del microscopio composto, *Robert Hooke* (1635-1703) studiò invece le cellule.

La sistematica fece notevoli progressi con l'opera di *Linneo* (*Carl Nilsson Linnaeus*, 1707-1778) che giunse alla classificazione dei viventi, mediante la creazione di un ordine gerarchico e l'impiego della nomenclatura binomiale.

Nel secolo diciannovesimo da *Rudolf Ludwig Karl Virchow* (1821-1902) fu formulata la teoria cellulare, secondo cui gli organismi viventi sono costituiti da elementi cellulari ed ogni cellula deriva da una cellula preesistente. In questo secolo, anche grazie alla messa a punto di microscopi più potenti, si sviluppò lo studio dei microrganismi.

Nel secolo ventesimo gli studi biologici sono stati caratterizzati, in particolare, dal grande sviluppo delle conoscenze genetiche e molecolari, che hanno radicalmente cambiato il modo con cui eseguire le ricerche.

La moderna biologia è diretta conseguenza di questo tipo di approccio.

La nascita e lo sviluppo della microbiologia hanno preso origine dagli studi di *Louis Pasteur* (1822-1895) e *Robert Koch* (1843-1910), che si sono avvicinati ai microrganismi in quanto responsabili di malattie negli organismi superiori. In seguito i progressi sono stati innumerevoli ed il livello delle conoscenze sempre più approfondito. Per la loro semplicità organizzativa, i batteri sono divenuti un modello di studio per tutta la ricerca biologica, tanto che le conoscenze acquisite sui procarioti sono state fondamentali per la comprensione dei processi biologici presenti anche negli organismi più evoluti.

I microrganismi sono rappresentati da innumerevoli specie, distinguibili dal punto di vista morfologico, strutturale, metabolico, antigenico, ecc.; spesso interagiscono con altri organismi viventi ed hanno un ruolo fondamentale nell'economia della biosfera, alcuni di essi partecipano attivamente alla sintesi della sostanza organica, altri alla decomposizione della stessa, grazie alla notevole capacità degradativa che li caratterizza.

Nel corso degli studi i ricercatori si sono resi conto rapidamente del coinvolgimento dei microrganismi in diversi processi utilizzati dall'uomo da tempo immemorabile, come la produzione del vino, della birra, del pane, dello yogurt, dei formaggi. La possibilità di controllare tali processi ha aperto la strada alle moderne microbiotecnologie, vale a dire ad applicazioni finalizzate alla produzione di una grande varietà di beni e servizi.

Dagli anni '70 in poi lo sviluppo delle tecniche di ricombinazione del DNA ha permesso di mettere a punto strategie dalle enormi possibilità applicative. In laboratorio geni molto lontani dal punto di vista evolutivo possono essere ricombinati permettendo processi del tutto inattuabili in natura. Siamo solo all'inizio di questo itinerario, ma, oltre alle grandi potenzialità, si possono intravedere anche importanti problematiche, per l'uomo e per la natura nel suo complesso, che devono rendere attente le diverse Istituzioni nazionali ed internazionali nella regolamentazione e nel controllo dei processi biotecnologici

BIOLOGIA, MICROBIOLOGIA E BIOTECNOLOGIE NELLA SCUOLA SECONDARIA SUPERIORE

Con la recente riforma della scuola secondaria superiore, ai corsi *biologici* e *biologico-sanitari* inseriti nel precedente ordinamento, sono subentrati i corsi *biotecnologici ambientali* e *biotecnologici sanitari*. Naturalmente la revisione dei corsi è stata accompagnata anche da una profonda revisione degli ambiti disciplinari. In particolare nel triennio dei corsi biotecnologici sanitari è stata introdotta una disciplina denominata *"Biologia, Microbiologia e Tecnologie di controllo sanitario"*, men-

tre nei corsi biotecnologici ambientali è stata introdotta la *"Biologia, Microbiologia e Tecnologie di controllo ambientale"*; entrambe le discipline prevedono la trattazione di una complessa serie di argomenti di cui, talora, risulta difficile trovare un filo conduttore. Pertanto il mio lavoro è stato attento a cercare di armonizzare tutto quanto doveva essere trattato, attraverso un itinerario che potesse essere il più organico possibile. In particolare il testo intende essere un supporto per l'insegnamento della *"Biologia, Microbiologia e Tecnologie di controllo sanitario"*, una disciplina che concorre a far conseguire allo studente, al termine del percorso quinquennale, i seguenti risultati di apprendimento relativi al profilo educativo, culturale e professionale:

