

Microbiología

Aspectos fundamentales

MARINA SÁNCHEZ DE PRAGER

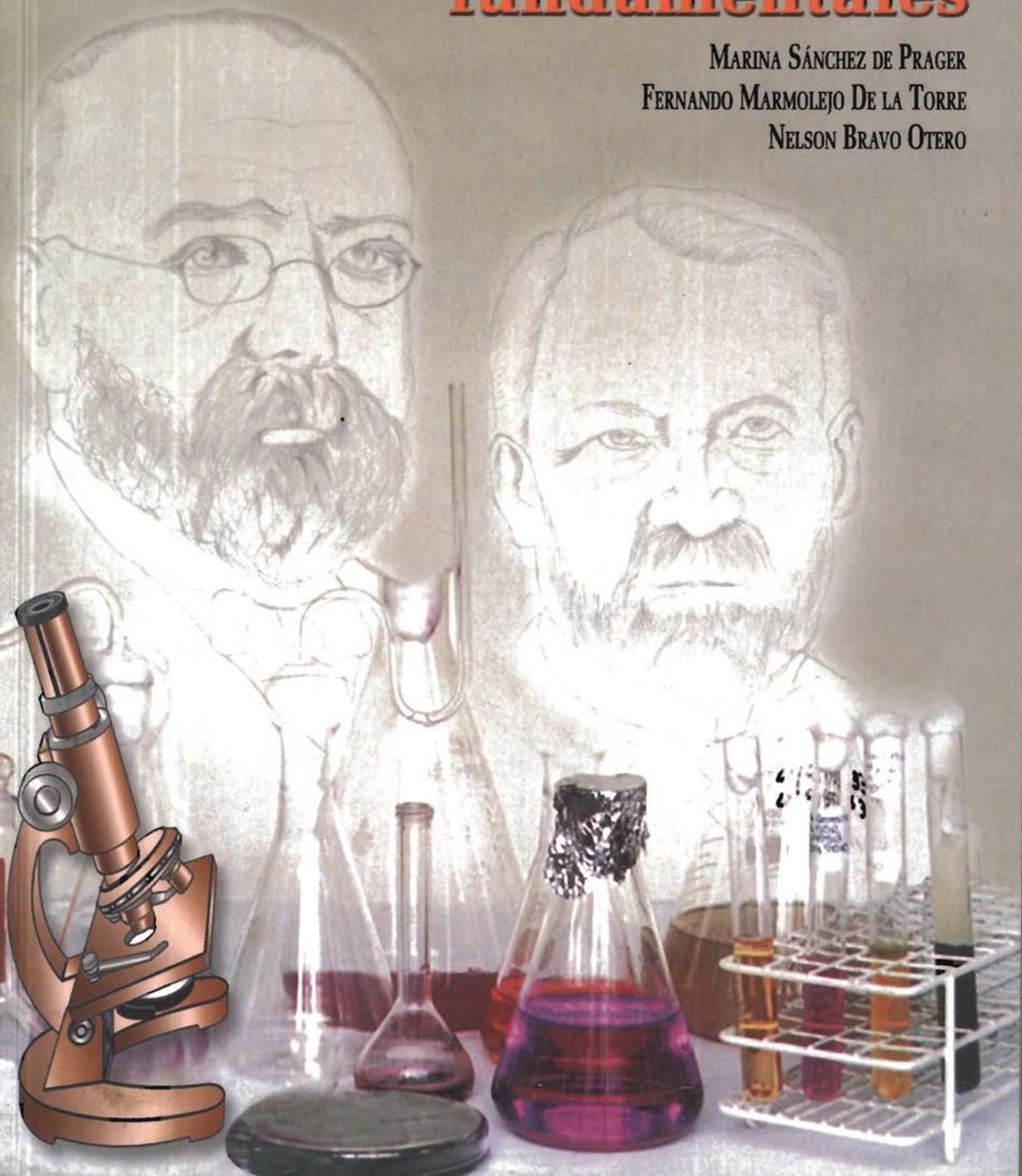
FERNANDO MARMOLEJO DE LA TORRE

NELSON BRAVO OTERO

UNIVERSIDAD NACIONAL
DE COLOMBIA

SEDE PALMIRA

UN



MICROBIOLOGÍA
Aspectos fundamentales

MICROBIOLOGÍA

Aspectos fundamentales

Marina Sánchez de Prager
Fernando Marmolejo De la Torre
Nelson Bravo Otero

Con la colaboración de los profesores
Hernando Patiño Cruz (q.e.p.d.)
y María Elena Pineda, M.V.

Universidad Nacional de Colombia - Sede Palmira
Departamento de Ciencias Básicas

© Marina Sánchez de Prager
Fernando Marmolejo De la Torre
Nelson Bravo Otero

ISBN: 958-8095-06-9

Fotografías

Eyder Daniel Gómez
Jorge I. Victoria K.
Nelson Bravo O.
Marina Sánchez de Prager
Fernando Marmolejo De la Torre
Carlos A. Huertas
Francia Varón de Agudelo
Hernando Patiño C. (q.e.p.d.)
Hugo Sierra (q.e.p.d.)

Dibujos originales

Nelson Bravo O.

Asesoría editorial

Julia Emma Zúñiga Rivera

Diseño e impresión

Feriva S.A.
Calle 18 N° 3-33
E-mail: feriva@feriva.com
www.feriva.com
Cali, Colombia

Los autores

Marina Sánchez de Prager

Profesora titular de la Universidad Nacional de Colombia - Sede Palmira, es Ingeniera Agrónoma, Magíster en Ciencias Agrarias con énfasis en Suelos y Aguas - Biología del suelo; adelanta su Doctorado en Tecnologías Agroambientales. Su área de investigación ha sido la Microbiología del suelo, tema en el cual ha dirigido alrededor de 40 trabajos de grado y tesis de maestría, un buen número de ellos en micorrizas arbusculares (MA). Adelanta trabajo pedagógico con el fin de estimular el interés de los estudiantes y comunidad por esta área del conocimiento. Investigaciones en el campo de la Microbiología, en las cuales ha participado, se han hecho acreedoras a dos premios nacionales.

Fernando Marmolejo De la Torre

Huasanó (Valle) 1945

Ingeniero Agrónomo, Universidad Nacional, Sede Palmira.

Magíster en Fitopatología, Programa de Estudios para Graduados en Ciencias Agrarias. Universidad Nacional - I.C.A.

Máster en Citricultura con énfasis en Protección del Cultivo –Universidad Politécnica– Valencia, España.

Profesor Asociado Universidad Nacional - Palmira, en las cátedras de Microbiología, Fitopatología y Patología de Semillas en el posgrado en Sistemas de Producción de Semillas, labor por la cual recibió el premio de Docencia Excepcional (1997).

Laboró durante 18 años en el Instituto Colombiano Agropecuario - I.C.A., en la División de Sanidad Vegetal, en actividades de clínica y diagnóstico, epidemiología vegetal y campañas fitosanitarias.

Nelson Bravo Otero

Ingeniero Agrónomo y Magíster en Sistemas de Semillas. A partir de su trabajo de grado se inclinó por el tema del control microbiológico de hongos fitopatógenos, área en la cual realizó y dirigió investigación a estudiantes. También ha incursionado en el tema de la taxonomía de hongos micorrizógenos y la patología de semillas. En 1980 obtuvo el Premio Nacional de Fitopatología "Gonzalo Ochoa Serna" (categoría estudiantes).

Es miembro activo de la Asociación Colombiana de Fitopatología y Ciencias Afines (Ascolfi) de la cual fue Secretario.

Ha combinado su actividad académica con su afición innata por las cuestiones artísticas: pintura a lápiz, canto y literatura. Es autor de dos novelas inéditas y ganador de tres premios en concursos de cuento y crónicas de Palmira.

A Laura, mi madre.

A toda mi familia.

MARINA

A la memoria de mi padre, Víctor.

A mi madre, Edelmira.

A mis hermanos y sobrinos.

A mi esposa, Luz Mercedes.

A mis hijos, Adriana, Carlos Alberto y Fernando.

*A los estudiantes de microbiología
y a todas aquellas personas que se interesen en el tema.*

FERNANDO

A la memoria de mis padres,

ejemplo de superación y abnegación.

A mi esposa por su amor y apoyo incansables.

A mis hijos, norte constante de mi vida.

A mis hermanos.

A mis maestros.

NELSON

Reflexiones

Lo infinitamente pequeño tiene importancia infinitamente grande.

L. PASTEUR

La mayor necesidad del mundo es la de hombres que sean sinceros y honrados en lo más íntimo de sus almas. Hombres cuya conciencia sea tan leal al deber como la brújula al polo.

RUDYARD KIPLING

Se puede enseñar al estudiante una lección para un día, pero si logramos despertar su curiosidad seguirá aprendiendo durante toda la vida.

ENRIQUE RODÓ

«...Caminante, no hay camino, se hace camino al andar. Al andar se hace camino y al volver la vista atrás se ve la senda que nunca se ha de volver a pisar».

A. MACHADO

Agradecimientos

Los autores expresan su gratitud a la Universidad Nacional de Colombia –Sede Palmira–, en especial a la profesora Nancy Barrera M. de la Dirección de Investigaciones-Dipal de la sede, por apoyar la financiación de esta obra, a través del proyecto para el mejoramiento y desarrollo de la capacidad de investigación N° 98CG415051.

A los profesores María Elena Pineda, Hernando Ramírez, José Carlos Miranda y a los colegas Jorge I. Victoria y Francia Varón de Agudelo por la revisión y corrección de algunos de los capítulos.

A los ingenieros agrónomos Gloria Patricia Castillo, Gabriel Díaz, Alexander Rebolledo, Liliana Trujillo, Pablo Iván Gallo y en especial a Eyder Daniel Gómez por su valiosa ayuda en la toma de algunas fotografías y digitación del texto.

A las señoras Rosa Elena Salamanca, María del Carmen Calero y Ana Milena Molina por su trabajo de digitación.

A nuestros hijos Carlos Alberto Marmolejo R., Martín Prager S. y Nelson Bravo S., por su valiosa colaboración en la elaboración de dibujos y corrección del texto.

A los estudiantes de los cursos de Microbiología, Biología y Microbiología del Suelo por sus aportes a través de la lectura de estos textos, sus observaciones e inquietudes nos han permitido mejorarlos y enriquecerlos. Al auxiliar de Laboratorio de Microbiología, Luis Hernando Lotero.

Finalmente al señor Enrique Torres, empleado de **Feriva** por la colaboración en el diseño e impresión de la obra.

Contenido

Presentación	15
Introducción	17
Capítulo I	
Desarrollo histórico de la Microbiología	19
Capítulo II	
Anatomía y morfología microbianas	65
Capítulo III	
Metabolismo microbiano	87
Capítulo IV	
Catabolismo y anabolismo	115
Capítulo V	
Bacterias fitopatógenas	143
Capítulo VI	
Los micoplasmas o mollicutes: fitoplasmas	161
Capítulo VII	
Los hongos	171
Capítulo VIII	
Virus, viroides y priones	205
Glosario	237
Bibliografía	251

Presentación

El quehacer académico en la Universidad Nacional de Colombia: docencia, investigación y extensión, busca entre otros fines: «la asimilación crítica y creación de conocimiento en los campos avanzados de las ciencias, la técnica, la tecnología, el arte y la filosofía y hacer partícipes de su actividad académica e investigativa a los sectores sociales que conforman la nación colombiana...»

El cumplimiento de estos fines implica que el proceso de diálogo de saberes conlleva a que la academia en las diferentes áreas del conocimiento no se limite a la importación, aceptación y transmisión de conceptos y tecnologías. Dentro de esta perspectiva los académicos estamos llamados a cumplir un papel trascendental en la creación de conocimiento y dejar una tradición mediante la palabra escrita.

Los académicos en nuestra actividad cotidiana e interacción con la comunidad científica y la sociedad, construimos un discurso alrededor del conocimiento, discurso en el cual permanentemente interpretamos, recreamos y creamos ideas. Es este ambiente un «caldo de cultivo» que estimula en los estudiantes –partícipes directos de este clima mágico– y en nosotros mismos, un acercamiento crítico a la realidad, el cual nos coloca ante nuevas perspectivas, y a trascender la cultura y encontrar verdades fundamentales sobre lo natural.

Las posibilidades de difundir el diálogo temporal y volverlo intemporal –aunque sea por un momento, dados los avances vertiginosos del conocimiento– se hacen realidad cuando se pasa del discurso oral al escrito. Este paso significa un esfuerzo intelectual necesario y permanente en la consolidación de la vida universitaria.

Es por ello que la Universidad Nacional de Colombia tiene entre sus directrices apoyar el esfuerzo de sus académicos, en torno a publicaciones fruto de investigaciones y de la interpretación y recreación de las diferentes disciplinas del conocimiento universal. Como requisitos establece que los textos sean revisados por pares con el fin de estimular la sana crítica y el avance en los planteamientos.

Con base en lo anterior surgió la idea de condensar en este libro los materiales concebidos bajo el nombre de «Cuadernos de Microbiología», los cuales paulatinamente se han escrito, revisado y actualizado durante más de cinco años.

Estos constituyeron, en su momento, el producto del interés de los autores por escribir las ideas y conceptos acopiados, analizados e interpretados a lo largo del diario discurrir en varias cátedras de las ciencias biológicas: Microbiología, Fitopatología, Biología y Microbiología del suelo.

El Maestro Hernando Patiño Cruz (q.e.p.d.), lideró el primer esfuerzo por sistematizar el conocimiento en torno a la parte histórica de la Microbiología y sus alumnos y colegas asumieron el reto de continuar.

El capítulo inicial presenta la síntesis histórica del desarrollo de la Microbiología que parte de los registros del enfrentamiento ciego con las manifestaciones microbianas en los albores de la humanidad y llega hasta la dilucidación del genoma humano en el ocaso del siglo XX, pasando por la contribución científica y técnica de aquellos a quienes Paul de Kruif llamó, tan apropiadamente, «cazadores de microbios».

Luego se adentran en la anatomía y morfología microbianas, base para la comprensión de los capítulos siguientes dedicados al metabolismo microbiano, que permite comprender por qué los microorganismos constituyen una poderosa fuerza ecológica y biotecnológica.

Dada la formación básica de los autores, los capítulos siguientes están dedicados a aspectos particulares de grupos de microorganismos: las bacterias fitopatógenas, los mollicutes, los hongos y las entidades acelulares –virus, viroides y priones–.

La publicación que hoy presentamos, dirigida a investigadores, estudiantes, profesionales, docentes y sociedad interesada en el maravilloso mundo de los microorganismos, fue financiada a través del Proyecto N° 98CG415051 de la Dirección de Investigaciones de la Universidad Nacional de Colombia - Sede Palmira (Dipal). Esperamos sea una muestra más de la intención explícita de la Universidad Pública de tener presencia nacional e internacional a nombre del esfuerzo de todos los colombianos y en particular de sus académicos.

Gabriel Antonio de la Cruz Aparicio

Vicerrector

Sede Palmira, agosto de 2000

Introducción

El estudio del mundo microbiano se constituye en tema apasionante para quienes llevados por manifestaciones visibles tienen la paciencia y la sutileza para buscar lo supuestamente invisible, hasta encontrar dentro de la aparente sencillez la complejidad morfológica, estructural y funcional que capacita a los microorganismos para manifestarse como fuerza ecológica capaz de transformar el entorno con resultados positivos y beneficiosos, en la mayoría de las veces.

Pero si hoy causa excitación la observación del sinnúmero de formas y el análisis de comportamientos, suscitan perplejidad y entusiasmo los relatos que se hacen acerca de la labor de los pioneros que con escasa formación académica, algunos, y exhibiendo gran creatividad, dados los exiguos recursos y avances tecnológicos de su época, lograron implementar metodologías de estudio y aplicación de resultados que hoy siguen salvando vidas y garantizando el bienestar de la humanidad. Esa pléyade de genios admirables que consiguió tanto con tan poco, permite afirmar que nunca un grupo tan pequeño de hombres logró salvar tantas vidas.

Por ello, después de recrearse con la síntesis histórica, tema de por sí interesante, se hace referencia a los aspectos estructurales y morfológicos gracias a los cuales el lector se formará la idea de que a través de su sencillez de estructura existen gran variedad de formas características de cada grupo microbiano, mediante las cuales se han adaptado a las condiciones del medio y logran sobrevivir en un mundo cada vez más hostil.

Pero causa admiración cómo dentro de esa aparente sencillez estructural y morfológica existe un sistema bioquímico tan complejo que capacita a los microorganismos para realizar funciones tan variadas, en las cuales las positivas o beneficiosas al ser humano superan enormemente en número a las que le pueden causar perjuicios. Este conocimiento ha llevado al hombre a

aprovechar tales actividades en el plano de la salud, el bienestar, la industria y, desafortunadamente, aun en la política.

El estudio de grupos de organismos que se inicia con las bacterias fitopatógenas, conduce no sólo al conocimiento de esta relación ecológica tan importante desde el punto de vista agronómico, ambiental y agroindustrial, sino darse cuenta de cómo los avances en biología molecular e ingeniería genética han permitido hacer descubrimientos y en los últimos 25 años pasar de cinco a casi treinta géneros de este tipo de bacterias, además de la reubicación de especies dentro de cada género.

Los molicutes, bacterias sin pared celular o, como alguien las llamó alguna vez, bacterias no convencionales, cuyas manifestaciones hicieron buscar, inicialmente, características dentro del grupo de los virus o entidades afines, para explicar su comportamiento y proponer estrategias de manejo o control.

Los hongos, esas plantas microscópicas con multitud de formas, colores, modos de reproducción y actividades, están representados en el libro por aquellos que ejercen acciones detrimentales como agentes de enfermedades en las plantas.

Lo mismo se puede decir de esas fascinantes y a la vez temidas entidades acelulares los virus y viroides y aun de los priones; estos con su misteriosa capacidad de multiplicación y de afección en animales, incluido el hombre, a pesar de carecer, hasta donde se sabe, de ácidos nucleicos.

Queda a disposición de los lectores este esfuerzo producto del estudio constante, del espíritu inquieto y creativo de los autores, pero abierta la posibilidad de sugerencias que con ánimo crítico permitan mejorar esta obra en futuro no lejano.

Los autores

CAPITULO I

Desarrollo histórico de la Microbiología

PRIMERA PARTE

Elementos de ecología microbiana*

Introducción

Desde fines del siglo pasado, cuando Pasteur y Koch demostraron la naturaleza microbiana de ciertas enfermedades del hombre y de los animales domésticos, los microorganismos han sido puestos en el banquillo de los acusados y enjuiciados casi exclusivamente como enemigos jurados de la humanidad.

Es cierto que muchas entidades microbianas han constituido azotes ancestrales de la biología humana, ocasionando en algunas épocas y regiones verdaderos desastres sociales tal como aconteció con la peste bubónica en la Europa del siglo XIV. Sin embargo, el temor colectivo que se les ha tenido a los microorganismos como consecuencia de una interpretación terrorista de los descubrimientos de Pasteur, es exagerado y unilateral pues desconoce el hecho de que sólo un porcentaje minúsculo de ellos son agentes causales de enfermedades.

Según cálculos de los microbiólogos, en la masa total de los microorganismos terrestres los elementos patógenos no representan ni siquiera el 1%, el resto, es decir la casi totalidad de las especies y el grueso del material microorgánico que se produce en la naturaleza realizan funciones ecológicas

* Autoría principal del profesor Hernando Patiño C. (q.e.p.d.).

útiles. Mediante el examen directo de los microorganismos en su hábitat o ambiente natural la ecología microbiana ha podido reconocer multitud de funciones de gran trascendencia para la continuidad de la vida sobre el planeta y para el desarrollo económico del hombre.

A título de introducción se destacan dos de los papeles ecológicos más importantes de estos aliados invisibles del hombre, que permiten que se los valore como verdaderos **trabajadores anónimos de la naturaleza**.

Primero: La función fotosintetizante de microorganismos clorofílicos (diatomeas y otras algas), los cuales constituyen el «forraje» básico de los ecosistemas acuáticos. Esta asimilación de la energía solar les permite producir millones de toneladas de materia orgánica y una enorme masa del oxígeno necesario para sustentar la vida acuática.

Segundo: La incorporación al suelo de millones de toneladas de desechos orgánicos, cadáveres de animales, restos vegetales, excrementos y basuras. Estos materiales son transformados por la actividad microbiana, en moléculas simples, tales como el anhídrido carbónico y los nitratos, dos de las materias primas de fácil asimilación por las plantas imprescindibles para la sustentación de la vida.

Además de las dos funciones antes comentadas, se pueden mencionar las siguientes: meteorización de rocas e incorporación primaria de materia orgánica en el proceso de desarrollo del suelo; fijación de nitrógeno atmosférico; balance ecológico de poblaciones de otros microorganismos, invertebrados, plantas y animales; promoción de la evolución de organismos parasitados hacia estirpes resistentes, tolerantes o inmunes; transformación de la celulosa del forraje en materias primas de origen animal; conservación de forraje a través del ensilado; producción y conservación de alimentos; producción de antibióticos y otras sustancias químicas; elementos de investigación científica, etc.

El trabajo incluye una discusión inicial sobre algunos elementos históricos, destinada a destacar la estrecha relación entre el hombre y el recurso microbial, a través de los siglos.

Elementos históricos sobresalientes, en el conocimiento ecológico de los microorganismos

En relación con los microorganismos, la historia del hombre equivale al conocimiento y dominio gradual de esta poderosa fuerza ecológica a través de los tiempos. En su transcurrir milenar, el hombre ha recorrido diferentes etapas, que van desde la natural pasividad animal de sus ancestros primates frente a las enfermedades, hasta la fase experimental de la microbiología científica contemporánea, caracterizada por el gran conocimiento de la estructura y función de los microorganismos y el avanzado dominio tecnoló-

gico de los mismos, sus aplicaciones económicas en silvicultura, agricultura, zootecnia, industria, medicina y saneamiento ambiental.

La selección natural, el primer mecanismo de defensa contra los microorganismos patógenos

Desde los albores de su desarrollo, la especie humana se encontró con diferentes manifestaciones de la actividad microbiana. Al igual que el resto de seres vivientes, los primates antecesores del hombre debieron soportar pasivamente las enfermedades de origen microbiano. Estas, a pesar de diezmar notablemente sus poblaciones, tuvieron a la larga el efecto beneficioso de seleccionar los grupos de homínidos ancestrales más resistentes a ellas.

De acuerdo con lo anterior, es muy probable que enfermedades microbianas hoy tan usuales, como la gripe o catarro común, hubiesen sido originalmente azotes violentos de nuestros «abuelos» antropoides. Así, nosotros seríamos los afortunados descendientes, relativamente tolerantes a tales dolencias, frutos de la prolongada y continua interacción coevolutiva de nuestros antepasados con sus microorganismos patógenos: virus, bacterias, hongos, protozoarios, etc. Este mecanismo lentísimo, penoso y costoso de la selección natural, hoy afortunadamente superado por medios tecnológicos y culturales, constituyó la única defensa de la especie humana, a través de los varios millones de años de su evolución biológica primitiva.

El esquema anterior que es aplicable a las relaciones microbianas de plantas y otros animales, demuestra cómo, en un sentido evolutivo, los propios microorganismos que producen enfermedades, son una fuente de desarrollo de estirpes más selectas y avanzadas, entre las poblaciones por ellos parasitadas, a la vez que constituyen un mecanismo de homeóstasis ecológica, o regulación automática de ellas.

El enfrentamiento sensorial o empírico, con la poderosa fuerza ecológica de los microorganismos patógenos

En los inicios de la vida social, provisto de capacidad cognoscitiva, el hombre primitivo empezó a reconocer las enfermedades en sus manifestaciones más crueles y a menudo fatales. Pero ante la incapacidad tecnológica para identificar sus causas invisibles, debió recurrir a explicaciones fantásticas de índole sobrenatural, mágica y supersticiosa. A esta fase corresponden los primeros intentos de control de la fuerza ecológica de los microorganismos patógenos, mediante ritos sagrados, sistematizados posteriormente en ceremonias religiosas.

Concepciones y prácticas tan generalizadas en los sectores marginales de nuestra población como aquella que atribuye ciertas enfermedades a un presunto maleficio «mal de ojo», o la que recomienda la quema de incienso o de ramo bendito para «alejar los malos espíritus que enferman a la gente», cons-

tituyen «reliquias» culturales de aquella etapa primitiva, las cuales encuentran todavía en pleno siglo XX, el terreno abonado por el atraso económico y cultural.

Simultáneamente con lo anterior y mediante el sistema lógico del aprendizaje por ensayo y error, el hombre logró detectar la capacidad de un número creciente de productos naturales para curar o atenuar las enfermedades. Un ejemplo gráfico de la trascendencia de estos descubrimientos empíricos de la farmacología embrionaria, lo tenemos en el uso de la corteza del quino (*Cinchona* sp) para el tratamiento de la malaria o paludismo, por parte de las tribus amazónicas, logro que sirvió de base a la moderna quimioterapia de esta enfermedad microbiana (Figura 1).

Enfrentamiento ciego con los microorganismos, como agentes de la fertilidad del suelo

El descubrimiento de la agricultura, evento crucial que dio inicio a la vida civilizada hace unos 10.000 años, enfrentó al hombre con otras manifestaciones importantes del mundo microbiano. Muy pronto el ser humano entendió que el estiércol y los residuos orgánicos enriquecían el suelo; después encontró que la siembra de ciertas especies como el frijol y la soya tenía efecto parecido. El abonamiento con estiércol y orina y la siembra de leguminosas como abono verde, practicados por los agricultores romanos hace más de dos mil años, así como la práctica de cultivos asociados de frijol y maíz, que data posiblemente de las épocas precolombinas, constituyen expresiones antiguas del dominio relativo pero ciego, sobre las fuerzas microbianas, entonces desconocidas.

Agricultura, pan, licores y microorganismos

También como consecuencia del incipiente desarrollo agrícola, el hombre descubrió el proceso de panificación e inauguró desde tiempos remotos la industria del vino y la cerveza, aludida en pasajes bíblicos bien conocidos (Figura 2). Figurillas de madera que representan panaderos y cerveceros en el Egipto de hace 3.000 años, constituyen reliquias arqueológicas del dominio temprano de procesos cuya naturaleza microbiana apenas pudo ser aclarada por Pasteur en el siglo pasado. Un fresco de Pompeya, que representa una panadería, ilustra algo similar en la Italia de hace dos mil años.

Los indígenas de la América neotropical que domesticaron el cacao (*Theobroma*, o alimento de los dioses), descubrieron que el aroma de esta bebida prodigiosa, dependía de un proceso de fermentación de la semilla, que hoy se conoce es producido por la acción enzimática, de microorganismos fúngicos (Figura 3).

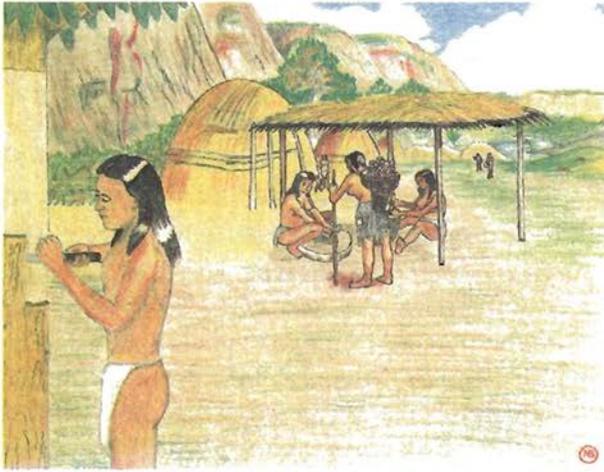


Figura 1. Indígenas procesando la corteza de quino (*Cinchona sp*) para el tratamiento de la malaria (Dibujo: Nelson Bravo O.).

Figura 2. Aplicaciones industriales del dominio temprano de procesos de naturaleza microbiana.



Figura 3. Proceso de fermentación de semillas de cacao; otra manifestación de la actividad microbiana (Dibujo: Nelson Bravo O.).



Agricultura y enfermedades de los cultivos

Con la invención de la agricultura se pusieron en evidencia las enfermedades infecciosas de las plantas cultivadas y de las especies animales domésticas. Una tabla de arcilla, grabada con escritura cuneiforme, en los albores de la civilización agrícola de Babilonia, hace más de 3.500 años, se refiere a una enfermedad de la cebada, cuya descripción coincide con la roya; en ella se invoca la ayuda de la diosa Ninkilim para conjurar la afección.

La civilización precolombina de los aztecas reconoció el carbón del maíz. La enfermedad recibía el nombre de Popoyotl y la asociaban intuitivamente con un hongo: cinnanacatl (cin=maíz; nanacatl=hongo), relacionándola posiblemente con otros hongos macroscópicos, que ellos utilizaban como alimento o con fines alucinógenos. Casi todas las tribus indígenas del Centro y Suramérica empleaban como alimento las agallas jóvenes producidas por el carbón del maíz.

Otra enfermedad, la pudrición de la mazorca, la asociaban los aztecas con el crecimiento fungoso que se desarrolla en las mazorcas enfermas. Esto se considera como la primera referencia a la asociación entre un hongo microscópico y una enfermedad de plantas, en la historia de la microbiología agrícola. Cinteotl y otros dioses «protegían» el maíz de estas afecciones.

En la Biblia como en el resto de libros religiosos se encuentran reiteradas referencias a enfermedades de los cultivos. En el libro de Amós, artículo 4, versículo 9 se lee: «Te he castigado con el añublo y con el mildeo», dos términos utilizados hoy en la patología vegetal para referirse a ciertas enfermedades, tal es el caso del mildeo de la vid producido por el hongo *Plasma para viticola*.

En los albores de la industria pecuaria

Tres milenios antes de que los científicos lograran aclarar las causas microbianas de ciertos procesos ligados a la industria pecuaria los pueblos pastores de diferentes culturas ya habían podido manejarlos empíricamente. Entre ellos se mencionan la transformación del forraje en trabajo animal, en carne y leche; la preservación de esta última mediante la conversión en yogur y en queso, el almacenamiento del forraje a través del ensilado, el curtido de las pieles y la preservación de las carnes mediante el ahumado, su tratamiento con sal, etc. Los aspectos microbiológicos implicados en los procesos mencionados se discutirán más adelante.

Edad Media, peste negra, fin de una etapa ciega

Durante la Edad Media continuó el predominio de las interpretaciones mágico-religiosas sobre las enfermedades del hombre, los animales y las plantas. El desarrollo del comercio y el inicio de los Burgos o primeras ciudades a fines del Medioevo, incrementaron notablemente las epidemias a conse-

cuencia del hacinamiento y las condiciones antihigiénicas de vida. La peste negra irrumpió como uno de los jinetes del Apocalipsis, a cuya acción devastadora no escaparon ni la nobleza feudal ni el alto clero, como lo insinúa una pintura clásica de la época. Entre 1346 y 1350 la infección se extendió por toda Europa, desde el Asia Menor hasta Inglaterra y Rusia.

En Aviñón, el Papa Clemente VI se salvó aislándose en su cámara entre dos lumbres enormes. Allí la peste bubónica trató con particular severidad al pueblo. La Iglesia rogó por el perdón de la peste, pero ésta no respetaba siquiera a los frailes que participaban en las procesiones. De acuerdo con una ilustración de la época los vivos no daban abasto para enterrar a los muertos. En Alemania la peste negra dio origen a los Cruzados flagelantes, penitentes que en larga procesión se daban latigazos frenéticos, intentando infructuosamente aplacar la ira divina.

Aunque muchos hombres importantes murieron en toda Europa, los ricos, que podían huir de las ciudades y buscar abrigo en sus higiénicas quintas, sufrieron notoriamente menos que sus contemporáneos pobres. Ni San Roque, el Santo de la peste, ni Nuestra Señora de la Gracia lograron evitar la catástrofe: 33 millones, la tercera parte de la población europea, fue la cuota astronómica de víctimas que cobró la epidemia en los fatídicos cuatro años. Como consecuencia lógica el prestigio y autoridad espiritual de la Iglesia decayeron notablemente, influyendo en los posteriores movimientos de reforma religiosa.

La desaparición súbita de un tercio de la mano de obra contribuyó a acelerar las modificaciones en la estructura del régimen feudal. Las insurrecciones campesinas de fines del siglo XIV se vieron estimuladas por las condiciones dramáticas de existencia, que promovió la muerte negra.

En el terreno del conocimiento, al poner en tela de juicio la interpretación religiosa de las enfermedades, la peste influyó en la búsqueda de concepciones realistas, animando el espíritu científico que a través del Renacimiento crearía las condiciones apropiadas para la invención del microscopio, la investigación experimental del mundo microbiano y el desarrollo de métodos racionales en la prevención de las epidemias.

En una pintura de la época, en la cual se presentaba un rito religioso para aplacar la peste, se incluían en la ilustración, numerosas ratas diseminadas entre los enfermos. Esta puede considerarse como una de las observaciones precursoras sobre las relaciones ecológicas del agente microbiano que produce la peste negra. En efecto, hoy en día se sabe que la peste bubónica es ocasionada por un patógeno bacteriano, nominado científicamente como *Pasteurella pestis*, en honor de Pasteur, reclasificado posteriormente como *Yersinia pestis*. La bacteria es transmitida por las pulgas a partir de ratas infectadas, lo cual explica la amplia difusión de la peste a través de los puertos

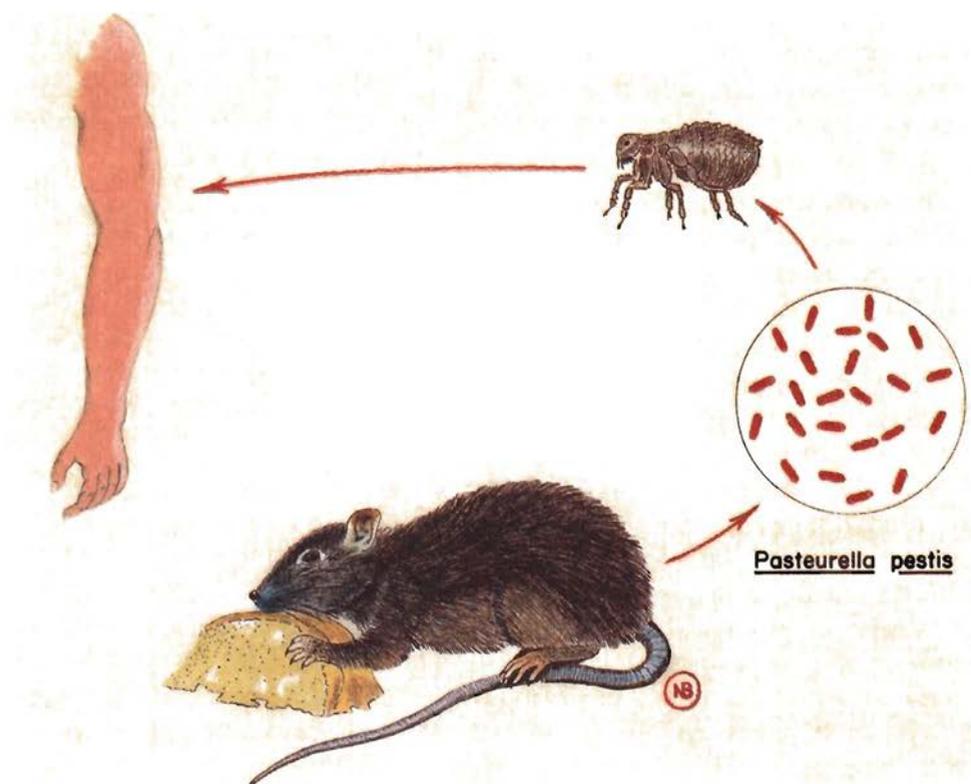


Figura 4. Transmisión de la peste bubónica o peste negra (Dibujo: Nelson Bravo O.).

comerciales de Europa, a los cuales arribaban los barcos invadidos de ratas en el siglo XIV (Figura 4).

Descubrimiento del mundo microbiano

Los profundos cambios económicos, políticos y culturales que dieron al traste con el jerarquizado y caduco orden feudal, crearon condiciones favorables para las innovaciones técnicas. El desarrollo de la óptica práctica condujo a la construcción del microscopio, abriendo el campo a las primeras observaciones directas del mundo microbiano, en el siglo XVII.

Robert Hooke, el descubridor de la célula, observó por primera vez algunas estructuras de organismos microscópicos. Una ilustración de su propia mano insinúa las teleosporas oscuras de *Phragmidium*, el hongo que ocasiona la roya del rosal. Sin embargo, se considera como el verdadero descubridor del nuevo universo de lo diminuto, a un comerciante no ilustrado, Antoni van Leeuwenhoek, por realizar observaciones más detalladas y precisas.

Este vendedor holandés de telas se encontró con la nueva realidad del microcosmos, a través de exámenes habituales destinados a determinar la calidad de las fibras textiles, utilizando para ello microscopios simples que él mismo construía. Este micromundo de maravillas no lo abandonaría posteriormente por espacio de cincuenta años.

Leeuwenhoek y el principio de la ubicuidad microbiana

No hubo material que escapara a la observación pertinaz e inquisitiva de Leeuwenhoek, ni pedazo de naturaleza en el cual no apareciera como una constante infalible la presencia de «animálculos», o pequeños animales, como él llamó a los microorganismos.

Así, se insinuó por primera vez uno de los principios claves de la ecología microbiana: ***la ubicuidad o carácter cosmopolita de los microorganismos, es decir, el hecho de que estas entidades se encuentren prácticamente en todos los rincones de la corteza terrestre.***

La comprobación de este postulado constituye una de las experiencias sencillas más interesantes de la Microbiología. Basta con situar en condiciones apropiadas de humedad y temperatura, cualquier tipo de material orgánico: frutos, hortalizas, hojas, troncos de árboles, excrementos de animales, carne, pan, tela, papel, cuero, etc., para percatarse del florecimiento profuso en su seno, de una gran diversidad de formas microbianas, algunas de ellas con manifestaciones observables a simple vista, la mayoría solamente visibles al microscopio.

Observaciones similares pueden lograrse exponiendo un medio de cultivo estéril (libre de microorganismos), al ambiente atmosférico o en contacto con diferentes materiales como piel, cabello, material bucal, rocas, suelo, agua, entre otros.

El desarrollo posterior de la Microbiología ha comprobado la extraordinaria importancia ecológica que reviste esta distribución generalizada de los microbios, al garantizarse en cualquier sitio del planeta, la incorporación al suelo de desechos orgánicos, o el aprovechamiento de la energía solar por parte de los microorganismos fotosintetizantes. La ubicuidad microbiana refleja la gran capacidad de adaptación y la enorme diversidad de formas, tamaños y funciones que presentan los microorganismos.

Hasta en los lugares de condiciones más extremas es posible encontrar formas microbianas, adaptadas a esos ambientes difíciles. La nieve de algunas regiones templadas puede tomar un hermoso color rosado, como consecuencia de la acumulación de esporas de resistencia pertenecientes a *Clamydomonas* y otras especies de algas. En algunas fuentes termales se pueden desarrollar cianofíceas a temperaturas de 70°C. Su presencia se hace evidente por el crecimiento verdoso que producen. En algunas ocasiones, además

de la elevada temperatura, coinciden condiciones extremas de acidez, como es el caso de las aguas termales azufradas del Parque de Pisimbalá, en el departamento del Cauca. En manantiales cálidos, a temperaturas de 85 a 88°C, es posible encontrar masas rosadas de bacterias termofílicas, que crecen allí en los límites térmicos, permisibles para la vida. En salinas de California crecen bacterias halófilas, en concentraciones de sal cercanas a la saturación y en donde la alta presión osmótica tiende a producir la muerte por deshidratación en la mayoría de formas vivientes. También se registran especies de algas en estos ambientes salinos. *Dunaliella viridis* forma masas verdosas; *Dunaliella salina* se acumula en manchones rosados con apariencia de minúsculos rubíes, las células rojizas de esta alga se pueden observar al microscopio en medio de los cristales de sal. Se han encontrado microorganismos en las capas superiores de la atmósfera y hasta en los circuitos de refrigeración de los reactores nucleares.

Pasteur y la teoría de la generación espontánea de los microorganismos

La consecuente proliferación de microorganismos y otras formas vivientes, en todo tipo de material orgánico inerte, proporciona la falsa apariencia del origen espontáneo de la vida a partir de materiales inanimados.

Lázaro Spallanzani, genuino sucesor de Leewenhoek en el siglo XVIII combatió experimentalmente la tesis de la generación espontánea de los microbios, al demostrar que un material orgánico hervido y sellado herméticamente no se corrompía y permanecía libre de microorganismos.

Los idealistas comandados por el abate Needham arguyeron que el cierre hermético le impedía el acceso al principio espiritual que originaba la vida.

Correspondió a Luis Pasteur, el padre de la Microbiología científica, aclarar definitivamente el problema, a mediados del siglo pasado. Realizó la más sencilla, pero a la vez más ingeniosa hazaña experimental en la historia de la biología, demostrando que los microorganismos no tienen origen en la transformación espontánea de los materiales orgánicos sino que provienen de estructuras microbianas o gérmenes preexistentes que llegan a través del aire o de otros agentes y se reproducen profusamente al encontrar suficiente humedad y un sustrato alimenticio apropiado.

Para su demostración histórica, Pasteur construyó un matraz con cuello de cisne, a través del cual podía circular libremente el presunto **elam vital** de los espiritualistas. Veamos con sus propias palabras, apartes de la descripción de su experiencia: «Coloqué en un matraz de vidrio uno de los siguientes líquidos que son extremadamente alterables cuando entran en contacto con el aire ordinario: agua de levadura azucarada, orina, jugo de remolacha azucarera y agua de pimienta. Después estiré el cuello del matraz bajo

una llama, de tal modo que se produjeron en él varias curvaturas... Después herví el líquido durante varios minutos hasta que salió vapor libremente por el extremo del cuello. Esta punta permaneció abierta sin ninguna otra precaución. Se dejó entonces enfriar los matraces. Cualquiera que esté familiarizado con la sutileza de los experimentos en relación con la llamada generación espontánea quedará asombrado al comprobar que el líquido tratado de esta manera permanece indefinidamente sin alteración. Los matraces pueden ser manejados de cualquier manera, ser transportados de un lugar a otro, se les puede dejar sufrir todas las variaciones de temperatura de las diferentes estaciones, que el líquido no sufre la más ligera alteración. Después de uno o más meses en el incubador, si se quita el cuello con una lima, sin tocar el matraz de cualquier otra manera, después de 24, 36 ó 48 horas, comienzan a aparecer mohos e infusorios, tal como es habitual, o como si se hubiera inoculado en el matraz polvo del aire... En este momento tengo en mi laboratorio muchos líquidos altamente alterables que han permanecido sin cambiar durante 18 meses, en matraces abiertos con cuellos inclinados o curvados».

