



AVANCE Y PERSPECTIVA

Órgano de difusión del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del I.P.N.

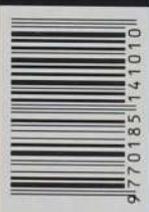
Volumen 21

Septiembre-octubre de 2002

México ISSN 0185-1411

\$ 25 pesos

Tres décadas de
biotecnología y
bioingeniería en
el Cinvestav



2nd

Latin American School of High Energy Physics

San Miguel Regla, Mexico

June 1-14, 2003



Scientific Programme

Standard Model and Field Theory, Ronald KLEISS, Nijmegen U.
QCD, Benjamin GRINSTEIN, U. California San Diego
Beyond the Standard Model, Chris QUIGG, Fermilab
Heavy Ions at the LHC, Jurgen SCHUKRAFT, CERN
Neutrinos, Pilar HERNÁNDEZ, U. C. Madrid
Flavour Physics, Belén GAVELA, U. A. Madrid
Astrophysics, Carlos FRENK, U. Durham
Instrumentation, Jurgen ENGELFRIED, U. A. San Luis Potosí
Trigger/DAQ, Nick ELLIS, CERN
Heavy Ions Physics, Ulrich HEINZ, Ohio S. U.
The Auger Project, Gustavo MEDINA TANCO, U. Sao Paulo

Discussion Leaders

Gabriel López, Cinvestav
Alejandro Ayala, UNAM
Helio Nogima, Unicamp
Diego Harari, U. Buenos Aires
Marta Losada, U. A. Nariño
Ramon Méndez-Galain, U. R. Montevideo

Local Organizing Committee

Alberto Sánchez-Hernández, Cinvestav, Chair
Guillermo Contreras, Cinvestav-Mérida Co-chair
Heriberto Castilla, Cinvestav
Arturo Fernández, BUAP
Arturo Menchaca, UNAM
Myriam Mondragón, UNAM
Luis M. Montaña, Cinvestav
Lukas Nellen, UNAM
Miguel A. Pérez, Cinvestav
Julián Félix, IFUG
Luis M. Villaseñor, UMSNH

International Scientific Committee

Alvaro de Rújula, CERN
John Ellis, CERN
Nick Ellis, CERN
Carlos García Canal, U. Nal. La Plata
Marcelo Guzzo, Unicamp
Egil Lillestøl, CERN & U. Bergen, Schools Director
John March-Russell, CERN
Luis Masperi, CLAF
Alberto Sánchez-Hernández, Cinvestav
Arnulfo Zepeda, Cinvestav

Enquiries and correspondence

Danielle Metral
Organizing Secretary
Schools of Physics
CERN
CH-1211 GENEVA 23
Switzerland

E-mail: Danielle.Metral@cern.ch

Organized jointly by CERN, CLAF, CONACyT and DPF-MPS

<http://PhysicSchool.web.cern.ch/PhysicSchool/LatAmSchool/2003/>
Deadline for applications: December 15, 2002



Centro de Investigación
y de Estudios Avanzados del IPN
CINVESTAV

AVANCE Y PERSPECTIVA

SUMARIO

Volumen 21

septiembre-octubre de 2002

XXX Aniversario del Departamento de Biotecnología y Bioingeniería

DIRECTOR GENERAL
Adolfo Martínez Palomo
SECRETARIO ACADÉMICO
René Asomoza
SECRETARIO DE PLANEACIÓN
Marco Antonio Meráz
SECRETARIO ADMINISTRATIVO
Mario Alberto Osorio Alarcón

AVANCE Y PERSPECTIVA

DIRECTOR EDITORIAL
Miguel Ángel Pérez Angón
EDITORIA ASOCIADA
Gloria Novoa de Vitagliano
COORDINACIÓN EDITORIAL
Martha Aldape de Navarro
DISEÑO Y CUIDADO DE LA EDICIÓN
Rosario Morales Alvarez
FOTOGRAFÍA
Carlos Villavicencio
Sección Fotografía
del CINVESTAV
CAPTURA
Josefina Miranda López
Maria Eugenia López Rivera
Maria Gabriela Reyna López

CONSEJO EDITORIAL

J. Víctor Calderón Salinas
BIOQUÍMICA
Luis Capurro Filograsso
UNIDAD MERIDA
Marcelino Cerejido
FISIOLOGÍA
María de Ibarrola Nicolín
INVESTIGACIONES EDUCATIVAS
Eugenio Frixione
BIOLOGÍA CELULAR
Jesus González
UNIDAD QUERÉTARO
Luis Herrera Estrella
UNIDAD Irapuato
Luis Moreno Armella
MATEMÁTICA EDUCATIVA
Angeles Paz Sandoval
QUÍMICA
Gabino Torres Vega
FÍSICA

Correo electrónico:

avance@mail.cinvestav.mx

Tel. y Fax: 5747 37 46

Consulte nuestra página de Internet:
<http://www.cinvestav.mx/publicaciones>

- 259 *Tres décadas de investigación y posgrado*
F. Thalasso
- 263 *Impacto de la biotecnología agrícola en cultivos: el caso de las micorrizas*
B. Xoconostle Cázares y R. Ruiz Medrano
- 267 *Proteínas con afinidad a celulosa: una herramienta en biotecnología*
T. Mejía Castillo, F. Mújica Lengua, A. González Robles y J. Ortega López
- 273 *Celulasas y xilanasas en la industria*
T. Ponce Noyola y O. Pérez Avalos
- 279 *Enzimas con aplicación industrial*
Ma. del C. Montes Horcasitas e I. Magaña Plaza
- 283 *Comunicación intercelular a larga distancia vía el floema en plantas*
R. Ruiz Medrano
- 291 *Guerra entre insectos y microorganismos: una estrategia natural para el control de plagas*
A. Asaff Torres, Y. Reyes Vidal, V.E. López y López y M. de la Torre
- 297 *Papel ecológico de la flora rizosférica en fitorremediación*
J. Pérez Vargas, G. García Esquivel y F. Esparza García
- 301 *Biotecnología microalgal*
R.O. Cañizares Villanueva
- 307 *Plantas como biorreactores para la producción de biomoléculas y remoción de xenobióticos*
G. Calva-Calva, F. Esparza García, J. Pérez Vargas, V.M. Martínez Juárez, S. Silva Cervantes y C. López Sánchez
- 313 *Aplicaciones biotecnológicas de la microencapsulación*
J. Yáñez Fernández, J.A. Salazar Montoya, L. Chairés Martínez, J. Jiménez Hernández, M. Márquez Robles y E.G. Ramos Ramírez.
- 321 *Deshidratación osmótica: alternativa para conservación de frutas tropicales*
P. Genina Soto
- 325 *Biofiltración: tratamiento biológico de aire contaminado*
F. Thalasso y R. Pineda Olmedo
- 328 *Actividad microbiana en suelos*
M.L. Luna Guído, C. Vega Jarquin, M.O. Franco Hernández, S. Vásquez Murrieta, N. Trujillo Tapia, E. Ramírez Fuentes y L. Dendooven
- 333 *Sistemas de tratamiento de aguas residuales por aplicación al suelo*
D. Alvarez Bernal, S.M. Contreras Ramos y H.M. Poggi Valardo
- 341 *Modelado de procesos biológicos mediante técnicas de inteligencia artificial*
J. Barrera Cortés

Portada: Imagen fluorescente de tallo de maíz en colores falsos. En verde se observa el ARN mensajero de una proteína (ID1) que induce floración.

Foto: Roberto García Medrano.

Avance y Perspectiva, órgano de difusión del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, CINVESTAV, es una publicación bimestral. El número correspondiente a septiembre-octubre de 2002, volumen 21, se terminó de imprimir en agosto de 2002. El tiraje consta de 8,000 ejemplares. **Editor responsable:** Miguel Ángel Pérez Angón. Oficinas: Av. IPN No. 2508 esquina calzada Ticomán, apartado postal 14-740, 07000, México, D.F. Certificados de licitud del título No. 1728 y de contenido No. 1001 otorgados por la Comisión Calificadora de Publicaciones y Revistas Ilustradas de la Secretaría de Gobernación. Reserva de Título No. 577-85 otorgado por la Dirección General del Derecho de Autor de la Secretaría de Educación Pública. Publicación periódica: Registro No. PP09-0071, características 220221122, otorgado por el Servicio Postal Mexicano. **Negativos, impresión y encuadernación:** COMRAMSON, S.A. de C.V., Plaza Buena Vista No. 2 Desp. 209, 210 Col. Guerrero, México, D.F. *Avance y Perspectiva* publica artículos de divulgación y notas sobre avances científicos y tecnológicos. Los artículos firmados son responsabilidad de los autores. Las instrucciones para los autores que deseen enviar contribuciones para su publicación aparecen en el número enero-febrero del 2002 página 44. Se autoriza la reproducción parcial o total del material publicado en *Avance y Perspectiva*, siempre que se cite la fuente. *Avance y Perspectiva* se distribuye en forma gratuita a los miembros de la comunidad del CINVESTAV y a las instituciones de educación superior. Suscripción personal por un año: \$ 150.00

XXXV CONGRESO NACIONAL de la Sociedad Matemática Mexicana

6 - 11 de octubre, 2002

UNIVERSIDAD JUÁREZ DEL ESTADO DE DURANGO

- CONFERENCIAS PLENARIAS
- PONENCIAS DE INVESTIGACIÓN Y DIVULGACIÓN
EN DIVERSAS ÁREAS DE LA MATEMÁTICA
- CURSOS PARA PROFESORES DE ENSEÑANZA BÁSICA,
MEDIA, MEDIA SUPERIOR Y SUPERIOR
- SESIONES ESPECIALES
- DIFUSIÓN DE POSGRADO
- REPORTE DE TESIS
- ACTIVIDADES CULTURALES

Tres décadas de investigación y posgrado

Frédéric Thalasso

Los inicios: una visión justa para una larga historia

En 1972, el Dr. Guillermo Massieu Helguera, director general del Cinvestav encomendó al Dr. Carlos Casas Campillo, distinguido profesor de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN (ENCB), la creación de un Departamento de Biotecnología. El Dr. Casas Campillo, para definir el campo de acción del futuro departamento, consideró que la "Biotecnología es un campo del conocimiento dirigido hacia la producción de bienes y servicios mediante la utilización de sistemas biológicos o de sus productos". Esta definición no era nueva. En 1919, Karl Ereky, un ingeniero húngaro, había ya definido el término de biotecnología como "Todos los métodos utilizados para convertir materia prima en bienes y servicios utilizando en alguna etapa organismos vivos o sus productos". El planteamiento inicial del Dr. Casas Campillo fue no obstante pionero en varios aspectos. El aspecto más importante es que consideró desde el inicio que el futuro departamento debía integrar los diferentes aspectos de la bioingeniería para racionalizar los procesos biológicos de producción con los conocimientos básicos de la ingeniería. Este planteamiento multidisciplinario de la biotecnología fue innovador no solamente en México sino en América Latina y dio nacimiento al primer grupo de investigación y docencia en biotecnología y bioingeniería del país. El planteamiento inicial del Dr. Casas Campillo se basó también de manera exhaustiva en las necesidades del país, incluidas en el Plan Nacional de Ciencia y Tecnología e identificadas en un estudio

El Dr. Frédéric Thalasso es investigador titular y jefe del Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del Cinvestav. Dirección electrónica: thalasso@mail.cinvestav.mx.



Dr. Carlos Casas Campillo (1917-1995), fundador del Departamento, Premio Nacional de Ciencias y Artes 1973.

llevado a efecto por el Instituto Nacional de la Investigación Científica (INIC), o definidas como prioritarias después de una prospección nacional e internacional que llevó a cabo el mismo Dr. Casas Campillo¹.

Después de una clara definición del campo de acción del futuro departamento y de su conformación multidisciplinaria, el Dr. Casas Campillo invitó a participar en su proyecto al siguiente personal: Dr. Ignacio Magaña Plaza, enzimólogo; Ing. Próspero Genina Soto, ingeniero de procesos; Ing. Sergio Larrea Reynoso, ingeniero en alimentos; e Ing. Hiram Medrano Roldán, ingeniero bioquímico. El 2 de mayo de 1972 los fundadores del Departamento se reunieron por primera vez en un laboratorio facilitado por el Departamento de Química y el 15 de mayo de ese mismo año el Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del Cinvestav fue oficialmente creado.

En 1973 se incorporaron cinco profesores más, fortaleciendo el Departamento en ingeniería bioquímica,

ingeniería química y microbiología; se creó el programa de maestría en ciencias en la especialidad de biotecnología con cuatro opciones: alimentos, fermentaciones, ecología y enzimas. En este periodo la principal limitante del departamento era combinar trabajos de docencia e investigación en una superficie de 129 m² prestada por el Departamento de Química. El Dr. Magaña comentaba que en aquel entonces tres profesores debían tumarse para ocupar la única silla disponible y que desarrollaron sus primeras investigaciones utilizando exclusivamente una incubadora recuperada y un agitador orbital descompuesto. Afortunadamente, en 1974 se inició la construcción de un nuevo edificio que quedó concluido a mediados de 1976, fecha en la cual el departamento pudo desarrollarse en condiciones adecuadas.

Dos aspectos importantes de los inicios del Departamento de Biotecnología y Bioingeniería deben ser subrayados. En primera instancia, cabe mencionar que la creación de este departamento coincidió con la verdadera revolución biotecnológica mundial: durante la década de los años setenta la biotecnología pasó de la simple utilización de organismos vivos a la modificación genética de esos organismos con fines medicinales, agrícolas o industriales (1973 se considera como el año de los inicios de la ingeniería genética). Es en esta época que se deben buscar las raíces de la biotecnología moderna que representa actualmente en los EUA 430,000 empleos y un mercado de 46,000 millones de dólares². La creación del Departamento de Biotecnología y Bioingeniería fue por lo tanto una obra visionaria y estratégica. Otro aspecto importante de los inicios del departamento es el rápido reconocimiento que obtuvieron sus creadores, con el Premio de la Industria Químico Farmacéutica que recibió el Dr. Magaña Plaza en 1972 y el Premio Nacional de Ciencias y Artes que recibió el Dr. Casas Campillo en 1973.

En un principio, los objetivos del departamento fueron enfocados hacia el desarrollo de nuevos procesos biotecnológicos para el aprovechamiento de recursos agrícolas u otras fuentes de carbono disponibles al nivel nacional para lograr el apoyo alimentario de poblaciones marginadas. Así, fueron prioritarios proyectos como la producción de proteínas unicelulares a partir de metanol o de celulosa, la extracción y concentración de proteínas vegetales a partir de plantas nativas y la producción de esteroides. Durante este periodo se desarrollaron también actividades en biotecnología ambiental tal como la

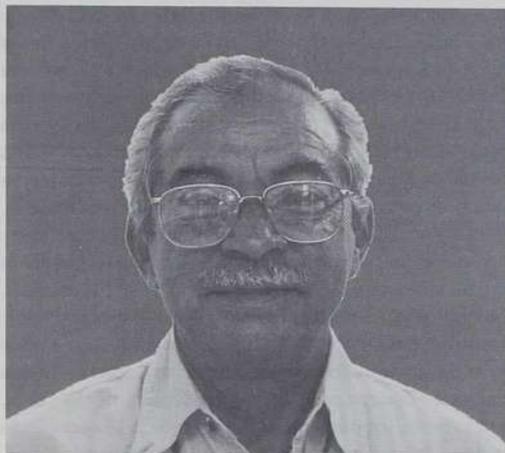
ecología microbiana de suelos contaminados o la digestión anaerobia de residuos.

Segundo período: desarrollo tecnológico

Con un crecimiento moderado pero constante, el departamento diversificó sus actividades. En 1980, el departamento contaba con 20 académicos repartidos en cinco áreas; alimentos, fermentaciones, ecología, enzimas y bioingeniería. Esa década fue marcada principalmente por el impulso de las actividades de desarrollo tecnológico del departamento, de acuerdo con la política científica y tecnológica del país. El desarrollo de tecnologías de aprovechamiento de residuos agrícolas para la producción de alimentos no convencionales siguió siendo un tema prioritario y, en especial, el desarrollo de la producción piloto de proteínas unicelulares. Cabe mencionar que en este aspecto el departamento llegó a tomar un nivel preponderante en el medio internacional. Es en este tema que, por ejemplo, la Dra. Mayra de la Torre, el Ing. Luis Bernardo Flores y el Dr. Eduardo Gutiérrez obtuvieron en 1987 el Premio Nacional de Investigación en Alimentos en la especialidad de bioingeniería y que en 1988 la Dra. Mayra de la Torre obtuvo el Premio Nacional de Ciencias y Artes y el Premio Manuel Noriega de la OEA. Durante esa época las actividades en biotecnología ambiental del departamento también recibieron un impulso importante bajo la iniciativa del maestro Vicente López Mercado, quien participó de manera muy significativa en el desarrollo de las tecnologías de depuración de aguas mediante lagunas y lodos activados. En cuanto a las actividades docentes, la década de los 80 fue marcada por la creación del programa de doctorado en ciencias con especialidad en biotecnología que se presentó a las autoridades académicas en 1987.

Tercer período: un giro importante

La década de los 90 fue marcada en 1994 por el fallecimiento del Dr. Casas Campillo. En su memoria y en reconocimiento al impulso que dio a la biotecnología mexicana, la Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería creó en 1996 el premio "Carlos Casas Campillo" que distingue cada dos años a los más



Dr. Ignacio Magaña Plaza (1937-2002), co-fundador del departamento, promotor de la biocatálisis en México y Presidente de la Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería 1992-1994.

sobresalientes jóvenes biotecnólogos del país. Durante esta década el trabajo del departamento manifestó un importante impulso y dio un giro espectacular: la política científica del país cambió radicalmente. El desarrollo tecnológico, que era prioritario, cedió el lugar a un espíritu de excelencia y productividad científica y académica. El departamento pudo adaptarse progresivamente gracias al esfuerzo de sus miembros y a la contratación de siete jóvenes investigadores que vinieron a fortalecer las líneas de investigación en los campos de la genética, de la biología molecular y de la biotecnología ambiental. Así, el departamento tomó no solamente un giro importante en cuanto a sus objetivos, sino también en una reorientación hacia ciencias más básicas como son la biología molecular y la genética. Un indicador significativo de esta reorientación es el premio Carlos Casas Campillo que recibió en 2000 la Dra. Beatriz Xoconostle, recién incorporada al departamento, por sus trabajos en el campo de la biología molecular de plantas.

Hoy y mañana: preparándose para nuevos retos

En la actualidad el Departamento de Biotecnología y Bioingeniería, después de 30 años de existencia, ha llegado

a la edad madura. Con el impulso de sus miembros y bajo la jefatura sucesiva de los doctores Carlos Casas Campillo, Fernando Esparza García y Mayra de la Torre Martínez, el embrión que cobró vida en 129 m² prestados, creció de manera muy significativa. Tenemos en la actualidad 2000 m² de laboratorios y oficinas en los cuales se cultiva un sinnúmero de especialidades. Nuestra planta académica está constituida por 17 investigadores titulares, 3 investigadores adjuntos y 5 investigadores auxiliares. Las cuatro áreas de investigación dieron lugar a tres líneas de investigación: Biología molecular y biocatálisis, Biotecnología ambiental y Bioprocesos y bioproductos. Cada una de estas líneas está integrada por varios investigadores y cada uno desarrolla varios proyectos con enfoques básicos o aplicados. El departamento cubre, por lo tanto, los principales aspectos de la biotecnología y de la bioingeniería moderna y sigue siendo indiscutiblemente multidisciplinario, tal como lo quiso su fundador. Nuestro principal logro lo constituye, sin ninguna duda, los 184 estudiantes de maestría y doctorado formados a lo largo de esos años y que a su vez forman nuevas generaciones en las principales universidades del país. El relevo está asegurado: nuestro departamento cuenta en la actualidad con 102 estudiantes de maestría y doctorado que se forman en un ambiente multidisciplinario y se integran de manera activa a los grupos de investigación del departamento.

Los objetivos actuales del departamento son acercarse más al ideal de excelencia académica en los campos prioritarios de la agricultura, la salud y el medio ambiente, campos en los cuales la biotecnología puede generar riqueza y bienestar. Nuestro reto es no solamente crear nuevos conocimientos de frontera sino también responder a demandas específicas del sector productivo y de la sociedad. La recién aprobada ley de ciencia y tecnología indica claramente las prioridades que nuestro departamento debe considerar para integrarse de manera armoniosa en esta nueva política de desarrollo. En su artículo 2, esta ley indica que la base de una política nacional de investigación es "Promover el desarrollo y la vinculación de la ciencia básica y la innovación tecnológica asociadas a la actualización y mejoramiento de la calidad de la educación y la expansión de las fronteras del conocimiento, así como convertir a la ciencia y la tecnología en un elemento fundamental de la cultura general de la sociedad". Nuestro primer reto es por lo tanto asociar de manera constructiva investigación básica y desarrollo tecnológico. Nuestro departamento tiene esta capacidad, por haber atravesado la década de los 80 en

la cual el desarrollo tecnológico era prioritario, y la década de los 90 en la cual la excelencia científica era exclusiva. La multidisciplinariedad es nuestra especialidad. Nuestro segundo reto es asegurar una educación de calidad. La pertenencia de nuestros programas de maestría y doctorado al Padrón de Excelencia del CONACyT, la constante actualización de nuestros programas, así como una intensa y cercana colaboración con las principales instituciones del país, nos permiten ver el futuro con optimismo y esperar de los investigadores que hemos formado una contribución significativa al desarrollo científico del país. Finalmente, nuestro tercer reto es contribuir en el esfuerzo de divulgación de la ciencia y la tecnología para integrarlos a la cultura general de nuestra sociedad. También en este aspecto nuestro departamento está decidido a seguir jugando un papel clave.

30 años parece poco tiempo, pero significa mucho. Lo que es historia reciente para algunos es prehistoria para nosotros. Entre el café que compartieron los cinco primeros investigadores del departamento aquella mañana del 2 de mayo de 1972 y los pequeños o grandes logros que nuestra comunidad alcanza cada día, la biotecnología pasó de ser anécdota y se convirtió en uno de los pilares de la sociedad. Con orgullo participamos modestamente en este esfuerzo y estamos agradecidos con todos, maestros, estudiantes, auxiliares, técnicos y asistentes que nos acompañaron en este largo recorrido.

En los siguientes capítulos de este número especial de *Avance y Perspectiva*, que conmemora el trigésimo aniversario de la fundación del Departamento de Biotecnología y Bioingeniería, se expone en forma resumida el trabajo de investigación de los profesores del departamento y de sus grupos de trabajo. Los autores dedican el presente número a la memoria del Dr. Ignacio Magaña Plaza, cofundador del departamento, quien después de una larga y destacada carrera falleció el 9 de mayo del 2002.



Notas

1. C. Casas Campillo, Departamento de Biotecnología y Bioingeniería, Informe de la jefatura (1980).
2. J. Ernst y A. Young, *The economic contributions of the biotechnology industry to the U.S. economy* (Biotechnology Ind. Org., 2000).

Impacto de la biotecnología agrícola en cultivos: el caso de las micorrizas

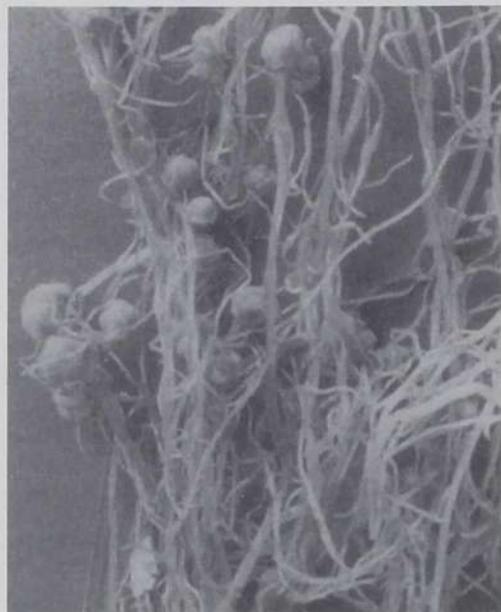
**Beatriz Xoconostle Cázares y
Roberto Ruiz Medrano**

La biotecnología agrícola es una disciplina cuyo objetivo es aumentar la productividad, reducir costos de producción y aumentar la calidad de los alimentos utilizando estrategias ecológicas. Considerando que la biotecnología sustentable debería ser una tecnología ecológica, diversos grupos han caracterizado extensivamente a la microflora presente en suelos agrícolas que favorece el crecimiento de la planta y la protegen de parásitos y enfermedades. El uso de la microflora en nuestros cultivos favorecería a la conservación de ecosistemas, la diversidad, al productor y a los consumidores.

Breve historia

La biotecnología vegetal tiene una historia interesante y extraordinariamente antigua. Desde que el hombre dejó la caza y la recolección y se hizo sedentario, inició la selección y el mejoramiento de especies vegetales importantes para su alimentación. Los antiguos pobladores mesoamericanos hicieron una gran contribución a la lista de especies mejoradas, entre las que destacan maíz, frijol, chile, jitomate, papa y calabaza. El proceso de selección artificial fue descrito por Mendel y no fue sino hasta principios del siglo XX cuando se obtuvieron de manera sistemática variedades con cualidades superiores. A esta historia siguió la mecanización y utilización de fertilizantes y plaguicidas, continuada por la revolución verde, que permitió un aumento sustancial de la producción. Como toda actividad humana, la agricultura ha incidido involuntariamente en el deterioro del ambiente

Los autores son investigadores titulares del Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del Cinvestav.



y la diversidad vegetal; sin embargo, ha atenuado importantes hambrunas. En la actualidad estamos presenciando una nueva revolución con el desarrollo de herramientas que nos permiten obtener variedades mejoradas en tiempos cortos; esta estrategia es la calumniada ingeniería genética. Esta especialidad de la biotecnología agrícola tiene como objeto aumentar la productividad, reducir costos de producción y mejorar la calidad de los alimentos. Asimismo, pretende realizar estos ambiciosos objetivos utilizando estrategias ecológicas, donde se usen menos sustancias de origen químico. La utilización de estas plantas es diversa; a la fecha se tienen variedades con mejores características agronómicas, mayor calidad proteica, que producen hidrocarburos, provitamina A o vacunas, por citar algunos ejemplos.

A pesar de las ventajas en el uso de esta metodología, diversos foros de consulta y discusiones de especialistas han concluido que deberán usarse junto con buenas prácticas agropecuarias que fomenten la sustentabilidad de los recursos biológicos del planeta¹. ¿Cuáles son entonces estas prácticas que aseguren buenas cosechas y minimicen el impacto ecológico? Trataremos de describir algunas de ellas.

Biotecnología sustentable

Un manejo integrado de un cultivo contempla el uso de prácticas culturales eficientes, en las que se ha erradicado la roza y quema y se ha seleccionado la planta a cultivar en función de las características del suelo y las demandas de agua y nutrientes del cultivar. Asimismo, se contempla el uso de material adecuado de la región para garantizar el crecimiento de la planta con el consiguiente control de las plagas y enfermedades². Considerando que la biotecnología sustentable debería ser una tecnología ecológica, diversos grupos han caracterizado extensivamente a la microflora presente en suelos agrícolas. De estos estudios conocemos el papel de microorganismos simbiotes que tienen nichos ecológicos en el ecosistema del cultivo y que inciden favorablemente en el crecimiento de la planta y la protegen de parásitos y enfermedades.

Microorganismos simbiotes de plantas

La raíz de las plantas forma asociaciones simbióticas mutualistas con dos microorganismos: bacterias fijadoras de nitrógeno (sólo plantas leguminosas) y hongos micorrízicos. En esta compleja interacción, la planta, la bacteria y el hongo interactúan en equilibrio. Extensos estudios han documentado que la asociación mutualista micorrízica da como resultado plantas con crecimiento más vigoroso, que requieren menos fertilizantes y plaguicidas³. Esta asociación es extraordinariamente exitosa en la naturaleza, pues se puede encontrar en el 83% de plantas dicotiledóneas, 79% de monocotiledóneas y en todas las gimnospermas⁴. Desde el punto de vista ecológico, la micorriza promueve el equilibrio del ecosistema, ya que participa en mecanismos de transferencia de nutrientes⁵. Los hongos micorrízicos son cosmopolitas y promueven el crecimiento de las plantas a las que se asocian.

Hongos micorrízicos

Las micorrizas son asociaciones simbióticas establecidas entre las hifas de un hongo y las raíces de una planta. Esta asociación provee de grandes beneficios a la planta: físicamente se puede considerar que el hongo es una

extensión de la raíz, con lo que se mejora la búsqueda y absorción de agua y sales minerales. Se ha observado también que las plantas micorrizadas muestran mayor resistencia al ataque por patógenos y depredadores. Existen evidencias fósiles de la presencia de micorizas en el periodo devónico, mismo en el que ocurrió la colonización de la tierra por las plantas; una hipótesis sugiere que la colonización fue posible por la presencia de hifas de hongos que amortiguaron las condiciones de estrés hídrico que impone el medio terrestre. Las micorizas arbusculares son simbioses obligados, ya que no pueden ser cultivadas en ausencia de la planta huésped. Las ectomicorizas son simbioses y poseen un estado saprofito; sin embargo, regulan su crecimiento cuando están asociadas a la raíz del huésped⁶.

Beneficios de las plantas micorrizadas

Considerando que el hongo micorrízico es una extensión de la raíz, se tiene una mejor absorción de agua y minerales; es esta la ventaja más distintiva de las plantas micorrizadas. Entre los minerales de mayor movilización hacia la planta se encuentra el fósforo. Otra característica sobresaliente es la menor incidencia de enfermedades en las raíces: se sugiere que ocurre gracias a un fenómeno de competencia del hongo micorrízico que ya ha colonizado a la raíz. La tolerancia a estrés hídrico ha sido también ampliamente documentada. Diversas especies de hongos han evolucionado mecanismos de tolerancia que son compartidos con la planta; sólo cabe señalar que diversas plantas del desierto poseen raíces micorrizadas. De particular interés es el uso de micorizas en plántulas que van a ser enraizadas en tierra, donde la sobrevivencia es significativamente mayor. El crecimiento de estas plántulas es mayor que las plantas control que han crecido sin el hongo⁷.

Beneficios para el agricultor

Las características de la simbiosis repercuten en beneficios para el agricultor: los cultivos necesitan menor adición de fertilizantes ya que se aprovechan mejor los nutrientes del suelo; en promedio se reduce la adición de fertilizante en 25% y de fósforo en 50%. La reducción del uso de fungicidas y bactericidas es también importante,

considerando que la planta es menos susceptible a infecciones. En cuanto a la calidad y cantidad de flores o frutos, ésta es mayor, ya que la planta ha tenido una inducción en su crecimiento.

Problemas en la utilización de las micorizas

A pesar de la importancia de esta asociación, no todas las plantas están micorrizadas. La principal causa es la rotación de cultivos que disminuye la cantidad de inoculo compatible con el nuevo cultivo. Otra causa puede ser la introducción de hongos comerciales no nativos que están en desventaja competitiva con el resto de microorganismos del suelo. Para solucionar estos problemas es necesario realizar la identificación de cepas nativas particulares de cada cultivo, sea éste hortaliza, planta de ornato, árbol frutal o de reforestación. En adición, la disponibilidad de inoculante es limitada y costosa debido a que el hongo micorrízico depende de la planta para su crecimiento. La investigación básica podría proveer de nuevas herramientas para producir inoculantes en mayor cantidad, con adecuados controles de calidad y con mayor capacidad infectiva y de colonización.

Estudios básicos en la relación micorrízica

Se ha observado que en la relación planta-microorganismo existe una coordinación en la expresión de marcadores genéticos que son comunes a ambos simbioses; sin embargo, se desconoce la manera en que se coordina la expresión de tal manera que algunos genes de la planta se apaguen y se enciendan los equivalentes en el hongo. Será fascinante la identificación de los mecanismos moleculares que gobiernan esta coordinación en la expresión genética. Por otro lado, es importante realizar estudios de diversidad, así como de las relaciones ecológicas de los microorganismos que forman las simbiosis en la raíz.

Nos esperan tiempos en los que la biotecnología sustentable, como una tecnología amigable al medio, impacte significativamente nuestra agricultura. Depende de nosotros y el futuro está a la vuelta de la esquina. 

Notas

1. R. B. Flavell, *Trends in Biotechnology* **13**, 313 (1995).
2. B. Zechendorf, *Biotechnology* **12**, 870 (1999).
3. F. Hernández-Acosta *et al.*, *Avances de la investigación micorrizica en México* (Univ. Veracruzana, Xalapa, 1998).
4. H.E. Wilcox, en *The plant root, the hidden half*, Y. Waisely U. Kafkafi, eds. (M. Dekker, Nueva York, 1991).
5. www.ffp.csiro.au/research/mycorrhiza/htm
6. F. Buscot *et al.*, *FEMS Microbiology Reviews* **24**, 601 (2000).
7. V. Wiemken y T. Bolle, *Current Opinion in Plant Biology* **10**, 1 (2002).