1. riconoscere gli aspetti geografici, ecologici, territoriali dell'ambiente naturale ed antropico, le connessioni con le strutture demografiche, economiche, sociali, culturali e le trasformazioni intervenute nel corso del tempo;
2. acquisire le competenze sull'uso di strumenti tecnologici finalizzato al miglioramento della sicurezza nei luoghi di vita e di lavoro, alla tutela della persona, dell'ambiente e del territorio;
3. saper intervenire nelle diverse fasi e livelli del processo produttivo, dall'ideazione alla realizzazione del prodotto, utilizzando al meglio gli strumenti di progettazione, documentazione e controllo.

OBIETTIVI DEL TESTO

L'obiettivo fondamentale del testo è quello di fornire agli studenti strumenti teorico-pratici necessari a giungere alla comprensione del mondo biologico e microbiologico e delle tecniche alla base dei processi biotecnologici, ormai largamente impiegati nelle produzioni industriali ed agrarie. Alcuni contenuti presenti nel testo appaiono strettamente interconnessi a quelli di altri insegnamenti, come la *Biochimica*, la *Biologia molecolare* (ad es. bioenergetica e metabolismo microbico, genetica dei procarioti, ricombinazione del DNA), la *Storia* (ad es. aspetti storici connessi all'evoluzione della microbiologia), la *Fisica* (ad es. spettro elettromagnetico e lenti). Tutto questo per offrire una visione meno settoriale e permettere agli studenti di acquisire una conoscenza organica del mondo biologico e delle sue possibilità applicative nell'ambito dei processi produttivi attuali.

REALIZZAZIONE

Vista la complessa articolazione degli argomenti inseriti nell'ambito della disciplina, la realizzazione del testo ha necessariamente richiesto una lunga fase di ricerca bibliografica ed iconografica. Una significativa parte del presente testo, vale a dire la parte microbiologica, è derivata dalla revisione del precedente testo di microbiologia; di questo è stata rivista anche la par-

te iconografica per meglio armonizzare il rapporto tra contenuti ed immagini, cercando di rendere l'opera più accattivante possibile. Ho cercato di porre particolare attenzione alle illustrazioni inserendo, ove necessario, disegni e grafici, che potessero facilitare la comprensione dei contenuti proposti.

Le immagini all'M.O. sono state ottenute in parte utilizzando l'archivio della *Casa Editrice Piccin Nuova Libreria*, in parte direttamente presso il *Laboratorio di Microscopia dell'ISTVAS di Ancona* impiegando *Microscopio Leica Laborlux* in campo chiaro ed in contrasto di fase con *fotocamera Leica EMC3*. Una parte delle immagini all'M.O. sono state ottenute impiegando microscopio *Zeiss Universal* in campo chiaro, contrasto di fase e contrasto interferenziale con *fotocamera Canon EOS 1000*. Una parte significativa delle immagini è tratta dal sito del *Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention, USA*.

STRUTTURA

Il testo è suddiviso in 2 volumi, 13 parti e 49 capitoli. Alla fine di ogni capitolo è presente un questionario che permette un regolare riscontro delle abilità acquisite dagli studenti. Ogni volume è corredato di indice generale ed analitico.

Volume 1

Parte I. Le basi della biologia. Sono approfonditi gli argomenti che riguardano gli aspetti fondamentali del mondo dei viventi, in particolare le molecole alla base della vita, le diverse strutture dei viventi (acellulari, cellulari eucariotici e cellulari procariotici), l'organizzazione e le diverse tassonomie dei viventi.

