

## **Tema 33. Reino Moneras. Las Cyanophytas. Las bacterias y su importancia en sanidad, la industria y la investigación básica.**

1º E.S.O. Bloque 3 Tema 7

1º Bach. Biología y Geología. Bloque 5: Clasificación de los organismos.

2º Bach. Biología. Boque 4: Microbiología y tecnología.

### **SUMARIO**

#### **33.1. Moneras. Características generales.**

##### **33.1.1. Técnicas de reconocimiento e identificación de microorganismos (OPCIONAL)**

#### **33.2. Bacterias**

##### **33.2.1. Morfología bacteriana.**

**PARED BACTERIANA**

**CÁPSULA BACTERIANA**

**MEMBRANA PLASMÁTICA**

**RIBOSOMAS**

**REGIÓN DEL NÚCLEO O NUCLEOIDE**

**INCLUSIONES**

**FLAGELOS**

**FIMBRIAS O PILI**

##### **33.2.2. Fisiología bacteriana: nutrición, relación y reproducción**

###### **1. Conjugación**

###### **2. Transducción**

###### **3. Transformación**

##### **33.2.3. Clasificación de las bacterias**

#### **33.3. Cianobacterias o Cianofíceas. Caracteres generales**

#### **33.4. Importancia de las bacterias**

##### **33.4.1. Las bacterias y el cierre del ciclo de la materia**

##### **33.4.2. Algunas enfermedades producidas por bacterias**

##### **33.4.3. Bacterias de interés industrial. Fermentaciones**

##### **33.4.4. Aplicaciones agroalimentarias**

##### **33.4.5. Aplicaciones en la minería e industria (descontaminación)**

##### **33.4.6. Las bacterias en la investigación básica de genética**

### **33.1. Moneras. Características generales.**

Constituyen el grupo de células más primitivas. Su organización es típicamente unicelular y **procariota**. Su carácter más distintivo es el de poseer ADN disperso por el citoplasma, sin estar rodeado de una membrana (aparentemente desprovista de núcleo). También carecen de muchos de los orgánulos celulares. A este grupo pertenecen las cianobacterias, las bacterias y los micoplasmas. Evolutivamente, su origen (3400 millones de años) es anterior al de las células eucariotas.

Recientes estudios genéticos muestran que unos microorganismos anaerobios, incluyendo los productores de metano y las bacterias sulfúreas, están tan alejados del resto de procariontes como lo están de los eucariontes y probablemente representan un reino aparte (Archeobacterias). En este caso los procariontes serían los Moneras y las Archeobacterias

#### **33.1.1. Técnicas de reconocimiento e identificación de microorganismos (OPCIONAL)**

Hay muchos métodos de enfocar el estudio e identificación de los microorganismos, según el tipo de organismos en estudio y de los medios disponibles. Podemos agruparlos en tres grupos: Técnicas clásicas, técnicas numéricas y técnicas genéticas o moleculares.

- Las **técnicas clásicas** constituyen el método utilizado durante más de 100 años:
  - El estudio de las bacterias se realiza mediante cultivos, que consisten en extractos nutritivos estériles, ya sean líquidos o sólidos.  
Los líquidos, preparados en tubos de ensayo debidamente tapados con algodón graso y esterilizados, suelen ser caldo de carne, suero sanguíneo y sangre, enriquecidos con ciertas sustancias sin las cuales no pueden reproducirse (aminoácidos, proteosa-peptona, etc.).  
Los sólidos se obtienen a partir de líquidos mediante la adición de agar-agar o gelatina en caliente, luego se vierten sobre tubos de ensayo inclinados o sobre cajas de Petri; posteriormente se esterilizan, se siembran utilizando el asa de platino y se colocan en la estufa a de cultivo a la  $t^{\circ}$  adecuada que favorezca la multiplicación.  
Cuando una célula se coloca sobre el medio en una placa, comenzará a dividirse. Tras la incubación aparecerá una colonia o clon donde antes sólo había una célula. La superposición de colonias da lugar a un medio confluyente. Las diferentes morfologías que se observan entre las colonias están generalmente bajo control genético.  
Algunas bacterias pueden crecer en medio mínimo que contenga carbono y una fuente de energía (por ejemplo, glucosa), unas cuantas sales inorgánicas y agua. Las bacterias que pueden crecer en tales medios son **prototróficas**. Si debe adicionarse al medio mínimo cualquier otra sustancia orgánica para obtener crecimiento, se dice que la bacteria es **auxotrófica**. Por ejemplo, una cepa que tiene un defecto enzimático en la ruta de producción del aa histidina no crecerá en el medio mínimo será, por tanto, auxotrofa para la histidina.  
  
La técnica de **réplica en placa** (Lederberg), es una técnica de detección que nos permite conocer rápidamente si una bacteria es auxotrófica para un metabolito dado. Se inoculan bacterias en una placa Petri que contenga un medio completo. Aparecerán colonias que adoptarán una determinada posición sobre la placa. Se presiona esta placa con una superficie de terciopelo esterilizado y a continuación esta superficie se utiliza para inocular (con la misma configuración de la placa original) un cierto nº de placas, cada una de ellas con un medio que carece de un metabolito determinado. Si una colonia que crecía en el medio completo, no lo hace en un medio al que le falta un determinado metabolito, se infiere que está formada por bacterias auxotróficas para ese metabolito. El requerimiento nutricional de esta cepa es su fenotipo.  
De manera similar se puede proceder para el estudio de resistencia y sensibilidad a los fármacos, los fagos y a otros ataques ambientales.
  - Mediante microscopía y tinción se observan varias características, principalmente estructurales y morfológicas. En los procariotas los detalles de las estructuras sólo pueden observarse en grandes bacterias y en las cianofíceas. En los más pequeños sólo puede

observarse su forma (cocos, etc.), la tinción (gramm + o -) y la existencia de flagelos. El M. E. Permite observar las diferencias estructurales.

- También pueden conocerse algunas características no morfológicas: composición química de la cápsula, pared celular, pigmentos, inclusiones, productos de reserva, requerimientos nutritivos, fuentes de C, N, S y energía, productos de fermentación, necesidades gaseosas, requerimientos y tolerancia de  $t^{\circ}$  y pH, características inmunológicas, sensibilidad a los antibióticos, patogenicidad, relaciones simbióticas y hábitat.
- La **técnica numérica** tiene en común con la anterior en que se determina sistemáticamente un gran nº de características y, en lugar de reconocer los datos más o menos aleatoriamente, se utiliza un ordenador para comparar todas las características del organismo con las de los otros mediante una base de datos.
- Las **técnicas genéticas o moleculares** se basan en identificar el patrón genético de los microorganismos. Estas técnicas hacen uso de comparaciones, entre el microorganismo investigado y los diferentes microorganismos, de las secuencias de bases del ADN, hibridación del ADN, su capacidad de apareamiento y recombinación genética.

### **33.2. Bacterias**

Forman el grupo más numeroso de los procariotas (1600 especies). Son organismos unicelulares procariotas, cuyo tamaño oscila entre 1-10  $\mu$  adaptadas a vivir en cualquier ambiente, terrestre o acuático, pues en las diferentes estirpes bacterianas pueden observarse todas las formas de nutrición conocidas: **autótrofas** (fotosintéticas y quimiosintéticas) y **heterótrofas** (saprofíticas, simbióticas y parásitas). Esta notable diversidad de funciones convierte a las bacterias en organismos indispensables para el mantenimiento del equilibrio ecológico, ya que, como explicaremos, contribuyen al mantenimiento de los ciclos biogeoquímicos que permiten el reciclaje de la materia en la biosfera.

A pesar de su reducido tamaño, las bacterias pueden considerarse como los organismos más resistentes, ya que pueden sobrevivir a temperaturas de congelación, vivir en aguas termales a elevadas  $t^{\circ}$  y algunas incluso pueden resistir la acción de ácidos en caliente.

