GENÈTICA DE L'EFECTE DE LA TEMPERATURA SOBRE EL CREIXEMENT DELS BACTERIS

Conferència inaugural del curs 1974-75 de la Societat Catalana de Biologia pronunciada el dia 17 d'octubre de 1974 pel doctor

RAMON PARÉS i FARRÀS

President de la Societat Catalana de Biologia,
Cap del Departament de Microbiologia de la Facultat de Biologia
de la Universitat de Barcelona

En aquesta conferència em proposo exposar els coneixements actualment disponibles per donar una resposta a les següents preguntes:

1.ª ¿Per què els bacteris deixen de créixer per damunt d'una temperatura definida de cultiu?

2.ª ¿Per què cada tipus de bacteri té una temperatura mínima de creixement?

3.ª ¿Per què, respecte a les temperatures màxima i mínima de creixement les soques bacterianes difereixen tant les unes de les altres?

4.ª ¿Per què la capacitat de créixer en un interval definit de temperatures compreses entre la màxima i la mínima és una propietat característica de cada soca que es manté constant al llarg de milers de generacions?

Vull fer constar, per endavant, que la resposta no és fàcil ni senzilla, i que, fins fa molts pocs anys, no era possible una explicació satisfactòria a cap de les referides preguntes. També vull assenyalar que aquesta exposició vol ésser un petit homenatge al Prof. John L. Ingraham de la Universitat de Califòrnia, a Davis, que tant ha contribuït als avenços en aquest camp. La seva obra constitueix la principal font de tot el que hi serà exposat.

Efecte de la temperatura sobre les reaccions químiques implicades en el creixement

Considerem el creixement com l'augment de protoplasma al llarg del temps en un sistema constituït per bacteris i medi ambient. És el resultat d'un conjunt complex de reaccions químiques molt interdependents.

Si volem esbrinar l'efecte de la temperatura sobre el creixement, haurem de considerar, primerament, com són afectades per la temperatura les reaccions químiques en general.

La temperatura modifica la constant d'equilibri i la velocitat de reacció d'acord amb lleis ben conegudes. L'augment de la temperatura mou l'equilibri en el sentit de la reacció que afavoreix l'absorció de calor i viceversa. L'expressió quantitativa que relaciona la constant d'equilibri K_p amb la temperatura és:

$$\ln \frac{K_{p\,(1)}}{K_{p\,(2)}} = \frac{Q_p}{R} \left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2}\right)$$

Q_p és la calor de reacció a pressió constant del procés directe; R és la constant dels gasos expressada en calories; $K_{p\,(1)}$ i $K_{p\,(2)}$ són les constants d'equilibri a les temperatures absolutes T_1 i T_2.

La velocitat de reacció és una funció logarítmica del recíproc de la temperatura absoluta d'acord amb l'equació

$$v = Se^{-\triangle E/RT}$$

on: v és la velocitat de reacció; S, una constant; E, l'energia d'activació; R, la constant dels gasos; i T, la temperatura absoluta. Després d'una integració tindrem

$$\ln v = \frac{-\triangle E}{R} \times \frac{1}{T} + \text{constant}$$

Aquesta fórmula ens indica que el logaritme de la velocitat d'una reacció química és una funció lineal del recíproc de la temperatura absoluta (fig. 1A).

Si fem un gràfic com el representat en la figura anterior, correntment anomenat diagrama d'Arrhenius, i prenem, en lloc dels logaritmes de v, els logaritmes dels valors de la velocitat de creixement (k) d'un bacteri definit i, sobre l'eix de les abscisses, els recíprocs de les temperatures

absolutes, obtenim una resposta diferent que, en termes generals, és la que representa la figura 1B. En aquesta figura, *a* és la temperatura màxima del creixement del bacteri; *b* n'és la temperatura òptima, i *c* n'és la temperatura mínima. Podem adonar-nos que, en l'interval comprès entre la temperatura òptima i la mínima, es compleix el diagrama normal d'Arrhenius. Per a temperatures més elevades, el coeficient angular s'incrementa ràpidament, i es fa infinit a la temperatura màxima de creixe-