Proteínas con afinidad a celulosa: una herramienta en biotecnología

Teresa Mejía Castillo, Fidel Mújica Lengua, Arturo González Robles y Jaime Ortega López

El polisacárido natural más abundante

La celulosa es un polisacárido lineal formado por residuos de glucosa unidos por enlaces beta 1-4. Estas cadenas lineales de celulosa interaccionan entre sí por medio de enlaces de puentes de hidrógeno dando lugar a la formación de microfibrillas con regiones altamente ordenadas que le dan las características de insolubilidad, rigidez y resistencia al ataque enzimático y que se conocen como regiones cristalinas. Cuando a lo largo del haz de cadenas se rompen los puentes de hidrógeno se forman regiones denominadas amorfas, que permiten su hidratación y mejor accesibilidad al ataque enzimático.

La celulosa es uno de los materiales más utilizados por el hombre desde tiempos remotos y en la actualidad se encuentra comercialmente disponible en una gran variedad de presentaciones, siendo el papel una de las más conocidas. Se estima que al año se sintetizan 180 billones de toneladas de celulosa principalmente por las plantas¹, por lo que constituye una de las reservas de energía renovable más abundante en la naturaleza. Por varias décadas los esfuerzos de muchos investigadores se han concentrado en buscar alternativas para el uso de este polisacárido como materia prima para obtener glucosa, mediante su hidrólisis, que al utilizarla como sustrato en la industria de fermentaciones permitiría obtener una gama amplia de productos; entre ellos etanol para su uso como combustible.

El Dr. Jaime Ortega López es investigador titular del Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del Cinvestav, La M. en C. Teresa Mejía Castillo es estudiante de doctorado de este departamento. El Dr. Arturo González Robles es investigador del Departamento de Patología Experimental del Cinvestav y el M. en C. Fidel Mújica Lengua es profesor de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho, Perú.

A pesar de los avances logrados en el conocimiento de la hidrólisis enzimática de la celulosa, los procesos desarrollados hasta la fecha para aprovechar este polisacárido natural aún no tienen la rentabilidad necesaria para explotarlos comercialmente². Sin embargo, al igual que otras investigaciones, al estudiar las enzimas que utilizan los hongos y bacterias para degradar la celulosa (celulasas) se ha observado que las propiedades de estas enzimas han encontrado aplicación en las industrias de los detergentes, la papelera, textil y alimenticia. La hidrólisis de celulosa es más compleja de lo que se creía; por ello es necesario continuar estudiando los sistemas enzimáticos de los microorganismos capaces de hidrolizar de manera eficiente la celulosa e identificar y caracterizar funcional y estructuralmente sus enzimas para conocer con mayor detalle el o los mecanismos enzimáticos involucrados en la utilización de la celulosa. La meta es poder mejorar los procesos ya existentes, o bien encontrar nuevas aplicaciones.

Microorganismos celulolíticos

Existe un gran número de microorganismos celulolíticos, principalmente hongos y bacterias. Las celulasas de hongos se encuentran disponibles en el mercado. Sin embargo, se ha encontrado un gran número de especies bacterianas cuyas enzimas poseen características similares y en muchos casos han demostrado superar las propiedades de las de origen fúngico. Entre las bacterias celulolíticas aerobias, el género *Cellulomonas* produce una amplia variedad de glucanasas y tiene la capacidad de degradar varios carbohidratos, como xilana, almidón y celulosa³.

Los microorganismos capaces de degradar celulosa secretan un sistema complejo de enzimas extracelulares, celulasas y xilanasas, que actúan sinérgicamente en la degradación de celulosa y hemicelulosa⁴. Las fibras de celulosa son degradadas esencialmente por dos tipos de sistemas enzimáticos llamados agregativos y no agregativos⁵.

Sistemas agregativos. En las bacterias anaerobias *C. thermocellum* y *C. cellulovorans* se ha demostrado que las enzimas que participan en la degradación de celulosa y hemicelulosa se encuentran localizadas en la superficie de estas bacterias formando complejos multienzimáticos de alto peso molecular. El sistema agregativo más



ampliamente descrito es el de *C. thermocellum*. Este complejo, conocido como "celulosoma" comprende al menos 14 polipéptidos distintos, incluyendo varias celulasas y xilanasas y al menos una β -glucosidasa, acoplados a una proteína de andamiaje de 210 kDa sin actividad enzimática que participa en el reconocimiento de las fibras de celulosa a la superficie de la célula. La proteína de andamiaje, llamada proteína de unión a celulosa (CbpA: *cellulose binding protein A*), contiene múltiples dominios funcionales: un péptido señal, un dominio de unión a celulosa (CBD), un dominio hidrofílico presente en cuatro ocasiones y un dominio hidrofóbico repetido en nueve⁶. Cuando las enzimas se disocian de la CbpA son capaces de hidrolizar formas amorfas de celulosa pero no formas cristalinas del polisacárido⁷.

Sistemas no agregativos. Estos sistemas no agregativos están compuestos principalmente por tres tipos de enzimas: (i) β -1,4-endoglucanasas (EC 3.2.1.4), las cuales se unen en las porciones amorfas de las fibras de celulosa y rompen los enlaces β -1,4 glucosídicos incrementando la disponibilidad de los extremos no reductores de las fibras de celulosa; (ii) celobiohidrolasas (β -1,4-glucan celobiohidrolasas EC 3.2.1.91), las cuales liberan unidades de

celobiosa a partir de los extremos no reductores de la celulosa; y (iii) β -glucosidasas (EC 3.2.1.21), que hidrolizan las unidades de celobiosa en monómeros de glucosa. Estos tres tipos de enzimas actúan en forma cooperativa en la degradación de la celulosa⁸.

Se ha planteado que las enzimas esenciales para la degradación de celulosa cristalina en los microorganismos aerobios funcionan sinérgicamente por la presencia del CBD en cada proteína, mientras que en los anaerobios están asociados al celulosoma. Independientemente del acomodo estructural del CBD en los sistemas celolíticos, se ha demostrado que la unión específica de este dominio a la celulosa es una propiedad necesaria para la hidrólisis eficiente de este polímero natural. Existen evidencias experimentales que sugieren que algunos de estos dominios, además de posicionar a las celulasas en la microfibrilla, debilitan la interacción entre las cadenas de celulosa en sus regiones cristalinas, facilitando el rompimiento de los enlaces glucosídicos^{5,6}.

Proteínas con afinidad a celulosa cristalina (cbps) de *Cellulomonas flavigena*

Cellulomonas flavigena es una bacteria aerobia capaz de hidrolizar celulosa cristalina y, al igual que otros microorganismos celolíticos, sintetiza varias celulasas y xilanasas extracelulares. En el Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del Cinvestav varios laboratorios estudian esta bacteria con la finalidad de aumentar nuestro conocimiento de su sistema celolítico y así poder encontrar aplicaciones potenciales de estas enzimas. Se sabe que cuando *C. flavigena* se cultiva utilizando sustratos que contienen celulosa cristalina (bagazo de caña, papel, Avicel) la bacteria crece adherida a las fibras de celulosa (figura 1) y la mayor parte de la actividad enzimática se adsorbe al sustrato. Esto indica que estas enzimas poseen en su estructura algún dominio que les confiere la propiedad de unirse específicamente a la celulosa. Sabiendo que esta propiedad es necesaria para lograr una hidrólisis eficiente de la celulosa, en el laboratorio de Biotecnología de Proteínas se han purificado y caracterizado bioquímicamente algunas de las proteínas con afinidad a celulosa producidas por *C. flavigena*. La estrategia experimental empleada es muy sencilla; la bac-

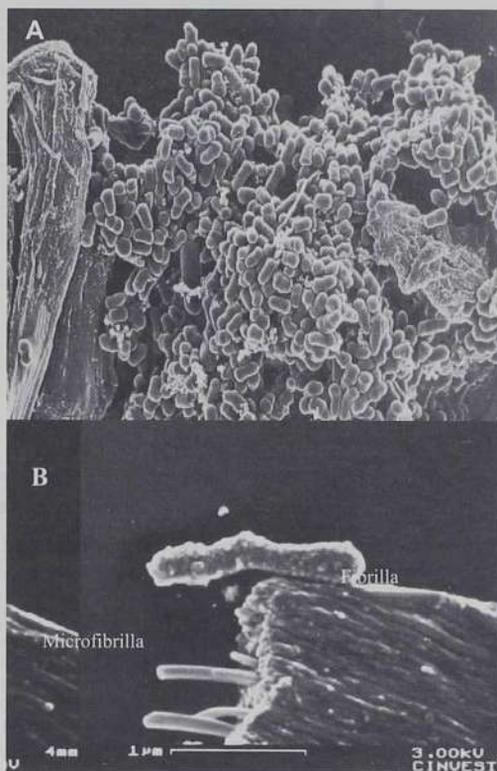


Figura 1. Micrografías electrónicas de barrido de *Cellulomonas flavigena*. La bacteria se cultivó utilizando Avicel como única fuente de carbono. Imágenes obtenidas a 10000X (A) y 26000X (B).

teria se creció utilizando Avicel (celulosa microcristalina) como única fuente de carbono; después de 48 a 72 horas de incubación las proteínas adsorbidas específicamente se eluyeron del Avicel y se purificaron por métodos cromatográficos tradicionales. Una vez purificadas se determinó su peso molecular aproximado y su actividad enzimática. Mediante esta estrategia se han logrado identificar cuatro endoglucanasas con pesos moleculares aproximados de 140, 120, 105 y 55 kDa, una celobiohidrolasa de 70 kDa, una xilanasas de 67 kDa y proteínas de 45 a 12 kDa sin actividad celolítica o xilanólítica, a las que se les denominó CBP140, CBP120, etc. Para separar estas CBPs del Avicel se requirió utilizar soluciones de urea hasta 8M, o de hidrócloruro de guanidina 6M, o de etilenglicol al 100%.

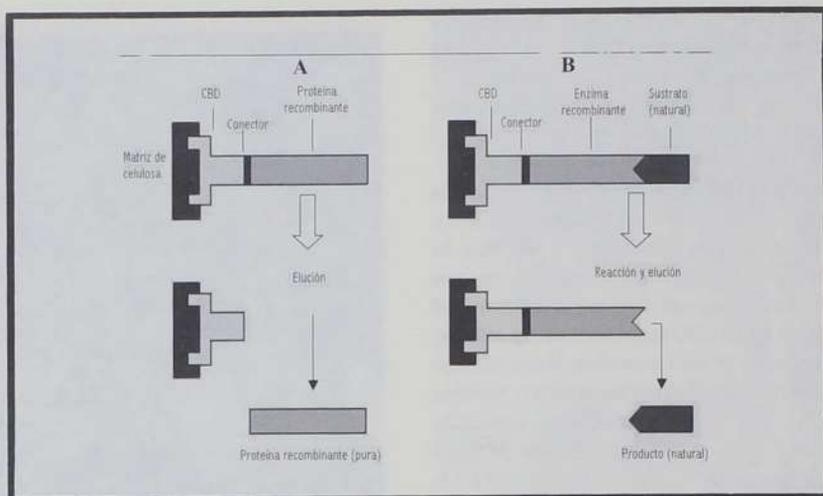


Figura 2.- Aplicaciones del CBD. (A) Como módulo de afinidad para purificar proteínas recombinantes. (B) Como ligando para inmovilizar proteínas o enzimas.

En otras palabras la interacción celulosa-proteína es tan fuerte que fue necesario perturbar drásticamente la estructura tridimensional de estas proteínas para desestabilizar su interacción con la celulosa. La CBP105, una edoglucanasa, y la CBP70, una celobiohidrolasa, se han caracterizado con mayor detalle y se ha podido establecer que ambas contienen CBD de alta afinidad, propiedad que puede aprovecharse como una herramienta en biotecnología⁹.

Una de las aplicaciones de los CBDs de *C. flavigena*, que se estudian en nuestro laboratorio, es su empleo como módulos de afinidad para purificar proteínas recombinantes¹⁰ por cromatografía de afinidad; o bien, para la inmovilización de proteínas de fusión a matrices de celulosa (figura 2). Las aplicaciones específicas de esta simple metodología son ilimitadas y ofrecen las siguientes ventajas:

(a) purificación en un solo paso,

(b) no hay necesidad de hacer modificaciones covalentes en la matriz para unir un ligando,

(c) la celulosa es inerte, estable, barata, y disponible en una amplia variedad de formas incluyendo gránulos, polvo, fibras, membranas, filtros y hojas.

Considerando el impacto económico potencial que esta simple metodología puede tener en la purificación de proteínas recombinantes utilizando columnas de afinidad a membranas de celulosa¹¹, se trabaja para obtener un sistema que facilite su diseño utilizando el sistema CBD-GFP (proteína verde fluorescente).

La actividad biológica asociada a una proteína en muchas ocasiones se pierde al expresarla de forma recombinante, debido a que no adquiere su estructura tridimensional característica. Este es uno de los problemas que más afecta la obtención de proteínas recombinantes funcionalmente activas. Recientemente se ha demostrado que la inmovilización del dominio apical de la chaperonina GroEL facilita el proceso de plegamiento en una columna y este procedimiento se le ha denominado "replegamiento cromatográfico"¹². En este contexto, la utilización del CBD para purificar e inmovilizar este dominio de GroEL a celulosa se realizaría en una sola etapa.

Finalmente, la utilización del CBD en kits de diagnóstico para detectar proteínas de interés también se ha contemplado tomando en cuenta tres etapas: (a) la construcción del producto de fusión, que incluye un CBD con alta afinidad a celulosa, y una segunda proteína o fragmento de ella capaz de unirse a una sustancia de interés, (b) el nivel de sensibilidad y especificidad, y (c) la forma de celulosa a emplearse.

Agradecimientos. M. Mejía Castillo es becaria del CONACyT. FR. Mújica Lengua recibió apoyo económico de la SRE del Gobierno de México y de la OEA durante sus estudios de maestría en ciencias. Este trabajo fue financiado en parte por el proyecto 26309-B del CONACyT.



Notas

1. J.A. Clarke, *Biodegradation of Cellulose: Enzymology and Biotechnology* (Technomic Publ., EUA, 1997).
2. *Cellulase Assessment for Biomass Hydrolysis*: <http://www.ceassist.com/assessment.htm>
3. P. Chaudhary, N. Kumaar y D. Deobagkar, *Biotech. Adv.* **15**, 315 (1997).
4. P. Béguin y J. Aubert, *FEBS Microbiol. Rev.* **13**, 25 (1994).
5. E.A. Bayer y H. Chanzy, *Curr. Op. Struct. Biol.* **8**, 548 (1998).
6. R.H. Doi *et al.*, *Crit. Rev. Microbiol.* **20**, 87 (1994).
7. A. Singh, K. Hayashi, *Adv. Appl. Microbiol.* **40**, 1 (1995).
8. H.G. Damude *et al.*, *Biochem. J.* **315**, 467 (1996).
9. T. Mejía Castillo, tesis de maestría, Departamento de Biotecnología y Bioingeniería, Cinvestav (2001).
10. FR. Mújica Lengua, tesis de maestría, Departamento de Biotecnología y Bioingeniería, Cinvestav (2001).
11. A. Tejeda, J. Ortega, I. Magaña y R. Guzmán, *Recent Res. Devel. Biotech. & Bioeng.* **3**, 33 (2001)
12. M.M. Altamirano, R. Golbik, R. Zhan, A.M. Buckle y A.R. Fersht, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **94**, 3576 (1997).



CONAPAR 2002

La Sociedad Mexicana de Parasitología
y la Universidad Autónoma de Guanajuato

invitan al

XV Congreso Nacional de Parasitología

que se celebrará en la Ciudad de Guanajuato, Gto.
del **11** al **14** de **septiembre** del **2002**

Eventos

CURSOS PRECONGRESO



CONFERENCIAS MAGISTRALES



SYMPOSIA



MESAS REDONDAS



TRABAJOS LIBRES



SESIÓN DE CARTELES



ACTIVIDADES CULTURALES

Informes: www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/smp
Dra. Guadalupe Ortega
Depto. de Genética-Cinvestav 5747 3800 ext. 5303

Celulasas y xilanasas en la industria

**Teresa Ponce Noyola y
Odilia Pérez Avalos**

Las celulasas y xilanasas son enzimas hidrolíticas que participan en el rompimiento de los enlaces glicosídicos β -1,4 presentes en los polisacáridos celulosa y hemicelulosa, respectivamente. El interés por las celulasas y xilanasas empezó alrededor de los años 50 debido a su enorme potencial para convertir la lignocelulosa en glucosa y azúcares solubles. Cabe señalar que la lignocelulosa es la fuente de energía renovable más abundante de la tierra. Está formada por tres componentes principales que son: celulosa, hemicelulosa y lignina, y su contenido es bajo en cenizas, proteínas, grasas y ceras¹.

Producción y regulación

Las celulasas y xilanasas son producidas por una gran variedad de microorganismos entre los que se encuentran hongos y bacterias. La mayoría de los microorganismos celulolíticos son capaces de producir tanto celulasas como xilanasas; sin embargo, algunos otros sólo producen celulasas o xilanasas. La producción microbiana de estas enzimas está sujeta a diferentes mecanismos de regulación. A partir de los estudios realizados tanto en hongos como bacterias se ha propuesto un modelo general de regulación controlado por dos mecanismos principalmente. Por un lado, la inducción que se lleva a cabo por sus sustratos naturales celulosa y xilana para las celulasas y xilanasas, respectivamente, y por otro la represión por fuentes de carbono de bajo peso molecular como glucosa y celobiosa para el caso de las celulasas, y xilosa, arabinosa o xilobiosa para las xilanasas. Este modelo sugiere, además, la existencia de un nivel basal

La Dra. Teresa Ponce Noyola es investigadora titular del Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del Cinvestav. La M. en C. Odilia Pérez Avalos es auxiliar de investigación del mismo departamento. Dirección electrónica: tponce@mail.cinvestav.mx



Figura 1. Aplicación de celulasas y xilanasas en la industria.

de enzimas; aquí el microorganismo sintetiza y exporta a la superficie celular pequeñas cantidades de enzimas, que inician la hidrólisis del sustrato y producen pequeños oligosacáridos que entran a la célula siendo los verdaderos inductores que encienden la transcripción de los genes (figura 1)².

Modo de acción

Celulasas. El término celulasas involucra un complejo de, por lo menos, tres actividades diferentes, las que a su vez existen en una multiplicidad de formas para llevar a cabo la hidrólisis total de la celulosa. De esta manera las endo- β -1,4-glucanasas (E.C. 3.2.1.4) rompen al azar los enlaces internos de la molécula en las regiones amorfas, producen un rápido decremento en la longitud de la cadena y un lento incremento de los grupos reductores libres. Las exo- β -1,4-glucanasas (E.C. 3.2.1.91) remueven unidades de glucosa o celobiosa a partir del extremo libre no reductor de la cadena de celulosa, dando como resultado un incremento rápido en los azúcares o grupos reductores y poco cambio en el tamaño del polímero. Finalmente la β -glucosidasa (E.C. 3.2.1.21) hidroliza la

celobiosa producida por las actividades anteriores, dando como producto final la glucosa (figura 2)³.

Xilanasas. Las xilanas son heteropolisacáridos y su degradación total para producir xilosa y/o arabinosa es llevada a cabo, como en la celulosa, por un grupo de enzimas que participan sinérgicamente. Las más conocidas son las endo- β -D-xilanasas (E.C. 3.2.1.8), las cuales rompen al azar los enlaces glicosídicos de la cadena principal de la molécula. La arabinofuranosidasa (E.C. 3.2.1.55) hidroliza las cadenas laterales de arabinosa, mientras que las acetil xilan esterases (E.C. 3.1.1.72) liberan grupos acetatos. La glucoronidasa (E.C. 3.2.1.139) remueve las cadenas laterales de ácido glucurónico a partir de unidades de xilosa. Las β -xilosidasas (E.C. 3.2.1.37) son enzimas activas sobre oligosacáridos cortos, llevando a cabo la hidrólisis de los enlaces β -1,4-aryl-xilopiranosido produciendo xilosa (figura 3)⁴.

Aplicaciones

La biotecnología de las celulasas y xilanasas empezó al principio de los años 80, primero en la alimentación ani-



Figura 2. Aplicación de las celulasas en detergentes quita pelusas.

mal seguida por aplicaciones en la industria de alimentos. Posteriormente estas enzimas empezaron a usarse en las industrias de lavandería, textil y de la pulpa y papel. En las últimas dos décadas su uso se ha incrementado en forma considerable y actualmente representan cerca del 20% del mercado mundial de las enzimas. A continuación se mencionan algunas de las aplicaciones más importantes.

Celulasas. En la industria textil las celulasas juegan un papel muy importante en el desteñido de mezclilla ya que se usan para remover el color azul índigo y dar una apariencia de desteñido/deslavado (*biostoning-biobleaching*). Tradicionalmente el desteñido de este tipo de prendas se efectuaba con piedra pómez (*stone wash*). Una pequeña cantidad de enzima puede sustituir varios kilos de piedras. Con la reducción de las piedras se produce menos daño a las telas, menos desgaste de las lavadoras y menos polvo de piedra pómez en el ambiente de la lavandería⁵. El *biostoning* ha abierto nuevas posibilidades en el acabado de tela vaquera, aumentando la variedad de tratamientos de acabado. También se incrementa la productividad del proceso de deslavado, ya que las lavadoras contienen menos piedras y más prendas.

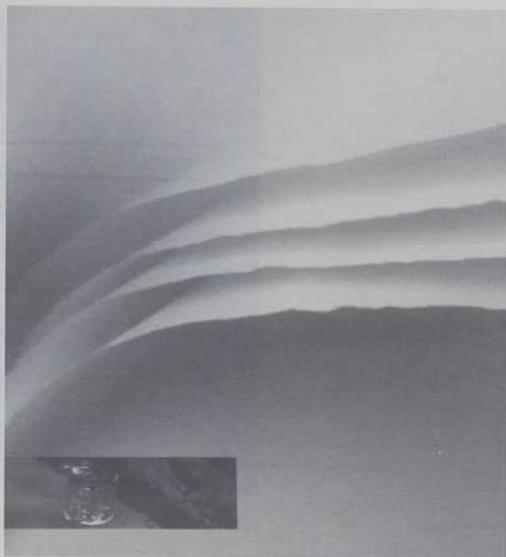


Figura 3. Aplicación de las D-xilanasas en la industria de la pulpa y el papel.

Por otro lado, las celulasas se añaden a los detergentes quita pelusas, la enzima degrada las microfibrillas que se separan parcialmente de las fibras principales, restituyendo a las fibras una superficie suave y a la prenda su color original. Dentro de la industria alimentaria, las celulasas se usan para favorecer la extracción y filtración de jugos de frutas o verduras, filtración de mostos, extracción de aceites comestibles, etc. Asimismo se usan en la hidrólisis parcial de materiales lignocelulósicos para mejorar la digestión de rumiantes. Por otra parte, los dominios de unión a celulosa se han usado con gran éxito sobre una matriz de celulosa para facilitar la purificación de proteínas recombinantes⁶.

Xilanasas. Una de las aplicaciones más importantes de las xilanasas es en la industria de la pulpa y del papel. El pulpeo Kraft involucra el cocimiento alcalino de la pulpa para remover el 95% de la lignina presente en la madera. El 5% remanente le confiere a la pulpa el color café pardo oscuro. Por razones estéticas y para mejorar las propiedades del papel es necesario un paso de blanqueo, el cual tradicionalmente se hacía por un proceso multietapas, que utiliza cloro o dióxido de cloro. Los productos alternos de estos compuestos químicos son



Figura 4. Aplicación de xilanasas en la industria de la panificación.

sustancias orgánicas cloradas, algunas de las cuales son tóxicas, mutagénicas, persistentes y bioacumulativas que causan numerosos daños en los sistemas biológicos. En los últimos diez años, la industria de la pulpa y el papel utiliza mezclas de xilanasas en el proceso de bioblanqueo, con esto se ha logrado realzar la brillantez de las pulpas y disminuir la cantidad de cloro utilizado en las etapas de blanqueo, además de resultar muy efectivas con respecto a los costos.

Hoy en día, un número significativo de fábricas en todo el mundo utilizan el proceso completo de blanqueo con xilanasas. Además, diferentes productos, incluyendo papeles para revistas y papeles con determinado tejido que son manufacturados con pulpas tratadas enzimáticamente, han sido introducidos al mercado con éxito.

Cabe señalar que es indispensable que la preparación de xilanasas esté completamente libre de celulasas, ya que esto traería serias implicaciones económicas en términos de pérdida de celulosa, calidad de la pulpa degradada y un incremento en los costos del tratamiento de efluentes. Las xilanasas, como las celulasas, también se usan en la industria alimentaria en la clarificación de jugos y vinos, licuefacción de mucílago de café; extracción de saborizantes y pigmentos, aceites de plantas y semillas; maceración de materia vegetal; acondicionamiento de

piensos para aves y cerdos y en la industria de la panificación, entre otras⁷.

En la industria de la panificación las xilanasas, especialmente la endo-1,4- β -xilanasas, se adicionan a la masa para mejorar su calidad, obteniéndose productos de panadería con mejor textura y sabor. El efecto de las xilanasas es incrementar el volumen específico de los panes, sin provocar un efecto colateral negativo en el manejo de la masa. Este efecto sobre el mejoramiento del volumen del pan puede atribuirse a la distribución de agua de la fase del pentosano presente hacia la del gluten, resultando eventualmente en un mejor homeado⁸. Asimismo, se ha publicado recientemente que las arabinasas, β -L-arabinofuranosidasas, β -L-arabinofuranohidrolasas y esteratasas juegan un papel importante en la textura, calidad y propiedades sensoriales de los productos de panificación (figura 4)⁹.

Futuro de la tecnología enzimática

El progreso de la biotecnología de celulasas y xilanasas ha llamado la atención a nivel mundial, ya que los métodos tradicionales de producción de enzimas pueden

ser demasiado prolongados hasta la obtención de la enzima purificada. Por esta razón nace la necesidad de buscar nuevas alternativas que permitan la obtención de enzimas en tiempos cortos y con propiedades bioquímicas adecuadas para el proceso en el cual va a usarse. Una de ellas es la obtención de cepas productoras de xilanasas o celulasas mejoradas genéticamente para la hiperproducción de estas enzimas, con técnicas de genética clásica o bien por biología molecular.

Nuestro grupo de trabajo cuenta con una bacteria celulolítica, *Cellulomonas flavigena* (CDBB-531), la cual es capaz de producir tanto celulasas como xilanasas al crecer en cualquier residuo agrícola como sustrato; sin embargo, el mejor inductor del sistema celulasas/xilanasas es el bagazo de caña¹⁰. A partir de esta bacteria se ha obtenido una mutante (PN-120) que produce 2 veces más celulasas y 4 veces más xilanasas que la cepa silvestre.

Por otra parte, para conocer la arquitectura molecular y los mecanismos de regulación involucrados en la biosíntesis de estas enzimas, se han aislado y caracterizado hasta el momento tres genes; *xynCfIA* que codifica para una xilanasas, *celCfIA* que codifica para una celobiohidrolasa y *celCfIB* que codifica para una endoglucanasa. La creciente demanda de celulasas y xilanasas y su gran potencial en biotecnología nos llevan a continuar con los estudios multidisciplinarios de estos complejos enzimáticos.



Notas

1. D.B. Rivers, H.G. Emert, *Biol. Wastes* **26**, 199 (1988)
2. Ch. Gong, G.T. Tsao, *Ann. Rep. Ferment. Process* **3**, 111(1979).
3. B.S. Montencourt, D.E. Eveleigh, *TAPPI* **28**, 101(1979)
4. P. Biely, *Hemicellulose and hemicellulases*, Ed. Coughlan y Hazlewood (Portland Press Research Monograph, 1993) p. 29.
5. H. Esterbauer *et al.*, *Technol.* **36**, 51(1991).
6. E. Ong, *Bioseparation* **5**, 95 (1995).
7. N. Kulkarni, A. Shendye, R. Mala, *FEMS Microbiol. Rev.* **23**, 411 (1999).
8. J. Matt *et al.*, *Progress in Biotechnology* **7**, 349 (1992).
9. K. Poutanen, *Trends Food Sci. Technol.* **8**, 300 (1997).
10. O. Pérez-Avalos, T. Ponce-Noyola, I. Magaña-Plaza, M. de la Torre-Martínez, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **46**, 405 (1996).

Verano Científico en Laboratorios Extranjeros

La División de Partículas y Campos de la Sociedad Mexicana de Física convoca a los estudiantes de recién ingreso a maestría o que estén a punto de terminar su programa de licenciatura en física o áreas afines, a concursar por una de las becas que patrocinan laboratorios de física en los EUA y Europa para realizar estancias de dos meses en el verano del 2003.

Estas becas brindan al estudiante la posibilidad de colaborar en un grupo experimental con reconocimiento internacional, abriéndole así la posibilidad de proseguir una carrera científica dentro de la física experimental de altas energías u óptica cuántica. Las becas incluyen gastos de estancia, cubiertos por los laboratorios participantes, y de transporte, cubiertos por instituciones nacionales.

Laboratorios participantes en el área de la física experimental de altas energías:

- CERN, Ginebra, Suiza
- DESY, Hamburgo, RFA
- FERMILAB, Batavia, ILL, EUA

Laboratorios en el área de óptica cuántica:

- Universidad Estatal de Nueva York en Stonybrook, NY, EUA

Los interesados deberán presentar antes del viernes 29 de NOVIEMBRE del 2002:

- 1** Una solicitud por escrito manifestando su interés en participar en este programa científico de verano e indicando explícitamente su preferencia hacia óptica cuántica o altas energías,
- 2** una copia de su certificado de calificaciones,
- 3** una carta de recomendación de un profesor, y
- 4** una dirección electrónica y un teléfono donde puedan ser contactados.

Los candidatos finalistas serán convocados a una entrevista personal en inglés, que tendrá lugar el SÁBADO 14 de diciembre del 2002 en el auditorio del Instituto de Física de la Universidad de Guanajuato.

La documentación deberá llegar antes del 29 de noviembre del 2002 a:

Para mayores informes y entrega de las solicitudes dirigirse a:

Myriam Mondragón
IF-UNAM
Apdo. Postal 20-364
01000, México, D.F.
Tel.(55) 56 22 15 67/5020
Fax (55) 5622 5015
myriam@fisica.unam.mx

Julián Félix Valdez
Instituto de Física, Universidad de
Guanajuato
Loma del Bosque No. 103
Col. Lomas del Campestre
37150, León, Gto.
Tel.(47) 183089, 730905
Fax: (47) 187611
felix@ifug1.ugto.mx

Enzimas con aplicación industrial

**Ma. del Carmen Montes Horcasitas e
Ignacio Magaña Plaza**

Las enzimas son catalizadores biológicos, es decir, proteínas que tienen la capacidad de acelerar ciertas reacciones químicas. En los últimos años su uso en gran cantidad de industrias ha adquirido gran relevancia. La enzimología o ciencia encargada del estudio de las enzimas siempre será un tema de actualidad en la biotecnología. En los últimos años, esta ciencia ha experimentado grandes avances al igual que sus aplicaciones en la industria alimentaria, farmacéutica, de detergentes, panadería y papelera, entre otras. Los procesos catalizados por enzimas en la industria son cada día más numerosos, ya que presentan ventajas frente a los catalizadores no biológicos.

La historia de las enzimas se originó en 1897, cuando Eduard Buchner pudo llevar a cabo la fermentación de azúcares en un caldo por medio de levaduras rotas. En aquel tiempo se le llamó *zymase* al fermento libre de células. Pero el término de "fermentos" o "enzimas" ya había sido postulado por Wilhelm Kühne en 1867. En 1926 James B. Sumner cristalizó la *ureasa* y cuatro años más tarde John H. Northrop aisló y purificó la *pepsina* y la *tripsina* del jugo duodenal. Se sabe que la actividad catalítica de las enzimas ha sido utilizada por el hombre desde tiempos remotos en fermentaciones y elaboración de quesos. Sin embargo, no fue sino hasta 1960 cuando se hizo la descripción de las estructuras enzimáticas en términos químicos comenzando con la deducción de las secuencias de aminoácidos de la *ribonucleasa*.

Las aplicaciones comerciales de las enzimas se conocen en todo el mundo. Uno de los campos con un éxito sin

La Dra. Ma. del Carmen Montes Horcasitas es investigadora del Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del Cinvestav. El Dr. Ignacio Magaña Plaza falleció el pasado mes de mayo. Dirección electrónica: cmontes@mail.cinvestav.mx

precedentes, desde el punto de vista microbiológico, enzimológico, bioquímico, químico y farmacéutico, fue la transformación de esteroides por vía enzimática en la década de los años 40 a los 50. La utilización de microorganismos completos con actividad catalítica para la deshidrogenación, aromatización del anillo A, eliminación de cadenas laterales y la hidroxilación en la molécula esteroidea dio lugar a la síntesis químico-biológica de importantes hormonas como los cortico-esteroides; así floreció una de las industrias más rentables en esa época.

Los procesos biocatalíticos normalmente involucran el cultivo y uso de microorganismos y el uso de enzimas aisladas solubles o inmovilizadas en medios acuosos o inorgánicos que contienen compuestos orgánicos como sustrato. En estos procesos las enzimas alteran la estructura de los sustratos o sintetizan nuevos compuestos. Estos procesos pueden ser llevados a cabo a pequeña escala, como por ejemplo en la producción de esteroides, o bien a gran escala como sería la utilización de invertasa para la obtención de jarabes fructosados.