La naturaleza microbiana de los procesos de fermentación, putrefacción y enfermedad infecciosa

Sobre la base de experiencias similares a la anterior, Pasteur logró concebir explicaciones naturales a tres procesos ecológicos que se habían considerado hasta entonces en términos misteriosos o sobrenaturales. Son ellos: la **fermentación**, la **putrefacción** y la **enfermedad infecciosa**. Los dos primeros resultaron ser consecuencia de la actividad microbiana sobre los residuos orgánicos inanimados y no el efecto de ningún espíritu o diablillo del licor o de algún duende de los pantanos. La enfermedad infecciosa apareció en sus verdaderas dimensiones naturales, como el fruto de microorganismos parásitos, independientes de presuntas fuerzas divinas o demoníacas.

El desarrollo posterior de la microbiología se encargaría de valorar la trascendencia de estos procesos que hacen del mundo microbiano una poderosa fuerza ecológica invisible.

Berkeley, Koch y otros microbiólogos destacados de la época de Pasteur

Por supuesto que la aclaración científica de los fenómenos microbianos antes mencionados, no fue obra exclusiva de Pasteur, pues corresponde a todo un esfuerzo social que venía acumulándose desde la antigüedad. Un siglo antes ya se había sugerido que algunos de los «animálculos» de Leewenhoeck podrían obrar como agentes patógenos contagiosos. En relación con el carácter microbiano de las enfermedades infecciosas, 20 años antes, el fitopatólogo inglés J.M. Berkeley había demostrado que el responsable de la gota

de la papa era un hongo microscópico, el *Phytophthora infestans*, sobre el cual el mismo Berkeley efectuó ilustraciones muy precisas.

Las investigaciones de Berkeley, realizadas en la década del 40 del siglo XIX, respondieron a la tristemente célebre *hambre de Irlanda*, catástrofe social que cobró varios millones de víctimas a consecuencia de la devastación de los cultivos de papa, por el ataque de la gota. Esta enfermedad sigue siendo hoy en día uno de los principales problemas fitosanitarios de la papa y el tomate.

Un contemporáneo alemán de Pasteur, el médico rural Robert Koch, estableció el carácter bacteriano del carbunco o ántrax del ganado, de la tuberculosis y el cólera en el hombre. Experimentando con el carbunco, la peor de las enfermedades del ganado en su época, Koch desarrolló un proceso lógico que después generalizó en los famosos cuatro postulados que llevan su nombre y de acuerdo con los cuales, para probar que un microorganismo es el agente causal de una enfermedad determinada, deben cumplirse los siguientes pasos:

1. El microbio debe encontrarse siempre en el organismo que padece la enfermedad y no debe estar presente en los individuos sanos.
2. El microorganismo debe aislarse en cultivo puro.
3. Tal cultivo, cuando se inocula en individuos susceptibles debe reproducir los síntomas característicos de la enfermedad.
4. El microbio debe ser aislado de nuevo de los individuos inoculados y cultivado otra vez en el laboratorio (Figura 5).

Iluminado por la teoría de Pasteur, acerca del carácter microbiano de las enfermedades infecciosas, el escocés Joseph Lister introdujo la técnica de la cirugía antiséptica que comprendía desde la abolición de la venerable pero mugrienta levita o frac del cirujano tradicional, hasta el tratamiento con ácido fénico de todo lo que entraba en contacto con los pacientes, instrumentos de cirugía, vendajes, ligaduras, manos de los cirujanos, el rociado del aire y la aplicación del germicida en las propias heridas.

Para juzgar realmente el valor del aporte de Lister, basta recordar que en los hospitales de Munich moría hasta el 80% de los pacientes operados, como consecuencia de la infección de las heridas quirúrgicas. La introducción de las técnicas antisépticas de Lister bajó espectacularmente esta cifra al 0%.

Un siglo antes que Pasteur lograra la inmunización contra la hidrofobia en el hombre, el carbunco en el ganado y el cólera en las aves de corral, Edward Jenner, un médico inglés, había realizado una proeza similar con la más temible enfermedad de su época, la viruela. Jenner sistematizó observaciones tradicionales de los ordeñadores, de acuerdo con las cuales estos sobrevivían con mayor frecuencia a las catastróficas epidemias de viruela. Como



Dibujo: Nelson Bravo O.

Figura 5: Representación de los postulados de Robert Koch.

lo pudo constatar experimentalmente, los ordeñadores se inmunizaban al contraer el *cowpox* o viruela de los vacunos, una forma benigna de la enfermedad, que pasaba de las pústulas de las ubres a las manos.

El artículo científico en el cual consignó Jenner sus investigaciones fue rechazado por la Real Academia Británica y como si esto fuera poco, el eminente pero modesto médico rural fue objeto de todo tipo de mofa y ridiculización, así lo demuestra una caricatura del siglo XVIII, en la cual se insinúa la transformación de las personas en monstruos vacunos, como consecuencia de la vacunación practicada por Jenner.

También en su tiempo, Lister debió soportar los ataques de sus colegas británicos y Pasteur la persecución de sectores recalcitrantes de los gremios de médicos y veterinarios franceses, quienes por sus concepciones elitistas no podían concebir que un simple laboratorista químico, incursionara en terrenos presuntamente restringidos a los doctores de la época. Irónicamente, correspondió a aquel técnico de laboratorio, sin cartón de médico, la fundación de la medicina y la veterinaria científicas sobre la base de sus aportes microbiológicos, los cuales fueron definitivos en el terreno de la salud humana y animal.

Estos hechos demuestran que también la Microbiología debió abrirse paso en franca lid contra la superstición, el oscurantismo y los privilegios sociales.

La Microbiología moderna y contemporánea, como fruto de los aportes de Pasteur y otros investigadores de su época

Alguien afirmó que la verdad es muy simple, después de que otros ya la han establecido. Por ello, nos parecen extraordinariamente sencillos los aportes de los padres de la Microbiología. No obstante, sus descubrimientos fueron determinantes en la historia de la humanidad, al señalarse rumbos definitivos al bienestar y a la cultura.

Implicaciones industriales: Respondiendo a las exigencias sociales de su época y de su región, la provincia vinícola de Lille, Pasteur aclaró el fenómeno de la alteración de los vinos como consecuencia de la actividad de bacterias tipo espirilos. Estos microbios lógicamente no se observan en un vino de condición normal, en el cual se desarrollan las células de la levadura, responsables de la fermentación alcohólica corriente.

El origen de la pasteurización: Demostrando una capacidad excepcional para combinar la teoría y la práctica, Pasteur no sólo aclaró el problema teórico, sino que para resolverlo ideó un procedimiento tan ingenioso y práctico, como sencillo: el tratamiento con calor suave, después de que la fermentación inicial había transcurrido. Así se eliminaban los vibriones perjudiciales pero se conservaban el aroma y otras propiedades importantes del licor. Se trata del conocido proceso de **pasteurización**, llamado así en honor de su descubridor y el cual constituye en la actualidad la base de la protección antimicrobiana, no sólo del vino y otros licores, sino de la leche, el yogur, los jugos de frutas y otros alimentos. El proceso se realiza hoy en plantas apropiadas, calentando rápidamente a 71°C por 15 minutos o a 63°C durante 30 minutos y enfriando después instantáneamente.

Aplicaciones industriales de la técnica del cultivo puro: Gracias a la técnica del cultivo puro ideada por Koch, hoy en día pueden cultivarse en el laboratorio microbios útiles. Estos se incrementan en grandes plantas que pueden alcanzar una capacidad hasta de 60.000 litros.

Basta con suministrarles un sustrato alimenticio apropiado, a menudo cosas muy elementales, por ejemplo, el azúcar contenido en el guarapo de caña o en el jugo de uvas; allí se multiplican rápidamente. Después, pueden extraerse de ellos muchas sustancias útiles, como alcoholes, ácidos, vitaminas, hormonas, antibióticos, o proteína para alimentación humana o animal.

Escherichia coli, habitante natural del intestino del hombre y de los animales, es capaz de desdoblarse doscientas veces su propio peso de lactosa en una hora; un hombre tardaría treinta años en hacer algo equivalente (Figura 6).

Aplicaciones del principio del matraz cuello de cisne: Por medio de sus famosos matraces de cuello de cisne, Pasteur demostró que si se elimina-

ban los invisibles microbios del aire, las sustancias vegetales y animales podrían permanecer indefinidamente incorruptas. Así convenció al mundo ilustrado de la bondad de los métodos empleados por el cocinero Appert, medio siglo antes, hirviendo los alimentos y conservándolos en vasijas herméticamente cerradas. La experiencia de los matraces no sólo aclaró un gran problema teórico de la biología, sino que de carambola le proporcionó bases científicas a la industria de las conservas, uno de los logros tecnológicos más útiles del último siglo.

Hablando del laboratorio de Microbiología, se pueden citar aplicaciones tan útiles del mencionado principio del matraz de Pasteur, como el empleo de tubos de ensayo y *erlenmeyers* con tapón de algodón y la famosa caja de Petri, para el cultivo puro de microorganismos. Mientras en el matraz de Pasteur los microorganismos del aire circulante se decantan por gravedad en la curvatura inferior del cuello, en la caja de Petri se detienen en la parte inferior de la tapa, y en los *erlenmeyers* y tubos de ensayo, en el tapón de algodón (Figura 7).

Implicaciones agrícolas: En sus aspectos microbianos, la agricultura científica también se inicia con Pasteur. Beijerinck y Winogradsky prosiguen los estudios de su maestro francés en el área de las transformaciones microbianas del suelo y aclaran fenómenos tan importantes en la agricultura como los procesos de nitrificación y fijación del nitrógeno. Las técnicas modernas de fertilización no habrían sido posibles sin esa labor pionera de los microbiólogos del suelo.

En el campo fitosanitario, los aportes de Pasteur y Koch hicieron posible el surgimiento del estudio científico de las enfermedades de las plantas o Fitopatología.

El estudio de la pebrina, una enfermedad microbiana del gusano de seda, producida por un protozoario, inició otro campo de gran importancia práctica para la prevención y el control de las enfermedades de insectos benéficos, y en sentido contrario, sentó las bases del control microbiológico de las plagas insectiles, mediante la utilización de hongos, bacterias y virus parásitos de insectos perjudiciales. Sorprende la simplicidad de los materiales utilizados por Pasteur en este tipo de investigaciones, a través de las cuales resolvió un grave problema a la industria de la seda natural en Francia.

Implicaciones pecuarias: Muchas de las investigaciones adelantadas por Pasteur y Koch, respondieron a las exigencias prácticas del desarrollo ganadero de Europa en el siglo pasado. El caso más conocido es el del carbón bacteriano antes mencionado. Los experimentos de control preventivo de esta enfermedad mediante la vacunación con bacterias debilitadas, fueron realizados por Pasteur públicamente con el fin de enfrentar eficazmente la oposición de los círculos médicos y veterinarios.

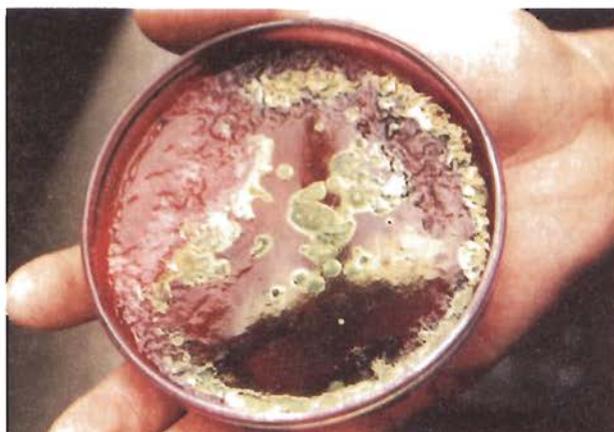


Figura 6. La alta capacidad de metabolismo de *Escherichia coli* permite su rápido crecimiento en pocas horas.

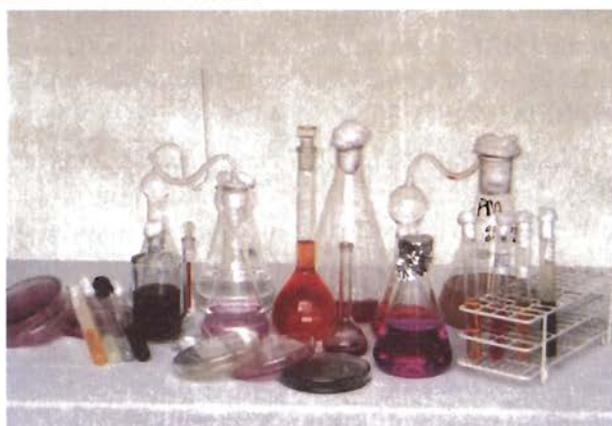


Figura 7. Aplicaciones del principio del matraz cuello de cisne en el laboratorio.

A partir de la labor pionera de los fundadores de la Microbiología científica se pudieron mejorar los procesos de la industria láctea, el curtido de cueros y el ensilaje.

Implicaciones médicas: En el terreno de la salud, los aportes de esta pléyade de superhombres dividió la historia humana, marcándole el paso a la vida civilizada. *Nunca un grupo tan pequeño de hombres, logró salvar tantas vidas.* A consecuencia de sus descubrimientos, uno de los jinetes del Apocalipsis resultó «herido de muerte». La peste, como símbolo de las epidemias catastróficas, pasó a la historia.

Todas las técnicas médicas y sanitarias que han permitido controlar o atenuar enfermedades tan graves como el sarampión, la peste bubónica, la sífilis, la viruela, la tosferina, la tuberculosis, la poliomielitis y el tétano, entre otras, se desarrollaron sobre los aportes básicos de los «cazadores de microbios» del siglo pasado, como los llamó Paul de Kruif, en una de las obras más interesantes sobre divulgación de la historia de la Microbiología.

La teoría sobre la naturaleza microbiana de las enfermedades infecciosas ha permitido el desarrollo de las más variadas técnicas de medicina preventiva, ingeniería sanitaria y terapia química de las enfermedades, desde las más simples como el lavado de las manos, el tratamiento de las heridas y el consumo de agua hervida, hasta los modernos acueductos y alcantarillados, los quirófanos ultramodernos, el control de insectos transmisores de enfermedades, los antibióticos de potencia increíble, las técnicas avanzadas de vacunación, etc.

Además de los «cazadores de microbios» que se han considerado, muchos otros hicieron aportes definitivos en el último siglo. Corriendo el riesgo de ser injustos al omitir nombres importantes, adicionamos a la lista los siguientes: Los dos Emilios de la Difteria, Roux y Behring, desarrollaron la antitoxina diftérica; Teobaldo Smith demostró que la garrapata transmite el protozooario causante de la fiebre tejana en el ganado; David Bruce comprobó la transmisión por la mosca tse tse del *Trypanosoma* causante de la enfermedad del sueño; Ronald Ross y Batista Grassi demostraron la transmisión por el zancudo *Anopheles* del protozooario que produce el paludismo; Carlos Finlay y Walter Reed, aclararon la transmisión del virus de la fiebre amarilla por un pequeño mosquito; Cruz, científico brasileño, demostró la transmisión del mal de chagas por el pito, o chinche reduvido; Pablo Erlich, el padre de la quimioterapia, al descubrir un compuesto de arsénico que controlaba el *Treponema pallidum*, la bacteria espiralada que produce la sífilis; Domagk, el descubridor de las sulfas como antibacteriales; Fleming, Florey y Chain, los descubridores de la penicilina; Iwanowski, Bawden, Stanley, Pirie y Herelle, descubridores de los virus; Metchnikoff, descubridor de los fagocitos, los glóbulos blancos, «soldados» que engullen las bacterias invasoras del organismo.

En los planos teórico, filosófico y cultural, las tesis sobre la naturaleza microbiana de las enfermedades han contribuido notablemente en la lucha contra las ideas atrasadas, derrotando en la cabeza de los hombres los ejércitos de duendes y espíritus malignos o benignos.

Y para concluir este recuento histórico, un motivo de reflexión: En Colombia como en el resto de los países inapropiadamente denominados subdesarrollados, las llamadas enfermedades hídricas o infecciones gastrointestinales constituyen la primera causa de mortalidad. De acuerdo con las propias estadísticas oficiales, estas afecciones ocasionan alrededor de 50.000 defunciones, anualmente. En diez años la cifra superaría ampliamente el monto total de víctimas de la violencia política, en la década del 50, cuyo recuerdo tanto conmueve a la opinión pública.

En los barrios marginados de las ciudades y en las veredas campesinas, las muertes de los niños por diarreas y vómitos constituyen uno de los fenó-

menos más corrientes. La desnutrición, la falta de agua potable y de letrinas, la proliferación de moscas y el desconocimiento de las mínimas normas de higiene se combinan infernalmente para definir este cuadro desolador de la salud, uno de los peores del mundo, aunque se diga lo contrario.

Desde el punto de vista del conocimiento teórico y de las técnicas sanitarias, el problema de estas enfermedades fue solucionado hace un siglo por Pasteur y colaboradores. ¿No nos estará demostrando este hecho con claridad meridiana, que el conocimiento científico es una condición necesaria pero no suficiente y mucho menos determinante en la solución de los problemas de salud y en general en el bienestar de los pueblos?

¿No reflejará esta situación el trasfondo de una estructura económica y política caduca y completamente inadecuada y refractaria a la aplicación de los avances científicos y al progreso social en general?

SEGUNDA PARTE

El desarrollo de la Microbiología en el siglo XX

Introducción

El intenso avance de la Microbiología en este siglo no hubiese sido posible sin la labor pionera de aquellos «cazadores de microbios» cuyas principales cualidades fueron la curiosidad, la paciencia, la persistencia y la creatividad.

Como se dijo con anterioridad, la historia del hombre en relación con los microorganismos equivale al conocimiento y dominio gradual de esta fuerza ecológica. Abordar el desarrollo de la Microbiología en este siglo es un tema difícil y complejo, pues los principios básicos de otras ciencias pasan a ser esenciales para entender su avance; igualmente los descubrimientos en esta área se tornan fundamentales para otros campos del conocimiento y refuerzan nuestra convicción de considerar a los microorganismos como ***los trabajadores anónimos de la naturaleza.***

En este aparte se pretende presentar una secuencia de algunos de los principales sucesos científicos ligados a la Microbiología, ocurridos en lo que ha transcurrido del siglo y que han contribuido a entender las bases de la vida y al mismo tiempo a ubicar esta área del conocimiento en un lugar de vanguardia. Se ha optado por organizar la información por períodos de 20 años, a partir de 1900.

En los albores del siglo XX

Los últimos años del siglo XIX correspondieron a una época en la cual la Microbiología pasó de la niñez a la adolescencia. Entre 1880 y 1900 quedaron sentadas las bases para el desarrollo posterior de esta ciencia.

Pasteur y Koch personificaban dos escuelas de pensamiento a las cuales acudían estudiosos de todo el mundo y sus discípulos propalaron y enri-

quecieron sus ideas en Europa y toda América. Presentemos un resumen del avance en el conocimiento de la Microbiología en los albores del siglo XX.

Se había rebatido la teoría de la generación espontánea, demostrado la naturaleza microbiana de los procesos de fermentación, putrefacción y enfermedad infecciosa y la especificidad metabólica microbiana implícita en dichas actividades.

Varios investigadores habían reconocido que las levaduras están involucradas en los procesos de fermentación; sin embargo, correspondió a Pasteur demostrar que la producción de alcohol y ácidos orgánicos por microorganismos estaba ligada al metabolismo básico que permitía la vida sin aire. Actualmente se conoce que mientras todas las formas de vida multicelulares, plantas y animales, dependen del metabolismo aeróbico, al igual que muchas bacterias del suelo y otros microorganismos, algunos tienen metabolismo anaeróbico, y otros pueden vivir en cualquiera de las dos condiciones.

A pesar de la claridad de pensamiento que caracterizó a Pasteur, se convirtió en el principal defensor de la teoría vitalista, que sostenía que las actividades químicas que llevan a cabo los tejidos vivos no se podían realizar en condiciones de laboratorio y categorizaba las reacciones como «químicas» o «vitalistas». Según él, los maravillosos cambios que tienen lugar en la transformación del jugo de frutas en vino, eran «vitalistas» y sólo podían realizarlos las células vivas de levadura.

No obstante los grandes adelantos en química, esta controversia persistió hasta fines del siglo, cuando los químicos alemanes Edward y Hans Buchner (1897) demostraron que una sustancia extraída de las células de levadura podía producir fermentación alcohólica fuera de la célula viva. A esta sustancia se le denominó «enzima», de la palabra griega **zyme** que significa levadura o fermento. Se demostró así que una reacción vital era química, y al mismo tiempo se refutó la teoría vitalista. Este trabajo constituye un aporte pionero en el campo de las enzimas.

Estos nuevos conocimientos permitieron que en dicha época se emplearan cultivos puros de levaduras y bacterias para producir tipos especiales de fermentaciones de valor industrial, por ejemplo, para la fabricación comercial del vinagre, la mantequilla y el queso. El uso de la técnica de pasteurización permitió aislar microorganismos fermentantes.

Las bases del concepto de los seres vivos constituidos por los mismos componentes químicos y físicos de los entes inanimados y obedeciendo a las mismas leyes químicas y físicas, quedaron sentadas en las postrimerías del siglo XIX, sin embargo, sería en el transcurrir del siglo XX cuando se aceptarían teóricamente y prácticamente, abriendo campo ilimitado a la investigación.

Un sinnúmero de investigadores desde diferentes áreas del conocimiento, se dedicaron a estudiar los microorganismos como agentes causales de

enfermedades en el hombre, los animales y las plantas, y encontraron en muchos casos respuestas afirmativas. La teoría de los gérmenes patógenos y procedimientos para confirmarla se tornaron paradigmáticos.

Así como algunos de estos minúsculos seres vivos generan enfermedades, también en ellos se encuentra la alternativa de prevención, a través de la vacunación con microorganismos atenuados o muertos, o las antitoxinas correspondientes. En relación con vacunas, además de Jenner y Pasteur, recordemos a Emil von Behring y Shibasaburo Kitasato (1890), quienes con su trabajo con los agentes causales de la difteria *Corynebacterium diphtheriae* y el tétano *Clostridium tetani*, idearon el método para producir inmunidad contra las infecciones causadas por estos organismos, mediante la inyección de sus toxinas (**antígenos**) en animales; en esta forma obtenían su antitoxina (**anticuerpo**). Las reacciones **antígeno-anticuerpo** son sumamente importantes en el establecimiento de los principios de inmunidad y constituyen los pilares de la moderna serología e inmunología. La obtención y utilización de las vacunas probó la respuesta inmune pero aún quedaban por entender los fundamentos de esta respuesta.

Con los avances tecnológicos logrados y la disponibilidad de mejores técnicas, el trabajo de los «cazadores de microbios» se hizo más eficiente: el perfeccionamiento del microscopio compuesto, con lentes que amplifican 1.000 veces, fue fundamental; el microscopio óptico moderno es obra en su mayor parte de Ernest Abbe (1840-1905) quien mejoró el sistema óptico e introdujo el objetivo de inmersión y el condensador de Abbe (debajo de la platina); las técnicas de aislamiento, cultivo y caracterización de los microorganismos incrementaron el conocimiento sobre la morfología de bacterias, hongos, protozoarios y algas, y permitieron vislumbrar la existencia de otros «organismos más pequeños», los cuales fueron llamados **virus filtrables**; la caja de Petri ideada por Richard J. Petri (1887), discípulo de Koch, la Tinción de Christian Gram (1894), la invención del autoclave y los filtros bacterianos por Chamberland (1884), el uso del agar como agente solidificante y las técnicas de cultivo puro de Koch, entre otros, conformaron un cúmulo de experiencias y aportes que aún persisten con pequeñas modificaciones.

Los aportes visionarios, pioneros de la moderna quimioterapia sucedieron precisamente en las postrimerías del siglo XIX; la anestesia y su administración a los pacientes a ser intervenidos, proviene de esa época, igualmente el uso de antisépticos durante la cirugía, por Lister (1865-1869).

Los primeros estudios sobre microbiología del suelo se efectuaron a finales del siglo XIX. Sergei N. Winogradsky (1856-1933) y Martinus W. Beijerinck (1851-1933), hicieron importantes aportes al elucidar el papel que desempeñan las bacterias del suelo en la fijación de nitrógeno atmosférico; además, Beijerinck en 1888 realizó aislamientos de rizobios que desarrollan sim-

biosis con leguminosas, y de bacterias de vida libre como *Azotobacter*, ambos con la particularidad de fijar N_2 .

A finales del siglo XIX, el clima intelectual en torno a la discusión sobre el origen de las especies y su evolución era un caldo de cultivo enriquecido; las teorías de Jean Baptiste Lamarck, Charles Darwin y Alfred Russell Wallace constituían temas de controversia; igualmente, Malthus había postulado su hipótesis de crecimiento humano y alimentario. Se conocían los trabajos de genética de Mendel que arrojaban luces sobre la herencia; la Biología, Microbiología, Química y Bioquímica, competían y ganaban un espacio que revolucionaría y enriquecería las ciencias de la vida, y se engrandecerían a su vez con los logros en las demás áreas del conocimiento.

Siglo XX: El siglo de la luz

1900 - 1920

A comienzos del siglo se aceptaban plenamente los conceptos y teorías de Mendel y sus estudios eran repetidos en forma independiente por Hugo de Vries, Carl Correns y Ernst von Tschermak; esto marcó el inicio de la Genética como disciplina biológica y permitió a Walter Sutton proponer formalmente en 1902 la **teoría cromosómica de la herencia**, la cual sostenía que los factores hereditarios o genes residían en los cromosomas del núcleo. La evidencia que sustentó esta teoría fue acopiada por varios investigadores en los años que siguieron, hasta lograr su plena aceptación en 1916. A este avance contribuyeron varios genetistas bajo la dirección de Thomas Hunt Morgan en la Universidad de Columbia, quienes demostraron, utilizando la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster*, que la transmisión de ciertos genes era paralela a la del cromosoma que los contenía. El nacimiento del siglo también se caracterizó por especial atención al conocimiento de aquellas entidades a cuyo misterioso mundo abrieron la senda Adolf Mayer, Iwanowsky y Martinus W. Beijerinck: **los virus**.

El afán por establecer la relación entre los mosquitos y la fiebre amarilla llevó a Jesse Lazear, colaborador de Walter Reed, a convertirse en conejillo de indias y entregar su vida para probar la hipótesis del desordenado, y para muchos chiflado. Carlos Finlay, quien hacia 1900 sostenía que esta enfermedad era causada por efecto de la picadura de un mosquito.

Aunque Walter Reed, quien había llegado de Washington a Cuba con órdenes de «dedicar atención especial a las cuestiones relativas a la causa y manera de prevenir la fiebre amarilla», lamentó lo sucedido a Lazear, pensaba que era necesario que algunos hombres murieran para salvar a otros hombres. Su trabajo lo llevó a demostrar que un mosquito era el vector de la enfermedad, en tanto que James Carrol, también colaborador suyo, después de superar un ataque de fiebre amarilla contraída experimentalmente, esta-

bleció que el agente causal de la enfermedad pasaba a través de filtros de porcelana a prueba de cualquier microbio visible, en las condiciones de la época. Quince años después Smith y Bonquet hallarían el mismo tipo de relación entre insectos y enfermedades virales de las plantas.

El premio Nobel fundado en 1895 para recompensar **a las personas que en el curso del último año hayan prestado los mayores servicios a la humanidad**, según frase testamentaria de su fundador Alfred Nobel, se convirtió en un estímulo para los hombres de ciencia y algunos microbiólogos lo obtuvieron como reconocimiento a sus esfuerzos por ayudar a la humanidad a comprender sus relaciones con el mundo microbiano.

Emil von Behring fue premiado en 1901 por su descubrimiento acerca de la antitoxina diftérica y la introducción de la llamada en ese momento, vacunación activa o **sueroterapia** contra el peligroso *Corynebacterium diphtheriae*, agente causal de la difteria, consistente en la utilización terapéutica de sueros humanos o de animales, que poseía un elevado título de anticuerpos.

Ronald Ross (Nobel 1902) en sus estudios de la relación mosquito-agente causal del paludismo, logró describir el ciclo de vida del parásito en el cuerpo de las aves y proporcionó la base para la identificación del patógeno en los humanos.

Robert Koch (Nobel 1905), mediante la aplicación sistemática de sus postulados, logró aclarar la etiología de enfermedades tan graves como la tuberculosis en los humanos *Mycobacterium tuberculosis*, el carbón bacteriano o ántrax de los bovinos *Bacillus anthracis*, entre otras.

Los estudios morfológicos a nivel citológico y tisular permitieron a Camilo Golgi y Santiago Ramón y Cajal, contribuir al conocimiento de la estructura fina del sistema nervioso; de paso llegaron al descubrimiento de estructuras que luego se llamaron células de Golgi y aparato de Golgi. Los dos ganaron el Nobel en 1906.

Los estudios llevados a cabo por Elie Metchnikoff acerca de la fagocitosis en el endodermo del tubo digestivo, le permitieron desarrollar su teoría de que los fagocitos no sólo digerían el alimento sino que se ocupaban de defender el organismo produciendo anticuerpos contra la infección por parásitos; ésta se convirtió en la generadora de la controversia entre la teoría celular y la teoría humoral de la inmunología. La primera sostenía que la respuesta inmunológica del organismo era mediada por una célula, el linfocito, y la segunda asignaba la reacción al anticuerpo, sustancia contenida en solución en el suero y otros humores del organismo. Metchnikoff compartió el Nobel con Paul Ehrlich en 1908. Este último se constituyó en el fundador de la quimioterapia moderna por su búsqueda de «balas mágicas»; su mayor éxito lo alcanzó con el experimento del compuesto 606 o arsfenamina, empleada para el tratamiento de la sífilis.

Por esta misma época se registraron evidencias de la relación entre la actividad enzimática de microorganismos (hongos y bacterias) y la sintomatología de algunas enfermedades infecciosas de las plantas; se determinó que aquellas enzimas capaces de disolver los elementos de unión de las células vegetales (pectatos), inducían pudriciones blandas y otras alteraciones características en los tejidos que atacaban.

En el campo de la química celular, Albrecht Kossel hizo valiosos aportes con sus estudios acerca de las nucleínas (nucleoproteínas o ácidos nucleicos) que ya habían sido descritas por Friedrich Miescher en 1871, al aislar una sustancia ácida de los núcleos de los leucocitos. Así, Kossel inició el estudio de la química de la herencia, al lograr identificar las bases purínicas y pirimidínicas, al igual que una sustancia a la que dio el nombre de histona. Ganó el Nobel en 1910.

El carácter genético o hereditario de la resistencia a enfermedades ocupó a otros investigadores como Biffen, quien en 1905 describió la herencia mendeliana y la resistencia a la roya en dos variedades de trigo y su progenie; Orton por su parte, estableció la diferencia entre resistencia, escape y tolerancia a marchitamientos. La pérdida de resistencia de algunas variedades de plantas a infecciones microbianas permitió encontrar que ello se debía a la habilidad de ciertos microorganismos para producir variantes morfológicamente indistinguibles dentro de sus especies, las cuales fueron denominadas **razas fisiológicas**.

Las dos primeras décadas de este siglo permitieron a otros cazadores de microbios llegar a nuevos descubrimientos: la asociación de protozoarios con plantas de la familia Euphorbiaceae, la identificación de uno de tales organismos como agente causal de la malaria, el cual fue denominado *Haemamoeba laverani*, actualmente *Plasmodium* sp, estudio que junto con el de su papel en la transmisión de enfermedades le valió a Charles A. Laveran el Nobel en 1907; los avances en aspectos de morfología, clasificación y métodos de trabajo con nematodos fitoparásitos (cuya primera especie fue descubierta por Needham en 1743); los estudios de Charles Richet sobre anafilaxia o reacciones alérgicas de carácter inmediato y generalizado como consecuencia de la administración de determinadas sustancias antigénicas o tóxicas, le permitió al mencionado investigador obtener el Nobel en 1913. Los ensayos preliminares en cultivo de tejidos, técnica por medio de la cual Alexis Carrel (Nobel 1912) logró mantener vivo durante varios años un cultivo celular, sentaron las bases para la cirugía cardiovascular y el trasplante de órganos. El cultivo de tejidos facilitó el desarrollo de estudios y experimentación con virus. Hacia 1919, Jules Bordet analizó, en colaboración con su cuñado Octave Gengou, el proceso biológico denominado «fijación del complemento», el cual es adicional al sistema de los anticuerpos y al activarse produce disrup-

ción de las membranas celulares y como consecuencia causa la destrucción de células o de microorganismos.

1920 - 1940

A mediados de la década del 20, F. Parker y R.N. Nye reprodujeron virus usando con éxito técnicas de cultivo de tejidos; otros investigadores como Ernest Goodpasture utilizaron embriones de pollo (1931) para el cultivo de otros virus, con lo cual facilitaron su estudio y lograron avances en la investigación de los mismos. En 1934 se inició la era del cultivo de tejidos, sus aplicaciones permitieron el estudio de tumores producidos por *Agrobacterium tumefaciens*.

Las investigaciones que apoyaban la afirmación de que los genes estaban formados por ácidos nucleicos, pasaron por mucho tiempo desapercibidas debido a que se pensaba que el ADN no podía ser el material hereditario. En 1928, Frederick Griffith realizó una curiosa observación con dos cepas de la bacteria *Streptococcus pneumoniae*: una cepa lisa (S), virulenta y letal la cual, al ser inyectada en un ratón ocasionaba que desarrollara neumonía y muriera; la otra, una cepa rugosa (R), avirulenta.

Observó con gran sorpresa que cuando inyectaba una mezcla de células S inactivadas por calor y células vivas de las cepas R, el ratón moría. Las células S inactivas y las células R vivas no podían convertirse espontáneamente en las células S vivas que se aislaban del ratón muerto. En las células vivas R avirulentas tenía que haber una sustancia capaz de convertirlas en letales. Concluyó que la capacidad de cambiar una célula avirulenta a una forma genética nueva, en este caso virulenta y estable, estaba en una molécula libre que era transferida de la bacteria donadora (S) a la receptora (R) y que esta sustancia era la responsable de la herencia. A este proceso se le llamó **Transformación** (Figura 8). Debieron transcurrir aproximadamente quince años, antes de tener respuestas a los interrogantes que planteó este experimento.

Retomando el hilo de los acontecimientos en orden secuencial, en 1929, un descubrimiento importante abonó el camino de la quimioterapia: el bacteriólogo escocés Alexander Fleming publicó acerca de la acción antibacteriana de cultivos de la especie fungosa *Penicillium notatum* la cual mataba a la bacteria *Staphylococcus aureus* cuando el hongo contaminaba accidentalmente las placas de cultivo (Figura 9). En la década del 30, continuaron los descubrimientos de agentes quimioterapéuticos y a principios de la década del 40 el microbiólogo Selman Waksman registró varios microorganismos del grupo de los actinomicetos con propiedades antibióticas, la estreptomina producida por *Streptomyces griseus* llegó a ser la más conocida. Los antibióticos se conocieron desde mediados del siglo XIX, pero su uso clínico

data de 1940, cuando la presión por el número de muertos en el campo de batalla de la Segunda Guerra Mundial llevó a los dirigentes a buscar alternativas, no a la guerra, sino al tratamiento de la infección de las heridas causadas por microorganismos patogénicos.

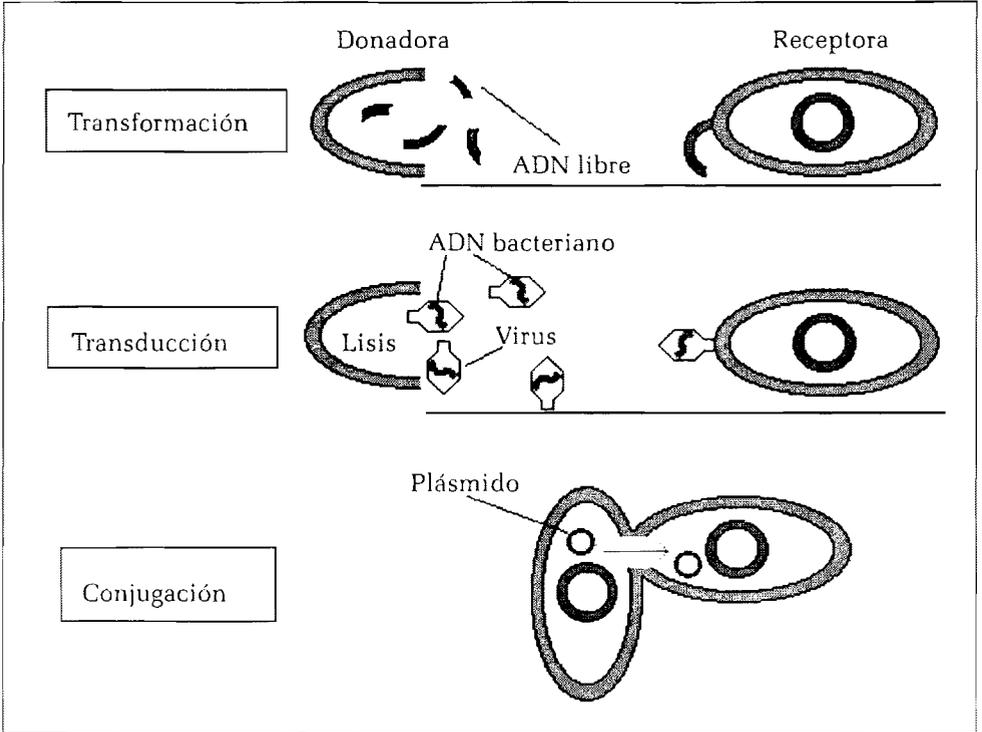


Figura 8. Procesos de transformación, conjugación y transducción.

A finales de la década del 20, la observación detallada de plantas que presentaban anomalías como achaparramientos, crecimiento excesivo, tumores, etc., indujo a muchos investigadores a buscar desbalances en los niveles de reguladores de crecimiento, Kurosawa en 1926 demostró que podían obtenerse plántulas de arroz excesivamente altas al ser tratadas con filtrados del hongo *Gibberella* (*Fusarium*); en 1933 y 1934 Tanaka y Clayton involucraron la presencia de toxinas, al encontrar que filtrados del hongo *Alternaria* y de la bacteria *Pseudomonas tabaci* causaban manchas necróticas en frutos de pera y hojas de tabaco respectivamente. En 1939, Yabuta y Hayashi demostraron que el componente activo del filtrado responsable de la elongación excesiva de las plántulas de arroz afectadas por el hongo *Gibberella*, era un regulador de crecimiento llamado giberelina.

En 1935, Wendell Stanley cristalizó el virus del mosaico del tabaco (TMV) y demostró que estaba compuesto principalmente por proteínas; al compro-

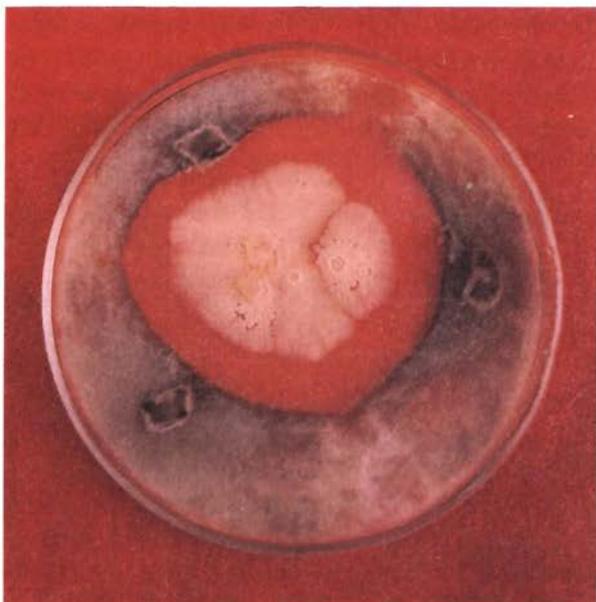


Figura 9. Antibiosis producida por la bacteria Bacillus sp sobre el hongo Rhizoctonia Solani.

barse la capacidad infectiva de los cristales cuando se inoculaban en un hospedero, la controversia acerca de su carácter biótico se reanudó con mayor vigor. Por este descubrimiento se concedió a Stanley el premio Nobel de Química en 1946.

En 1937 Frederick Bawden y Norman Pirie, determinaron que el virus del mosaico del tabaco (TMV) estaba compuesto de ARN y que otros virus tenían ADN o ARN. Además, concluyeron que los únicos componentes esenciales para el virus son una cubierta de proteína que le sirve de protección y el ácido nucleico. Aproximadamente desde 1940, se ha aplicado exclusivamente el nombre de virus a partículas de tamaño muy pequeño y naturaleza acelular, que sólo infectan y se replican en el interior de las células del hospedero.

Los adelantos en materia de microscopía favorecieron el estudio de los virus: en 1911 se inventó el microscopio de fluorescencia y en 1929 Ernst Ruska, formando parte del grupo de científicos dirigido por Max Knoll y A. Mathias en el Politécnico de Berlín, desarrolló las lentes electrónicas de deflexión magnética de corta distancia focal. En 1939 con base en este trabajo, los Laboratorios Siemens y Halske de Berlín lanzaron el primer modelo comercial. Este instrumento fue utilizado ese mismo año por Kausche y colaboradores para observar partículas virales, y encontrar que estas pequeñas entidades presentan diversidad de aspectos. Se cuenta ya en esta época con técnicas de separación de moléculas mediante centrifugación y electroforesis.

Los adelantos de estas dos décadas permitieron a los investigadores plantearse interrogantes sobre los mecanismos de la herencia: cómo se transmiten los caracteres de una generación a otra y cómo los cambios del material hereditario se expresan en los organismos. Los genetistas empezaron a explorar la índole del gen, su estructura, composición, propiedades y papel en la química interna de los organismos vivos.