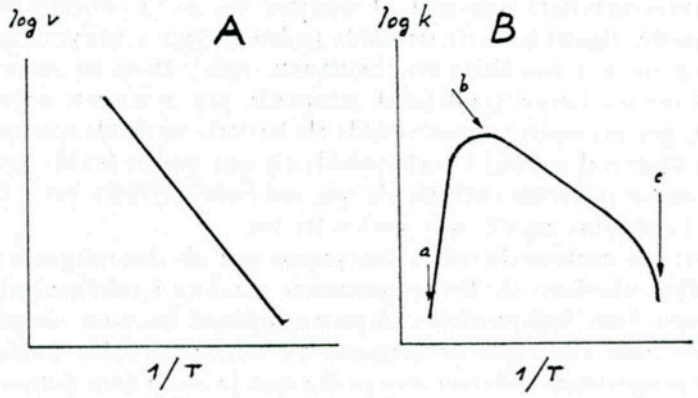

FIG. 1.

ment. Per a temperatures inferiors a les de l'interval mitjà, el coeficient angular també creix i es fa igualment infinit a la temperatura mínima de creixement.

CLASSIFICACIÓ DELS BACTERIS, PRENENT COM A BASE L'EFECTE DE LA TEMPERATURA SOBRE EL CREIXEMENT

Cada soca bacteriana té unes temperatures mínima, màxima i òptima constants i característiques. Per contra, si ens fixem en el comportament de soques diferents, en podem observar una gran varietat. Aquests dos fets posen de manifest que la temperatura de creixement és una característica genèticament ben establerta.

Coneixem uns bacteris que poden créixer a temperatures tan altes com la de 95 °C (BROCK, 1967, BOTT i BROCK, 1969) i uns altres que ho fan fins a temperatures tan baixes com la de —10 °C (LARKIN i STOKES, 1967). Fa temps que hom distingeix tres tipus ecològics de bacteris en funció de l'interval de temperatura compatible amb llur creixement: els

termòfils, els mesòfils i els psicròfils. Dins de cada grup, hom ha distingit diferents subtipus, d'acord amb l'extensió de l'interval de temperatura de creixement i tenint en compte el manteniment o no manteniment de la viabilitat a partir de les valors límit. No obstant això, darrerament, és considerada inadequada pel fet que les temperatures màxima i mínima resulten ser variables independents. Hi ha bacteris que creixen bé al voltant de 0 °C i que, a la vegada, ho fan també a temperatures superiors als 40 °C (INGRAHAM, 1962). Uns altres psicròfils, que creixen a 0 °C, tenen temperatures màximes que mai ultrapassen els 20 °C (SIEBURTH, 1967). Paral·lelament alguns bacteris termòfils poden créixer a temperatures molt inferiors a 30 °C i uns altres no (INGRAHAM, 1962). Hom ha intentat establir una nomenclatura tradicional adequada per a aquests casos: hom anomena, per exemple, estenotermòfils els bacteris termòfils que no poden créixer a l'interval mesòfil i euritermòfils els que poden fer-ho. Igualment hom anomena psicròfils obligats els que no poden créixer per sobre dels 20 °C, i facultatius aquells que poden fer-ho.

Els fets que acabem de referir fan pensar que els determinants genètics de les valors absolutes de les temperatures màxima i mínima pel creixement deuen ésser independents. Aquesta hipòtesi ha estat singularment confirmada amb l'obtenció de mutants sensibles a la calor (mutants *hs*) amb una temperatura màxima més petita que la de la soca paterna i una temperatura mínima no variada. També hi ha mutants sensibles al fred (mutants *cs*) que tenen una temperatura mínima superior a la soca paterna i una temperatura màxima no canviada.

L'ESTABILITAT TÈRMICA DE LES PROTEÏNES

La pèrdua de l'activitat funcional d'una proteïna a una temperatura suficientment alta, té una explicació relativament senzilla: se'n trenquen els enllaços químics que mantenen l'estructura secundària i terciària, les quals són imprescindibles perquè tingui activitat específica. La desnaturalització és la causa de la pèrdua d'activitat de les proteïnes.