#### **33.2.1. Morfología bacteriana.**

La mayoría de las bacterias adoptan formas características, aunque en ocasiones la configuración puede verse influida por las condiciones del medio de cultivo. Como ya se ha dicho son unicelulares, pero también aparecen agrupadas cuando se mantienen unidas tras la bipartición. Entre las formas más frecuentes destacan según Leewenhock (1883):

**Bacilos.** Alargados y cilíndricos, en forma de bastón; a veces se presentan en cadenas lineales o ramificadas.

**Cocos.** Tienen aspecto redondeado, aparecen aislados o en grupos de dos (diplococos), otras veces forman cadenas arrosariadas (estreptococos), grupos arracimados (estafilococos) o masas cúbicas (sarcinas). La diversidad de células depende de que la división de las células se dé a lo largo de uno, dos o tres ejes.

**Espirilos.** Tienen forma espiral o de hélice; las espiroquetas tienen un aspecto similar, pero con la espiral más acusada.

**Vibrios.** De aspecto curvado en forma de coma.

La ultraestructura de las bacterias sólo se puede apreciar con el microscopio electrónico en conjunción con técnicas bioquímicas y citológicas adecuadas (ultracentrifugación, marcaje por isótopos radiactivos, utilización de medios de cultivo diferenciales, etc.). Los componentes estructurales básicos de las bacterias son.

#### **PARED BACTERIANA**

Los componentes fundamentales de la pared son los peptidoglicanos o mureínas, que forman alrededor de la bacteria un retículo delgado y rígido, comprendido entre las dos membranas plasmáticas (interna y externa) que la rodean.

Los peptidoglicanos están formados por un armazón de naturaleza polisacárida, en la que, largas cadenas, originadas por la repetición de unidades alternantes de N-acetilglucosamina (NAG) y ácido N-acetil murámico (NAM), se unen y entretejen mediante enlaces peptídicos establecidos entre los aminoácidos de su corta fracción proteica.

Hace un siglo, el médico danés Christian Gram desarrolló una técnica de tinción, que se sigue empleando, para distinguir dos grandes grupos de bacterias.

La técnica de Gram se basa en el empleo de un colorante básico, el violeta cristal, y de una disolución de yodo. Una vez teñida la muestra se trata con alcohol o acetona: las bacterias grampositivas permanecen coloreadas, mientras que las gramnegativas aparecen decoloradas.

Pared bacteriana	Gramnegativas	Grampositivas
<b>Espesor</b>	100 Å	150-800 Å
<b>Composición</b>	1 o dos capas de mureína	Numerosas capas de mureína unidas, entre sí, por ácidos teicoicos
<b>Membrana lipídica externa</b>	sí	no
<b>Otros aspectos</b>	El periplasma separa la membrana plasmática y la externa. La membrana externa está atravesada por unas proteínas (porinas) que actúan de canales.	La mureína es la responsable de la reacción gram +

La pared mantiene la forma de la bacteria frente a las variaciones de presión osmótica. También actúa como una membrana semipermeable, regulando el paso de los iones. La destrucción de la pared deja inerte a la bacteria.

Los antibióticos **cefalosporinas** y **penicilinas**, inhiben el crecimiento bacteriano porque impiden la formación de peptidoglicanos. La lisozima rompe los enlaces glucosídicos de los peptidoglicanos, provocando la lisis o destrucción de la bacteria.

#### Algunos antibióticos y su mecanismo antibacteriano

ANTIBIÓTICO	ORIGEN MICROBIANO	MODO DE ACCIÓN
Penicilina G	Penicillium chrysogenum	Bloquea la síntesis de la pared celular
Tetraciclina	Streptomyces aureofaciens	Bloquea la síntesis de proteínas
Estreptomicina	Streptomyces griseus	Interfiere con la síntesis de proteínas
Terramicina	Streptomyces rimosus	Bloquea la síntesis de proteínas
Eritromicina	Streptomyces erythraeus	Bloquea la síntesis de proteínas
Bacitracina	Bacillus subtilis	Bloquea la síntesis de la pared celular

#### CÁPSULA BACTERIANA

Aparece en la parte externa de muchas bacterias patógenas. Es una capa gelatinosa cuyo grosor oscila entre 100 y 400 Å. Está formada por glúcidos (glucosa, ácido urónico y acetilglucosamina).

Tiene como función la de regular el intercambio de agua, iones y sustancias nutritivas. Sirve como almacén de alimentos, defensa frente a anticuerpos, bacteriófagos y células fagocíticas. También protege a la bacteria de las desecaciones, ya que contiene mucha agua. Es la que permite la formación de colonias bacterianas.

La presencia de cápsula no es, sin embargo, un carácter específico, ya que determinadas bacterias pueden o no formarla en función de las condiciones del medio de cultivo. A las bacterias capsuladas se les llama formas S, porque cuando crecen en medio sólido (agar) dan lugar a colonias de aspecto liso (smooth, en inglés); en ocasiones pueden mutar espontáneamente y originar formas R, carentes de cápsula, que constituyen colonias de aspecto rugoso (rough, en inglés).

## MEMBRANA PLASMÁTICA

Las bacterias están dotadas de un sistema de doble membrana, similar al de las mitocondrias y los cloroplastos de las células eucariotas; ambas membranas (externa e interna) poseen estructura y funciones diferentes y están unidas entre sí en determinadas regiones (puntos de adherencia). La membrana interna se repliega hacia el protoplasma y origina unas estructuras membranosas (**mesosomas**) y aparecen en formas muy variadas (tubulares, laminares, dendríticas, etc.). En las bacterias fotosintéticas los repliegues membranosos se llaman **tilacoides**, por analogía con los cloroplastos.

Las bacterias tienen una ATP sintetasa en la membrana plasmática, así como una cadena de transporte de electrones, cuyo aceptor final es:

- El oxígeno en las aerobias
- Nitratos, nitritos, sulfitos, sulfatos y compuestos orgánicos en las anaerobias.

Algunas anaerobias estrictas pueden obtener su energía sólo de la glucólisis.

En la superficie de la membrana interna y en los mesosomas se localizan diversos sistemas enzimáticos responsables de importantes funciones celulares, entre las que destacamos.

- Permeabilidad selectiva de sustancias.
- Síntesis de componentes de la membrana, pared y cápsula.
- Fotofosforilación cíclica mediante sus fotosistemas.
- Regulación de la duplicación del ADN mediante la ADNpolimerasa.
- Asimilación del N<sub>2</sub> por parte de las bacterias nitrificantes.

## RIBOSOMAS

Son orgánulos similares a los eucariotas, aunque de menor tamaño (70 S), compuestos por una subunidad de 30 S y otra de 50 S, cada subunidad, a su vez, está compuesta por ARN y proteínas<sup>1</sup>. Se encuentran dispersos por el protoplasma bacteriano, aislados o asociados en cadenas de ARNm (polirribosomas), su función, como es lógico es la de la síntesis de proteínas.

(OPCIONAL) Los antibióticos se han revelado como interesantes a propósito de la biosíntesis de proteínas. Por ejemplo, un antibiótico que bloquee el ribosoma 70S bacteriano sin afectar al 80S humano podría resultar excelente.

La puomicina se une al locus A del ribosoma bacteriano, impidiendo una posterior elongación de la proteína (el descubrimiento de los locus A y P del ribosoma se deben a ella).

La estreptomycin inhibe la iniciación de la biosíntesis de proteínas en bacterias al unirse a la subunidad 30S. Si la iniciación ya ha comenzado, provoca lecturas erróneas de los codones al tener alterada la subunidad 30S.

La tetraciclina bloquea la síntesis porque evita la unión del aminoacil-ARNt al locus A.

El cloranfenicol bloquea la reacción de transferencia del enlace peptídico en la subunidad 50S del ribosoma procariótico, no afecta al eucariótico.

Los antibióticos, no obstante, deben usarse con precaución ya que, aunque no afecten al ribosoma eucariótico, si pueden hacerlo a los ribosomas mitocondriales dado su parecido con los de los procariotas.

## REGIÓN DEL NÚCLEO O NUCLEOIDE

Aunque las bacterias, y los procariotas en general, carecen de núcleo propiamente dicho, separado del citoplasma por la membrana nuclear, en las imágenes obtenidas por el microscopio electrónico aparece una zona interna, menos densa que el protoplasma circundante, que contiene el **cromosoma bacteriano**, formado por una doble hélice de ADN desnudo y circular con superenrollamientos y asociado en parte a los mesosomas.