1940 - 1960

En 1940, Max Delbrück y Salvador Luria, emprendieron estudios con bacteriófagos, concentrando su investigación en un grupo de siete virus, emparentados entre sí, que atacaban a la bacteria *Escherichia coli*, habitante normal del intestino humano. Estos, fueron enumerados T1 a T7; el análisis químico de ellos reveló que sencillamente consisten de ADN y proteína, las dos principales moléculas, contendientes en la década del 40 para hacer el papel de material genético. Los genes virales, material hereditario por el cual se forman nuevos virus dentro de la célula bacteriana tenían que estar en la proteína o en el ADN. Si se pudiese determinar en cuál de los dos estaba, se identificaría químicamente el gen.

Hacia 1941, George Beadle y Edward Tatum publicaron los resultados de sus estudios sobre el control genético de las reacciones bioquímicas en el hongo *Neurospora*. Valiéndose de rayos X para incrementar la tasa de mutaciones, analizaron los mutantes y sus rutas metabólicas. Se comprobó que varias mutaciones afectaban la actividad de determinadas enzimas, lo cual los llevó a afirmar que la mutación que ocurre en un gen se puede correlacionar con la pérdida de la función de una enzima. Basándose en estos experimentos, lo que les mereció el Nobel, formularon la hipótesis de que cada gen es responsable de la producción de una enzima.

En 1943 O.T. Avery y sus colaboradores, basándose en los experimentos de transformación que había realizado Griffith con neumococos, tomaron los extractos celulares de las bacterias transformadas, destruyeron selectivamente sus moléculas componentes, una tras otra, y demostraron que el ingrediente activo que convertía bacterias avirulentas en virulentas, era el ADN y que además esta molécula podía autoduplicarse, o sea, que se podía obtener de los descendientes transformados, mucho más ADN con la misma capacidad de transformación.

Durante muchos años, se pensó que las bacterias se reproducían solamente por fisión binaria. No se poseía ninguna prueba de reproducción sexual entre ellas hasta 1947, cuando J. Lederberg y E.L. Tatum obtuvieron evidencias indirectas de que *E. coli* podía reproducirse sexualmente: algunos años después se observó al microscopio el apareamiento en esta bacteria. A este fenómeno se le denominó **conjugación**. La primera descripción del proceso se hizo en la cepa K-12 de *E. coli*.

Hoy se conoce que en este sistema, la diferenciación sexual y la capacidad de conjugación dependen de la presencia intracelular de un elemento genético extracromosómico que se llamó factor sexual o de fertilidad (F), conocido como **plásmido F** o **plásmido conjugante**.

En 1952 los genetistas A.D. Hershey y Martin Chase hicieron una serie de experimentos con virus, los cuales aportaron evidencias adicionales de que el ADN era el material hereditario básico. Ellos demostraron que los bacteriófagos logran reproducirse mediante la inyección de su ADN en las células bacterianas, dejando la mayor parte de su proteína en el exterior. Estos resultados evidenciaron toda la importancia del ADN en la multiplicación de los bacteriófagos y, para muchos fue el experimento decisivo para concluir que éste era el material genético.

En contraposición a los sistemas de transferencia genética bacteriana descritos anteriormente, que requieren el contacto célula-célula o la captación celular del ADN desnudo (en los casos de la conjugación y transformación, respectivamente), en 1952 se demostró la transferencia de material genético mediada por bacteriófagos. Se le llamó **transducción**, la cual se produce como resultado de la infección de una bacteria por una partícula viral que contiene por error ADN bacteriano. Actualmente se conoce una serie de virus capaces de transducir ADN bacteriano, denominados fagos transductores; además se han observado transducciones en un grupo restringido pero variado de géneros bacterianos, por ejemplo *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Bacillus*, *Klebsiella* y *Staphilococcus*, entre otros.

El conocimiento de que los genes consisten en ADN y que las proteínas específicas son producidas por genes específicos, permitió que se formulara una primera hipótesis que los relacionaba directamente, la cual sostenía que el ADN sirve de molde para la producción de proteínas, pero sencillamente en ese momento del conocimiento no había manera de hacer concordar una cadena de proteína con una cadena molde de ADN.

El acontecimiento que abrió el camino a la genética molecular ocurrió en 1953, cuando James Watson y Francis Crick, propusieron la estructura de la doble espiral para el ADN; esto permitió aclarar la forma en que la información genética es almacenada y expresada. El modelo propuesto sirvió para sentar las bases del entendimiento de cómo la gran cantidad de información genética de las células puede ser usada para dirigir la síntesis de otras macromoléculas involucradas en las funciones celulares. Estos investigadores dedujeron que el ADN no tiene estructura helicoidal de una sola cadena, como las proteínas, sino una doble hélice entrelazada, de extraordinaria longitud, cuya columna vertebral consiste en grupos alternantes de azúcares y fosfatos, en cuyo interior cuatro bases nitrogenadas deletrean el mensaje genético.

En 1957, A. Isaacs y J. Lindenmann obtuvieron una proteína de bajo peso molecular, producida por las células de los animales vertebrados al ser parasitados por un virus. Dicha proteína los hacía resistentes a otras invasiones víricas, gracias a un mecanismo de competencia enzimática. Fue denominada **interferón**; al parecer su acción consiste en inhibir la síntesis del ácido nucleico viral. El estudio de esta sustancia abrió el camino para la investigación de la terapéutica etiológica de las enfermedades virales, entre ellas el cáncer.

En 1958, George Beadle, Edward Tatum y Joshua Lederberg, compartieron el Nobel por sus investigaciones en genética microbiana.

En 1959, Severo Ochoa y Kornberg, obtuvieron por síntesis los ácidos nucleicos ADN y ARN; logro que proyectó el pensamiento científico hacia la manipulación del material genético de los organismos. Se les premió con el Nobel de ese año.

Con el establecimiento de la naturaleza estructural y bioquímica del material genético de las células, se llegó al momento de unificar criterios entre la genética microbiana y el metabolismo bioquímico.

En los primeros años del uso de antibióticos, se observó que mediante mutaciones cromosómicas espontáneas, las bacterias podían tornarse resistentes a ellos. En una de cada diez millones de células de una población, se produce dicha mutación, la cual se traduce en resistencia a un antibiótico en particular o a una determinada clase química de antibióticos. Este tipo de resistencia se convirtió en un obstáculo muy importante para la quimioterapia, el cual se superaba mediante tratamientos combinados con distintos compuestos. En 1959, Tsutomu Watanabe y Naomi Datta, científicos japoneses observaron un gran número de cepas bacterianas resistentes, que soportaban la acción conjunta de cuatro o más antibióticos químicamente distintos. Igualmente encontraron que esta resistencia se situaba en elementos extracromosómicos del ADN y era transferible genéticamente entre bacterias diferentes. A estos elementos extracromosómicos responsables se les denominó **plásmidos de droga-resistencia o plásmidos R**. Como se dijo anteriormente, ya se había reseñado un elemento de esta naturaleza y era llamado **plásmido F**, ligado a la transferencia por **conjugación** de ADN. Los **plásmidos R** se han aislado en todo el mundo, y aparentemente son los responsables de la mayor parte de la resistencia bacteriana a los antibióticos. Por considerarlo de gran interés, en el **Cuadro 1** se incluyen caracteres situados en plásmidos bacterianos. Se describió también por la misma época la resistencia de hongos fitopatógenos a algunos fungicidas protectores. Actualmente, el aumento de la resistencia de los patógenos a la acción de los antibióticos constituye una gran preocupación mundial.

CUADRO 1. FUNCIONES FENOTÍPICAS Y RESISTENCIA A AGENTES ANTIMICROBIANOS, ESPECIFICADAS POR PLÁSMIDOS.

Funciones fenotípicas

- Replicación autónoma*
- Incompatibilidad*
- Funciones de conjugación (genes de transferencia)
- Exclusión de entrada
- Resistencia a antibióticos (por ejemplo, estreptomicina, ampicilina, tetraciclina, sulfonamidas y cloramfenicol)
- Resistencia a metales pesados (por ejemplo, Cd, Hg, Pb, Co y Ni divalentes)
- Resistencia a luz ultravioleta
- Resistencia a fagos específicos (por ejemplo, T1, λ)
- Restricción y modificación de DNA (por ejemplo, sistema EcoR1)
- Producción de bacteriosinas (por ejemplo, colicinas E, V, K y B)
- Producción de toxinas (por ejemplo, enterotoxina)
- Producción de factores que aumentan la virulencia y de antígenos celulares de superficie (por ejemplo, antígeno K88, de formación de tumores en la enfermedad «agalla de la corona» de las plantas)
- Formación de vacuolas de gas (por ejemplo, ciertas halobacterias)
- Producción de hemolisina, coagulasa o H₂S
- Catabolismo de sustrato (por ejemplo, degradación de octano, o naftaleno, o fermentación de lactosa o sacarosa)
- Sistemas o sistemas de recombinación especializados (por ejemplo, determinante RTF-r de disociación-asociación, y transposición de resistencia a medicamentos)

Resistencia a agentes antimicrobianos

Amikacina	Neomicina
Cefalosporinas	Penicilinas
Cloramfenicol	Espectimicina
Clindamicina-lincomicina	Estreptomicina
Eritromicina	Tobramicina
Acido fusídico	Sulfonamidas
Gentamicina	Tetraciclinas
Kanamicina	Trimetropim
Lividomicina	

* **Nota:** Las dos funciones señaladas con asteriscos son comunes a todos los plásmidos.

1960 - 1980

Estas dos décadas abarcan lo que se ha considerado como la tercera etapa en el conocimiento de los ácidos nucleicos, partiendo de su descubrimiento, estudio de las mutaciones, reconocimiento y comprensión del papel de los plásmidos, descripción de la estructura molecular de los ácidos nucleicos y

su síntesis en el laboratorio, hasta llegar al aislamiento e identificación de las nucleasas de restricción y la secuenciación de virus, como se verá más adelante.

Entre 1960 y 1962, Francis Jacob y Jacques Monod descubrieron el mARN; encontraron que éste funciona como un pequeño «código genético»; propusieron la **teoría del Operón**, la cual explicó cómo la información genética controla la síntesis de proteínas. El Operón es un grupo de genes estructurales, es decir genes que codifican proteínas, a menudo enzimas, que trabajan en forma secuencial en una vía de reacción particular. Los elementos genéticos de este modelo son un gen regulador, un gen operador y un conjunto de genes estructurales.

En 1962, los estudios en biología molecular fueron estimulados con trabajos como la síntesis «in vitro» del ARN, llevada a cabo por Chamberlain y Berg, empleando una ARN-polimerasa obtenida de *E. coli* pero bajo «la dirección» del ADN.

El trabajo sobre la estructura molecular de los ácidos nucleicos y su significado para la transmisión de información en la materia viva, permitió a F.H. Crick, M.H.F. Wilkins y J.D. Watson recibir el Nobel de Medicina y Fisiología en 1962.

A través de estudios sobre la relación hospedante-agente patógeno, Muller estableció en 1961 que la resistencia de las plantas a las enfermedades es, a menudo, producida por **fitoalexinas**, lo cual fue confirmado y ampliado por Cruickshank en 1963. Las fitoalexinas son metabolitos antimicrobianos que se encuentran en niveles no detectables o ausentes en plantas sanas, pero que se acumulan en niveles altos como resultado del estímulo causado por organismos fitopatógenos.

Respecto a resistencia de las plantas a los patógenos, Vanderplank sugirió en 1963, la existencia de dos tipos: uno controlado por unos pocos genes «mayores», que es fuerte pero está dirigida a una raza específica del patógeno; llamada **resistencia vertical u oligogénica**; el otro tipo es determinado por muchos genes «menores», es más débil, pero efectiva contra todas las razas de una especie patogénica; se denomina **resistencia horizontal, poligénica o multigénica**.

Hacia 1964 se demostró que cuando aparecen mutaciones en un gen, el orden de dichas mutaciones corresponde a cambios en el orden de los aminoácidos de la(s) proteína(s) codificada(s). El código genético fue descifrado completamente en 1966.

En agosto de 1967, en la ciudad alemana de Marburgo, en los laboratorios Behring Works, donde se realizaban experimentos con monos salvajes capturados en la frontera entre Zaire y Uganda en las cercanías del Monte Elgón, el encargado de limpiar las jaulas murió repentinamente víctima de hemo-

rragia interna. Otras siete personas, de 31 contagiadas, murieron con los mismos síntomas. La causa se asoció con un virus que se designó como virus Marburgo (que es un filovirus, llamado así por su peculiar forma alargada).

Las investigaciones realizadas por R.W. Holley; H.G. Khorana y M.W. Niremberg al interpretar el código genético y la relación funcional entre la estructura de los ácidos nucleicos y las proteínas, condujeron a estos científicos a alcanzar el Nobel en 1968. De la misma manera fueron premiados en 1969 Max Delbruck, Alfred Hershey y Salvador Luria por sus estudios acerca de la estructura genética y los mecanismos de reproducción de los virus, especialmente bacteriófagos: ellos encontraron que el ácido nucleico viral codifica la secuencia reproductora de los componentes virales dentro de la célula del hospedante.

En 1970 Hamilton Smith descubrió la primera nucleasa de restricción, una enzima que corta el ADN en cierto punto de una secuencia nucleótida específica. En ese mismo año, la comprensión y manejo de la genética bacteriana y los avances logrados en biología molecular, permitieron a Harold Boyer y Stanley Cohen realizar ensayos de ingeniería genética que condujeron a la obtención de clones de genes, logrando la «creación» de nuevos microorganismos. Su trabajo consistió en insertar genes extraños en un plásmido y luego introducirlos en bacterias, las cuales clonaron, es decir, multiplicaron el plásmido y el ADN extraño dentro de ellas.

En 1971 se conoció la existencia de una nueva entidad infecciosa a la cual Diener llamó **viroide**. Los viroides son un grupo interesante de agentes infecciosos constituidos por un pequeño fragmento de ARN que no está asociado con ninguna envoltura proteínica. El viroide mejor estudiado es el señalado por Diener como agente causal de la enfermedad **tubérculo ahusado o alargado de la papa -PSTV-**. El ARN de este agente tiene 359 nucleótidos (casi el 10% del tamaño del virus más pequeño conocido), y sin embargo, es altamente infeccioso. Es resistente a las nucleasas, lo cual se debe a que su ARN es circular y principalmente, de doble cadena.

En el campo de la inmunología, las investigaciones dirigidas a dilucidar la estructura de las inmunoglobulinas (anticuerpos) y los caracteres genéticos involucrados en la respuesta inmunitaria, hicieron merecedores del Nobel de 1972 a los inmunólogos G.M. Edelman y R. Porter.

Los avances tecnológicos logrados en la Física se convirtieron en herramientas valiosas para los investigadores en biología molecular e ingeniería genética. Por ejemplo, el proceso de centrifugación diferencial permitió a A. Claude el aislamiento de estructuras celulares, siendo la primera persona en ver partículas virales de cáncer en células tumorales. Mediante ese mismo proceso físico, en equipo con G.E. Palade y Ch.R. de Duve, lograron aislar los microsomas, con lo cual proporcionaron un método efectivo para el estudio

preciso de las actividades y funciones de las partículas citoplasmáticas. Los dos últimos científicos citados, ampliaron y perfeccionaron las técnicas para el análisis bioquímico de las células y sus componentes, lo cual los condujo a sus descubrimientos relacionados con ribosomas y lisosomas. Los tres compartieron el Nobel en 1974. La integración de estos avances abrió las puertas a una nueva área de la Microbiología aplicada que estimuló la fundación de muchas compañías de ingeniería genética.

Durante la década de los setenta se enriqueció el potencial de la serología con nuevas técnicas para detectar e identificar agentes patógenos en el hombre, los animales y las plantas, mediante la introducción de procedimientos relacionados con inmunoabsorción: el llamado microscopía electrónica serológicamente específica o microscopía electrónica de inmunoabsorción (ISEM) que fue reseñado por Derrick en 1973, y hacia 1976, con base en las pruebas exploratorias altamente exitosas realizadas en el Nuffield Centre for Comparative Medicine. A.N. Adams y M.F. Clark describieron una adaptación del procedimiento de inmunodiagnóstico Elisa (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) para la detección cuantitativa de virus de plantas. De las diferentes variantes de la prueba Elisa, la más usada en patología vegetal es la llamada Elisa doble sandwich (Das-Elisa) o puente de anticuerpos, la cual es de tipo indirecto.

En 1975 mediante técnicas de ingeniería genética se logró la clonación en bacteriófagos de fragmentos de ADN de un gen de mamífero. También se obtuvo una célula híbrida por fusión de una célula del bazo, productora de anticuerpos, con una célula del tumor del mieloma que se estaba dividiendo en forma autónoma. La célula híbrida tumerosa (hibridoma) tenía el potencial para producir anticuerpos idénticos (monoclonales) en forma indefinida. El mieloma es un tumor medular, una neoplasia maligna de células plasmáticas de la médula ósea que puede ser de localización focal (mieloma único), o de localización múltiple (mieloma múltiple o enfermedad de Kahler), el más común.

En el mismo año, H.M. Temin, R. Dulbecca y D. Baltimore (Nobel 1975), dieron a conocer los resultados de sus investigaciones acerca de los mecanismos a través de los cuales los virus productores de tumores inducen transformaciones en los ácidos nucleicos de las células que infectan, lo cual las capacita para reproducirse anárquicamente; sus observaciones aportaron pruebas que demostraron la presencia de una enzima específica en las partículas de virus ARN inductores de tumores, mediante la cual pueden hacer una copia ADN a partir del ARN.

Los descubrimientos de B.S. Blumberg relativos a nuevos mecanismos de origen y diseminación de las enfermedades infecciosas, y de D.C. Gajdusek sobre la naturaleza viral de algunas enfermedades neurológicas, contri-

buyeron decisivamente a establecer el concepto de una enfermedad infecciosa producida por un virus, cuyo período de incubación puede abarcar entre diez y veinte años. Los dos investigadores compartieron el Nobel de Medicina y Fisiología en 1976.

En 1976 se desató en el sur de Sudán, a 800 kilómetros del monte Elgón, una epidemia que cobró centenares de víctimas. Esta epidemia comenzó con un empleado de una fábrica procesadora de algodón en la aldea de Nzara, el cual murió a consecuencia de una fuerte hemorragia interna, contagiando a otros tres compañeros que también fallecieron. La causa fue atribuida a un filovirus asociado con el virus Marburgo y se llamó Ebola Sudán. En septiembre del mismo año, el virus se encontró en la zona de Bumma (Zaire) a orillas del río Ebola, y se propagó en el hospital de Yambuku infectando a médicos y paramédicos. Se extendió así a 55 aldeas, muriendo alrededor de 300 personas. El virus se denominó *Ebola Zaire*.

Armin C. Braun, de la Universidad Rockefeller, demostró que los tumores formados en algunas plantas afectadas por la enfermedad «agalla de corona» se deben a la acción de la bacteria *Agrobacterium tumefaciens*. Sugirió que este procarionta ejerce su efecto tumorígeno al inducir un cambio permanente en las células infectadas; esta conjetura se corroboró porque las células de la planta y sus células hijas mantenían su comportamiento canceroso aunque no estuviera presente la bacteria.

Mary-Dell Chilton y sus colaboradores de la Universidad de Washington demostraron que los genes involucrados en la afección «agalla de corona» no son las bacterias en sí, sino un gran plásmido denominado Ti. Cuando *A. tumefaciens* infecta la planta introduce en sus células parte de su plásmido Ti el cual es incorporado al ADN de la planta. La presencia del plásmido en el cromosoma hospedante no sólo conduce al crecimiento acelerado e incontrolado característico de la enfermedad, sino también a la producción de algunas proteínas inusuales que cumplen dos funciones: aportan nutrientes para las células de la bacteria y promueven la conjugación entre ellas, favoreciendo de esta manera la propagación de los plásmidos inductores del tumor. Es así como *A. tumefaciens* utiliza su plásmido para adueñarse del cromosoma de la célula hospedera y subvertir su economía celular en beneficio del desarrollo bacteriano. Correspondió a Drumond en el mismo año la demostración de que el T-ADN incorporado es transcrito por la célula vegetal.

Actualmente se conoce la presencia en *A. tumefaciens* del plásmido Ti (tumor inducing) y Ri (root inducing) en *A. rhizogenes* (Figura 10), que además de ser responsables de su virulencia y de la inducción de hiperplasia e hipertrofia celular, producen niveles elevados de la hormona de crecimiento vegetal citocinina. También, como resultado de la alteración de su metabolismo, la célula vegetal infectada produce sustancias denominadas opinas,



Figura 10. Manifestación del plásmido de *A. rhizogenes* en zanahoria *Daucus carota*.

derivados simples de aminoácidos y cetoácidos que constituyen el alimento preferido de las bacterias.

También en 1977 Sanger y sus colaboradores del Consejo de Investigaciones Médicas de Cambridge, complementaron la secuenciación de los 5.375 pares de bases del ADN del fago Φ X 174. Se descubrió igualmente el hecho de que la mayoría de los genes son hendidos, esto es, no constan de una banda continua de ADN, sino que son partidos en varios segmentos mediante ADN no-gene. En este año se completó el primer secuenciamiento de un gen de un mamífero.

Hacia 1980 se determinó la secuencia exacta de los 8.000 pares de bases del virus del mosaico de la coliflor, cuyo genoma se encontró constituido por un cromosoma circular de ADN de doble cadena.

1980 - 2000

Los avances en la genética moderna, el reconocimiento del genotipo y fenotipo, (W.L. Johannsen, 1920), el establecimiento de la unidad y diversidad del mundo viviente, basada en la molécula de ADN, como código unitario, el cual a través de diferentes secuencias de nucleótidos codifica diversos mensajes y estos se traducen en diversidad biológica; el conocimiento de las propiedades físicas y químicas del ADN que permite el desdoblamiento de

esta molécula y separación completa de sus dos bandas y la capacidad de mezclar e hibridar moléculas de ADN, podría asemejarse a una historia de ciencia ficción que se tornó realidad.

En la medida que se ha profundizado en el conocimiento de la genética molecular, ha sido posible el desarrollo de procedimientos complejos para el aislamiento, la manipulación y la expresión del material genético, dando paso en esta forma a un campo nuevo de la ciencia denominado **Ingeniería Genética o Tecnología del ADN recombinante**. En los últimos veinte años, la técnica de hibridación (fundamentada en las propiedades de aparear bases de los ácidos nucleicos) se ha constituido en una de las herramientas más poderosas para el estudio de muchos aspectos de la genética molecular; permite conocer cuán estrechamente relacionados están dos organismos, así como también la relación entre un ADN y ARN dados; purificar genes, ARN, y acercarse a la respuesta de algunos interrogantes como: cuántos genes hay en X ó Y especies, cuál es la longitud de ellos y establecer el mapa genético de los organismos, inclusive del hombre mismo.

La clonación de genes constituye la base de la mayoría de los procedimientos de ingeniería genética. Los desarrollos del conocimiento, esenciales para el avance actual de la ingeniería genética, se registran en el Cuadro 2.

CUADRO 2. DESARROLLOS DEL CONOCIMIENTO, ESENCIALES PARA EL AVANCE ACTUAL DE LA INGENIERÍA GENÉTICA.

Eventos	Observaciones complementarias
1. Química del ADN: desarrollo de los procedimientos para aislamiento, determinación de las secuencias y síntesis del ADN.	Las primeras endonucleasas de restricción fueron purificadas y aisladas de cepas K de <i>E. coli</i> (1968). Hasta 1985 se habían clasificado y catalogado 355 de ellas. En los últimos años la lista crece diariamente.
2. Enzimología del ADN: descubrimiento de las endonucleasas de restricción, ADN ligasas y ADN polimerasa.	En biología molecular se utilizan dos tipos de ligasas: la ligasa de <i>E. coli</i> y la T4 ADN ligasa obtenida del bacteriófago T4 de <i>E. coli</i> . Entre las ADN-polimerasas, algunas de las más usadas son: <i>E. coli</i> ADN-polimerasa, fragmento Klenow de la ADN polimerasa I de <i>E. coli</i> , T4 ADN polimerasa, Taq polimerasa obtenida de la bacteria <i>Thermus aquaticus</i> y transcriptasa reversa.

Eventos	Observaciones complementarias
3. Replicación del ADN: comprensión de cómo tiene lugar la replicación del ADN y la importancia de los vectores de ADN capaces de una replicación independiente.	
4. Plásmidos: descubrimiento de los plásmidos y determinación de mecanismos mediante los cuales se replican los plásmidos.	Las técnicas de ingeniería genética han hecho posible la construcción en el laboratorio de un número nuevo e ilimitado de plásmidos artificiales.
5. Bacteriófagos temperados: comprensión de cómo se controla la replicación, así como la integración en el ADN, de los bacteriófagos temperados.	
6. Transformación: descubrimiento de los métodos para obtener ADN libre a partir de células.	
7. Enzimología y química del ARN: comprensión de cómo trabajar con el ARN mensajero, cómo se fabrica el mRNA eucariótico, la importancia del procesamiento del ARN para la formación del mRNA eucariótico maduro.	La investigación en enzimología ha evolucionado hasta el punto que existen enzimas sintéticas que cortan el ADN en los sitios específicos en que lo hacen las enzimas purificadoras de los microorganismos.
8. Transcripción inversa: el descubrimiento de la enzima Transcriptasa inversa de los retrovirus y su desarrollo como medio para transcribir la formación del mRNA de nuevo en ADN.	Actualmente existen comercialmente dos tipos diferentes de transcriptasa inversa: uno que proviene del virus de mieloblastosis de ave (AMV), purificada de partículas de un retrovirus de ave, y otro, del virus de la leucemia del Moloney de ratón, clonada en <i>E. coli</i> .
9. Regulación: comprensión de los factores que participan en la regulación de la transcripción incluyendo el descubrimiento de los sitios promotores y el control del operón.	Operón: conjunto de genes relacionados por su función, cuya expresión está controlada por un solo operador.
10. Traducción: comprensión de los pasos que participan en la traducción, la importancia de los sitios de unión de ribosomas sobre el ARNm, la función del codón de iniciación y la importancia de un marco de lectura adecuado.	
11. Química proteínica: desarrollo de los métodos para el aislamiento, la purificación, las pruebas y la determinación de la secuencia de proteínas.	

Eventos

Observaciones complementarias

12. Excreción de proteínas y modificaciones postraduccionales: comprensión de cómo se hacen las proteínas consecuencias de señal que son eliminadas durante o después de la excreción. Descubrimiento de otros tipos de modificaciones postraduccionales de proteínas del tipo de la eliminación de polipéptidos en el extremo de iniciación de la proteína.

13. El código genético: descubrimiento del código genético y de que es el mismo en todos los organismos. La comprensión de la importancia del marco de lectura adecuado y de que ciertos codones eran empleados con menor frecuencia en algunos organismos que en otros.

14. Modelación: grandes avances en ingeniería de sistemas.

A finales de junio de 2000 se ha informado que alrededor del 97% del genoma humano ha sido decodificado.

Han permitido el desarrollo de programas computarizados y la modelación como herramienta fundamental.

(Tomado de Brock, Smith y Madigan, 1984; Madigan, Martinko y Parker, 1999; Umaña y Gómez, 2000, con observaciones de los autores de esta lectura).

El descubrimiento de los plásmidos, su estructura y facilidad de aislamiento, los ha convertido en una poderosa herramienta de la tecnología del ADN recombinante, ya que en ellos se pueden insertar genes nuevos, provenientes de otras especies y el plásmido modificado puede ser reintroducido en una célula hospedera normal, para que sea replicado, transcrito y dé lugar a la fabricación de proteínas codificadas por el gene introducido artificialmente. Además de los plásmidos, se cuenta actualmente con vectores basados en los bacteriófagos lambda (λ) y M13, entre otros. Se ha construido una tercera clase de vector, los denominados cósmidos, que combinan las propiedades de plásmidos y fagos.

Los hospederos más útiles para la clonación son aquellos microorganismos que proliferan bien y de los que se cuenta con gran cantidad de información genética, como es el caso de *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* y la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. También la clonación de genes puede llevarse a cabo en células animales y vegetales.

Algunos de los descubrimientos más importantes de la genética molecular en los últimos diez años se han hecho empleando técnicas de ingeniería

genética. En cuanto a la investigación aplicada, la ingeniería genética ha permitido el desarrollo de cultivos microbianos capaces de producir, en masa, metabolitos de gran importancia. La primera proteína humana que fue producida comercialmente en las bacterias fue la insulina, para el tratamiento de la diabetes. Algunos ejemplos de genes de mamíferos que han sido expresados en bacterias, se presentan en el Cuadro 3, igualmente especies de géneros bacterianos en los cuales se han introducido genes para fijación de N₂.

CUADRO 3. ALGUNOS GENES BACTERIANOS Y DE MAMÍFEROS QUE HAN SIDO EXPRESADOS EN BACTERIAS.^{1/}

Proteína	Función
Interferón	Agente antiviral, anticancerígeno.
Insulina	Tratamiento de diabetes
Albúmina sérica	Aplicación en transfusiones
Hormona de crecimiento	Defectos del crecimiento
Urocinasa	Alteraciones de la coagulación sanguínea
Hormona parasitoidea	Regulación del calcio
Virus humanos (hepatitis B, citomegalovirus, influenza)	Vacunas
Virus animales (fiebre aftosa) nitrogenasa (Ingeniería genética en géneros <i>Salmonella</i> , <i>Escherichia</i> y <i>Serratia</i>)	Vacunas Fijación de N ₂

1/ Tomado de Brock, T.D. et al. 1984. p.430
Paul E.A., and Clark, F.E. 1989. p.167

Hasta 1983 para una especie como *Escherichia coli*, tal vez la más estudiada en el mundo, se estimaba que su cromosoma circular tenía algo más de 3.000 genes, de los cuales para una cepa como la K 12, se conocía con precisión la localización relativa de 52 de ellos, y habían sido mapeados alrededor de 1.000. La longitud promedia de sus genes se estimaba en 1.300 pares de bases(bp).

Hace más de treinta años, Bárbara McClintock descubrió los llamados «genes saltarines» en células eucariotas vegetales. Estos elementos genéticos móviles se han encontrado en bacterias y eucariotas. En 1982, los biólogos moleculares consiguieron extraer, de células cancerosas humanas, segmentos de ADN que transforman en células cancerosas a los fibroplastos de ratón desarrollados en cultivo de tejidos. A tales segmentos se les denomina onco-

genes. Algunos de estos segmentos fueron clonados y las técnicas de hibridación revelaron que también existen en el ADN de las células humanas normales. Este descubrimiento sugiere que los cánceres podrían deberse a cambios en la regulación celular, introducidos por la transposición de un gen normal de un sitio a otro del genoma. Tales transposiciones podrían ser inducidas por agentes externos como radiación o mutágenos químicos, por virus que trasladan genes de un organismo a otro, o por acontecimientos internos en la célula. La conjetura de genes recogidos por virus de una célula eucariótica en algún punto de su historia evolutiva, para ser procesados y pasados después a otro hospedero (transducción), es tema de debate.

Uno de los ejemplos a los que se acude en esta discusión, es al gen de la leghemoglobina, la cual como su nombre lo sugiere pertenece a la familia de la hemoglobina. Su rasgo insólito es que se produce en las leguminosas asociadas con bacterias (rizobios), con el fin de fijar y hacer disponible el nitrógeno atmosférico. El ADN que codifica la leghemoglobina, posee todas las características de un gen primitivo para globina. Hasta ahora la mejor explicación de su presencia en las leguminosas es que fue trasladado allí por un virus procedente de un hospedero animal.

Vale la pena mencionar que hasta el momento, la única recombinación genética registrada, que ocurre naturalmente entre procariotas y eucariotas, es la enfermedad en plantas llamada «agallas de corona», cuyo agente causal es *A. tumefaciens*.

Aunque no se ha terminado la discusión en torno a posible transposición de genes en forma natural en el caso de la simbiosis leguminosa-rizobios y en otros más, los grandes avances logrados en el conocimiento del genoma viral, bacteriano, de los protista y de los animales en las décadas de 1970 y 1980, han trascendido al campo vegetal. El avance de la tecnología del ADN recombinante, ha permitido que actualmente se cuente con especies de plantas transformadas genéticamente.

Como parte esencial, en la ingeniería genética de las plantas se requieren vectores de clonación de genes. Uno de los enfoques para resolver este problema ha sido el empleo de ADN de virus vegetales, ya que se conocen muchos de ellos que lo contienen, y se han estudiado virus con ADN tanto monocatenario como bicatenario. Los adelantos han sido obstaculizados por el escaso conocimiento de los virus vegetales y por la lenta proliferación de cultivos de células vegetales. Otro enfoque ha sido la utilización de *A. tumefaciens*, aprovechando que su plásmido T.i se integra en el ADN de la planta y su replicación queda bajo control del vegetal. El plásmido Ti se emplea como un vehículo para la introducción de genes extraños en células vegetales y, puesto que puede proliferar tanto en las bacterias como en las plantas, es muy promisorio para clonación; se ha demostrado que los genes que se

colocan en esta forma en el genoma de la planta se transmiten sexualmente a las siguientes generaciones, a través de semillas, y también pueden propagarse asexualmente si se desea.

La utilización de técnicas sensibles para separación de moléculas, tales como la sedimentación en gradientes de densidad de sacarosa, la electrofóresis en gel poliacrilamida, la utilización de enzimas específicas para seleccionar moléculas, unidas a los grandes avances en materia de microscopía, permitieron identificar en 1982, a un nuevo agente infeccioso: el **Prión** (proteinaceous infectious particle), el cual está formado por una glucoproteína, que contiene por lo menos 250 aminoácidos de longitud, de los cuales Prusiner y colaboradores habían identificado hasta 1984 los primeros 15 aminoácidos del grupo amino. La aparente ausencia de ácidos nucleicos que codifiquen su estructura, ha planteado serios interrogantes sobre el paradigma ADN → ARN → proteínas.

Así como hasta el momento sólo se han encontrado los viroides asociados con problemas en plantas, en el caso de los priones se han detectado ligados a enfermedades en animales y en el hombre. Tal es el caso del prurito lumbar (scrapie), una alteración neurológica en ovejas y cabras; la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, una rara demencia humana; el kurú diagnosticado en tribus de Nueva Guinea; el síndrome Gertsmenn-Strauser y aparentemente la enfermedad de Alzheimer.

También en 1982 se halló una entidad similar a un viroide, de ARN corto y circular de banda simple, que está presente dentro de algunos virus con ARN, constituyen parte del material genético de estos virus y forman una asociación obligatoria con ellos, se les denominó **virusoide**. Ni el virus ni el virusoide se pueden multiplicar e infectar una planta en ausencia de su socio. En este año igualmente, se determinó completamente la secuencia de bases del TMV, constituido por ARN de una sola banda.

Como se ha podido observar a través de este recuento histórico, los estudios en biología molecular de organismos eucarióticos han sido guiados por los conocimientos alcanzados en procariotas. La llamada revolución biotecnológica que recorre el mundo al finalizar el siglo XX, ha sido posible gracias a largas, constantes y pacientes investigaciones básicas sobre procariotas, algunas veces aparentemente irrelevantes, pero con un profundo sentido de oportunidad, hasta el punto que su acumulación y concatenación han permitido el rápido e intenso desarrollo en áreas como la Bioquímica y la Biología e Ingeniería Genética, entre otras.

La identificación de especies procariota y eucariota, mediante descriptores morfológicos, fue complementada cuando surgieron los marcadores bioquímicos (isoenzimas) y al finalizar el siglo se dispone de una herramienta fruto de la ingeniería genética: se trata de los marcadores moleculares, los

cuales permiten hacer mapeos genéticos en forma más rápida y menos costosa.

Los RFLPs (polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción), ADN- Fingerprinting (huella dactilar del ADN), la técnica del PCR (reacción en cadena de la polimerasa) y los RAPDs (amplificación aleatoria de ADN polimórfico), son ejemplos de marcadores moleculares.

Como casos concretos de su utilización, se tienen: la detección del viroide del tubérculo ahusado de la papa **PSTV**. Su reconocimiento por electrofóresis en geles de poliacrilamida es muy laboriosa y costosa. En 1990, mediante el conocimiento de la secuencia de bases de su ARN se logró su identificación a través de sondas **PSTV cADN**; mediante el uso de la técnica de RAPDs se ha demostrado la amplia diversidad genética de *Colletotrichum lindemuthianum*, agente causal de la antracnosis del fríjol común, en Colombia y en Mesoamérica, e igualmente del patógeno de la mancha angular del fríjol común *Phaeoisariopsis griseola* en América Latina. La técnica PCR se ha empleado para la detección de patógenos en semillas como en el caso del agente causal del añublo de halo *Pseudomonas syringae* pv *phaseolicola* en semillas de fríjol.

Los registros anteriores constituyen unos pocos ejemplos tomados en nuestro país, del gran potencial de estas técnicas en la detección y/o identificación de patógenos de plantas como virus, hongos, nematodos, bacterias, etc. Su uso, además de tornar las actividades de diagnóstico más confiables, permite la eliminación de patógenos en cultivos de tejidos, a partir de materiales, donde era imposible detectarlos por métodos tradicionales como plantas indicadoras y electroforesis. Fuera de ello, permite que se explore un nuevo enfoque en el control de enfermedades en humanos, plantas y animales, en donde el énfasis lo constituye el conocimiento de los principios moleculares que propician el ataque de un patógeno y cómo contrarrestar a partir de allí su acción.

En el plano de la ingeniería genética, a partir de la década del 90 se presentan en Colombia trabajos sobre plantas transgénicas, como el que se resume a continuación: «Segmentos de hojas de *Nicotiana tabacum* fueron transformados con *Agrobacterium tumefaciens*, cepa EA 101 que contiene el plásmido pGV1040. Las plantas transgénicas regeneradas expresaron el gen GUS, resistencia a kanamicina y al herbicida fosfinotricina...».

En el plano de la salud, en octubre de 1994 los estadounidenses Alfred G. Gilman y Martin Rodbell obtuvieron el Nobel de Medicina; su investigación ha demostrado la forma en que la toxina producida por la bacteria del cólera se une a una proteína conocida como G (debido al mecanismo de unión con el nucleótido trifosfato de guanosina o GTP), y la deja como un semáforo en verde permanente, para impedir la absorción del agua y la sal en el intestino,

produciendo una intensa diarrea líquida. Un mecanismo similar genera síntomas de infección con la bacteria *E.coli*. El descubrimiento de varios tipos de **proteínas G** y la forma en que ayudan a las células a convertir las señales del ambiente y del interior del cuerpo en reacciones celulares, abre la puerta a una nueva generación de drogas, que solamente trabajen en la molécula que se quiere y en ninguna otra molécula del cuerpo.

Estos descubrimientos se convierten en una esperanza para el tratamiento de enfermedades en humanos, sin embargo, al finalizar el siglo dos epidemias se ciernen sobre el mundo: una de ellas es el sida o «aids» registrada en Estados Unidos en 1981, cuyo agente causal, el virus HTLV III (HIV) fue identificado en 1983 por el equipo del profesor Robert Gallo. A partir de 1985 se han efectuado esfuerzos infructuosos para encontrar vacuna para el virus con base en la biología molecular, lo cual llevó a que en el Congreso Internacional sobre Sida en Berlín, llevado a cabo en 1993, se impusiera como prioritario el regreso a la inmunología. En enero de 1995 se detectaron células inmunitarias en mujeres africanas resistentes al virus.

La segunda es el Ebola, ocasionada por un filovirus como se dijo anteriormente, del cual se han identificado cuatro miembros: el virus Marburgo, el Ebola Sudán, Ebola Zaire (registrados en 1976 en los sitios que les confieren sus nombres), y el Ebola Reston, encontrado en 1989 en Reston, a 15 kilómetros de Washington, en monos importados de Filipinas; allí, ningún humano fue contagiado, cosa muy diferente a lo sucedido en los otros casos.

En junio de 1995 se presentó un nuevo brote de Ebola Zaire, en Kikwi (Zaire), población que ha sido declarada en cuarentena, pues los muertos pasan de cien. En este lugar mueren nueve de cada diez infectados, sin que hasta el momento se conozcan cura ni tratamiento algunos para su prevención y control.

En el 2000 los mapas establecidos mediante enzimas de restricción, clonación molecular de genes y secuenciación de ADN son técnicas de uso rutinario para los genetistas. Estos instrumentos han permitido que actualmente se tenga prácticamente el mapa genético de *Escherichia coli* y de otros procariontas. La genética y metabolismo de este microorganismo ha sido compendiada en el libro de Neidhart, et al, titulado «*E. coli* and *Salmonella*: cellular and molecular biology».

La biotecnología se perfila hacia el tercer milenio en diferentes frentes, uno de ellos es la aplicación de la ingeniería genética para crear nuevos microorganismos, capaces de producir sustancias específicas de alto valor industrial (vacunas, proteínas de mamíferos, etc.), vegetales y animales transgénicos, biotecnología ambiental, regulación génica y terapia génica.

A finales de junio de 2000 representantes del Proyecto Genoma Humano (consorcio público internacional) y de Celera Genomics (empresa privada

dedicada a la investigación genética) anunciaron al mundo que el mapa genético del hombre, llamado por algunos «el libro de la vida» estaba secuenciado casi en su totalidad (los anuncios variaron entre 89% y 97% y se «esperaba completarlo en los próximos dos años».

Este hito, comparable al descubrimiento del interior del átomo a principios del siglo XX, plantea múltiples posibilidades, entre ellas, en un futuro, el diagnóstico, la prevención y curación de enfermedades mediante terapia génica. Para ello será necesario completar la secuenciación del genoma humano, establecer la localización de los genes y su interacción; avanzar en el estudio de la relación entre estructura y función de los genes y de las proteínas correspondientes, y buscar la aplicación de estos hallazgos a la medicina, ya sea corrigiendo o reemplazando los genes implicados en determinada patología, o diseñando fármacos que tengan en cuenta la composición genética de cada uno.

El siglo XX finaliza con un balance que hace pensar que en estos últimos cincuenta años la humanidad ha avanzado a pasos agigantados en el conocimiento, proporcionando las bases fundamentadoras del conocimiento humano actual, posiblemente en la mayoría de los campos del saber; sin embargo, los problemas de desigualdad social, violencia, hambre y contaminación ambiental, entre otros, antes que ser solucionados se agudizan.