Els gens que codifiquen l'estructura primària de les proteïnes determinen, a la vegada, llur activitat funcional i llur estabilitat tèrmica, tant en el cas que aquella sigui de caràcter catalític com en el cas que sigui de caràcter estructural. Ningú no sap encara amb exactitud quin és el tros de la proteïna que resulta necessari per a donar una definida estabilitat tèrmica, com a fracció diferenciada del que cal per a mantenir la seva activitat funcional. Sí, per contra, és manifest que l'estabilitat tèrmica és una propietat que pot ser modificada per mutació molt més fàcilment que l'activitat funcional. Com a mostres de l'evidència experimen-

tal que poden servir per a fonamentar aquesta conclusió hom pot assenyalar:

1.er Els resultats de LANGRIDGE (1968), que va examinar 52 formes diferents de l'enzim β-galactosidasa d'*Escherichia coli* obtingudes per mutació. Un 70 % d'aquestes proteïnes mutants manifesta diferències pel que fa a l'estabilitat a la calor, mentre que només una havia perdut la funció catalítica (taula 1). L'enzim de caràcter salvatge té una vida mitjana de 104 minuts.

TAULA 1. — *Distribució de la vida mitjana en minuts a 57° C de 52 β-galactosidasa serina substituïdes*

Vida mitjana	Freqüència
10	16
10 - 20	5
20 - 30	4
30 - 40	3
40 - 50	4
50 - 60	1
60 - 70	1
70 - 80	1
80 - 90	1
90 - 100	3
100 - 110	15

2.on Resultats com els que acabem de referir fan pensar que, en moltes mutacions naturals, la selecció no es fa sobre la pèrdua de la funció sinó sobre la pèrdua de l'estabilitat a la calor. Pel que sembla, sense una contraselecció a temperatura elevada, la mutació a l'atzar produirà una acumulació de gens que codifiquen proteïnes de baixa estabilitat tèrmica. Ben al contrari, els bacteris que creixen a altes temperatures hauran de contenir proteïnes molt més estables a la calor. D'acord amb aquestes idees, hom ha pogut posar de manifest que les proteïnes de les soques termòfiles són més estables que les de les soques mesòfiles, com podem veure en les dades de la taula 2. El percentatge de proteïna desnaturalitzada és determinat sobre el total de material precipitable per l'àcid tricloroacètic, a partir d'una part alíquota de l'extret sònic del material cel·lular que s'ha escalfat a 60 °C durant 8 minuts.

3.er La tesi que les mutacions que donen labilitat tèrmica a les proteïnes tenen tendència a acumular-se en els bacteris que no es troben sub-

jectes a l'exposició a temperatures altes també ha estat reforçada per evidències provinents d'estudis sobre psicròfils marins. Contràriament al que abans hom suposava, la major part de la població bacteriana dels hàbitats de temperatures permanentment molt baixes és constituïda per psicròfils obligats. Novament, hom es veu portat a pensar que la manca de selecció tèrmica permet la pèrdua d'estabilitat de les proteïnes fins i tot a temperatures tan baixes com són les de l'ordre de 20 °C.

4.t Experiments en virus han provat també que moltes mutacions que no tenen valor selectiu poden disminuir l'estabilitat tèrmica de les proteïnes que es formen quan es constitueix el virió.

TAULA 2. — *Estabilitat de les proteïnes citoplasmàtiques a 60° C en bacteris mesòfils i termòfils*

Organisme	Tipus térmic	% proteïnes desnaturalitzades
Proteus vulgaris	Mesòfil	55
Escherichia coli	Mesòfil	55
Bacillus megaterium	Mesòfil	58
Bacillus subtilis	Mesòfil	57
Bacillus stearothermophilus	Termòfil	3
Bacillus sp. (Purdue CD)	Termòfil	0
Bacillus sp. (Texas 11330)	Termòfil	4
Bacillus sp. (Nebraska 1492)	Termòfil	0

PÈRDUA DE LA FUNCIÓ A BAIXES TEMPERATURES

Hem examinat la pèrdua de l'activitat funcional d'una proteïna com a conseqüència d'un augment prou gran de la temperatura. L'existència d'una temperatura mínima per al creixement porta a considerar que, d'alguna manera, les baixes temperatures també deuen produir la pèrdua de la funció. Existeix la possibilitat de canviar l'estructura proteica rebaixant la temperatura, perquè això modifica l'estructura de l'aigua de solvatació (BRANDTS, 1963). Cal, però, preguntar-se ara si podem posar de manifest que sigui aquesta la causa de la temperatura mínima de creixement o no.