Desde hace varias décadas se dispone de enzimas relativamente puras y con una gran variedad de aplicaciones en los distintos procesos industriales. La producción de una enzima por los métodos de la biotecnología clásica incluye dos etapas principales: la de fermentación, en la que se multiplica el microorganismo productor de la enzima, y la de recuperación y purificación, en la que se aísla la enzima y se lleva al grado de pureza adecuado para su uso. El desarrollo de técnicas y métodos para el desarrollo de estos procesos han sido un importante requisito para el avance en la enzimología en las últimas tres décadas y por muchos es considerada como un arte. El Dr. Ignacio Magaña Plaza, fundador de nuestro departamento, estuvo siempre al frente del Laboratorio de Biocatálisis, en el cual se llevaron a cabo la obtención, purificación y caracterización de algunas enzimas, entre ellas varias *xilanasas* obtenidas de *Cellulomonas flavigena*. Actualmente estamos trabajando en la obtención de estas enzimas que se utilizan para el blanqueo de la pulpa de papel y son consideradas como una de las aplicaciones más importantes de la industria papelera: por un lado mejoran enormemente la calidad del papel y por otro eliminan aproximadamente en un 35% el uso de compuestos clorados usados en dicho proceso, y que van a dar a los ríos

terminando con su vida acuática². Sin embargo, se requiere de un mayor conocimiento de las enzimas, así como su obtención en cantidades atractivas para la industria, lo cual se espera lograr por técnicas de ADN recombinante.

Una de las principales ventajas de las enzimas, además de las de índole económica o biotecnológica, está asociada a su gran especificidad de acción que hace que no se produzcan reacciones laterales imprevistas. Asimismo, se pueden trabajar en condiciones moderadas; presión atmosférica, temperaturas bajas o medias y pH de 3 a 10. Además las enzimas pueden inactivarse fácilmente cuando se considera que han cumplido su objetivo.

Algunos ejemplos

Como ya se mencionó, el *cuajo*, que es usado en la elaboración de quesos, es una de las enzimas más antiguas; está formado por la mezcla de dos enzimas, quimosina y pepsina que se obtienen del cuajar de las terneritas jóvenes. Estas enzimas rompen la caseína de la leche y producen su coagulación.

Otra enzima que también es muy importante es la *lactasa* o β -D-galactosidasa, que es una enzima que hidroliza la lactosa, el azúcar de la leche. Sin embargo, una gran parte de la población mundial carece de lactasa intestinal y su ingesta produce diarreas y trastornos intestinales. La eliminación de este azúcar se puede conseguir tratando la leche con β -galactosidasa, la cual ya se comercializa actualmente. Cabe señalar que en nuestro laboratorio se desarrollaron sistemas que utilizan esta enzima en forma inmovilizada, esto es, que unen la enzima a un soporte por métodos químicos³. La enzima en esta forma retiene su actividad catalítica y puede ser reutilizada repetidamente, lo cual la hace atractiva a la industria desde el punto de vista económico.

Existen otras enzimas empleadas en el procesamiento de alimentos vegetales denominadas genéricamente *pectinasas*, que digieren la pectina, sustancias presentes en las paredes de las células vegetales. En el procesamiento de jugos de frutas el producto obtenido generalmente es viscoso, debido a la pectina disuelta, y turbio por los fragmentos de paredes celulares en suspensión. Cuando se agregan pectinasas, la viscosidad disminuye y las



partículas pueden eliminarse fácilmente, centrifugando el líquido o filtrándolo⁴. Este mecanismo produce un líquido con una presentación más atractiva para el consumidor. En los extractos comerciales de pectinasas usados para la fabricación de jugos de frutas coexisten tres enzimas: la pectinliasa, la poligalacturonasa y la pectinesterasa. Estas enzimas en combinación hidrolizan a la pectina, que es un polisacárido constituido principalmente de ácido galacturónico que se encuentra parcialmente metoxilado. De tal manera que las pectinliasas actúan sobre la pectina; las pectinesterasas eliminan los grupos metoxilo y la poligalacturonasa actúa sobre la pectina una vez que ésta ha sido desmetilada.

Una enzima en franca expansión es la empleada en la obtención de jarabes de glucosa o fructosa a partir de almidón de maíz. Cerca del 70% de este almidón es convertido en jarabes de alta fructosa. Estos jarabes se utilizan en la elaboración de bebidas refrescantes, conserva de frutas, repostería, etc., como sustituto del azúcar de caña. La forma antigua de obtener estos jarabes, por hidrólisis ácida, ha sido prácticamente desplazada en los últimos 15 años por la hidrólisis enzimática que permite obtener un jarabe de mucha mayor calidad y a un costo muy competitivo. Durante este proceso se involucran varios pasos enzimáticos: la licuefacción del almidón por la enzima α -amilasa, posteriormente viene la sacarificación, en donde se emplea la *glucoamilasa*, y finalmente la

isomerización por la *glucosa-isomerasa*. Este proceso representa un caso único en la industria en donde el uso de las enzimas es esencial. Sin embargo, las condiciones de operación están limitadas por las propiedades de cada una de ellas, esto es, cada enzima actúa en condiciones de pH y temperaturas diferentes, lo cual constituye un problema para la industria al incrementar los costos o al disminuir la eficiencia y calidad de los productos. De hecho, la producción de estos jarabes, que se convirtieron en un negocio millonario con la introducción de las enzimas, se ha visto limitada para evitar el hundimiento de la industria azucarera.

Otra alternativa para la obtención de estos jarabes es la utilización de otra enzima, la invertasa o β -fructofuranosidasa, que desdobra la sacarosa en sus dos componentes: glucosa y fructosa, obteniéndose así un producto de alto contenido de fructosa. México es uno de los mayores productores de azúcar en el mundo; sin embargo, como ya dijimos, los jarabes fructosados elaborados a partir del almidón de maíz se usan cada vez más en lugar del azúcar. Como una manera de ayudar a esta problemática, en nuestro laboratorio estamos desarrollando un sistema enzimático que utiliza esta enzima en forma inmovilizada para hidrolizar jugo de caña. Este sistema podría ser competitivo con la obtención de jarabes del almidón de maíz y puede ofrecerse como tecnología para la industria azucarera.

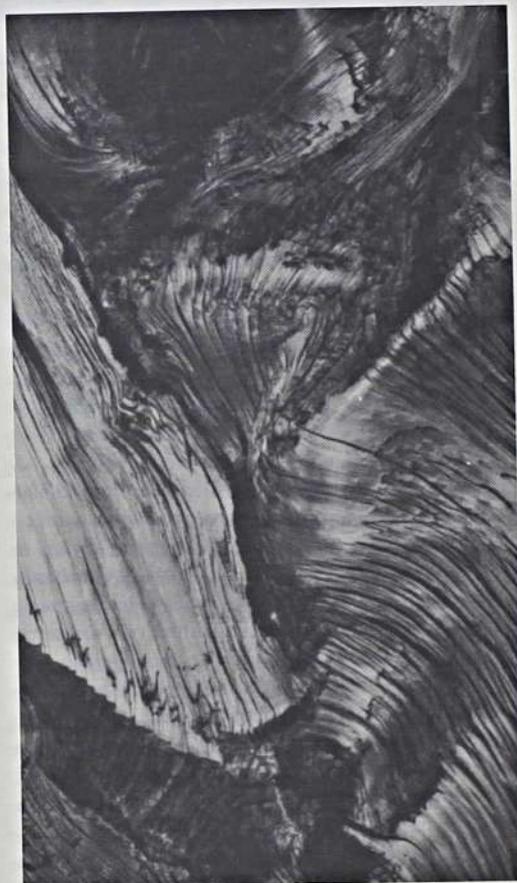
Comentarios finales

Como resultado de todas estas aplicaciones en las diferentes industrias, los aspectos académicos sobre la materia han recibido mucho mayor atención. Por otro lado, con la nueva biotecnología, nacida gracias a la biología molecular y a la ingeniería genética, los progresos que se están realizando en este campo permiten augurar un desarrollo cada vez mayor del uso de las enzimas, al disponer de un suministro continuo de materiales con la actividad deseada. A la industria le tocará decidir si está en condiciones de sacar provecho al quehacer que compete a los científicos.



Notas

1. H.C. Montes, L.J. Ortega, I. Magaña Plaza, *Biotechnol. Tech.* **12**, 663 (1998).
2. L. Viikari, M. Ranua, A. Kantelinen, M. Linko, J. Sundquist, *Proc. of the 3rd Int. Conf. on Biotechnology in Pulp and Paper Industry* (Estocolmo, 1987) p.67.
3. J. Ortega-Lopez, L.H. Morales-Ramos, M.C. Montes, I. Magaña-Plaza, *Biotech. Tech.* **7**, 775 (1993).
4. S.A. Camperi, R.M. Auday, R.A. Hours, M.M. Miranda, A. Navarro del Cañizo y O. Cascone, *Ciencia Hoy* **6**, 33 (1996).



Comunicación intercelular a larga distancia vía el floema en plantas

Roberto Ruiz Medrano

En plantas la "división del trabajo" entre diferentes órganos o tejidos es evidente por la presencia de tejidos autotróficos (fotosintéticos) capaces de utilizar CO_2 como fuente de carbono y tejidos heterotróficos como meristemos, tejido reproductivo, raíces y hojas inmaduras, que dependen del CO_2 fijado en forma de azúcares y exportado por el tejido fotosintético. Asimismo, agua y nutrientes minerales son absorbidos por la raíz y transportados al resto de la planta. El transporte de todos estos nutrientes requiere de los haces vasculares: conductos que comunican a diferentes partes de la planta entre sí. El tejido vascular está constituido por el xilema, que transporta tanto agua como nutrientes minerales de la raíz al resto de la planta, y el floema que distribuye el CO_2 fijado en forma de azúcares, así como aminoácidos y otros nutrientes de los tejidos fotosintéticamente activos a los que no son capaces de fotosintetizar¹ (figura 1). Ambos están formados por una extensa red de vasos que derivan de células altamente modificadas, en cuya madurez pierden la mayor parte de sus organelos (incluido el núcleo), pero mantienen la integridad de su membrana celular (el floema), o bien, sufren un proceso análogo al de muerte celular programada, resultando en vasos con una pared celular reforzada (el xilema). En ambos tejidos, la división entre células contiguas es modificada de tal manera que permite el libre movimiento de estructuras tan grandes como organelos o patógenos microbianos. Estas filas de células, por otra parte, forman verdaderos tubos que interconectan a los diferentes órganos de la planta. La función de distribución de nutrientes del tejido vascular en plantas es esencial, pero ¿es la única? Cabe preguntarse si

El Dr. Roberto Ruiz Medrano es investigador titular del Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del Cinvestav. Dirección electrónica: medrano@mail.cinvestav.mx

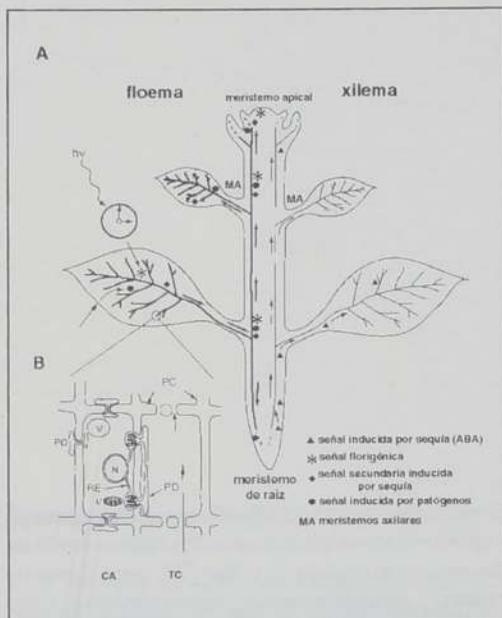


Figura 1. (A) Diagrama esquemático que representa el floema del tejido vascular, a la izquierda de la figura, y el xilema, a la derecha. Las flechas indican la dirección del flujo de cada uno. En el caso de floema, es en dirección de hojas maduras al ápice y a las raíces, y para xilema es de raíces a la parte aérea de la planta. El ácido abscísico (ABA), inducido por sequía, es transportado vía el xilema de la raíz a las hojas maduras, en donde presumiblemente induce una señal secundaria que es transportada vía el floema a los meristemos apical y de la raíz, en donde altera el crecimiento celular. La señal florígenica y aquella inducida por patógenos (todas hipotéticas) son transportadas vía el floema (véase texto para más detalles). (B) Esquema que representa la célula acompañante y el tubo criboso del floema. CA, célula acompañante; TC, tubo criboso; N, núcleo; V, vacuola; PD, plasmodesmos; RE, retículo endoplásmico; M, mitocondria; PC, placa cribosa que separa TC contiguos.

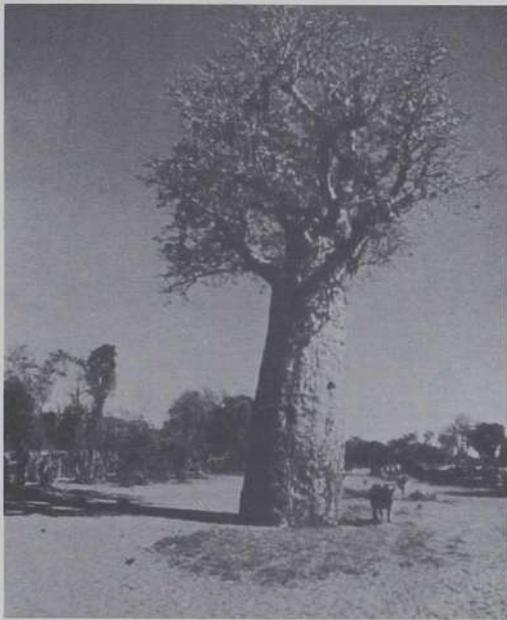
solamente trasiegan nutrientes orgánicos o minerales en los conductos de plantas que conforman el tejido vascular, o si bien, circulan también señales químicas o de otra naturaleza que coordinan las respuestas de las plantas a diversos estímulos ambientales; en otras palabras, si la comunicación a larga distancia en plantas implica únicamente el intercambio de nutrientes entre tejidos distantes, o también el de señales químicas. Algunas evidencias sugieren que el papel del tejido vascular en el desarrollo de plantas es más activo, particularmente en el caso del floema.

El tejido vascular

Durante el desarrollo del xilema, las células precursoras se alargan, su pared celular se engrosa, y su membrana y todos los organelos son autodigeridos. Finalmente, "fosas" en la pared celular entre células vecinas mantienen la continuidad del tejido. En contraste, el floema en su madurez consta de dos tipos celulares, la célula acompañante (CA) y el tubo criboso (TC), interconectadas por túbulos citoplásmicos, denominados plasmodesmos (figura 1), como en todas las células vegetales (excepto los estomas). Mientras que la CA mantiene su integridad y elevada actividad metabólica, el TC degenera de tal manera que en su madurez pierde el núcleo y organelos en general, así como las separaciones con los TC vecinos. Sin embargo, su membrana plasmática permanece funcional, por lo que el proceso de degeneración no es tan extremo como en el xilema. Además, mientras que el xilema es continuo con el espacio extracelular de toda la planta, el floema es continuo con el citoplasma de casi todas sus células. Los azúcares son exportados del mesófilo, el tejido que propiamente lleva a cabo la fijación del CO_2 , hasta el floema, ya sea a través de los plasmodesmos (vía simplásmica), o vía el espacio extracelular (apoplásmica)¹. Una vez en el tubo criboso, los nutrientes son transportados rápidamente a los tejidos consumidores, en donde requieren ser "descargados" del floema a las células circunvecinas. Un papel adicional del floema en la comunicación intercelular es sugerido por respuestas de la planta a ciertos estímulos ambientales que son percibidos inicialmente por tejidos que no son responsables de la respuesta, propiamente. El tejido receptor del estímulo sintetiza una señal que es transportada a otro tejido que produce la respuesta observada. Los ejemplos clásicos son la inducción de la floración y la respuesta de defensa contra patógenos, pero hay algunos otros que se han agregado más recientemente a la lista.

Inducción de la floración

En este fenómeno, el meristemo apical, formado por células proliferativas no diferenciadas y que originan todos los órganos de la planta, da lugar a su vez a otro grupo de células precursoras de la flor como respuesta a una señal que proviene de las hojas (figura 1), el misterioso florígeno. Es decir, las hojas reciben el estímulo para florecer (un cierto umbral de horas/luz por día que es rebasado), y



en respuesta producen una señal que es transportada vía el floema al meristemo apical, en donde se origina el primordio floral². Un pulso de luz aplicado a plantas crecidas en obscuridad puede ser un estímulo suficiente en diversas especies vegetales. Todavía se desconoce la naturaleza de dicha señal, o señales, pero se han sugerido azúcares, hormonas vegetales, péptidos (por analogía con hormonas animales) y otras moléculas difusibles. Una pista que puede proveer información acerca de la(s) señal(es) involucrada(s) es el gen *indeterminado 1* (*id1*) de maíz³. Plantas cuyo gen *id1* es defectuoso ignoran el estímulo que en circunstancias ordinarias conduciría a la floración. Este gen es activo no en el meristemo apical, como podría esperarse, sino en células que rodean al floema de hojas maduras e inmaduras. Más aún, codifica para un regulador de la expresión génica, por lo que es tentador especular que está involucrado en la producción de la elusiva señal florigénica.

Respuesta sistémica adquirida (RSA) al ataque de patógenos

Las plantas establecen numerosas respuestas de defensa con el fin de contrarrestar el ataque de patógenos, como

la activación de genes que codifican para proteínas que degradan pared celular de bacterias u hongos, o que destruyen a células infectadas por patógenos, etc. Esta inducción no ocurre sólo en el tejido inicialmente infectado, sino en hojas que no han estado expuestas al patógeno, e incluso en aquellas que no han surgido siquiera en el momento de la infección. Esto sugiere que la presencia del patógeno induce la producción de señales, de naturaleza desconocida, que son transportadas a tejidos libres del patógeno a través del floema⁴. En el caso particular de daño mecánico producido por insectos, se inducen inhibidores de proteasas que son altamente tóxicos a éstos. Señales transportadas en el floema inducen estos genes también en hojas intactas. En algunas especies vegetales, un péptido sintetizado en la CA, la sistemina, es transportado en el tejido vascular a hojas no dañadas, en donde activa los genes para inhibidores de proteasas⁵. Cabe especular que la sistemina o péptidos semejantes pueden ser señales involucradas en procesos adicionales.

Respuesta a déficit hídrico

En este caso, la señal primaria ha sido plenamente identificada, no así la secundaria, responsable de respuestas adaptativas a más largo plazo. Como respuesta a agobio hídrico, percibido por la cofia de la raíz como una mayor dureza del suelo, se produce una molécula reguladora del crecimiento, el ácido abscísico (ABA), el cual es transportado vía el xilema desde la raíz a hojas maduras. En este tejido el ABA induce principalmente el cierre de los estomas, evitando una mayor pérdida de agua en las hojas⁶. Esta respuesta es relativamente rápida. No obstante, ocurre también otra respuesta más lenta, cuyo resultado neto es un menor crecimiento de la parte aérea de la planta con relación a la parte subterránea. El valor adaptativo de esta respuesta es obvio: la planta deja para mejores tiempos eventos tales como la floración, mientras que concentra sus recursos en la producción de raíces (es decir, la búsqueda de agua en el suelo). Se sabe que reguladores del ciclo celular específicos se inducen como respuesta a ABA, por lo que se ha especulado que esta fitohormona, percibida en las hojas, induce la síntesis de una o más señales secundarias en este tejido, las que a su vez son transportadas, vía el floema, al resto de la planta, particularmente al meristemo apical y al de la raíz⁷. De esta forma, el meristemo apical permanece en



estado más o menos latente mientras que las células de los meristemas de la raíz continúan desarrollándose.

Silenciamiento génico post-transcripcional

Un mecanismo de defensa contra virus en plantas (particularmente aquellos cuyo genoma es ARN) que resultó ser en un principio una pesadilla para investigadores que deseaban introducir genes en plantas con semejanza elevada a genes endógenos, consiste en la degradación específica del ARN viral en tejidos aún no expuestos al virus infectante^{8,9}. Es decir, como en el caso de la RSA, la señal involucrada en el desencadenamiento de la degradación de los ARN virales, o bien, de aquellos especificados por el transgen, es producida en la hoja inicialmente infectada (o en hojas fotosintéticamente activas en el caso de transgenes), y posteriormente transportada al resto de la planta, induciendo un estado "antiviral" altamente específico. Los elegantes experimentos del grupo de Vaucheret, que utilizan injertos, han demostrado por un lado que la señal (o señales) es

transportada vía el floema, y, por otro, que la señal transportada a larga distancia parece consistir en ácido nucleico, ya sea ADN o ARN¹⁰.

Dominio apical

Un fenómeno evidente en una gran variedad de plantas, pero ausente en otras tantas (como arbustos o árboles), es el dominio (o dominación) apical. Es decir, sólo existe un ápice principal, aun cuando hay meristemas axilares a largo del eje de la planta, si bien en estado "latente". Es bien sabido que si el ápice es removido, el meristemo axilar más cercano toma su lugar (es decir, se reactivan sus células), ejerciendo su dominio sobre el resto de los meristemas axilares de forma tan despótica como aquél que reemplazó¹¹. La primera pregunta que surge es por qué estos meristemas no son activos y cuáles son los mecanismos, presumiblemente por parte del meristemo apical, que mantienen en este estado a los meristemas axilares. Trabajos recientes han demostrado que no sólo se requieren señales provenientes del meristemo apical para producir este fenómeno, sino que otras, provenientes de las hojas fotosintéticamente activas e incluso de la

raíz transportadas vía el floema o xilema, son necesarias para establecer y mantener el dominio apical¹². Se desconoce por completo qué señales están involucradas.

Todos estos ejemplos y otros menos evidentes sugieren que tanto en el floema como en el xilema no sólo circulan productos de la fijación de CO₂ o de la absorción de nutrientes en la raíz, respectivamente, sino quizás también moléculas señales, ¿cuál es su naturaleza? La presencia de reguladores del crecimiento —moléculas lo suficientemente pequeñas para difundir libremente, en principio, entre células vecinas a través de los plasmodesmos— en los conductos vasculares de plantas ha sugerido que estas moléculas son señales que comunican tejidos distantes. El papel del ABA como una molécula señal, tanto a nivel intracelular como a nivel intercelular, está bien demostrado. Sin embargo, en los casos de las citocininas, etileno, auxinas, ácido giberélico o brasinosteroides u otras moléculas reguladoras del crecimiento vegetal "clásicas", no es claro si son señales a larga distancia, o si requieren el concurso de otras moléculas para constituirlos. El transporte intercelular en células del ápice de raíz y de la parte aérea de auxinas¹³ también ha sido demostrado, y la presencia de receptores para etileno ha permitido proponerlas como verdaderas hormonas vegetales, en tanto que son producidas por un grupo de células y transportadas y percibidas por otras, si bien a través de distancias "cortas" y extracelulares¹⁴. Sin embargo, la evidencia es menos sólida en cuanto a su papel como moléculas señalizadoras a larga distancia. El principal problema es la capacidad de virtualmente todos los tipos celulares de plantas de producir estas moléculas. Por otra parte, se ha sugerido que señales eléctricas son responsables de al menos algunas respuestas en plantas (como el cierre de la flor en *Mimosa pudica* o la activación de inhibidores de proteasas como respuesta a daño mecánico en solanáceas^{15,16}). Una vez que se demuestre cuáles son las señales involucradas en los ejemplos que se han descrito, faltará aún por determinar los mecanismos involucrados en la descodificación de estas señales en las células o tejido blanco que originan la respuesta observada. Dada la naturaleza de los tejidos conductores en plantas, tanto floema como xilema, la sola presencia de determinadas moléculas en éstos no es prueba concluyente de que circulen por toda la planta, ni de que esa sea su localización *in vivo*, puesto que aquí es crítico el método de recolección del fluido contenido en el tejido vascular, la savia de floema o xilema.

Naturaleza de las señales involucradas

Si bien a corta distancia en el espacio extracelular hay flujo de reguladores de crecimiento tales como auxinas, etileno e incluso especies reactivas de oxígeno que intercomunican grupos compactos de células, la naturaleza de las señales a larga distancia que viajan en el floema o xilema no se conoce con precisión, excepto en los casos de déficit hídrico y de respuesta a daño mecánico. El ácido salicílico, pariente cercano de la aspirina, parecía ser la molécula señal involucrada en la RSA, pero estudios más recientes han demostrado que es necesario para el establecimiento de esta respuesta, mas no para su propagación a tejidos no infectados¹⁷. El análisis de la savia, particularmente del floema, ha demostrado la presencia de reguladores del crecimiento en ésta, aunque su difusión de tejidos circundantes no ha sido descartada. La presencia de macromoléculas biológicas con propiedades informacionales en savia sugiere que éstas podrían constituir también señales que intercomunican tejidos distantes, sobre todo porque su presencia en este tejido no es fácilmente explicable por difusión pasiva de tejidos que rodean al floema o xilema. El estudio del transporte de virus dentro de las plantas ha apoyado dicha noción.

Transporte de virus y macromoléculas en plantas

Los virus de plantas, a diferencia de los virus animales, una vez dentro de una célula no necesitan salir propiamente de ésta para reinfectar otras células. Por mucho tiempo se buscaron receptores para virus en las membranas plasmáticas de células vegetales. Sin embargo, se ha demostrado que diversos virus de plantas se desplazan de una célula a otra a través de los plasmodesmos¹⁸. Sorprendentemente, el diámetro útil de los plasmodesmos no permitiría el libre tránsito ni siquiera de los virus más pequeños. Esta aparente paradoja ha sido resuelta en parte con el descubrimiento de las proteínas de movimiento viral¹⁸. El genoma de todos los virus de plantas contiene genes para una o más de estas proteínas, cuya función es aumentar el diámetro útil (o límite de exclusión molecular, o LEM) de los plasmodesmos y transportar los ácidos nucleicos virales. Se

desprende entonces que el transporte de macromoléculas como proteínas e incluso ácidos nucleicos puede ocurrir en plantas, al menos si están infectadas por virus. El hecho que proteínas virales tengan la capacidad de interactuar específicamente con los plasmodesmos sugirió que un aumento en su LEM podría ocurrir en forma normal en plantas no infectadas, y que, por otra parte, proteínas endógenas fueran capaces de transitar entre células vecinas.

Recientemente se ha establecido que ciertas proteínas que regulan el desarrollo de plantas se desplazan de una célula a otra a distancias cortas, tanto en meristemo apical (las células proliferativas que dan lugar al cuerpo de toda la planta) como en la raíz^{19,20}. Si bien se desconoce el significado preciso del tránsito intercelular de proteínas, las implicaciones de este hallazgo son claras: probablemente estas proteínas constituyen señales que comunican células vecinas entre sí. Pero, ¿podrían también ser señales a larga distancia? Ya que los virus deben ingresar al floema para infectar de manera sistémica a una planta, se ha propuesto que podrían circular en floema macromoléculas biológicas endógenas, además de virus. De hecho, la savia de floema, o más precisamente los TC, contiene una gran variedad de proteínas, que poseen la capacidad de aumentar el LEM de plasmodesmos^{21,22}. Recordemos que estas proteínas se encuentran en un tipo celular que en su madurez carece de núcleo y de la maquinaria necesaria para producir proteínas. Se desprende que éstas son sintetizadas en otra célula, la CA, de donde son transportadas al TC.

Muchas de estas proteínas deben estar involucradas en el mantenimiento y funcionamiento de los tubos cribosos, que en muchas especies parecen ser muy longevos (se ha calculado que pueden alcanzar los cincuenta años!). Sin embargo, otras no parecen tener una función clara. Por ejemplo, la proteína CmPP16 de *Cucurbita maxima* (calabaza) puede unir ARN, independientemente de su secuencia, y transportarlo de una célula a otra a través de plasmodesmos²³, lo que también implica que puede haber ARN mensajero desplazándose en el floema (y, por tanto, podría ser considerado como otra señal a larga distancia). Hemos demostrado recientemente la presencia de una gran variedad de ARN mensajeros (ARNm) en savia de floema (en un tejido que carece de la capacidad de sintetizar ARN o proteínas a partir de éste), algunos de los cuales codifican para proteínas involucradas en la regulación del desarrollo de plantas²⁴.



Sin embargo, desconocemos qué papel pueda jugar el transporte a larga distancia de proteínas o de ARNm. El ejemplo más claro que sugiere que dicho transporte puede tener un papel relevante en el desarrollo de plantas es el de una mutante de jitomate, denominada *orejas de ratón*, por la forma que adquieren sus hojas. La mutación se debe a que un gen que codifica para una proteína reguladora del desarrollo se ha fusionado con el gen para una enzima involucrada en el metabolismo de azúcares. Experimentos (cuya motivación sería prolijo explicar) en los que se injertaron plantas silvestres a plantas mutantes demostraron que, sorprendentemente, la apariencia de las hojas surgidas después en el injerto no mutante era idéntica a la de las mutantes. Más aún, dicha transmisión del fenotipo se debía al transporte del ARN mensajero "mutante" del portainjerto mutante al injerto silvestre a través del floema²⁵. Trabajo adicional en esta dirección determinará qué tan general es este fenómeno, y en cuál de los casos descritos de comunicación intercelular está involucrado. 🌱

Notas

1. L. Taiz y E. Zeiger, *Plant Physiology* (2a. edición. Sinauer, 1998).
2. J. Colasanti y V. Sundaresan, *Trends Biochem. Sci.* **25**, 236 (2000).

3. J. Colasanti, Z. Yuan y V. Sundaresan, *Cell* **93**, 593 (1998).
4. R. Ruiz-Medrano, B. Xoconostle-Cázares y W.J. Lucas, *Curr. Opin. Plant Biol.* **4**, 202 (2001)
5. C.A. Ryan y G.Pearce, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **14**, 1 (1998).
6. M. Jackson. *Trends Plant Sci.* **2**, 22 (1997).
7. H. Wang *et al.*, *Plant J.* **15**, 501 (1998).
8. J.A. Lindbo, L. Silva-Rosales, W.M. Proebsting, W.G. Dougherty. *Plant Cell* **5**, 1749 (1993).
9. V. Vance y H. Vaucheret. *Science* **292**, 2277 (2001)
10. J.-C. Palauqui *et al.*, *EMBO J.* **16**, 4738 (1997).
11. C.A Napoli, C.A. Beveridge y K.C. Snowden. *Curr. Top. Dev. Biol.* **44**, 127 (1999).
12. C.A. Beveridge *et al.*, *Plant Physiol.* **123**, 689 (2000).
13. N. Geldner *et al.*, *Nature* **413**, 425 (2001).
14. C. Chang y R. Stadler, *Bioessays* **23**, 619 (2001).
15. M. Ueda y S. Yamamura, *Angew. Chem.* **39**, 1400 (2000).
16. D.J. Bowles. *Essays Biochem.* **32**, 161 (1997).
17. J. Ryals *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* **92**, 4202 (1995).
18. R.L. Gilbertson *et al.*, en *The Encyclopedia of Plant Pathology*, Eds. O. C. Malloy, T. D. Murray (John Wiley, 2001).
19. D. Jackson, *Plant Cell.* **13**, 2569 (2001).
20. K. Nakajima *et al.*, *Nature*, **413**, 307 (2001).
21. D.B. Fisher, Y. Wu y M.S.B. Ku *Plant Physiol.* **100**, 1433 (1992).
22. S. Balachandran *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **94**, 14150 (1997).
23. B. Xoconostle-Cázares *et al.*, *Science* **283**, 94 (1999).
24. R. Ruiz-Medrano, B. Xoconostle-Cázares B, W.J. Lucas, *Development* **126**, 4405 (1999).
25. M. Kim, W. Canio, S. Kessler, N. Sinha. *Science.* **293**, 287 (2001).

Instituto de Investigaciones Económicas

XXII SEMINARIO DE ECONOMÍA AGRÍCOLA DEL TERCER MUNDO

Agricultura y alimentación frente a los retos tecnológicos en el nuevo siglo

del 2 al 4 de octubre de 2002

Convoca al Premio "Dr. Ernest Feder" 2002

Bases

- Presentar trabajos relativos a los temas de las mesas del seminario.
- Los trabajos pueden ser individuales o colectivos, firmados con seudónimo.
- Deberán ser inéditos, con una extensión máxima de 25 cuartillas y un resumen de 3 cuartillas. Se entregarán en disco flexible 3^{1/2} compatible con Windows 95 o 98 y 7 ejemplares impresos.
- Deben ir acompañados de un sobre cerrado que contenga nombre, domicilio, teléfono, dirección electrónica y curriculum del autor (es). El sobre será abierto por el jurado calificador una vez terminada la evaluación. La decisión del jurado será inapelable.
- El jurado calificador estará integrado por el Director del IIEc, la Coordinadora del Seminario y por reconocidos investigadores de la Universidad Autónoma Chapingo, el Instituto Politécnico Nacional, El Colegio de México, la Universidad Autónoma Metropolitana y la Universidad Nacional Autónoma de México.
- La Universidad Nacional Autónoma de México y el Instituto de Investigaciones Económicas de la UNAM, otorgarán:
 - 1° lugar \$ 10,000.00 (diez mil pesos, 00/100 M.N.)
 - 2° lugar \$ 7,000.00 (siete mil pesos, 00/100 M.N.)
 - 3° lugar \$ 3,000.00 (tres mil pesos, 00/100 M.N.)
 - 4° y 5° lugares diploma universitario.
- Las ponencias ganadoras, serán presentadas en la mesa correspondiente. El Instituto se reserva el derecho de publicarlas.
- Los trabajos se recibirán en la Secretaría Académica del Instituto de Investigaciones Económicas, Torre II de Humanidades, primer piso, Ciudad Universitaria, 04510, México, D.F., teniendo como fecha límite de entrega el jueves 29 de agosto de 2002 a las 14:00 hrs.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cd. Universitaria, mayo de 2002
EL DIRECTOR

DR. JORGE BASAVE KUNHARDT

PROGRAMA OCTUBRE

Miércoles 2, 9:00 a 15:00 y 17:00 a 19:00 hrs.

