

Biotecnología

Doralinda Guzmán-de-Peña*

Vol. 48, No. 2
Abril - Junio, 2006
pp. 126 - 130

INTRODUCCIÓN

La biotecnología, de acuerdo a García (2005), en su más estricta definición, es el conjunto de procesos industriales que implican el uso de los sistemas biológicos, es también la aplicación de los principios de la ciencia y la ingeniería al tratamiento de materias por medio de agentes biológicos en la producción de bienes y servicios. Sin embargo, desde el punto de vista científico, es toda técnica que utilice organismos vivos o sustancias de éstos para hacer o modificar un producto, mejorar plantas o animales, incluyendo el desarrollo de microorganismos con atributos especiales para usos determinados. En esta sesión se reportan datos obtenidos en el desarrollo científico sobre diferentes temas de interés. En el campo de las aflatoxinas (compuestos carcinogénicos, teratogénicos) que contaminan al maíz, dado el impacto en la producción agrícola, pecuaria y en la salud humana, se reportan datos sobre la contaminación en campo y almacén y se hace especial énfasis en la legislación que regula la contaminación de alimentos y forrajes por estas micotoxinas en México. En relación a la nutrición de culti-

vos agrícolas, se analiza el significado de la reducción bacteriana de Fe en la nutrición vegetal y se plantea el desarrollo de consorcios microbianos de bacterias ferrirreductoras para mejorar la absorción del hierro y la fijación del nitrógeno en plantas leguminosas. Con respecto a la producción del disacárido trealosa por microorganismos simbióticos y su significancia en la generación de cultivos tolerantes al estrés hídrico, se documenta el papel de la inoculación de las plantas con cepas microbianas eficientes en la producción de trealosa, en la simbiosis *Rhizobium-Phaseolus vulgaris*, bajo condiciones de estrés. De igual manera, la plática sobre la síntesis de los alquilresorcinoles (AR) por bacterias comunes del suelo (*A. vinelandii*) resultó de interés biotecnológico dado el efecto antifúngico, antibacterial y antitumoral de estas sustancias. A continuación se presenta de manera más detallada información relevante sobre cada uno de estos temas

García Noguera, Noelia. 2005. Aspectos legales de la Biotecnología
<http://www.portaley.com/biotecnologia/bio8.shtml>. Acceso abril, 2006

Las aflatoxinas en Maíz: Desde la contaminación en campo hasta la Legislación en México

Doralinda Guzmán de Peña

Departamento de Biotecnología y Bioquímica. Campus Irapuato. CINVESTAV-IPN
Km 9.6 Libramiento Norte Irapuato-León. 36500 Irapuato, Guanajuato, México.
4626239648. dguzman@ira.cinverstav.mx

Las aflatoxinas son un grupo de metabolitos secundarios producidos por *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*, cuando estos hongos crecen en diversos cereales. De las cinco aflatoxinas existentes, la más importante es la B₁ debido a su capacidad carcinogénica y mutagénica. Además,

su presencia en alimentos para humanos y animales está correlacionada con cáncer hepático y muerte, i.e. en el 2005 en Kenia se reportaron 125 individuos muertos por ingestión de alimento contaminado con aflatoxina (Lan-yasunya et al., 2005); y con supresión del sistema inmune y baja eficiencia terminal en la producción pecuaria (Task Force Report, 2003). El maíz se contamina tanto en campo como en almacén y los factores determinantes para la síntesis de AFB₁ en ambas circunstancias son: temperatura 28 °C, humedad relativa de 85%, contenido de humedad del

* Departamento de Biotecnología y Bioquímica. Campus Irapuato. CINVESTAV-IPN, Irapuato, Guanajuato, México.