Hem vist que la temperatura alta origina una pressió selectiva de cara a mantenir la capacitat de créixer a altes temperatures. El creixement continuat a baixes temperatures no produeix un efecte selectiu paral·lel, és a dir, no té efecte adaptatiu. Els bacteris entèrics que han crescut a temperatures veïnes als 37 °C durant milions d'anys, com *Salmonella*

typhimurium i *Escherichia coli,* han retingut la capacitat de créixer a temperatures tan baixes com ara 8 °C sense que això signifiqui cap avantatge selectiu fàcilment explicable.

Abans hem fet referència als mutants *ts* que tenen incrementada la temperatura màxima de creixement respecte a la de la soca salvatge. Els mutants *hs* sensibles a la calor obeeixen a dos menes de mecanismes: n'hi ha un que consisteix en la producció d'un enzim amb menys estabilitat

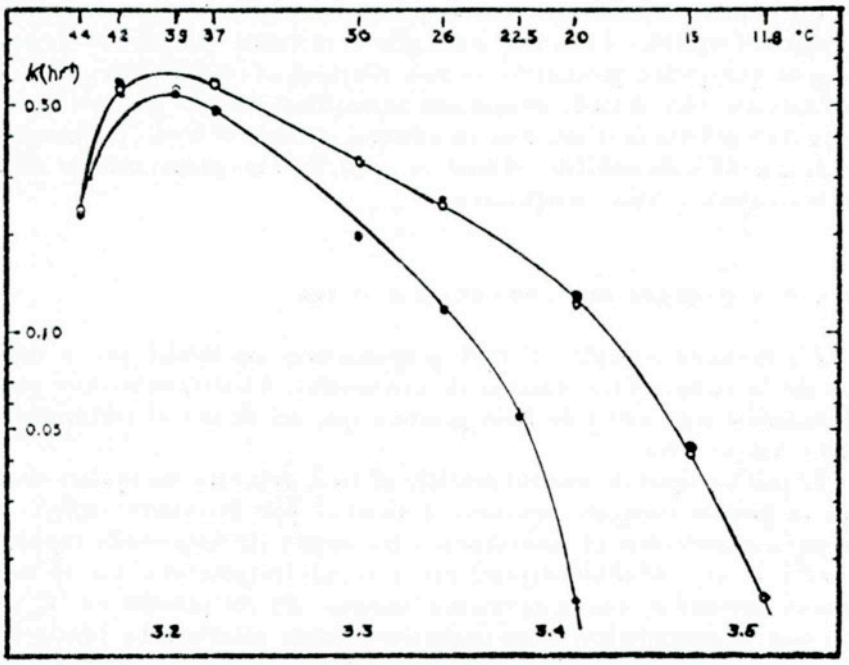

FIG. 2.

tèrmica que el corresponent al de la soca salvatge. L'altra mena de mutant *hs* presenta un enzim amb una estabilitat inalterada a la calor, però que deixa de produir-se a partir de la temperatura restrictiva. Aquests últims són anomenats, per SATDLER i NOVICK (1965), mutants *tss*, de síntesi sensible a la temperatura. Els mutants sensibles al fred han estat relativament menys estudiats. El diagrama d'Arrhenius corresponent a un d'aquests mutants d'una soca d'*E. coli* és representat a la fig. 2, comparativament amb la resposta de la soca paterna i el creixement, en un medi mínim, de l'una i de l'altra. A 37 °C, la soca mutant creix gairebé tan ràpidament com la paterna però, com més la temperatura va baixant, més

ràpidament decreix la velocitat de creixement, fins a fer-se nulla al voltant dels 20 °C. La soca paterna no deté el seu als 8 °C. INGRAHAM i els seus col·laboradors han obtingut aquests mutants utilitzant la tècnica habitual de mutagenització, seguida de contraselecció amb penicil·lina, a 20 °C, temperatura a la qual no es multipliquen els mutants sensibles al fred, als quals acabem de referir-nos. No ha estat investigada fins al present la contraselecció a unes altres temperatures i, d'altra part, aquesta classe de mutants, sols han estat obtinguts, fins ara, en bacteris entèrics.