Inauguración
Conferencia Magistral
Mesa I.- Las nuevas tecnologías y los desafíos para el sector agroalimentario
Mesa II.- La visión de los productores: El impacto de la incorporación de tecnologías en la producción
Mesa redonda vespertina

Jueves 3, 9:00 a 15:00 y 17:00 a 19:00 hrs.

Conferencia Magistral
Mesa III.- La visión del Estado: El papel de las tecnologías en las políticas públicas
Mesa IV.- Visión de los Centros de Investigación y Organizaciones de Investigadores: investigación, transferencia y vinculación
Mesa redonda vespertina

Viernes 4, 9:00 a 15:00 hrs.

Conferencia Magistral
Mesa V.- Papel de los organismos internacionales
Entrega del premio "Dr. Ernest Feder"
Clausura

Sede:

Sala de conferencias "Mtro. Ricardo Torres Gaitán"
Torre II de Humanidades, quinto piso,
Cd. Universitaria, México, D.F.

CUOTA DE RECUPERACIÓN

\$500.00 público en general, 50% descuento
Estudiantes, Académicos y Tercera Edad con
credencial vigente

Comité académico consultivo: José Gasca Zamora, A.
Cristina Martínez Morales, Dinah Rodríguez Chaurnet
y Felipe Torres Torres
Comité organizador: María del Carmen del Valle
Rivera, Ismael Núñez, Eulalia Peña Torres y Roberto
Guerra

Guerra entre insectos y microorganismos: una estrategia natural para el control de plagas

**Alí Asaff Torres, Yolanda Reyes Vidal,
V. Eric López y López y
Mayra de la Torre**

Desde los inicios de la agricultura las civilizaciones sufrieron frecuentemente la devastación de sus cosechas por los ataques de las plagas de insectos. Ante esta situación, el hombre fue desarrollando algunas estrategias para su control y es así que desde hace algunos siglos los chinos utilizaron hormigas para proteger sus huertas de cítricos contra gusanos, avispas y otros insectos. Ya en el siglo XIX, científicos europeos y norteamericanos emplearon depredadores naturales (catarinas y avispas) y patógenos (hongos) para proteger cultivos y bosques, obteniendo resultados muy alentadores. Estas investigaciones perdieron importancia entre 1930 y 1940 al descubrirse los insecticidas químicos: compuestos que originalmente fueron concebidos como armas químicas; como resultaron ser mucho más rápidos, baratos y con un espectro de acción más amplio que los enemigos naturales de los insectos, su uso se extendió rápidamente hasta llegar a constituirse en una herramienta imprescindible de la agricultura moderna.

Si bien los insecticidas químicos han permitido un control eficaz de las plagas, se ha establecido que estos compuestos son altamente perjudiciales para la salud humana y los ecosistemas; además, por su persistencia en el medio ambiente, favorecen la selección de insectos-plaga resistentes a ellos, lo que ha motivado el uso de dosis cada vez mayores o de productos cada vez más tóxicos. Esto ha generado mucha preocupación en el ámbito mundial y actualmente se trabaja para limitar la aplicación de los insecticidas químicos y promover el manejo integrado de plagas que incluye otras formas de

La Dra. Mayra de la Torre es investigadora titular del Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del Cinvestav. Los otros tres coautores son estudiantes de doctorado de este departamento.

control, efectivas y menos contaminantes, tales como trampas, plásticos y el control biológico.

Control biológico

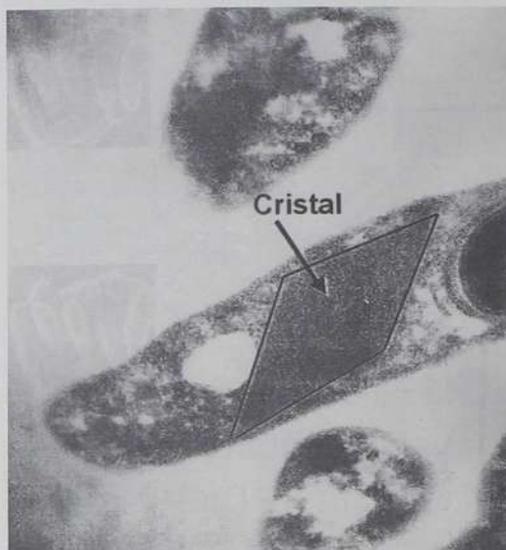
Control biológico es la manipulación intencional de las poblaciones de los enemigos naturales de los insectos plaga para limitar su población. A estos organismos se les llama agentes de control y entre ellos se encuentran insectos depredadores y parásitos, así como microorganismos patógenos de insectos. Las formulaciones comerciales de los microorganismos son conocidas como bioinsecticidas e incluyen a diferentes géneros y especies de bacterias, hongos, nemátodos y virus. Estos microorganismos, denominados entomopatógenos, son específicos; afectan sólo a determinados grupos de insectos (hospederos) y son inofensivos para insectos benéficos, humanos y otros organismos superiores.

La biotecnología ofrece varias alternativas para el control biológico, que van desde el uso de reactores para la producción masiva de microorganismos silvestres y modificados genéticamente, con un margen más amplio o mayor virulencia que los silvestres, hasta el uso de plantas modificadas genéticamente y resistentes al ataque de algunos insectos.

Un requisito importante para el uso de un microorganismo como agente de control es su producción masiva a bajo costo. En este contexto, nuestro grupo de investigación se ha avocado al desarrollo de tecnologías de proceso para la producción masiva de microorganismos entomopatógenos; nos interesa correlacionar el efecto de las condiciones de proceso sobre la expresión de genes y por ende sobre las vías metabólicas, con el propósito de utilizar estos conocimientos para mejorar los rendimientos del o de los productos, realizar estudios de ingeniería y de síntesis y escalamiento de procesos. A la fecha las tecnologías desarrolladas han sido transferidas a empresas mexicanas y existen cinco productos en el mercado derivadas de ellas. Hemos tomado como modelos a *Bacillus thuringiensis* (bacteria), *Paecilomyces fumosoroseus* (hongo) y *Steinernema feltiae* (nemátodo)¹.

Bacterias: *Bacillus thuringiensis*

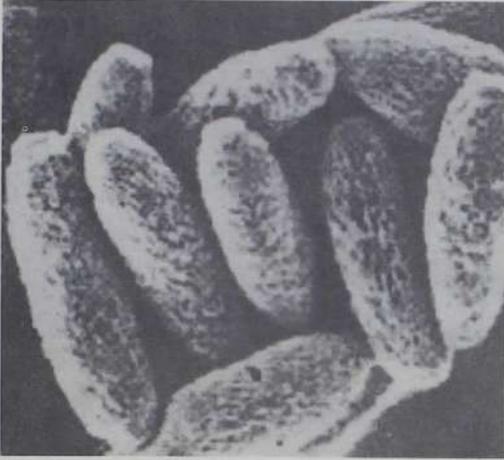
Bacillus thuringiensis (Bt) representa el mayor volumen de los bioinsecticidas producidos en el ámbito mundial.



Bt produce proteínas cristalíferas que son tóxicas para plagas de insectos en su estado larval, tales como lepidópteros, dípteros y coleópteros. Los cristales son protoxinas que al ser ingeridas por el insecto son solubilizadas y procesadas por proteasas en el tracto digestivo. Las proteínas procesadas son toxinas que se unen a receptores específicos en el epitelio del intestino y actúan como otras enterotoxinas.

Las proteínas cristalíferas, llamadas Cry, están codificadas en plásmidos y se producen durante el proceso de esporulación. Los plásmidos pueden perderse por el efecto de las condiciones del proceso, en particular algunos genes Cry, lo que modificaría a su vez la proporción de las diferentes proteínas que forman el cristal y por lo tanto su solubilidad y toxicidad². Las esporas de Bt no están directamente involucradas en la toxicidad, pero contribuyen a la mortandad del insecto, por lo que la mayoría de las preparaciones comerciales de Bt incluyen proteínas Cry y esporas.

A escala industrial el método de producción de Bt involucra el cultivo por lote. Experimentalmente, en cultivo por lote alimentado o en cultivo continuo, se ha logrado un incremento considerable de biomasa y esporas; sin embargo, la actividad insecticida obtenida, normalizada por la biomasa, es baja comparada con los cultivos en



Hongos: *Paecilomyces fumosoroseus*

A diferencia de otros agentes entomopatógenos, los cuales deben ser ingeridos para invadir al hospedero, los hongos generalmente penetran en el insecto a través de su cutícula externa, actuando como insecticidas de contacto. Esta cualidad única les permite ampliar el espectro de hospederos y atacar a insectos chupadores, entre otros. Las esporas de los hongos son las que inician el proceso patogénico, luego de su adhesión a la superficie de los insectos y constituyen la base de los productos insecticidas comerciales. Una vez adheridas, las esporas germinan y empiezan a penetrar a través de la cutícula gracias a una combinación de presión mecánica y acción enzimática que va degradando esta estructura externa. Dentro del insecto, los hongos empiezan rápidamente a crecer y a producir toxinas que les permiten evadir la respuesta inmune del insecto y que en muchos casos son la causa directa de la muerte del hospedero. Una vez que el hongo ha consumido todos los nutrientes y tejidos del insecto, emerge y produce esporas, continuando con el ciclo patogénico.

lote¹, lo que ha demostrado que no existe una relación directa entre la cuenta total de esporas y la producción de Cry. Por esta razón es importante ajustar las condiciones de proceso para obtener rendimientos altos de ambas. A la fecha hay una falta de información acerca de los procesos industriales para la producción de *Bt* y del efecto de variables de operación y medios de cultivo sobre su producción.

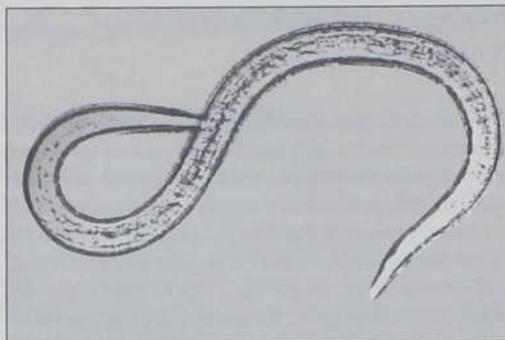
Por otra parte, las construcciones de *Bt*, con fusiones de las regiones reguladoras de los genes Cry con el gen reportero *lacZ*, han sido utilizadas en estudios de regulación de la expresión de los genes Cry, pero no para estudiar el efecto de las condiciones de proceso. Resultados recientes de nuestro grupo de investigación muestran que los genes reporteros son una herramienta útil para entender la correlación entre la expresión de los genes Cry, la fisiología de *Bt* y los parámetros de fermentación³. Además podrían utilizarse para establecer las condiciones de proceso necesarias para la producción de cristales con características especiales, como una proporción constante de las proteínas Cry.

Por otra parte, hemos encontrado que si bien el inicio de la esporulación es indispensable para la síntesis de Cry, posteriormente ambos procesos se separan y son independientes, de tal forma que no se requiere la maduración de la espora. Por ejemplo, obtuvimos una mutante *spo*⁻ de *Bt kurstaki* que forma cristales y se lisa. Esta mutante inicia la esporulación pero es incapaz de producir esporas maduras⁴.

Hasta la fecha se han identificado más de 750 especies de hongos entomopatógenos, pero solo unos cuantos se usan comercialmente, entre los que se encuentran *Beauveria* spp., *Metarhizium anisopliae*, *Verticillium lecanii* y *Paecilomyces fumosoroseus*.

P. fumosoroseus es un hongo capaz de infectar a una gran variedad de insectos plaga⁵, incluyendo a la mosquita blanca, *Bemisia* spp. Este insecto chupador se encuentra extendido en todo el mundo y anualmente causa millonarias pérdidas en la agricultura. *P. fumosoroseus* es capaz de infectar a la mosquita blanca en todas sus etapas de desarrollo, incluso huevecillos, y provocar altos niveles de mortalidad a una velocidad mayor que otros hongos entomopatógenos. Existen dos métodos para la producción comercial de esporas fúngicas: la fermentación en sustrato sólido, utilizando bolsas de arroz, y la fermentación en cultivo sumergido en fermentadores.

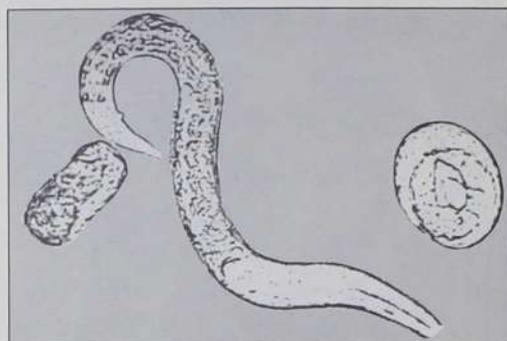
En sustratos sólidos los hongos forman conidios a partir de hifas aéreas. Esta clase de esporas son más resistentes a la desecación y tienen una vida de anaquel mayor que las esporas producidas en cultivo sumergido.



Sin embargo, el escalamiento del proceso es difícil por problemas asociados con la esterilización del sustrato, el intercambio gaseoso, el control de temperatura, el mantenimiento de cultivos axénicos y la recolección del producto⁶.

La fermentación en cultivo sumergido es el método más económico para la producción de esporas. Este tipo de cultivo permite mantener un medio nutricional homogéneo fácil de ser monitoreado, simplificando la producción y recolección del producto. Sin embargo, dependiendo de la composición del medio de cultivo, los tipos de esporas que se producen son diferentes. En *P. fumosoroseus*, los medios ricos favorecen la producción de blastosporas, que si bien son muy virulentas, también son muy susceptibles al daño por luz ultravioleta, temperatura y desecación. Medios pobres en nutrientes favorecen la formación de conidios sumergidos. Hemos encontrado que los conidios sumergidos de *P. fumosoroseus*, al igual que los aéreos, son más resistentes a la temperatura que las blastosporas y tienen una velocidad de germinación menor⁷.

Se ha observado también que en un cultivo sumergido *Paecilomyces fumosoroseus* produce ácido dipicolínico, que tiene actividad insecticida contra la mosquita blanca y que podría potenciar la acción del hongo; por ello no es recomendable separar las esporas del medio de cultivo fermentado⁸. Por otra parte, se ha establecido que en sustrato sólido el hongo presenta distintas respuestas a la luz: con luz azul esporula mientras que con luz roja no; además, con esta luz se modifica la morfología colonial. El hongo también desarrolla unas estructuras llamadas sinemas y exhibe fototropismo⁹.



Nemátodos: *Steinernema feltiae*

Los nemátodos son gusanos circulares simples, sin segmentos y carentes de apéndices: algunos son de vida libre, mientras que otros son parásitos de plantas o animales incluyendo insectos. Los géneros que se utilizan para el control biológico de plagas son *Heterorhabditis* y *Steinernema*. Estos nemátodos han establecido una asociación simbiótica con bacterias de los géneros *Photorhabdus* y *Xenorhabdus*, respectivamente. La simbiosis es necesaria para la reproducción masiva del nemátodo y su patogenicidad, además las bacterias constituyen su principal alimento¹⁰.

Dentro de la familia de las enterobacterias, *Xenorhabdus* es un bacilo dimórfico, Gram negativo, que presenta dos fases (I y II): la primera resulta ser mejor para promover la propagación del nemátodo y es la que se requiere para la actividad entomopatógena¹¹.

Steinernema ataca principalmente a larvas de dípteros y orugas de lepidópteros que viven en el suelo y se utiliza para el control de plagas en cultivos, como papa, fresa, champiñón y flores.

S. feltiae durante su ciclo de vida pasa por las etapas de huevecillo, juveniles 1, 2 y 3, adultos (hembras y machos). Cuando se agotan los nutrientes los juveniles 3 se diferencian a las formas de resistencia IJ (infectivas juveniles), que logran sobrevivir sin alimento y por largos períodos de manera natural. Una vez que las fases IJ localizan al insecto hospedero, lo invaden por sus aperturas naturales o directamente a través de la cutícula

y liberan a la bacteria simbiote (contenida en su intestino), que produce toxinas y otros metabolitos que son la causa de la muerte del insecto¹⁰. El ciclo de vida se repite mientras existan condiciones adecuadas y al final las fases IJ salen del cadáver del insecto en busca de nuevos hospederos. Por sus características de resistencia, los productos comerciales están formulados precisamente con fases IJ, incluyen a la bacteria simbiote y son producidos en larvas de insecto o en fermentadores.

Hemos encontrado que los nemátodos adultos de *S. feltiae* resisten los esfuerzos de corte generados en medios líquidos agitados y que las formas juveniles 2 son las más sensibles. Combinando los efectos de turbulencia y transferencia de oxígeno se lograron obtener concentraciones de 600 000 nemátodos/ml, en frascos cilíndricos agitados orbitalmente¹², cifra 3 veces mayor a la más alta publicidad en la literatura.

Actualmente, nuestro grupo de investigación realiza estudios para caracterizar el movimiento de los nemátodos y de las burbujas de aire en una columna aereada y correlacionar estos patrones de movimiento y velocidades con su reproducción.

Agradecimientos: al CONACYT por financiamiento (proyectos 28274-N, Z-001 y 38522-B) y las becas de Eric López y Yolanda Reyes; al SNI por la beca como asistente de investigador de Alí Asaff; a los doctores Gabriela Olmedo, Alfredo Herrera, Jesús Aguirre, Bibiana Chávez, Carlos Cerda, Florencio Sánchez por su apoyo en las investigaciones.



Notas

1. E.V. López-y-López, N. Chavarria-Hernández, P. Fernández-Sumano, M. de la Torre, *Recent. Res. Devel. Biotech. & Bioeng.* **3**,1 (2000).
2. A. Aronson, *FEMS Microbiol. Lett.* **117**, 21 (1994).
3. E.V. López-y-López, U. Gaona, en preparación.
4. P. Sierra, en preparación.
5. P. Smith, *Biocontrol. News and Information* **14**, 71N (1993).
6. M.A. Jackson, *J. Ind. Microbiol. Biotech.* **19**, 180 (1997).
7. A.L. Carmona-Brito, tesis de licenciatura, ENCB-IPN (2002).
8. A. Asaff, tesis de maestría, Cinvestav (2001).
9. I. Sánchez, en preparación.
10. R.U. Ehlers, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **56**, 623 (2001).
11. J.L. Woodring, H.K. Kaya, *Steinernematid and Heterorhabditid Nematodes: a Handbook of Biology and Techniques* (Arkansas Agric. Exp. Stn., EUA, 1988).
12. N. Chavarría, tesis de doctorado, Cinvestav (2001).

Programa de posgrado

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN



**ANIVERSARIO
Cinvestav**

Ciencias Biológicas y de la Salud

Doctorado

Biología celular
Biomedicina molecular
Bioquímica
Ciencias marinas
Farmacología
Neurobiología celular y molecular
Fisiología celular y molecular
Fisiología médica y experimental
Genética y biología molecular
Patología experimental
Toxicología

Maestría

Biología celular
Biomedicina molecular
Bioquímica
Biología marina
Farmacología
Neurobiología celular y molecular
Fisiología celular y molecular
Fisiología médica y experimental
Genética y biología molecular
Patología experimental
Toxicología

Ciudad

Distrito Federal
Distrito Federal
Distrito Federal
Mérida
Distrito Federal
Distrito Federal
Distrito Federal
Distrito Federal
Distrito Federal
Distrito Federal
Distrito Federal

Informes:

México, D.F. Zacafenco

Tel: (01) 5747 3800,
Ext.: 3886 y 3888
<http://www.cinvestav.mx>

Sur

Tel: (01) 5483 2800
<http://www.cinvestav.mx/die>

Ciencias Exactas y Naturales

Doctorado

Ciencias químicas
Física
Física aplicada
Física teórica
Matemáticas

Maestría

Ciencias químicas
Física
Física aplicada
Matemáticas

Ciudad

Distrito Federal
Distrito Federal
Mérida
Mérida
Distrito Federal

Irapuato, Gto.

Tel (4) 62 3 96 58
62 3 96 06
<http://www.ira.cinvestav.mx>

Ciencias Sociales y Humanidades

Doctorado

Investigaciones educativas
Matemática educativa

Maestría

Investigaciones educativas
Matemática educativa
Ecología humana

Ciudad

Distrito Federal
Distrito Federal
Mérida

Guadalajara, Jal.

Tel: 31 34 55 70
Fax: 31 34 55 79
<http://www.gala.cinvestav.mx>

Tecnología y Ciencias de la Ingeniería

Doctorado

Biotecnología
Biotecnología de plantas
Control automático
Ingeniería eléctrica
Opciones:
Bioelectrónica
Computación
Comunicaciones
Electrónica del estado sólido
Mecatrónica
Ingeniería eléctrica
Opciones:
Control automático
Telecomunicaciones
Materiales
Ingeniería metalúrgica

Maestría

Biotecnología
Biotecnología de plantas
Control automático
Ingeniería eléctrica
Opciones:
Bioelectrónica
Computación
Comunicaciones
Electrónica del estado sólido
Mecatrónica
Ingeniería eléctrica
Opciones:
Control automático
Telecomunicaciones
Materiales
Ingeniería metalúrgica
Ingeniería cerámica

Ciudad

Distrito Federal
Irapuato
Distrito Federal
Distrito Federal
Guadalajara
Querétaro
Santillo
Santillo

Mérida, Yuc.

Tel: (9) 981 29 31
981 29 05
<http://www.mda.cinvestav.mx>

Querétaro, Qro.

Tel: (4) 22 11 9913
22 11 9940
<http://www.cinvestav.mx/queretaro>

Santillo, Coah.

Tel: (8) 488 1019
488 1979
<http://www.santillo.cinvestav.mx>

Papel ecológico de la flora rizosférica en fitorremediación

J. Pérez Vargas, G. García Esquivel y F. Esparza García

Rizosfera

El término rizosfera fue usado primeramente por Hiltner en 1904 asignando la siguiente definición: "Es el volumen de suelo que recibe influencia de la raíz". Esta delgada capa de suelo ha sido estudiada intensamente en los últimos años; el principal aporte es reconocer a la rizosfera como un complejo ejemplo de equilibrio ecológico que se establece entre la flora microbiana y las raíces de las plantas gracias a las relaciones biológicas de tipo sinérgico o comensalismo. La composición inorgánica del suelo también influye sobre la planta y la flora microbiana. Del tipo de suelo dependen el contenido de humedad y la aireación, que a su vez influyen notablemente en la colonización microbiana. El equilibrio ecológico manifiesto en la rizosfera corresponde a un equilibrio de los ciclos geobiológicos en esta zona.

A partir de los avances en el conocimiento del funcionamiento de la rizosfera se ha visto la necesidad de dividir este espacio en endorizosfera y ectorizosfera dependiendo de la capacidad invasiva de la flora microbiana; si coloniza sólo la superficie de la raíz, conocida como rizoplano, pertenece a la ectorizosfera y si invade las células de las capas más superficiales de la raíz corresponde a la zona conocida como endorizosfera. Este fenómeno es muy interesante en ecología y muestra la capacidad invasiva de los microorganismos a la raíz. El ejemplo máximo al respecto son las asociaciones conocidas como micorrizas, un maravilloso caso de interacción biológica positiva planta-microorganismo que no se aborda en este artículo.

Los autores son miembros del Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del Cinvestav. Dirección electrónica: fesparza@mail.cinvestav.mx



Trinidad en equilibrio ecológico

Lynch¹ ha descrito el medio ambiente rizosférico como una trinidad de entidades en interacción en la que intervienen la planta, los microorganismos y el suelo en una compleja interacción de beneficios mutuos en la parte biótica y una definida intervención de la parte abiótica de la trinidad que es el suelo. Un ejemplo de esta interacción se da cuando la raíz exuda azúcares como monómeros o polisacáridos, aminoácidos y ácidos orgánicos que son aprovechados por las poblaciones microbianas. Los microorganismos rizosféricos tienen también efecto sobre el crecimiento de las plantas: incrementan el reciclaje y la solubilización de nutrientes minerales, aportan por síntesis vitaminas, aminoácidos, auxinas, citoquininas y giberelinas que estimulan el crecimiento de la planta.

Contaminación por hidrocarburos del petróleo

Las propiedades físicas del suelo se ven muy afectadas por la contaminación con hidrocarburos: al aglutinarse las partículas del suelo se generan estructuras más gruesas que cubren la superficie de las partículas y el espacio poroso y afectan la aireación del suelo. La película que cubre las partículas es hidrófoba y disminuye la retención de agua. Por otro lado el contenido de materia orgánica

del suelo se incrementa notablemente, así como la acidificación y la saturación de bases y la capacidad de intercambio catiónico. Todo estos factores acarrearán una disminución de la fertilidad del suelo.

Es fácil imaginar el terrible impacto que la contaminación de hidrocarburos del petróleo puede presentar en el equilibrio ecológico de la rizosfera: cuando las concentraciones son tóxicas, los hidrocarburos del petróleo inhiben la mesofauna del suelo; en casos de toxicidad aguda, se inhibe la geminación y el rebrote de meristemas y la elongación radicular disminuye, así como el contenido de clorofila y la fotosíntesis. No obstante, se ha observado que a bajas concentraciones, los hidrocarburos estimulan el crecimiento de los vegetales.

Recuperación de suelos contaminados

Existen diferentes procesos biotecnológicos para limpiar los suelos contaminados. El principio básico es destruir o modificar los materiales contaminantes con el fin de que sean menos dañinos o dejen de serlo por completo. Según el lugar en donde se realiza se denominan *in situ*, *on site* y *ex situ*, y según al tipo de tratamiento son de naturaleza fisicoquímica o biológica. Todos los procesos de remediación biológica aprovechan la capacidad degradativa de los microorganismos del suelo y en algunos casos también la capacidad depuradora de las plantas.

Biorremediación y fitorremediación

La biorremediación es una alternativa biológica para el tratamiento de suelos contaminados, e involucra el uso de microorganismos para remover contaminantes orgánicos presentes en el suelo, CO_2 o diversos metabolitos como productos intermediarios. La fitorremediación se refiere al uso de las plantas con capacidad para remover los contaminantes y con resistencia para crecer en suelos contaminados con hidrocarburos. Estas plantas son capaces de fitodegradar y estimular a poblaciones de microorganismos en los sistemas rizosféricos. Existe un gran número de este tipo de plantas y agrupan especialmente una buena cantidad de pastos.

Se ha demostrado que las plantas pueden metabolizar o inmovilizar hidrocarburos del petróleo por medio de numerosos procesos. Por otro lado, el metabolismo de hidrocarburos aromáticos en plantas es limitado. Concentraciones altas de contaminación también pueden afectar la exudación de la raíz de azúcares, los factores de crecimiento y los ácidos orgánicos con el consiguiente rompimiento del equilibrio rizosférico, la disminución de microorganismos totales (hongos y bacterias), así como bacterias asimiladoras de nitrógeno y fijadores de nitrógeno atmosférico.

En condiciones de contaminación con hidrocarburos en concentración de baja toxicidad, el sistema rizosférico proporciona condiciones nutricionales y de aeración favorables para el aumento de las poblaciones y la diversidad de la flora. Estas poblaciones tienen capacidad de biodegradar los hidrocarburos del petróleo por oxidación metabólica o por co-oxidación. En varios estudios de las poblaciones microbianas existentes en suelos contaminados con hidrocarburos de petróleo se ha encontrado un alto porcentaje de bacterias libres fijadoras de nitrógeno². Esta situación acarrea varias preguntas: ¿qué factores influyen en esta selección microbiana, cuál es el papel de una flora microbiana en alta capacidad de fijar nitrógeno atmosférico?

Biorremediación con queroseno

El queroseno puede ser liberado al suelo por derrames y por infiltraciones de tanques de almacenamiento subterráneos. Los efectos del queroseno en la microflora

del suelo pueden reducir la población pero no inhiben la actividad metabólica de la flora en la zona contaminada. La flora microbiana degrada preferentemente la fracción parafínica y con menos intensidad la no parafínica, o sea estructuras cíclicas y aromáticas. Muchos microorganismos pueden producir emulsificantes cuando están en contacto con los hidrocarburos: cuando el área de superficie disminuye, la biomasa se incrementa en forma exponencial.

La capacidad degradativa de la flora microbiana de la zona rizosférica puede ser empleada en la biorremediación de suelos como una tecnología atractiva por su bajo costo. Las técnicas de biorremediación que usan microorganismos pueden combinarse con el uso de plantas, que dan lugar a la fitorremediación; según la factibilidad de la eliminación del contaminante se han descrito varios aspectos de la fitorremediación: fitoextracción, que consiste en la concentración de los contaminantes en los tejidos de la planta siguiendo la degradación biótica o abiótica, por la volatilización o transpiración hasta la atmósfera por vía del follaje o la inmovilización en la zona de la raíz³.

Fitorremediación con queroseno

Hasta ahora se han presentado las atractivas posibilidades de recuperación de suelos contaminados por las técnicas denominadas como biorremediación, y entre éstas la fitorremediación que establece el empleo de las plantas y la flora microbiana en la zona rizosférica. En seguida presentaremos algunos aspectos de nuestras experiencias en procesos de remediación.

En estudios de fitorremediación en suelos contaminados con queroseno (5000 ppm) y en cultivos con gramíneas, se encontró un predominio de bacterias libres fijadoras de nitrógeno. Ante esta situación, la primera pregunta que surge es, ¿cuál es el papel de estas bacterias libres fijadoras de nitrógeno? Iniciamos un estudio para conocer la capacidad fisiológica y bioquímica de estos microorganismos para degradar el queroseno y estudiar el papel de los hidrocarburos del queroseno como fuente de carbono y energía para mantener la fijación de nitrógeno molecular de la flora predominante. Se aisló un cultivo mixto denominado 11K con capacidad para

remover el queroseno en un 70%. De este cultivo mixto se aislaron tres cultivos predominantes: el denominado 11KMO con capacidad de degradar al queroseno con un 78%, y el cultivo 11KP con una capacidad de remoción del 62%; el tercero, 11KMT, degradó sólo al 30%.

Identificamos posteriormente la capa 11KMO como *Azotobacter nigricans* y la capa 11KMT como *Derrxia gummosa*. La capa 11KMT no pudo ser identificada pero se aislaron varios cultivos, denominados CS, CB, CAM y CANA. El cultivo CS fue identificado como *Azomonas* con capacidad para fijar nitrógeno atmosférico y degradar el queroseno en cantidades siempre menores que el consorcio. Los cultivos constituyentes del consorcio mostraron capacidad para degradar el queroseno y los hidrocarburos lineales como el dodecano; en el ensayo de hidrocarburos aromáticos como el xileno, sólo pudo ser degradado por las capas CS y CB; la capa CAM sólo degradó hidrocarburos lineales y el cultivo CANA no tiene capacidad por sí solo para crecer con queroseno, xileno o dodecano pero forma parte del consorcio aislado de la rizosfera. Todos los microorganismos ensayados son capaces de sostener la fijación de nitrógeno atmosférico por la degradación de queroseno, dodecano o xilenos. Dentro de la complejidad de la rizosfera es muy difícil asignar un papel a la flora microbiana en los procesos de fitorremediación y más difícil aún atribuir una capacidad definida de remoción de los contaminantes a uno de los géneros. Para conocer la capacidad degradativa de los microorganismos rizosféricos en los procesos de fitorremediación es necesario aislarlos y estudiar su capacidad degradativa y de fijación de nitrógeno atmosférico en cultivos puros.

Por otro lado, no tenemos la experiencia para asegurar que la capacidad degradativa mostrada en los ensayos de degradación de contaminantes por los cultivos puros sea la misma que se pudiera presentar en la complejidad de la rizosfera. Sin embargo, es posible seleccionar capas o cultivos con alta capacidad degradativa para ser utilizados como inóculo a suelos contaminados y esperar su implantación y equilibrio ecológico con la flora rizosférica nativa. En biotecnología ambiental esta situación es conocida como un proceso de bio-aumentación.

Hemos tratado de dar a conocer en este artículo el fino equilibrio ecológico que mantiene la vegetación en nuestro planeta a través de la zona rizosférica, cómo puede ser afectada y cómo puede responder ante la contaminación ambiental. El estudio de la biología de la rizosfera es un tema de amplia y constante investigación y continúa la esperanza de contar con procesos de fitorremediación con mayor control y efectividad en un futuro cercano.

Notas



1. J.M. Lynch, *The Rhizosphere* (John Wiley, 1990).
2. E.G. García, tesis de maestría, Cinvestav (2001); tesis de maestría, Colegio de Postgraduados (1999).
3. V.J. Pérez, tesis de doctorado, Cinvestav (2002).
4. C.M.C. Rivera, tesis de doctorado, Colegio de Postgraduados (2001).