Parte II. Il laboratorio di biologia-microbiologia. Sono presi in considerazione i diversi aspetti connessi con le attività di laboratorio. È dato adeguato spazio allo studio degli strumenti necessari allo sviluppo delle attività biologiche e microbiologiche. Sono approfonditi, in particolare, gli strumenti microscopici e le tecniche microscopiche utilizzate in ambito istologico, citologico e microbiologico. Una parte significativa è destinata allo studio dei pericoli connessi con le attività biologiche, alla quantificazione dei pericoli e delle condizioni che possono ridurre il rischio biologico.

Parte III. La crescita microbica. Sono trattate le esigenze chimico-fisiche e nutrizionali dei microrganismi, le loro diverse modalità di crescita, le tecniche colturali e le tecniche impiegate nel controllo della crescita microbica.

Parte IV. Bioenergetica e metabolismo. Sono approfonditi gli elementi alla base dei processi bioenergetici, quindi sono analiticamente trattati i principali processi bioenergetici degli organismi eterotrofi ed autotrofi.

Parte V. Riproduzione ed ereditarietà. Sono esaminati la riproduzione mitotica e meiotica, le ricerche men-

deliane e post-mendeliane, per giungere, infine, ad un approfondimento della struttura e funzione del genoma procariotico.

Parte VI. I microrganismi eucariotici. Sono approfonditi i caratteri strutturali fisiologici ed ecologici relativi ai funghi, alle alghe ed ai protozoi e dei principali gruppi in essi compresi.

Parte VII. Tassonomia e identificazione dei procarioti. Sono esaminati i criteri con cui sono classificati i procarioti e descritti i principali gruppi nei quali sono suddivisi. Dei batteri sono anche esaminati i più importanti sistemi impiegati per giungere alla loro identificazione.

Volume 2

Parte VIII. Gli acellulari. Sono approfonditi gli aspetti relativi ai microrganismi privi di una struttura cellulare. Dei *virus*, *viroidi* e *prioni* sono esaminati in particolare: struttura, modalità riproduttive e processi patologici che producono negli organismi ospiti.

Parte IX. Le interazioni microbiche. Sono presi in esame gli aspetti ecologici dei microrganismi, vale a dire i meccanismi con cui interagiscono con l'ambiente circostante nel suo complesso e, in particolare, con gli altri organismi. Sono trattati i diversi processi simbiotici ed i principali meccanismi patogenetici. Sono inoltre esaminati in modo approfondito i processi immunitari presenti negli organismi più evoluti.

Parte X. DNA ricombinante e cellule staminali. Sono presi in esame le basi tecniche della tecnologia del DNA ricombinante, le diverse possibilità applicative di questa tecnologia. Sono trattati, inoltre, i processi impiegati nella produzione delle cellule staminali ed i relativi campi di applicazione.

Parte XI. Biotecnologie industriali e agrarie. Sono presi in esame i microrganismi impiegati nei processi biotecnologici ed i più importanti settori applicativi delle biotecnologie. In particolare sono trattati: i microrganismi impiegati nei processi biotecnologici, i principali prodotti biotecnologici, le biotecnologie industriali, le biotecnologie agrarie e le biotecnologie relative alla produzione dei farmaci.

Parte XII. Alimenti, igiene e salute. Sono esaminati in modo approfondito i diversi aspetti relativi alla produzione degli alimenti, con particolare riguardo alle possibili contaminazioni da parte di agenti chimici, fisici e biologici, ai metodi di risanamento, di conservazione e di controllo della qualità degli alimenti stessi.

Parte XIII. Tossicologia e farmacologia. Sono approfonditi gli aspetti relativi alla produzione dei farmaci e le basi della farmacocinetica e della farmacodinamica. Sono esaminati, inoltre, le basi della tossicologia, i meccanismi ed il controllo della mutagenesi ambientale ed alcuni processi biodegradativi che presentano una rilevante importanza applicativa.