grano (18%) y presencia de insectos, como los gusanos barrenadores del maíz que son portadores de las esporas de los hongos. La contaminación del maíz con aflatoxinas es muy importante para México debido a que: 1. es el país donde el maíz es utilizado principalmente para consumo humano, como tortilla: i.e. 325 g de tortilla /día/ per cápita y 2. importa alrededor de 6 millones de toneladas de maíz al año. Existen datos oficiales de que en 1984 fueron importadas 576,250 toneladas de maíz amarillo calidad US2 con 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de AFB_1 . Es muy importante mencionar que la técnica más antigua (5,000 años) utilizada en México para transformar el maíz en tortilla es la nixtamalización. Se ha demostrado, por diferentes autores (Guzmán-de-Peña, et al. 1995) que la nixtamalización destruye del 95 al 100% de las aflatoxinas en maíz naturalmente contaminado por estas sustancias. Utilizando pollos de 8 días de edad se ha demostrado que 50 gramos de masa conteniendo 3.6 μg de AFB_1 al día durante 8 días no causa ni pérdida de peso ni muerte en los animales. Por el contrario, 50 g de masa conteniendo 30 μg de AFB_1 por día durante 8 días causa la muerte de los animales así tratados. Existen datos que ilustran que la ingestión de concentraciones bajas de AFB_1 durante largo tiempo puede causar cáncer de intestino, de piel y otras reacciones tóxicas. De ahí que lo ideal sería utilizar maíz para consumo humano con un máximo de 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de AFB_1 tal como se ha establecido en la Unión Europea para diferentes alimentos. Es importante mencionar que los análisis de harina de nixtamal obtenida por procesos industriales de nixtamalización y comercializadas en la zona metropolitana de Guadalajara, indicaron que la concentración más alta de AFB_1 fue de 16.9 y la más baja de 1.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Estos datos sugieren que la nixtamalización es una técnica que deberá ser tomada en cuenta dentro del paquete tecnológico para resolver la contaminación por aflatoxinas.

Los datos obtenidos sobre la contaminación de maíz por AFB_1 en campo ilustran claramente que existen regiones en donde la concentración de AFB_1 es alta, por ejemplo en varios municipios de Tamaulipas en 1989 hubo maíz con concentraciones de 125 μg de AFB_1/kg ; también existen regiones como el Bajío Guanajuatense donde la concentración de estos contaminantes es baja, ya sea por infestación natural o por infestación artificial con un hongo toxigénico muy estable. La concentración más alta fue de 8.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en la infestación natural evaluada en tres genotipos diferentes y la artificial de 24.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Estas mismas diferencias se observan cuando el maíz está almacenado, así, regiones de baja humedad relativa y temperatura son las más favorables para mantener bajos niveles de contaminación. Estos datos serán útiles para establecer un paquete tecnológico integral, desde el campo, durante el almacenamiento y transformación del maíz, para el control de la contaminación por AFB_1 . Además, deberán ser incluidas todas aquellas medidas legales que aseguren el cumplimiento de la norma en maíz nacional e importado, permitiendo así, la reglamentación y vigilancia, de la contaminación del maíz para consumo humano.

REFERENCIAS

1. Guzmán-de-Peña, D., Trudel, L., Wogan G.N. 1995. Corn "nixtamalización" and the fate of radiolabelled aflatoxin B1 in the tortilla making process. Bull. Environ Contam Toxicol 55:858-864.
2. Lanyasunya, T.P., Wamae L.W., Musa, H.H., Olowofeso, O., Lokwaleput, I.K. 2005. The risk of mycotoxins contamination of dairy feed and milk on smallholder dairy farms in Kenya. Pak. J. Nutrition 4:162-169.
3. Task Force Report 139. 2003. Mycotoxins: Risks in plants, animal, and human systems. Council for Agricultural Science and Technology. Pp 1-199.

Contribución de la reducción bacteriana de Fe a la nutrición vegetal, perspectivas biotecnológicas

Eduardo Valencia Cantero

Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
Edificio B1 C.U. Morelia, Michoacán. Cp. 58030 vcantero@umich.mx

La insolubilidad extrema del Fe(III) hace que su deficiencia sea la más extendida entre los micronutrientes en plantas y una de las más difíciles de corregir. Esta deficiencia se acrecienta exponencialmente conforme aumenta el pH del suelo.