Biotecnología microalgal

Rosa Olivia Cañizares Villanueva

En virtud de la enorme importancia que tienen las microalgas, tanto en su habitat natural como cuando son empleadas por el hombre, su cultivo en condiciones controladas ha abierto numerosas posibilidades para su conocimiento, independientemente de su importancia económica. La facilidad de mantenerlas en cultivo, entre otros aspectos, ha permitido ampliar el conocimiento sobre sus diferentes procesos fisiológicos y de interpretarlos con vistas a posibles aplicaciones.

Durante más de cincuenta años se ha hecho evidente el gran progreso y alcance en los aspectos básicos de la algología y la ficología y en sus aplicaciones: desde los estudios sobre la fotosíntesis de microalgas unicelulares (e.g., *Chlorella*), su cultivo continuo y masivo al aire libre y en fotobiorreactores, hasta el gran abanico de usos de los productos derivados de estas microalgas, así como su contribución efectiva en acuicultura y biorremediación.

La biotecnología microalgal ha atraído un interés creciente desde los años 80. Los algólogos han empezado a trabajar con los ingenieros y los químicos en esta área y el siguiente paso ha sido involucrar a expertos en comercialización y empresarios con el fin de enlazar las instituciones de investigación y desarrollo. Esta tendencia ha enfocado sus estudios en unos cuantos géneros de microalgas, como *Chlorella*, *Dunaliella*, *Haematococcus* y *Spirulina*; pero otras especies también están atrayendo el interés de investigadores y compañías con miras a producir productos de alto valor agregado (e.g., ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga, carotenoides y pigmentos).

La Dra. Rosa Olivia Cañizares Villanueva es investigadora titular del Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del Cinvestav. Dirección electrónica: rcanizar@mail.cinvestav.mx



Figura 1. *Calothrix* sp., Cianobacteria filamentosas aislada de arrozales del Estado de Morelos.

Un factor importante que limita la comercialización de la biotecnología microalgal es el costo de producción de la biomasa algal. Este costo debe reducirse de manera significativa para que dichos productos puedan ser competitivos en los mercados nacionales e internacionales y satisfagan las preferencias de los consumidores. Los requisitos de registro y reglamentación podrían ser otros factores limitantes, aunque son más fáciles de resolver que la disminución de los costos de producción¹.

Entre los principales carotenoides, cuyo uso está legalmente permitido en los alimentos por la mayoría de los países, están el β -caroteno, licopeno, luteína, zeaxantina, cantaxantina, astaxantina, rodoxantina, capaxantina, bixina y crocetina, que se obtienen de bacterias, hongos, plantas y microalgas². Los productos actualmente disponibles y comercializados son β -caroteno, astaxantina, ficobilinas, ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga como el ácido docosahexaenoico (DHA) y compuestos marcados con isótopos.

El mercado de β -caroteno está en fase de reconversión debido al hecho que este compuesto no es un alimento y sólo debe servir para subsanar la carencia de vitamina A. El 1 de abril del 2000 la Academia Nacional de Ciencias de los EUA advirtió que la ingestión de altas

dosis de β -caroteno puede resultar perjudicial³. En opinión de los expertos el mercado del futuro es el de los piensos; por consiguiente hace falta reducir el precio del producto natural al nivel del sintético. La utilización de *Dunaliella* se orientará a la producción de otros carotenoides en vez de β -caroteno.

Astaxatina

Un producto que actualmente se cotiza alto en el mercado es la astaxantina que es un cetocarotenoide rojizo ampliamente utilizado en la industria acuícola para intensificar el color de salmones, truchas, camarones, langostas, cangrejos y peces de ornato; también se emplea como alimento de pollos para obtener carne y huevos con yemas de apariencia más agradable; que posee una actividad antioxidante mayor que el β -caroteno y el α -tocoferol⁴. Últimamente se le han atribuido propiedades nutraceuticas⁵. Entre las principales fuentes naturales de astaxantina está la microalga *Haematococcus pluvialis* que tiene la capacidad de acumularla en altas concentraciones (2 a 5% en base seca), lo que implica el precio elevado de venta del alga y justifica una inversión considerable en el proceso de producción, incluyendo la cosecha y el procesamiento.



En Europa se utilizan 100 ton de astaxantina al año para pigmentar 500 000 ton de salmón. Las compañías BASF y Roche controlan este mercado¹. En Sede Boquer, Israel, se ha obtenido una concentración de 6 a 8% de astaxantina en las células de *Haematococcus* gracias a un control preciso del ciclo de crecimiento de la microalga; la calidad del producto (*Caryophyll pink*) es excelente, tal como fue reconocido por Roche y Cyanotech³.

La utilización de microalgas para la producción de compuestos químicos finos, biomasa algal para consumo humano y animal, además de su aplicación en diferentes procesos como en el tratamiento de aguas residuales, constituye una realidad desde hace más de veinte años. No obstante, en la actualidad continúan de manera muy intensa las investigaciones para el desarrollo de nuevos productos y procesos, además del mejoramiento de los ya existentes. En la industria acuícola existe la necesidad de nuevas especies de microalgas que resulten más

adecuadas para la acuicultura tropical y de especies nutricionalmente superiores para el cultivo de animales como el abulón. Entre los productos que se espera alcancen la etapa de comercialización durante la próxima década se encuentra una amplia variedad de carotenoides, incluyendo la luteína y el licopeno, algunos compuestos biológicamente activos que tienen aplicación en farmacia y en salud animal y posiblemente nanomateriales de amplia aplicación industrial⁶.

Cianobacterias

Otro grupo de gran importancia son las cianobacterias, procariotes que llevan a cabo fotosíntesis oxigénica y que en los últimos años, a medida que se ha avanzado en el conocimiento de su fisiología, han extendido su potencial de aplicación. Estos organismos han sido muy utilizados en investigaciones de carácter básico (estudio de los procesos de fotosíntesis y del metabolismo de nitrógeno y carbono, así como de adaptación a diferentes cambios ambientales) y aplicado (como fuente de vitaminas, proteínas y por su utilización potencial como biofertilizantes). Se espera que el uso de herramientas genéticas disponibles hoy en día constituya un área de investigación muy interesante en el futuro próximo para manipular el genoma de las cianobacterias con el objeto de mejorar procesos de interés biotecnológico, tales como la obtención de productos, la construcción de cepas útiles como biosensores y cepas capaces de adaptarse a las condiciones de estrés ambiental, lo que seguramente contribuirá a un mejor aprovechamiento de su potencial.

Un aspecto muy interesante relacionado con la utilización de genes procedentes de cianobacterias es su introducción en los cloroplastos de plantas superiores para mejorar su eficiencia fotosintética en el metabolismo del carbono y otros procesos metabólicos potenciales que tienen lugar en el cloroplasto. Por otra parte, se sabe que las cianobacterias constituyen una fuente excelente de metabolitos naturales con actividades antibacterianas, antivirales, antifúngicas y actividad citotóxica o citostática. Lo anterior resulta de gran importancia si consideramos que ha ido en aumento la resistencia de bacterias patógenas a los antibióticos convencionales, por lo que la búsqueda de substancias novedosas con actividad antibacteriana en contra de cepas resistentes se ha reforzado⁶.

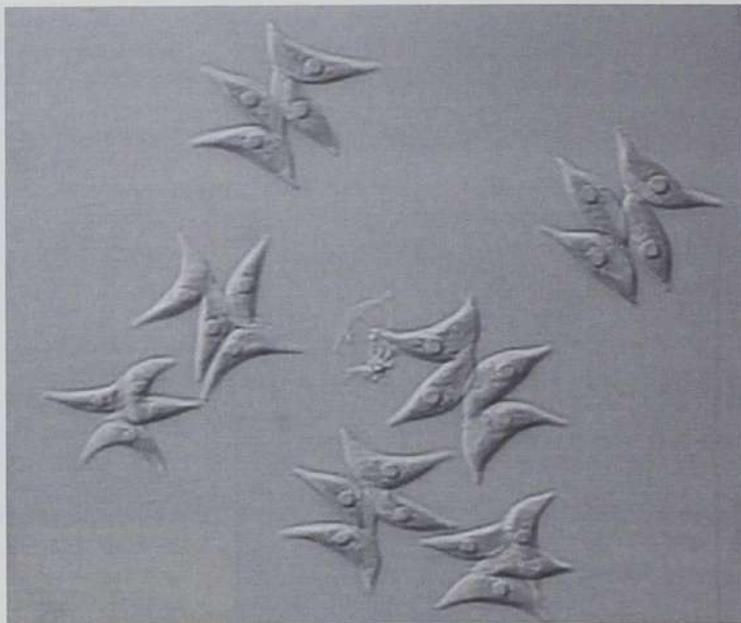


Figura 2. *Scenedesmus incrassatulus*, una microalga verde (clorofíceas), eucariótica, que crece en pequeñas colonias de 2 a 8 miembros.

Ácidos grasos

Recientemente ha aumentado el interés por los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga debido a que juegan un papel muy importante en diversas funciones biológicas, incluyendo el desarrollo cerebral, la reproducción, algunas respuestas inflamatorias y la homeostasis, además de ser de gran importancia en la industria acuícola. Tradicionalmente la principal fuente de estos compuestos ha sido el aceite de pescado y el aumento en la demanda de estos compuestos ha creado la necesidad de buscar fuentes alternativas para su producción. Por otra parte, se sabe que los peces adquieren los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga a partir de las microalgas que consumen como parte de su dieta. En principio, la purificación de estos compuestos a partir de microalgas debería ser más sencilla que a partir del aceite de pescado, ya que su contenido en ciertas algas constituye entre el 25 y 30% de los ácidos grasos totales. Por otra parte, el perfil de los ácidos grasos en los aceites de algas es menos complejo que en los extractos de aceite de pescado. Las microalgas marinas pueden constituir

una alternativa interesante al uso del aceite de pescado ya que una característica importante de algunas de ellas (e.g., *Phorphyridium cruentum*, *Phaeodactylum tricoratum*, *Monodus subterraneus* y *Cryptocodinium conchii*) es su alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga⁶.

Biorremediación y biosensores

Con relación a la aplicación biotecnológica de las microalgas, su utilización en procesos de biorremediación constituye una alternativa atractiva debido a las diferentes ventajas que estos organismos presentan (e.g., autotrofia, capacidad para utilizar los nutrientes presentes en las aguas residuales). Los principales enfoques de los procesos que utilizan microalgas y cianobacterias son en la remoción de nutrientes y de metales pesados presentes en las aguas residuales, aunque también se encuentra bien documentada su capacidad para remover radionúclidos a partir de efluentes⁷. Entre los géneros que han sido utilizados para estos propósitos se encuentran las

clorofíceas *Chlorella* y *Scenedesmus* y las cianobacterias filamentosas *Phormidium* y *Spirulina*. Un tipo de contaminantes ambientales, que ha generado gran preocupación por su creciente aumento en los ecosistemas y estimulado el interés en su degradación, son los compuestos aromáticos y otras sustancias recalcitrantes y actualmente se llevan a cabo investigaciones que involucran el uso de consorcios de microalgas con fines de biorremediación. Otro aspecto relacionado con la biorremediación es la producción y utilización de polisacáridos extracelulares producidos por cianobacterias (*Synechococcus* sp., SPH 01, *Phormidium* sp.) como fuente de grupos funcionales para la captación de metales pesados.

Una posibilidad de aplicación novedosa que brindan las microalgas y cianobacterias es su uso como biosensores para la detección de compuestos tóxicos (e.g. 2,4,6-trinitrotolueno, herbicidas) que producen daños a los ecosistemas terrestre y acuático en todo el mundo. Existen reportes sobre el bajo costo de estos biosensores, de su facilidad de operación, rapidez y reproducibilidad en su respuesta⁶.

El futuro de la biotecnología microalgal enfrenta una serie de desafíos relacionados con el progreso y los descubrimientos de los campos de fisiología algal, bioquímica y genética, y con el adiestramiento eficiente del cultivo de microalgas en biorreactores cerrados. Estos desafíos en opinión de los especialistas, pueden ser resueltos a través de los esfuerzos nacionales, particularmente en los países más adelantados que iniciaron su investigación y desarrollo en el área hace más de medio siglo. También puede contribuir a su solución la cooperación regional e internacional, donde los países en desarrollo pueden jugar un papel muy importante¹.

Experiencias en el Cinvestav

En el Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del Cinvestav las investigaciones sobre biotecnología de microalgas se iniciaron en 1990 y desde entonces se han venido desarrollando proyectos relacionados con algunos de los aspectos mencionados anteriormente. A través de esos años se ha contado con la colaboración de grupos afines en México (UNAM, IPN, UAM) y en el extranjero (Cuba, Colombia) a través de programas de colaboración

internacional apoyados por el CONACyT. Entre los proyectos desarrollados por nuestro grupo en estos 12 años, en los que se han utilizado microalgas y cianobacterias, se encuentran la obtención de biomasa de microalgas marinas y su utilización en maricultura: se estudió el potencial de la biomasa de una clorofíceas del género *Scenedesmus* para ser empleada en cosméticos, tratamiento terciario de aguas residuales (porcinas, industriales) para la remoción de nitrógeno, fósforo y metales pesados (Cd, Cr, Zn, Cu). En estos estudios hemos empleado cultivos en suspensión e inmovilizados en diferentes soportes (e.g., k-carragenina, alginato de sodio, espuma de poliuretano). Otro interés diferente a los proyectos de biotecnología ambiental que nos ocupa actualmente, y hacia donde estamos dirigiendo esfuerzos, es la obtención de bioproductos de alto valor como pigmentos, particularmente ficocianina, β -caroteno y astaxantina, a partir de la microalga *Haematococcus pluvialis* y la cianobacteria *Calothrix* sp, la obtención de ácidos grasos poliinsaturados de diatomeas y de *Calothrix* sp. y la obtención de polisacáridos por la cianobacteria *Phormidium* sp. Los niveles de experimentación en nuestro laboratorio van desde mesa hasta reactores de diferente diseño y capacidad, algunos de los cuales han sido construidos en el taller del Cinvestav.

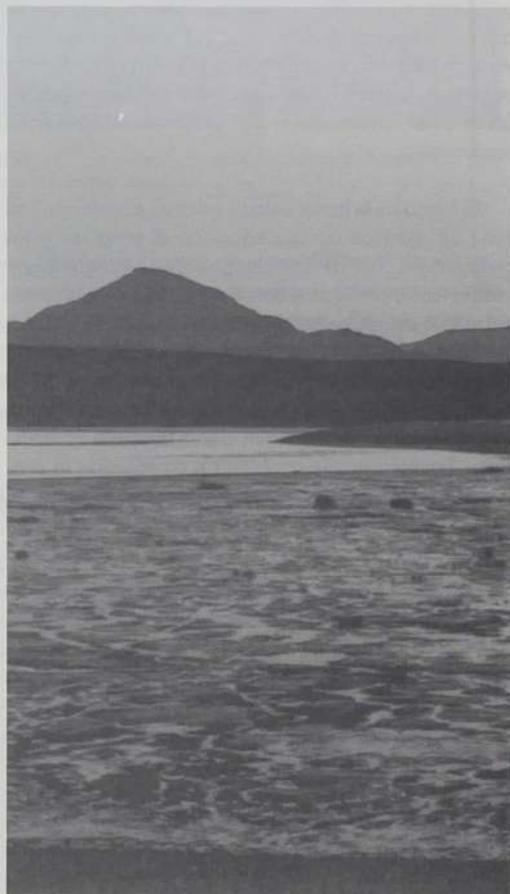
En el aspecto académico y contando con la colaboración de otras instituciones (UAM, CICESE, B.C. y la ENCB-IPN), nuestro grupo ha tenido a su cargo la organización de cuatro cursos internacionales sobre temas selectos en el cultivo de las microalgas. El último de ellos se llevó a cabo en abril del año en curso y fue financiado por la UNESCO. Con excepción del tercer curso, el Cinvestav ha sido la sede de estos encuentros.



Notas

1. A. Sasson, 2nd Int. Workshop on Microalgal Biotechnology and 4th Int. Course on Selected Topics in Microalgal Cultures, Cinvestav (abril de 2002).
2. R. Olvera-Ramírez, R.O. Cañizares-Villanueva y E. Ríos-Leal, *An. Esc. Nac. Cienc. Biol.* **46**, 77 (2000).
3. A. Vonshak, op. cit.

4. Y. Yamane, K. Higashida, N. Nishio, *Appl. Environ. Microbiol.* **63**, 4471 (1997).
5. M. Kobayashi, y T. Okada, *Biotechnol. Lett.* **22**, 177 (2001).
6. Algal Biotechnology, 1st Congress Int. Soc. Appl. Phycology; 9th. Int. Conf. Appl. Algology (Almería, España, 2002).
7. J.B. Pirszel, *J. Ind. Microbiol.* **14**, 319 (1995).



Plantas como biorreactores para la producción de biomoléculas y remoción de xenobióticos

G. Calva-Calva, F. Esparza García, J. Pérez Vargas, V. M. Martínez Juárez, S. Silva Cervantes y C. López Sánchez

Los considerables adelantos de la última década en el área de la biotecnología vegetal molecular han dado la oportunidad de que las plantas puedan concebirse como verdaderos biorreactores para la producción de metabolitos secundarios o productos naturales y de otras biomoléculas como anticuerpos^{1,2}, antígenos^{3,4} y proteínas^{5,6}, así como para la remoción de xenobióticos, compuestos tóxicos para el medio ambiente⁷. Este artículo hace una remembranza de como la manipulación genética y molecular del metabolismo secundario ha dado lugar a esas oportunidades y espontáneamente a nuevas estrategias experimentales y procesos biotecnológicos para la obtención de productos naturales y transgénicos.

La falsa promesa

Las plantas han sido la principal fuente de alimentos y de metabolitos secundarios o productos naturales desde tiempos prehistóricos⁸. Estos compuestos, que pueden ser fármacos, insecticidas, saborizantes, aromas y colorantes, se utilizan comunmente como materias primas o principios activos en la industria química, farmacéutica, agrícola y alimentaria (tabla 1). Sin embargo, debido a los problemas ambientales provocados por el hombre y a la sobreexplotación de las fuentes naturales, muchas especies vegetales están en peligro de extinción o se han extinguido ya. Es comprensible entonces que se esté realizando un gran esfuerzo para obtener estos compuestos usando técnicas alternativas a las naturales, como el cultivo de células, tejidos y órganos vegetales en bio-

Los autores son miembros del Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del Cinvestav. Dirección electrónica: fesparza@mail.cinvestav.mx

Tabla 1. Productos naturales e industria de aplicación.

| Industria | Producto | Planta | Aplicación |
|--------------|--|--|--|
| Química | Diosgenina Shikonina Soliasodina | <i>Dioscorea deltoidea</i> <i>Lithospermum erythrorhizon</i> <i>Solanum chrysotrichum</i> | Síntesis de anticonceptivos Precursor de antraquinonas Síntesis de esteroides |
| Farmacéutica | Codeína Quinina Digoxina Escopolamina Vincristina Trigonelina | <i>Papaver somniferum</i> <i>Cinchona ledgeriana</i> <i>Digitalis lanata</i> <i>Datura stramonium</i> <i>Catharanthus roseus</i> <i>Trigonella foenum-graecum</i> | Analgésico Antipalúdico Cardiotónico Antihipertensivo Anticancerígeno Anticancerígeno |
| Alimentaria | Shikonina Ginsenósido Capsaicina | <i>Lithospermum erythrorhizon</i> <i>Panax ginseng</i> <i>Capsicum spp.</i> | Pigmento Saborizante Saborizante |
| Agrícola | Capsaicina | <i>Capsicum spp.</i> | Insecticida |

reactores que se han investigado ampliamente durante los últimos 30 años. Estas técnicas, que inicialmente incluían cultivos sumergidos de células en suspensión, células inmovilizadas, brotes, embriones y raíces^{9,11}, posteriormente abarcaron cultivos de células y raíces transformadas y la obtención de plantas transgénicas^{2,5}.

El potencial del cultivo de células, tejidos u órganos vegetales en biorreactores, de manera similar a los procesos de fermentación con microorganismos, para la producción de metabolitos secundarios o productos naturales fue demostrado plenamente por Zenk y sus colaboradores en 1976. Lograron establecer cultivos de células en suspensión de *Catharanthus roseus* capaces de producir serpentina y ajmalicina, dos alcaloides del indol característicos de esta planta⁹. Algunas de las ventajas de los cultivos de células vegetales respecto a las técnicas agrícolas tradicionales que han sido enumeradas por diversos autores^{10,11} son: (1) independencia de las variaciones de factores climáticos, (2) sistemas de producción definidos y constantes, (3) consistencia en los rendimientos y la calidad del producto, (4) mínimas necesidades de espacio para el desarrollo de la producción, (5) población celular uniforme y facilidad de extracción del producto, (6) independencia de aspectos políticos. No obstante estas ventajas, después de más de 25 años de investigación sólo cuatro procesos se han podido establecer a nivel comercial: Shikonina, de *Lithospermum erythrorhizon* por la compañía Mitsui

Petrochemical Ind. Ltd¹³, Gingenósido de *Panax ginseng* y Purpurina de *Rubia akane* por Nitto Denko Corp¹⁰, y Taxol de *Taxus cuspidata* por Phyton Inc¹⁴ en asociación con Bristol-Myers Squibb Co. Esto se ha debido principalmente a la baja velocidad de crecimiento de estos cultivos (en comparación con los de microorganismos), baja productividad volumétrica, bajos rendimientos del producto, altos costos de proceso, inestabilidad del producto en los cultivos y principalmente al pobre conocimiento del metabolismo secundario a nivel de intermediarios metabólicos, sus enzimas y de su regulación metabólica. El reconocimiento de estos problemas desde finales de la década de los ochenta¹² originó que desde entonces las investigaciones sobre la producción de metabolitos secundarios se dirigieran hacia la aplicación de diversas estrategias para incrementar la productividad de estos compuestos en los cultivos (tabla 2). La aplicación de esas estrategias, en especial la genética y la biología molecular en combinación con la bioquímica para estudiar el metabolismo secundario y su regulación, condujo las investigaciones al desarrollo de nuevas estrategias experimentales que han culminado en la aparición de la ingeniería metabólica y la agricultura molecular (*molecular farming*).

La nueva esperanza

La ingeniería metabólica se ocupa de la aplicación de la bioquímica, la genética y la biología molecular para ma-

Tabla 2. Estrategias para mejorar la producción de metabolitos secundarios en cultivos de células vegetales.

| |
|--|
| <p>Sistemas de cultivo</p> <ul style="list-style-type: none"> Cultivos de callos Cultivos de células Cultivos de brotes Cultivos de raíces Cultivos de dos fases |
| <p>Condiciones de cultivo</p> <ul style="list-style-type: none"> Optimización del medio de cultivo Optimización de parámetros nutricionales y fisicoquímicos Permeabilización celular Adición de potenciadores (elicitors) Adición de precursores e intermediarios biosintéticos Extracción continua del producto |
| <p>Genética y Biología Molecular Vegetal</p> <ul style="list-style-type: none"> Sobreexpresión de enzimas limitantes de la biosíntesis Creación de nuevas ramas en las redes metabólicas existentes Canalización del flux metabólico hacia el producto de interés Generación de mutantes desreguladas con respecto al producto de interés Plantas transgénicas sin las ramificaciones de la ruta biosintética principal |

nipular y estudiar las rutas metabólicas endógenas de un organismo con el objetivo de generar cultivos celulares u organismos transgénicos en los que el perfil de los productos naturales característicos de esa especie se vea incrementado o modificado para adquirir características adecuadas que permitan establecer procesos comercialmente viables^{15,16}. En el caso de los productos naturales, el propósito principal en la mayoría de los casos ha sido el incremento en la producción o velocidad de biosíntesis o la reducción del flujo metabólico hacia la formación de productos metabólicamente colaterales. Así, la aplicación de la ingeniería metabólica en plantas ha permitido obtener organismos que sobreacumulan aceites comestibles e industriales¹⁷, ligninas¹⁸ y almidones¹⁹ de composición constante y controlada, carotenoides y vitaminas A y E²⁰, metabolitos secundarios como alcaloides del tropano²¹, flavonoides y antocianinas²².

La esperanza se fortalece

Pero la manipulación de las rutas metabólicas de las plantas ha ido más lejos: ha permitido la introducción de material genético proveniente de otras plantas, e inclusive de microorganismos o animales, para proveer a la planta receptora con funciones como la producción de

nuevos compuestos, asimilación de nuevos sustratos y degradación de xenobióticos²². Esto último ha permitido estudiar y entender los mecanismos por los cuales las plantas participan en procesos de remoción de contaminantes del medio ambiente, proceso tecnológico denominado fitorremediación^{16,23,24}.

Además, se ha aprovechado la capacidad natural de las plantas para excretar compuestos a su rizosfera y se han obtenido plantas y raíces transformadas capaces de producir y excretar biomoléculas y proteínas recombinantes^{1,24,25}. Se ha comprobado también en numerosos estudios que las plantas son capaces de efectuar los procesos postraduccionales de las proteínas, como acetilación, fosforilación y glicosilación, propios de los organismos eucarióticos y que los microorganismos no pueden efectuar^{1,26,27}. Esta característica se ha aprovechado para establecer cultivos de células, tejidos y órganos vegetales transgénicos para la producción de proteínas completas o sus epitopos, antígenos vacunales y anticuerpos²⁶. De estos cultivos es posible obtener plantas transgénicas productoras de esas biomoléculas, tecnología que se ha denominado agricultura molecular. En particular, a las plantas transgénicas para la expresión y suministro de antígenos vacunales se les ha denominado vacunas comestibles y varias de ellas se encuentran en pruebas a nivel clínico²⁷.



Las ventajas de la producción de biomoléculas por cultivos de células y tejidos vegetales transgénicos son las mismas que ya se mencionaron para los cultivos no transgénicos pero, además, la tecnología de agricultura molecular ofrece la posibilidad de obtener proteínas animales con las modificaciones postranscripcionales correctas para obtener la actividad biológica respectiva.

Conviene mencionar que en nuestro laboratorio estamos aplicando estas tecnologías enfocando nuestros esfuerzos a la obtención de compuestos bioactivos como fármacos, antígenos, anticuerpos, y para estudiar los mecanismos de remoción de xenobióticos de sitios contaminados con hidrocarburos. Nuestro principal soporte lo constituyen programas sobre ingeniería metabólica de productos naturales y para la obtención de antígenos vacunales y anticuerpos.

Conclusiones

La supervivencia del hombre ha dependido y seguirá dependiendo de las plantas y sus compuestos. Aunque se han investigado intensamente diversas alternativas biotecnológicas para la producción de metabolitos

secundarios vegetales o productos naturales por cultivo de células vegetales en biorreactores, sólo algunos procesos se han podido establecer a nivel comercial debido a que los costos de proceso no son viables con respecto a las técnicas agrícolas tradicionales de cultivo, aun cuando el rendimiento de varios compuestos en los cultivos *in vitro* es mayor que en las plantas. El uso de estrategias de ingeniería metabólica para incrementar los rendimientos y la productividad para la obtención de productos naturales y transgénicos en plantas o cultivo de células y órganos vegetales deberá beneficiar espontáneamente los bioprocesos y la agricultura molecular. La generación de cultivos de células, tejidos y órganos vegetales y plantas transgénicas ha renovado la esperanza para establecer procesos biotecnológicos pero ahora no sólo para la obtención de los productos naturales, sino también otros muchos tipos de compuestos bioactivos como proteínas, anticuerpos y antígenos.



Notas

1. E. Stoger *et al.*, *Current Opinion Biotechnol.* **13**, 161 (2002).
2. A. Hiatt *et al.*, *Nature* **342**, 76 (1989).



3. H.S. Mason *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **89**, 11745 (1992).
4. G.G. Zhang *et al.*, *Mol. Biotechnol.* **20**, 131 (2002).
5. G. Giddings *et al.*, *Nature Biotechnol.* **18**, 1151 (2000).
6. E. Franken *et al.*, *Current Opinion Biotechnol.* **8**, 411 (1997).
7. D.E. Salt *et al.*, *Biotechnol.* **13**, 468 (1995).
8. R. Bentley, *Crit. Rev. Biotech.* **19**, 1 (1999).
9. M.H. Zenk *et al.*, en *Plant tissue culture and its biotechnological applications*, W.E. Barz *et al.*, Eds. (Springer-Verlag, Berlin, 1976).
10. A. W. Alfermann y M. Petersen, *Plant cell, tissue and organ culture* **43**, 199 (1999).
11. M. Fowler y G. Sepan-Sarkissian, *Adv. Biotech. Proc.* 135 (1983).
12. Y. Yamada, T. Hashimoto en *Proc. VIIIth Inter. Cong. plant tissue and cell culture* (Amsterdam, Holanda, 1990).
13. Y.S. Fujita *et al.*, *Agric. Biol. Chem.* **49**, 1755 (1985).
14. F.M. DiCosmo y M. Misawa, *Biotech. Adv.* **13**, 425 (1995).
15. C.B. Taylor, *Plant cell.* **10**, 641 (1998).
16. G. Stephanopoulos, *Current Opinion Biotechnol.* **5**, 196 (1994).

17. D.J. Murphy, *Current Opinion Biotechnol.* **10**, 175 (1999).
18. M.M. Campbell y R.R. Sederoff, *Plant Physiol.* **110**, 3 (1996).
19. A.G. Heyer *et al.*, *Current Opinion Biotechnol.* **10**, 169 (1999).
20. J. Hirschberg, *Current Opinion Biotechnol.* **10**, 186 (1999).
21. D.J. Yun *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **89**, 11799 (1992).
22. R.A. Dixon *et al.*, *Gene* **179**, 61 (1996).
23. D.E. Salt, *Biotechnology* **13**, 468 (1995).
24. D. Gleba, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **96**, 5973 (1999).
25. J.V. Shanks, J. Morgan, *Current Opinion Biotechnol.* **10**, 151 (1999).
26. M.M. Trexler *et al.*, *Biotechnol. Prog.* **18**, 501 (2002).
27. G. Giddings, *Current Opinion Biotechnol.* **12**, 450 (2001).



Aplicaciones biotecnológicas de la microencapsulación

J. Yáñez Fernández, J.A. Salazar Montoya, L. Chaires Martínez, J. Jiménez Hernández, M. Márquez Robles y E. G. Ramos Ramírez

Los procesos de encapsulación fueron desarrollados entre los años 1930 y 1940 por la National Cash Register para la aplicación comercial de un tinte a partir de gelatina como agente encapsulante mediante un proceso de coacervación¹. La utilización de microcápsulas abarca una amplia gama de campos: la eliminación controlada de sabores, colores, aromas, perfumes, drogas, fertilizantes y precursores en impresiones². Las enzimas y las células animales o vegetales también pueden ser encapsuladas, permitiendo que los sustratos y productos entren y salgan de la cápsula. Este concepto fue instrumentado con el desarrollo de un hígado artificial con enzimas hepáticas colocadas en membranas semipermeables para mejorar su función. Las membranas de nylon han sido empleadas para encapsular y atrapar enzimas como la pepsina, la pectin esterasa para clarificación de jugos, la invertasa para la inversión de sacarosa y la renina para coagulación de leche. Una bacteria ácido láctica, *Lactobacillus lactis*, fue encapsulada en alginato y se sugiere que las bacterias inmovilizadas pueden ser usadas para producir yoghurt de manera continua.

La encapsulación es un proceso mediante el cual ciertas sustancias bioactivas (sabores, vitaminas o aceites esenciales) son introducidas en una matriz o sistema pared con el objetivo de impedir su pérdida, para protegerlos de la reacción con otros compuestos presentes en el alimento o para impedir que sufran reacciones de oxidación debido a la luz o al oxígeno. Una ventaja adicional es que un compuesto encapsulado se liberara gradualmente del compuesto que lo ha englobado o atrapado y se obtienen

Los autores son miembros del Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del Cinvestav. Dirección electrónica: jsalazar@mail.cinvestav.mx

Tabla 1. Tipos de coberturas utilizadas en microencapsulación.

| Tipo de cobertura | Cobertura específica |
|------------------------|---|
| Gomas | Goma arábiga, agar, alginato de sodio, carragenina |
| Carbohidratos | Almidón, dextranos, sacarosa, jarabes de maíz |
| Celulosas | Carboximetil-celulosa, metilcelulosa, etilcelulosa, nitrocelulosa, acetilcelulosa |
| Lípidos | Ceras, parafinas, tristearina, ácido esteárico, monoglicéridos, diglicéridos, aceites, grasas |
| Proteínas | Gluten, caseína, gnenetina, albúmina |
| Materiales inorgánicos | Sulfato de calcio, silicatos |

productos alimenticios con mejores características sensoriales y nutricionales^{2,3}. Se utiliza también el término microencapsulación en la industria alimentaria o farmacéutica cuando se encapsulan sustancias de bajo peso molecular o en pequeñas cantidades. Los dos términos, encapsulación y microencapsulación, se usan indistintamente (tabla 1).