Al finalizar el siglo XX la humanidad acepta incrédula y al mismo tiempo indiferente la existencia de microorganismos, plantas y animales transgénicos. En este largo trasegar los microorganismos han jugado un papel trascendental, al convertirse en una herramienta de trabajo básica para los investigadores, quienes les deben su eterno agradecimiento.

Una serie de alternativas a nivel del conocimiento serán reclamadas con el fin de solucionar problemas vigentes al finalizar este siglo y con mayor razón, en el tercer milenio. Dentro de esta perspectiva, la Microbiología está llamada a jugar papel crucial dentro de áreas comprometidas con el bienestar humano como la salud, producción de alimentos, generación de energía no contaminante, descontaminación ambiental, utilización eficiente de los agroecosistemas, etc.

En el plano de la salud, aunque en países como Estados Unidos y en otros del continente europeo en el último siglo las enfermedades causadas por microorganismos casi que se han erradicado, no se puede decir lo mismo de los países en vías de desarrollo, en donde estos avances tan valiosos para la humanidad «si no se hace una inversión importante en ciencia y tecnología» pueden agudizar la brecha entre países desarrollados y subdesarrollados, aumentando la dependencia.

CAPITULO II

Anatomía y morfología microbianas

Con base en la conformación de las células que los integran, los microorganismos se han agrupado en procariotas y eucariotas. Mediante la comparación de las secuencias de ARN ribosómico 16S y 18S se ha logrado establecer que a partir de un organismo ancestral común evolucionaron tres linajes celulares. Dos de ellos: **Bacteria** y **Archaea**, con estructura procariótica y un tercero: **Eukarya**, conformado por células eucarióticas, en el cual se encuentran las algas (verdes, rojas, diatomeas, etc.), los hongos y los protozoos (Figura 1).

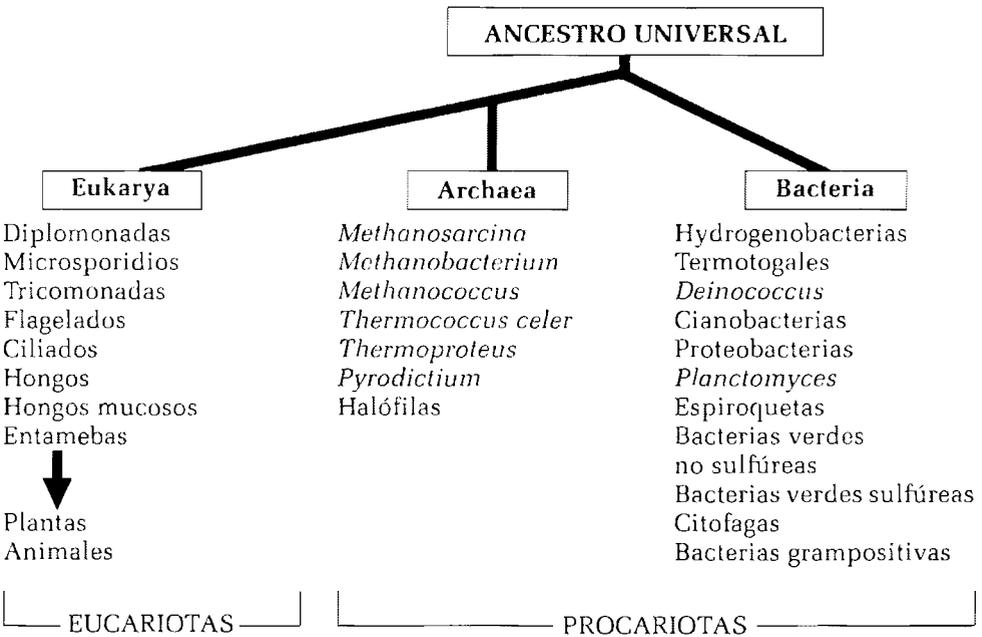


Figura 1: Visión global del árbol filogenético universal.

Los dos linajes procariotas permanecieron al nivel microbiano, mientras que los microorganismos eucarióticos constituyeron los antecesores de las plantas y animales. Algunos orgánulos surgidos en estos últimos –tales como mitocondrias y cloroplastos– presentan relación filogenética con las bacterias. Así, las células eucarióticas actuales, con sus orgánulos característicos, serían el resultado de procesos endosimbióticos que sucedieron miles de millones de años después que ocurriera la separación de líneas de descendencia a partir del antepasado universal.

Tamaño de los microorganismos

El tamaño generalmente microscópico de los microorganismos (llámense procariota o eucariota) constituye una de las características más importantes de estos seres vivos que los convierte en una fuerza ecológica fundamental en la naturaleza, ya que esto les significa el intercambio más eficiente con su medio ambiente, ocasionado por la alta relación superficie/volumen que presentan. Veamos un ejemplo: si un microorganismo fuese esférico y tuviese 1 micrómetro de radio, su superficie sería de $4\pi \times 10^{-12}$ y su volumen sería $4\pi/3 \times 10^{-18}$, lo cual llevaría a una relación superficie/volumen de 3×10^6 , representada en la cantidad de membrana disponible para transportar sustancias hacia afuera o adentro del microorganismo, que se va a traducir en alta capacidad metabólica y velocidad de desarrollo.

Si hacemos el mismo ejercicio para un organismo que alcance un radio de 1 m (10^6 micrómetros), la relación de estos dos parámetros sólo alcanzaría a 3 y por lo tanto su mayor tamaño le significaría menor capacidad de intercambio con el medio que lo rodea.

Los microorganismos procariotas son unicelulares y los más pequeños; en ellos se halla una amplia variación de tamaños; se encuentran formas tan diminutas como las de algunos micoplasmas que alcanzan entre 0.2 a 0.3 micrones¹ de diámetro; *Escherichia coli*, la bacteria habitante natural de nuestro intestino que mide aproximadamente $2\mu\text{m} \times 0.5\mu\text{m}$; *Oscillatoria*, cianofícea que alcanza $37\mu\text{m} \times 5.25\mu\text{m}$, cuyas masas filamentosas se pueden apreciar a simple vista en las aguas dulces. Los microorganismos eucarióticos generalmente son pluricelulares y de mayor tamaño, aunque también los hay unicelulares como la *Saccharomyces cerevisiae* microscópica levadura y la sorprendente alga marina *Caulerpa* que alcanza entre 60 y 100 cm de longitud, la cual, a pesar de estar conformada por una sola célula, consta de una compleja estructura de filoides, cauloides y rizoides.

El Cuadro 1 y la Figura 2 presentan ejemplos de ambos grupos de microorganismos y los comparan con las organizaciones moleculares llamadas

1. El tamaño de los microorganismos se mide en micrones o micrómetros (μ) cuya equivalencia es de 10^{-3} mm.; nanómetros (10^{-9} mm) y Angstroms (Å), cuya unidad equivale a 10^{-9} mm.

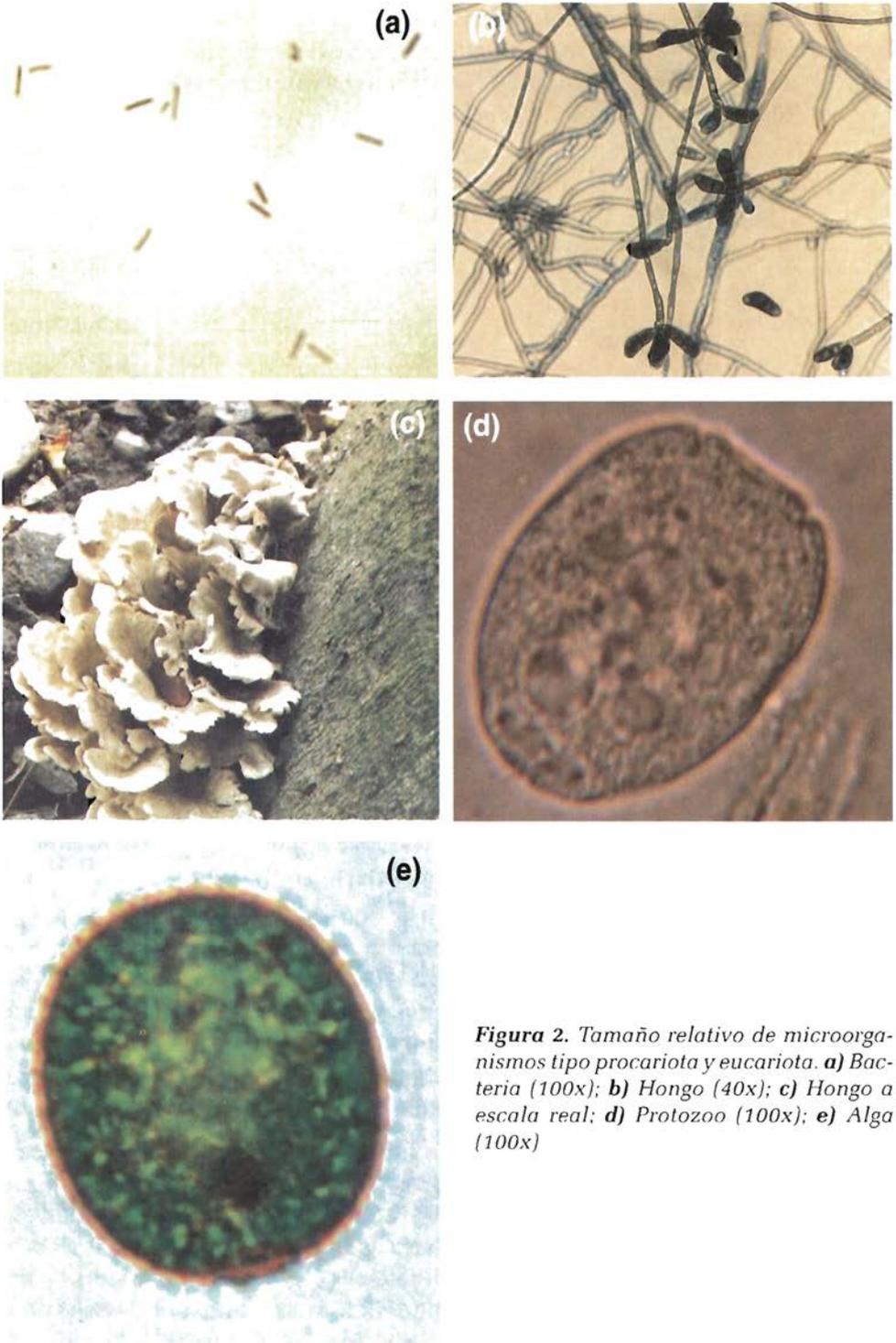


Figura 2. Tamaño relativo de microorganismos tipo procarionta y eucarionta. **a)** Bacteria (100x); **b)** Hongo (40x); **c)** Hongo a escala real; **d)** Protozoo (100x); **e)** Alga (100x)

entidades, que pasan del plano microscópico al submicroscópico, las cuales no pueden considerarse como organismos vivos; sin embargo, son de gran importancia para la Microbiología y las Ciencias Biológicas en general. Dichas entidades son los virus, viroides, virusoides y priones.

CUADRO 1. ALGUNOS EJEMPLOS DE TAMAÑOS DE MICROORGANISMOS PROCARIOTAS, EUCARIOTAS Y DE ENTIDADES.

Organismo	Diámetro	Longitud
<i>Pasteurella tularensis</i>	0,2 μm	0,3-0,7 μm
Brucella	0,3 μm	0,3-1,0 μm
<i>Escherichia coli</i>	0,4-0,7 μm	1,0-3,0 μm
<i>Bacillus anthracis</i>	1,0-1,3 μm	3,0-10,0 μm
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,8-1,0 μm	
<i>Streptococcus pyogenes</i>	0,6-1,0 μm	
<i>Sarcina ventriculi</i>	3,5-4,0 μm	
Picornavirus	17-30 nm	
Arbovirus	20-100 nm	
Papovavirus	40-55 nm	
Adenovirus	65-85 nm	
T.M.V. (Tabacco Mosaic Virus)	15 nm	300 nm
B.S.M.V. (Barley Stripe Mosaic Virus)	20 nm	130 nm
P.V.X. (Potato Virus X)	10-13 nm	480 nm
C.T.V. (Citrus Tristeza Virus)	10-13 nm	2000 nm
Viroides	250-400 nucleótidos	
Hongos (en general)	0,5->100 μm	Pocas μm -m

Fuente: Agrios, 1989, Carpenter, 1969; Pelczar y Reid, 1966.

Forma de los microorganismos

La forma de un microorganismo, aunque el ambiente puede modificarla, influye en el comportamiento y estabilidad que presenta.

Las bacterias generalmente muestran formas características, así: esféricas u ovals (cocos), alargadas, en forma de bastón (bacilos), en forma de espiral o helicoidal (espirilos o espiroquetas), y algunas con lados y esquinas en ángulo recto. Por su parte, las cianobacterias pueden presentar formas esféricas, ovaladas, filamentosas, etc. A medida que se avanza en los estudios de microorganismos eucariotas, la diversidad de formas y tamaños se hace aún más compleja (Figura 3).

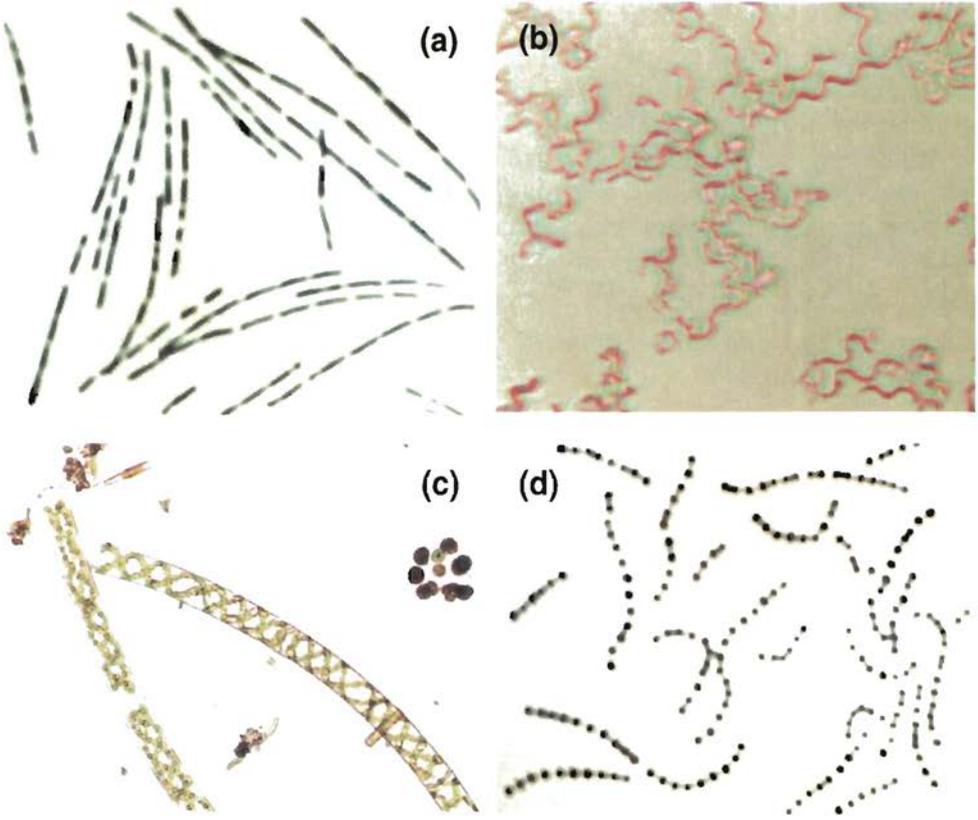


Figura 3. Algunas formas comunes en los microorganismos. a) Bastón-Estreptobacilo; b) Helicoidal-Espirilo; c) Filamentosa-Alga y d) Esférica (estreptococo)

Una determinada forma en un microorganismo le puede significar ventaja ecológica frente a otro. Así, las formas esféricas como las de los cocos, implican menor distorsión ante fenómenos de desecación y en consecuencia, usualmente soportan mejor la deshidratación que los bacilos o espirilos; éstos por su parte tienen mayor superficie expuesta por unidad de volumen que los cocos y por tanto pueden tomar más eficientemente los nutrientes del ambiente en el que se desarrollan.

Cuando las células microbianas se dividen, en algunos casos permanecen unidas unas con otras, formando arreglos característicos tanto del organismo como del tipo de división que han efectuado. Así, cuando los cocos se dividen en un solo plano vertical pueden separarse y conservar su individualidad, en cuyo caso se denominan micrococos; en otras ocasiones, aunque la división ocurre de manera similar, las células hijas tienden a permanecer unidas y presentarse en pares que se distinguen con el nombre

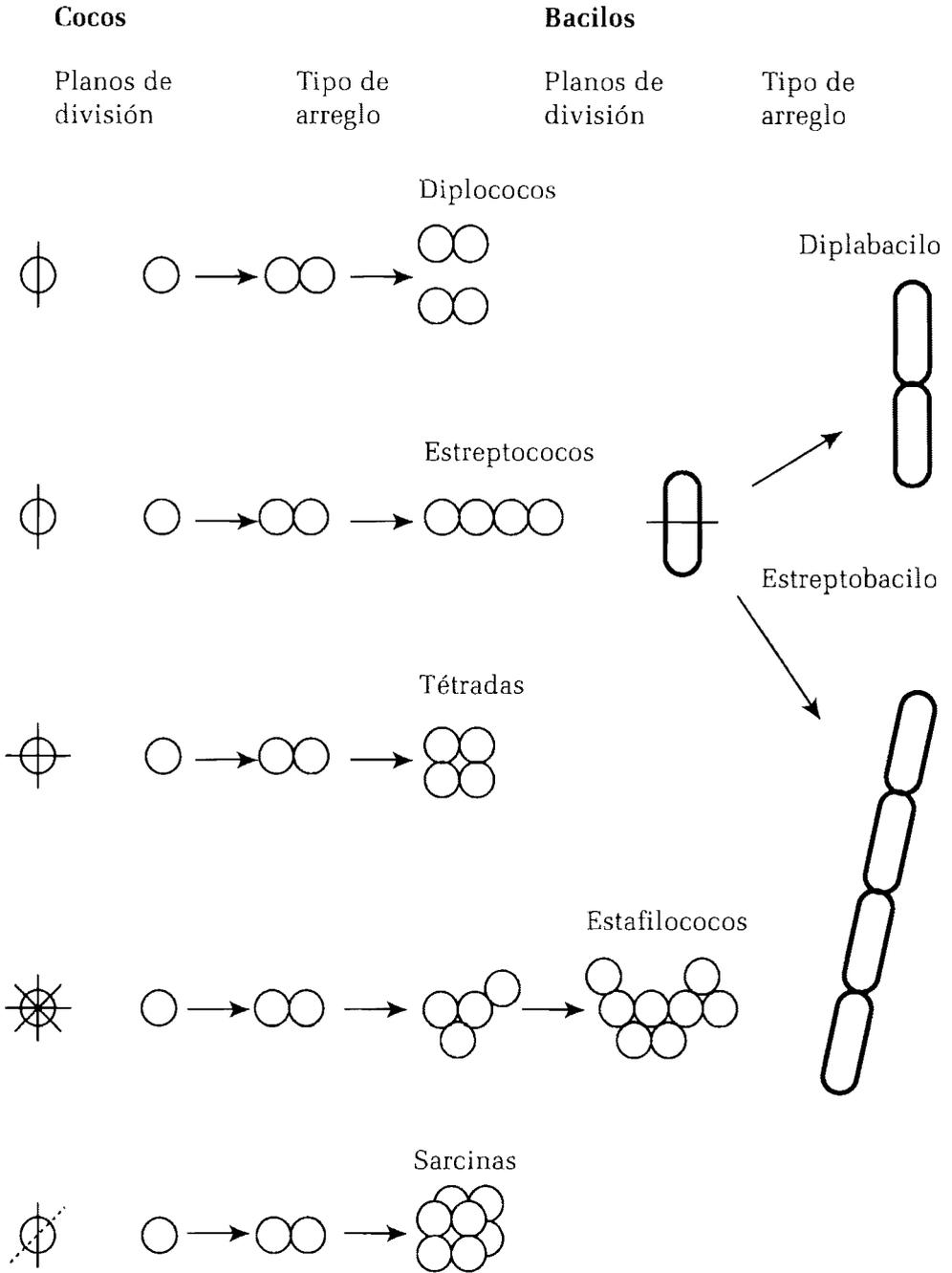


Figura 4. Arreglos y planos de división de cocos y bacilos (modificado de Brandao, 1992).

de diplococos, y en otras, forman cadenas que se designan estreptococos (Figura 4).

Cuando hay tendencia de las células hijas a permanecer unidas pero con división celular en dos o más planos, los cocos aparecen formando grupos irregulares, en muchas ocasiones de gran volumen, asemejándose a racimos de uvas y toman el nombre de estafilococos. En un número reducido de cocos, la división celular puede realizarse en dos o tres planos perpendiculares, formando grupos de cuatro, conocidos como tétradas, o en paquetes de ocho células, conocidas como sarcinas (Figura 4).

Los bacilos siempre se dividen en un solo plano; cuando forman cadenas de dos células se llaman diplobacilos, y cuando éstas son largas, estreptobacilos (Figura 4).

Arquitectura de las células

Los componentes celulares pueden dividirse en dos grupos: las estructuras invariables, esto es, que se encuentran en todas las células procariotas y probablemente son esenciales para la vida, y las variables, que se hallan en algunas pero no en todas las células y seguramente participan en funciones más especializadas.

Las estructuras invariables de la célula incluyen la membrana celular o membrana citoplasmática, los ribosomas y el núcleo o la región nuclear. Las estructuras variables de la célula son la pared celular, mitocondrias, flagelos, fimbrias o pelos, retículo endoplasmático, cápsulas, desmosoma, cuerpos de inclusión, endosporas, aparato de Golgi, plásmidos.

Estructuras invariables

Membrana celular

Una célula existe como unidad gracias a la presencia de la membrana celular, membrana plasmática o apoplasto, la cual exhibe propiedades como la elasticidad, la resistencia mecánica y eléctrica, la regeneración y la permeabilidad selectiva que regulan el movimiento de materiales hacia y desde la célula.

Esta membrana, cuyo grosor es de 7 a 9 nanómetros, se ha observado con el microscopio electrónico como una línea doble, muy fina y continua. Su composición química consiste en fosfolípidos y proteínas; los lípidos confieren alguna resistencia eléctrica y permeabilidad a este tipo de moléculas, mientras que las proteínas hacen que presenten baja tensión superficial y elasticidad. Las células bacterianas con frecuencia poseen un solo tipo de fosfolípido; por ejemplo, *E. coli* contiene 70% en peso de fosfatidil etanolamina. En la membrana citoplasmática de los eucariotas, además del anterior se encuentran fosfatidilcolina, fosfatidilinositol y fosfatidilserina.

Su organización molecular se ha explicado desde diferentes modelos; uno de los más aceptados es el del “mosaico fluido”, el cual sostiene que la membrana celular de los procarionotas consiste en dobles capas de moléculas de fosfolípidos, con sus cabezas hidrofílicas extendidas y sus colas hidrofóbicas agrupadas hacia el interior formando un “emparedado molecular”, que posee proteínas que sobresalen en una o ambas superficies. Las proteínas que permanecen en la superficie son denominadas periféricas y las que están inmersas o se extienden a través de la bicapa se conocen como proteínas globulares o integrales (Figura 5).

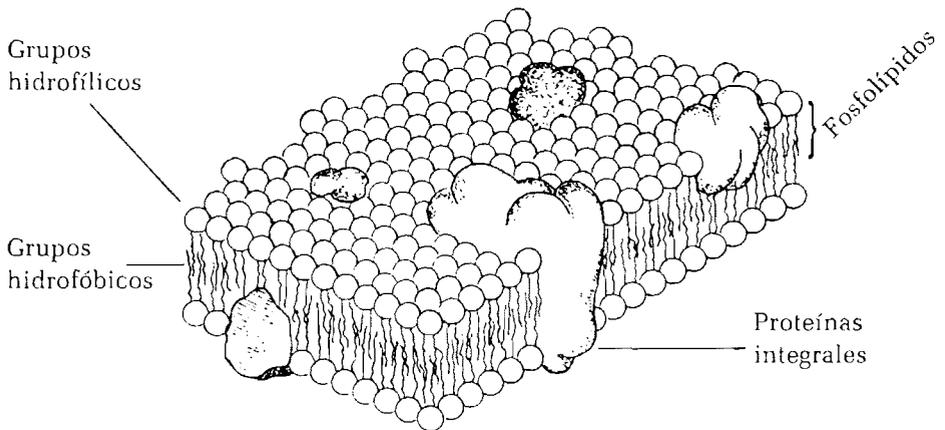


Figura 5. Esquema que ilustra la conformación de la membrana celular, según modelo del mosaico fluido de Singer y Nicholson (Adaptado de Curtis, 1985 y Garrahan y Rega, 1977).

Algunas de estas proteínas actúan como portadoras, acarreando moléculas a través de la membrana y otras son enzimas. Estas adoptan una orientación definida dentro de la doble capa y las porciones que sobresalen a cada lado tienen distintas composiciones de aminoácidos y diferentes estructuras terciarias.

Las dos caras de la membrana difieren en su composición química. La faz citoplasmática se caracteriza por presentar moléculas proteicas periféricas, unidas a las proteínas integrales, incluidas en la doble capa; mientras que la faz exterior se distingue por presentar cortas cadenas de carbohidratos, unidas a las proteínas integrales formando glicoproteínas, y a algunas de las moléculas de lípidos (glicolípidos). Estos, glicoproteínas y glicolípidos, son puntos de anclaje para otras células, bacterias infecciosas, virus, hormonas, toxinas, anticuerpos y muchas otras moléculas que intervienen en procesos de reconocimiento y la adhesión entre las células (Figura 6). El recipiente co-

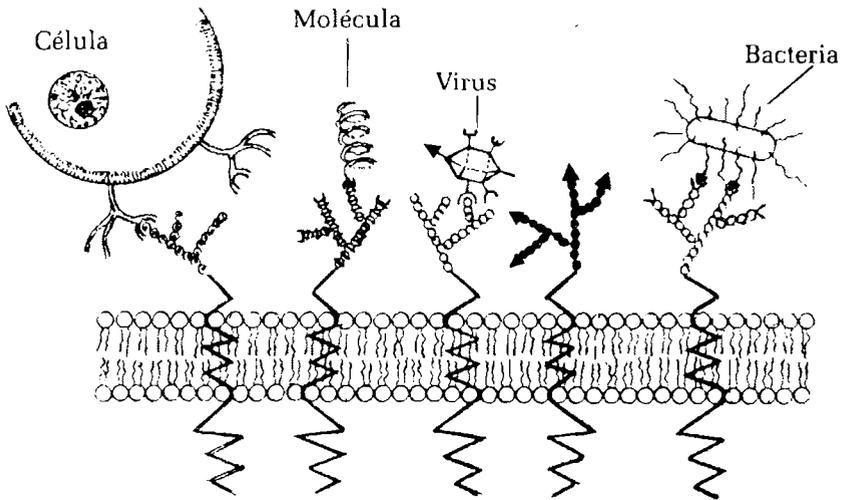


Figura 6. Carbohidratos de la superficie celular que se unen químicamente a proteínas y lípidos, formando glicoproteínas y glicolípidos, básicos en fenómenos de reconocimiento y adhesión entre células (Sharon y Lis, 1993).

El reconocimiento de estos compuestos ha permitido avanzar en el entendimiento de la relación patógeno-hospedero y en la generación de nuevos fármacos para el control de patógenos.

Esta conformación de la membrana celular se encuentra también en las células eucariotas, con la diferencia de que en estas últimas se hacen presentes moléculas de esteroides (colesterol y ergosterol) que intervienen en la estabilidad de la membrana y no se encuentran en procariotas, salvo algunas excepciones, como es el caso de algunas bacterias –procariotas anaerobios como las bacterias fototróficas– que poseen moléculas similares a los esteroides, llamadas hopanoides.

La composición lipídica de las membranas constituye una de las principales características que distinguen bacteria de archaea. En esta última, los enlaces éter son responsables de la unión entre el glicerol y las cadenas laterales hidrofóbicas, mientras que en bacteria y eucarya, son enlaces éster. Fuera de ello, carecen de ácidos grasos y en su lugar poseen cadenas laterales compuestas por unidades repetidas de isopreno.

Algunos fungicidas tienen la propiedad de alterar la biosíntesis del ergosterol, principal esteroide en los hongos superiores (Ascomycetos, Basidiomycetos y Deuteromycetos). En esta forma se desestabiliza la estructura de la membrana citoplasmática y se altera su permeabilidad y demás funciones, conllevando a la muerte de la célula y del organismo.

Todas las membranas que se encuentran en una célula, incluso las que rodean diversas organelas, poseen esta estructura básica. Sin embargo, varían en las cantidades y tipos de lípidos, proteínas y carbohidratos. Esto les confiere características específicas, de acuerdo con la función que están llamadas a cumplir.

La membrana citoplasmática en los procariotas tiene gran importancia funcional, pues además de regular el paso de sustancias en la célula es el sitio donde se localizan varias enzimas, como por ejemplo citocromos, enzimas que participan en la síntesis de moléculas complejas, tales como componentes de pared celular, y enzimas que intervienen en el transporte de electrones y en la fosforilación oxidativa. También a partir de allí se forman intrusiones membranosas (mesosomas) que intervienen en procesos metabólicos y de reproducción, tales como la formación de tabiques durante la fisión bacteriana.

Permeabilidad celular y transporte

Para que una sustancia entre o salga de una célula debe atravesar la membrana citoplasmática. Su composición de doble capa, aparentemente, permite el fácil acceso de moléculas hidrofóbicas y excluye gran cantidad de iones y moléculas hidrofílicas esenciales para la vida de la célula. El CO_2 y el O_2 que no son polares, se disuelven en los lípidos y difunden con facilidad a través de la membrana, mientras que la mayoría de las moléculas de importancia biológica poseen grupos funcionales polares, en consecuencia son hidrofílicos, de manera que no difunden con libertad a través de la doble capa lipídica, por lo cual la célula debe acudir a diferentes estrategias de transporte.

Tanto en células procarióticas como en las eucarióticas, el flujo molecular hacia el interior o afuera de la célula ocurre mediante difusión, transporte pasivo, transporte activo y por translocación de grupos y citosis.

La difusión y la ósmosis permiten que las moléculas de una sustancia se muevan desde regiones de mayor hacia las de menor concentración. En esta forma, cuando existe diferencia de concentración de un soluto en cualquier lado de la membrana, el agua se mueve para tratar de equilibrar tal concentración en ambos lados o hasta que la fuerza de la presión impida mayor flujo de agua.

La ósmosis, en las células microbianas como en cualquier otra célula, puede ser desfavorable porque si la célula se encuentra en un medio en donde la concentración de solutos sea menor afuera de ella, el agua tenderá a penetrar en la célula produciendo la expansión de su membrana, fenómeno denominado turgencia. Esto es especialmente peligroso para las células microbianas que no poseen pared celular (protozoarios, zoosporas, amebas, etc), en las cuales la excesiva turgencia puede hacer que la célula estalle. En sentido contrario, si la célula se encuentra en un medio cuya concentración de

solutos es mayor afuera de ella, el agua tenderá a salir de la célula causando la contracción del protoplasma o plasmólisis. Si esa condición no se modifica la célula puede morir.

En el transporte pasivo, las sustancias atraviesan la membrana sin intervención enzimática y gasto energético, aprovechando la diferencia de gradientes entre la parte externa e interna. Este transporte por difusión es facilitado por mecanismos como la existencia de pequeños poros permanentes en la membrana, originados por la estructura terciaria de algunas proteínas integrales o por el movimiento de las moléculas lipídicas que la constituyen. A través de ellos pueden difundir el agua (la molécula polar más pequeña de importancia biológica) y otras moléculas polares; su paso o no, es inversamente proporcional a su tamaño. La membrana en este caso actúa como un tamiz. Además, la rapidez de la difusión está determinada por el gradiente de concentración: a mayor gradiente más rápido el movimiento.

Otro mecanismo lo representan las proteínas integrales, que actúan como acarreadoras, transportando en ambas direcciones moléculas que no pueden atravesar la membrana por difusión, dado su tamaño o polaridad. Estas proteínas son muy selectivas, pueden aceptar una molécula y excluir otra casi idéntica. Se las ha denominado permeasas, y a diferencia de las enzimas no producen necesariamente cambios químicos en las moléculas con las cuales interactúan. Algunas proteínas portadoras sólo acarrean sustancias a través de la membrana, si el gradiente de concentración es favorable. Este transporte se conoce como difusión facilitada y permite el movimiento de moléculas de zonas con mayor concentración a otras donde están menos concentradas.

Otros portadores vencen el gradiente de concentración, proceso que requiere gasto de energía por parte de la célula y se conoce como transporte activo. En este proceso las sustancias no sufren cambios al pasar a través de la membrana. Uno de los sistemas más importantes de este tipo de transporte es el de la bomba Na^+/K^+ que mantiene los iones de Na^+ en baja y los de K^+ en alta concentración en el citoplasma, junto con un potencial eléctrico negativo neto en el interior de la célula.

Los microorganismos poseen sistemas de transporte que involucran enzimas que son excretadas para degradar sustancias complejas a unidades más sencillas (metabolismo exocelular), las cuales pueden ser movilizadas a través de la membrana para la síntesis celular.

También puede ocurrir movimiento controlado desde y hacia la célula mediante *exocitosis* o *endocitosis*, en las cuales las sustancias se transportan en vacuolas constituidas por fragmentos de la membrana celular. La endocitosis de sólidos se denomina *fagocitosis*, y la de moléculas disueltas, *pinocitosis*; mientras que la eliminación de gotas líquidas o pequeñas partículas sólidas a través de la membrana se llama *clasmocitosis*. En las bacterias el

citoplasma es inmóvil, por tanto no se observan corrientes citoplásmicas ni movimiento mediante pseudópodos, tampoco endocitosis ni exocitosis.

Ribosomas

Pequeñas partículas oscuras dentro del citoplasma, que forman parte del mecanismo sintetizador de proteínas de la célula. Su composición es aproximadamente 60% de ácido ribonucleico (ARN) y 40% de proteína. Una célula procariota normal puede tener 10.000 o más ribosomas dispersos en el citoplasma; las células eucarióticas poseen una cantidad mucho mayor y están unidas a un retículo endoplasmático.

Existen diferencias significativas entre los ribosomas de las células procariotas y las eucariotas. Los microorganismos procarióticos tienen ribosomas ligeramente más pequeños y livianos que los eucarióticos, característica que se expresa por su constante de sedimentación (70S) en comparación con la de los eucarióticos (80S). Las arqueobacterias tienen valores más altos de S.

El tamaño de los ribosomas 70S y 80S se mide por unidades Svedberg (S), que corresponde a la velocidad a la cual sedimentan cuando son sometidos a centrifugación de alta velocidad o ultracentrifugación.

Región nuclear

El núcleo es la estructura que contiene el ADN de las células eucarióticas. Visto al microscopio óptico, sin recurrir a tinción, apenas puede percibirse y se observa como un cuerpo oval o esférico, pálido, suspendido en el citoplasma, en el cual ocupa aproximadamente el 10% del volumen total de la célula. Fue observado por primera vez por Robert Brown en 1831.

El núcleo en reposo está rodeado por una envoltura delicada, pero nítida y bien definida, la «membrana nuclear», la cual está formada de dos capas concéntricas perforadas a intervalos; esto permite que moléculas seleccionadas sean transportadas activamente hacia y desde el citoplasma.

El núcleo tiene un líquido viscoso que no se tiñe, el jugo nuclear, y uno o más cuerpos esféricos refringentes, los nucléolos. Cuando se encuentra en reposo, el núcleo presenta dos redes de filamentos intermedios: una de tales redes (la lámina nuclear) sostiene la capa interna de la membrana nuclear, en tanto que la otra red rodea la capa más externa de la misma.

La lámina nuclear puede constituir lo que algunos autores llaman material cromático, el cual se tiñe fuertemente mediante colorantes comunes debido a la tendencia de algunos de estos a reaccionar con los ácidos nucleicos; estos, a menudo, se encuentran combinados con proteínas de naturaleza especial, denominadas nucleoproteínas.

El material cromático en el núcleo en reposo contiene uno de los principales ácidos nucleicos: el ADN (ácido desoxirribonucleico). El otro ácido nucleico, ARN (ácido ribonucleico), se encuentra tanto en el núcleo en repo-

so como en el citoplasma. Se ha demostrado también la presencia de ADN, en pequeñas cantidades, en organelas citoplásmicas como las mitocondrias, los cloroplastos y los centriolos.

El núcleo se considera de suma importancia en la determinación de la estructura y funcionamiento de la célula. Si el núcleo se extirpa, mediante microcirugía, la célula degenera rápidamente hasta que muere. Los ácidos nucleicos, contenidos en gran parte en el núcleo, ejercen el control de las actividades celulares, lo mismo que la transmisión de características celulares de una generación a otra.

Cada molécula de ADN está empaquetada en un cromosoma separado; la información genética almacenada en los cromosomas de un organismo se dice que constituye el genoma.

Se sabe que las bacterias y las cianobacterias no presentan núcleo propiamente dicho, sino la llamada región nuclear, nucleoidal o nucleoide, la cual cumple las funciones del núcleo, aunque el ADN no se encuentra contenido dentro de una membrana limitante. Las células de algunas algas, hongos y de ciertos animales inferiores poseen más de un núcleo.

La industria química ha producido ciertos fungicidas cuyo modo de acción afecta la síntesis de ARN con efecto secundario sobre la síntesis de otras macromoléculas. Otros fungicidas alteran la síntesis de ADN al impedir la incorporación de la base Timina, en esta forma se interfiere la división celular (mitosis) y por tanto la reproducción del organismo.

El nucleoide bacteriano o genóforo

La presencia de núcleo en las bacterias ha sido motivo de controversia. Algunos niegan la existencia de dicha estructura en ellas, otros la afirman en forma categórica, en tanto que hay quienes sostienen la presencia de un núcleo difuso. No hay duda de que existe cierto tipo de estructura que contiene ADN, de la cual depende la constitución genética de la célula, aunque ella no corresponde en estructura y forma de duplicación con el núcleo de los organismos eucarióticos.

El material genético en los procariotas se localiza en la región nucleoidal o nucleoide. Al microscopio electrónico el nucleoide aparece como un área irregular y menos densa que el citoplasma que la circunda. Dependiendo de la actividad de la célula, ésta puede presentar uno o más nucleoides, los cuales contienen una copia del mismo ADN en donde están localizados los genes característicos de la especie. La molécula desnuda del ADN de doble cadena no está íntimamente ligada a las proteínas de los procariotas y en los cortes de células aparece como una densa maraña fibrilar. En algunas archaea, el ADN cromosómico forma extensos complejos con proteínas, en forma parecida a lo que ocurre con el cromosoma eucariótico.

La molécula de ADN tiene aproximadamente 2 nm de ancho y miles de nanómetros de largo y su conformación probablemente es circular en todas o en la mayoría de las especies. El plegamiento estrecho del ADN en el nucleoide compacto se debe a la unión del ADN con proteínas y con ARN. No se conoce el papel del ARN en la estabilidad del nucleoide pero se sabe que algunas de las proteínas que unen el ADN presentan alto contenido de aminoácidos básicos y que en algunas la composición de estos es muy semejante a las proteínas de los cromosomas eucarióticos. Se desconoce la función estructural que tienen las proteínas en el plegamiento del ADN en el genoma bacteriano.

Estructuras variables

Pared celular

Es la estructura que rodea la membrana citoplasmática de casi todas las células procarióticas y de muchas eucarióticas. Se considera una estructura que protege a la célula contra los choques osmóticos. Aquellos organismos que no poseen pared celular presentan otros mecanismos para protegerse de la presión osmótica.

La pared celular no restringe el flujo de moléculas pequeñas hacia adentro o afuera de la membrana citoplasmática, aunque los polímeros muy grandes no son capaces de pasar a través de ella. Algunas enzimas secretadas por la célula pueden quedar atrapadas en el periplasma (espacio entre la pared celular y la membrana citoplasmática), el cual se considera una zona de gran actividad enzimática.

La pared celular bacteriana: En los procariotas la pared celular es normalmente rígida, lo cual le confiere la forma característica de cada tipo en particular. En casi todas las bacterias la pared celular contiene mureína, también conocida como mucopéptido o peptidoglucano, compuesto que no se encuentra en eucariotas.

La mureína o peptidoglucano consta de unidades repetidas alternativamente de aminoazúcares N- acetilglucosamina, y ácido N- acetilmurámico, los cuales forman la porción glucano de la molécula. Algunas de las unidades de ácido N-acetilmurámico están unidas con cadenas cortas de péptidos compuestos por cuatro aminoácidos. Algunos de estos, como el ácido diaminopimélico, se encuentran en las bacterias y en ningún otro sistema biológico. Todos los tetrapéptidos incluyen a-alanina, ácido D-glutámico, a-lisina o ácido diaminopimélico (D.A.P.) y D-alanina. La lisina se halla en las bacterias grampositivas y el ácido diaminopimélico en las gramnegativas.