Els mutants sensibles al fred es produeixen amb la mateixa freqüència que els sensibles a la calor, tot i que és manifest que el nombre total de gens que poden produir-les és més restringit. Coneixem tres tipus de mutants sensibles al fred: *a*) mutants auxotròfics sensibles al fred; *b*) mutants amb utilització d'una font de carboni sensible al fred; i, *c*) mutants letals condicionals sensibles al fred, és a dir, que no poden créixer en un medi complex a baixa temperatura.

FONAMENT BIOQUÍMIC DE LA SENSIBILITAT AL FRED

Els mutants sensibles al fred proporcionen un model per a donar raó de la temperatura mínima de creixement. Efectivament, ens posen de manifest una mena de lesió genètica que en detura el creixement a baixa temperatura.

El primer tipus de mutant sensible al fred, dels tres assenyalats abans, fou el primer conegut, descobert i estudiat per INGRAHAM (1965). Un exemple característic el constitueixen les soques de *Salmonella typhimurium* i *E. coli* histidina-dependents a baixa temperatura. En el medi mínim, presenten una temperatura mínima de creixement 12 °C més alta que la corresponent a les respectives soques paternes. La funció bloquejada a temperatura baixa s'ha pogut identificar per l'acumulació d'intermediaris de la corresponent etapa bioquímica. Hom ha trobat que aquesta és la governada per la fosfo-ribosil adenosina trifosfat pirofosforilasa (PR-ATP-ppasa). Sorprenentment, les preparacions d'aquest enzim obtingudes dels esmentats mutants han resultat, a baixes temperatures, tan actives com les que s'obtenen de les soques paternes.

La PR-ATP-ppasa presenta inhibició *feedback* amb la histidina i la leucina. No obstant això, l'obtinguda dels mutants *cs* resulta, a baixa temperatura, més de 1.000 vegades més sensible a la histidina que l'enzim corresponent de la soca salvatge. Independentment, cal tenir en compte que l'una i l'altra són més sensibles a la inhibició *feedback* de la histidina a 20 °C que a 37 °C. Per tant, és molt versemblant que, a baixa temperatura, la concentració intracel·lular d'histidina pugui interferir la

seva pròpia síntesi ulterior i que, a la vegada, sigui insuficient per a mantenir la síntesi proteica.

El mecanisme que acabem d'assenyalar ha estat amplament confirmat per l'estudi quantitatiu de la inhibició *feedback* de la PR-ATP-ppasa en una sèrie de soques mutants de *E. coli* enfront de la corresponent a les respectives soques salvatges. Totes les soques sensibles al fred, sigui quin sigui el mutagen utilitzat, produeixen tipus de PR-ATP-ppasa dramàticament més sensibles a la histidina.

El model que acabem de veure de mutants sensibles al fred sembla l'adient per a tots els mutants de tipus auxotròfic. Però cal tenir en compte que la sensibilitat allostèrica de les proteïnes als seus efectors en funció de la temperatura pot canviar per mutació de forma general, de manera que tant es pot incrementar com disminuir a baixa temperatura.

El segon tipus de mutant sensible al fred es caracteritza per la pèrdua de la capacitat d'utilitzar, a baixes temperatures, una definida font de carboni. Un exemple d'aquesta mena de sensibilitat al fred va ser trobat per SQUIRES i INGRAHAM l'any 1969. Van aïllar un mutant d'*E. coli* que podia créixer utilitzant lactosa a 37 °C, però que no podia fer-ho a 20 °C. Ells van poder posar de manifest que hi havia implicades dues mutacions a l'operó *gal*; una en *gal* K, que dóna lloc a una galactoquinasa sensible a la calor, no funcional a 37 °C, i una altra en *gal* T que produeix una galactosa-1-fosfat-uridil-transferasa no funcional a cap temperatura. Així, a 37 °C, la soca mutant podia créixer sobre la meitat de la molècula de lactosa encara que la fracció galactosa no pugui ésser metabolitzada per pèrdua de la funció galactoquinàsica. A 20 °C, aquest enzim és funcional i dóna lloc a la formació de galactosa-1-fosfat, que s'acumula i no pot ser ulteriorment utilitzada, perquè hi falta la transferasa activa corresponent. Això produeix la inhibició del creixement.