Ringraziamenti

La forte passione per la biologia, il disegno e la fotografia ed un certo spirito autarchico mi hanno spinto, oltre alla stesura del testo, alla elaborazione degli schemi, dei disegni e di una gran parte delle immagini. È chiaro, tuttavia, che lo sviluppo di un testo così complesso non sarebbe stato possibile senza l'aiuto di altri. Una parte consistente dei contenuti presenti in questo libro è derivata dalla rielaborazione del testo di microbiologia destinato ai corsi *biologici* e *biologico-sanitari*, la cui realizzazione è frutto di un lungo lavoro svolto in collaborazione con gli studenti ed i docenti di Scienze durante il mio lungo periodo di insegnamento presso l'*Istituto Superiore Vanvitelli Angelini Stracca (ISTVAS) di Ancona*. Quindi un grande ringraziamento va agli studenti che hanno frequentato le mie lezioni e a tutti coloro che hanno partecipato attivamente alla realizzazione dei corsi di *Microbiologia* e *Biochimica e Biologia molecolare*.

Un particolare ringraziamento va alla Sig.ra *Luana Pagliaccio* che, in qualità di assistente tecnico, ha collaborato con me allo sviluppo delle attività di laboratorio in modo sempre puntuale e paziente. Non secondaria è stata la collaborazione fornita dalla Prof.ssa *Elisabetta Morelli*, mia collega per tanti anni all'ISTVAS di Ancona, e da parte degli altri insegnanti di scienze, in particolare di: *Elisabetta Contella, Rosaria Spagnuolo, Catia Massimi, Loredana Brutti, Giuseppina Carrieri* e *Fabio Grandacci*.

Per il reperimento di molte immagini, oltre che dell'archivio della *Piccin Nuova Libreria*, mi sono avvalso della collaborazione di numerosi privati ed Istituzioni pubbliche italiane ed estere. Un importante contributo è stato fornito dal Prof. *George L. Barron (Ph.D., D.Sc., School of Environmental Sciences, University of Guelph, Ontario, Canada)* che mi ha concesso l'autorizzazione per inserire immagini micologiche di notevole qualità grafica ed efficacia didattica.

Alcune immagini di virus ottenute all'M.E. sono state gentilmente fornite dall'*Istituto Zooprofilattico dell'Umbria e delle Marche*.

Un sentito ringraziamento va al Sig. *Arturo Agostino*, microscopista di livello elevatissimo (a cui talora mi ispiro nella realizzazione delle mie immagini all'M.O.), che amichevolmente mi ha concesso l'autorizzazione per la pubblicazione di immagini di grande efficacia di microrganismi eucariotici e procariotici ottenute mediante microscopia interferenziale (DIC).

Le immagini dei microscopi elettronici a trasmissione (TEM) ed a scansione (SEM) sono state acquisite presso il *Centro Interdipartimentale dei servizi di Microscopia delle Nanostrutture (CISMIN) dell'Università Politecnica delle Marche*.

Un grazie va alla *Leica Biosystems* ed alla *Leica Microsystems* per le suggestive immagini del citoscheletro ottenute mediante microscopia ottica confocale.

Inoltre, una menzione particolare per:

- *Juris Vanags*, Chairman of Board Biotehniskais centrs, Riga, Latvia;
- *Craig Bremmon*, CEBTech Services, Aberdeen, South Dakota, USA.

Non nascondo un certo orgoglio per aver visto realizzare i miei lavori dalla *Casa Editrice Piccin Nuova Libreria*, i cui testi mi hanno accompagnato lungo tutto il mio percorso di studi universitari e post-universitari. Per cui grande riconoscenza va al Dott. *Massimo Piccin*, con cui ho iniziato una proficua collaborazione ormai da diversi anni, e al Dott. *Nicola Piccin* per l'opportunità che mi ha ulteriormente concesso e per il costante supporto fornito durante la realizzazione del testo. Un particolare ringraziamento è per la Dott.ssa *Carla Criconia*, per la disponibilità, l'estrema attenzione a tutti i particolari del lavoro e la competenza dimostrata.