Las cadenas de tetrapéptidos se enlazan mediante un puente peptídico entre el grupo carboxilo en una cadena de tetrapéptidos y el grupo amino de un aminoácido en la cadena de otro tetrapéptido (Figura 7). En estos enlaces

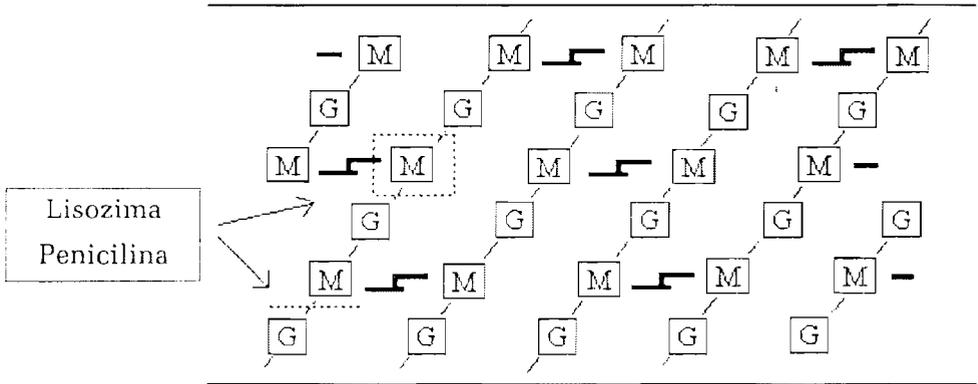


Figura 7. Esquema de la estructura de la mureína de la pared celular de las bacterias. G. representa el azúcar aminado acetil-glucosamina, y M. un compuesto similar denominado ácido murámico. Las líneas quebradas que unen a las cadenas paralelas de G y M están formadas por aminoácidos. El número de estos "puentes" entre cadenas paralelas varía con las especies, y también varía el tipo y el número de los aminoácidos de esos puentes. La línea punteada entre G y M indica el punto de ataque de la enzima lisozima y el antibiótico penicilina. La unidad encerrada en un rectángulo de líneas punteadas, representa aquella cuya incorporación en la fabricación de la pared celular es impedida por la penicilina (Palleroni, 1970. Madigan, Martincó y Parker, 1999).

crucados, los cuales se denominan puentes, sucede la mayor variación en los peptidoglucanos. Estos enlaces pueden presentarse entre tetrapéptidos en diferentes cadenas o en cadenas adyacentes, de manera que el peptidoglucano forma una hoja rígida de varias capas.

El éxito de un antibiótico para controlar infecciones bacterianas radica en su capacidad para romper las uniones cruzadas, lo cual induce la formación de paredes celulares defectuosas y por tanto la muerte de las células. La penicilina no tiene tal poder y no tiene efecto sobre las bacterias que no están en crecimiento, en cambio la enzima lisozima rompe la porción glucano en el enlace $\beta(1.4)$ entre el N-acetilglucosamina y el ácido N-acetil murámico, por tanto degrada la molécula de peptidoglucano ya formada.

La pared celular de las bacterias grampositivas presenta una capa de peptidoglucano que equivale al 90% de la pared celular, y se piensa que ella es la responsable de fijar la coloración primaria en el espacio periplásmico al aplicar la tinción de Gram, impidiendo que dicha coloración sea eliminada por el agente decolorante. Además del peptidoglucano, las bacterias grampositivas tienen en su pared celular también ácidos teicoicos los cuales son polisacáridos ácidos, contienen carbohidratos como la glucosa, fosfato y un alcohol que puede ser glicerol o ribitol. Al parecer el ácido teicoico puede ser responsable de la unión de sustancias en la superficie de la célula o del almacenamiento de fósforo.

Por el contrario, las bacterias gramnegativas presentan pared celular más compleja. La capa de peptidoglucano es muy delgada y puede representar sólo el 10% de la pared celular. No presentan ácidos teicoicos pero sí fosfolípidos, lipopolisacáridos y proteínas que conforman la capa externa de la pared. Al colocar bacterias gramnegativas en KOH al 3%, éstas forman un moco característico (Figura 8a).

Los fosfolípidos y los lipopolisacáridos de la capa externa se conocen como la envoltura celular y conforman una membrana adicional que regula el flujo de materiales hacia adentro o afuera de la célula, permitiendo la difusión de moléculas hidrofílicas e hidrofóbicas, en tanto que la membrana citoplasmática excluye casi todas las sustancias hidrofílicas, excepto el agua.

Sin embargo, la membrana externa es menos permeable a las sustancias hidrofóbicas o anfipáticas como los fosfolípidos que tienen terminaciones polares y no polares. De ahí que las bacterias gramnegativas sean menos sensibles a los antibióticos. Además, los lipopolisacáridos de la capa externa se conocen como *endotoxinas microcápsula* o antígenos somáticos los cuales producen síntomas de enfermedad como los que caracterizan a la diarrea del viajero. Las anteriores consideraciones hacen que las bacterias gramnegativas predominen sobre las grampositivas en las infecciones humanas.

No todas las bacterias poseen peptidoglucano en su pared celular, por ejemplo algunas Archaea metanogénicas contienen paredes celulares conformadas por un polisacárido parecido al peptidoglucano, llamado pseudo-peptidoglucano, en el cual el ácido N-acetilalosaminurónico reemplaza al N-acetilmurámico del peptidoglucano. Tampoco poseen esta molécula *Sulfolobus* y *Halobacterium*. El género bacteriano *Mycoplasma* no presenta pared celular y además incorpora esteroides en la membrana citoplasmática a partir de una célula eucariótica hospedante. Por carecer de pared celular los Mycoplasmas no son inhibidos por la penicilina.

Pared celular de los organismos eucarióticos

Esta estructura está presente en muchos de estos organismos a los cuales también protege del choque osmótico. Muchas algas tienen pared celular compuesta por celulosa, además de otros polisacáridos como las pectinas, xilanas, manás y ácido alginico que se encuentran como componentes importantes de algunas algas.

Otras poseen paredes celulares ricas en calcio o silicio, formando una especie de concha o frústulo, como en las diatomeas. Las algas del coral contienen carbonato de calcio en sus paredes celulares, con lo cual forman la base de los arrecifes de coral. El género *Euglena* está constituido por algas que no presentan pared celular verdadera.

En los hongos la pared celular está conformada por microfibrillas de celulosa o quitina o una combinación de las dos. Las llamadas lamas (hongos) no presentan pared celular en buena parte de su ciclo biológico y son, por tanto, pleomórficas. Para la síntesis de la pared celular en los hongos es necesaria la formación de glicolípidos a partir de las membranas, lo mismo que la fijación de C-glucosamina a la quitina en la pared celular. Algunos hongos ejercen su modo de acción afectando la biosíntesis de los componentes de la pared celular.

Los protozoarios no tienen pared celular verdadera y muchos presentan mecanismos especiales de osmorregulación. Algunos de ellos forman una pared externa o concha, compuesta de carbonato de calcio en los foraminíferos y de bióxido de silicio o sulfato de estroncio en los radiolarios.

Mitocondrias

Uno de los rasgos importantes de las células eucarióticas es su carácter membranoso, lo cual se demuestra mediante micrografía electrónica. Las mitocondrias aparecen como cuerpos independientes rodeados por membranas dobles. En esos cuerpos ocurre de manera importante la actividad respiratoria. Están constituidas principalmente de lipoproteínas con pequeña cantidad de ARN. Contienen enzimas respiratorias, y por ello se denominan «centrales generadoras» de la célula. Se supone que ellas contienen el «factor extranuclear citoplasmático» que estimula el mecanismo hereditario encargado de mantener ciertos caracteres, tales como las actividades bioquímicas, que no están controladas, hasta donde se sabe, por mutación de genes. Ensayos realizados acerca de la síntesis de enzimas respiratorias y otras actividades biológicas de las levaduras, suponen la presencia de un factor que se origina y se duplica en forma autónoma en el citoplasma y el cual está relacionado con las mitocondrias. Las mutaciones inducidas por cambios en las mitocondrias son unidireccionales, irreversibles y diferentes en otros aspectos de los cambios resultantes de la mutación de genes.

Flagelos

Muchas bacterias son móviles y esta capacidad para desplazarse independientemente, en general, es debida a la presencia de un organelo especial para la motilidad, el flagelo. En las bacterias son apéndices largos y delgados, libres por uno de sus extremos y unidos a la célula por el otro.

Los flagelos se disponen de manera diferente en las bacterias, sirviendo como criterio para la clasificación de algunos géneros. Por ejemplo, los géneros *Pseudomonas* y *Xanthomonas* tienen flagelación polar y los géneros *Erwinia*, *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Curtobacterium*, *Clostridium*, *Alcaligenes*, *Acetobacter* y *Enterobacter*, flagelación peritrica.

En la flagelación polar, los flagelos (uno o varios) están unidos a uno (flagelación lofítrica) o ambos extremos (flagelación anfítrica) de la célula. Los flagelos localizados alrededor de la célula, reciben el nombre de flagelación perítrica (Figura 8b).

Los flagelos bacterianos están compuestos de subunidades de una proteína denominada flagelina, salen a través de la pared celular y se originan en una estructura granular en el citoplasma, inmediatamente por debajo de la membrana celular.

La longitud del flagelo suele ser varias veces la de la bacteria que lo posee, pero su diámetro es una pequeña porción del diámetro de la célula.

Cilios

Son estructuras citoplasmáticas cuya formación y actividad, al igual que en los flagelos, están controladas por el centrosoma. Se proyectan a partir de la superficie externa de la membrana celular en cierto tipo de células y son estructuras relativamente cortas y muy numerosas. Organismos unicelulares como el *Paramecium* poseen gran número de cilios que se mueven rítmica y coordinadamente, pueden contarse por cientos y son los responsables de la gran movilidad de estas formas unicelulares.

Fimbrias, pili o pelos

Muchas bacterias gramnegativas tienen apéndices filamentosos que son más pequeños, más cortos y más numerosos que los flagelos y no forman ondulaciones como lo hacen estos.

Están compuestos por subunidades de una proteína denominada pilina y emanan de la superficie de la célula; parece ser que están involucradas en funciones de unión o adherencia con células vegetales animales y materiales inertes. Estas estructuras no tienen función de motilidad y se encuentran en especies móviles y no móviles.

Al parecer hay varios tipos diferentes de pili que se pueden asociar con la superficie de las bacterias; el pilus F o sexual está involucrado en el apareamiento y se le encuentra sólo en las células donadoras; al parecer el contacto del pilus F de la célula donante con la pared celular de la célula receptora establece el apareamiento e inicia la transferencia del ADN. A los pili, además, se les ha involucrado en la habilidad de las bacterias para reconocer los sitios receptores específicos en las membranas de la célula hospedante; al parecer permiten a las bacterias fijarse y colonizar las células hospederas y algunas veces son la puerta de entrada del patógeno al susceptible.

Retículo endoplasmático

Además de los cloroplastos y mitocondrias, que están involucrados en la conversión de energía, las células eucarióticas contienen una extensa red

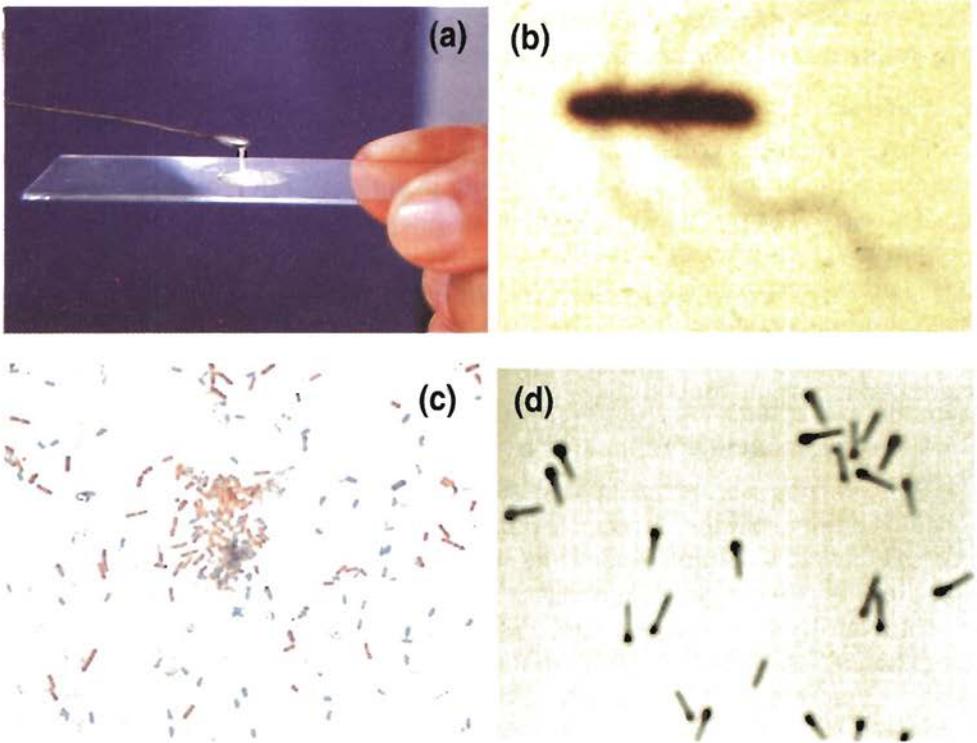


Figura 8. a) Formación de moco por bacteria gramnegativa, b) Flagelación peritrica en la bacteria *Erwinia*, c) Endospora subterminal y d) Endospora bacteriana en *Clostridium*.

membranosa que se conoce como retículo endoplasmático; el cual varía mucho entre las diferentes células, pero siempre forma un sistema de sacos llenos de líquido, contenidos dentro de una red de membranas.

Esta red membranosa al parecer realiza distintas funciones dentro de la célula eucariota. Existe evidencia de que el retículo endoplasmático se une con la membrana nuclear externa, comunicación a través de la cual se coordinan las funciones metabólicas de la célula. El retículo endoplasmático es de dos tipos: un retículo endoplasmático de apariencia rugosa porque tiene ribosomas adheridas y uno liso, el cual no se encuentra asociado a ribosomas. Los ribosomas de las células procarióticas no están fijados a estructuras membranosas análogas.

La fijación de los ribosomas al retículo endoplasmático permite la coordinación de la actividad y los canales del R. E. proporcionan un sistema a través del cual pueden ser transportadas las proteínas sintetizadas fuera de la célula o para ser incorporadas en las membranas. Muchas de las enzimas están asociadas tanto al retículo endoplasmático rugoso como al liso, y esta

red de membranas proporciona gran importancia a las actividades enzimáticas, incluyendo la síntesis de lípidos para las membranas.

Cápsula

Son estructuras gruesas, viscosas y gelatinosas que rodean las células de algunas especies bacterianas. Se consideran acúmulos de polímeros de polisacáridos o polipéptidos. Las cápsulas se colorean débilmente y generalmente se demuestra su presencia mediante un método de coloración por contraste o "negativo" en el cual se colorean el fondo y las demás estructuras celulares quedando las cápsulas incoloras. Cumplen función de protección contra la desecación y agentes nocivos: las bacterias encapsuladas patógenas no son fagocitadas por los leucocitos.

Cuerpos de inclusión

Son cuerpos inertes que aparecen en el citoplasma de células bacterianas en cultivos envejecidos. Parecen ser materiales alimenticios de reserva, puesto que se acumulan durante épocas de suficiente aporte nutricional y disminuyen durante la inanición. En muchas especies de bacterias y en hongos, algas y protozoarios aparecen gránulos de volutina denominados gránulos metacromáticos; se colorean intensamente con colorantes básicos y están integrados por ácido fosfórico polimerizado, conocido como polifosfato. En varias bacterias, especialmente grampositivas, aparecen glóbulos de lípidos. En otras especies se encuentran también azufre y hierro.

Esporas

Otra característica que se emplea con frecuencia para diferenciar especies microbianas es la producción de esporas, características importantes en la clasificación taxonómica de microorganismos eucarióticos y para algunos géneros de bacterias.

Endospora bacteriana

Es una estructura compuesta por siete capas que contienen mureína y dipicolinato de calcio. Estructura resistente y refractaria a la desecación que mantiene su viabilidad durante largos períodos, en condiciones que no permiten el crecimiento del organismo, pero que sobreviven aun expuestas a altas temperaturas durante largos períodos.

Pocos géneros de bacterias son capaces de formar endosporas, las principales formadoras de ellas son miembros de los géneros *Bacillus* y *Clostridium*, lo mismo que otros bacilos y cocos gramnegativos como *Amphibacillus*, *Desulfotomaculum*, *Oscillospira*, *Sporohalobacter*, *Sporolactobacillus*, *Sporosarcina*, *Sulfidobacillus* y *Syntrophospora*. Las endosporas se dan cuando las condiciones de vida se tornan desfavorables para el desarrollo continuo de las bacterias; una vez se forman pueden mantener viabilidad durante

milenios. Las endosporas se reconocen fácilmente al microscopio por su característica localización intracelular, su gran refringencia y su resistencia a teñirse con colorantes de anilina básica (Figuras 8c y 8d).

Aparato de Golgi

Estructura distintiva del citoplasma de las células eucarióticas; nunca se encuentra en las células procarióticas. Es un complejo membranoso, en forma de disco, cuyas numerosas membranas se hallan próximas entre sí y a las del retículo endoplasmático. Sirve de estructura empaquetadora, ya que dentro de sus vacuolas van encerradas y transportadas varias clases de productos celulares.

El aparato de Golgi está formado normalmente por cuatro a ocho cuerpos de Golgi, que son sacos membranosos aplanados, agrupados. Este aparato algunas veces es llamado complejo de Golgi y el conglomerado individual de membranas se denomina dictiosoma. Las proteínas formadas en los ribosomas del retículo endoplasmático rugoso son transferidas al aparato de Golgi mediante un proceso de gemación denominado burbujeo. Los cuerpos de Golgi son los sitios en donde se efectúan las distintas actividades de síntesis a través de los cuales los polisacáridos y lípidos pueden ser adicionados a las proteínas para formar lipoproteínas, glucoproteínas y varios derivados de polisacáridos; estos compuestos bioquímicos son esenciales para la síntesis de varios constituyentes celulares. Los sacos membranosos del retículo endoplasmático transportan proteínas y lípidos del aparato de Golgi, en donde ocurre su empaquetamiento dentro de vesículas secretoras. Las vesículas secretoras, que son formadas por el aparato de Golgi, se movilizan a la membrana citoplasmática en donde descargan su contenido mediante exocitosis. Tal proceso es importante para la construcción de estructuras celulares que se encuentran por fuera de la membrana citoplasmática, como la pared celular.

Plásmidos

Además del nucleóide, las bacterias pueden contener una o más moléculas circulares de ADN denominadas plásmidos, las cuales no están presentes en todas las bacterias. Esas moléculas contienen cantidad limitada de información genética específica y complementaria a la información contenida en el nucleóide. Dicha información puede establecer la capacidad de apareamiento, la resistencia a los antibióticos y la tolerancia a los metales tóxicos, garantizando su supervivencia en condiciones desfavorables.

Estas estructuras son útiles en ingeniería genética como transportadoras de información ya que por su tamaño resulta fácil manipularlas; se pueden aislar, introducir en ellas información genética e implantarlas en otras células bacterianas viables en las cuales se expresa la información que portan.

ALGUNAS DIFERENCIAS IMPORTANTES ENTRE PROCARIOTAS Y EUCARIOTAS

Características	Procariotas	Eucariotas
Tamaño de la célula	La mayoría pequeños (1-10µm)	La mayoría grandes (10-100µm)
Sistema genético	DNA no asociado a proteínas en los cromosomas	El DNA complejado con proteínas en los cromosomas
	Nucleoide no rodeado por membrana	Núcleo con membrana
	Un grupo de unión	Dos o más grupos de unión
	Poco o ningún DNA repetitivo	DNA repetitivo
Membranas internas (organelos)	Transitorias, si se presentan	Numerosos tipos: mitocondrias, cloroplastos, lisosomas, Golgi, etc.
Formación de tejidos	Ausente	Presente en muchos grupos
División celular	Fisión binaria, gemación, otros medios; no hay mitosis	Varias formas, asociadas a la mitosis
Sistema sexual	Transferencia unidireccional de genes de donador a receptor	Fusión nuclear completa de genomas gaméticas iguales; asociada a la meiosis
Organelos de motilidad	Flagelos simples en las bacterias si se presentan	Cilios o flagelos complejos, si se presentan
Nutrición	Principalmente absorción, algunos son fotosintetizadores	Absorción, ingestión, fotosíntesis
Esteroles en la membrana	Ausentes	Presente
Ribosomas	70S	80S
Subunidades ribosomales	50S + 30S	60S + 40S
Pared celular	Contiene mureína	Varios tipos, ninguno con mureína

CAPITULO III

Metabolismo microbiano

*Acerca de cómo los microorganismos obtienen su energía**

Permanentemente estamos en contacto con manifestaciones de la actividad microbiana al consumir pan, yogur, kumis, queso, bebidas fermentadas en general (vino, cerveza, sake, chicha, whisky, vodka, etc.); presenciar la descomposición de residuos orgánicos que se adornan con paraguas de diversos colores y sentir que se genera calor; ir por la carretera y percibir un olor desagradable a huevo descompuesto que se desprende de suelos anegados adyacentes; cuando enfermamos o enferma un animal o un cultivo; al ser tratados con antibióticos o cuando se acude a la inmunización a través de vacunas; al observar que el pan, los alimentos, telas, maderas, etc. se enmohecen y descomponen más rápidamente si hay humedad en el ambiente. En fin, cada uno de nosotros ha vivido cantidades de situaciones que le permitirían hablar de la acción de los microorganismos.

Sin embargo, pocas veces nos interrogamos acerca de por qué los microorganismos realizan tal o cual actividad. Normalmente, como testigos pasivos, simplemente calificamos y categorizamos a los microorganismos como buenos o malos, según nos beneficie o perjudique su actividad biológica.

Este capítulo pretende resumir algunos conceptos básicos para el tema del metabolismo microbiano, haciendo énfasis en el catabolismo y su significado a nivel del microorganismo en sí, para el ecosistema y para el hombre, en particular.

Conceptos básicos para abordar el metabolismo microbiano

La propiedad de crecimiento

La característica más importante de la materia viva es la propiedad de crecer. La célula crece partiendo de compuestos químicos simples tomados

* Con la coautoría de la profesora María Elena Pineda M.V.

del medio, y con ellos, modificados apropiadamente, construye sus macromoléculas características. La célula se divide y la división significa la duplicación ordenada de todos sus elementos celulares; sin esta duplicación ordenada las propiedades de los seres vivos variarían profundamente de una generación a otra. Brock et al (1987), por su parte, consideran que la característica fundamental de los sistemas vivos es «su capacidad para organizar moléculas y reacciones en secuencias sistemáticas cuidadosamente controladas. La expresión final de esta organización es la capacidad del organismo para replicarse a sí mismo».

Así, entendemos la actividad microbiana sobre diferentes materiales como la necesidad de los microorganismos de aprovechar sustratos que les sirvan de materia prima para ejercer la propiedad de crecer, proceso que requiere alto grado de organización en los organismos vivos, que implica consumo y transformación permanente de energía como fenómeno central del proceso de la vida.

Energía

La energía está presente en diferentes formas en los procesos biológicos; por ejemplo, **la energía térmica o calórica**, causada por el movimiento molecular. A pesar de ser producida por los organismos en sus procesos normales de transformación de energía, no puede usarse como fuente energética primaria por ellos mismos, es liberada en forma de calor y se considera energía de desecho. La **energía mecánica** originada durante el movimiento celular, por ejemplo movimiento de cilios, flagelos y corrientes citoplasmáticas, tampoco puede ser empleada como fuente primaria energética.

Igual sucede con la **energía atómica** contenida en la estructura de los átomos, la cual se libera como radiaciones atómicas y puede causar daños importantes en los organismos. La **energía eléctrica** se produce por el movimiento de electrones de un sitio a otro; todos los organismos vivos la producen como parte de sus funciones celulares.

Por su parte, la **energía electromagnética** se presenta en forma de radiaciones y en biología, la más importante es aquella que cae dentro de la luz visible o cerca de estos límites, como las radiaciones solares. La luz constituye la fuente primaria de energía para los organismos que realizan la fotosíntesis y puede ser empleada para distintas funciones por muchos organismos no fotosintéticos.

La **energía química** es aquella que puede liberarse a partir de compuestos orgánicos o inorgánicos mediante reacciones químicas y es la fuente primaria de energía para los organismos no fotosintetizantes.

Biológicamente son útiles a la célula microbiana estas tres formas de energía: **química, eléctrica y lumínica**. La premisa de la vida como proceso fun-

damentalmente químico, conduce a que la mayoría de las reacciones energéticas dentro de la célula requieran energía química; incluso el empleo de la luz como fuente energética primaria implica que debe ser convertida a energía química; igualmente, la energía eléctrica no puede emplearse directamente pero es muy importante como forma intermediaria en las conversiones energéticas y en el transporte de algunas sustancias a través de la membrana celular.

Se acepta entonces que el único tipo de energía utilizable por las células para el trabajo de modificar las sustancias tomadas del exterior y convertirlas en sus macromoléculas, es la **energía química** contenida en las uniones de los átomos que forman las moléculas. Las células microbianas **heterótrofas** obtienen dicha energía de los compuestos químicos procedentes del medio exterior, y en el caso de los **autótrofos**, de la radiación solar y la gastan en los trabajos celulares propios del acto de crecer y demás funciones celulares.

Recordemos que las formas de energía pueden transformarse unas en otras y la unidad más usada para expresarlas es la kilocaloría (kc) —cantidad de energía calórica necesaria para elevar la temperatura de un kilogramo de agua en 1°C—. También se expresa en julios o kilojulios (kJ). Una kilocaloría equivale a 4.184 kilojulios.

En las reacciones químicas ocurren cambios energéticos que se manifiestan en términos de ganancia o pérdida de energía. La cantidad de energía liberada durante una reacción química tiene tres componentes: H, G y S.

H corresponde a la cantidad total de energía liberada durante la reacción y se le denomina entalpía; parte de ella no está disponible para efectuar trabajo útil, se pierde como energía calórica y se la distingue como S o energía entrópica; G se utiliza para expresar la energía libre disponible para efectuar un trabajo. El cambio en la energía libre durante una reacción se expresa como ΔG° y es modificado por las concentraciones de los sustratos, los productos, el pH y la temperatura. Si ΔG° (obtenido en condiciones estándar: pH 7, 25 °C, todos los sustratos y sus productos en una cantidad inicial 1M), es negativo, entonces se libera energía libre, la reacción tiene lugar espontáneamente y se denomina reacción **exergónica**; por el contrario, si ΔG° es positivo, la reacción no podrá efectuarse espontáneamente, requiere energía y se llama **endergónica**.

Es esencial para la vida de los microorganismos que la energía desprendida de reacciones exergónicas sea utilizada para efectuar las reacciones endergónicas. Afortunadamente, los organismos han creado vías de acoplamiento de estos dos tipos de reacciones. El principio básico implicado es que haya un reactivo común. Los de mayor uso para las células son aquellos capaces de transferir ciertas cantidades de energía libre, llamados **compuestos de alta transferencia de energía**.

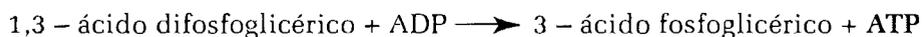
El Cuadro 1 incluye algunos de los compuestos de alta transferencia de energía encontrados en bacterias, de éstos el ATP es el más importante.

CUADRO 1: ALGUNOS COMPUESTOS DE TRANSFERENCIA DE ALTA ENERGÍA ENCONTRADOS EN BACTERIAS, CON SUS CAMBIOS DE ENERGÍA.

Compuesto	ΔG° Kcal
ADENOSINA TRIFOSFATO (ATP)	-7.3
GUANOSINA TRIFOSFATO (GTP)	-7.3
URIDINA TRIFOSFATO (UTP)	-7.3
CITIDINA TRIFOSFATO (CTP)	-7.3
ACETIL - FOSFATO	-10.1
ÁCIDO 1,3-DIFOSFOGLICÉRICO	-11.8
ÁCIDO FOSFOENOLPIRÚVICO (PEP)	-14.8

Fuente: Pelczar, 1993

Recordemos que en los sistemas biológicos el ATP es la **moneda energética de uso** de la célula en el intercambio entre las reacciones exergónicas y endergónicas que le van a permitir realizar sus funciones vitales. Los compuestos del Cuadro 1 que tienen valores DG más negativos que el correspondiente a la hidrólisis del ATP, pueden transferir su energía directa o indirectamente para la síntesis de esta molécula (ATP).



Reacciones de óxido-reducción

En la producción de energía intervienen varios tipos de reacciones químicas, siendo la más común la **óxido-reducción**, cuya base fundamental es la transferencia de electrones. Oxidación es la pérdida o liberación de electrones y reducción es la ganancia de éstos. Frecuentemente, las reacciones de oxidación son deshidrogenaciones (ya que acarrear la pérdida de átomos de H). Como un átomo de H consiste en un protón y un electrón, un compuesto que pierde un átomo de hidrógeno ha perdido esencialmente un electrón y por lo tanto ha sido oxidado.

Ni las oxidaciones ni las reducciones tienen lugar en forma aislada, siempre deben estar acopladas ya que los electrones no existen aislados en solución. En otras palabras, la inversa de cada reacción de oxidación es una reacción de reducción y viceversa. También, en cada reacción participan un par de sustancias: una es la forma reducida y la otra la forma oxidada.

Las sustancias varían en su tendencia a ceder electrones y oxidarse. Esta tendencia se expresa como potencial de reducción; este potencial se mide eléctricamente en relación con una sustancia estándar, constituida por el H₂.

La mayoría de las moléculas pueden ser tanto donadoras de electrones (reductoras) comoceptoras de electrones (oxidantes) en diferentes momentos, dependiendo de las otras sustancias con las cuales reaccionan.

En el catabolismo biológico, al donador de electrones frecuentemente se le denomina fuente de energía, sin embargo, es necesario tener claro que este término no significa que toda la energía está contenida en el donador de electrones y es liberada mediante una oxidación, ya que es el proceso redox acoplado el que libera energía. En otras palabras, la cantidad de energía liberada depende tanto del donador como del aceptor de electrones.

Enzimas

Todas las reacciones metabólicas de los microorganismos, implicadas en la generación y uso del ATP, del poder reductor y de los precursores macromoleculares, son enzimáticas. En otras palabras, todas las reacciones químicas de la célula microbiana son catalizadas por enzimas.

Las enzimas son proteínas solas o combinadas con otras moléculas, dotadas de capacidad catalítica, es decir, en pequeñas cantidades aceleran las reacciones químicas sin alterarse ellas mismas después de las reacciones y sin que necesariamente las inicien. Poseen las mismas propiedades de las proteínas, es decir, se desnaturalizan con el calor, precipitan con el etanol, a concentraciones elevadas de sales inorgánicas como el sulfato de amonio y no dializan a través de membranas semipermeables.

Muchas enzimas contienen moléculas pequeñas no proteicas que intervienen en la catálisis, en este caso la proteína se denomina **apoenzima**. Según como estén asociadas estas moléculas con la enzima se llaman **coenzimas** y **grupos prostéticos**. Cuando se unen las dos formas: apoenzima y coenzima o grupo prostético, integran la enzima que se denomina **holoenzima**.

Se conoce como **coenzimas** a aquellas moléculas orgánicas de bajo peso molecular unidas laxamente con las enzimas, las cuales pueden estar asociadas con un número de enzimas distintas, en momentos diferentes durante el crecimiento celular. La parte principal de algunas coenzimas es una vitamina, entre ellas varias del complejo B. Por ejemplo: el ácido fólico es parte de la coenzima ácido tetrahidrofólico, la holoenzima interviene en el intercambio de unidades de un carbón en la célula; la vitamina B₂ —riboflavina— hace parte de la coenzima flavina-adenina-dinucleótido, (FAD), cuya holoenzima interviene en la transferencia de hidrogeniones en reacciones de óxido-reducción; la piridoxina —Vitamina B₆— es parte integral del fosfato de piridoxal y está relacionada con la transaminación y decarboxilación de aminoácidos.

En otros casos, la porción no proteica de una enzima puede ser un metal el cual puede estar unido estrechamente a la proteína o en forma laxa que le

permite disociarse con facilidad, todo depende de la naturaleza de la enzima. Cuando la porción no proteica está unida a su enzima casi permanentemente, se conoce como **grupo prostético**. Tal es el caso del grupo hemo en los citocromos. Muchas enzimas requieren de la adición de iones metálicos, como por ejemplo: Mg^{+2} , Mn^{+2} , Fe^{+2} , Zn^{+2} , los cuales activan su función enzimática. A estos iones metálicos se les conoce como coenzimas inorgánicas o cofactores. Algunas veces tanto el cofactor como la enzima se requieren para que la enzima empiece a ser activa. Así, en la simbiosis rizobios-leguminosa, la fijación de nitrógeno molecular está mediada por la enzima nitrogenasa, de la cual hace parte el Fe.

Las enzimas son altamente específicas, es decir, cada una cataliza tan sólo una reacción o un grupo de reacciones íntimamente relacionadas. Los nombres de las enzimas hacen relación al sustrato sobre el que actúan o a las reacciones que catalizan, agregando la terminación *asa*. Por ejemplo, las proteasas catalizan la ruptura de proteínas, la celulasa cataliza la degradación de la celulosa; la glucosa-oxidasa cataliza la oxidación de la glucosa, etc.

La actividad enzimática puede ser influenciada por diferentes condiciones como la concentración de la enzima, la concentración del sustrato, el pH y la temperatura. Dado que las enzimas son las responsables de catalizar las reacciones asociadas con el proceso de la vida, las condiciones físicas y químicas que afecten su funcionamiento, naturalmente se manifiestan en su respuesta en términos del desarrollo de los microorganismos.

Una célula consta de gran número de enzimas diferentes, cuya síntesis depende de factores endocelulares muy importantes para la economía de la célula; en esta forma cuando la célula no requiere determinadas enzimas puede muchas veces dejar de producirlas (represión de la síntesis), y en otros casos, no produce normalmente ciertas enzimas sino cuando se requieren en el metabolismo (inducción enzimática).

Aunque todas las enzimas se producen inicialmente en las células, algunas son excretadas a través de la pared o membrana de éstas y funcionan en el medio externo. Según el sitio donde actúen, se denominan enzimas **intra-celulares** o **endoenzimas** (funcionan al interior de la célula), y enzimas **extracelulares** o **exoenzimas** (actúan fuera de las células); estas últimas propician los cambios en el sustrato para permitir que entre a la célula como alimento. Las endoenzimas catalizan reacciones de biosíntesis, al igual que reacciones catabólicas.

Las características generales de las enzimas son iguales, independientemente de que hayan sido producidas por microbios, animales, plantas o el hombre mismo. Incluso, células de organismos muy diferentes de hecho contienen varias enzimas idénticas o que tienen funciones similares.

Actualmente se conocen más de 1.000 enzimas diferentes, y más de 150 han sido cristalizadas. La primera enzima que se aisló en forma cristalina fue la ureasa, logro que hizo merecedor a J.B. Summer del Nobel en 1946.

Acarreadores de electrones

En la mayoría de las reacciones biológicas de óxido-reducción, la transferencia de electrones de un donador a un aceptor no ocurre directamente sino que es mediada por uno o varios intermediarios a los que se denomina **transportadores** o **acarreadores de electrones**. Cuando esto ocurre, al compuesto inicial (sustrato) se le llama donador primario o inicial, y el que recibe por último el flujo de electrones aceptor final o terminal de electrones.

Estos acarreadores de electrones son de dos tipos: unos que se pueden movilizar dentro de la célula asociándose con diferentes enzimas, y otros que se unen a la membrana celular en forma permanente. Como ejemplos de los primeros tenemos las coenzimas **NAD** (nicotin adenin dinucleótido) y **NADP** (NAD fosfato) que son los transportadores que difunden comúnmente: el NAD participa en las reacciones de producción de energía, y el NADP fundamentalmente en las reacciones de biosíntesis.

En el proceso de respiración, además del NAD intervienen otros acarreadores permanentes de electrones como los denominados **flavoproteínas**, de los cuales se conocen el **mononucleótido de flavina (FMN)** y el **dinucleótido de flavinadenina (FAD)** y **proteínas ferrosulfurosas**, semejantes a las ferredoxinas pero con potencial reductor mayor, que se asocian con la cadena de transporte de electrones en diversos sitios; **citocromos** que son proteínas que contienen un anillo de porfirina con hierro denominado hem. Fuera de los anteriores, se conoce un acarreador electrónico no proteínico, las **quinonas liposolubles**, denominadas en ocasiones **coenzima Q**.

Metabolismo microbiano

Como se dijo con anterioridad, para realizar las actividades químicas organizadas requeridas para crecer y duplicarse, los microorganismos deben tomar materiales del ambiente y transformarlos mediante una serie de reacciones que se conocen como **metabolismo**, las cuales comprenden dos partes: la extracción de energía y del poder reductor del medio que rodea al microbio y la utilización de la energía.

La primera parte denominada **catabolismo**, comprende aquellas transformaciones tendientes a obtener energía de los compuestos tomados del medio, la cual es transferida y almacenada temporalmente dentro de la molécula de ATP.

La segunda parte comprende el uso de esta energía en las reacciones bioquímicas endergónicas, requeridas para transformar las sustancias tomadas

del medio y adaptarlas a las necesidades constructivas del organismo; estas transformaciones dirigidas a la síntesis, se denominan **anabolismo**. El poder reductor generado durante el metabolismo (por acoplamiento de la reducción de las coenzimas con reacciones de oxidación), es necesario para la conversión de las formas oxidadas de carbono a sus estados reducidos, tal como se encuentran en las macromoléculas de los microorganismos.

Catabolismo y anabolismo constituyen una unidad dialéctica. Se requieren grandes cantidades de energía para poder desarrollar las extensas actividades de un microorganismo, llámese hongo, bacteria o protozooario, entre otros. La energía faculta para hacer un trabajo y por lo tanto se utiliza para sintetizar, por ejemplo, componentes de la membrana celular, de la pared, enzimas, ácidos nucleicos, polisacáridos; reparar daños de la célula o conservar su estabilidad; mantener sustancias al interior de la célula en contra de un gradiente de concentración, para mantener a otras fuera; en el desplazamiento del microorganismo, etc.

La separación que se hace entre anabolismo y catabolismo es más didáctica que natural. Parte de la maquinaria celular puede funcionar con fines catabólicos en determinadas condiciones y en otras, con fines anabólicos —como se verá más adelante— aunque la vía bioquímica en la biosíntesis de una molécula no es, por lo regular, idéntica a la que sigue para su catabolismo. Estos dos procesos están ligados íntimamente y el equilibrio de la vida se debe en buena parte a su coordinación precisa.

Todas las reacciones metabólicas de los microorganismos son catalizadas por enzimas, ya sea que estén implicadas en la generación y uso del ATP, del poder reductor y en la generación y utilización de los precursores macromoleculares. Un microorganismo requiere miles de enzimas para llevar a cabo sus reacciones metabólicas, las cuales suceden en una serie de pequeños pasos. Estos pasos sucesivos entre las moléculas del sustrato y el o los productos finales, constituyen el metabolismo intermediario de la célula.

Atlas (1990) compara el metabolismo intermediario con el movimiento para subir del primero al segundo piso de un edificio o viceversa. La mayoría de nosotros no dispondríamos de la energía necesaria para saltar tres metros y alcanzar el nivel deseado; entonces para subir o bajar eficientemente se recurre a las escaleras, mediante las cuales somos capaces de alterar los niveles de energía en pasos pequeños. En esta misma forma, un microorganismo no convierte un sustrato en producto en un paso grande, sino que ejecuta una serie de reacciones metabólicas más pequeñas. Esos pasos pequeños del metabolismo intermediario son necesarios porque a pesar de que la hidrólisis del ATP es exergónica, la cantidad de energía desprendida es limitada, entonces al liberarse en pasos sucesivos puede ser acoplada con reacciones

endergónicas que requieren menos de 7.3 Kcal/mol. Además de lo anterior, si las reacciones que llevara a cabo una célula fueran altamente exergónicas, se produciría gran cantidad de energía libre, capaz de disturbar la organización estructural y funcional del microbio.

Producción de energía en los sistemas biológicos: Reacciones catabólicas

Los microorganismos emplean una amplia gama de fuentes de energía y de mecanismos para sintetizar enlaces de fosfato de alta energía en ATP. Es de recordar una vez más, que tanto la energía química como la lumínica se emplean para esta síntesis de ATP. Entre las sustancias químicas lo mismo pueden servir compuestos orgánicos o inorgánicos como donadores de electrones; en igual forma, en las reacciones redox acopladas, se emplean diferentes aceptores de electrones que incluyen también tanto compuestos orgánicos como inorgánicos.

El conocimiento de la serie de reacciones que participan en la oxidación de un solo compuesto, permite establecer un corredor central que se denomina **vía bioquímica o ruta metabólica**.

La degradación de los compuestos orgánicos que contienen formas reducidas de carbono, es la fuente de energía en todos los animales, y en la mayoría de los microorganismos, incluyendo hongos, protozoarios y casi todas las bacterias. Sin embargo, existen microorganismos capaces de derivar su energía de compuestos inorgánicos.

Las principales rutas metabólicas mediante las cuales los microorganismos obtienen su energía son: fermentación, respiración, (o respiración aeróbica), respiración anaeróbica y fotosíntesis.

Fermentación: Los procesos redox ocurren en ausencia de un aceptor externo de electrones es decir que el sustrato orgánico actúa como donador interno de electrones y un producto de este sustrato actúa como aceptor interno. Esta vía metabólica ocurre en ausencia de aire ya que no se requiere oxígeno u otro aceptor externo de electrones para equilibrar un cambio en el estado de oxidación de la molécula orgánica.

Respiración: El oxígeno molecular (O_2) actúa como aceptor de electrones. Se precisa obligatoriamente del aceptor externo ya que mediante la reducción de este aceptor final, la célula es capaz de equilibrar el cambio en el estado de oxidación de los productos metabólicos en relación con el sustrato inicial. Se la denomina también respiración aeróbica.

Respiración anaeróbica: En este proceso participa un aceptor externo de electrones, diferente al O_2 , por ejemplo nitratos (NO_3^-), sulfatos ($SO_4^{=}$) o

carbonatos ($\text{CO}_3^{=}$). Como su nombre lo indica, en esta vía metabólica no se requiere la presencia de aire.

Fotosíntesis: Consiste en la absorción de la energía luminosa por la clorofila y otros pigmentos y su conversión en energía química (ATP) que se utiliza para la reducción del CO_2 de la atmósfera a carbohidratos.

De manera simplificada se presentan cada una de estas rutas metabólicas y su importancia para los microorganismos, el hombre y el ecosistema.

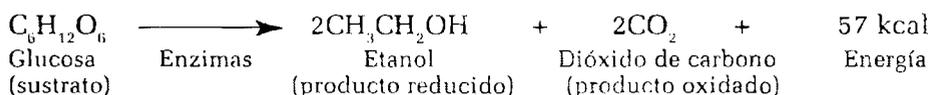
Fermentación

Como se estableció, la fermentación ocurre sin aceptor externo de electrones, es un proceso anaeróbico; el compuesto orgánico fermentable se oxida parcialmente y el microorganismo sólo obtiene una cantidad pequeña de energía, la restante queda en productos intermedios de oxidación y una parte se manifiesta en forma de calor.