HOFFMANN i INGRAHAM han descrit un altre tipus de mutant sensible al fred que posa de manifest una triptòfano-sintetasa que s'inhibeix reversiblement a baixa temperatura. El fonament bioquímic d'aquesta inactivació reversible no és encara conegut.

Finalment, una mena més important de mutants sensibles al fred és constituïda per aquells que, a baixes temperatures, no poden sintetitzar ribosomes. Van ser descrits per primera vegada, l'any 1969, simultàniament per TAI i INGRAHAM a *Salmonella typhimurium* i per GUTHRIER i NOMURA a *E. coli*. En aquestes soques, hom ha pogut veure que el gen que determina la sensibilitat al fred es veí del de la resistència a l'estreptomicina. La transducció acoblada ha estat aconseguida amb el fag P-22 de *S. typhimurium*. Gairebé la meitat d'aquesta mena de mutants sensibles al fred presenta mutacions veïnes al referit gen i produeix ribosomes incomplets

a baixa temperatura. Poden posar-se de manifest subunitats que sedimenten a 21 S en lloc de les de la soca salvatge que ho fan a 30. Aquestes subunitats de 21 S també representen una petita fracció en el cas de soques paternes que han crescut a baixes temperatures. TRAUB i NOMURA, l'any 1969, van demostrar que aquestes subunitats necessiten una alta energia d'activació per a poder donar lloc a les de 30 S.

L'estudi dels mutants ribosòmics sensibles al fred fa pensar que la determinació genètica de la temperatura mínima del creixement sigui deguda a una supressió dels enllaços hidrofòbics que doni una petita deformació molecular. La mutació pot fer que aquests canvis siguin prou grans perquè l'activitat funcional se'n vegi afectada.

Les proteïnes màs sensibles a petits canvis de conformació són les allostèriques i les que s'utilitzen per a la construcció de petits orgànuls celullars. Els dos principals tipus de mutants sensibles al fred, estan lligats, sens dubte, a la sensibilitat d'aquests dos grups de proteïnes.

EIXAMPLAMENT DE L'INTERVAL DE TEMPERATURES APTES PER AL CREIXEMENT

Els mutants sensibles a la temperatura presenten mecanismes determinats que fixen una temperatura màxima i una temperatura mínima per al creixement. És molt possible que siguin mecanismes de la mateixa mena els que determinen aquest interval de temperatures a les soques salvatges. No obstant això, cal reconèixer que només han estat revelats quan, per l'un extrem o per l'altre, aquest interval es fa més estret.

La recerca deliberada de mutants amb temperatures màximes de creixement superiors a les característiques de la soca salvatge ha estat portada a terme sistemàticament en molt pocs casos, però els resultats són veritablement interessants. Segons sembla, a les enterobacteriàcies no resulta possible obtenir aquesta mena de mutants, la qual cosa fa pensar que caldrien un nombre important de mutacions simultànies.

En el gènere *Bacillus,* hom ha aïllat variants d'algunes soques que tenen una temperatura màxima de creixement la qual s'ha pogut anar incrementant a través de successius subcultius. Contràriament, això no és possible en membres del gèneres *Pseudomonas, Escherichia, Aerobacter, Lactobacillus, Streptococcus, Micobacterium* i *Actinomyces* ni en *Bacillus mascerans.* Sembla que únicament en algunes espècies del gènere *Bacillus* és patent la capacitat d'adaptar-se a créixer a temperatures per sobre de la màxima. Desconeixem si aquesta adaptació és el resultat de selecció de mutants o bé d'un mecanisme de regulació fisiològica. Avui per avui, aquesta última possibilitat sembla la més versemblant. Així FRIEDMAN i WEINSTEIN han trobat ambigüitat de translació depenent de la tempera-