Las plantas han desarrollado mecanismos de adaptación que movilizan el Fe hacia la rizosfera (Römheld 1987), los cuales se han dividido en dos estrategias. I) Presente en la mayoría de las plantas superiores, incluye un aumento en la reducción Fe(III) a Fe(II) en la superficie de

la raíz por una ferricoquelato reductasa, enzima que se inactiva a pH alcalino, siendo éste el paso limitante para la adquisición de Fe por la planta. II) Presente en gramíneas, consiste en la liberación de fitosideróforos que quelan Fe(III) con alta afinidad, y un sistema de captación de estos; es un sistema altamente específico que no reconoce moléculas sintéticas o sideróforos bacterianos y no es sensible a pH del suelo (Römheld 1987). Así mismo, se ha demostrado que los microorganismos desempeñan un papel central en la obtención de Fe en diversas plantas (Masalha et al., 2000) manteniendo un suministro continuo de Fe suficiente para solventar las necesidades de la planta por medio de la síntesis de sideróforos bacterianos. Además, en el suelo existen bacterias ferrirreductoras, que reducen Fe(III) a Fe(II) de forma desasimilatoria como parte de su metabolismo fermentativo, una hipótesis complementaria es que estas bacterias contribuyen de forma importante al suministro de Fe de la planta al aumentar su concentración en la rizosfera (Duarte Sotelo et al. 2004). Nuestros estudios muestran una mayor proporción de bacterias ferrirreductoras en la rizosfera de plantas con estrategia I vs plantas con estrategia II, sugiriendo que las primeras estimulan a poblaciones de bacterias ferrirreductoras, mientras que las plantas con estrategia II no lo hacen. Experimentos realizados en frijol y alfalfa (Leguminosas, estrategias I) muestran que éstas incrementan su contenido de Fe y clorofila, cuando son inoculadas con las cepas bacterianas ferrirreductoras *Bacillus megaterium* UMVC1, *Arthrobacter agilis* UMCV2, y *Stenotrophomonas maltophilia* UMCV3 y UMCV4.

Por otro lado es un hecho conocido que en México se han invertido grandes esfuerzos para incrementar la eficiencia en la fijación de nitrógeno en plantas de frijol mediante la inoculación con cepas elite de *Rhizobium*, sin embargo un análisis retrospectivo de 46 experimentos de

inoculación en campo realizados entre 1977 y 1991 muestra que en menos del 50% de los casos se logró igualar el suministro de nitrógeno a la planta que tuvieron los respectivos controles fertilizados con N (Castellanos et al, 1995), mostrándose la ineficacia global de estas inoculaciones. Estos experimentos fueron realizados en suelos con pH neutro o alcalino, suelos que cubren más de la mitad del territorio nacional. Dado que i) el Fe es fuertemente demandado por muchas leguminosas, ii) que estas plantas suelen ser cultivadas en suelos neutros y alcalinos, iii) que frecuentemente reciben inoculantes para incrementar la fijación simbiótica de nitrógeno, y que iv) la disponibilidad de Fe para la planta es un factor limitante para la fijación simbiótica de nitrógeno; nuestros resultados abren como perspectivas biotecnológicas atractivas el desarrollo de consorcios bacterianos que pueden ser incorporados exitosamente a inoculantes ya aplicados, con el doble objetivo de incrementar la absorción de Fe y la fijación simbiótica de nitrógeno.

Agradezco a Claudia Duarte-Sotelo, Crisanto Velásquez-Becerra y Erasto Hernández-Calderón cuyos resultados sustentan este trabajo y al fondo SEP-Conacyt por el apoyo económico a este trabajo por medio del proyecto 42899.