Stanier et al (1977) señalan que de las clases de metabolismo productores de energía, la fermentación, desde el punto de vista de su mecanismo es la más simple. Pasteur afirmó: *La fermentation c'est la vie sans l'air*.

Mecanismos de la fermentación

A manera de ejemplo se analiza en forma global lo que sucede con respecto al sustrato, a la energía y a la célula microbiana, cuando ocurre la fermentación de la glucosa por parte de la levadura, *Sacharomyces cerevisiae*:



Como se puede observar, algunos átomos del carbono de la glucosa se han oxidado a mayor escala (CO_2) mientras que otros han alcanzado un nivel de oxidación menor en el etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), el cual en comparación con la glucosa es un compuesto más reducido ya que tiene más hidrógenos y electrones por átomos de carbono. En cuanto a la energía generada en este proceso (57 kcal): una parte se transforma en calor y otra se conserva como enlaces fosfato de alta energía con producción neta de 2 moléculas de ATP.

La degradación de la glucosa (Figura 1) ocurre por una vía bioquímica llamada glucólisis o vía de Embden-Meyerhof. La primera parte no implica óxido-reducción y lleva a la producción del intermediario clave gliceraldehído 3-fosfato. Para ello, al inicio, la molécula de glucosa sufre fosforilación con consumo de ATP dando origen a glucosa 6-fosfato, la cual sufre isomerización y otra fosforilación que la convierte en fructosa 1-6 difosfato.

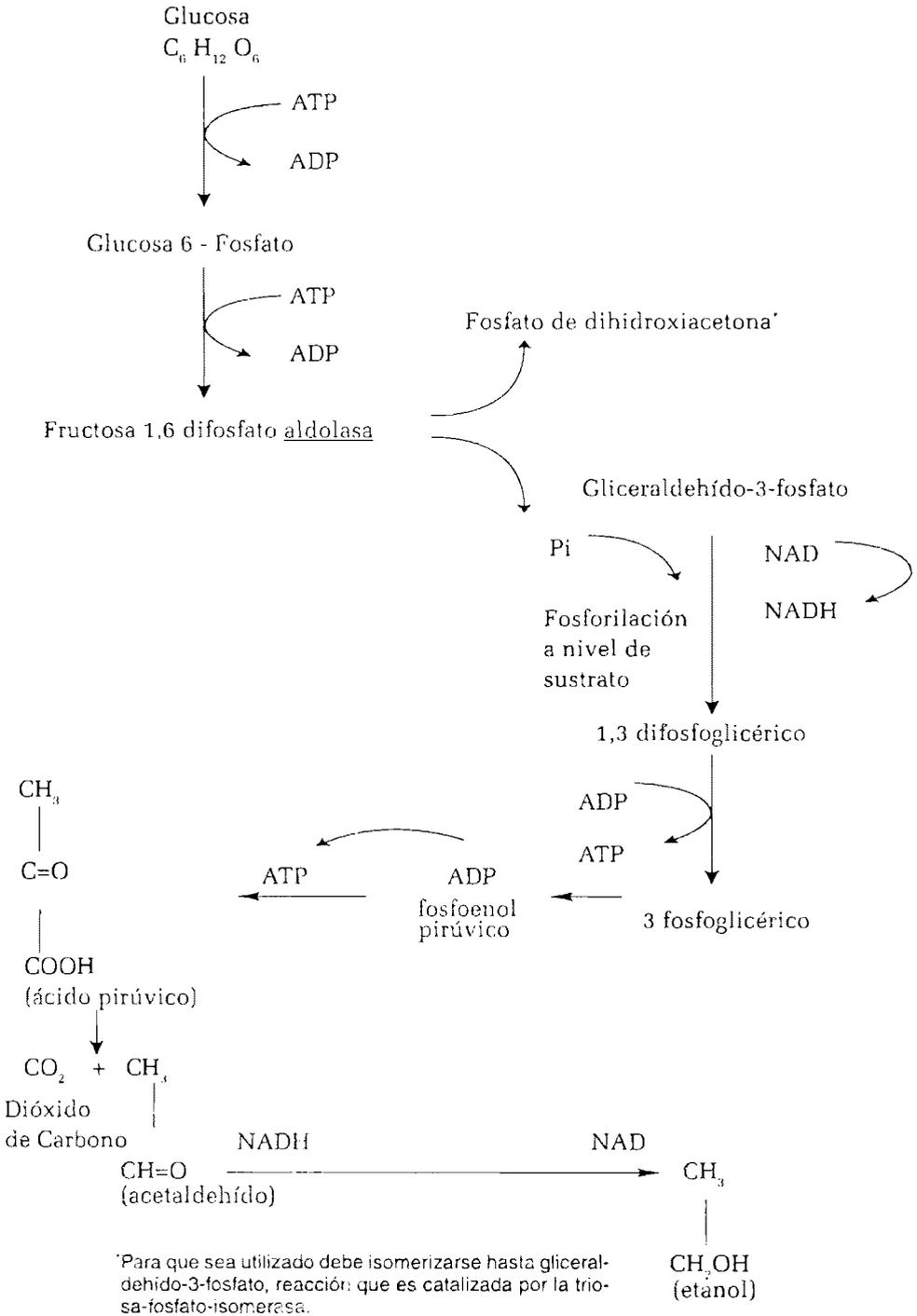


Figura 1: Fermentación de la glucosa por la levadura *Saccharomyces cerevisiae*.

Esta molécula se parte, por acción de la enzima aldolasa, dando lugar a dos triosas fosfato: el fosfato de hidroxacetona y el gliceraldehído-3-fosfato.

En la segunda etapa ocurren reacciones de óxido-reducción, hay producción de energía (ATP) a partir del enlace fosfato y se originan como productos finales etanol y CO_2 (Figura 1). Para ello, el gliceraldehído-3-fosfato es convertido en ácido 1,3-difosfoglicérico por la incorporación de fósforo inorgánico —fosforilación al nivel de sustrato—, con la intervención de la coenzima NAD, la cual se reduce a NADH. Esta reacción ocurre dos veces, una por cada molécula de gliceraldehído-3-fosfato.

La conversión posterior del difosfoglicérico en fosfoglicérico permite la generación de ATP; una etapa siguiente lleva al ácido fosfoenolpirúvico el cual al oxidarse da lugar a la formación del ácido pirúvico y a la generación de más energía en forma de ATP.

Así, en la glucólisis se consumen dos moléculas de ATP —en las dos fosforilaciones de la glucosa— y se producen cuatro moléculas de ATP —dos de cada ácido 1,3-difosfoglicérico que se convierten en piruvato—, lo cual significa para el organismo que realiza la fermentación una ganancia de dos moléculas de ATP por cada molécula de glucosa fermentada.

En el caso de la fermentación alcohólica llevada a cabo por *Sacharomyces cerevisiae*, el ácido pirúvico es oxidado a acetaldehído y CO_2 ; a su vez la coenzima NADH, transporta de nuevo electrones al acetaldehído reduciéndolo a etanol. En consecuencia, el producto final de esta fermentación es la síntesis de dos ATP, dos moléculas de etanol y dos moléculas de CO_2 (Figura 1).

Algunos productos finales de la fermentación, como el etanol que es para el microorganismo material de desecho, representan para el hombre sustancias utilizables, en la mayoría de los casos, y constituyen la base de desarrollos agroalimentarios, farmacéuticos e industriales.

La degradación de la glucosa por vía fermentativa al generar CO_2 como uno de los productos finales contribuye a incrementar la presencia de éste en los ecosistemas.

La glucosa, sustrato base en el ejemplo planteado, es fermentada por gran variedad de microorganismos, cada uno con contenido enzimático y propiedades fisiológicas específicas, lo cual hace que los productos finales sean variables según los géneros y especies microbianas involucradas (Figura 2). Algunos microorganismos generan un solo producto y se denominan **homofermentativos**, otros, llamados **heterofermentativos**, como su nombre lo indica, dan origen a varios productos (Figura 3).

Los conocimientos actuales acerca de la fermentación permiten comprender integralmente lo que constituyó, en su época, gran reto para Pasteur: dar explicación a los viticultores de Lille (su provincia natal) por qué mientras a

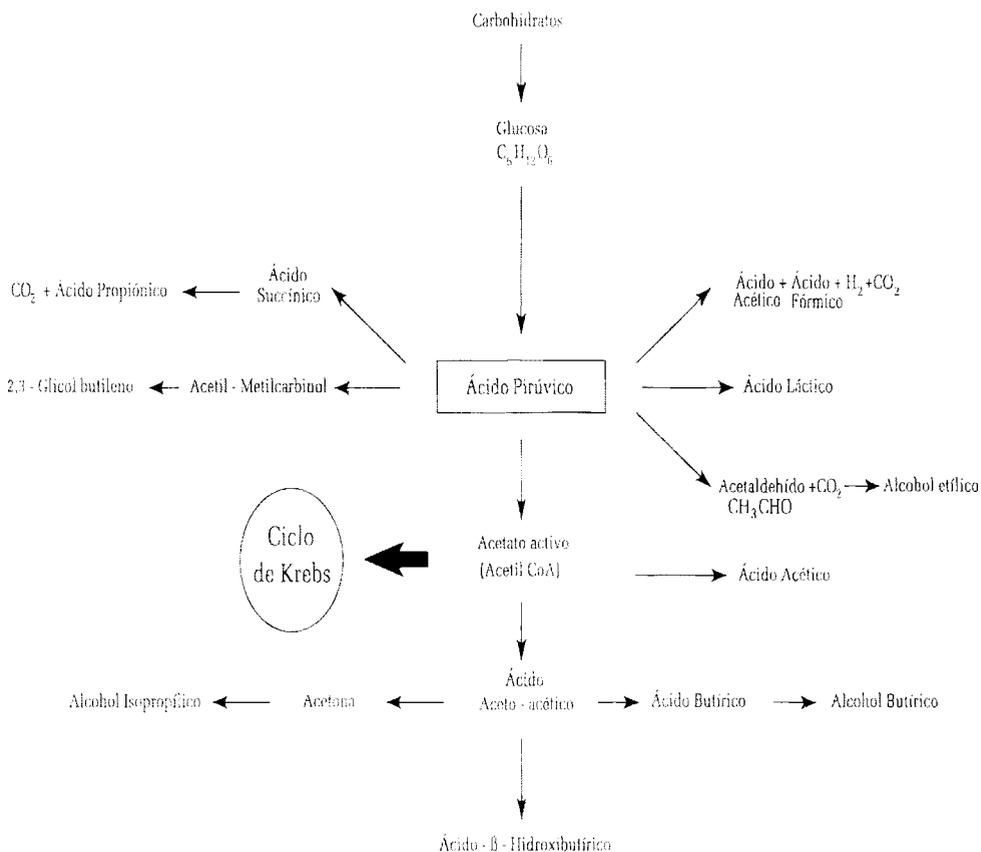


Figura 2. Vías de fermentación microbiana de la glucosa. Los productos finales corresponden a microorganismos diferentes.

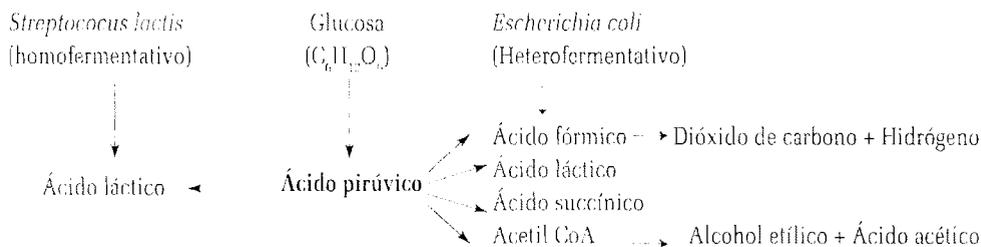


Figura 3. Fermentación de la glucosa por un microorganismo heterofermentativo y uno homofermentativo

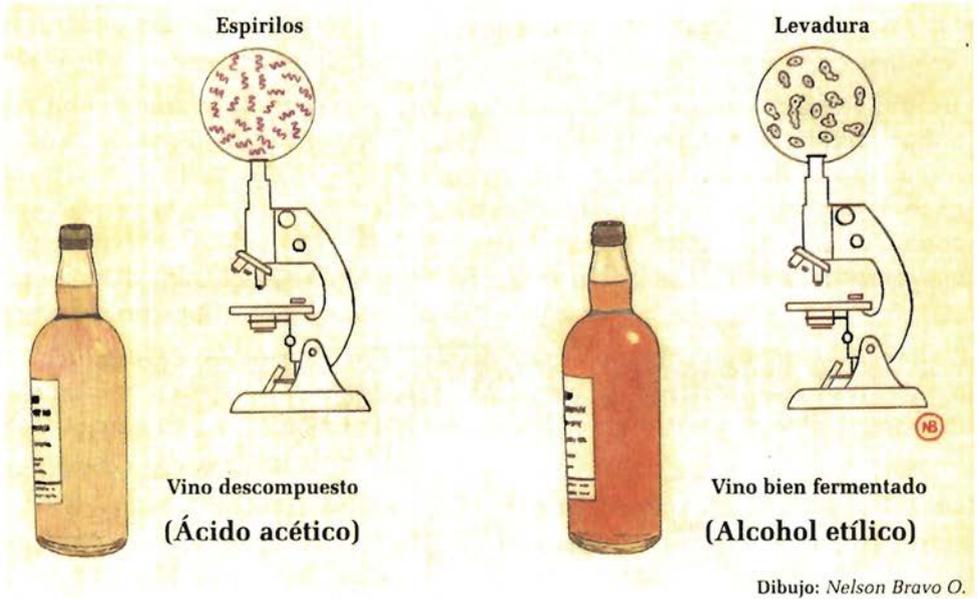


Figura 4: Pasteur en su época debió encontrar una explicación a los vinos descompuestos y fermentados adecuadamente, lo cual le permitió establecer la especificidad metabólica microbiana.

partir del zumo o mosto de uva, algunos vinos fermentaban adecuadamente y se obtenía etanol, en otros sólo se lograba vino descompuesto con sabor a vinagre —ácido acético—. Las observaciones microscópicas que efectuó este investigador le permitieron relacionar el producto final que se obtenía con el tipo de microorganismo que estaba presente (Figura 4). Hoy estos dos productos de fermentación; etanol y ácido acético, al igual que muchos otros, tienen uso industrial, se conoce acerca de la especificidad metabólica microbiana conferida por las enzimas que poseen, y están identificados la mayoría de los organismos que generan cada uno de los productos industriales obtenidos mediante fermentación, buena cantidad de los cuales son manipulados comercialmente.

Sustratos fermentables

Según Schlegel “la mayoría de productos naturales en cuya composición intervengan átomos de carbono, hidrógeno, oxígeno y/o de nitrógeno pueden ser fermentados en condiciones anaeróbicas”. La condición para que un sustrato sea fermentable es que no presente un nivel extremo de oxidación ni de reducción; los carbohidratos constituyen un ejemplo clásico de sustratos fermentables.

Entre los sustratos fermentables están: polisacáridos —hexosas, pentosas, tetrasas y polialcoholes—, ácidos orgánicos —glucosídicos, ácido glucó-

nico, málico, tartárico, etc.—, aminoácidos —excepto los aromáticos, que necesitan condiciones especiales—, las purinas y pirimidinas.

Sustratos no fermentables

En condiciones anaeróbicas no pueden ser fermentados hidratos de carbono aromáticos y alifáticos, esteroides, carotenoides, terpenos, ácidos grasos a partir de cinco átomos de carbono y porfirinas. La estabilidad de tales compuestos en condiciones anaeróbicas parece deberse a que no se consigue energía por hidrólisis interna de éstos, ya que la mayoría contienen sólo átomos de carbono y de hidrógeno.

Respiración aeróbica

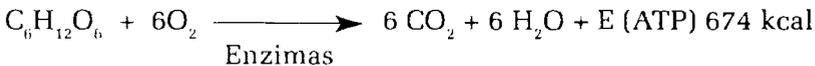
En este proceso los donadores de electrones son compuestos orgánicos o inorgánicos reducidos y el aceptor final es el oxígeno molecular (O₂). La disponibilidad de oxígeno hace posible la oxidación completa de los compuestos orgánicos hasta CO₂.

La cantidad de ATP considerablemente mayor que se produce durante la respiración se debe a la fosforilación acoplada al flujo de electrones a través de la cadena respiratoria de transporte, la cual se conoce como **fosforilación oxidativa**.

El sistema de transporte de electrones en los procariotas está asociado con la membrana citoplasmática, ya sea unido a ella o haciendo parte integral; en los eucariotas los citocromos y el sistema transportador se encuentran en las mitocondrias.

Respiración aeróbica de sustratos orgánicos

Se parte de la actividad de la misma levadura: *Sacharomyces cerevisiae* sobre el mismo sustrato orgánico que se utilizó como ejemplo en la fermentación —glucosa—, con una diferencia, en este caso las condiciones son aeróbicas. La reacción global es:



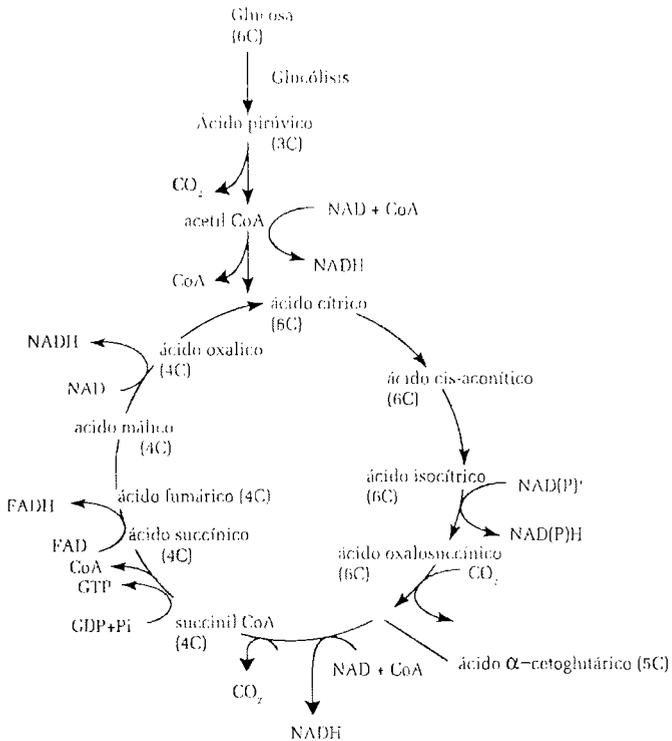
Como se puede observar, los átomos de carbono de la glucosa sufren su grado máximo de oxidación en el CO₂. En cuanto a la energía generada en este proceso, 674 Kcal, una parte se transforma en calor y otra se conserva como enlaces fosfato de alta energía con una producción neta de 38 moléculas de ATP.

En la respiración aeróbica, el ácido pirúvico que se origina de igual manera que en la fermentación (glucólisis) se descarboxila con la producción de una molécula de NADH y de un radical acetilo que se acopla con la coenzima A formando el acetil CoA cuyo enlace es rico en energía. (Figura 5). El

grupo acetilo del acetil CoA se combina con el ácido oxalacético para producir ácido cítrico e incorporarse al ciclo de Krebs, del ácido cítrico (CAC) o de los ácidos tricarboxílicos (ATC), como se le conoce.

Sucedan reacciones posteriores de deshidratación, descarboxilación y oxidación con la producción consecutiva de ácidos aconítico o aconitato, isocítrico, α -cetoglutárico, succínico, fumárico, málico; este último es transformado en ácido oxalacético completándose el ciclo. Se liberan además, dos moléculas de CO_2 .

El resultado neto de este ciclo es la oxidación completa del ácido pirúvico a CO_2 con la producción de cuatro moléculas de NADH y una de FADH.



Reacción global del ciclo del ácido tricarboxílico: Piruvato + 4 NAD + FAD \rightarrow 3 CO_2 + 4NADH + FAD
Mediante fosforilación al nivel de sustrato:



A través de fosforilación por transporte de electrones:
4NADH = 12 ATP
FADH = 2 ATP

15 ATP/ácido pirúvico

Más: oxidación de 2 NADH (glucólisis) \rightarrow 6ATP
Fosforilación al nivel de sustrato \rightarrow 2ATP

Ciclo del ácido cítrico + glucólisis = 38 ATP/glucosa

Figura 5. Ciclo resumido de la respiración aeróbica

Mediante el sistema de transporte de electrones (NAD; flavoproteínas, citocromos, quinonas), cada una de las moléculas de NADH y FADH pueden ser oxidadas. Gran parte de la energía liberada por la transferencia de electrones del NADH al O_2 se conserva por medio de la síntesis de ATP a través de la fosforilación oxidativa.

Por cada molécula de $NADH_2$ que se oxida se producen tres moléculas de ATP y cuatro de agua, mientras que FADH produce 2 ATP. Teniendo en cuenta los ATP producidos en las demás reacciones, en cada vuelta del ciclo se sintetizan 15 moléculas de ATP por molécula de ácido pirúvico, lo cual equivale a 30 moléculas de ATP por molécula de glucosa oxidada; además, por la oxidación de las dos moléculas de NADH producidas en la glucólisis se obtienen seis moléculas más de ATP, y dos moléculas más por la fosforilación a nivel de sustrato correspondiente al paso de glucosa a ácido pirúvico. Así, los microorganismos aerobios estrictos o facultativos pueden formar 38 moléculas de ATP mediante la oxidación de la glucosa, mientras que los anaerobios sólo obtienen dos moléculas cuando fermentan el mismo sustrato.

La respiración de sustratos orgánicos por parte de los microorganismos, en algunos casos, se interrumpe naturalmente o mediante manipulación del hombre, entonces se forman productos orgánicos parcialmente oxidados, por ejemplo los ácidos cítrico, fumárico, α -cetoglutarico, todos ellos de importancia industrial. En cuanto al ambiente, la respiración y la fermentación constituyen las vías más importantes de retorno de CO_2 a la atmósfera.

Además de su función en la producción de energía (ATP) es importante resaltar que el ciclo de Krebs (ATC o CAC) proporciona productos intermedios claves para la biosíntesis. O sea que es una vía anfóbica: funciona no sólo en el catabolismo sino también en la generación de precursores para reacciones anabólicas. Un ejemplo de ello es la utilización de α -cetoglutarato y oxalacetato para la síntesis de aminoácidos (Figura 6).

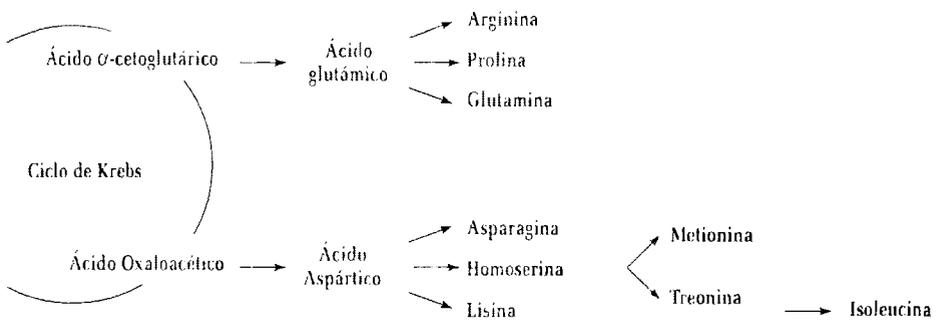


Figura 6. Síntesis de algunos aminoácidos por la vía del ciclo de Krebs

Respiración aeróbica de sustratos inorgánicos

Algunas bacterias del suelo y de ambientes acuáticos pueden obtener energía a partir de la oxidación de compuestos inorgánicos, mediante un proceso generalmente acoplado a la reducción de CO_2 . Varias sustancias pueden servir de donadores de electrones y energía, generando diferentes cantidades de energía, como se observa en el Cuadro 2. Los microorganismos que realizan respiración de sustratos inorgánicos tienen gran importancia en el suelo, pues mediante su actividad se pueden llevar a cabo procesos como la nitrificación, donde el amonio, liberado de la materia orgánica en descomposición, es transformado al ión nitrato, generando disponibilidad de nitrógeno altamente asimilable, el cual a su vez se lixivia muy fácilmente y genera también acidificación del suelo.

CUADRO 2. RESPIRACIÓN DE COMPUESTOS INORGÁNICOS POR DIFERENTES MICROORGANISMOS

Microorganismos	Reacción	Productos Finales	pH
<i>Nitrosomonas, Nitrosolubus</i> <i>Nitrospira, Nitrovibrio</i>	$\text{NH}_4^+ + 1/2 \text{O}_2$	$\text{NO}_2^- + 2\text{H}^+ + 2\text{H}_2\text{O} + 66\text{Kcal/mol}$	7
<i>Nitrobacter</i>	$\text{NO}_2^- + 1/2 \text{O}_2$	$\text{NO}_3^- + 18\text{Kcal/mol}$	7
<i>Beggiatoa</i> y <i>Thiotrix</i>	$\text{H}_2\text{S} + 1/2 \text{O}_2$	$\text{S} + \text{H}_2\text{O} + 50\text{Kcal/mol}$	7
<i>Thiobacillus thiooxidans</i> y <i>Thiobacillus ferrooxidans</i>	$\text{S} + 11/2 \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}$	$\text{SO}_4^{2-} + \text{H}^+ + 140\text{Kcal/mol}$	7
<i>T. ferrooxidans</i>	$\text{Fe}^{2+} + \text{H}^+ + 1/4 \text{O}_2$	$\text{Fe}^{3+} + 1/2 \text{H}_2\text{O} + 17\text{Kcal/mol}$	2-3
<i>Hidrogemonas, Micrococcus,</i> <i>Pseudomonas, Rhizobium</i> <i>Azospirillum</i> y <i>Azotobacter</i>	$\text{H}_2 + 1/2 \text{O}_2$	$\text{H}_2\text{O} + 57\text{Kcal/mol}$	7
<i>Carboxidomonas</i>	$\text{CO} + 1/2 \text{O}_2$	$\text{CO}_2 + 61\text{Kcal/mol}$	7

Fuente: Brock, 1984; Paul y Clark, 1989; Burbano, 1989; García 1992; Neves, 1992 y Victoria et al, 1992

Diversos compuestos reducidos de azufre son usados también para promover fosforilación oxidativa que genere ATP y reductores necesarios para la fijación de CO_2 . En esta oxidación el pH disminuye drásticamente en el suelo y puede llegar a valores cercanos a 1, como consecuencia del metabolismo de estos microorganismos. Los productos que se forman en esta oxidación, como azufre elemental, pueden ser depositados en el interior de los microorganismos en forma de gránulos o excretados al medio ambiente, como ácido sulfúrico por ejemplo.

Tanto el ión ferroso como el monóxido de carbono pueden ser oxidados generando energía para las reacciones de síntesis. Las bacterias que oxidan monóxido de carbono para obtener ATP y poder reductor son importantes en procesos de desintoxicación de ambientes polutos por esta molécula.

Otra vía de metabolismo de la glucosa: la hexosa monofosfato

La mayoría de los microorganismos metabolizan entre 60 y 80% de la glucosa a través de la vía de Embden-Meyerhof, también denominada glucólisis, glicólisis o de las hexosas difosfato, por lo cual como se vio con anterioridad, la glucosa se convierte en piruvato sin pérdida de carbonos, reduciendo dos moléculas de NAD a NADH y generando dos moléculas de ATP. La pregunta es: ¿qué ocurre con el resto de la glucosa? Generalmente la glucosa restante es metabolizada por la vía de los fosfatos de pentosa, llamada también **vía de las hexosas monofosfato**. El punto que controla la proporción de C que fluye hacia cada ruta se encuentra generalmente en la vía de Embden-Meyerhof al nivel de la fosforilación de fructosa-6-fosfato a fructosa-1,6 difosfato, catalizada por la fosfofructoquinasa. La conexión entre la vía de la glucólisis y de la hexosa monofosfato se aprecia en la Figura 7.

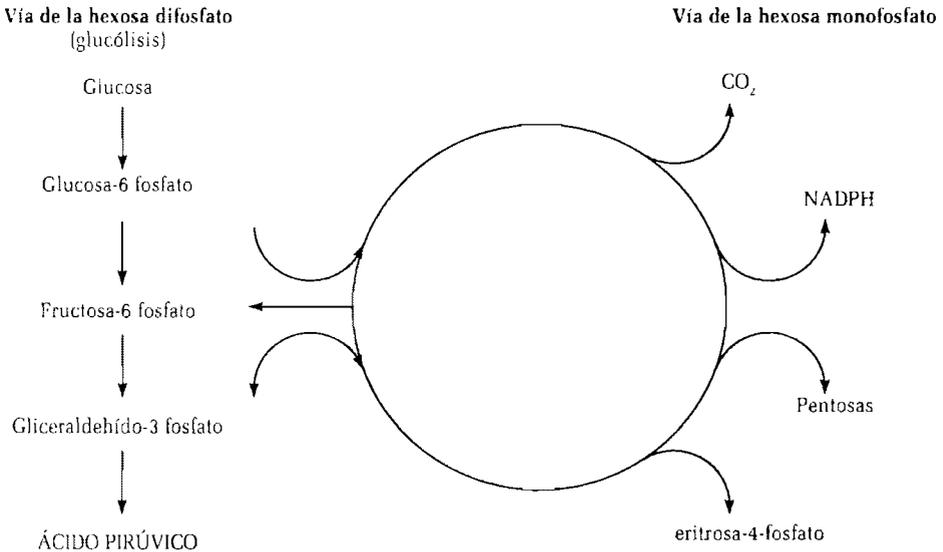
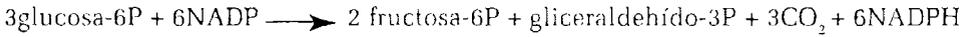


Figura 7. Conexión entre la vía de la glucólisis y de la hexosa monofosfato.

La vía de la pentosa monofosfato es estrictamente aeróbica y muy importante para proveer pentosas requeridas para la síntesis de ácidos nucleicos y grupos prostéticos que contienen nucleótidos, al igual que elementos necesarios para la síntesis de aminoácidos aromáticos y de vitaminas.

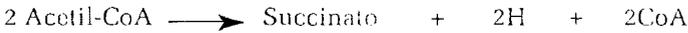
Esta vía no provee energía directamente, pero sí NADPH que puede constituir una fuente de ATP a través del flujo de electrones que son transportados al O₂ mediante la cadena respiratoria. Su ecuación general es:



Además de las dos vías mencionadas, existen otras alternativas para metabolizar la glucosa, como la de Entner-Doudoroff y la de la pentosa-fosfoetolasa, las cuales son menos comunes y funcionan en microorganismos específicos.

El ciclo del glioxalato

Muchas bacterias reponen los intermediarios del ciclo Krebs (ATC o CAC) mediante el ciclo del glioxalato, cuya reacción es:



Esta vía no ocurre en los animales superiores, porque estos no basan su alimentación sobre moléculas de dos carbonos, como sí sucede en los microorganismos. El succinato y el malato que se forman como se puede apreciar en la Figura 8, continúan con la secuencia habitual de las reacciones del ciclo del ATC.

Si un organismo crece sobre un compuesto de dos carbonos (C₂), sobre un ácido graso o sobre un hidrocarburo —el cual es degradado inicialmente a unidades C₂—, el ciclo de Krebs no explica su metabolismo, puesto que los compuestos C₂ no pueden ser convertidos en piruvato, ya que no hay forma

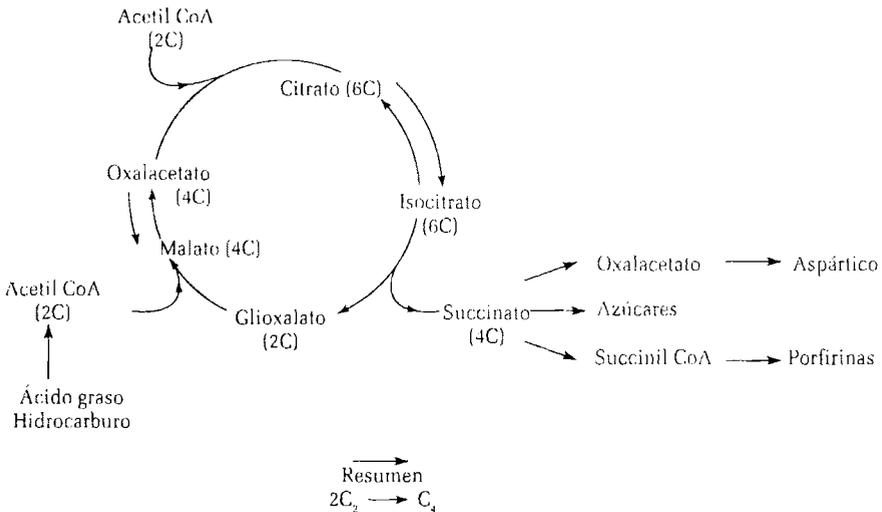


Figura 8. Ciclo del glioxalato

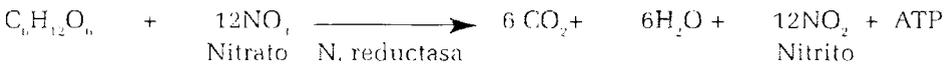
Fuente: Bullock, 1991; Burbano, 1989

para que el oxalacetato o cualquier compuesto C_4 pueda ser producido a partir de un compuesto C_2 por las reacciones del ATC. Así, la vía por la cual los compuestos C_2 se convierten en C_4 se conoce como la desviación del glioxalato, para lo cual se requieren dos enzimas adicionales a las del ciclo de Krebs (ATC), la liasa Isocítrica y la sintetasa málica (Figura 8).

Respiración anaeróbica

En el mundo microbiano es posible encontrar algunas especies capaces de respirar, en ausencia de oxígeno del aire, cuando tienen a su disposición otras moléculas que sean alternativas de aceptores de electrones como nitrato, sulfato, fumarato, etc.

El nitrato, que es uno de los más frecuentes aceptores alternos, se convierte a formas más reducidas de nitrógeno: N_2O y N_2 . En los microorganismos que realizan esta actividad metabólica, el nitrato es reducido a nitrito por la nitrato-reductasa respiratoria, que cataliza la reacción acoplando la reducción del nitrato con la oxidación de un citocromo. Observemos la reacción completa para la oxidación de la glucosa:



El nitrito se acumula en el medio y es tóxico para buen número de organismos; con frecuencia se realiza la reducción del nitrito u óxido nítrico, óxido nitroso o nitrógeno en forma gaseosa. El proceso completo se llama **Desnitrificación**. La secuencia de las reacciones es:



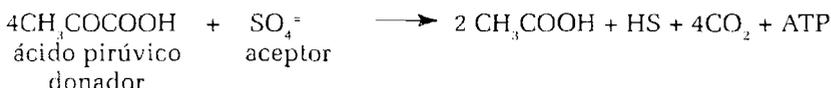
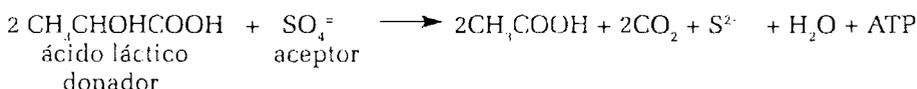
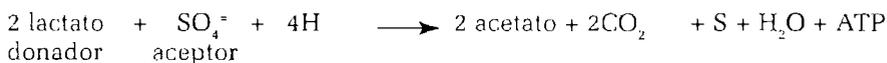
En comparación con la respiración aeróbica, la cadena de transporte de electrones es más corta en este proceso y se genera menos ATP. Esto significa que el crecimiento microbiano con el nitrato es menos eficiente que con el O_2 ; en la mayoría de los microorganismos que realizan la reducción del nitrato, ésta se inhibe en presencia del O_2 .

Todas las bacterias que reducen el nitrato son anaerobias facultativas, puesto que sólo transfieren electrones al nitrato en ausencia de oxígeno. Algunos géneros de bacterias que participan en la desnitrificación o denitrificación son: *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Rhizobium*, *Denitrobacillus*, etc. Los hongos no están asociados con la desnitrificación.

Los estudios de la desnitrificación han cobrado gran interés, por una parte, ante la necesidad de disminuir las pérdidas de nitrógeno en el suelo, pues los costos de producción y uso de los fertilizantes nitrogenados son muy

altos. Por otro lado, los productos gaseosos de la desnitrificación como el óxido nitroso (N_2O) y el óxido nítrico (NO), reaccionan y afectan negativamente la capa de ozono que rodea la tierra, lo cual puede conducir a serios trastornos ecológicos en la medida que esta actividad prolifere en el planeta.

En otros casos, el aceptor de electrones es el sulfato que es reducido a ácido sulfhídrico (H_2S). Generalmente, las bacterias reductoras del sulfato son anaerobias estrictas incapaces de crecer o emplear el O_2 . Este tipo de vía metabólica lo ilustran las bacterias del género *Desulfovibrio* que oxidan sustratos reducidos como el lactato de sodio y el gas hidrógeno, transfieren electrones al sulfato y lo reducen directamente a sulfuro, así:



Entre los principales géneros de bacterias que llevan a cabo la reducción de sulfatos están, entre otras, *Desulfovibrio*, *Desulfotomaculum* y *Desulfomonas*. A altas temperaturas los sulfatos se reducen por la acción de *Clostridium nigricans*, un anaerobio esporulante. *Bacillus megatherium* y *Pseudomonas zelinski* también reducen los sulfatos.

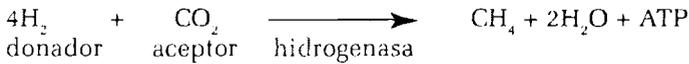
La reducción de nitratos o desnitrificación, al igual que la reducción de sulfatos son procesos de gran significado geoquímico, en ambos disminuye la disponibilidad de dichos elementos para las plantas y ocurre su transferencia a la atmósfera.

Un ejemplo de un aceptor de electrones orgánico lo constituye el caso del fumarato, utilizado por amplia variedad de bacterias con este propósito, tales como *Vibrio succinogenes* que puede crecer con el H_2 como única fuente de energía, *Desulfovibrio gigas*, bacteria reductora del sulfato, *Escherichia coli*, algunas especies de *Proteus* y *Clostridium*. En esta reacción el fumarato es reducido a succinato —caso contrario a lo que acontece en el ciclo de Krebs— donde el succinato es oxidado a fumarato, como se observa en la Figura 4.

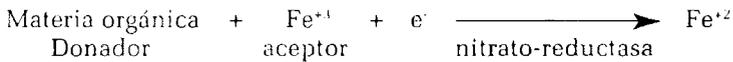
Otro ejemplo lo constituye la reducción del CO_2 a CH_4 llevada a cabo por las bacterias metanógenas. Estas — muy importantes en el ciclo anaeróbico del carbono — son un grupo de organismos muy sensibles al oxígeno, se encuentran en los lodos anaerobios, en el tubo digestivo, en el rumen de bovinos y otros rumiantes y en las instalaciones para el tratamiento anaeróbico

de las aguas negras. Es común que estas bacterias crezcan con el H_2 como su único donador de electrones y el CO_2 como su único aceptor de electrones. Algunos de los géneros de bacterias que realizan este proceso son *Methanobacterium*, *Methanosarcina*, *Methanospirillum*, etc.

La fórmula más común de la reacción que tiene lugar, es:



Por otra parte, algunos microorganismos pueden promover la reducción del ión férrico Fe^{+3} mediante una reacción que puede ser representada así:



En los suelos bien aireados, la mayor parte del hierro está en estado oxidado. Cuando se suscitan condiciones anaeróbicas generalizadas en micrositios (inundación de los suelos, fenómenos de gleización, adición de abundante materia orgánica e interfase aerobia-anaerobia de los agregados del suelo), ocurre acumulación de ión ferroso. Entre las bacterias que pueden realizar este proceso están anaerobias facultativas como los géneros *Bacillus*, *Klebsiella*, *Pseudomonas* y anaerobias como las pertenecientes a los géneros *Clostridium* y *Desulfovibrio*. Este proceso puede ocasionar la corrosión de tuberías de hierro. Es muy común que en condiciones anaeróbicas ocurra además de la reducción de Fe^{+3} , la reducción de azufre y la formación de ácido sulfhídrico, que con el hierro ferroso forma sulfuro ferroso.

Este proceso se observa también en muchos organismos que reducen el nitrato, lo cual ha llevado a que se considere que posiblemente el mismo sistema enzimático está involucrado en ambas reducciones.

Otro ejemplo de respiración anaeróbica lo constituye la reducción del manganeso, que ocurre por un proceso muy semejante a la reducción de hierro. En este caso, el MnO_2 funciona como aceptor final de electrones en la cadena respiratoria. Este fenómeno sucede en suelos hidromórficos y en ambientes pobremente aireados, haciéndose más manifiesto si existen sustratos carbonados para ser metabolizados; también la adición de materiales orgánicos estimula la reducción del Mn.

La reacción se puede esquematizar así:



La reducción biológica del manganeso es realizada por bacterias como *Thiobacillus thiooxidans*, especies de los géneros *Bacillus*, *Clostridium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas* y varios hongos.

En términos generales, la cantidad de ATP que puede ser generada por la respiración anaeróbica es más baja que aquella que los microorganismos obtienen por la vía de la respiración. Por esta razón, los microorganismos que realizan esta ruta, para generar la cantidad de ATP necesaria para su desarrollo y reproducción, deben degradar cantidades considerables de sustrato, lo cual explica su marcada importancia en las reacciones biogeoquímicas cíclicas que tienen lugar a gran escala.

Fotosíntesis

La fotosíntesis es el proceso biológico fundamental que permite la continuidad de la vida en el planeta. En términos cuantitativos, las plantas y las algas realizan el mayor aporte, sin embargo existen también bacterias capaces de efectuar la fotosíntesis, aunque su aporte es menor en términos de la economía de la naturaleza; a pesar de ello, los estudios acerca de cómo ocurre la fotosíntesis bacteriana han permitido profundizar en el conocimiento del mecanismo de la fotosíntesis en general.

El proceso de fotosíntesis microbiana ocurre en dos etapas, el resultado más importante de la primera de ellas es la absorción de luz por la clorofila de los organismos fotosintéticos y su conversión en energía química en la forma de ATP.