Per ultimi, ma primi per affetto, devo ringraziare mia moglie *Loredana*, che ha collaborato con me nella realizzazione del precedente testo di *Microbiologia* che ha rappresentato la base del presente lavoro, ed i miei figli, *Gabriele* e *Raffaele* che, con grande pazienza, mi hanno supportato quando, di tanto in tanto, le mie "rilevanti" carenze informatiche venivano inevitabilmente alla luce.

Indice generale

PARTE I ■ LE BASI DELLA BIOLOGIA

1 ■ Il mondo biologico 3

- 1.1 Campi d'azione della biologia 3
 - 1.1.1 Relazioni tra i sistemi biologici 3
- 1.2 Strutture e organizzazioni biologiche 4
 - 1.2.1 Cellule e strutture acellulari 4
 - 1.2.2 Dimensioni e morfologia delle strutture biologiche 5
 - 1.2.3 Organizzazioni pluricellulari 6
- 1.3 Classificazione dei viventi 6
 - 1.3.1 Classificazione fenotipica di Whittaker 7
 - 1.3.2 Classificazione molecolare di Woese 9
 - 1.3.3 Posizione e ruolo degli acellulari nel mondo vivente 9
- 1.4 Classificazione biologica e nomenclatura 10
- 1.5 Settori di studio della biologia 11
- Domande di verifica 12

2 ■ Le molecole alla base della vita 13

- 2.1 L'acqua e le sue proprietà chimico-fisiche 13
- 2.2 Ionizzazione dell'acqua e dei soluti 16
 - 2.2.1 Processi biochimici in cui è coinvolta l'acqua 16
- 2.3 Elementi alla base della vita 17
 - 2.3.1 Caratteristiche atomiche del carbonio 18
 - 2.3.2 Legami chimici 19
 - 2.3.3 Reazioni chimiche cellulari 19
- Domande di verifica 22

3 ■ Le biomolecole 23

- 3.1 Carboidrati 23
 - 3.1.1 Monosaccaridi 23
 - 3.1.2 Derivati monosaccaridici 24
 - 3.1.3 Legame glicosidico e formazione dei disaccaridi 25

- 3.1.4 Polisaccaridi 26
- 3.1.5 Glicoproteine e glicolipidi 27
- 3.2 Proteine 28
 - 3.2.1 Amminoacidi della serie L e D 28
 - 3.2.2 Classificazione degli amminoacidi 28
 - 3.2.3 Il legame peptidico 28
 - 3.2.4 Polimeri degli amminoacidi 30
 - 3.2.5 Classificazione delle proteine 30
 - 3.2.6 Struttura delle proteine 31
- 3.3 Lipidi 33
 - 3.3.1 Lipidi semplici 33
 - 3.3.2 Lipidi complessi 35
- 3.4 Nucleotidi ed acidi nucleici 36
 - 3.4.1 Nucleosidi e nucleotidi 37
 - 3.4.2 Struttura del DNA 38
 - 3.4.3 Struttura degli RNA 39
 - 3.4.4 Altre funzioni dei nucleotidi 40
- Domande di verifica 42

4 ■ La cellula eucariotica 43

- 4.1 Evoluzione delle cellule procariotiche 43
- 4.2 Caratteri delle cellule eucariotiche 43
 - 4.2.1 Composizione chimica 43
 - 4.2.2 Compartimentazione della cellula eucariotica 45
- 4.3 Struttura delle cellule eucariotiche 45
 - 4.3.1 Membrana plasmatica 46
 - 4.3.2 Citoplasma ed organuli citoplasmatici 48
 - 4.3.3 Membrana nucleare e nucleo 53
 - 4.3.4 Parete cellulare 54
- Domande di verifica 56