También puede existir pequeñas cantidades de material genético en forma de pequeñas moléculas de ADN (**plasmidios**). Algunos plasmidios contienen genes que confieren resistencia a los antibióticos.

---

<sup>1</sup> La 30 S tiene: ARN de masa molecular 600.000 y 21 proteínas distintas; la 50 S tiene: dos moléculas de ARN y 34 proteínas.

## INCLUSIONES

En el protoplasma bacteriano se encuentra una gran variedad de granulaciones, que cumplen, en general, la función de depósito de sustancias de reserva, como por ejemplo, granos de volutina (acúmulos de polifosfatos encargados de almacenar grupos fosfato y energía); gotas lipídicas (triglicéridos, ac. polihidroxibutírico); polisacáridos (almidón y glucógeno); azufre, etc.

Una inclusión común es el ácido poli β-hidroxibutírico (PHB), cuyos polímeros están siendo estudiados como sustitutos del plástico, pues tienen una consistencia similar y además son biodegradables.

## FLAGELOS

Son apéndices filiformes de mayor longitud que la bacteria que permiten su locomoción, están formados por una zona basal y el tallo.

El flagelo bacteriano se caracteriza por:

- Es más delgado que los cilios de eucariotas.
- No está envuelto por la membrana plasmática; se considera una estructura extracelular.
- Lo constituye un filamento en espiral, formado por una proteína (flagelina, que se une a un gancho o estructura unciforme (en forma de garfio) que, a su vez, se ancla en la pared bacteriana y la membrana plasmática mediante anillos, proporcionando un movimiento rotacional.

Su nº y disposición es variable; según ésta las bacterias pueden ser: monótricas (un sólo flagelo), lofótricas (varios flagelos en un sólo punto), anfítricas (grupos de flagelos en ambos polos) y perítricas (flagelos rodeando a la bacteria).

## FIMBRIAS O PILI

Son filamentos proteicos huecos, delgados (40 - 80 Å) y rectos, situados en la superficie de determinadas bacterias Gram - y cuya función no está relacionada con la locomoción, sino con la adherencia a los sustratos y el intercambio de fragmentos de ADN de ADN durante la conjugación.

### 33.2.2. Fisiología bacteriana: nutrición, relación y reproducción

## FUNCIONES DE NUTRICIÓN

Las bacterias constituyen el conjunto de los organismos capaces de obtener energía del medio en el que viven por todas las formas de nutrición conocidas: **autótrofas** (fotosintéticas y quimiosintéticas) y **heterótrofas** (saprofíticas, simbióticas y parásitas).

### 1. Bacterias autótrofas

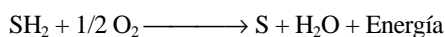
1.1. **Fotosintéticas.** Hay un grupo de bacterias (sulfobacterias verdes y purpúreas) capaces de realizar la fotosíntesis; para lo que disponen de cromatóforos, que contienen un tipo de clorofila (P-890 o bacterioclorofila), asociada a otros pigmentos del fotosistema I.

Como sólo disponen del fotosistema I realizan nada más que la fosforilación cíclica, de manera que los e<sup>-</sup> de los donantes (sulfuros, tiosulfatos, hidrógeno o compuestos orgánicos) se transportan hasta el NADH sin que se libere O<sub>2</sub>, ya que no se da la fotólisis del agua.

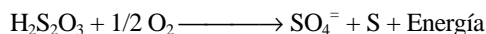
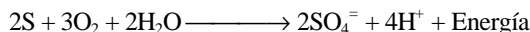
### 1.2. Bacterias quimiosintéticas (quimiolitótrofas)

Obtienen la energía de oxidación de sustratos inorgánicos, que se comportan como dadores de e<sup>-</sup>. A título de ejemplo señalamos

**Bacterias del azufre** (Archeobacterias). Oxidan Azufre o compuestos de azufre. Son aerobias obligadas.







**Bacterias del Nitrógeno.** Oxidan compuestos reducidos de nitrógeno: **Nitrificantes (Nitrosomonas):** Transforman el amoníaco en nitrato. **Nitrificantes (Nitrobacter):** Transforman los nitritos en nitratos.

**Bacterias del Hierro.** Oxidan compuestos ferrosos a férricos.

**Bacterias del Hidrógeno y del Metano (Archeobacterias).** Son quimioautótrofos facultativos, que pueden utilizar hidrógeno molecular y metano como fuentes de  $e^-$ . El hidrógeno se transforma en agua y el metano en dióxido de carbono.

### Asimilación reductora del carbono y del nitrógeno

La energía obtenida de la oxidación de estos sustratos inorgánicos la utilizan para la síntesis de ATP y NADPH o NADH, que después se emplean en reducir la fuente de carbono (ciclo de Calvin) y la del nitrógeno y del azufre.

Para la **asimilación del N**, la mayoría de las bacterias, igual que las plantas, debe reducir los nitratos a nitritos y estos a amoníaco, con el fin de incorporarlo como grupo amino de sus aminoácidos y demás compuestos nitrogenados. Pero existe un grupo de bacterias capaces de reducir directamente el nitrógeno atmosférico y fijarlo como nitrógeno orgánico en sus compuestos nitrogenados; entre ellas las hay de vida libre (*Azotobacter* sp., que vive en los suelos), y otras que viven en simbiosis con las raíces de ciertas plantas (leguminosas), como *Rhizobium* sp. también son capaces de fijar el nitrógeno las cianofíceas, las bacterias fotosintéticas y algunos hongos actinomicetos.

### FUNCIONES DE RELACIÓN

Las bacterias responden a un nº elevado de estímulos ambientales diversos mediante modificaciones de su actividad metabólica o de su comportamiento. Ciertas clases, ante los estímulos adversos del ambiente, provocan la formación de **esporas** de resistencia, que al ser intracelulares, se denominan endosporas. En estas condiciones pueden soportar  $t^\circ$  superiores a los  $80^\circ C$ , sequedad, acción de agentes químicos y radiaciones durante mucho tiempo. Al aparecer de nuevo condiciones propicias, germina y da lugar a bacterias normales (forma vegetativa).

Pero la respuesta más generalizada consiste en movimientos de acercamiento o distanciamiento respecto a la fuente de los estímulos (taxias); éstos pueden ser flagelares, de reptación o flexuosos, etc. Se han comprobado respuestas fototácticas y quimiotácticas.

### FUNCIONES DE REPRODUCCIÓN

Generalmente las bacterias se multiplican por bipartición o división binaria: tras la duplicación del ADN, que está dirigida por la ADN polimerasa de los mesosomas, crece la pared bacteriana hasta formar un tabique transversal separador de las dos nuevas bacterias.

**PARASEXUALIDAD BACTERIANA:** Además de la reproducción asexual, las bacterias poseen también una serie de mecanismos, definidos como parasexuales, mediante los cuales intercambian fragmentos de ADN entre dos razas diferentes; una vez introducido el fragmento de ADN, es generalmente estabilizado al ser incorporado al cromosoma bacteriano. Esta transferencia de información genética de una bacteria a otra puede realizarse de tres formas distintas.

## 1. Conjugación

Se define como el mecanismo parasexual mediante el cual una bacteria donadora transmite, a través de las fimbrias o pili, un fragmento de su ADN a otra bacteria receptora. Las bacterias donadoras son las que

tienen pequeñas cadenas de ADN de doble hélice y circulares (**episomas o factores F**), además del cromosoma bacteriano. El factor F es un **plásmido**<sup>2</sup>, formado casi exclusivamente por círculos de ADN bicatenario de tamaño mucho menor que el cromosoma bacteriano.

Estas bacterias se denominan  $F^+$  cuando el factor F está separado del cromosoma; pero en ocasiones, este factor puede integrarse en el cromosoma, que se abre y se transforma en una cadena lineal, con lo que la bacteria  $F^+$  queda convertida en Hfr (alta frecuencia de recombinación). Las bacterias receptoras, al carecer de episoma, se denominan  $F^-$ .