tura en *Bacillus stearothermophilus*. Podem pensar que aquestes cèl·lules bacterianes poden sintetitzar unes proteïnes a la temperatura ordinària diferents de les que es fan a temperatura més elevada. Això pot resultar d'una substitució, o més d'una, d'aminoàcids a l'estructura primària que augmentin l'estabilitat tèrmica de la proteïna. Alternativament també pot postular-se una duplicitat de gens per a unes certes funcions essencials, l'expressió dels quals tindria lloc, respectivament, a baixa i a alta temperatura.

Pel que va referència a la temperatura mínima de creixement, AZUMA ha pogut aïllar mutants psicròfils de *Pseudomonas aeruginosa*, cosa que ha estat reproduïda després per molts altres autors. Mentre que les soques paternes manifesten un interval de temperatures de creixement compreses entre 11 ° i 44 °C, els mutants creixen entre 0 ° i 32 °C. No totes les soques de *P. aeruginosa* poden donar mutants psicròfils i, segons sembla, les soques que les produeixen regularment constitueixen un cas únic dintre el gènere *Pseudomonas*. Cal afegir que hi ha soques psicròfiles en espècies relacionades i que aquesta propietat ha pogut ésser transmesa, per transducció, a soques mesòfiles de *P. aeruginosa*.

EFECTES DE LA TEMPERATURA SOBRE ELS ÀCIDS NUCLEICS

Hom sap que no tan sols les proteïnes són susceptibles de desnaturalització tèrmica. Efectes paral·lels de la temperatura damunt l'ADN i l'ARN són ben coneguts. La temperatura de desnaturaliització de l'ADN depèn de la proporció de guanina i citosina. No obstant això, no hi ha correlació entre aquesta temperatura i la màxima de creixement.

En el cas dels ribosomes sí que la temperatura de desnaturalització tèrmica manifesta correlació amb la temperatura màxima del creixement, com ha exposat MANGIANTINI (1965), i també SAUNDERS i CAMPBELL (1965). És molt versemblant que, per a molts bacteris, l'estabilitat tèrmica dels ribosomes sigui el factor que determina la temperatura màxima del creixement. Això no obstant, cal tenir en compte que l'estabilitat dels ribosomes enfront de la calor depèn, primàriament, de les proteïnes que uneixen les subunitats que els constitueixen.

D'altra part, també és interessant saber que la temperatura pot tenir efecte mutagènic. La velocitat de mutació no canvia amb la temperatura dins l'interval de temperatures aptes per al creixement; però, molt poc per sobre d'elles, es manifesta un clar efecte mutagènic. Això ha estat comprovat en espores de *Bacillus subtilis* sotmeses a tractament tèrmic entre 105 ° i 115 °C.

Conclusió

Espero que, després del que acabo de dir, hom vegi clar que les quatre preguntes que he formulat al començament d'aquesta exposició tenen avui resposta comprensiva. El creixement bacterià exigeix la integració d'una complicada activitat química, integració que sols és possible al llarg d'un marge de temperatures relativament petit. Per sobre i per sota dels extrems d'aquest marge es destrueix un factor estructural imprescindible. Aquest factor estructural és, sens dubte, el ribosoma; però la destrucció o la incapacitat de nova síntesi del ribosoma a alta i a baixa temperatura obeeix a causes diferents i independents.

Hem vist que podem fixar genèticament una estructura proteínica amb una definida estabilitat tèrmica que la mutació a l'atzar té tendència a fer disminuir.

Finalment, hi poden aparèixer factors limitadors del creixement, tant a temperatures inferiors a la màxima com superiors a la mínima, que no estan relacionats amb la desintegració o síntesi de ribosomes, i el mecanisme bioquímic corresponent és ben conegut. Altrament, cal reconèixer que els nostres coneixements són encara molt rudimentaris en relació amb la capacitat d'adaptació dels bacteris a noves temperatures de creixement per sobre i per sota de la màxima i de la mínima.