Métodos generales

Diversos métodos han sido propuestos para la producción de microcápsulas. En general, estos métodos pueden ser divididos en tres grupos⁴:

- (1) Procesos físicos: secado por aspersión, extrusión y recubrimiento por aspersión.
- (2) Procesos fisicoquímicos: coacervación simple o compleja y atrapamiento en liposomas.
- (3) Procesos químicos: polimerización interfacial e inclusión molecular.

La selección del proceso de encapsulación para una aplicación considera el tamaño medio de la partícula requerida y las propiedades fisicoquímicas del agente

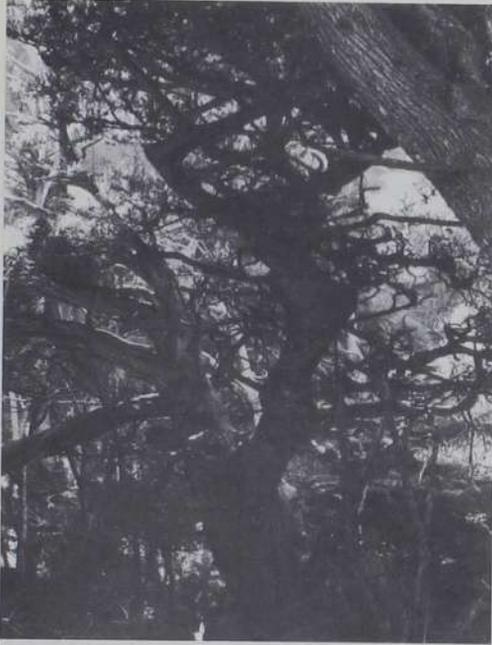
encapsulante y la sustancia a encapsular, las aplicaciones para el material microencapsulado, el mecanismo de liberación deseado y el costo. En el caso de sabores y aromas, varios métodos han sido desarrollados para encapsularlos y utilizarlos en la industria de alimentos; el secado por aspersión es el que más se utiliza^{4,5}.

Secado por aspersión

El secado por aspersión es ampliamente usado en la industria de los alimentos debido a que es un método económico y efectivo en la protección de materiales, en particular empleado en la deshidratación de leche⁴. Los almidones modificados, las maltodextrinas y las gomas son empleados como acarreadores o materiales pared. El material a encapsular es homogenizado con el acarreador; la mezcla es alimentada al secador por aspersión y se atomiza por medio de una boquilla o disco; las cápsulas son colectadas posteriormente. Desarrollos recientes se han hecho con nuevos acarreadores, incluyendo coloides y gomas naturales, para la obtención de mezclas que permitan incrementar la retención de compuestos volátiles y la vida de anaquel de las microcápsulas. Se ha conseguido la retención de aceites esenciales de naranja y disminuido su oxidación al usar goma arábiga⁶.

Aspersión por enfriamiento o congelamiento

Una variante del secado por aspersión consiste en enfriamiento o congelamiento, donde el material a encapsular es mezclado con el acarreador y es atomizado por medio de aire frío. Las microcápsulas son producidas por nebulización de la emulsión o suspensión que contiene el material pared y la sustancia activa sólida o líquida. Las coberturas empleadas usualmente son aceites vegetales en el caso de aspersión por enfriamiento o aceite vegetal hidrogenado para la aspersión por congelamiento; así pueden encapsularse líquidos sensibles al calor y materiales que no son solubles en disolventes convencionales. La reducción de la temperatura produce una solidificación del lípido pared y el atrapamiento de la sustancia activa en el centro de la cápsula⁵. La aspersión por enfriamiento es usualmente empleada para encapsular



vida de almacenamiento comparados con los que no son encapsulados. La vitamina C y los colorantes pueden tener una vida de almacenamiento superior a dos años. Además, la forma sólida de los sabores es más conveniente para su uso. La aplicación de este método en el procesamiento de alimentos incluye bebidas, pasteles, gelatinas, postres, así como numerosos sabores⁶.

Cobertura por lecho fluidizado

Esta técnica consiste en suspender partículas sólidas en aire a alta velocidad dentro de una cámara con temperatura y humedad controlada, donde el material pared es atomizado⁷. La cantidad de partículas cubiertas depende de la longitud de la cámara y del tiempo de residencia dentro de ésta. La técnica es aplicable a coberturas que funden fácilmente (como aceites vegetales hidrogenados, estearinas, ácidos grasos, emulsificantes, ceras) o coberturas solubles (como almidones, gomas y maltodextrinas). Para coberturas fundibles se usa aire frío para endurecer el acarreador, mientras que para las coberturas solubles se usa aire caliente para evaporar el disolvente. Los ingredientes con facilidad de fundir son liberados al incrementar la temperatura o por ruptura física, mientras que las coberturas solubles liberan su contenido al adicionar agua. Alimentos fortificados y mezclas nutricionales contienen ingredientes encapsulados por lecho fluidizado; algunos ejemplos son: ácidos cítrico, láctico y sórbico; bicarbonato de sodio utilizado en productos de panificación.

Atrapamiento en liposomas

Un tipo de cápsula con más propiedades versátiles y menos fragilidad que aquellas hechas de grasa es el de los liposomas. Estos han sido empleados para la liberación de vacunas, enzimas y vitaminas en el cuerpo^{8,9}, y consisten de una o más capas de lípidos no tóxicos y aceptables en alimentos; la permeabilidad, estabilidad, actividad superficial y afinidad pueden variar con el tamaño y la composición del lípido. Los liposomas son vesículas que se forman cuando películas de fosfolípidos son dispersadas en un medio acuoso; al igual que las membranas naturales, los liposomas son selectivamente permeables a iones; los liposomas se forman cuando una solución acuosa de sustancia activa es mezclada con la

sulfato ferroso, vitaminas, minerales o acidulantes. Las aplicaciones más comunes de la aspersión por congelamiento incluye el secado de sopas y los alimentos con altos contenidos de grasa. Las microcápsulas producidas por enfriamiento o congelamiento son insolubles en agua debido a su cobertura de lípidos por lo que se encapsulan materiales solubles como enzimas, vitaminas solubles en agua y acidulantes.

Extrusión

La microencapsulación por extrusión involucra el paso de una emulsión del material activo y el material pared a través de un dado a alta presión. La extrusión constituye el segundo proceso más usado, después del secado por aspersión, para la encapsulación de sabores. Un proceso típico involucra la mezcla de sabores con jarabe de maíz o almidón modificado caliente, extrudiendo la mezcla en forma de esferitas (*pellets*) dentro de un baño con un disolvente frío como el isopropanol. El disolvente frío solidifica el jarabe en un sólido amorfo, bañando los sabores. Los sabores extrudidos proporcionan una mayor

película del lípido. Estructuralmente existen tres tipos de liposomas: multilamelar, vesículas de un compartimiento y macrovesículas. La sonicación permite la formación de un solo compartimiento de vesículas, mientras que las macrovesículas son formadas por inyección de soluciones de lípido en un *buffer* de fosfatos. Los liposomas pueden ser obtenidos con cargas positivas por la adición de aminas o con cargas negativas por la adición de fosfatidil serina o diacetil fosfato. Materiales hidrofílicos e hidrofóbicos pueden ser atrapados en liposomas; los compuestos hidrofílicos son disueltos en agua y mezclados con una película lipídica para formar liposomas, mientras que los materiales hidrofóbicos son embebidos en una delgada película de lípido. La liberación del principio activo se realiza por difusión a través de la bicapa, por destrucción de la vesícula, por medio de una concentración crítica de iones calcio o por un cambio de pH. El colesterol y los tocoferoles pueden ser incorporados para reducir la permeabilidad de la membrana e incrementar la estabilidad de los lípidos en la bicapa. Las sustancias activas solubles en agua presentan una mejor eficiencia de encapsulamiento que las hidrófobas; los liposomas son usados con éxito en la encapsulación de sistemas enzimáticos; sin embargo, el uso de disolventes orgánicos limita su uso en aplicaciones en alimentos (tabla 2).

Inclusión de complejos

La inclusión de complejos, también conocida como encapsulación molecular, utiliza b-ciclodextrinas para el atrapamiento de moléculas. Estas ciclodextrinas (CD) tienen un centro hidrofóbico mientras que la superficie exterior es hidrofílica. Las CD forman complejos por inclusión o por huésped-anfitrión. El principal mecanismo de las CD involucra la formación de complejos por inclusión de analitos: permiten un equilibrio dinámico en el cual agua u otro compuesto, son reemplazados en la cavidad de la molécula de CD¹⁰. La estabilidad de estos complejos depende de la estructura, hidrofobicidad de la molécula, pH, disolvente orgánico, temperatura y concentración de la CD. La preparación de complejos se realiza por dos métodos: en el primero la molécula huésped y la CD son cristalizadas, un disolvente menos hidrofóbico que la molécula huésped se mezcla con los componentes dando una acomplejación de la molécula huésped hacia el centro de la ciclodextrina, la ciclodextrina y la molécula huésped son mezcladas en agua durante

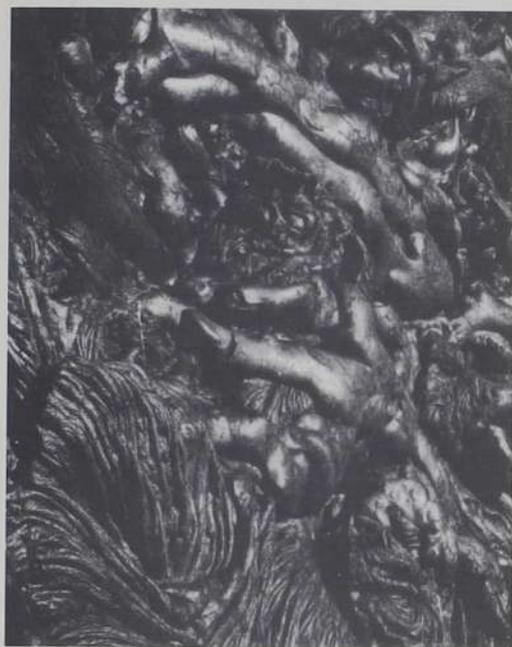
Tabla 2. Ingredientes encapsulados utilizados en alimentos.

| |
|---|
| Tipo de ingrediente |
| Saborizantes del tipo: especias, aceites, sazónadores y edulcorantes |
| Acidulantes, álcalis, buffers (Ac. ascórbico, cítrico, fumárico, bicarbonato) |
| Lípidos: Ac. linoleico |
| Agentes redox (blanqueadores, maduradores) |
| Enzimas o microorganismos |
| Antioxidantes (Ac. ascórbico, cítrico) |
| Colorantes |
| Aceites esenciales, aminoácidos, vitaminas y minerales |

un tiempo hasta conseguir el equilibrio. El segundo método involucra la forma gaseosa de la molécula huésped en una solución de CD. Los complejos de inclusión obtenidos son sólidos cristalinos y pueden adicionarse a alimentos secos con un mínimo de degradación o pérdida del compuesto huésped durante el almacenamiento. Las CD protegen sabores y otros ingredientes sensibles al calor que son adicionados en alimentos extrudidos. Aceite de ajo, cebolla y vitaminas A, E y K son acomplejados por CD^{10,11}.

Coacervación

En una solución coloidal las cargas pueden orientarse formando puentes que dan origen a una disminución en la solubilidad del coloide; como consecuencia una parte del coloide puede ser separado en una nueva fase, convirtiendo al sistema en bifásico. La fase rica en coloide es un estado disperso que aparece como gotas de líquido amorfo, a las que se les denomina gotas de coacervado. La coacervación puede ser iniciada por diferentes formas: cambios de pH, temperatura o adición de una segunda sustancia como una sal iónica; este método es eficiente pero caro. Para el proceso de microencapsulación algunos biopolímeros han sido utilizados para su uso como coberturas (goma arábiga y grenetina). La microencapsulación por coacervación requiere que el material a



encapsular y el material pared sean mezclados; la cobertura es depositada sobre el material activo. Generalmente un cambio de pH, temperatura o fuerza iónica provoca una fase de separación o coacervación de la cobertura y atrapamiento del material activo disperso; finalmente la cobertura es solidificada por medios térmicos o entrecruzamiento. La fase de separación acuosa involucra el uso de materiales como grenetina o mezclas de grenetina y goma arábica. Una coacervación simple se presenta cuando sólo la grenetina es inducida a formar microcápsulas. La coacervación compleja utiliza grenetina y un polímero de carga opuesta como goma arábica.

Polimerización interfacial

Este método involucra la disolución de un monómero hidrofóbico polimerizable en un material activo hidrofóbico. La mezcla es dispersada en una fase polar y un catalizador provoca la polimerización del monómero; el polímero es insoluble en la sustancia activa hidrofóbica y depositado como pared alrededor de la sustancia activa. Los polímeros que forman coberturas adecuadas son

poliéster, poliamidas, poliuretanos y poliureas. La polimerización interfacial ocurre entre monómeros disueltos en sus respectivas fases inmiscibles; los monómeros solubles son dispersados en la fase acuosa por medio de agitación, la membrana de la cápsula es formada por la adición de un monómero orgánico soluble en la fase continua u orgánica. Las membranas poliméricas de poliaminas, nylon, poliéster o polifeniléster son producidas por la reacción entre el monómero soluble en agua, como poliamina, L-lisina, 1,6-hexametilendiamina, piperidina, o polifenol y un monómero soluble en medio orgánico como sebacoil cloro, 2,2-dicloroéter. Esta técnica recientemente ha sido empleada para encapsular una bacteria ácido láctica para obtener una mayor productividad en las fermentaciones lácticas con bastante éxito^{12,13}.

Materiales de encapsulación

Existe una amplia variedad de materiales para cobertura que pueden ser usados para encapsular ingredientes alimentarios, donde se incluyen aceites hidrogenados, ceras, maltodextrinas, almidones y gomas; algunos de los más efectivos son los aceites hidrogenados como el aceite de palma, algodón y soya, que son excelentes formadores de películas capaces de cubrir las partículas individuales, proporcionando una encapsulación uniforme¹⁴. El uso de goma arábica como matriz encapsulante es común debido a sus características de viscosidad, solubilidad y emulsificación. Otros materiales estudiados son los almidones de papa, maíz, trigo y arroz principalmente. Las dextrinas son formadas por el calentamiento de almidón, en presencia de ácido o base, formando polímeros con alto grado de ramificación; comparadas con almidones no modificados, se mejoran sus características de solubilidad y viscosidad. Las maltodextrinas son obtenidas a partir de una hidrólisis parcial del almidón de maíz por vía ácida o enzimática; los polímeros de glucosa producidos pueden variar en longitud y en peso molecular; sus viscosidades son inferiores a las de la goma arábica y no presentan grupos lipofílicos, por lo que sus propiedades emulsificantes son pobres. Sus ventajas incluyen sabor tenue, es posible su uso a altas concentraciones de sólidos y mejoran la vida de almacenamiento de aceites esenciales de cítricos; mezclas de sólidos de maíz, maltodextrinas y almidones modificados permiten un encapsulamiento óptimo. Los

alginatos son hidrocoloides extraídos de algas, los cuales reaccionan con iones calcio para la formación de geles estables; éstos son utilizados para atrapamiento de sabores a temperatura ambiente^{3,8}. Para obtener las capas, el alginato es emulsificado con el sabor y después adicionado por goteo a una solución de cloruro de calcio. Los materiales que tienen como base proteínas como las proteínas de soya, caseinatos y derivados de gretina forman emulsiones estables con saborizantes volátiles; su solubilidad en agua fría, el potencial para reaccionar con grupos carbonilos y su alto costo limitan su uso potencial³.

Métodos de liberación

Los mecanismos de liberación de las cápsulas se pueden llevar a cabo por una disolución normal en agua, por esfuerzos de cizalla, por temperatura, por reacciones químicas y enzimáticas o por cambios en la presión osmótica. La liberación de componentes de una cápsula puede ser controlada por difusión de la pared de la cápsula o por una membrana que cubre la pared. La permeabilidad a través de la matriz y la solubilidad del componente de la pared de la cápsula influyen en la velocidad de difusión. El compuesto que va a difundir debe ser soluble en la matriz; aunque la presión de vapor de sustancias volátiles en cada lado de la matriz puede ser la fuerza que determine la difusión. La selección de una matriz o membrana es importante; la naturaleza química, morfología y temperatura de transición, el grado de hinchamiento y de entrecruzamiento también influyen en la difusión de la membrana aunque pueden disminuir la velocidad de liberación.

Aplicaciones

Las aplicaciones de esta técnica han ido incrementándose en la industria de los alimentos debido a la protección de los materiales encapsulados de factores como calor y humedad, permitiendo mantener su estabilidad y viabilidad. La microencapsulación puede mejorar el sabor y la estabilidad de medicamentos. Las microcápsulas han sido también barreras contra malos olores y sabores; las microcápsulas ayudan a que los materiales frágiles resistan las condiciones de procesamiento y empaque mejorando sabor, aroma, estabilidad, valor nutritivo y apariencia de

los productos². En la encapsulación de sabores, se reduce su volatilidad o previene reacciones indeseables con otros componentes del alimento aun cuando se almacene por un periodo prolongado. Cuando se encapsula un sabor, para que sea liberado rápida y efectivamente en la boca, se recomienda utilizar materiales solubles en agua como almidones y dextrinas; en el caso de encapsulación de vitaminas, minerales y otros nutrientes, éstos son liberados después de haberse consumido. Como la liberación se lleva a cabo en el estómago o el intestino, permite una máxima absorción de los compuestos con un mínimo de reacciones adversas; los encapsulantes usados para esta aplicación son de naturaleza hidrofóbica como grasas y ceras, pero también se usan derivados de celulosa⁷. El transporte selectivo de un agente terapéutico al sitio de acción puede optimizar la respuesta biológica o la liberación de una molécula activa dentro del medio ambiente seleccionado.

Conclusiones

No obstante el desarrollo en las técnicas de encapsulación, existe mucha demanda para el control y liberación de ingredientes en alimentos, fármacos y microorganismos; por ello deben desarrollarse nuevas aplicaciones y es conveniente que los avances en el estudio de la encapsulación continúen. En particular, la coacervación se vislumbra como una promesa debido a que sus costos de proceso pueden ser reducidos y a que sustancias como los sabores son más estables después de procesos que involucran calentamiento, tratamiento en microondas y freído. Una de las limitaciones en las técnicas de encapsulación son los altos costos de producción y la falta de disponibilidad de materiales que puedan utilizarse. Las mezclas de almidones y maltodextrinas como materiales encapsulantes pueden proporcionar grandes beneficios. Finalmente, el empleo de nutracéuticos y el desarrollo de nuevas combinaciones de sabores y aromas incrementan la necesidad de mejorar los mecanismos de protección y liberación para aumentar su vida útil, permitiendo nuevos desarrollos en el campo de la encapsulación.



Notas

1. G. O. Fanger, *Microencapsulation* (Plenum Press, Nueva York, 1974).

2. L.M. Popplewell *et al.*, *Food Technol.* **5**, 76 (1995).
3. G.A. Reineccius, *Food Technol.* **144**, (1991).
4. M.I. Ré, *Drying Technol.* **16**, 1195 (1998).
5. S.J. Jackson, y K. Lee, *Lebensmittel-Wissenschaft & Technol.* **24**, 289 (1991).
6. S.J. Risch, y G.A. Reineccius, *Flavor Encapsulation* (Amer. Chem. Soc., Washington, 1998).
7. C.S. Brazel, *Cereal Foods World* **44**, 388 (1999).
8. D. Gorski, *Dairy Foods* **95**, 39 (1994).
9. G.J. Hoch, *Food Process* **58**, 49 (1997).
10. Z.H. Qi, y M.L. Romberger, *Food Struct.* **17**, 207 (1998).
11. D.E. Pszczola, *Food Technol.* **52**, 70 (1998).
12. C. Onwulata *et al.*, *J. Food Sci.* **59**, 316 (1994).
13. M. Rosenberg y S. Young, *Food Struct.* **12**, 31(1993).
14. F. Shaidi y X.Q. Han, *Crit Rev. Food Sci. Nut.* **33**, 501 (1993).





Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN

El Departamento de

INGENIERIA e^léctrica

www.ie.cinvestav.mx

Ofrece Programas de
MAESTRIA y DOCTORADO
(con opción de
Doctorado Directo)
en Ciencias

con la especialidad en:

BIOELECTRONICA



COMPUTACION



MECATRONICA



COMUNICACIONES



**ELECTRONICA DEL
ESTADO SOLIDO**



Informes:

Maria del Carmen Quintero Martinez.

Teléfono 57-47-38-00 ext.6500

e-mail: mquinter@mail.cinvestav.mx

Departamento de Ingeniería Eléctrica, Av. IPN 2508 Colonia San Pedro Zacatenco, CP.07360 Mexico, D.F.

Promoción y Coordinación:
Ingeniería Eléctrica

Deshidratación osmótica: alternativa para conservación de frutas tropicales

Próspero Genina Soto



Desde la formación del Departamento de Biotecnología y Bioingeniería se han abordado diversos temas sobre procesos y tecnologías para aprovechamiento de alimentos siguiendo esta línea. Recientemente se inició un estudio orientado a buscar la posibilidad de desarrollar alternativas de aprovechamiento y preservación de ciertos tipos de alimentos, en especial de frutas tropicales producidas en nuestro país; la idea es obtener tecnologías relativamente sencillas con bajos montos de inversión y adecuadas a nuestras condiciones socio económicas. El tema de estudio seleccionado fue el de deshidratación osmótica (DO).

La reducción del contenido de agua de alimentos es uno de los métodos comúnmente empleados para su preservación. Las tecnologías más utilizadas están basadas en la evaporación del agua. En fechas relativamente recientes la DO ha cobrado gran interés debido a las bajas temperaturas de operación usadas (20-50°C), lo cual evita el daño de productos termolábiles, además de reducir los costos de energía para el proceso. La DO consiste en sumergir los alimentos en soluciones hipertónicas con el objetivo de producir dos efectos principales: flujo de agua desde el producto hacia la solución hipertónica y flujo de solutos hacia el interior del alimento. En algunos casos se puede presentar la salida de solutos como son los ácidos orgánicos. Este fenómeno, aunque es poco importante por el bajo flujo de sólidos perdidos, puede modificar sustancialmente algunas propiedades del fruto como son las organolépticas.

El Dr. Próspero Genina Soto es investigador titular del Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del Cinvestav.



El efecto neto de los flujos de salida de agua y ganancia de sólidos ha sido estudiado por diversos autores, por ejemplo, utilizando cubos de gel de agar expuestos a diferentes condiciones de temperatura y concentración de la solución osmótica. Se han identificado dos etapas en el proceso de DO. En la primera, denominada deshidratación, la pérdida de agua es mayor que la ganancia de sólidos y en una segunda etapa, llamada impregnación, se obtiene una ganancia de sólidos mayor a la pérdida de agua. En esta segunda etapa, la masa total del sólido aumenta con el tiempo.

Dado el fenómeno de inclusión de solutos, la DO se presenta como un método alternativo de formulación de productos. En trabajos recientes se ha encontrado que la DO permite modificar la composición del producto y, como consecuencia, mejorar sus propiedades nutricionales, sensoriales y funcionales. Otra aplicación consiste en aumentar la estabilidad durante el almacenamiento e incluso modificar el contenido de sólidos al final del proceso de DO. Dentro de ciertos límites, por ejemplo usando soluciones de sacarosa y sal como soluciones osmóticas, se puede incrementar el nivel de deshidratación y disminuir la impregnación de sal en hongos, en un proceso de DO realizado en dos etapas. Se ha observado que la inclusión de azúcares protege la pigmentación de los vegetales, por lo que su aplicación podría eliminar la necesidad de inactivar enzimas, proceso comúnmente aplicado para eliminar los problemas de oscurecimiento de vegetales.

El fenómeno de deshidratación osmótica se ha tratado de explicar a partir de los conceptos fundamentales de transferencia de masa al establecer el origen de las fuerzas impulsoras difusivas involucradas. El mecanismo de impregnación se considera que es producto de la casi saturación de las capas exteriores o superficiales; la mayoría de las explicaciones y el modelado y cálculo de los parámetros que los describen han sido calculados a partir de la segunda ley de Fick. Es importante mencionar que algunos de los trabajos publicados han sido realizados con sustancias modelo, lo cual lleva muchas veces implícito el estudio de estructuras homogéneas. Sin embargo, es bien conocida la no homogeneidad de las estructuras de los productos naturales, lo cual genera resistencias complejas durante el proceso de transferencia de masa.

Aplicaciones

De acuerdo a los efectos observados en los procesos de deshidratación osmótica con relación al contenido de sólidos en los frutos, no se considera que esta operación constituya por sí misma un proceso de conservación, sino una etapa de pretratamiento en operaciones como son el secado o la congelación. A continuación se resumen las posibles aplicaciones de la DO como pretratamiento para operaciones de conservación y acabado de alimento.

Los procesos de secado, al someter el producto a un proceso de deshidratación osmótica antes del mismo, permiten aumentar la capacidad de los secadores y el rendimiento de los productos finales. Esto conduce a un ahorro de energía, a la reducción (o eliminación) del escalde, así como a mejorar la calidad de los productos naturales, especialmente aquellos con características temolábiles.

En los mismos productos la actividad final del agua debe ser tomada en cuenta. Por ejemplo, si ésta se mantiene hasta un valor de 0.6, el proceso de secado se realiza bajo las condiciones normales de transferencia de masa; sin embargo, si la actividad del agua es inferior, debe considerarse la reducción de la velocidad de transferencia de masa de tipo convectivo, debido a la saturación de la capa superficial del fruto que impide la entrada de agua.



Al combinar los procesos de DO y secado, la velocidad de rehidratación de los productos normalmente disminuye con relación a la de aquellos expuestos exclusivamente a un proceso de secado de tipo convectivo. La deshidratación osmótica, como tratamiento preliminar a la conservación de alimentos por congelación, permite trabajar con temperaturas de proceso no tan bajas, disminuir el consumo de energía, aumentar la velocidad de proceso, así como modificar la estructura y características sensoriales del producto. Todo lo anterior es resultado de la disminución del contenido de agua. Por otro lado, al reducir el contenido de agua se reduce también el volumen del producto, el volumen del empaque y, como consecuencia, los costos de distribución.

Para explicar el proceso de congelación de frutos sometidos a un tratamiento previo de deshidratación osmótica se ha recurrido a la teoría de la transición vítrea. Según esta teoría, si el alimento es almacenado a una temperatura inferior a la de transición vítrea, el agua contenida en la fase del suero concentrado permanece inmovilizada y por lo tanto no interviene en el proceso de deterioro del alimento. Así, si mediante el proceso de deshidratación osmótica se disminuye la concentración

de agua, entonces la temperatura de congelación puede ser disminuida a niveles de sobre enfriamiento.

Los métodos combinados son técnicas de conservación que pueden considerarse para procesamiento mínimo de alimentos. Estos métodos, como su nombre lo indica, enfatizan el uso de tecnologías que conducen a la preservación de alimentos en que las características organolépticas, tales como textura, sabor y color, son similares a la de los productos frescos, sin comprometer su integridad. El efecto aditivo y sinérgico de factores de conservación permite preservar el alimento con una mayor calidad que si se usa una sola técnica, por ejemplo secado.

Los métodos combinados, o efectos de barreras u obstáculos, reducen el crecimiento microbiano en alimentos al combinar factores de conservación tales como la disminución del pH, la inclusión de agentes antimicrobianos y el calentamiento moderado.

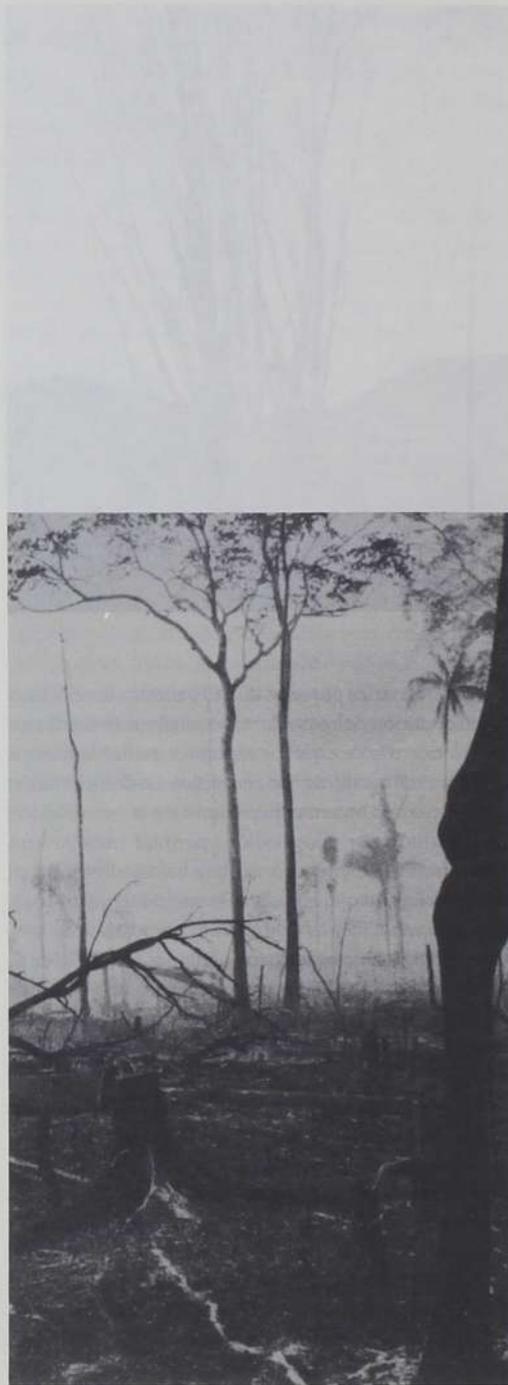
Tecnología alternativa

La deshidratación osmótica se presenta como una tecnología alternativa de conservación de frutos. Por ejemplo, en el fenómeno de impregnación en frutos la selección adecuada de solutos osmóticos y de su concentración permitirá controlar la actividad del agua en éste, así como el pH. Bajo estas condiciones, es posible llevar a cabo la adición de antimicrobianos que permitan aumentar el tiempo de vida del producto, especialmente de aquellos con alto contenido de humedad.

Finalmente, para propósitos de aplicación se puede decir que la DO es un método de conservación de alimentos factible de adaptarse en países con economías emergentes, que produzcan frutas tropicales que normalmente se consumen frescas por ser productos perecederos y que al someterse a tratamientos de procesamiento mínimo puedan conservarse y exportarse manteniendo muchas de sus propiedades. Otra de las ventajas es que su desarrollo e instrumentación no requiere de grandes inversiones ni de equipos complejos o difíciles de obtener, además de que este tipo de productos se encuentra en regiones económicamente deprimidas. 

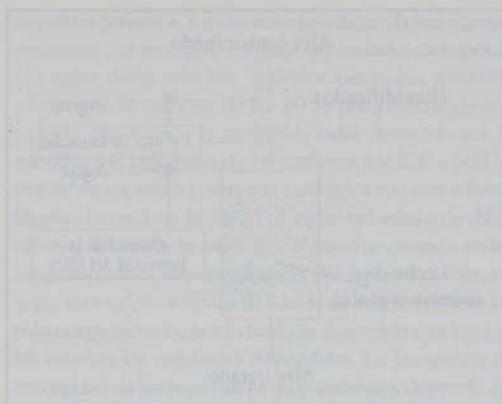
Bibliografía

1. P. Genina Soto, tesis doctoral, Cinvestav (2002).
2. A. Lenart, J.M.Flink, *J. Food Techn.* **19**, 65 (1984).
3. A.L. Raoult-Wack, *Trends in Food Sci. Techn.* **5**, 255 (1994).
4. D. Torreggiani, *Technological aspects of osmotic dehydration in foods, in food preservation by moisture control. Fundamentals and Application* (Technomic Publ. Pennsylvania, 1995).



Biofiltración: tratamiento biológico de aire contaminado

**Frédéric Thalasso y
Raúl Pineda Olmedo**



Al finales del siglo XX y principios del XXI, la contaminación atmosférica ha sido indudablemente uno de los mayores problemas que hemos tenido que enfrentar. Los contaminantes emitidos continuamente por la actividad humana tienen efectos locales, regionales o globales. A nivel local, en las grandes ciudades y las zonas industriales, cabe destacar como principales contaminantes las partículas suspendidas totales (PST), los compuestos orgánicos volátiles (COV) y el ozono (O_3) que afectan directamente la salud humana. A nivel regional destacan los óxidos de nitrógeno (NO_x) y de azufre (SO_x) que provocan las lluvias ácidas, que dañan seriamente los ecosistemas y los edificios. Finalmente, a nivel global es importante subrayar la importancia reconocida de numerosos contaminantes sobre la capa de ozono y el efecto invernadero cuyos principales responsables son los CFC y el dióxido de carbono, respectivamente. En forma cuantitativa, las emisiones de contaminantes atmosféricos suman miles de millones de toneladas por año. Se estima, por ejemplo, que a través de la combustión de combustibles fósiles se emiten entre 5 y 6 mil millones de toneladas de dióxido de carbono por año (1 tonelada por habitante por año). En paralelo, a partir de una estimación publicada por la agencia de protección del medio ambiente estadounidense¹, se estima que cada estadounidense es responsable de la emisión anual de más de 500 kg de NO_x , COV, SO_x y CO.