En las bacterias Hfr el episoma se encuentra inserto en la región terminal. Estas bacterias pueden transferir la totalidad o parte de su ADN cromosómico a través de los pelos  $F^3$  a una bacteria  $F^-$ . La célula donante no pierde su cromosoma, porque sólo se transfiere una de las dos cadenas del ADN bicatenario; la otra cadena es rápidamente replicada, y una de las copias del cromosoma puede trasladarse a una bacteria  $F^-$  (generalmente, sólo pasan fragmentos cromosómicos debido a la fragilidad de los pelos).

Durante la conjugación uno de los factores F de una bacteria  $F^+$  pasa a través de los pelos F a una bacteria  $F^-$ , transformándola en  $F^+$ . La célula donante no pierde su factor F, porque sólo se transfiere una de las dos cadenas del ADN bicatenario; la otra cadena es rápidamente replicada.

Como sólo se transfiere una de las dos cadenas del ADN bicatenario donante desde la célula  $F^+$  o Hfr a la célula  $F^-$ , la replicación del ADN en la célula receptora reconstituye el ADN bicatenario.

Durante un corto período de tiempo, en el proceso de transferencia de una célula Hfr a una  $F^-$ , ésta contiene dos copias de aquellos loci cromosómicos que han sido transferidos: la propia y la que ha recibido; la célula por tanto es parcialmente diploide (merocigoto). El ADN extraño (exogenote) puede incorporarse al genoma del huésped (endogenote) por un nº par de rupturas. El ADN lineal no incorporado es degradado.

También en el proceso de transferencia de una célula Hfr a una  $F^-$ , el factor F con parte del genoma de la célula (factor  $F'$ ) puede abandonar la célula huésped. Este nuevo factor confiere a las células receptoras una alta tasa de integración espontánea en su genoma, integrándose el factor  $F'$  en el mismo punto que ocupaba originariamente en la cepa Hfr. Este factor  $F'$  enriquece el genoma de la célula receptora, además de con el factor F, con otros genes próximos a él. A este proceso se le llama **sexducción**.

Tal y como demostraron F. Jacob y E. Wollman (técnica del apareamiento interrumpido), la transferencia de material genético de la célula donante a la receptora es lineal.

## 2. Transducción

En este caso la transferencia de material genético de una bacteria a otra, se realiza a través de un virus bacteriófago que se comporta como vector intermediario entre dos bacterias.

Antes de la lisis (ver ciclo lítico del bacteriófago en el tema 32), cuando el ADN del fago está siendo empaquetado dentro de la cabeza del fago, puede tener lugar un error ocasional que consiste en la incorporación de ADN bacteriano dentro de la cubierta del fago. Los genes bacterianos pueden ser transferidos a otra bacteria. Hay dos formas de transducción: especializada o restringida y generalizada.

- **Especializada o restringida.** Análoga a la sexducción y depende de que se produzca un error durante el proceso de escisión. Sólo se pueden transferir los loci adyacentes al lugar de inserción del fago.
- Mediante la transducción **Generalizada** se puede transducir cualquier locus. El mecanismo no depende de una escisión errónea, sino de la inclusión aleatoria de un fragmento del cromosoma del huésped dentro de la cubierta del fago. La partícula transductora (fago defectivo con ADN bacteriano en vez de vírico) es inyectada en un nuevo huésped y se incorpora al cromosoma de este último por recombinación.

## 3. Transformación

---

<sup>2</sup>Según Lederberg, son partículas genéticas independientes que se autorreplican.

<sup>3</sup>El factor F contiene los genes para la formación del pelo sexual (en E. coli hay de uno a tres) y para la transferencia del ADN a una célula  $F^-$ .



Consiste en el intercambio genético producido cuando una bacteria es capaz de captar fragmentos de ADN de otra bacteria que se encuentran dispersos en el medio donde vive.

Fue descrita por primera vez por Griffith (1920) y después por Avery, Mcleod y McCarthy (1944), y es responsable de la transformación de cepas bacterianas no virulentas (R) en virulentas (S), cuando se cultivan en medios que contienen los fragmentos bacterianos procedentes de cepas S destruidas previamente con calor.

Para ser capaz de transformar, el ADN extracelular debe tener doble cadena y ser relativamente grande. Para poder ser transformada, una célula debe tener una proteína de superficie (factor de competencia), que se enlaza con el ADN extracelular en una reacción que requiere energía. Cuando el ADN extracelular es introducido en la célula, una de sus cadenas es hidrolizada por una ADNasa intracelular que aparentemente utiliza la energía de la hidrólisis para incorporar la otra cadena no hidrolizada dentro de la célula. La cadena sencilla incorporada se incorpora en el genoma huésped por un entrecruzamiento no recíproco; el ADN de cadena sencilla restante será degradado.

La transformación es un método muy eficaz para cartografiar las bacterias poco eficaces en la transducción (*Bacillus subtilis*).

Estos mecanismos explican la variabilidad que pueden presentar algunas bacterias al habitar junto a otras distintas. Un ejemplo de este proceso es la resistencia a antibióticos que presentan ciertas bacterias patógenas al convivir en el intestino con bacterias simbiotes que resisten bien la acción de estos productos farmacéuticos

### **33.2.3. Clasificación de las bacterias**

El Manual de Bergey de Bacteriología Sistemática es la autoridad reconocida sobre taxonomía bacteriana. El Manual está dividido en cuatro volúmenes. Cada volumen contiene varias secciones y cada sección contienen varios géneros relacionados. Cada volumen contienen lo siguiente:

- Bacterias gram - de importancia médica y comercial
- Bacterias Gram + de importancia médica y comercial
- Bacterias Gram - restantes.
- Actinomicetos filamentosos y bacterias relacionadas.

Esta clasificación de las bacterias es muy compleja. Nosotros nos limitamos a algunos de los phyla más importantes:

**BACTERIAS FERMENTADORAS.** Anaerobias estrictas, extraen la energía necesaria para sus funciones vitales de procesos de fermentación. Entre los géneros más importantes se encuentran *Streptococcus* y *Lactobacillus* (fermentación láctica), *Clostridium*, que puede llevar a cabo distintas fermentaciones (acética, butírica, alcohólica)

**ESPIROQUETAS.** Son bacterias largas, delgadas y de cuerpo ondulante. Disponen de flagelos internos y pueden moverse mediante movimientos de torsión o flexión. Dentro de las espiroquetas está la bacteria mayor que se conoce (*Treponema pallidum* causante de la sífilis humana) que puede alcanzar 500 micras.

**BACTERIAS FIJADORAS DEL NITRÓGENO.** Son bacterias anaerobias Gram negativas y muchas disponen de flagelos. Pueden captar el nitrógeno atmosférico (*Azotobacter* y *Rhizobium*).

**BACTERIAS QUIMIOAUTÓTROFAS.** Son bacterias que forman sus compuestos orgánicos gracias a la energía liberada en reacciones oxidativas de compuestos inorgánicos.

**OMNIBACTERIAS.** Son bacterias anaerobias facultativas, y entre ellas se encuentran las llamadas enterobacterias, por ser frecuentes en los tubos digestivos de los animales. Destacan la *Escherichia*, *Salmonella*, *Klebsiella* y *Vibrio*.

**ACTINOBACTERIAS.** Llamadas antes bacterias-hongo o actinomicetos, por formar filamentos multicelulares parecidos a las hifas de los órganos verdaderos. Muchas actinobacterias son capaces de formar actinosporas (*Mycobacterium*, *Streptomyces* que se usa en la fabricación de estreptomycin y otros antibióticos).

## ARCHEOBACTERIAS.

Las arqueobacterias (ver tema 32, apartado 32.2.2.) habitan en medios de características más extremas como salmueras (halobacterias), aguas termales ácidas (termoacidófilas), profundidades marinas, etc.

Son bastante distintas de las eubacterias:

- Sus membranas celulares son semejantes en estructura, pero carecen de ácidos grasos, sustituidos por mitades de hidrocarburos unidos al glicerol por enlaces éter (-C-O-C-), en lugar de éster.
- Las paredes celulares son variables, pero sus peptidoglucanos son distintos y, si poseen aa, predominan las formas L.
- Poseen extremoenzimas.