5 ■ La cellula procariotica 57

- 5.1 Morfologia della cellula procariotica 57
 - 5.1.1 Dimensioni 57
 - 5.1.2 Morfologia 58
 - 5.1.3 Composizione chimica 58

5.2	Struttura della cellula procariotica	59
5.2.1	Parete cellulare	59
5.2.2	Membrana plasmatica	62
5.2.3	Area citoplasmatica	63
5.2.4	Area nucleare (nucleoide)	64
5.2.5	Flagelli	65
5.2.6	Capsula	67
5.2.7	Fimbrie (pili)	67
5.2.8	Spore	68
	Domande di verifica	72

PARTE II ■ IL LABORATORIO DI BIOLOGIA-MICROBIOLOGIA

6 ■ Organizzazione e sicurezza nel laboratorio di biologia-microbiologia. . 75

6.1	Organizzazione del laboratorio di biologia-microbiologia	75
6.1.1	Strumenti	76
6.2	Sicurezza nel laboratorio di biologia-microbiologia	81
6.3	Fattori di rischio nel laboratorio di biologia-microbiologia	81
6.4	Rischio biologico nel laboratorio di biologia-microbiologia	83
6.5	Classificazione degli agenti biologici	83
6.6	Sicurezza nel laboratorio di biologia-microbiologia di base	84
6.6.1	Caratteristiche degli spazi e dotazioni	84
6.6.2	Misure di protezione e procedure	84
6.6.3	Cappe di sicurezza biologica	87
6.7	Procedure da seguire nel caso di sversamento o di esposizione al materiale biologico	88
6.7.1	Sversamento di materiale infetto	88
6.7.2	Esposizione al materiale biologico	88
6.7.3	Rottura di provette o di altri contenitori all'interno di centrifughe	89
6.8	Gestione dei rifiuti chimici e biologici in laboratorio	89
6.8.1	Trattamento dei rifiuti speciali (RSP e RSNP) chimici e biologici	89
6.9	Decreto legislativo N° 81/2008 Allegato XLVI. Elenco degli agenti biologici classificati	90
	Domande di verifica	103

7 ■ Microscopia ottica ed elettronica . . . 105

7.1	Microscopia ottica	105
7.2	Microscopio ottico composto	107
7.2.1	Componenti del microscopio ottico composto	108
7.3	Difetti e limiti delle lenti	111
7.4	Vari tipi di microscopia ottica	111
7.4.1	Microscopia in campo chiaro	111

7.4.2	Microscopia in campo oscuro	112
7.4.3	Microscopia a contrasto di fase	112
7.4.4	Microscopia con luce polarizzata	114
7.4.5	Microscopia a contrasto di interferenza differenziale (DIC)	115
7.4.6	Microscopia a fluorescenza	115
7.4.7	Microscopia confocale	116
7.5	Microscopio stereoscopico	119
7.6	Microscopia elettronica	119
7.6.1	Microscopia elettronica a trasmissione (TEM)	120
7.6.2	Microscopia elettronica a scansione (SEM)	121
7.6.3	Microscopia elettronica ad alta tensione	123
	Domande di verifica	124

8 ■ Preparati microscopici 125

8.1	Esame al microscopio ottico di campioni biologici	125
8.2	Coloranti	125
8.2.1	Caratteri chimici dei coloranti	125
8.2.2	Classificazione dei coloranti	126
8.2.3	Preparazione dei coloranti	126
8.2.4	Reagenti usati nelle colorazioni	127
8.3	Esami citologici ed istologici	127
8.4	Esami citologici	127
8.4.1	Allestimento di vetrini per l'esame a fresco	128
8.4.2	Colorazioni batteriologiche	129
8.4.3	Colorazioni di cellule eucariotiche	135
8.5	Allestimento di preparati istologici	137
8.5.1	Tecnica con microtomo congelatore	139
8.5.2	Principali colorazioni istologiche	139
8.5.3	Colorazioni istochimiche	141
8.6	Allestimento di preparati per il TEM	141
8.6.1	Sezioni ultrasottili	142
8.6.2	Colorazione positiva	142
8.6.3	Ombreggiatura	143
8.6.4	Colorazione negativa	143
8.7	Allestimento dei preparati per il SEM	143
	Domande di verifica	145