REFERENCIAS

1. Castellanos-Ramos J, Peña-Cabrales J J y Rojas-Martínez I. 1993. Análisis retrospectivo del uso de inoculantes con cepas elite en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Turrialba 43:89-99.
2. Duarte-Sotelo C, Farías-Rodríguez R, Salgado-Garciglia R y Valencia-Cantero E. (2005). Estudio preliminar de la capacidad de reducción del Fe en aislados bacterianos rizosféricos de plantas con estrategias I y II para la obtención de Fe. Ciencia Nicolaíta 39:109-118.
3. Römheld V. 1987. Different strategies for iron acquisition in higher plants. *Physiol. Plantarum* 70:231-234.

Consideraciones biotecnológicas de la producción de trealosa por microorganismos

Josué Altamirano-Hernández, Juan José Peña-Cabrales

Departamento de Biotecnología y Bioquímica. CINVESTAV-Unidad Irapuato. Km 9.6 Libramiento Norte Irapuato-León. 36500 Irapuato, Guanajuato. 4626239642.
jpena@ira.cinvestav.mx

La trealosa se ha utilizado en la industria para la conservación de alimentos, medicinas y cosméticos, y en criogenia de esperma y óvulos de diferentes mamíferos incluyendo al ser humano. En la agricultura el principal enfoque ha sido la generación de cultivos tolerantes a de-

secación y estrés osmótico a través de plantas transgénicas (tabaco, arroz, algodón, trigo) que expresan los genes de biosíntesis de trealosa provenientes de levadura o *E. coli*, principalmente (Valliyodan y Nguyen, 2006). Dadas las restricciones legislativas para la liberación de transgéné-

cos en campo y la falta de aceptación de este tipo de productos en el mercado, se requieren de enfoques a corto y mediano plazo que nos permitan el aprovechamiento de esta peculiar molécula.

Bajo estas consideraciones, nuestro grupo de trabajo ha desarrollado estrategias para la utilización del disacárido. Por ejemplo, en la producción de inoculantes microbianos para la agricultura, se reporta que hasta un 90% de las células inoculadas al suelo y/o semillas mueren en las primeras horas debido principalmente a la desecación. En este sentido, una alternativa viable económicamente, es la inducción de la síntesis de trealosa por los microorganismos del inoculante *per se* durante su elaboración mediante tratamiento osmótico favoreciendo así su sobrevivencia.

En las diversas simbiosis planta-microorganismo (hongos y bacterias), se han reportado altos contenidos de trealosa, principalmente producto del metabolismo microbiano. Así, en la simbiosis *Rhizobium*-leguminosas se ha demostrado una mayor tolerancia a la sequía en plantas de frijol noduladas en comparación a plantas fertilizadas carentes de nódulos (Fariás-Rodríguez, 1998), así como una

mayor actividad del complejo nitrogenasa bajo condiciones de sequía (Jiménez-Zacarías, 2004).

Desde el punto de vista biotecnológico, nuestros resultados sugieren que la identificación y selección de pares microorganismo-planta, eficientes en la acumulación de trealosa, representa una estrategia viable para la generación de cultivos tolerantes a la sequía, así como en mejores atributos simbióticos (fijación biológica de nitrógeno, control biológico, etc.) bajo condiciones de estrés (sequía).

REFERENCIAS

1. Fariás-Rodríguez, R., Mellor, R.B., Arias, C., Peña-Cabriales, J.J. (1998) The accumulation of trehalose in nodules of several cultivars of common bean (*Phaseolus vulgaris*) and its correlation with resistance to drought stress. *Physiologia Plantarum*. 102:352-359.
2. Jiménez-Zacarías, J.J., Altamirano-Hernández, J., Peña-Cabriales, J.J. (2004) Nitrogenase activity and trehalose content of nodules of drought-stressed common beans infected with effective (Fix+) and ineffective (Fix-) rhizobia. *Soil Biology and Biochemistry*. 36:1975-1981.
3. Valliyodan, B., Nguyen, H.T. (2006) Understanding regulatory networks and engineering for enhanced drought tolerance in plants. *Current Opinion in Plant Biology*. 9: 189-195.