Entre ellas están las metanógenas, que viven en pantanos y ciénagas en ausencia de oxígeno y que transforman el CO<sub>2</sub> y el H<sub>2</sub> en metano y agua (se utilizan industrialmente para transformar basuras en combustibles).

Halófilas, que soportan salinidad extrema: *Halobacterium salinarum*

Hipertermofílicas: t<sup>a</sup> > 80 °C; S reducido. *Pyrolobus fumarii* (aislados en volcanes terrestres y submarinos).

Acidófilas. Acidez extrema. *Termoplasma* (sin pared celular), *Sulfolobus* (pH = 2)

Aunque su nombre hace referencia a bacterias antiguas (arcaicas), presentan más semejanzas con eucariotas que con eubacterias.

## MICOPLASMAS

Son las células más pequeñas con vida libre con organización procariótica, generalmente inmóviles que tienen membrana celular, pero carecen de pared celular. Su membrana resiste la lisis osmótica (suelen vivir en un ambiente isotónico). Por su pequeño tamaño (son menores que las bacterias) y su facilidad para deformarse atraviesan fácilmente los filtros que retienen las bacterias. Su genoma es un tercio del bacteriano, poseen ADN bicatenario circular, ARN, ribosomas y diversas proteínas.

Se conocen unas setenta especies de micoplasmas; unos viven en relación de comensalismo en plantas, animales o humanos; otros son parásitos y producen enfermedades. En el hombre se encuentran como comensales en la mucosa oral y urogenital, pero, sin duda, el más conocido y estudiado ha sido el *Mycoplasma pneumoniae*, agente causante de las neumonías, afectando a los epitelios de las mucosas presentes en el aparato respiratorio. Como carecen de pared los antibióticos no son eficaces contra ellos.

RICKETTSIAS (*Rickettsia*, *Chlamydia*).

Son las células más pequeñas que se conocen. Patógenos (tifus, tracoma), todas las especies parásitas intracelulares obligadas. Las enfermedades que provocan han costado más vidas que cualquier otra infección (excepto el paludismo), dado que se transmiten por piojos (tifus), por lo que su contagio se ve favorecido por condiciones de hacinamiento. Se reproducen por bipartición, son inmóviles y poseen una pared celular rígida.

## **33.3. Cianobacterias o Cianofíceas. Caracteres generales**

También se les llama algas verde-azuladas por la posesión, además de clorofila por la posesión además de clorofila a, de otros pigmentos, como ficocianina, de color azulado; la ficoeritrina, de color rojo (el mar Rojo recibe su nombre debido a la abundancia de cianobacterias rojas); o la xantofila, de color amarillento. Realizan la fotosíntesis igual que las algas o las plantas superiores. A ellas se les atribuye el cambio de la atmósfera primitiva (de reductora a oxidante) hace 2000 millones de años. Algunas de ellas son capaces de fijar el nitrógeno del aire. Difieren de las eubacterias fotosintéticas en varios aspectos importantes: su clorofila, como hemos dicho, es la misma que la de las plantas superiores, utilizan el agua como fuente de e- para reducir el CO<sub>2</sub> y desprenden O<sub>2</sub>.

Son unicelulares; a veces pueden formar colonias celulares poco organizadas, de forma filamentosa o laminar, a veces toda la colonia está envuelta por una cápsula mucilaginosa. Tienen una pared celular similar a la de las bacterias Gram - (tienen una capa interna de mureína).

Su citoplasma aparece dividido en dos zonas: una central de aspecto translúcido (**centroplasma**), donde está el ADN; y el resto (**cromoplasma**), donde se localizan los sáculos con los pigmentos

fotosintéticos. Poseen también ribosomas, granos de volutina y vacuolas de gas y carboxisomas (enzimas que fijan el CO<sub>2</sub>).

Su reproducción es exclusivamente asexual por bipartición simple. Una manera de propagarse es la separación de las colonias de conjuntos celulares (**hormogonios**) que tienen cierto movimiento reptante en medio líquido. En las formas coloniales de tipo arrosariado (Nostoc), pueden observarse unas células de mayor tamaño (heterocistes) y que son elementos de resistencia del alga. La fragmentación se realiza por los **heterocistes** y cada segmento forma una nueva colonia.

Este grupo de individuos (más de 2000 especies) se ha adaptado a gran variedad de hábitats, tanto acuáticos como simplemente húmedos. Las hay en el mar y en las aguas dulces; otras son capaces de resistir tª de hasta 90 °C (las que viven en los géiseres). Otras como las del género Gleocapsa son muy abundantes y forman tapices de color verde oscuro sobre el suelo de los charcos durante el invierno. Finalmente, otras forman asociaciones simbióticas con hongos (líquenes) y plantas superiores (Anabaena con el helecho).

### **33.4. Importancia de las bacterias**

El éxito biológico de las bacterias se debe a:

- Al tamaño de sus células.
- A su gran capacidad reproductora y a su tasa mutacional.
- A su capacidad para vivir prácticamente en todos los ambientes.
- A que forman esporas de resistencia ante condiciones adversas, pudiendo permanecer en estado latente durante mucho tiempo.

#### **33.4.1. Las bacterias y el cierre del ciclo de la materia**

Las Bacterias **quimiosintéticas** (en este grupo se incluyen las bacterias del suelo) sintetizan el ATP a partir de la energía que se desprende en las reacciones de oxidación de determinadas sustancias inorgánicas. De esta forma, estas sustancias inorgánicas producto del catabolismo de los seres vivos, se transforman en productos inorgánicos oxidados integrándose en los **ciclos biogeoquímicos** donde, tras la fotosíntesis, se incorporan a los seres vivos en forma de, en la mayoría de los casos, productos orgánicos.

#### **33.4.2. Algunas enfermedades producidas por bacterias**

Excluimos la exposición de las enfermedades venéreas por considerar que deben abordarse en el tema 60.

**Tuberculosis.** (*Mycobacterium tuberculosis*), que, también se le conoce como bacilo de Koch (en honor a su descubridor). Es inmóvil, ácido resistente y aerobio estricto. La bacteria ataca al pulmón (tisis), huesos (mal de Pott), ganglios (escrofula, propia de los niños), meninges (meningitis tuberculosa), o al organismo entero (tuberculosis galopante). Lo más frecuente es la tuberculosis pulmonar o tisis.

El órgano atacado presenta tuberculillos (de ahí el término tuberculosis) amarillentos (bacilos con leucocitos rodeados por células). Se multiplica tanto intracelular como extracelularmente. Una vez instalados en los pulmones, el bacilo atacante comienza a destruir los tejidos, formando las cavernas pulmonares. Si estas se producen junto a alguna arteria importante, esta se rompe (hemoptisis), hemorragia que puede ser mortal. La edad de riesgo oscila entre los 16 y 30 años. Una alimentación deficiente, la falta de higiene, debilidad, etc. favorecen su desarrollo. Las toxinas del bacilo no han sido identificadas; al menos parte de los daños sufridos por el hospedador son resultado de reacciones de hipersensibilidad de tipo retardado. La antiguamente llamada peste blanca, va siendo superada gracias a la estreptomycin, medidas higiénicas y los adelantos sanitarios.

**Difteria.** (*Corynebacterium diphtheriae*). Bacilo Gram +, inmóvil, suele tener forma de maza. Los movimientos que siguen a la escisión dan lugar a la disposición en empalizada característica; anaerobio facultativo. Prolifera, sobre todo, en la garganta de los niños, formando una falsa membrana (pseudomembrana diftérica), que pueden llegar a producirles la muerte por asfixia. Produce una exotoxina que es diseminada por el torrente circulatorio por todo el cuerpo, produciendo intensa fiebre, taquicardia y paralización muscular parcial.

Cerca del 1 % de la población son portadores sanos y constituyen una fuente de contagio. Como éste es directo, el enfermo debe ser aislado, incluso después de curado. Aunque es una enfermedad casi erradicada por las eficaces campañas de vacunación, si se presenta puede combatirse con sueros antidiftéricos.