PARTE III ■ LA CRESCITA MICROBICA

9 ■ Le esigenze microbiche 149

9.1	Esigenze energetiche	150
9.1.1	Fotoautotrofismo	151
9.1.2	Chemiotrofismo	151
9.2	Esigenze nutrizionali	152
9.3	Assunzione dei nutrienti	153
9.3.1	Struttura della membrana	153
9.4	Esigenze chimico-fisiche	155
9.4.1	Temperatura	155

9.4.2 Pressione osmotica..... 156
 9.4.3 pH..... 157
 9.4.4 Potenziale redox 159
 Domande di verifica..... 161

10 ■ Colture microbiche 163

10.1 Finalità delle colture microbiche 163
 10.2 Terreni di coltura..... 163
 10.2.1 Classificazione dei terreni di coltura 164
 10.2.2 Componenti dei terreni di coltura..... 167
 10.3 Preparazione dei terreni di coltura..... 168
 10.4 Principali tecniche colturali 170
 10.4.1 Allestimento delle colture 171
 10.4.2 Esame colturale 174
 10.4.3 Conservazione delle colture 174
 Domande di verifica..... 177

11 ■ Riproduzione microbica 179

11.1 Ciclo riproduttivo dei procarioti 179
 11.2 Dinamica delle popolazioni microbiche 182
 11.2.1 Aspetti matematici 182
 11.3 Determinazioni quantitative 183
 11.3.1 Prelievo, trasporto e trattamento del campione..... 183
 11.3.2 Determinazione del numero 184
 11.3.3 Determinazione della massa 191
 11.4 Curva di crescita microbica..... 193
 Domande di verifica..... 195

12 ■ Controllo della crescita microbica. . 197

12.1 Agenti antimicrobici fisici 198
 12.1.1 Alte temperature 199
 12.1.2 Basse temperature..... 202
 12.1.3 Essiccamento..... 203
 12.1.4 Radiazioni elettromagnetiche..... 204
 12.1.5 Filtrazione..... 206
 12.2 Agenti antimicrobici chimici 206
 12.2.1 Disinfettanti e antisettici 207
 12.2.2 Farmaci antimicrobici..... 209
 Domande di verifica..... 216

PARTE IV ■ BIOENERGETICA E METABOLISMO

13 ■ Elementi di bioenergetica..... 219

13.1 Processi metabolici 219
 13.1.1 Le reazioni metaboliche 220
 13.2 Gli enzimi 221
 13.2.1 Cinetica enzimatica..... 221
 13.3 Bioenergetica 223
 13.3.1 Additività delle variazioni di energia libera 224

13.3.2 Molecole ad alto contenuto energetico..... 225
 13.3.3 Processi biologici e reazioni redox.... 226
 Domande di verifica..... 229

14 ■ Chemioeterotrofismo 231

14.1 Respirazione aerobica 231
 14.1.1 Glicolisi 233
 14.1.2 Destino del piruvato e del NADH..... 234
 14.1.3 Decarbossilazione ossidativa del piruvato 236
 14.1.4 Ciclo degli acidi tricarbossilici..... 236
 14.1.5 Catabolismo aerobico dei lipidi 237
 14.1.6 Catena di trasporto degli elettroni ... 239
 14.1.7 Fosforilazione ossidativa 242
 14.2 Fermentazioni..... 244
 14.3 Respirazione anaerobica 248
 Domande di verifica..... 249

15 ■ Fotosintesi e chemiosintesi 251

15.1 Fotoautotrofismo..... 251
 15.1.1 Pigmenti fotosintetici..... 252
 15.1.2 Fotofosforilazione ossigenica (fase luminosa) 253
 15.1.3 Fotofosforilazione anossigenica (fase luminosa) 256
 15.1.4 Ciclo di Calvin-Benson (fase oscura) .. 258
 15.2 Chemioautotrofismo 260
 Domande di verifica..... 262