Para combatir la contaminación atmosférica las grandes potencias industriales como Europa, Asia, Canadá y Estados Unidos desarrollan tecnologías físicas,

El Dr. Frédéric Thalasso es investigador titular y jefe del Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del Cinvestav. El M. en C. Raúl Pineda Olmedo es estudiante de doctorado del mismo departamento. Dirección electrónica: thalasso@mail.cinvestav.mx.

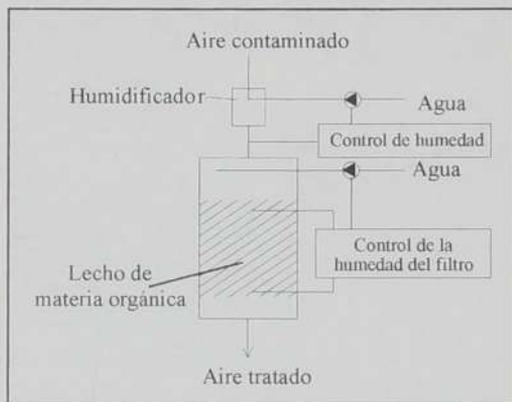


Figura 1: Diseño de un biofiltro.

químicas y biológicas de tratamiento de efluentes gaseosos, de las cuales cabe destacar la depuración biológica de gas. La depuración biológica de gas funciona según un esquema semejante al de las tecnologías de depuración biológica de agua y suelo. Aprovecha la capacidad que tienen los microorganismos para degradar los contaminantes y transformarlos en productos no o menos contaminantes, principalmente agua y CO_2 . La primera aplicación fue registrada en los años 20 pero no fue sino hasta los años 70 que la depuración biológica de gas alcanzó un nivel significativo de desarrollo. Actualmente esta tecnología es aplicada con éxito para el tratamiento de una amplia gama de contaminantes en flujos de hasta $400,000 \text{ m}^3/\text{h}$.

Biotecnologías

Existen tres tecnologías principales de tratamiento biológico de gases: los biolavadores, las columnas empacadas, también llamadas filtros percoladores, y los biofiltros. Estas tecnologías difieren (i) por la presencia o ausencia de un soporte, (ii) la naturaleza del soporte utilizado (orgánico o sintético), (iii) la presencia o ausencia de una fase líquida móvil y (iv) por sus capacidades de tratar diferentes contaminantes.

El biolavado es una tecnología de tratamiento en dos etapas. En la primera etapa, el gas contaminado entra en contacto con una fase líquida que absorbe los contaminantes. Después de haber absorbido los

contaminantes, el líquido es tratado mediante un proceso biológico tradicional (por ejemplo, mediante un proceso de lodos activados). Esta tecnología se distingue por su sencillez pero al mismo tiempo por su incapacidad de tratar compuestos poco solubles en agua. Su uso es por lo tanto fuertemente limitado.

Los filtros percoladores, tecnología bien conocida en el ámbito físico-químico, realizan la absorción y degradación de los contaminantes en una sola etapa. Con este propósito, el gas contaminado y un medio de cultivo líquido circulan (generalmente en contracorriente) a través de una columna que contiene un soporte inorgánico (por ejemplo, anillos de Rashig). La presencia de los contaminantes y del líquido nutritivo lleva al crecimiento de microorganismos, en forma de biopelícula sobre el soporte, asegurando que el filtro sea biológicamente activo y por lo tanto, capaz de depurar el gas contaminado. Esta tecnología se distingue por su capacidad para tratar contaminantes medianamente solubles en agua pero también por su sensibilidad y relativamente difícil control.

La biofiltración es sin duda alguna la tecnología de tratamiento biológico de gas más utilizada. Está caracterizada por el uso de un soporte orgánico (aserrín, turba, composta, etc.) que provee los nutrientes necesarios para el crecimiento de los microorganismos, transformando el soporte orgánico en un filtro biológicamente activo. Al pasar el aire contaminado a través del lecho, los microorganismos presentes en la superficie del soporte degradan los contaminantes (figura 1)².

Al principio, la biofiltración fue utilizada principalmente para la eliminación de los olores, y los primeros biofiltros aparecieron en las plantas de tratamiento de aguas residuales, en mataderos, en unidades de composteo y en la industria alimenticia. De manera progresiva, los biofiltros han sido utilizados para el tratamiento de una gama cada vez más amplia de contaminantes. Actualmente la lista de compuestos tratados con éxito por biofiltros incluyen casi 200 compuestos diferentes, tanto minerales como orgánicos, alifáticos como aromáticos, halogenados o no.

Biofiltros

El diseño de los biofiltros es muy variable: pueden ser sistemas cerrados o abiertos; de uno o múltiples lechos

de soporte teniendo cada uno una altura de entre 0.5 y 1.5 m. Los biofiltros permiten, por lo general, tratar flujos específicos de gas de 50 a 300 m³ por m³ de reactor por hora, con valores extremos de 12 m³ por m³ de reactor por hora para el tratamiento de compuestos xenobióticos y de 600 m³ por m³ de reactor por hora para el tratamiento de contaminantes poco tóxicos. La capacidad de concentración de los contaminantes tratados con éxito puede ser de algunos mg por m³ hasta arriba de 5 g por m³, dependiendo del nivel de toxicidad del compuesto. Esos últimos valores significan una capacidad de degradación de 10 a 200 g de contaminante por m³ de reactor por hora.

Se considera que la biofiltración es una de las tecnologías más económicas, en especial para el tratamiento eficiente de grandes flujos de aire poco contaminados. El costo de tratamiento es muy variable y puede oscilar entre 0.3 y 2.5 dólares americanos por 1000 m³ tratados, lo cual es de 3 a 10 veces inferior a las tecnologías de tratamiento de tipo físico-químico (incineración, adsorción, etc.), dependiendo de la concentración y toxicidad de los contaminantes.

El campo de aplicación de la biofiltración está principalmente enfocado a la eliminación de olores y al tratamiento de efluentes que contienen bajas concentraciones de compuestos orgánicos volátiles. Un factor importante es que la biofiltración, que es un proceso de oxidación biológica, se aplica exclusivamente para la eliminación de contaminantes oxidables, compuestos orgánicos parcialmente oxidados o compuestos minerales reducidos. La biofiltración no representa por lo tanto una respuesta a las emisiones de óxido de azufre, de nitrógeno o de dióxido de carbono. Sin ninguna duda la aplicación de mayor importancia para la biofiltración es el tratamiento de olores provenientes de industrias alimenticias y similares (rastros, empacadoras, etc.). La siguiente aplicación en orden de importancia es en el tratamiento de aguas para evitar la emisión de contaminantes en los tanques de aireación y de malos olores en el tratamiento de lodos. Finalmente, numerosas empresas que manejan solventes utilizan procesos de biofiltración para limitar las emisiones de compuestos orgánicos volátiles (imprentas e industrias químicas).

Si la biofiltración está considerada por muchos como la solución a numerosos casos de emisión de conta-

minantes gaseosos, sus detractores critican el gran espacio necesario y el reemplazo regular del material de soporte. No cabe duda que los biofiltros necesitan espacios relativamente grandes, de 3 a 20 m² por 1000 m³ de aire tratado por hora. No obstante, cabe destacar que la sencillez y el bajo peso de los biofiltros (de 200 a 500 kg por m² de superficie) permiten instalarlos con una relativa libertad (en techos, en zonas desaprovechadas o de difícil acceso). También es cierto que el soporte utilizado en los biofiltros deben ser reemplazado. Por razones obvias, los soportes orgánicos sirven de fuente de nutrientes para los microorganismos y por lo tanto se degradan o se agotan las reservas de nutrientes disponibles. La frecuencia de reemplazo de los soportes es muy variable y depende del tipo de gas tratado. De manera general, se considera que los soportes tienen una esperanza de vida promedio del orden 3 a 5 años. En este aspecto es importante destacar que el costo del material de soporte no influye mucho sobre el costo total de tratamiento. Antes de ser reemplazado, cada m³ de soporte habrá tratado del orden de 1.5 y 8 millones de m³ de aire. Con un costo de soporte del orden de 100 dólares por m³, la participación del soporte en el costo total de tratamiento representa de 1 a 7 centavos de dólar por 1000 m³ tratados. La disposición final del soporte usado puede representar un problema ambiental secundario. Afortunadamente, en la mayoría de los casos, cuando el biofiltro funciona bien, el soporte usado no contiene ningún compuesto tóxico y puede ser dispuesto como material biológico no peligroso y no tóxico.

En México, la biofiltración no ha tenido éxito y no se conoce ninguna aplicación industrial. En particular, desde 1996, en el Cinvestav, nuestro grupo está realizando investigaciones que tienen por objetivo, entre otros, el desarrollo de la biofiltración. Con este fin se ha estudiado el uso de subproductos agrícolas sin mayor uso como soporte de biofiltración. De entre los soportes estudiados, la cáscara de cacahuete y la cascarilla de arroz resultaron ser materiales eficientes para la remoción de COV. 

Notas

1. EPA-454/F-98-006 (1998).
2. C. Kennes y F. Thalasso, *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **72**, 303 (1998).

Actividad microbiana en suelos

**M.L. Luna Guido, C. Vega Jarquín,
M.O. Franco Hernández, S. Vásquez
Murrieta, N. Trujillo Tapia, E. Ramírez
Fuentes y L. Dendooven**

El suelo tiene funciones diversas y muy importantes para los ecosistemas terrestres y el medio ambiente del planeta: es el sustento para la vida vegetal y del cual las plantas obtienen soporte mecánico y muchos de sus nutrientes; es el habitat para una gran diversidad, tanto de microorganismos (bacterias, actinomicetos, arqueas, hongos, algas, protozoarios y virus), así como de macroorganismos (coleópteros, miriápodos, hormigas, colémbolos, nemátodos, ácaros, larvas, mamíferos pequeños y reptiles); es el lugar donde se llevan a cabo la mayor parte de los ciclos biogeoquímicos de los ecosistemas terrestres (mineralización de la materia orgánica, nitrificación, fijación de nitrógeno y oxidación de metano, entre otros procesos). Dada la gran diversidad biótica del suelo, se presentan interacciones muy complejas entre los diferentes organismos y, junto con los ecosistemas acuáticos, representan la base de la vida en este planeta.

El proceso de formación de los suelos inicia con la intemperización de la roca madre y sigue un ritmo de crecimiento extremadamente lento: se ha calculado en 3 cm cada 500 años; sin embargo, pueden ser destruidos en algunas horas (por acción del viento, lluvia o actividades del hombre). Entre los componentes de la materia orgánica del suelo se encuentran: residuos vegetales y animales en descomposición, diversos productos del metabolismo microbiano y material proveniente de la desintegración celular microbiana. En la figura 1 se pueden observar gráficamente las funciones principales de los suelos: mineralización de la materia

Los autores son miembros del Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del Cinvestav. Dirección electrónica: amonra22001@yahoo.com.mx

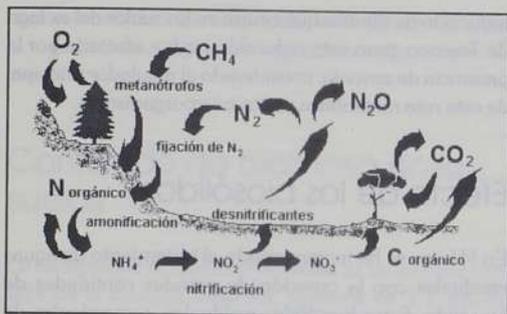


Figura 1. Los ciclos biogeoquímicos en el suelo.

orgánica, fijación de N_2 , producción de CO_2 , nitrificación, desnitrificación, amonificación y oxidación de metano.

Los suelos de Texcoco

La zona del ex lago de Texcoco se encuentra al noreste de la ciudad de México y tiene una extensión de aproximadamente 5,000 ha que en su mayoría se encontraban desforestadas y una parte la ocupaba un lago relativamente pequeño. Los suelos en el área han sido formados de cenizas volcánicas depositadas *in situ* en un ambiente lacustre y cubierto recientemente por material coluvial. El acuífero está cerca de la superficie (80-150 cm), el agua subterránea es altamente salina y son dominantes las sales $NaCl$ y Na_2CO_3 . Los suelos son salino-sódicos con un pH entre 8.5 y 10.5 y conductividades electrolíticas en extractos saturados entre 0.04 y 0.70 $S\ m^{-1}$ (Siemens por metro) y unos porcentajes de sodio intercambiable elevados (60-80)¹. La textura del suelo es de limoso a arcilloso, su estructura es granular en la superficie y prismática en el subsuelo; los contenidos de materia orgánica se encuentran entre 20 y 50 g/kg en suelo seco. El drenaje natural es pobre y a pesar de que los suelos son profundos, las raíces están restringidas por una capa de ceniza compacta de 5-20 cm de grosor a profundidades medias (16-40 cm). La intemperización está avanzada; una evaporación alta (aprox. 2000 mm/año) y una precipitación pluvial relativamente baja (aprox. 700 mm/año) incrementan la concentración de sal de la solución del suelo.

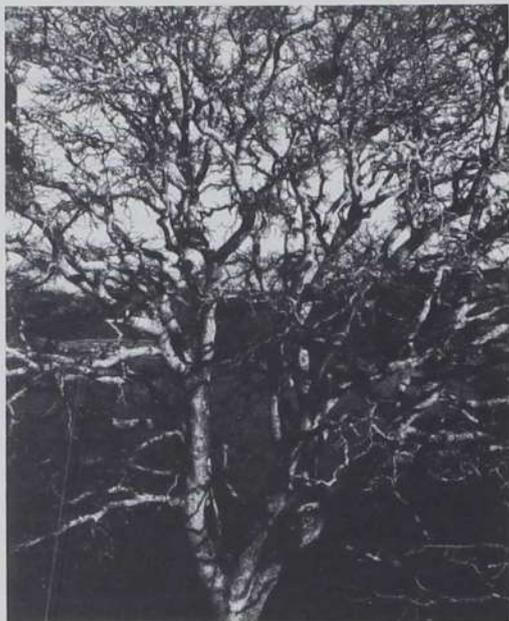
La erosión por el viento dio como resultado una severa contaminación por polvo sobre la ciudad de México,

agravada por la presencia de patógenos acarreados por él. A principios de la década de 1970, la Comisión Nacional del Agua (CNA) comenzó un programa intensivo de forestación con plantas resistentes a esas condiciones de pH y salinidad (el pasto *Distichlis spicata* y el árbol *Tamarix sp.*, como vegetación pionera), junto con un sistema de drenaje artificial para bajar el nivel freático, además de la irrigación con agua residual tratada para lavar las cantidades excesivas de sales minerales y mejorar la aireación en la zona de raíces. También se ha desarrollado un plan que consiste en aplicar lodos residuales de una planta de tratamiento de aguas con el objeto de fertilizar los suelos y así promover el crecimiento de la vegetación pionera. Además del material orgánico que, por descomposición, puede liberar nutrientes valiosos, el lodo residual puede contener grandes cantidades de metales pesados, organismos patógenos y compuestos orgánicos tóxicos que representan una amenaza seria al medio ambiente.

En nuestro laboratorio de Ecología y Microbiología del Suelo se ha trabajado con los suelos de Texcoco desde hace aproximadamente seis años. En estos estudios se ha evaluado el efecto de la salinidad sobre la actividad microbiana en sus diferentes etapas (degradación de la materia orgánica, amonificación, nitrificación, desnitrificación, etc.). Uno de los resultados más interesantes ha sido descubrir una gran adaptación de los microorganismos a estas situaciones extremas, ya que se manifiesta una alta tasa de actividad microbiana, aun en las condiciones más adversas de salinidad, aunque algunas fases, como la nitrificación, se encuentran un tanto inhibidas.

Inmovilización de nitrógeno por microorganismos

En la actualidad existe una necesidad ambiental y económica de entender el papel y el destino del nitrógeno en los diferentes ecosistemas. El nitrógeno existe en los suelos de diferentes formas que suelen ser fácilmente intercambiables; las rutas de transformación que el nitrógeno sigue dentro y fuera del ambiente edáfico son conocidas de manera global como el ciclo del nitrógeno. Estas rutas están fuertemente influidas por la actividad biológica y a su vez los procesos biológicos son fuertemente influidos por las condiciones climáticas prevaletientes y las características físico-químicas de los suelos. En los



suelos del ex lago de Texcoco la elevada salinidad y conductividad eléctrica constituyen una limitante para el buen desarrollo de los procesos biológicos, pero a su vez originan en los organismos que los habitan posibles adaptaciones que les permiten sobrevivir en este ecosistema de condiciones extremas. Entender el comportamiento del nitrógeno en estos ecosistemas nos permitirá un manejo más eficiente de las rutas que conforman su ciclo. Los resultados del estudio global de la dinámica del nitrógeno realizados anteriormente nos han conducido a la hipótesis de que "en los suelos del ex lago de Texcoco ocurre una reducción de nitratos" que inmoviliza el nitrógeno y lo hace menos disponible para las especies vegetales, convirtiéndose así en un factor limitante de la reforestación de la zona. En estos suelos la reducción de nitratos parece estar relacionada con la presencia de glucosa y es un proceso que ocurre en las primeras horas de la aplicación de nitrógeno. Para comprobar este proceso hemos diseñado una estrategia de investigación que se basa en provocar en los microorganismos un estrés por nitrógeno, al adicionar glucosa al suelo, y posteriormente utilizar inhibidores de la nitrificación y de las rutas microbianas anaerobias de reducción de nitratos. Los resultados obtenidos muestran que efectivamente la glucosa es un factor clave en la

reducción de nitratos que ocurre en los suelos del ex lago de Texcoco, pero esta reducción no fue afectada por la presencia de amonio, considerado el regulador principal de esta ruta metabólica en los microorganismos.

Efecto de los biosólidos

En México se ha incrementado el tratamiento de aguas residuales con la creación de grandes cantidades de biosólido. Estos biosólidos residuales, provenientes de reactores biológicos de aguas residuales, pueden representar un impacto benéfico en suelos agotados debido a que constituyen un fertilizante excelente por su contenido de nutrientes (C, N y P). Los beneficios del uso de biosólidos quedan sujetos a los resultados del examen de una serie de problemas ambientales antes de implantar el sistema de manejo; es necesario conocer y controlar o eliminar el contenido de mutágenos, cancerígenos, microorganismos patógenos, así como metales que se pueden acumular en el suelo.

Otro de los factores importantes que es necesario controlar para poder utilizar los biosólidos como fertilizantes de una zona agrícola es la mineralización del nitrógeno orgánico en el biosólido, así como la cantidad de carbono fácilmente biodegradable. Para que éstos puedan ser reutilizados deben estar caracterizados fisicoquímica y microbiológicamente con el fin de asegurar que no existan residuos peligrosos en su composición y de que no ocasionan impactos negativos; por estas razones en nuestro laboratorio de Ecología de Suelos se ha realizado el estudio de biosólidos provenientes de aguas residuales industriales. Para eliminar el contenido de patógenos existen diferentes tipos de tratamientos: tratamiento térmico, aplicación de calor o irradiación, siendo éste último proceso el más efectivo. Las concentraciones de los metales pesados demostraron que el biosólido utilizado es de excelente calidad de acuerdo a los lineamientos de la fracción 503 de la EPA y norma Ecol 004. La concentración de patógenos y parásitos nos permitió clasificar al biosólido como tipo "B", *i.e.*, puede ser utilizado en suelos de jardinería y de cultivo forestal. Se ha observado que estos biosólidos no afectan los procesos biológicos de suelos semiáridos ni el crecimiento de plantas como maíz, mezquite y frijol en concentraciones menores al 2%. Es necesario realizar experimentos en campo a largo plazo para evaluar la

acumulación de metales pesados en la planta, así como la toxicidad de compuestos orgánicos en el suelo y en las plantas.

Contenido de biomasa en los suelos

La comunidad microbiana del suelo es un componente lábil de la fracción orgánica, contiene de 1 a 3% del carbono total y hasta 5% del nitrógeno total del suelo; su importancia está asociada con la fertilidad del suelo, los ciclos biogeoquímicos, la descomposición de adiciones naturales o sintéticas y la formación estructural y estabilización física de los agregados. Las características físicas, químicas y biológicas del suelo, así como la presencia de plantas, tienen influencia sobre el número y la actividad de las poblaciones microbianas². La determinación de la biomasa microbiana en suelos de México no ha sido llevada a cabo de manera sistemática y es necesario tener información acerca de esta componente para comprender los procesos biológicos que se llevan a cabo en el suelo.

Existen diferentes métodos para cuantificar la biomasa microbiana del suelo, como la fumigación-incubación con cloroformo³, la fumigación-extracción con cloroformo⁴, la respiración inducida por sustrato⁵, o la cuantificación de ATP⁶. La fumigación-extracción con cloroformo es un método fácil y rápido para cuantificar C, N y P microbianos en suelos bajo condiciones diferentes⁴. El C orgánico o el nitrógeno reactivo a ninhidrina (NRN) después de un día de fumigación con cloroformo pueden relacionarse con el C o N microbianos utilizando un factor dado. Sin embargo, existen diferentes valores publicados para relacionar NRN o C orgánico con el C microbiano. Las diferencias podrían estar relacionadas con las características específicas de los suelos. La eficiencia de la técnica de fumigación depende de la eficiencia de la fumigación y de la actividad de las enzimas proteasas e hidrolasas para liberar NRN o C orgánico soluble, respectivamente.

Los valores obtenidos en el laboratorio de los suelos estudiados (Texcoco, Xochimilco, Ostuacán y la Venta) difieren a los publicados; la conductividad eléctrica, el pH o la presencia de hidrocarburos podrían tener un efecto sobre la actividad enzimática.

Efecto de las aguas residuales de tenería

La tradición artesanal en la elaboración de productos de piel, junto con la disponibilidad de materias primas y mano de obra, han favorecido el desarrollo de la industria de la curtiduría en nuestro país. Actualmente, México se encuentra ubicado entre los diez mayores productores de pieles en el ámbito internacional, pues genera aproximadamente el 4% de la producción mundial. El 80% de la producción de piel terminada se lleva a cabo en tenerías integradas, es decir, en aquellas que realizan el proceso completo. El número de tenerías registradas a nivel nacional es de 1000 aproximadamente, con un alto grado de fragmentación, ya que la mayoría de ellas tiene una producción menor de 100 cueros diarios y son administradas familiarmente.

En el proceso de curtido se utilizan diversas sustancias, entre las cuales se encuentran sales de cromo, principalmente sulfato básico de cromo ($\text{Cr}(\text{OH})\text{SO}_4$). La producción de este compuesto, y el manejo inadecuado de los residuos sólidos y líquidos de las curtidurías, han propiciado la dispersión de cromo en el valle de León. La industria del curtido de piel es una de las que contamina en mayor grado y lo hace en los tres estados de la materia: sólidos, líquidos y gases. Se encuentran dos tipos de residuos sólidos: los crudos (no estabilizados) y los cromados (estabilizados), la suma de ambos representan el 85% del total de residuos sólidos de esta industria.

En la actualidad, los desechos de la industria de la curtiduría aparecen listados en su totalidad como residuos peligrosos en la norma oficial mexicana NOM-052-ECOL/1993, lo cual obliga a acopiarlos, almacenarlos, transportarlos, reciclarlos, tratarlos o confinarlos a través de empresas autorizadas. Sin embargo, los residuos sólidos y líquidos de las curtidurías también contienen una alta cantidad de nutrientes y materia orgánica residual no convertida, y se consideran casi iguales a los fertilizantes tradicionales⁸.

El contenido relativo de materia orgánica de estas aguas residuales, aunado a la escasez de agua de riego en el municipio de León, son factores que han llevado a que se reutilice este tipo de aguas en el riego de cultivos básicos como maíz y alfalfa para consumo animal

principalmente. Hasta la fecha no hay suficientes estudios sobre los efectos negativos que este tipo de efluentes pueda ocasionar al suelo, plantas, animales y al hombre mismo. Si se considera la importancia de los aspectos agronómicos en algunos municipios, como León, que utilizan el agua residual proveniente de tenerías para la producción de diferentes cultivos de la zona (maíz, alfalfa, etc.), se entiende el hecho de que se hayan incrementado las concentraciones de metales pesados, la salinización y los microorganismos patógenos, con los consiguientes riesgos a la cadena trófica. Se tienen referencias de los efectos ocasionados por las aguas residuales de tenería en diferentes suelos, pero existe poca información referente al efecto ocasionado sobre la fisiología y el metabolismo en las plantas de maíz y alfalfa para uso animal y sus repercusiones en ellos.



Notas

1. Comisión Nacional del Agua, informe SU-6-C03-3-390 (1996).
2. USEPA/832/r-93/003 (Washington, 1994).
3. D.S. Jenkinson y P.S. Powelson, *Soil Biol. Biochem.* **8**, 209 (1976).
4. Vance *et al.*, *Soil Biol. Biochem.* **19**, 703 (1987).
5. J. Anderson y K. Domsch, *Soil Biochem* **10**, 215 (1978).

6. D.S. Jenkinson y J.N. Ladd, *Soil Biochem.* **5**, 415 (1981).

7. USEPA/B32-B-93-005 (Washington, 1995).

8. INE-SEMARNAP (1999).



Sistemas de tratamiento de aguas residuales por aplicación al suelo

**Dioselina Alvarez Bernal,
Silvia M. Contreras Ramos
y Héctor M. Poggi Varaldo**

La aplicación de agua residual al suelo implica el uso de las plantas, de la superficie y de la matriz del suelo para su tratamiento. El reuso de efluentes tratados se ha incrementado en la agricultura ya que tiene como metas promover la agricultura sostenible, preservar las escasas fuentes de agua y mantener la calidad ambiental¹. Para el caso de México, este tipo de alternativa parece ser atractiva debido a la unión de dos factores: las regiones áridas donde la producción agrícola depende del riego y el bajo costo asociado al tratamiento de aguas residuales.

Ventajas y limitaciones

La práctica del tratamiento de aguas residuales por aplicación (vertido) al suelo (TARVES) ha recobrado interés a la luz de sus innumerables ventajas. Una de sus principales ventajas es de tipo económico, siempre y cuando se lleven a cabo adecuadamente los criterios apropiados de diseño, y sobre todo el tipo de efluente a tratar, ya que el reuso del agua renovada puede ser de gran utilidad en lugares donde existe escasez de agua. Las opciones de reuso han sido tema de diversas investigaciones: irrigación de cultivos y bosques, en usos industriales, en usos domésticos y en usos municipales (tabla 1)¹. En agricultura también es posible reducir los costos utilizando monitoreo de aguas residuales y políticas de irrigación-fertilización adecuadas². Sin embargo, las desventajas aparecen cuando estos sistemas no son

Los autores son investigadores del Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del Cinvestav. Dirección electrónica: sm_contreras@yahoo.com.mx

Tabla 1: Calidad de agua tratada y su uso/reuso.

| Tipo de uso | Tratamiento | Calidad del Agua |
|--|---|---|
| Urbana, irrigación de cultivos que se ingieren crudos, áreas verdes | Secundario, filtración y desinfección | pH = 6-9; ≤ 10 mg/L DBO; ≤ 2 NTU Coliformes fecales /100 ml ND ≥ 1 mg/L Cl_2 residual |
| Irrigación de áreas de acceso restringido, construcción, reuso ambiental | Secundario y desinfección | pH 6-9; ≤ 30 mg/L DBO; ≤ 30 mg/L SST; ≤ 200 col. Fec. /100ml ≥ 1 mg/L Cl_2 residual |
| Recarga de acuífero no potable por rocío | Depende del sitio y del uso, trat. primario mínimo | Depende del sitio y del uso |
| Recarga de acuífero no potable por inyección | Depende del sitio y del uso, trat. secundario mínimo | Depende del sitio y del uso |
| Recarga de acuífero potable por rocío | Depende del sitio y del uso, trat. secundario y desinfección mínimo | Depende del sitio y de los estándares para agua potable después del percolación por la zona vadosa |
| Recarga de acuífero potable por inyección, ampliación de superficies | Secundario, filtración, desinfección, tratamiento avanzado | pH = 6.5- 8.5; ≤ 2 NTU; ND Coli. Fec./100ml; ≥ 1 mg/L Cl_2 Residual Conociendo los estándares para agua potable |

Fuente : US. EPA (1992).

aplicados en forma apropiada y se generan riesgos para la salud pública: se ha observado que se contaminan los cultivos, o se eutrofican ríos, lagos y estanques. Otro de los aspectos de alto riesgo está asociado al vertido de aguas residuales de industrias tales como la química, de curtiduría, de minería, sobre todo en países subdesarrollados.

En nuestro país existen problemas reales como el del estado de Guanajuato (principalmente la región de León), donde las tierras de cultivo son irrigadas con aguas residuales de las industrias curtidoras y de la industria química, y se están realizando estudios del nivel de contaminación con cromo en suelos y cultivos. El problema radica en la falta de una planeación del tratamiento de las aguas residuales y en el caso omiso a la normatividad que rige el vertido de aguas residuales³. En la tabla 2 se citan algunos casos donde se han utilizado procesos de aplicación al terreno.

Los tres procesos principales de aplicación al terreno son la irrigación, la infiltración rápida y la escorrentía superficial (figura 1). La irrigación es un proceso de aplicación al suelo de un efluente para su tratamiento y para proporcionar ciertos compuestos para el crecimiento de las plantas. El efluente aplicado sufre un tratamiento por medios físicos, químicos y biológicos al filtrarse en el suelo. El efluente es regado por aspersión, inundación o surcos (figura 2). La infiltración rápida es un tratamiento que se produce cuando el agua atraviesa rápidamente (muchas veces por inyección) la matriz del suelo. Los objetivos del sistema pueden incluir la recarga de acuíferos, el tratamiento natural seguido de la extracción por bombeo o por drenaje para su recuperación y el tratamiento natural con agua renovada que se desplaza vertical y lateralmente en el suelo recargando una corriente de agua superficial. La escorrentía superficial es esencialmente un proceso de tratamiento biológico en el cual

Tabla 2: Sumario de casos de TARVES.

| Tratamiento | Tipo de efluente | Pre-tratamiento | Tiempo de tratamiento | Impacto | Referencia |
|-------------------------------------|-------------------------------|--|-----------------------|--|------------------------|
| Irigación arrozal | Industria papel/ doméstica | Si | (+) de 60 años | Remoción 60-88% SS y 30-50% DBO, No afectó manto freático, suelo ↑ [], K, Ca, N, CIC ↓ [Mg] | Adishesha ⁴ |
| Irigación | Industria láctea | Si | 2 años | Promovió la desnitrificación | Singleton |
| Circulación superficial en lámina | Industria de alimentos 22-226 | NR | 10 años | Remoción ↑ DQO, CORT, DBO ₅ y SST >92%, N 84 -89% | Tedaldi |
| Irigación | Industria de carnes | NR | NR | NR | Bidwell ⁵ |
| Irigación (<i>Suaeda esteroa</i>) | Acuícola ↑ [sal] | Filtro de recirculación | 3.5 meses | ↑ [P], ↓ [N] y ↑ biomasa | Brown |
| Irigación a arrozales, 2 variedades | Municipal | Sedimentación primaria | 1.5 años | Remoción FT (83 %), DQO (73%) y DBO (85.8%), NT (76%) | Jiantog ⁶ |
| Irigación a <i>Eucalipto</i> | Industria de carne | Laguna de estabilización | 4 meses | Remoción: N 60% y P 30% | Guo ⁷ |
| Irigación a arrozales | Industria láctea/ establos | Laguna de estabilización | NR | NR | Brewer ⁸ |
| Ultrafiltración | Industria de pescadería | NR | NR | ↓ DBO ₅ , remoción del 80 % efluente | Mamerl |
| Irigación por surcos en arrozales | Municipal | Laguna de sedimentación y estabilización | 4 meses | 97.7% DBO ₅ 50 % SS 94 % N 96 % FT | Gao ⁹ |

se aplica el agua residual sobre las zonas de un terreno dispuesto en pendiente desde donde fluye a través de la superficie vegetal hasta unas zanjas de recolección. La renovación del agua se lleva acabo por medios físicos, químicos y biológicos al fluir el agua residual en una delgada lámina sobre la pendiente relativamente impermeable.

Las consideraciones fundamentales en el diseño y operación de los sistemas de aplicación al suelo son el conocimiento de las características del agua residual, de los mecanismos de tratamiento, vegetación y los requisitos concernientes a la salud pública, todos ellos fundamentales para el planeamiento y funcionamiento satisfactorios (tabla 3).

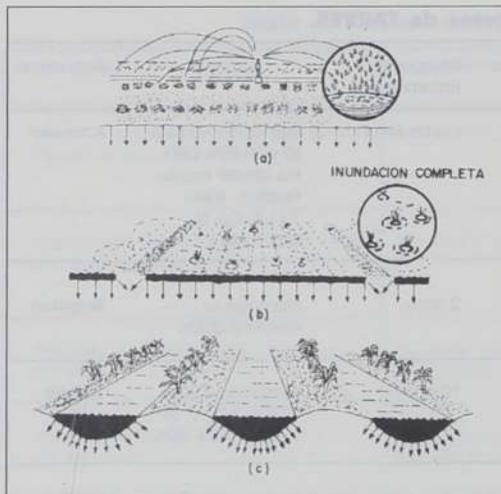


Figura 1. Técnicas de irrigación: (a) aspersión, (b) inundación, (c) por surcos.