**Tosferina** (*Bordetella pertussis*), bacilos pequeños, inmóviles, gram negativos. Producen un catarro contagioso, caracterizado por una insistente tos, acompañada por una respiración ruidosa y penosa; puede durar varios meses pero pocas veces es mortal. Puede complicarse con bronquitis y con pulmonía. No se extiende a otras partes del organismo.

**Tétanos.** (*Clostridium tetani*), Gram positivo, esporulado, flagelos peritricos. Anaerobio estricto. produce una toxina (neurotoxina) muy potente, particularmente activa en los centros nerviosos (astas anteriores de la médula) y motores, irritándolos de tal forma que somete a los músculos a intensas y continuas contracciones (tetanización). Cuando la tetanización afecta a los músculos respiratorios puede dar lugar a la asfixia. La contaminación, a través de heridas, entra en el cuerpo por la suciedad o contacto con objetos sucios. El bacilo se encuentra en el suelo, especialmente en los excrementos del ganado equino, ya que el bacilo anida en el intestino de estos animales.

Gracias al suero antitetánico de caballo (Behring, 1890), la enfermedad ha dejado de ser un riesgo grave. Una vez que la toxina ha invadido el organismo la antitoxina es inútil.

**Escarlatinas.** Eruptiva, epidérmica y contagiosa. Su nombre alude al color rojo de la piel del enfermo que la padece. Está causada por estreptococos (*Streptococcus pyogenes*), que penetran por la faringe; Gram positivos, crecen en cadenas.

Liberan una toxina eritrogénica: si el individuo es sensible a la toxina, aparece una erupción cutánea. La erupción se presenta en forma de puntos rojos en frente, mejilla, abdomen y muslos. Es más grave en los adultos que en los niños y puede traer como complicaciones las anginas y la difteria. La posterior difusión por el organismo puede conducir a una mastoiditis, peritonitis, fiebre puerperal, celulitis de la piel o erisipelas. El contagio es directo y en los niños se da la máxima receptividad entre los 2-14 años. El aislamiento debe durar unos 40 días y la desinfección ha de realizarse concienzudamente.

**Fiebre tifoidea.** (*Salmonella typhi*), es un bacilo Gram - con flagelación peritrica, anaerobio facultativo. Se le pueden asociar otras especies de *Salmonellas*, que hacen la enfermedad muy compleja. Por afectar a las vísceras abdominales, se le llama también tifus abdominal. La infección se produce por contaminación fecal. Los organismos primero se multiplican en el tracto intestinal. Se pueden diseminar por todo el cuerpo a través de los conductos linfáticos intestinales. Crece abundantemente en el tracto biliar, a partir del cual se infecta el intestino. La infección puede pasar también a la médula ósea, bazo, vísceras y originar una **septicemia**.

Los síntomas son: fiebre elevada, diarrea continua y una gran postración en el enfermo; grandes ulceraciones de las paredes intestinales, que pueden producir desde hemorragias a peritonitis. La incubación dura dos o tres semanas y el periodo de actividad de cuatro a cinco semanas. La convalecencia es larga y las recaídas frecuentes. La inmunización se logra al vacunarse con bacilos muertos a 60 °C. Se combaten con cloromicetinas.

Otras *Salmonellas* (*S. typhimurium*, *S. schottmüller*, *S. choleraesuis*), son las causantes de las **Fiebres entéricas, Gastroenteritis y Septicemias**. Son también bacilos Gram negativos con flagelación peritrica y anaerobios facultativos. Se contagian también por contaminación fecal; al igual que el tifus, se caracterizan por su amplia diseminación por todo el cuerpo. La fiebre entérica que producen es más benigna que la tifoidea.

**Cólera.** (*Vibrio cholerae*), bacilo curvado, Gram negativo, con flagelo polar y anaerobio facultativo. El microorganismo sólo se multiplica en el intestino delgado. Se transmite por contaminación fecal, siendo un clásico ejemplo de las consecuencias de la falta de saneamiento, en especial con respecto al abastecimiento de agua. Hace un siglo era una enfermedad frecuente en todas las ciudades (pandemia); hoy en día es una enfermedad endémica en la India (cólera asiático), habiendo continuas epidemias en África y Sudamérica.

Su exotoxina actúa sobre las células de la mucosa, produciendo intensas diarreas, profunda postración. Las deposiciones son típicas (deposiciones en agua de arroz). Es una enfermedad grave y su epidemia produce mucha mortalidad.

La *Shigella dysenteriae*, un bacilo Gram negativo, inmóvil y anaerobio facultativo, produce la **Disentería bacilar**, lesionando la parte terminal del íleon y colon, provocando cólicos intestinales, diarreas y fiebre. También se transmite por contaminación fecal.

**Botulismo.** (*Clostridium botulinum*). Bacteria anaerobia y puede prosperar incluso en el interior de las botas de conserva; de ahí las precauciones exigidas a industriales y consumidores.

La toxina botulínica es absorbida en el estómago e intestino. Afecta al complejo neuromuscular, produciendo una parálisis flácida, particularmente en el rostro, ojos y sistema respiratorio. Produce un elevado índice de mortandad (68 %). Los cuatro alimentos en conserva más comúnmente responsables del botulismo son: el maíz, las judías, las acelgas y los espárragos. Los alimentos ácidos o azucarados rara vez causan botulismo.

La **Gangrena gaseosa** (*Clostridium perfringens*, *C. novyi*, *C. septicum*), son bacilos Gram positivos, esporulados con flagelación peritrica. El desarrollo del organismo en heridas anaeróbicas va acompañado por la acumulación de hidrógeno gaseoso originado por la fermentación. Se produce una gran variedad de toxinas solubles, que incluyen una lecitinas (*C. perfringens*).

**Lepra.** (*Mycobacterium leprae* o bacilo de Hansen), cuya forma es idéntica a la del *M. tuberculosis*. No es muy seguro que este sea el único bacilo productor de la lepra. Se contagia por los exudados de los lepromas de los enfermos. La incubación dura varios años. No es hereditaria. Lo desagradable de la enfermedad proviene de la deformación del cuerpo y de la destrucción de los tejidos, con formación de cicatrices. Se cura utilizando aceites de extractos vegetales.

**Meningitis meningocócica** (*Neisseria meningitidis*), es un coco Gram positivo que forma diplococos típicos. Son transportados por las vías respiratorias (nasofaringe), sin que produzcan ni daños ni molestias para más del 25 % de la población, por causas desconocidas. Pueden invadir el torrente circulatorio y entonces se localizan en las meninges de la médula espinal. Se contagia por exhalación.

**Neumonía pneumocócica.** (*Streptococcus pneumoniae*), también es Gram + que forma diplococos típicos. Entre el 40-70 % de la población adulta los lleva en la garganta. Los microorganismos llegan a los pulmones cuando las barreras naturales no funcionan bien (por ejemplo, durante infecciones respiratorias debidas a virus).

La **peste neumónica** (*Yersinia pestis*). Bacilo inmóvil, Gram - y anaerobio facultativo. Es una enfermedad de los roedores domésticos, transmitida al hombre por picadura de pulga, se contagia por exhalación. Aumenta el tamaño de los ganglios linfáticos (bubones), de donde se transmite a todos los órganos, y cuando se infectan los pulmones se hace particularmente contagiosa.

Otras enfermedades bacterianas en el hombre, contagiadas por contacto directo con animales son: el carbunco (*Bacillus anthracis*), Brucelosis o fiebres de Malta (*Brucella melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*); la Tularemia (*Francisella tularensis*), etc.

### **33.4.3. Bacterias de interés industrial. Fermentaciones**

La tecnología microbiana tradicional implica la utilización de microorganismos para fabricar, a gran escala, productos resultantes de su actividad biológica natural. En estos procesos biotecnológicos la tarea fundamental de los microbiólogos es modificar el organismo o el proceso, para obtener el máximo rendimiento.

La ingeniería genética implica la utilización de microorganismos alterados genéticamente mediante la inserción, en ellos, de genes extraños con la información del producto que se desea que produzca. Además este microorganismo puede ser cultivado a gran escala para su explotación comercial.