En la segunda etapa, en la cual no es necesaria la luz, la energía de ATP se invierte en la fijación de anhídrido carbónico —ciclo de Calvin— o sea, en la producción de materia orgánica, inicialmente hidratos de carbono simples que pueden ser almacenados como productos de reserva y/o ser utilizados como materiales estructurales o funcionales de los microorganismos fotosintetizantes (celulosa, lípidos, proteínas, etc.). Esta segunda etapa es similar para las plantas verdes, las bacterias fotoautotróficas y las bacterias quimioautotróficas.

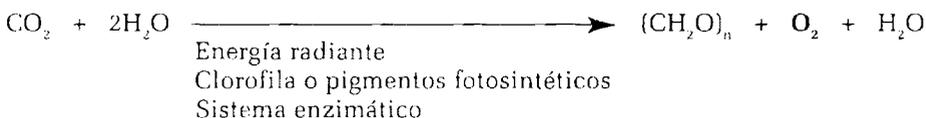
Como se dijo con anterioridad, para que ocurra este proceso de conversión de energía, conocido como fotofosforilación oxidativa, es necesario que la energía luminosa sea captada por la clorofila y otros pigmentos. Las bacterias fotosintéticas¹ poseen clorofilas diferentes a las de las plantas, tanto en su estructura como en sus propiedades para absorber la luz. Las bacterioclorofilas absorben la luz en las proximidades de la región infrarroja (660 a 870 nm), éstas no están contenidas en cloroplastos, sino extendidas en sistemas membranosos.

1. Las bacterias fotosintéticas pertenecen al orden Rhodospirillales, el cual se divide en tres familias: Rhodospirillaceae, antiguamente llamada Athiorhodaceae, se conocen como bacterias púrpuras no sulfúreas; Chromatiaceae, antiguamente llamada Thiorhodaceae, se las conoce comúnmente como bacterias púrpuras sulfúreas y, Chlorobiaceae, llamadas antiguamente Chlorobacteriaceae, se las denomina bacterias verdes sulfúreas. Las bacterias de este orden son capaces de efectuar metabolismo fotolitotrófico o fotoorganotrófico, en forma anaerobia. Se han aislado principalmente en ambientes acuáticos.

En la fotofosforilación oxidativa (fotosíntesis), una molécula de clorofila, al absorber energía luminosa, se excita energéticamente y emite un electrón que es transferido por una cadena de transporte de electrones, análogo al sistema de transporte de electrones de la fosforilación oxidativa. Dicha transferencia de electrones implica una serie de portadores conocidos en conjunto como fotosistema. En esa transferencia de electrones por la cadena de transporte se establece un gradiente de iones hidrógeno a través de las membranas. Las membranas fotosintéticas contienen ATPasa, enzima que interviene en la síntesis de ATP.¹

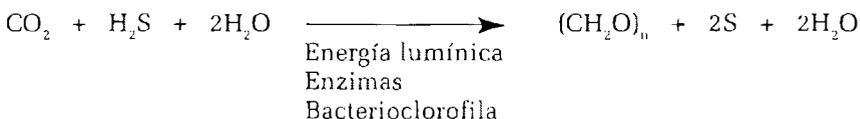
En todos los fotoautótrofos, el mecanismo quimioosmótico que dirige la síntesis de ATP es el mismo, sin embargo, hay una diferencia básica entre las algas y las bacterias fotosintéticas anaerobias en los fotosistemas que emplean para transferir la energía absorbida de la luz a la síntesis de ATP. Las algas² tienen dos fotosistemas conocidos como Fotosistema I y Fotosistema II; en las bacterias sulfúreas fotosintéticas verde y púrpuras (anaerobias) hay un solo fotosistema conocido como Fotosistema I o de fotofosforilación cíclica.

El tipo de fotosíntesis al que comúnmente se hace mención es el realizado por las plantas, algas y otros organismos eu y procarióticos. Esta se caracteriza por la formación de O₂ como subproducto; algunos autores la denominan **fotosíntesis oxigénica**. Es responsable del oxígeno presente en la atmósfera y ha hecho posible la vida aerobia en el planeta. Su ecuación general es:



En este tipo de fotosíntesis, el agua aporta el poder reductor al donar H₂ y al mismo tiempo todo el O₂ liberado proviene de ella.

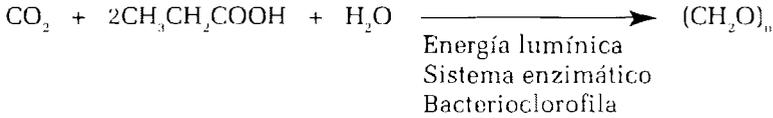
Otro tipo de fotosíntesis menos conocida es la llamada **fotosíntesis bacteriana** o **anoxigénica** que se caracteriza porque no produce O₂, es un proceso anaeróbico y la reducción del NADP se logra utilizando el poder reductor de los constituyentes de los medios anaeróbicos donde habitan las bacterias que la realizan, como H₂S, H₂ y otros compuestos orgánicos. Las reacciones se expresan así:



1. Principalmente en ambientes acuáticos.

2. Incluye a las algas verde-azules, cianofíceas o cianobacterias.

La llevan a cabo las familias Chromatiaceae y Chlorobiaceae.



Este último tipo de fotosíntesis anoxigénica la realiza la familia Rhodospirillaceae.

Un caso especial de conversión de energía luminosa a química lo presentan las bacterias del género *Halobacterium* que poseen una membrana púrpura que permite tal conversión por un mecanismo diferente a los tratados para los fotoautótrofos. Dicha membrana contiene bacteriorrodopsina, una proteína cuya estructura es similar al pigmento rodopsina del ojo humano. Cuando hay oxígeno, estas halobacterias acuden a la respiración para generar su ATP, pero cuando falta, obtienen ATP mediante una forma de fotofosforilación. Al recibir luz, la bacteriorrodopsina bombea protones al exterior de la membrana, estableciendo un gradiente de iones hidrógeno, que conducen a la síntesis de ATP por quimioósmosis. El conocimiento de este mecanismo despierta la curiosidad de los científicos, quienes plantean la posibilidad de su utilización en la fabricación de “chips” para computadores.

Organismos como los que realizan fotosíntesis o las bacterias de la nitrificación que pueden vivir con CO_2 como única fuente de carbono, se llaman autótrofos, los primeros son llamados fotoautótrofos, mientras que a las bacterias nitrificantes se las denomina quimiótrofas o quimiauótrofas, como se verá en el siguiente capítulo.

Consideraciones generales sobre los procesos mediante los cuales los microorganismos obtienen su energía

Los microorganismos requieren de energía química para poder llevar a cabo funciones como locomoción, formación de nuevas organelas, reproducción, etc., en fin, para ejercer su propiedad de crecimiento. La utilización de esta energía en los organismos vivos implica reacciones de óxido-reducción, cuya base fundamental es la transferencia de electrones, los cuales no se encuentran en estado libre sino que son acarreados por sustancias denominadas acarreadores o transportadores de electrones. Estos transportadores se encuentran al nivel de la membrana citoplasmática en las células procarióticas y de las membranas de las mitocondrias en las células eucariotas. La síntesis de ATP está acoplada a las reacciones de transferencia de electrones; al ATP se lo considera como la molécula energética primaria de los seres vivos, sin embargo, es una fuente energética que debe utilizarse rápidamente.

te. Para el almacenamiento energético de largo plazo, los microorganismos deben recurrir a la formación de compuestos orgánicos como el almidón, glucógeno, o a moléculas específicas según el tipo de microorganismo.

Todas las reacciones químicas de la célula microbiana son catalizadas por enzimas, las cuales son determinadas por el genoma microbiano y le confieren a los microorganismos su especificidad metabólica.

El metabolismo microbiano comprende aquellas transformaciones tendientes a extraer energía de los sustratos, transferirla y almacenarla temporalmente en la molécula de ATP (catabolismo), utilizar esta molécula para modificar las sustancias tomadas del medio y adaptarlas a las necesidades constructivas del microorganismo (anabolismo). Las dos fases constituyen una unidad dialéctica y el equilibrio de la vida se debe en buena parte a su coordinación precisa.

Los microorganismos utilizan amplia gama de sustratos (fuentes de energía) y de mecanismos para generar ATP. Tanto la energía química como la lumínica se emplean para sintetizarlo. Como sustratos pueden servir sustancias orgánicas o inorgánicas e igualmente compuestos orgánicos o inorgánicos pueden emplearse como aceptores de electrones. Las vías para la oxidación de estos compuestos se agrupan en: fermentación, respiración, respiración anaeróbica y fotosíntesis.

Los microorganismos son extraordinariamente diversos con respecto a la clase y al número de compuestos orgánicos o inorgánicos que pueden usar como fuente de carbono y energía. Esta diversidad se manifiesta en que no hay en la naturaleza ningún compuesto orgánico natural que no pueda ser utilizado como fuente de carbono por algún microorganismo. Esto los convierte en una fuerza ecológica de extraordinaria importancia.

Los microorganismos que realizan fermentación pueden ser anaeróbicos estrictos o facultativos o aerotolerantes. El proceso de fermentación le significa al microorganismo baja obtención de ATP, sin embargo, desde el punto de vista industrial le significa al hombre la posibilidad de obtener amplio número de sustancias de manera económica, mediante el trabajo silencioso de los microorganismos. Como sustratos fermentables se tienen los carbohidratos, ácidos orgánicos, aminoácidos, excepto los aromáticos; las purinas y las pirimidinas.

Los microorganismos que realizan respiración son aerobios estrictos o facultativos. Es un proceso muy eficiente de obtención de ATP para el microorganismo. El ciclo de Krebs, además de su importancia catabólica, implica la presencia de moléculas intermediarias fundamentales para la síntesis microbiana. Desde el punto de vista industrial, la manipulación de la respiración microbiana le permite al hombre la utilización de un sinnúmero de

moléculas que antes se obtenían a altos costos, como por ejemplo, ácidos orgánicos, proteínas, carbohidratos, etc. Desde el punto de vista ecológico, la respiración hace que compuestos complejos como los hidrocarburos saturados, los hidratos de carbono aromáticos y alifáticos puedan ser degradados y reciclados.

La respiración anaeróbica, más restringida, reviste gran importancia bioquímica y para la conservación del ambiente. A diferencia de la fermentación y respiración que son compartidas por eucariotas y procariotas, este proceso sólo se realiza en procariotas. La cantidad de ATP generada es muy baja, sin embargo, la alta capacidad de degradación de estos microorganismos compensa la ineficiencia del proceso.

La fotosíntesis es el proceso biológico fundamental que permite la continuidad de la vida en el planeta, mediante ella la clorofila de los organismos fotosintetizantes absorbe la luz y la convierte en energía química (ATP), la cual se invierte en la fijación de anhídrido carbónico, o sea en la síntesis de materia orgánica. Es decir que en la fotosíntesis el catabolismo y anabolismo se ligan estrechamente, convirtiéndose en ejemplo clave de cómo la separación de estos procesos es más didáctica que real.

Es necesario tener en cuenta que el metabolismo microbiano, ya sea catabolismo o anabolismo, está influido por condiciones ambientales como pH, temperatura, humedad, CO_2 , O_2 , nutrientes, sustancias tóxicas, etc. Las condiciones ambientales que pueden ser limitantes para un microorganismo pueden ser ideales para otro.

La comprensión de los procesos de obtención de energía por los microorganismos permite explicar parcialmente la acción patogénica que ejercen algunos de ellos sobre plantas, animales y sobre sí mismos.

CAPITULO IV

Catabolismo y anabolismo

La degradación y síntesis de moléculas por los microorganismos

Introducción

En el capítulo anterior se observó que los procesos de obtención de energía para la actividad microbiana, además de producir ATP proporcionan productos intermedios precursores de otras moléculas que requieren los organismos, situación ilustrada en el caso de la respiración aeróbica —ciclo de los ácidos tricarbóxicos—. Sin embargo, quedan pendientes interrogantes como: ¿qué hacen los organismos con esa energía? ¿cómo llevan a cabo la biosíntesis de sus moléculas?, entre otros.

En esta sección se ilustra mediante ejemplos que la degradación o escisión —**catabolismo**— y la construcción o síntesis —**anabolismo**— de moléculas son actividades complementarias, procesos que se separan con fines didácticos pero que realmente son indivisibles y como tales integran una unidad conocida como metabolismo, la cual requiere de un genoma que confiere especificidad a los organismos —expresada en términos de enzimas y capacidad para trabajar sobre algunos sustratos— y de condiciones ambientales que propician o reprimen su acción.

Se pretende que el lector se acerque al concepto de metabolismo microbiano de manera sencilla e integral —sin desconocer su complejidad— en un esfuerzo que le permitirá posteriormente entender las similitudes y particularidades metabólicas de diferentes microorganismos.

Catabolismo y anabolismo: las dos caras de la moneda llamada metabolismo

Como se decía en el capítulo anterior, la particularidad más importante de un organismo unicelular o pluricelular, es la propiedad de crecer. Para

ello recurre a los compuestos químicos del medio exterior, los modifica de acuerdo con sus necesidades y con ellos —transformados—, construye sus macromoléculas características que le van a permitir alcanzar su forma, tamaño y madurez, expresada en la capacidad para replicarse a sí mismo.

Desde esta perspectiva, el trabajo que realizan los microorganismos sobre diferentes sustratos orgánicos e inorgánicos presentes en su medio exterior, se entiende como una necesidad de disponer de materias primas —**nutrimentos**— y de **energía** para ejercer la propiedad de crecer, la cual requiere alto grado de organización en los organismos vivos que les permita dirigir las reacciones químicas y ensamblar sus moléculas en estructuras específicas. A esta serie de procesos químicos que se cumplen dentro de la célula se le denomina metabolismo.

En el metabolismo, a través del catabolismo (del griego *Katabállein*: de *katá*, abajo, y *bállein*, echar) los productos químicos utilizados como fuentes de energía y nutrientes, son descompuestos o degradados a constituyentes más sencillos y la energía que se libera se transfiere y almacena temporalmente dentro de la molécula de ATP. A su vez, los nutrimentos simples y la energía generados, son tomados por la célula y transformados en nuevo material celular. Este proceso se conoce como anabolismo o biosíntesis (del griego *anabolé*, que significa progresión). El anabolismo y el catabolismo están ligados íntimamente y constituyen una unidad, cuya coordinación precisa se torna en eje de equilibrio de las funciones vitales del organismo.

¿Qué nutrimentos requieren los microorganismos para crecer?

Nuestras moléculas fundamentales se caracterizan por la presencia de C, H, O, N, P y S. En general, el C es el elemento mayoritario de las macromoléculas del hombre, los animales, las plantas y los microorganismos; podría decirse que somos los organismos del C. Normalmente, el 50% del peso seco de una célula corresponde a C.

Después del carbono, el nitrógeno es el elemento más abundante, puede representar hasta el 12% del peso seco de una bacteria. Es componente fundamental de aminoácidos, proteínas, ATP, ADN y ARN, entre otros. El H y O básicos para la construcción de macro y micromoléculas provienen del agua, de procesos de oxido-reducción de compuestos orgánicos y del O₂.

Al nivel celular, en términos generales, el agua representa el 90% de su peso húmedo y, aproximadamente el 96% del peso seco lo conforman las macromoléculas —proteínas, polisacáridos, lípidos y ácidos nucleicos—. Esto quiere decir que aproximadamente el 3% está representado por pequeñas moléculas —aminoácidos, azúcares, nucleótidos y sus precursores— y el 1% por iones inorgánicos como P, K, Ca, Mg, S, Fe, Zn, Mn, Cu, Mo, Co, Ni, Se, V, entre otros, según las necesidades de cada organismo.

Además de macromoléculas, pequeñas moléculas orgánicas, macronutrientes (P, S, K, Mg, Ca, Na, Fe) y micronutrientes (Zn, Cu, Mn, Mo, Co, etc.), los microorganismos precisan también de factores de crecimiento, los cuales son compuestos orgánicos. Al igual que los micronutrientes, son requeridos en pequeñísimas cantidades y sólo por algunas células. Pueden ser vitaminas, aminoácidos, purinas y pirimidinas, entre otros, que normalmente son sintetizados por el mismo microorganismo o tomados del medio ambiente. Entre las vitaminas están el ácido fólico, biotina, cobalamina (vitamina B₁₂), niacina, ácido pantoténico, tiamina (vitamina B₁), quinonas, hidroxamatos, etc.

En términos generales, estas son las necesidades nutricionales que los microorganismos deben suplir a partir de los productos químicos exteriores (sustratos orgánicos e inorgánicos) en unas condiciones ambientales dadas y las que se deben llenar en el caso de cultivar los microorganismos en el laboratorio.

Alternativas nutricionales en los microorganismos

Teniendo en cuenta las fuentes de energía y de C que utilizan los microorganismos para derivar su alimentación —*trofos*—, éstos se han agrupado en **fotótrofos**, cuya fuente de energía es la luz, y **quimiótrofos**, que la derivan de la degradación de compuestos químicos.

Si el C lo obtienen del CO₂, son autótrofos —también se los conoce como **litótrofos o litoautótrofos**—. En caso de provenir de materiales orgánicos, entonces son heterótrofos u organótrofos. El Cuadro 1 ilustra las alternativas metabólicas a disponibilidad de los microorganismos. Como se puede observar, algunas de dichas alternativas metabólicas sólo son factibles y se conocen en el mundo microbiano, en particular en las bacterias y en el dominio de las Archaea y sus ambientes.

En la medida que se profundiza en el conocimiento de los tipos nutricionales se han encontrado situaciones particulares, como es el caso de algunas bacterias quimiolitótrofas que tienen capacidad de asimilar compuestos orgánicos como fuente de C, usando oxidaciones de compuestos inorgánicos para obtener energía, se las conoce como **mixótrofas** —la bacteria del azufre *Beggiatoa* es un ejemplo de mixotrofia—, situación que les confiere ventaja ecológica al utilizar compuestos orgánicos e inorgánicos simultáneamente.

¿Qué condiciones ambientales se requieren para que los microorganismos realicen su metabolismo?

Ya sea en la naturaleza o en condiciones de laboratorio, las propiedades físicas y químicas del ambiente tienen influencia marcada sobre el crecimiento de los microorganismos como individuos aislados o interactuando en comunidades.

CUADRO 1: ALTERNATIVAS NUTRICIONALES DE LOS MICROORGANISMOS, DE ACUERDO CON LAS FUENTES DE ENERGÍA Y DE C QUE PUEDEN UTILIZAR.

Tipo	Fuente de energía	Fuente de C	Microorganismos
Fotótrofos			
Fotoautótrofos, o fotolitoótrofos o fotolitoautótrofo.	Luz	CO ₂	Cianobacterias, algas —verdes, pardas, rojas— <i>Chromatium</i> . Las <i>Rhodospirillaceae</i> , <i>Chromatiaceae</i> y <i>Chlorobiaceae</i> cuando utilizan fuentes inorgánicas de C. Fuera del mundo microbioano, las plantas.
Fotoorganotróficos (fotoheterótrofos).	Luz	Compuestos orgánicos	<i>Rhodopseudomonas</i> , en general las <i>Rhodospirillaceae</i> (bacterias púrpuras no sulfúreas), <i>Chromatiaceae</i> (bacterias púrpuras sulfúreas) y <i>Chlorobiaceae</i> (bacterias verdes sulfúreas), cuando utilizan fuentes orgánicas de C.
Quimiótrofos			
Quimioautótrofos (quimiolitoótrofos o quimiolitoautótrofos).	Oxidación de compuestos inorgánicos	CO ₂	Bacterias nitrificantes: <i>Nitrobacter</i> , <i>Nitrospina</i> , <i>Nitrococcus</i> , <i>Nitrosomonas</i> , <i>Nitrospira</i> , <i>Nitrosococcus</i> y <i>Nitrosolobus</i> .
			Bacterias del hidrógeno: <i>Hydrogenomonas</i> .
			Bacterias oxidantes del azufre: <i>Thiobacillus</i> , <i>Beggiatoa</i> , <i>Thiothrix</i> , <i>Sulfolobus</i> , etc.
			Bacterias que depositan Fe u óxidos de Mn: familia <i>Siderocapsaceae</i> .
Quimioorganótrofo (quimioheterótrofo).	Oxidación de compuestos orgánicos	Compuestos orgánicos	Hongos, bacterias como <i>Escherichia</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Xanthomonas</i> , <i>Bacillus</i> , etc., y protozoos. Este tipo de nutrición lo presentan el hombre y los animales.

Adaptado de: Pelczar, Reid y Chan, 1982; Burbano, 1989; Sánchez de P. y Pineda, 1996 y Madigan, Martinko y Parker, 1999.

Dentro de los factores que afectan significativamente el metabolismo microbiano están la temperatura, disponibilidad de agua, presencia de O₂, pH y luz, entre otros.

A medida que la temperatura se incrementa, aumenta la velocidad de las reacciones enzimáticas, por tanto el metabolismo microbiano y el crecimiento se hacen más rápidos. Esto es válido hasta cierto punto, pues existen límites de temperatura por encima de los cuales los ácidos nucleicos, proteínas y otros componentes de las células microbianas pueden sufrir daños irreversibles. Dichos límites varían dependiendo de las especies, así, hay temperaturas mínimas y extremas que si se superan, impiden el crecimiento y la temperatura óptima que favorece el desarrollo de cada microorganismo.

Se encuentran microorganismos capaces de crecer en ambientes que alcanzan temperaturas bajo cero, algunos a temperaturas bajas entre 5 - 10°C y otros que soportan 100°C y más. Aquellos microorganismos que crecen en condiciones extremas —llamados extremófilos por algunos investigadores— acuden a diferentes adaptaciones moleculares que les permiten prosperar en dichos ambientes.

De acuerdo con su temperatura óptima, los microorganismos se han agrupado en **psicrófilos**, cuyas temperaturas están por debajo de 0°C y la óptima de crecimiento de 15°C o menos; **mesófilos**, con temperaturas óptimas entre 25 y 40°C; **termófilos**, con temperaturas óptimas superiores a 45°C e **hipertermófilos**, aquellos cuyo ambiente óptimo supera los 80°C. Esta última categoría se localiza en hábitats limitantes para la mayoría de los organismos vivos, como son los géiseres, fuentes hidrotermales abisales y en hendiduras encontradas en perforaciones profundas de la corteza terrestre; los termófilos, en aguas termales superficiales; los psicrófilos en ecosistemas fríos como las regiones nevadas, zonas como el Ártico y el Antártico, siempre que dispongan de agua en forma líquida, y los mesófilos predominan en ambientes tropicales y templados (Figura 1).

La temperatura óptima del psicrófilo *Polaromonas vacuolata* es de 4°C y por encima de 12°C es incapaz de desarrollarse. *Escherichia coli*, nuestro simbionte intestinal, es un ejemplo de mesófilo, cuya temperatura óptima en el tracto digestivo es similar a la del cuerpo humano, es decir, 37°C; en medios de cultivo ricos y complejos, ésta es de 39°C, la máxima de 48°C y la mínima de 8°C. *Pyrolobus fumarii*, ejemplo de hipertermófilo, crece mejor en ambientes con temperaturas de 105°C y llega a soportar 113°C, sin embargo a temperaturas menores a 90°C no crece. *Metanopyrus* sp es otro hipertermófilo que habita en las chimeneas volcánicas.

Al igual que la temperatura, cada microorganismo tiene un rango de pH que posibilita su crecimiento óptimo. Hay que separar el pH interno de la

célula, el cual debe estar siempre cercano a la neutralidad, independiente del exterior, y el pH del medio extracelular.

Son pocos los microorganismos que crecen a pH extremos inferiores a 2 o mayores de 10. Aquellos que proliferan en ambientes con pH entre 6 y 8 se les denomina **neutrófilos** y son comunes en los medios naturales que presentan esta característica; aquellos que crecen a valores inferiores a 6, se distinguen como **acidófilos**. Los hongos tienden a soportar mejor las condiciones de acidez que las bacterias, sin embargo, muy pocos prosperan a pH 2. Aunque generalmente las bacterias se localizan como neutrófilas, hay también acidófilas, algunas con carácter obligado como *Thiobacillus*, *Sulfolobus* y *Thermoplasma*, que no pueden crecer a pH neutros pero lo hacen en condiciones óptimas a pH inferior a 2.

El pH óptimo para los microorganismos **alcalófilos** está entre 10 y 11. Estos se encuentran en suelos y lagos con altos contenidos de carbonatos. La mayoría se ha registrado dentro del género *Bacillus*, tal vez por la propiedad de formar endosporas. Algunos de ellos son también halófilos, como es el

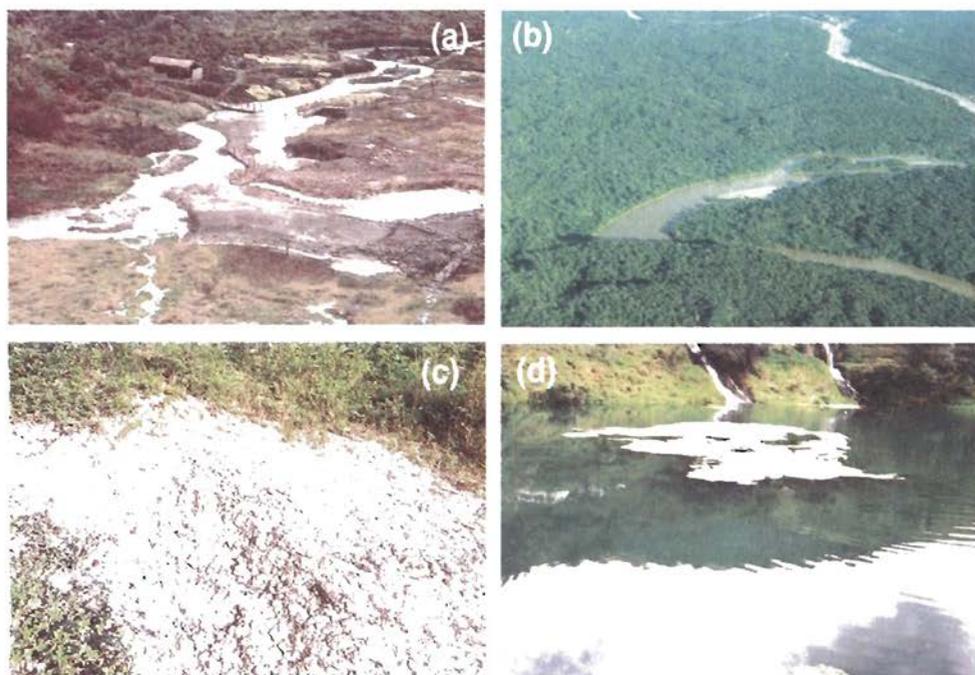


Figura 1. Ambientes naturales que propician la presencia de diferentes grupos de microorganismos a) Fuentes termales de Pisimbalá (departamento del Cauca), b) Reducto selvático de la Costa Pacífica en el departamento del Valle, c) Suelos salinos del Valle del Cauca v. d) Ambiente acuático del departamento del Cauca.

caso de *Natranobacterium gregoryi*. Muchos de estos microorganismos alcalófilos se han utilizado con fines industriales, pues producen proteasas alcalinas que pueden emplearse como suplemento para los detergentes.

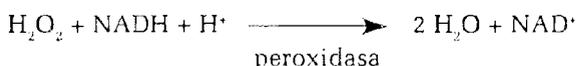
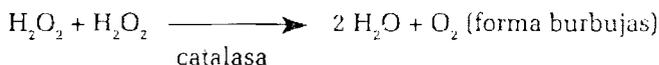
Los procesos metabólicos de los organismos ocurren en un ambiente acuoso lo que hace que la vida esté ligada a la presencia de agua líquida, cuya disponibilidad no sólo depende del contenido del ambiente, sino también de la concentración de solutos en ella. Dicha concentración va a definir que el agua difunda hacia el interior —turgencia— o exterior de la célula, plasmólisis. Los microorganismos **halófilos** son capaces de crecer a concentraciones de cloruro de sodio entre 1 y 30%, localizándose en este extremo aquellos fuertemente halófilos como *Haloferax volcanii*. También hay organismos que crecen en elevadas concentraciones de azúcar —**osmófilos**—, otros que se desarrollan en ambientes con escasa agua disponible —**xerófilos e hidrófilos**— que se tornan inactivos cuando la tensión de agua es superior a 7.1 megapascales (= 71 atm). En ambientes como el suelo, la máxima actividad de los microorganismos ocurre a tensiones entre 0.01 y 1 megapascales.

Dependiendo de la disponibilidad de agua, los microorganismos acuden a diferentes estrategias que les permitan obtener agua del ambiente, como por ejemplo, incrementar la concentración interna de sustancias muy solubles en agua —solutos compatibles— tales como azúcares (sacarosa, trehalosa), polialcoholes (glicerol, manitol), aminoácidos y derivados (glicocola betaína, ectoína y prolina, entre otros) y en caso de ambientes salinos extremos, al ión K^+ .

Los microorganismos varían en sus necesidades de O_2 . Los **aerobios** crecen en tensiones de oxígeno total normales en el aire (21%) y algunos son capaces de soportar concentraciones más altas. Dentro de este grupo están los **microaerofilicos** que requieren su presencia, pero las concentraciones deben ser menores a las del aire. Los **anaerobios**, por el contrario, no utilizan esta molécula como captadora final de electrones; algunos de ellos, a pesar de no emplear el O_2 en su metabolismo pueden crecer en su presencia por lo cual se los denomina **aerotolerantes**, mientras que para otros es letal, es el caso de los **anaerobios estrictos**, los cuales perecen en atmósferas aeróbicas posiblemente por su incapacidad enzimática para degradar algunos derivados que se producen en la reducción del oxígeno hasta agua durante la respiración, tales como el peróxido de hidrógeno (agua oxigenada ó H_2O_2), superóxido (O_2^-) y radicales hidroxilo (OH^{\cdot}). Los peróxidos pueden dañar los componentes celulares, siendo más tóxicos los O_2^- y radicales hidroxilo.

Los organismos aerobios, a diferencia de los anaerobios estrictos, están equipados con enzimas capaces de degradar estos productos tóxicos. La más conocida es la catalasa que degrada el peróxido de hidrógeno, al igual que la

peroxidasa. Ambas tienen en común que dan origen a agua, y como diferencia que la actividad de la catalasa libera O_2 , así:



El superóxido es degradado por la enzima superóxido dismutasa, la cual, en trabajo combinado con la catalasa, puede reconvertir los superóxidos a oxígeno. Los aerobios y aerobios facultativos generalmente contienen estas dos enzimas; la superóxido dismutasa es fundamental en los microorganismos aeróbicos y su carencia en los anaerobios estrictos hace que el oxígeno sea mortal para ellos.

Entonces, en general se puede decir que dependiendo de sus necesidades de oxígeno, los microorganismos pueden agruparse en aerobios estrictos u obligados, aerobios facultativos, microaerófilos, anaerobios estrictos y aerotolerantes.

Muchos microorganismos aerobios facultativos pueden degradar un mismo sustrato por la vía de la respiración y el de la fermentación. Un ejemplo bastante conocido —que se utilizó en el capítulo anterior— es el de las levaduras *Sacharomyces cerevisiae*, que si se cultivan en condiciones anaeróbicas fermentan la glucosa a alcohol y CO_2 , mientras que si su crecimiento ocurre en presencia de O_2 , respiran la glucosa oxidándola completamente hasta CO_2 .

La respiración y la fermentación microbianas, además de la función metabólica que cumplen naturalmente, pueden ser utilizadas por el hombre con fines industriales. El vino, al igual que la cerveza, whisky, vodka, ron, ginebra, sake y chicha son aplicaciones prácticas del metabolismo fermentativo, mientras que ácidos orgánicos, aminoácidos, etc., son producidos mediante manipulación del metabolismo respiratorio microbiano.

Pruebas sencillas de laboratorio, como la aplicación de agua oxigenada (H_2O_2) sobre el cultivo puro de un microorganismo, su crecimiento en sustratos azucarados en condiciones aeróbicas y/o anaeróbicas controladas y la degradación de almidones, son indicativos de la presencia de enzimas de diferente naturaleza y la capacidad de diversos microorganismos de realizar o no, esta o aquella actividad metabólica, dependiendo de la información genética que posean (Figura 2).

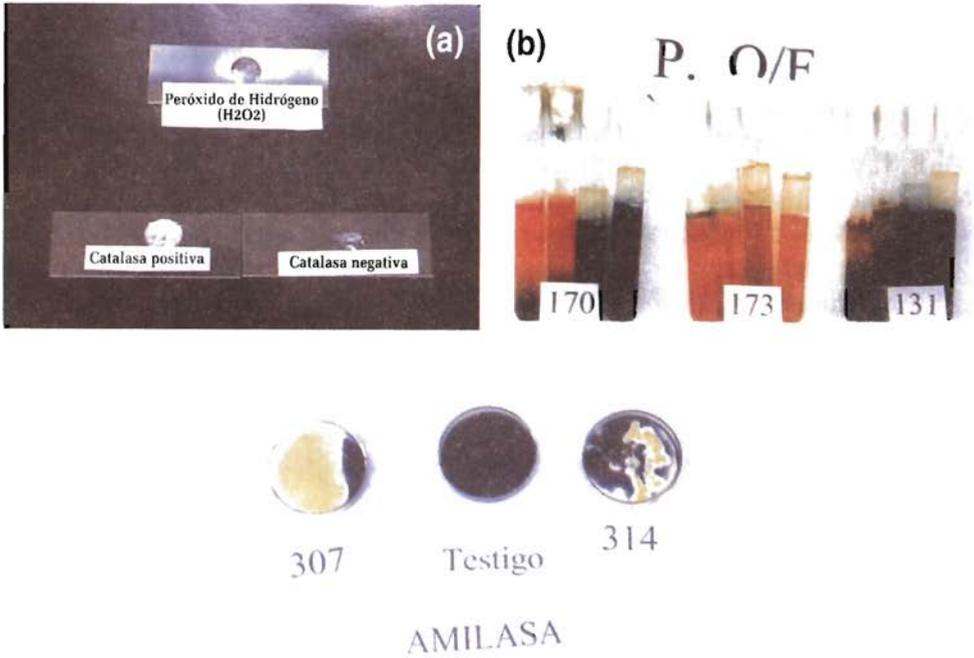


Figura 2: Actividades enzimáticas en diferentes microorganismos: a) Al agregar agua oxigenada a la muestra de bacterias de la izquierda, se observa que posee la enzima catalasa y la de la derecha no. b) El crecimiento de bacterias en medios ricos en glucosa, permite concluir que la bacteria 170 degrada el medio en condiciones aeróbicas, mientras que la 173 lo hace en presencia y ausencia de oxígeno, es decir, es aeróbica facultativa c) La bacteria 307 posee la enzima amilasa y degrada un sustrato rico en almidón, en cambio, la bacteria 314, al no tener esta enzima no tiene capacidad de utilizar esta fuente de energía.

Ejemplos de metabolismo microbiano

Procesos catabólicos, escisión o descomposición de sustancias

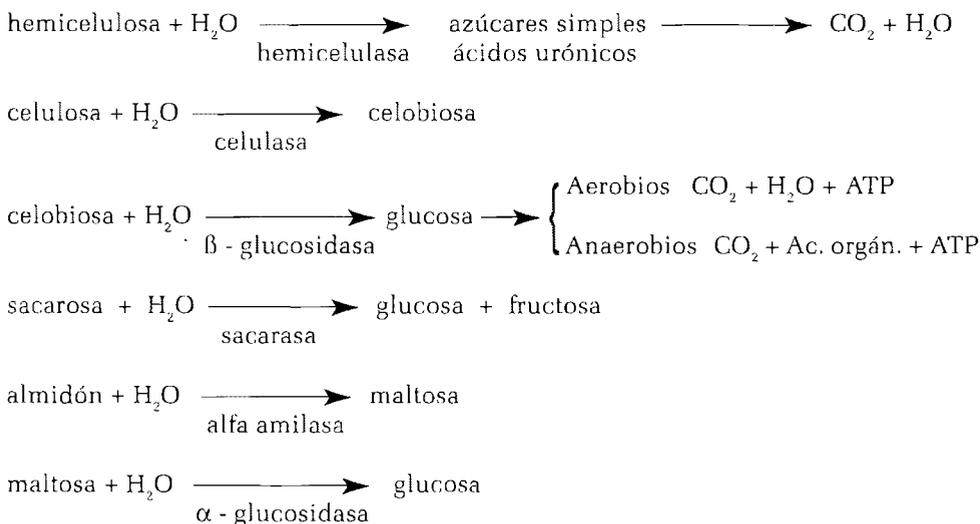
Catabolismo de carbohidratos

Cualquier sustancia que ocurra naturalmente puede ser degradada por una o varias especies microbianas, las cuales, como se afirmó con anterioridad, la utilizan para derivar su energía para sus funciones vitales y obtener moléculas más simples que les sirvan de piezas fundamentales para la fabricación de sus componentes celulares específicos.

Los nutrientes y la cantidad de energía que provea una sustancia van a depender de lo que ella contenga y de las condiciones ambientales en las cuales ocurra su degradación por parte de los microorganismos. Así se po-

drían analizar un buen número de sustratos al nivel de la naturaleza y en condiciones de laboratorio. Tomar los tejidos vegetales que llegan al suelo y se convierten en fuente de nutrimentos para los microorganismos puede servir para ilustrar la degradación o catabolismo de sus componentes.

El Cuadro 2 enseña las macromoléculas que están presentes normalmente en los tejidos vegetales. La degradación de los disacáridos (sacarosa, lactosa), trisacáridos (rafinosa) y polisacáridos (celulosa, hemicelulosa) por hongos y bacterias ocurre en el exterior de los microorganismos, quienes excretan sus enzimas (exocelulares) al medio. Mediante reacciones hidrolíticas, estos compuestos son degradados a sus componentes más simples —monosacáridos— como la glucosa, así:



CUADRO 2. COMPOSICIÓN MEDIA DE LOS TEJIDOS VEGETALES

Macromolécula	%
Carbohidratos	30 -75
Lignina	10 - 30
Celulosa	20 -50
Hemicelulosa	10 -30
Azúcares (hexosas y pentosas)	1 - 5
Proteínas y compuestos nitrogenados	1 -15
Ceras, grasas, taninos	1 - 8
Ácidos orgánicos, pigmentos y otros	5 -20

Fuente: Siqueira y Franco, 1988; Gómez Z. y Sánchez de P., 2000.

Cada una de las moléculas analizadas es descompuesta por microorganismos específicos. Así, sobre la celulosa actúan bacterias aerobias: *Cellulo-*

monas, mixobacterias —*Cytophaga*—, bacterias anaerobias y termofílicas —*Clostridium*, *Ruminococcus*—, actinomicetos —*Streptomyces* y *Nocardia*—hongos filamentosos —*Aspergillus*, *Penicillium* y *Trichoderma*— y protozoarios como *Hartmanella*. Algunos microbios de estos géneros pueden también degradar almidón como los actinomicetos citados, *Clostridium* y *Aspergillus*, a los cuales se suman *Bacillus*, *Pseudomonas* y *Fusarium*, entre otros.

Moléculas como la hemicelulosa y celulosa, insolubles en agua, son degradadas hasta glucosa —la cual es soluble—. Esta última penetra a la célula microbiana donde es consumida como fuente de energía para lo cual es atacada por las enzimas endocelulares microbianas. La mayoría de los microorganismos heterótrofos utilizan esta molécula, pero la forma como la degradan depende del contenido enzimático de las diferentes especies, es decir, de su genoma.

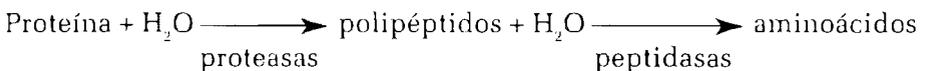
La degradación de la glucosa por los diferentes organismos que la usan como fuente de energía sigue el esquema general de la glucólisis y/o sus modificaciones, pero a partir del piruvato se pueden originar gran variedad de moléculas, sin embargo, ninguna especie microbiana es capaz de producirlas todas. La **Figura 2** del capítulo anterior da ejemplos de esta naturaleza.

Catabolismo de proteínas y otros compuestos nitrogenados

La degradación de las proteínas de origen vegetal y animal provee de aminoácidos esenciales a los microorganismos. Al mismo tiempo, la proteólisis es el inicio de la mineralización del nitrógeno que hace posible la presencia de amonio y nitratos, formas disponibles de N para los autótrofos y quimiolitótrofos.

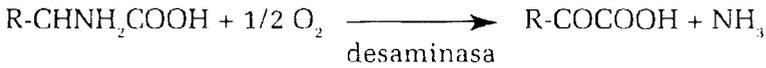
Las proteínas son demasiado grandes para atravesar la membrana celular de los microorganismos, por lo tanto su digestión ocurre por enzimas exocelulares. Entre los organismos proteolíticos se conocen bacterias —*Pseudomonas*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Serratia*, *Proteus* y *Micrococcus*—, hongos —*Alternaria*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Rhizopus* y *Cladosporium*— y también los actinomicetos.

La hidrólisis de las proteínas ocurre así:

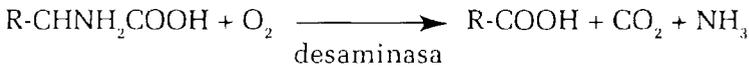


Los aminoácidos pueden ser incorporados a las células microbianas como unidades para la construcción de sus propias proteínas o ser degradados a formas más simples, mediante diferentes reacciones:

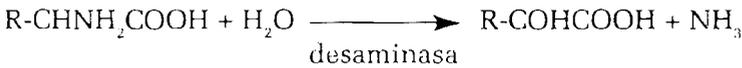
- desaminación oxidativa



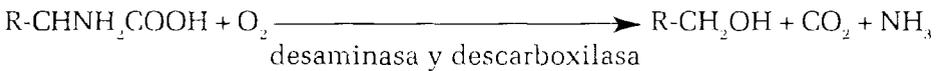
proceso que puede estar unido a una descarboxilación:



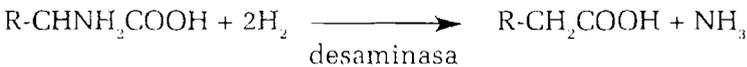
- desaminación hidrolítica



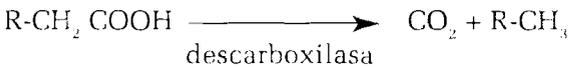
también puede ocurrir descarboxilación:



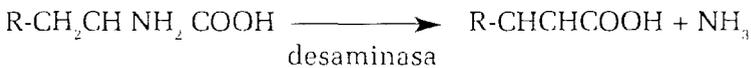
- desaminación reductiva



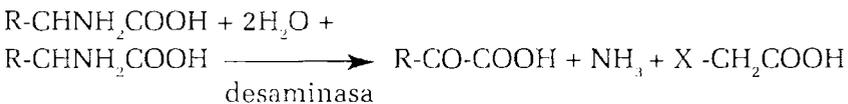
Puede ocurrir la descarboxilación del ácido graso:



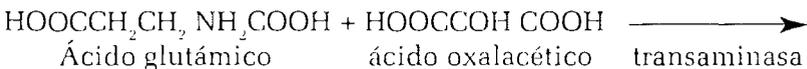
- desaminación directa



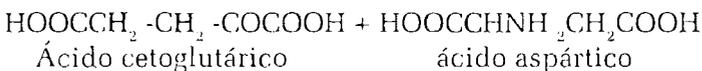
- desaminación oxidativa-reductiva, en la cual un aminoácido sirve de donador de hidrogeniones y otro de aceptor de ellos.