La síntesis de alquilresorcinoles y su papel en la formación de quistes en *Azotobacter vinelandii*

Guadalupe Espín, Soledad Moreno, Daniel Segura y Yanet Moreno

Departamento de Microbiología Molecular, Instituto de Biotecnología, UNAM. Av. Universidad 2001. Cuernavaca, Morelos.
espin@ibt.unam.mx

Los alquilresorcinoles (AR) son lípidos fenólicos de interés biotecnológico muy comunes en plantas y hongos y raros en bacterias (Kosubek 1999). *A. vinelandii* es una de las pocas bacterias que sintetiza AR. Se desconocen las vías de síntesis de estos lípidos fenólicos tanto en plantas como en bacterias. En este trabajo se reporta la identificación en *A. vinelandii* de los genes *arsABC* que codifican para proteínas con identidad a policétido sintasas y que son esenciales para la síntesis de AR.

MATERIAL Y MÉTODOS.

La mutagénesis al azar con el transposón Tn5 se llevó a cabo como se describe en (Segura y Espin 1998). La cuantificación de AR se llevó a cabo como se describe en (Segura et al 2003)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con el objetivo de identificar genes cuyos productos participan en la síntesis de AR en *A. vinelandii*, se cons-

truyó un banco de 2000 mutantes con el transposón Tn5. La producción de AR de estas mutantes se determinó por tinción con el colorante Fast-blue (el cual reacciona con el grupo órcinol para dar un color rojizo). Cuatro mutantes OV7, OV8, OV10 y OV11 que permanecen blancas después de la tinción fueron identificadas. Ensayos de cuantificación de AR confirmaron la incapacidad de estas mutantes para producir AR. La clonación y secuenciación de los genes interrumpidos por el Tn5 en las mutantes OV8 y OV11, reveló un gene de 8 kb que llamamos *arsA*, cuyo producto tiene identidad con policétido sintasas tipo I (PKS I). Inmediatamente río abajo de *arsA*, identificamos otros dos genes *arsBC* que codifican para policétido sintasas tipo III. La proteína ArsA contiene cuatro dominios con identidad a proteínas presentes en sintasas de ácidos grasos: ceto sintasa KS, acil-transferasa AT, proteína acarreadora de acilos ACP y cetoreductasa KR. De acuerdo a las funciones catalíticas que desem-

peñan PKS tipo I y tipo III en otros organismos, proponemos que en *A. vinelandii* el producto del gene *arsA* sintetiza la cadena lipídica y las chalcona sintetasas codificadas por los genes *arsBC* podrían participar en la síntesis del grupo orcinol.

Implicaciones biotecnológicas

Los resultados de este estudio contribuyen al conocimiento y utilización de nuevas actividades enzimáticas para la producción de compuestos de interés biotecnológico como los AR. Estos lípidos fenólicos tienen una gran variedad de usos como antifúngicos, antisépticos y antitumorales. Estos resultados también contribuirán a la identificación de las vías para las síntesis de lípidos fenólicos en otros organismos como las plantas.

REFERENCIAS

1. Kosubek A. 1999. Resorcinolic lipids, the natural non-isoprenol phenolic amphiphiles and their biological activity. Chemical reviews 199.3-25.
2. Segura D and Espin G 1998. Mutational inactivation of a gene homologous to *Escherichia coli* ptsP affects polyhydroxybutyrate accumulation and nitrogen fixation in *Azotobacter vinelandii*. J. Bacteriol 180:4790-4798.
3. Segura, D., Cruz, T., and Espín, G. 2003. Encystment and alkylresorcinol production by *Azotobacter vinelandii* strains impaired in poly- β -hydroxybutyrate synthesis. Arch of Microbiol. 179:437-443.

Correspondencia:

Doralinda Guzmán-de-Peña
Departamento de Biotecnología, Unidad Irapuato.
CINVESTAV-IPN, Km 9.6 Libramiento Norte
Ira-León, Irapuato Gto. 36500.
Tel: 4626239648; Fax 462 6245996.
dguzman@ira.cinvestav.mx