El tercer sector de las **biotecnologías** (ver temas 46 y 64) es el de los procesos de fermentación, centro de las aplicaciones industriales de la microbiología y la ingeniería genética. Efectivamente, para producir



sustancias útiles en la industria, los microorganismos naturales o portadores de un mensaje genético extraño se cultivan en cubas de fermentación. En los procesos clásicos, se llenan las cubas con un líquido nutritivo y la sustancia que se ha de transformar y se deja que los microorganismos actúen durante algunos días; después se vacían las cubas y los compuestos producidos se concentran y purifican. Estos procedimientos se utilizan para la biosíntesis de antibióticos y vitaminas y para la producción industrial de enzimas usados en la industria del almidón o en la fabricación de levaduras.

Se está extendiendo la llamada **fermentación en continuo**. Consiste en introducir constantemente en la cuba un flujo de sustancias nutritivas y del sustrato que se va a transformar, y extraer de forma regular el producto de la fermentación. Estas operaciones se controlan automáticamente mediante procedimientos informáticos.

Asimismo, en la fermentación en continuo, los microorganismos o los enzimas aislados pueden estar en suspensión en el líquido, englobados en microsferas porosas (técnica del lecho fluido) o inmovilizados sobre un soporte sólido poroso, por cuyos intersticios circula el líquido.

La mejora de las condiciones con miras a incrementar el rendimiento de la fermentación, sea por inmovilización de los enzimas o las células, sea por el reciclaje de los procesos de floculación o centrifugación, constituye un foco de investigación muy activa: la ingeniería enzimática.

### **Producción de etanol**

Con miras a la producción de etanol a partir de celulosa, las investigaciones actuales inciden en la bioconversión de celulosa en glucosa por intervención de unos enzimas especiales (celulasas). Dichos enzimas son fabricados por diversos microorganismos (los hongos *Trichoderma*, *Schizophyllum*; y las bacterias *Thermonospora* y *Clostridium*).

Los microorganismos producen el enzima en los fermentadores. Después, las moléculas del enzima se colocan en otros fermentadores llenos de pasta líquida de celulosa para hidrolizarla. La glucosa así obtenida se convierte en etanol en una tercera serie de fermentadores.

El acoplamiento entre celulasas y levaduras permite utilizar un sólo fermentador para convertir la celulosa en etanol en una sola operación. Para aumentar el rendimiento de esta operación se ha conseguido clonar los genes de las celulasas de hongos o bacterias en un plásmido de *E. coli*.

#### **33.4.4. Aplicaciones agroalimentarias**

De forma tradicional, el campo de las industrias alimentarias ha utilizado microorganismos para la obtención de numerosos productos: derivados de la leche (yogour, queso); productos obtenidos por fermentación alcohólica (vino o cerveza, vinagre, pan, etc.)

Un foco de investigación se centra en la bacteria *Agrobacterium*, que infecta las plantas provocándoles la "agalla del cuello". El gen que confiere el carácter tumoral es portado por un plásmido de la bacteria (plásmido Ti). Este gen se inserta en la planta infectada por lo que es posible prever la transferencia de caracteres ventajosos asociados a este gen. La técnica del plásmido Ti, en la fase actual, sólo es de aplicación en Dicotiledóneas, ya que la bacteria no infecta a las Monocotiledóneas (cereales).

Los japoneses han comercializado un péptido herbicida producido por bacterias del género *Streptomyces*.

La inserción de los **genes nif**, posibilita el aprovechamiento del nitrógeno atmosférico por parte de algunas bacterias y cianobacterias, en el genoma de plantas superiores.

La industria agroalimentaria constituye uno de los campos predilectos de la ingeniería enzimática (el 70 % de los enzimas del mercado son el resultado de este sector industrial). En la actualidad, el mercado se halla muy especializado, tanto en lo referido a los enzimas como en el de las industrias consumidoras. La industria del almidón ( $\alpha$ -amilasa, glucoamilasa y glucosa isomerasa), mientras que el cuajo se emplea especialmente en las industrias lácteas.



La hidrólisis enzimática del almidón se lleva a cabo mediante el *Bacillus licheniformis* (posee una  $\alpha$ -amilasa muy eficaz); la glucosa se transforma en fructosa (glucosa isomerasa) que tiene mayor poder edulcorante. Esta investigación fue consecuencia del encarecimiento del mercado del azúcar en 1974.

El **cuajo** (necesario en las industrias lácteas) es el único enzima de origen animal que se utiliza en gran escala. Se extrae del cuajar de la ternera, permite la coagulación de la leche al hidrolizar específicamente un enlace peptídico de la caseína. Actualmente se puede sustituir por proteasas de *Mucor* sp., de *Endothia* sp., etc. (el 40 % de los quesos de EE. UU. se fabrican con estos enzimas). Recientemente se ha conseguido aislar el gen responsable de la síntesis de la quimosina (uno de los constituyentes del cuajo); la comercialización del enzima fabricado por bacterias recombinantes es ya un hecho.

Producción de aminoácidos (para aditivos). El edulcorante artificial aspartame es un dipéptido de ácido aspártico y fenilalanina (aa que se producen por fermentación). Otros aminoácidos que también se producen son: ácido glutámico, lisina y triptófano. También se producen microbiológicamente varias vitaminas, que incluyen riboflavina, vitamina B<sub>12</sub> y ácido ascórbico (vitamina C).

#### **33.4.5. Aplicaciones en la minería e industria (descontaminación)**

Algunos minerales contienen cantidades apreciables de metales preciosos (oro, plata, platino) o de interés económico (magnesio, molibdeno). Hay ya aplicaciones industriales para el caso de algunos de estos metales; por ejemplo, las aguas de lavado de extracciones mineras ricas en uranio pasan a través de fermentadores que contienen algas unicelulares (*Chlorella*) y bacterias (*Streptomyces*) inmovilizadas sobre soportes porosos. El rendimiento de la recuperación es de un 90 - 100 %.

A partir de bacterias (*E. coli*), por ingeniería genética, se pueden fabricar proteínas animales que quelan los metales (metalotioninas), y que tienen gran afinidad por el oro, la plata o el plomo. El sustrato puede ser el agua de lavado de extracciones mineras o incluso el agua del mar. Esta técnica se sitúa en la frontera entre la valorización de desechos mineros y la descontaminación, en el caso de que los metales fijados por las bacterias sean nocivos (Plomo).

Una aplicación importante es la disminución de la contaminación ocasionada por procesos industriales:

Mediante procesos de fermentación se podría atenuar la contaminación atmosférica causada por fábricas de purificación de cobre; el SO<sub>2</sub> sería transformado en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Así se evitaría la lluvia ácida, importante factor contaminante en los países industrializados.

La utilización sistemática de fermentaciones bacterianas para la descontaminación del medio ambiente está a la orden del día; permitiría eliminar toda clase de factores contaminantes de origen orgánico: desechos urbanos, residuos de industrias agroalimentarias, excrementos, pulpa de madera, paja, etc. Estos desechos podrían transformarse en biogás (CH<sub>4</sub> + CO<sub>2</sub>), o bien servir para la nutrición de microorganismos para la producción de proteína de organismo unicelular (POU), que se utilizan para alimentar el ganado.

#### **33.4.6. Las bacterias en la investigación básica de genética**

Alguno de los hitos más importantes de la moderna biología se han alcanzado usando las bacterias como material biológico experimental. A título de ejemplo señalamos:

**El ADN es la molécula portadora de la información biológica.** La prueba definitiva la aportaron Avery, McLeod y McCarty en 1944, investigaron las transformaciones bacterianas que fueron observadas por Griffith (1928, un neumococo denominado *Diplococcus pneumoniae*). Demostraron experimentalmente que sólo los extractos de bacterias S muertas que contenían ADN eran capaces de infectar.

**Replicación semiconservativa.** Las pruebas experimentales apoyan la validez de este modelo tanto para el cromosoma bacteriano de *E. coli* (experimento de Meselson y Stahl, y de Cairns) como para el de eucariontes (experimento de Taylor).

Cairns (1963) observó la duplicación del ADN de *E. coli* en un medio con timina marcada con tritio ( $H^3$ ). Ratificó la teoría semiconservativa y descubrió la existencia de un punto concreto como origen de la replicación del ADN bacteriano.