Agua residual y vegetación

Los sistemas de aplicación al terreno para eliminar materia orgánica son efectivos ya que es filtrada por la hierba, el mantillo, la capa superficial del suelo y es reducida por oxidación biológica; el nitrógeno puede eliminarse por incorporación en el cultivo y por desnitrificación; los procesos principales de eliminación del fósforo son la precipitación y adsorción química, aunque las plantas también captan ciertas cantidades; los cationes intercambiables, como los iones de Na, Ca y Mg en altas concentraciones (sobre todo Na), en suelos arcillosos se dispersan con las partículas del suelo y disminuyen su permeabilidad. Muchos de los elementos a nivel de residuos son esenciales para el crecimiento de las plantas, pero algunos son tóxicos en concentraciones mayores, tanto para plantas como para los microorganismos; los mecanismos de eliminación de las bacterias comunes incluyen la retención, muerte, sedimentación, atrapamiento y la adsorción (tabla 4). Las plantas se utilizan en este tipo de sistemas para captar el nitrógeno y el fósforo del agua residual aplicada, mantener e incrementar las tasas de entrada de agua y la permeabilidad del suelo, reducir la erosión y servir como medio para la reproducción de microorganismos¹⁰.

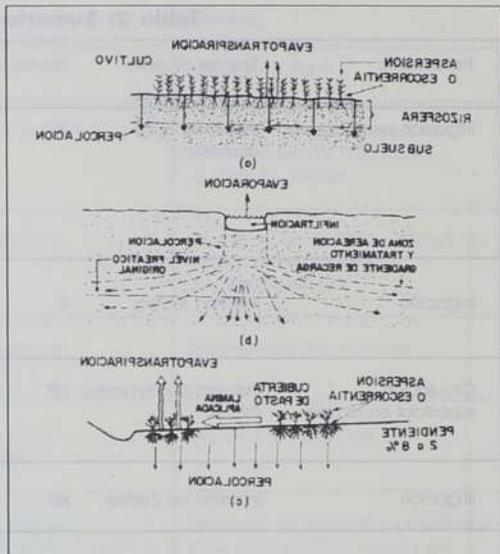


Figura 2. Tipos de procesos de tratamiento por aplicación al suelo: (a) irrigación, (b) infiltración rápida, (c) escorrentía superficial.

Salud pública

Los aspectos de salud pública que están relacionados con el uso del agua residual involucran la supervivencia de bacterias patógenas y virus en las pequeñas gotas de aerosol pulverizadas sobre y en el interior del suelo. La Organización Mundial de la Salud establece que para el riego sobre cualquier tipo de cultivo el agua no debe tener más de 100 coliformes fecales/100 ml¹¹. En California y Arizona las aguas residuales depuradas para el riego de cultivos que se consumen crudos no pueden tener una media geométrica superior a 2.2 coliformes fecales/100 ml, y ninguna muestra puede tener más de 23-25 coliformes fecales/100 ml¹². En Israel, las aguas para regar cultivos que después se van a consumir crudos deben tener menos de 12 coliformes fecales/100 ml a lo más en 80% de las muestras, y menos de 2.2 coliformes fecales/100 ml a lo más en 50% de las muestras; además deben tomarse precauciones por la posible conexión entre patógenos y la contracción de enfermedades por animales o seres humanos. Existe la necesidad de contar con zonas de amortiguamiento o desinfección para minimizar riesgos a la salud pública y deben evaluarse, según el caso, los siguientes factores: acceso público al lugar, el

Tabla 3: Comparación de los distintos tratamientos por aplicación al suelo.

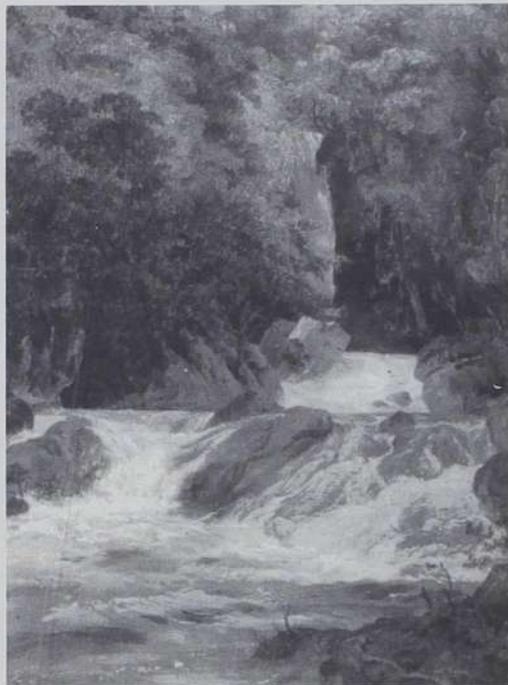
| Característica | Irigación | Infiltración rápida | Escorrentía superficial |
|--|---|--|---|
| Técnicas de aplicación | Aspersión o superficial | Aspersión o superficial | Aspersión o superficial |
| Tasa anual de aplicación, m. | 0.6-6.0 | 6-120 | 3-20 |
| Superficie de terreno, ha | 22-226 | 1-22 | 10-44 |
| Tasa de aplicación semanal, m. | 2.5-10 | 10-210 | 6-15 |
| Tratamiento mínimo previo | Sedimentación primaria | Sedimentación primaria | Desbaste y desarenado |
| Eliminación del agua residual aplicada | Evapotranspiración y percolación | Percolación principalmente | Drenaje zanjas y evapotranspiración con algo de percolación |
| Vegetación | Necesaria | Opcional | Necesaria |
| Restricciones climáticas | Almacenamiento en tiempo frío y para la precipitación | Ninguna (modificada tiempo frío) | Almacenamiento en frío |
| Distancia hasta la capa freática en metros | 0.6-0.9 (mínimo) | 3.0 (aceptables profundidades menores cuando exista drenaje) | No es crítica |
| Pendiente | Menos del 20% en terreno cultivado; menos del 40% en no cultivado | No crítica: las pendientes excesivas requieren mucho movimiento de tierras | Pendientes muy baja 2-8% |
| Permeabilidad del suelo | Moderadamente baja a moderadamente alta | Alta (arenas margosas) | Baja (arcillas, limos, y suelos con barreras impermeables) |

tamaño de la zona regada, la posibilidad de disponer de zonas de amortiguamiento o de plantar árboles o arbustos y las condiciones climáticas¹².

Un estudio llevado a cabo en 1994 en Israel demostró que los cultivos irrigados con efluentes de aguas residuales municipales contenían una carga de microorganismos alta; los vegetales resultaron ser los más vulnerables, lo cual representa un riesgo para la salud pública, ya que ese tipo de alimentos se consumen crudos¹². Por otro lado, en la región del valle del Mezquital, en el estado de Hidalgo, por varios años se ha irrigado con aguas residuales crudas provenientes de la ciudad de México; este exceso de irrigación ha recargado los mantos acuíferos que se utilizan como agua potable. Análisis específicos indican un mal tratamiento de purificación y representan un riesgo potencial para enfermedades, principalmente de tipo gastrointestinal¹³. En la tabla 4 se muestran algunos casos de estudio para diferentes efluentes y su porcentaje de remoción.

Aplicación al suelo por irrigación

Este sistema puede aplicarse a los cultivos o a la vegetación tanto por aspersión como por técnicas superficiales (figura 2) para anular la descarga superficial de nutrientes, obtener un beneficio económico del uso de agua y nutrientes para producir cultivos comercializables; también es útil para conservar el agua por sustitución cuando se riegan céspedes y parques, así como la preservación y desarrollo de zonas verdes y espacios abiertos. Cuando el agua de irrigación es un recurso escaso, los cultivos pueden regarse con tasas de aplicación de 2.5 -7.5 cm/semana, dependiendo del cultivo. Los cultivos desarrollados con altas tasas de irrigación (entre 6-10 cm/semana) son generalmente pastos con alta tolerancia al agua. El agua residual es captada por las plantas, evaporada parcialmente (evapotranspiración) y filtrada a través del suelo.



Un estudio realizado por Brown⁵ registró el uso de un efluente salino de cultivos de tilapia, irrigado en cultivos de forraje de *Suaeda esteroa* que tiene un potencial halófito; a diferentes velocidades de evotranspiración de 50-250% se logró obtener una remoción de nitrógeno y fósforo y una alta producción en biomasa del forraje.

Para seleccionar el terreno, los principales factores que se deben considerar son la drenabilidad del suelo, que es el factor fundamental, y el tipo de cultivo o vegetación elegida que afecta directamente a la carga hidráulica. Para este sistema es preferible un suelo moderadamente permeable capaz de infiltrar aproximadamente 5 cm/d o más de modo intermitente, y son adecuados los suelos arcillosos y areno-limosos. La superficie total depende de las tasas de aplicación.

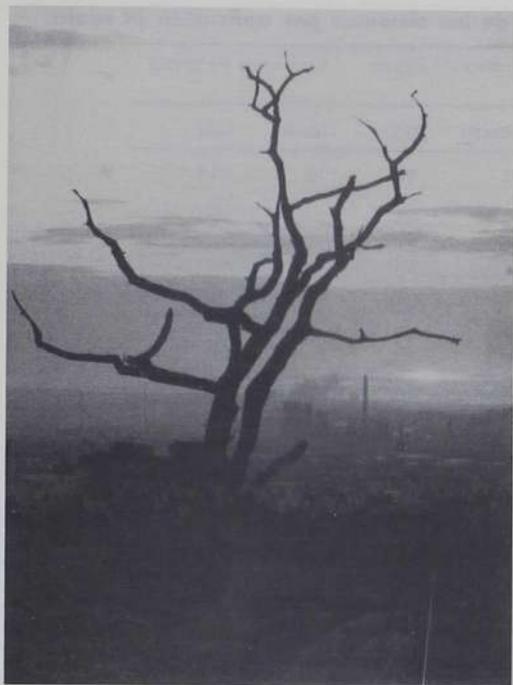
El tratamiento previo a la aplicación depende de numerosos factores: las normas concierne a la salud pública, la carga aplicada con respecto a las características críticas del agua residual y la efectividad y fiabilidad de los equipos empleados, el tipo de cultivo a desarrollar, el

uso que se destina al producto, el grado de contacto entre la población y el efluente y el método de aplicación. En un caso particular⁶ la irrigación por rocío de efluentes de lácteos y de establos, con una gran variación en la tasa de aplicación anual (29 a 817 m³/ha) se obtuvo una carga de nitrógeno en exceso a la permitida, por lo que se sugirió un tratamiento previo al efluente como una separación mecánica de sólidos suspendidos, seguida de una sedimentación y una digestión anaerobia. Para el riego de cultivos de una sola cosecha anual, la aplicación del agua residual se restringe a la época de riego, y el almacenamiento puede ser un periodo variable, entre 1 y 3 meses en climas moderados y entre 4 y 7 meses para climas fríos. En cuanto a la temperatura, se ha comprobado que este sistema funciona bien aun por debajo de los 0°C.

Para determinar las características del agua residual que actúan como factores limitantes, deben efectuarse balances para el agua, nitrógeno, fósforo, materia orgánica y otros constituyentes de concentración anormalmente alta. Los elementos a considerar en la determinación de la carga hidráulica son el caudal de efluente a aplicar, la precipitación, la evapotranspiración, la percolación y la escorrentía. Deben considerarse también las variaciones estacionales de cada mes, así como de cada año.

La realización de un balance de nitrógeno total también es muy importante, ya que los iones de nitrato tienen movilidad en el suelo y pueden afectar a la calidad del agua receptora. La eliminación de nitrógeno por captación del cultivo es función del cultivo producido y requiere la cosecha y la eliminación física de aquél para ser efectiva. El fósforo es eliminado del agua residual que se percola por fijación y precipitación química; esta carga debe estar por debajo de la capacidad del suelo para fijar y precipitar el fósforo. Sin embargo, se ha visto que también puede ser utilizado por las plantas; Guo⁷ encontró que para efluentes de industrias cármicas irrigados en cultivos de *Eucalyptus* se alcanzaba una remoción del 60% para nitrógeno y un 30% para fósforo con tasas de aplicación bajas de 1-4 cm/semana. Otro estudio realizado por Jiantong⁸, con irrigación de efluentes de agua municipal doméstica en cultivos de arroz, tuvo una remoción de fósforo del 83%, de nitrógeno del 76%, del cual el 50% fue asimilado por las plantas, y una remoción de DBO del 85%.

La carga orgánica media diaria debe calcularse a partir de la carga hidráulica y de la concentración de DBO₅ del



efluente aplicado; se ha estimado entre 11.2 y 28 kg/ha.d para mantener un contenido permanente de materia orgánica en el suelo. Un caso estudiado para irrigación de efluentes de la industria del papel, en combinación con aguas municipales para cultivos de arroz, demostró que el tratamiento lograba remover un 60-88% sólidos suspendidos y un 30-50% DBO del efluente; al mismo tiempo se obtuvo un aumento en la producción del cultivo de 6.14-6.74 toneladas con irrigación del efluente en comparación con una producción de 4.22 ton de cultivo con agua potable⁴.

Este sistema es muy eficiente para tratamiento de aguas residuales pero sólo como un proceso secundario; Gao⁹ registró un caso de tratamiento de agua municipal por irrigación por surcos en cultivos de arroz y sorgo en Shengyang, China, pero con un previo tratamiento primario al pasar el efluente por una laguna de sedimentación y una laguna de estabilización; se logró una alta remoción de DBO₅ (97.7%) y de sólidos suspendidos (50%), al mismo tiempo que una remoción de nitrógeno del 94% y de fósforo total del 96%.

La superficie de campo es aquella parte de la zona en que tiene lugar el proceso de tratamiento y se calcula en base a las cargas aceptables para cada parámetro de carga diferente (hidráulico, nitrógeno, fósforo, materia orgánica u otros), seleccionando así la superficie mayor. Las características más importantes de los cultivos para sistemas de irrigación son la capacidad de eliminación de nitrógeno, las necesidades de agua y tolerancias, la sensibilidad a los constituyentes del agua residual, las normas sanitarias vigentes y los aspectos relativos a la operación del sistema. Las tres clases de cultivo más utilizados son pastos y cultivos como la cebada, sorgo, maíz y mijo; en zonas ajardinadas se requiere menos agua que otros tipos de vegetación; los bosques ofrecen varias ventajas como lugares para la aplicación de agua residual.

Las técnicas de distribución pueden clasificarse en dos grandes grupos; sistemas de aspersión (figura 2 a) y sistemas de aplicación superficial (figuras 2 b y c). Los sistemas de aspersión son de dos tipos, fijos y móviles; los sistemas fijos pueden estar colocados sobre la superficie del terreno o enterrados. Ambos tipos consisten en aspersores de impacto montados sobre unos tubos que se encuentran espaciados a lo largo de las tuberías de distribución, las cuales están a su vez conectadas a las tuberías principales. Pueden ser utilizados para irrigación de tierras cultivadas como de bosques.

Los dos sistemas principales de aplicación superficial son la irrigación por surcos y por inundación. En la irrigación por surcos el efluente circula por gravedad a través de los surcos desde los cuales se infiltra al terreno. En la irrigación por inundación, se preparan unas ondulaciones paralelas al suelo, de poca elevación, en dirección de la pendiente.

El sistema de drenaje consiste en cualquier tipo de conducto enterrado con juntas abiertas o perforaciones que recolectan y transportan el agua renovada que se ha filtrado a través del suelo durante el tratamiento. El drenaje debe bajar hasta el manto acuífero dentro de los primeros días tras la aplicación del efluente o una precipitación extraordinaria. Los sistemas de drenaje consisten generalmente en una red de tubos de drenaje enterrados entre 1 y 3 cm por debajo de la superficie e interceptados en un extremo del campo por una zanja de cierre el espacio entre drenes estará gobernado por la permeabilidad del suelo y por la profundidad del manto acuífero.

Tabla 4: Calidad esperada del agua tratada de los sistemas por aplicación al suelo.

| Constituyente | Irigación | | Infiltración rápida | | Escorrentía superficial | |
|--------------------------|-----------|------|---------------------|-----|-------------------------|-----|
| | Media | Máx | Media | Máx | Media | Máx |
| DBO ₅ (mg/L) | < 2 | <5 | 2 | <5 | 10 | <15 |
| SST (mg/L) | < 1 | <5 | 2 | <5 | 0.8 | <20 |
| N Amoniacal (mgN/L) | <0.5 | <2 | 0.5 | <2 | 0.8 | <2 |
| N Kjeldahl Total (mgN/L) | 3 | <8 | 10 | <20 | 3 | <5 |
| P Total (mgP/L) | <0.1 | <0.3 | 1 | <5 | 4 | <6 |

El control de la escorrentía superficial en los sistemas de aplicación superficial, como la irrigación por surcos y por inundación, se suele aplicar el efluente haciéndolo discurrir sobre el terreno; esta agua excedente (varía entre el 10-40%) se suele recolectar y reutilizar por medio de una serie de zanjas de recolección, un pequeño depósito, una estación de bombeo y una tubería forzada hasta un pequeño tanque de almacenamiento o sistema de distribución. Los sistemas de irrigación pueden requerir alguna forma de control de la escorrentía pluvial cuando se producen precipitaciones de alta intensidad; la cantidad esperada dependerá de la capacidad de infiltración del suelo, la humedad anterior del suelo, la pendiente, el tipo de vegetación y la temperatura del aire y del suelo. La tabla 1 incluye una guía donde se pueden observar los posibles usos y los tratamientos; en la tabla 4 se presenta la calidad que debe tener el agua tratada por sistemas de aplicación al terreno.



Notas

1. Y. Tselentis y S. Alexopoulou, *Water Sci. Techn.* **33**, 127 (1996).
2. N. Havury, *Agri Ecosys. Eviron.* **66**, 113 (1997).
3. M. Armienta y R. Rodríguez, *Environ. Health Perspectives* **103**, 47 (1995).
4. H.T. Adishesha et al., *Water Sci. Techn.* **35**, 205 (1997).
5. J. Brown y E. P. Glenn, *Aquacultural Eng.* **20**, 91 (1999).
6. L. Jiantong et al., *Ecological Eng.* **16**, 235 (1999).
7. L.B. Guo y E.E.H. Sims, *Bioresource Tech.* **72**, 243 (1999).
8. J.A. Brewe et al., *Bioresource Tech.* **67**, 161 (1998).
9. Z. Gao et al., *Water Sci. Techn.* **24**, 47 (1991)
10. A. Metcalf y J. Eddy, *Wateswater Treatment: Theory and Applications* (M. Dekker, Nueva York, 1979).
11. M.M. Pescod, *FAO Irrigation & Drainage* (Roma, 1992).
12. R. Armon et al. *Water Sci. Tech.* **30**, 239 (1994); H. Bouwer y E. Idelovitch, *Irrigation & Drainage Eng.* **113**, 516 (1987).
13. E. Cifuentes et al., *Am. J. Tropical Medicine & Hygiene* **62**, 388 (2000); *Environmental Health Perspectives* **107**, 553 (1999).

Modelado de procesos biológicos mediante técnicas de inteligencia artificial

Josefina Barrera Cortés

El interés por desarrollar un modelo radica en la posibilidad de reproducir un fenómeno o predecir el funcionamiento de un sistema. Los modelos pueden ser robustos, empíricos o de tipo caja negra, dependiendo del tipo de información disponible acerca del problema a resolver y de la experiencia y formación profesional del modelador. En biotecnología, el modelado fenomenológico de procesos biológicos no es práctica común debido a que involucra sistemas vivos que interaccionan en un ambiente heterogéneo complejo, donde es necesario considerar la ley de reproducción de los microorganismos, los nutrientes adecuados para su óptimo crecimiento y reproducción, las reacciones metabólicas involucradas en la producción de los metabolitos de interés, así como el efecto de la variación de las condiciones de operación en el desarrollo del microorganismo. Analizando las características de cada uno de estos componentes, nos damos cuenta que modelar un sistema biológico resultará difícil y en algunos casos imposible de llevar a cabo.

En algunos trabajos publicados el modelado de los sistemas biológicos ha sido básicamente de tipo empírico¹. Existen también modelos planteados sobre bases fenomenológicas; sin embargo, están tan simplificados que su aplicación está fuertemente restringida a una estrecha gama de condiciones de operación. En la actualidad, el creciente interés por los microorganismos y la expansión del comercio a nivel mundial, demandan incrementar la productividad y el rendimiento de los procesos biológicos, así como reducir los costos de producción. Para llevar a cabo esta tarea se han propuesto estrategias alternativas de modelado basadas en técnicas

La Dra. Josefina Barrera Cortés es investigadora titular del Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del Cinvestav. Dirección electrónica: jbarraera@mail.cinvestav.mx

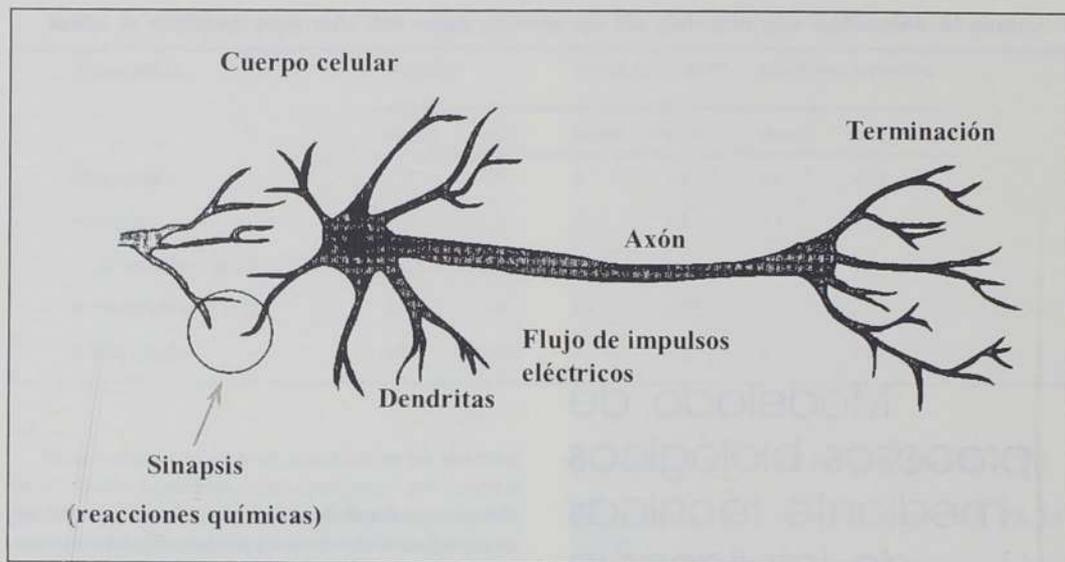


Figura 1. Transferencia de información entre neuronas biológicas

de la inteligencia artificial (IA). La IA es una tecnología desarrollada con la intención de reproducir las características propias del ser humano como son su capacidad de razonar, identificar objetos y sonidos así como analizar situaciones relacionadas con la toma de decisiones. Hasta el momento no se ha desarrollado una tecnología que permita reproducir, en conjunto, las capacidades del ser humano. Algunas aproximaciones son los sistemas expertos (SE), las redes neuronales (RN) y la lógica difusa (LD). Los SE y la LD son tecnologías que permiten resolver problemas de toma de decisiones y funcionan con base en una descripción verbal del proceso de solución. La LD, a diferencia de los SE, da el nivel de probabilidad de la solución emitida. Por su lado, las RN resuelven principalmente problemas de identificación de patrones a partir de datos del tipo causa efecto predeterminados.

En los siguientes párrafos se describen en forma breve algunas aplicaciones de la IA en el área de la biotecnología.

Sistemas expertos

Los SE constituyen una de las primeras tecnologías desarrolladas en el área de la IA y su principal aplicación

ha sido en la toma de decisiones y clasificación de patrones. Los SE están conformados por una base de conocimiento (BC), una base de datos (BD) y un motor de inferencia (MI). La BC es aquella que contiene toda la información relacionada con el proceso de solución del problema. La BD almacena toda la información que será manipulada en el sistema (datos experimentales). Finalmente, el motor de inferencia es aquel que contiene la estrategia de búsqueda para relacionar la BD con la BC.

Para que un sistema sea considerado experto es necesario que la información contenida en su base de conocimiento haya sido proporcionada por peritos en el tema y además incluya las soluciones de todos los posibles problemas que puedan presentarse. Dado que esto no es siempre posible, actualmente el nombre (SE) está siendo substituido por el de sistemas basados en el conocimiento (SBC).

El gran auge de los SE se ha dado gracias a la sencillez de la estructura que codifica el conocimiento, las reglas de producción y a la facilidad con la cual permiten resolver problemas de toma de decisiones. Vistos estos atractivos, a partir de los años 80 se empezaron a utilizar en el campo del diagnóstico de fallas y posteriormente en la supervisión y control de procesos químicos. Según los

resultados publicados, los SE son ideales para detectar fallas y guiar a los operadores de los procesos.

En el área de la biotecnología, los SE se empezaron a implantar en los años 90 para resolver problemas de supervisión y control de los procesos de fermentación. Dentro de las aplicaciones más importantes están la supervisión y el control de las condiciones de operación (presión, temperatura, pH y concentración de oxígeno disuelto en el medio de cultivo), producción de células y concentración de nutrientes en el medio de cultivo².

Si se analiza la información contenida en los párrafos anteriores, se podría decir que los SE no tienen nada que ver con el modelado de procesos. Sin embargo, es importante hacer notar que la descripción verbal del funcionamiento de un sistema es ya un modelo en sí. Este tipo de modelos ha sido aplicado en biotecnología al diagnóstico de fallas. En esta aplicación, el diagnóstico lleva implícito un modelo que predice una reacción ante un evento determinado. Con relación a la supervisión y el control es exactamente lo mismo. Para poder supervisar y controlar cualquier proceso, es necesario describir la secuencia de pasos que permitan conducirlo en una dirección deseada. Esta secuencia de pasos es el modelo del proceso.

Redes neuronales

Una RN es un sistema de procesamiento de información que está constituido por múltiples neuronas interconectadas a través de enlaces ponderados (pesos) con el fin de determinar la interrelación entre un conjunto de datos entrada-salida. El interés de las RN para resolver problemas de aproximación de funciones radica en su habilidad para aprender relaciones muy complejas y manejar grandes cantidades de información. En una RN las neuronas están distribuidas en capas, identificadas como capas de entrada, intermedias y de salida. Las RN pueden aproximar una función (f), lineal o no lineal, realizando un mapeo de la superficie de dicha función. Para aproximar f a la RN (F_{RN}), se utiliza un mecanismo de aprendizaje que consiste en ajustar los pesos de todas las conexiones entre neuronas, hasta que $F_{RN} \approx f$. Para resolver problemas de aproximación de funciones la red de alimentación hacia adelante y la regla de aprendizaje basada en la retropropagación del error (*backpropagation*) son las más utilizadas³.

En el área de la biotecnología las RN han sido aplicadas para resolver problemas de:

- Identificación y clasificación de estructuras moleculares⁴.
- Monitoreo y supervisión de emisiones de compuestos tóxicos⁵.
- Monitoreo de la producción de microorganismos⁶ y metabolitos de interés⁷.
- Identificación de plantas dinámicas⁸.
- Detección y diagnóstico de fallas en procesos estacionarios⁸.
- Control de la alimentación en reactores continuos⁹.

En cada uno de los casos mencionados las RN han mostrado mejores resultados que los obtenidos aplicando técnicas convencionales.

Modelos híbridos

Las técnicas de IA se han combinado de diferentes formas tratando de explotar al máximo las potencialidades de cada una de ellas. En biotecnología, las aplicaciones más comunes están orientadas a la supervisión y al control de los procesos de fermentación. En la mayor parte de los trabajos publicados, con la aplicación de los SE se intenta guiar la operación del proceso de fermentación, las RN predicen los estados futuros de la fermentación y la LD enriquece el conocimiento contenido en la base de conocimiento del SE. Un ejemplo de este tipo de trabajos es el presentado por Bettenhausen *et al*¹⁰. Estos autores presentan un problema de control de la producción de α -amilasa a partir de *Bacillus subtilis*. De acuerdo con los resultados descritos, la producción de α -amilasa aumentó en un 100%, cuando la fermentación se controló exclusivamente con técnicas de IA.

En nuestro grupo de trabajo estamos desarrollando un sistema de control inteligente aplicado al control de la velocidad de crecimiento de *Bacillus thuringiensis* (*B.t.*), producido por lote alimentado. El interés por estudiar *B.t.* es debido a su capacidad para formar esporas con

propiedades tóxicas para cierto tipo de insectos en su fase larvaria¹¹. Según estudios publicados, la velocidad de crecimiento de *Bt* determina el nivel de toxicidad de la proteína.

Este trabajo tiene por objetivo implantar una metodología de control basada en la IA que permita supervisar y controlar diferentes procesos de fermentación (lote, lote alimentado o continuo) independientemente de la información disponible acerca del proceso en cuestión. La aplicación proyectada es el poder manipular y controlar el nivel de toxicidad de las proteínas que podrían aplicarse al control de plagas agrícolas y cuya comercialización está prohibida por sus altos niveles de toxicidad.



Notas

1. J.E. Bailey y D.F. Ollis, *Biochemical engineering fundamentals* (McGraw-Hill, 1986).
2. K.B. Konstantinov y T. Yoshida, *Biotechn. Bioeng.* **39**, 479 (1992).
3. S.R. Chu, R. Shoureshi y M. Tenorio, *IEEE Control System Magazine* (abril 1990). W.J. Daunicht, *Neural Networks*, **4**, 839 (1991); L. Fu, *Neural networks in computer intelligence* (McGraw-Hill, 1994).
4. C.H. Wu, y S. Shivakumar (1994) *Nucleic Acids Res.* **22**, 4291 (1994).

5. D.E. Podkulski, *Chem. Eng. Progr.* **33** (octubre 1997).
6. Q. Zhang et al., *Biotechn. Bioeng.* **43**, 483 (1994).
7. L. Pekka y Z. Yi-Hong, *Process Biochem.* **27**, 275 (1992).
8. V. Venkatasubramanian, *Comp. Chem. Eng.* **14**, 699 (1990).
9. G. Muralikrishnan y M. Chidambaram, *Bioprocess Eng.* **12**, 35 (1995).
10. K.D. Bettenhausen et al., 6th Int. Conf. Comp. Appli. *Biotechn.* 324-327.
11. P.A. Kumar et al., *Adv. Appl. Microbiol.* **42**, 1 (1996); J.M. Lee, *Biochemical engineering* (Prentice Hall, 1992).





Mexican School of Particles and Fields

Playa del Carmen, México, October 30 to November 6, 2002

The Division of Particles and Fields of the Mexican Physical Society has dedicated this school to celebrate the 60th birthday of Augusto García and Arnulfo Zepeda, pioneers of this field in Latin America. The scientific program will include about 70 review lectures on recent advances in high energy experimental physics, elementary particle phenomenology, quantum field and string theory.

Organizing Committee

G. Contreras, Cinvestav-UM
U. Cotti, IFM-UMSNH
J. C. D'Olivo, ICN-UNAM
R. Flores, IF-UASLP
R. Huerta, Cinvestav-UM
R. Juárez, ESFM-IPN
O.G. Miranda, Cinvestav
M. Mondragón, IF-UNAM
M.A. Perez, Cinvestav
A. Rosado, IF-BUAP
G. Tavares-Velasco, IFM-UMSNH

Sponsors

CLAF, CLAFM, ICTP, Conacyt,
Cinvestav, DPF-MPS, IFM-UMSNH,
ICN-UNAM, IF_UNAM, IF-UASLP,
ESFM-IPN, IF-BUAP

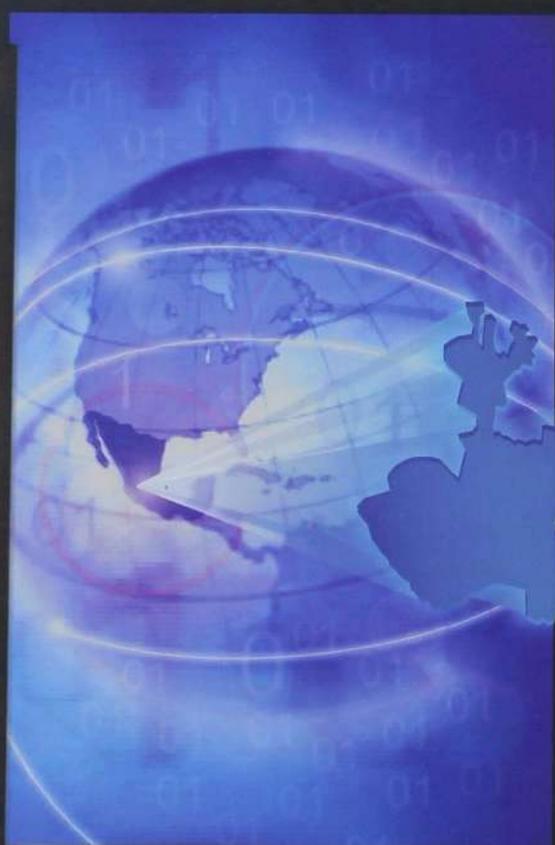
Further information:

<http://dpfc.smf.mx/School2002>

Guadalajara, Jalisco, Mexico
November 11 - 15

ISADS

2002



International
Symposium
on Advanced
Distributed Systems

www.gdl.cinvestav.mx/~isads



International
School on
Advanced
Distributed Systems