PARTE V ■ RIPRODUZIONE ED EREDITARIETÀ

16 ■ Riproduzione cellulare 265

16.1 Riproduzione asessuata e sessuata 265
 16.2 Divisione cellulare 266
 16.2.1 Divisione cellulare nei procarioti 266
 16.2.2 Divisione cellulare negli eucarioti 267
 16.3 Ciclo cellulare negli eucarioti..... 268
 16.3.1 Interfase 268
 16.3.2 Mitosi..... 269
 16.4 Regolazione del ciclo cellulare 273
 16.4.1 Chinasi ciclina-dipendenti (CDK) e cicline 274
 16.4.2 Inibitori delle CDK 275
 16.5 Malattie proliferative (o tumorali) 276
 16.5.1 Diagnosi e trattamento delle neoplasie maligne..... 276
 16.6 Cromosomi somatici e gametici 276
 16.6.1 Cromosomi somatici..... 276
 16.6.2 Cromosomi gametici 277
 16.7 Meiosi..... 278
 16.7.1 Fasi della meiosi..... 278
 16.7.2 Meiosi e varietà della discendenza ... 280
 Domande di verifica..... 281

21.7.4 Clorofite (Divisione *Chlorophyta*) 370
 21.7.5 Feofite (Divisione *Phaeophyta*) 371
 21.7.6 Rodofite (Divisione *Rhodophyta*) 372
 Domande di verifica 374

22 ■ I protozoi 375

22.1 Morfologia e struttura 375
 22.2 Ecologia 376
 22.3 Nutrizione e metabolismo 376
 22.4 Riproduzione 376
 22.4.1 Riproduzione asessuata 376
 22.4.2 Riproduzione sessuata 376
 22.5 Classificazione 377
 22.5.1 Flagellati (*Subphylum Mastigophora*
vel Flagellata) 377
 22.5.2 Ciliati (*Subphylum Ciliophora*) 378
 22.5.3 Sarcodini (*Subphylum Sarcodina*) 380
 22.5.4 Sporozoi (*Subphylum Sporozoa*) 383
 Domande di verifica 387

PARTE VII ■ TASSONOMIA E IDENTIFICAZIONE DEI PROCARIOTI

23 ■ Tassonomia dei procarioti 391

23.1 Classificazione e nomenclatura 391
 23.2 *Bacteria* e *Archaea* 393
 23.2.1 Sequenziamento dei nucleotidi
 dell'rRNA 16S (18S) 394
 23.2.2 Nomenclatura batterica 395

23.3 Dominio *Archaea* 395
 23.3.1 *Crenarchaeota* 397
 23.3.2 *Euryarchaeota* 397
 23.4 Dominio *Bacteria* 398
 23.4.1 Cocchi Gram+ 398
 23.4.2 Bacilli Gram- fermentanti 409
 23.4.3 Bacilli Gram- ossidanti 415
 23.4.4 Spirochete (*Phylum Spirochaetes*) 425
 23.4.5 Bacilli sporigeni 429
 23.4.6 Bacilli Gram+ non sporigeni 435
 23.4.7 Batteri fototrofi 441
 23.4.8 Rickettsie, clamidie e micoplasmi 443
 Domande di verifica 447

24 ■ Identificazione dei procarioti 449

24.1 Criteri impiegati nell'identificazione 449
 24.2 Identificazione microscopica diretta 449
 24.3 Esame colturale 450
 24.4 Identificazione biochimica 453
 24.4.1 Identificazione mediante sistemi
 miniaturizzati 453
 24.5 Identificazione sierologica 456
 24.6 Tipizzazione fagica 456
 24.7 Identificazione molecolare 457
 24.8 Considerazioni conclusive 457
 Domande di verifica 458

Bibliografia e sitografia B-1

Indice analitico I-1