**El modelo operón.** El descubrimiento de cómo se controla la síntesis de ARNm se inició a partir del llamado "efecto glucosa" observado por J. Monod (1947). Si a un medio de cultivo bacteriano con *E. coli* y lactosa se añade glucosa, el nivel de la enzima  $\beta$ -galactosidasa disminuye sensiblemente. Posteriormente (años 50), Jacob y Monod, trabajando con *E. coli*, descubrieron que, en experimento anterior, eran tres los enzimas que intervenían. De este hecho se concluye que el sustrato (glucosa) no sólo reprime una enzima, sino todo el conjunto de enzimas que intervienen en una misma vía metabólica. En 1961, Jacob y Monod propusieron un modelo denominado operón que explica cómo se efectúa el control de la biosíntesis proteica

Existen cuatro pasos principales en la mayoría de los trabajos de ingeniería genética:

- 1) Aislar una secuencia de nucleótidos (gen) de interés.
- 2) El segmento se une a un "vector de clonación", como un fago o un plásmido.
- 3) El vector se introduce en una célula huésped (con frecuencia una bacteria) donde se replica muchas veces mediante la técnica de la **clonación**.
- 4) El gen o su producto proteínico se aísla a partir de un clon.

Son dos los **propósitos que se persiguen con la clonación**:

- a) Para obtener grandes cantidades de un segmento para secuenciación de ADN (esto permitiría detectar las diferencias entre un gen normal y otro anormal).
- b) Para producir grandes cantidades de un producto génico (ARN o proteína, producir en grandes cantidades una proteína de una cápsida viral para usarla como vacuna, etc.).

La **ingeniería genética**, por tanto, consiste en modificar el patrimonio hereditario de un organismo introduciendo en su haber genético uno o varios genes pertenecientes a un organismo de una especie distinta. El proceso se puede utilizar tanto con bacterias como con células animales o vegetales.

En el primer caso, el gen extraño no se inserta sobre el cromosoma bacteriano, sino sobre un plásmido (anillo de ADN portador de un mensaje genético). El principio de la reproducción por clonaje consiste en extraer un plásmido de una bacteria y, para facilitar la inserción del ADN en el ADN vector, es conveniente cortar ambos con la misma enzima de restricción (cortan secuencias llamadas palindrómicas dando cortos oligonucleótidos a ambos lados del corte, de modo que uno es complementario del otro). Esto facilita la formación de ADN recombinante. El plásmido, tras la inserción del gen extraño, se vuelve a cerrar mediante otra enzima (ligasa). El plásmido modificado se introduce en la bacteria. Como las bacterias proliferan rápidamente, es posible obtener con este procedimiento numerosos ejemplares del gen en poco tiempo.

Cuando no se conoce la estructura del gen que se busca se puede proceder de dos maneras:

- a) Partiendo de una célula especializada (por ejemplo, la que produce una hormona). Se sabe que contiene muchas moléculas de ARNm necesario para la síntesis de la hormona. Se aíslan unas de estas moléculas y se utiliza el enzima transcriptasa inversa para producir ADN a partir de una hebra de ARNm. Este ADN se denomina copia (ADNc).
- b) Se trata de células en las que se expresan varios genes. Entonces estamos ante diferentes ARNm y otras tantas proteínas correspondientes a ellos. No es posible conocer el ARN responsable de cada proteína, por lo que no es posible utilizar los ARN como sondas, ya que no se podrían relacionar los genes a los que se unieran con una de las proteínas presentes en la célula.

Idéntico problema ocurre cuando la proteína fabricada por la célula es producida en pequeña cantidad; en tal caso, en efecto, es casi imposible detectar o aislar el ARNm responsable de esta microproducción y hacer de él una sola sonda. La solución es construir la sonda a partir de la proteína. Esta técnica se está experimentando en California. Utiliza un aparato llamado secuenciador que analiza los

aminoácidos que componen las proteínas, después reconstruye el ARNm que origina su síntesis. Sólo queda fabricar una sonda en ARNm que permita localizar el ADN del gen implicado en la síntesis de la proteína descifrada.

Hay otro campo en el que los investigadores de Instituto Tecnológico de California están trabajando, el de la síntesis de los genes. Se trata de reconstruir y ensamblar los nucleótidos que los componen. Tal procedimiento tiene la ventaja, frente al del clonaje, que permite modificar la disposición de las bases y con ello mejorar los rendimientos del gen o bien conferirle nuevas posibilidades.

En la mayoría de los casos se utiliza la bacteria *Escherichia coli*; los genes introducidos en su patrimonio hereditario gobiernan la síntesis de proteínas "útiles" para la industria o suponen un avance para la investigación médica o biológica. Para aumentar el rendimiento de la síntesis de proteína deseada se utiliza la técnica denominada de amplificación del gen, que permite obtener de una sola célula hasta tres mil copias del plásmido modificado. La proteína segregada se extrae, concentra y purifica por vía química a medida que se produce.

Los sectores de **aplicación de la biotecnología** son múltiples y variados.

Gracias a la ingeniería genética, y de otras técnicas, se pueden producir a escala industrial sustancias que los organismos vivos sólo sintetizan en cantidades infinitesimales, como el interferón, la hormona del crecimiento humano o ciertos anticuerpos. Pero, al mismo tiempo, la industria farmacéutica produce por fermentación un cierto número de sustancias de acción terapéutica: antibióticos, vitaminas y hormonas desde hace ya varios decenios. Los resultados obtenidos por cepas productoras mejoradas por selección o mutación han multiplicado el rendimiento de la producción por 1000 o por 10.000 desde que, hace medio siglo, se descubrieron los antibióticos.

Otros productos, en particular hormonas humanas, se han sintetizado por el mismo proceso: insulina, hormona del crecimiento, neuropéptidos, etc. La insulina humana es la primera hormona que se consiguió sintetizar por la *E. coli* (1978).

La **insulina** tiene dos cadenas de aminoácidos (el péptido A con 21 y el B con 30). Una vez aisladas, las dos secuencias de nucleótidos se introducen por separado, mediante plásmidos, en dos estirpes diferentes de bacterias, a nivel del operón lac. Éstas proporcionan en muy poco tiempo muchas bacterias portadoras de esos genes. Al añadir lactosa al medio, las bacterias empiezan a sintetizar péptidos A o B. Luego se retiran, purifican y se activan los grupos -SH para que interactúen los dos péptidos y se forme la insulina humana madura. Como el metabolismo bacteriano es muy elevado, esta vía de obtención ha resultado rentable. Además se trata de insulina humana en lugar de la porcina empleada hasta ahora.

La **hormona del crecimiento** es un único polipéptido de 191 aminoácidos. También se ha introducido en bacterias gracias a un plásmido en el lugar regulado por el promotor del operón lac. Se emplea para tratar algunos casos de enanismo. Puede tener gran interés en la producción animal.

El **interferón** (IFN) es una proteína de peso molecular entre 16.000 y 20.000, que contiene una cadena glucosídica. Se aisló en células animales como respuesta a infecciones víricas. Esta sustancia limita e incluso anula los efectos de la infección. Su aplicación ha resultado eficaz en enfermedades víricas (resfriados, hepatitis, herpes, rabia, etc.) y, en aplicaciones prolongadas, disminuye los efectos del cáncer. Se conocen tres tipos de interferones, según el tipo de células a partir de las cuales se extrae. En la actualidad se ha conseguido aislar el ADN responsable del interferón en leucocitos y fibroblastos infectados. Este ADN se ha introducido en colibacilos y, aunque la tasa de obtención es muy baja debido a la inestabilidad de esta molécula, se espera que en el futuro se mejorará el rendimiento.

La ingeniería genética también se aplica en el **tratamiento de algunas enfermedades**. La talasemia (propia de poblaciones humanas de la cuenca mediterránea) es un grupo de enfermedades relacionadas con la falta total o parcial de ARNm de la globina  $\alpha$  o de la globina  $\beta$ , provocando una anemia más o menos grave. Se debe a alteraciones en los genes de las globinas. Su tratamiento consiste en retirar células de la médula ósea del enfermo, mediante una punción, e introducir en ellas el gen correcto y volverlas al torrente sanguíneo para que se implanten de nuevo en la médula ósea.