- transaminación: es una reacción importante en el metabolismo de los aminoácidos, en la cual un grupo amino de un aminoácido se transfiere a un ceto-ácido, por ejemplo la transaminación del ácido glutámico en ácido aspártico:

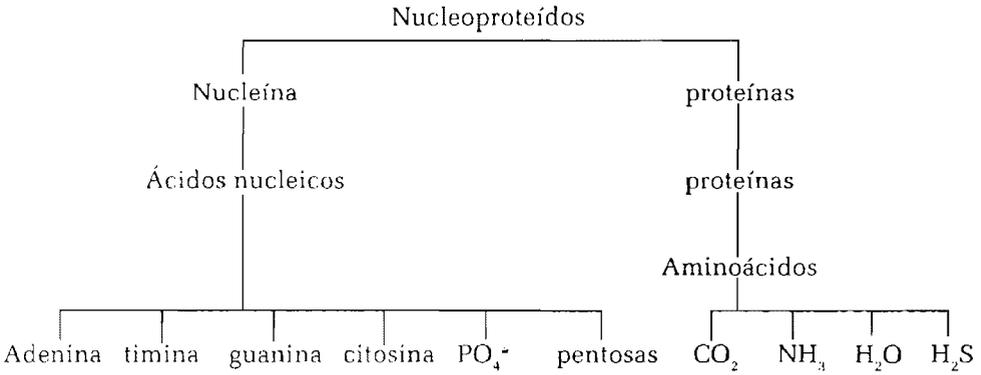


Ácido glutámico ácido oxalacético



Ácido cetoglutámico ácido aspártico

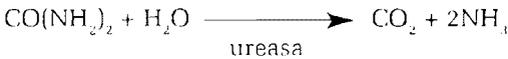
En la descomposición de nucleoproteídos por hidrólisis se obtienen bases nitrogenadas y proteínas, así:



La degradación de aminoácidos azufrados como la cistina, cisteína, metionina, en condiciones anaeróbicas produce ácido sulfhídrico, mercaptano y metilmercaptano, los cuales se caracterizan por olores desagradables. En estas mismas condiciones ambientales, los aromáticos como el triptófano, originan ácido indolacético —escatol e indol— que junto con los anteriores participan en la producción de los olores propios de las putrefacciones. Es conveniente tener en cuenta que el ácido indolacético tiene efecto estimulante sobre el crecimiento de las raíces de las plantas. En condiciones aerobias, la descomposición de estos aminoácidos finalmente produce amoníaco, sulfato, anhídrido carbónico y fosfatos.

Degradación de la urea

Esta molécula es utilizada como fertilizante, sin embargo, también se encuentra en las excreciones de los animales y cuando se descomponen las bases nitrogenadas de los ácidos nucleicos. Diferentes hongos, bacterias y actinomycetos poseen la capacidad de degradar la urea:



El metabolismo de la urea es aeróbico pero puede ocurrir en condiciones anaeróbicas ya que la ureasa es una enzima exocelular que puede ser retenida por el suelo. El amoníaco resultante de este proceso ocasiona cambios en el pH del medio (lo alcaliniza).

El principal producto de este proceso y en general de la descomposición de los aminoácidos es el amoníaco, que puede ser tomado por las plantas y por los microorganismos, u oxidado a nitratos mediante el proceso llamado nitrificación, que se ilustró en el capítulo anterior, como ejemplo de respiración aeróbica de sustratos inorgánicos.

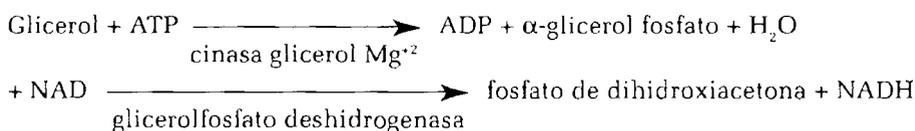
Del catabolismo de los aminoácidos, además del nitrógeno, quedan los esqueletos de carbono, los cuales entran al ciclo de Krebs. Esta incorpora-

ción puede ser por diferentes vías como por ejemplo acetyl-Coa, α -cetoglutarato, succinato, fumarato u oxalacetato.

Catabolismo de lípidos

Los lípidos son componentes fundamentales de las membranas celulares y también son constituyentes de materiales de reserva de microorganismos. Los triglicéridos o grasas son ésteres de glicerol y ácidos grasos. Al igual que en el caso de los carbohidratos complejos y las proteínas, su degradación ocurre por enzimas exocelulares llamadas lipasas, formándose glicerol y ácidos grasos libres.

El glicerol es metabolizado por los microorganismos por la vía conectada con la degradación de los carbohidratos. El fosfato de dihidroxiacetona se metaboliza por glucólisis.



Los ácidos grasos son oxidados removiéndose sucesivamente fragmentos de dos carbonos en forma de acetyl-CoA, que entran al ciclo de Krebs, y los átomos de hidrógeno o sus electrones correspondientes pasan a ser parte de la cadena respiratoria que lleva a la fosforilación oxidativa.

En síntesis, los productos finales del catabolismo de las grasas son ácidos grasos, ácido acético, propiónico, valerianico y butírico, los cuales en condiciones aeróbicas se descomponen en anhídrido carbónico y agua, mientras que en ausencia de oxígeno se acumulan o transforman en otros productos orgánicos como alcoholes y metano, cuyo metabolismo se ilustra más adelante.

Catabolismo de hidrocarburos

Entre los compuestos orgánicos difíciles de descomponer están los hidrocarburos debido a que pocos microorganismos pueden utilizarlos como sustratos, entre ellos, *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Nocardia* y algunos hongos. Cuando se trata de hidrocarburos alifáticos de cadena larga como el hexadecano y el octadecano, su descomposición ocurre en condiciones aeróbicas. Estos hidrocarburos son estables en condiciones anóxicas y constituyen la base de las reservas de petróleo. Los alifáticos no saturados pueden ser degradados por bacterias reductoras del sulfato y otras anaeróbicas.

Los hidrocarburos aromáticos en condiciones naturales pueden ser catabolizados en condiciones aeróbicas o anaeróbicas y requieren de la presencia de oxigenasas. Por la primera vía se obtienen inicialmente productos sim-

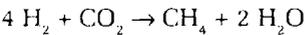
ples como protocatecuato o el catecol que continúan degradándose a formas más sencillas que posteriormente entran al ciclo de Krebs como succinato, acetil CoA o piruvato. En condiciones anaeróbicas o anóxicas los intermedios —ácidos grasos o dicarboxílicos— se descomponen hasta acetil-CoA que puede entrar al ciclo de Krebs o ser precursores para procesos anabólicos como se verá más adelante.

El metano: El hidrocarburo más sencillo

Dentro del ciclo del C, el metano (CH₄) reviste interés pues se vislumbra como biocombustible de amplio uso en el tercer milenio, junto con el metanol. La producción de esta molécula la realizan microorganismos clasificados como Archaea, ubicados en géneros como *Methanobacterium*, *Methanococcus* y *Methanosarcina*, entre otros.

Los metanógenos hacen parte de los organismos vivos más primitivos de la tierra ya que pueden crecer en forma autótrofa con base en H₂ y CO₂ en condiciones anaerobias estrictas, aparentemente las predominantes en la atmósfera primitiva del planeta.

Como se estudió en el capítulo anterior, estos microorganismos obtienen su ATP por respiración anaeróbica, utilizando CO₂ como aceptor de electrones y H₂ como donador, reduciéndolo a CH₄, en un proceso llamado metanogénesis.



Son escasos los compuestos de carbono que son precursores directos de la metanogénesis, entre ellos, metanol, CH₃OH; el formiato, HCOO⁻; metilmercaptano, CH₃SH; el acetato CH₃COO⁻ y las metilaminas pueden convertirse en metano. Estas moléculas son producidas por diferentes microorganismos a partir de materia orgánica compleja, en ambientes anóxicos, como pantanos, zonas encharcadas, micrositos anaeróbicos que se presentan entre las partículas del suelo, biodigestores, el rumen, tracto intestinal de mamíferos, insectos que se alimentan de madera, endosimbiontes de amebas y flagelados, entre otros.

Es así como a partir de polímeros de elevado peso molecular —polisacáridos, proteínas y grasas— la actividad conjunta de diferentes microorganismos conduce a la formación de CH₄. La Figura 3 resume los procesos anóxicos —fermentación y respiración anaeróbica— que dan origen a CH₄. Como se presentó anteriormente, las bacterias celulolíticas degradan la celulosa a celobiosa y ésta a su vez a glucosa, a partir de la cual se producen diversidad de moléculas: acetato, propionato, butirato, succinato, alcoholes, H₂ y CO₂. La totalidad del H₂ producido en estos procesos fermentativos la consumen las bacterias metanogénicas, homoacetogénicas o reductoras de sulfato. Fue-

ra de ello, como se observa, el acetato puede ser convertido en metano por algunos microorganismos metanogénicos.

Las bacterias que degradan ácidos grasos y alcoholes para obtener ATP producen abundante H_2 que se convierte en limitante para su crecimiento, situación que es superada en la naturaleza asociándose con microorganismos consumidores de H_2 —como los metanógenos o bacterias reductoras de sulfato—. A esta relación se la denomina sintrofia, que significa «comiendo juntos» y el género *Syntrophomonas* es un ejemplo de degradador de ácidos grasos con producción de acetato, CO_2 y H_2 , los cuales pueden ser consumidos por las arqueas metanogénicas o también por bacterias reductoras de sulfato.

En la conversión anaeróbica de polímeros complejos a metano, exceptuando las bacterias celulolíticas, los otros grupos microbianos que intervienen dependen unos de otros, dándose una transferencia de electrones entre especies, que se ha denominado transferencia interespecífica de hidrógeno que conduce a la formación de CH_4 .

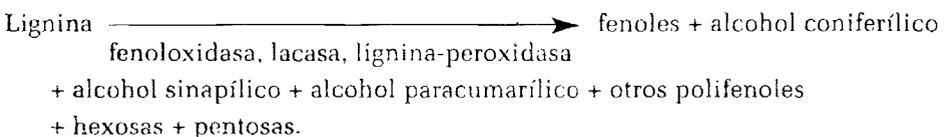
Así como el CH_4 se acumula para que algunos microorganismos puedan obtener su ATP mediante la metanogénesis, también hay otros que son capaces de degradarlo con fines energéticos (Figura 3). En su oxidación interviene la enzima metano monooxigenasa:



Las bacterias oxidadoras del metano o metanótrofas, son aerobias estrictas, en el ciclaje del carbono se encargan de convertir este compuesto en material celular y en CO_2 ; algunos géneros de ellas son: *Methylococcus*, *Methylocystis*, *Methylobacter*, etc.

Catabolismo de otras moléculas: La lignina

La lignina es un polímero aromático complejo, componente mayoritario de la madera, estructuralmente relacionado con muchos compuestos que causan problemas de contaminación en suelos; es también fundamental para la formación de humus en el suelo. Este polifenol complejo aparentemente es estable a la degradación anaeróbica y se descompone mediante la acción microbiana en condiciones aeróbicas:



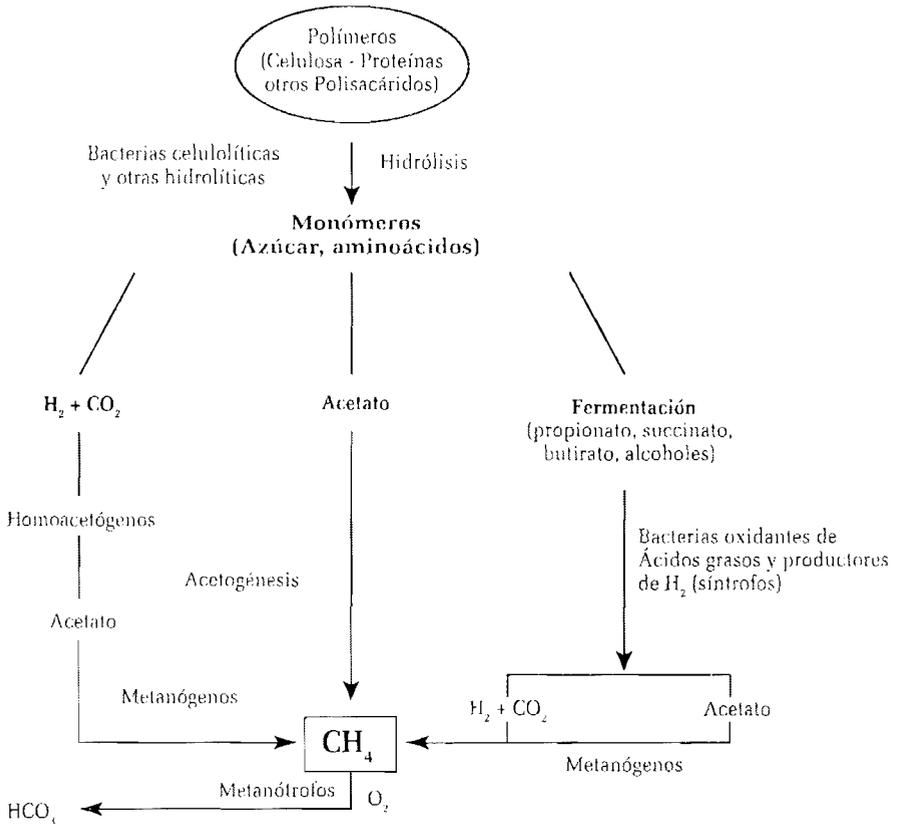


Figura 3: Formación y degradación del metano, a través de la acción de microorganismos metanogénicos y metanótrofos.

Procesos anabólicos, de construcción o biosíntesis microbiana

La biosíntesis en los microorganismos permite que estos construyan las moléculas pequeñas y macromoléculas que los integran y las cuales requieren para realizar su crecimiento. Aquellas pequeñas pueden encontrarse libres en el citoplasma o constituir parte de las más grandes. Estas moléculas pequeñas comúnmente son las mismas en organismos diferentes. Las macromoléculas, por el contrario, son diferentes y confieren las características que distinguen a un microorganismo de otro, hasta el punto que la diversidad de organismos es un reflejo de la extensa gama de macromoléculas que se encuentran en la naturaleza.

Algunos organismos como los fotolitótrofos son capaces de elaborar sus componentes celulares —pequeñas y macromoléculas— a partir de CO₂, H₂O

y energía solar, mientras que otros deben recurrir al medio externo para obtener las moléculas pequeñas que no pueden construir y que son básicas para fabricar sus macromoléculas. Estas últimas se construyen siempre al interior del organismo y caracterizan cada especie.

En general, se puede afirmar que para hacer sus macro y pequeñas moléculas, los microorganismos requieren de energía, la cual es suministrada por el ATP y de «piezas» o moléculas simples, que ensamblan, dependiendo de la información genética del microorganismo. Esos componentes «simples» son intermediarios que se forman durante el catabolismo y que pueden ser usados para la obtención de ATP o para procesos anabólicos. La Figura 4 muestra estos intermediarios o precursores, los cuales se originan en la glucólisis y en el ciclo de Krebs.

Aunque estos precursores o intermediarios pueden ser utilizados con fines catabólicos y/o anabólicos, la vía química en la biosíntesis de una molécula, normalmente no es igual a la que se sigue para su catabolismo, y aunque puede haber corredores metabólicos con varios pasos idénticos -vías anfibólicas - normalmente hay por lo menos una o varias reacciones enzimáticas que son diferentes en las reacciones de biosíntesis y de descomposición. Estas diferencias aseguran la permanencia de moléculas constituyentes de estructuras biológicas estables.

Además, la biosíntesis microbiana al requerir ATP está ligada obligatoriamente con la desintegración de esta molécula, cuyo proceso es exergónico e irreversible en la dirección del anabolismo. Fuera de ello, las enzimas que controlan y regulan la velocidad de las reacciones catabólicas no participan en el anabolismo, es decir, que la regulación de ambos procesos es independiente. La biosíntesis se regula por la concentración de los productos finales y la célula, en condiciones normales, sólo sintetiza lo que necesita de un compuesto, en un espacio y tiempo determinados.

Palleroni (1980) presenta un esquema resumido de vías de biosíntesis de algunas moléculas pequeñas y macromoléculas fundamentales que se derivan de ellas (Figura 5). La glucosa como molécula de amplia utilización puede ser convertida en diversos azúcares, incorporada a polisacáridos —para constituyentes celulares o materiales de reserva—, degradada a compuestos de dos carbonos que se incorporan al ciclo de Krebs, o se convierte en precursora de lípidos y/o aminoácidos. También puede ser convertida a pentosas o intervenir en la síntesis de purinas y pirimidinas, materias primas para la síntesis de ácidos nucleicos. Fuera de ello, puede servir de base para las porfirinas, constituyentes de citocromos y clorofilas.

Atlas, 1990, permite entender la estrecha relación entre el anabolismo y catabolismo de los organismos y comprender por qué son estos dos proce-

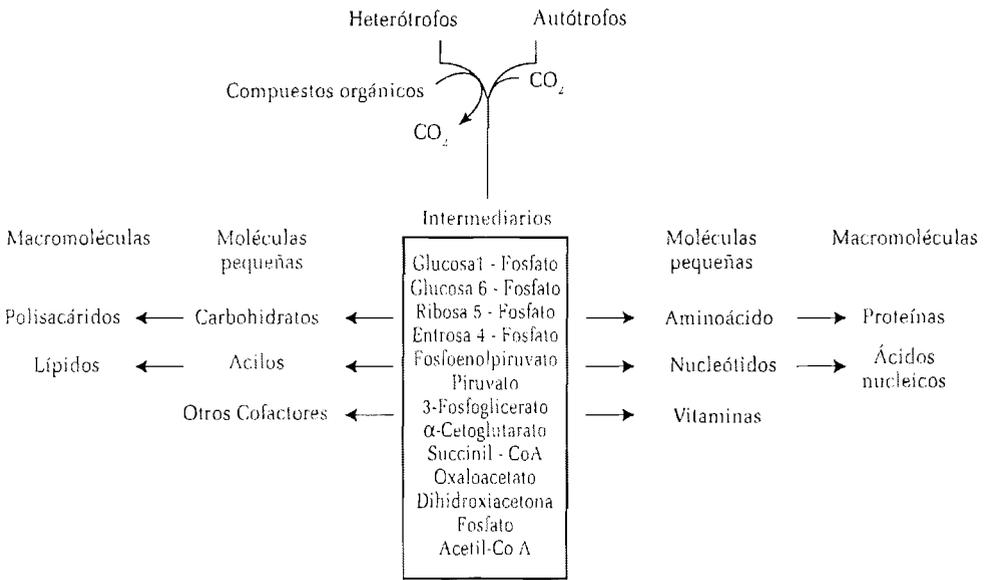


Figura 4: Precursores o intermediarios metabólicos que se originan en la glucólisis, ciclo de Krebs y pueden ser utilizados por los microorganismos en biosíntesis.

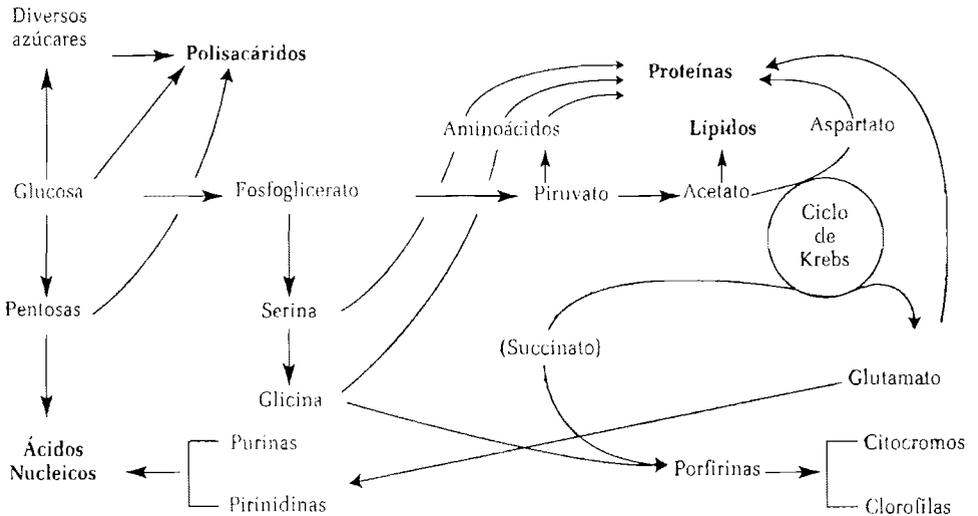


Figura 5: Esquema simplificado de rutas de biosíntesis de moléculas pequeñas y macromoléculas constituyentes de las células microbianas.

sos, analizados holísticamente, con sus características en común y particularidades, los que conforman el metabolismo microbiano (Figura 6).

Con esta visión integral del metabolismo se presentan ejemplos de biosíntesis de algunas moléculas fundamentales.

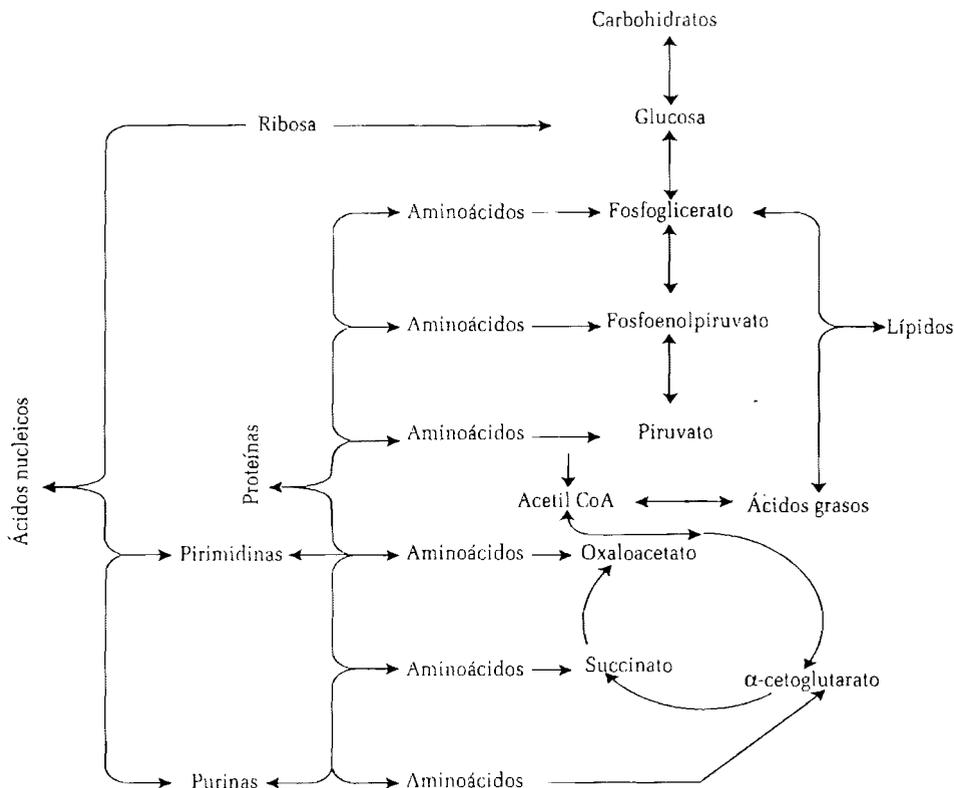


Figura 6: Rutas metabólicas en el catabolismo y el anabolismo. Se observa que algunos corredores bioquímicos son similares y a través de estas vías anfibólicas el carbono puede ser revertido dando origen a una red que conecta las principales macromoléculas.

Biosíntesis de carbohidratos

Las hexosas y pentosas son azúcares muy importantes para la construcción de macromoléculas esenciales. Las primeras pueden ser obtenidas por los microorganismos del medio externo o sintetizarlas en su interior usando precursores diferentes a los carbohidratos.

Cuando el microorganismo utiliza una hexosa por ejemplo, la glucosa como fuente de carbono y energía, esta misma se convierte en precursora de las hexosas que requiere sintetizar el organismo. La glucosa-6-fosfato —pro-

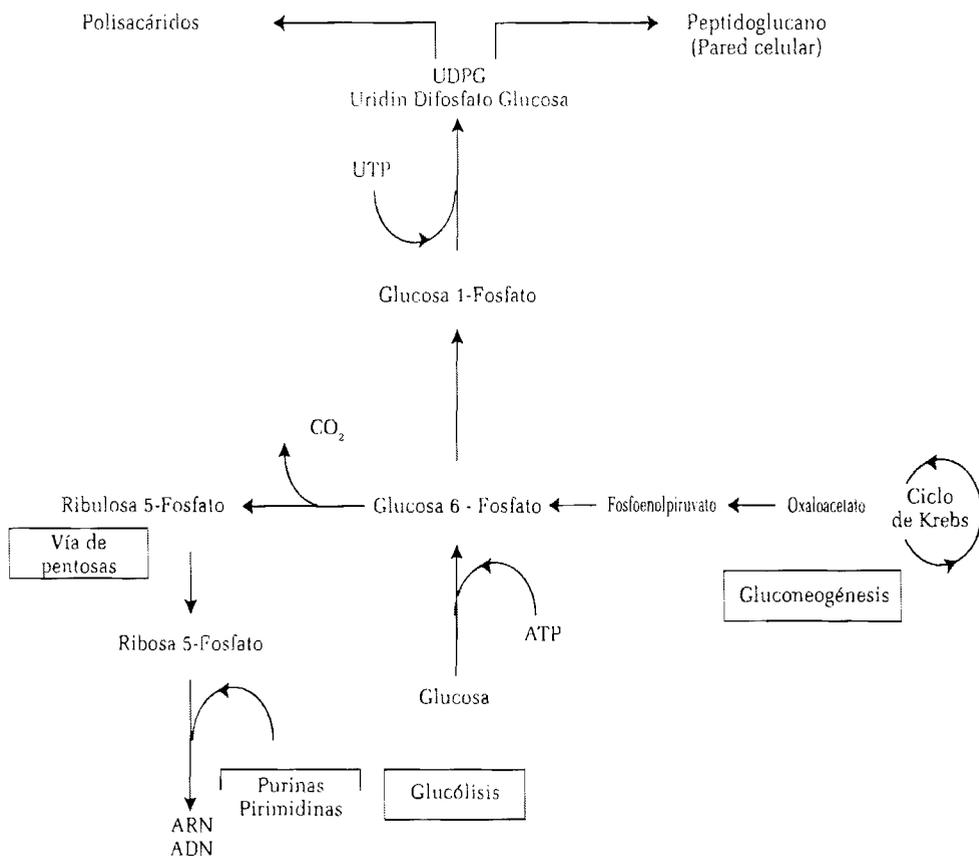


Figura 7: Vías a través de las cuales se efectúa anabolismo de hexosas y pentosas.

cedente de la glucólisis— y el uridin difosfoglucosa (UDPG) son intermediarias clave en el metabolismo de las hexosas. Esta última, sintetizada a partir de uridín trifosfato y glucosa-1-fosfato (originada en la glucosa-6-fosfato), constituye la base para la construcción de polisacáridos y de nucleósidos difosfato requeridos en la biosíntesis. La UDPG se considera la molécula intermediaria central en el anabolismo de la glucosa (Figura 7), mientras que en el catabolismo es la glucosa-6-fosfato.

En otros casos, el microorganismo mediante un proceso llamado gluconeogénesis sintetiza la glucosa al interior de sus células, usando precursores diferentes a carbohidratos. El precursor de partida es el fosfoenil piruvato o fosfoenil pirúvico —intermediario en la glucólisis— que da origen a glucosa - 6- fosfato.

Con relación a las pentosas, estas se obtienen generalmente por descarboxilación de las hexosas por diferentes vías que llevan a la formación de la

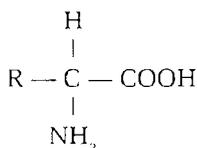
ribosa y desoxirribosa, fundamentales para la síntesis de ARN y ADN, respectivamente. La Figura 7 resume la biosíntesis de estos azúcares.

Biosíntesis de aminoácidos

Algunos microorganismos pueden obtener del medio todos o parte de los aminoácidos que requieren, otros deben proceder a sintetizarlos. El código genético codifica 21 aminoácidos que son insertados en las proteínas durante la traducción.

Los aminoácidos se forman dentro de la célula usando azúcares como materia prima, pero además requieren de nitrógeno. La mayor parte del nitrógeno está en la atmósfera en forma de N_2 y sólo pocos organismos tienen la capacidad de incorporar este nitrógeno del aire llevándolo a amoníaco, nitritos y nitratos, que son usados por el mismo organismo que lo incorpora y por el resto de los seres vivos, otra parte se encuentra en las moléculas orgánicas que contienen nitrógeno, a partir de cuya degradación lo obtienen gran cantidad de microorganismos.

Entonces, el esquema básico de un aminoácido es



Para que ocurra la biosíntesis de aminoácidos se requiere además de la construcción o existencia de un esqueleto carbonado, la síntesis y unión del grupo amino. Las moléculas precursoras de la fracción carbonada son algunos compuestos orgánicos que provienen principalmente de la glucólisis y del ciclo de Krebs, de los cuales se originan las familias de aminoácidos que se presentan en la Figura 8.

Dado que el nitrógeno puede convertirse en un factor limitante, la síntesis y unión del grupo amino es trascendental para la construcción de los aminoácidos, paso que puede ocurrir por la acción de transaminasas que intercambian un grupo amino de un compuesto a otro como se vio anteriormente, o por aminoácido dehidrogenasas que catalizan la asimilación reductiva del amonio, el cual procede del medio ambiente.

Aunque pueden existir gran variedad de aminoácidos diferentes sólo veintiuno de ellos se utilizan para construir las proteínas, independiente que se trate de una bacteria, una célula de una planta o de un hombre. Las proteínas se ensamblan al unirse un grupo amino de un aminoácido al grupo carboxilo de otro formando cadenas unidas entre sí a través de enlaces covalentes dan-

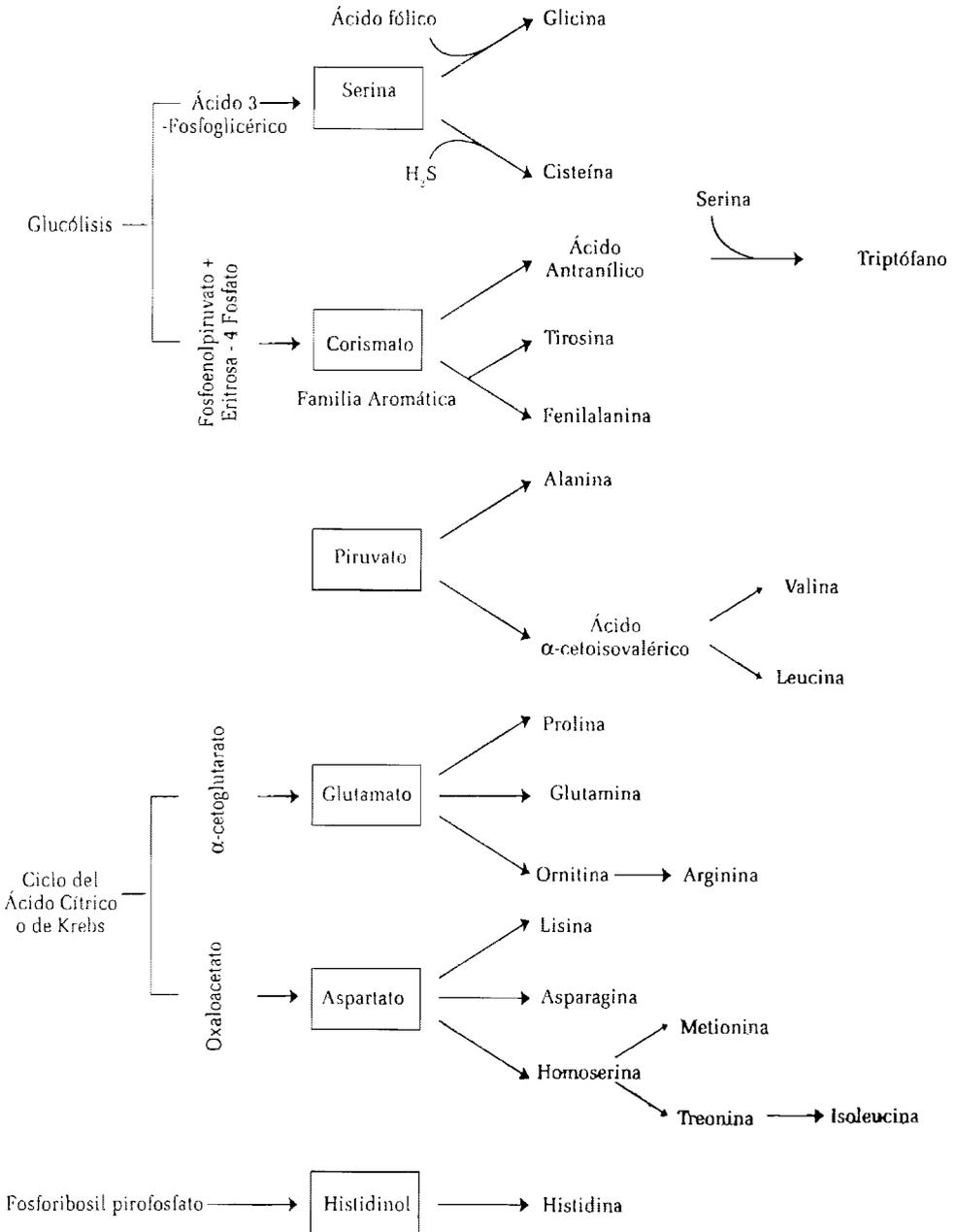


Figura 8: Origen de las familias de aminoácidos en general, a partir de precursores carbonados procedentes de la glucólisis y ciclo de Krebs.

do origen a polipéptidos. La secuencia de los aminoácidos en la cadena polipeptídica es definida por la información hereditaria que cada organismo contiene y que va a determinar la especificidad de sus proteínas.

Biosíntesis de lípidos

Los ácidos grasos se forman a partir de fragmentos de Acetil-CoA cuyo grupo acetilo se transfiere a una proteína llamada ACP —Acyl carrier protein— a cuyo conjunto se une la enzima ácido graso sintetasa. La vitamina biotina es fundamental para su construcción. Los ácidos grasos más comunes en procariotas son compuestos de 12 a 20 carbonos. Los ácidos grasos ramificados e insaturados tienen gran importancia en el mantenimiento de la fluidez de la membrana celular.

En cuanto a las grasas se forman por sucesivas esterificaciones de fosfato de glicerol por derivados de CoA y ACP para formar un diacil glicerol fosfato (ácido fosfatídico), al cual se le elimina el fosfato y se adiciona un tercer ácido graso. En los fosfolípidos el ácido fosfatídico se convierte en un derivado de los nucleótidos. Es de recordar que los fosfolípidos son constituyentes fundamentales de las membranas celulares.

Un tipo de lípidos llamados isoprenoides, que se deriva del isopreno —un hidrocarburo ramificado de cinco carbonos— cumple importantes funciones metabólicas. Dentro de ellos se encuentran los carotenoides, la coenzima Q y los bactoprenoles, que son acarreadores en la síntesis de paredes celulares bacterianas. El fitol, componente de la clorofila también es isoprenoide y los esteroides presentes en la membrana de los eucariotas son derivados del isopreno. Otros isoprenoides, ausentes en microorganismos pero comunes en vegetales, son el caucho y los terpenos, que participan en la defensa de las plantas.

La unidad del metabolismo

Como ejemplos que permiten una visión holística de la unidad del metabolismo se tienen la fotosíntesis y quimiosíntesis, con sus particularidades y puntos en común. La primera de ellas requiere la presencia de agua, luz y nutrientes. La segunda es una alternativa a la que acuden un menor número de microorganismos y se convierte en opción de vida en condiciones extremas como ausencia de luz, oxígeno y concentraciones elevadas de compuestos tóxicos como el sulfuro de hidrógeno (H_2S), entre otros (Figura 9).

La fotosíntesis es el proceso en el cual la energía lumínica es captada por la clorofila y/o pigmentos fotosintéticos en los cloroplastos (plantas y algas) o sistemas membranosos (bacterias y cianobacterias) y convertida en energía química (ATP) mediante la fotólisis o catabolismo del agua. Este ATP generado se invierte en la fijación de CO_2 a través del ciclo de Calvin, es decir, en la

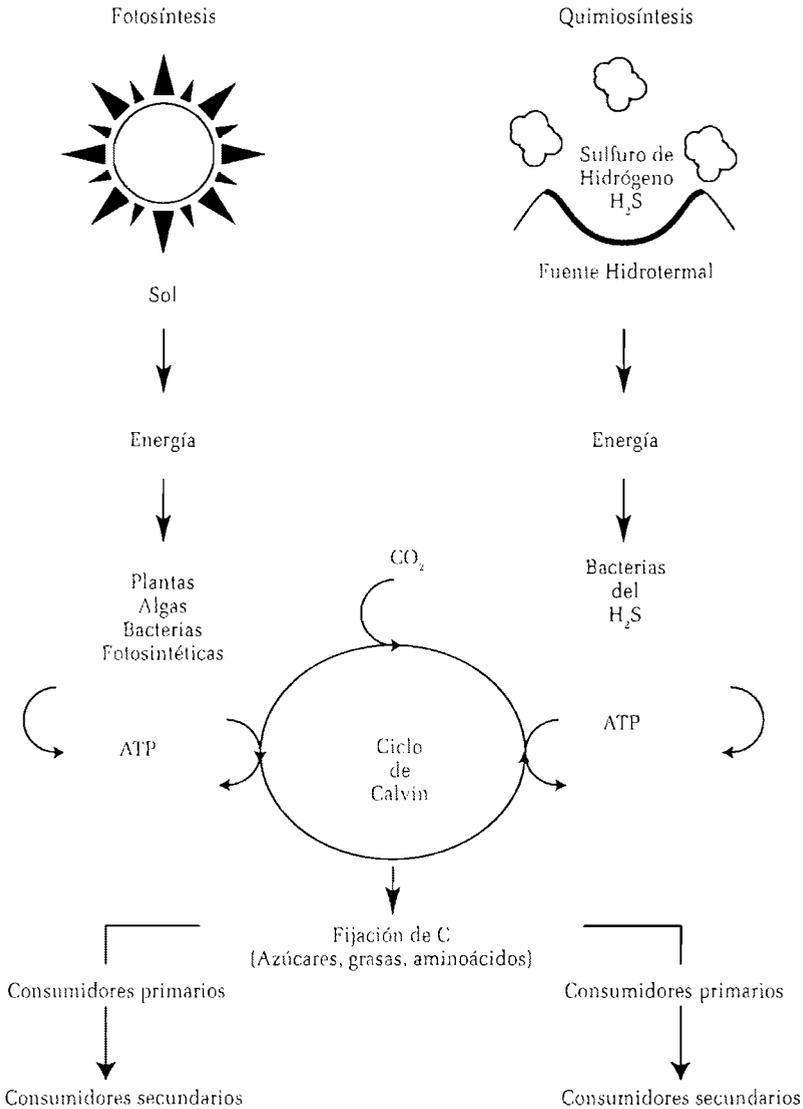


Figura 9: Similitudes y diferencias entre fotosíntesis y quimiosíntesis como ejemplos de metabolismo microbiano.

Fuente: Childress et al, 1987.

biosíntesis de compuestos reducidos de carbono, materia orgánica básica para la construcción de los constituyentes celulares y almacenamiento de reservas, y al mismo tiempo produce una molécula fundamental para la vida sobre el planeta: el oxígeno - O₂. La eficiencia de este tipo de metabolismo hace

que los fotoautótrofos o fotolitótrofos sean los productores primarios en la mayoría de los ecosistemas marinos y terrestres.

En la quimiosíntesis, al igual que en la fotosíntesis se requiere de ATP para la fijación de CO_2 . A diferencia de ella, en este caso los microorganismos para obtenerlo acuden al catabolismo de compuestos inorgánicos como el sulfuro de hidrógeno. Este ATP en forma similar a los fotoautótrofos se invierte en la fijación del CO_2 , pero aquí no se produce O_2 . En los ambientes donde habitan, estos microorganismos son productores primarios y se los denomina quimiolitautótrofos o quimiolitótrofos.

El conocimiento del proceso de quimiosíntesis ha permitido explicar la presencia de vida en fuentes termales terrestres y en manantiales termales abisales como los encontrados en 1977 por los geólogos del submarino de investigación *Alvin*, en cercanías de las Islas Galápagos, en chimeneas hidrotermales situadas a 2600 metros de la superficie. Allí, las cadenas tróficas se han organizado en torno a la capacidad de bacterias del azufre de hacer quimiosíntesis (Figura 9).

Metabolismo secundario

Además de las macromoléculas y pequeñas moléculas inherentes al crecimiento microbiano —metabolismo primario—, los organismos también fabrican y acumulan moléculas destinadas a cumplir funciones bioinformáticas, de defensa, llamadas metabolitos secundarios —aunque tal vez deberían denominarse metabolitos complementarios— cuya producción se maximiza en la fase estacionaria del microorganismo. Durante algún tiempo se pensó que eran «errores» metabólicos de la célula, pero hoy se entiende que son fundamentales en sus relaciones dentro de los ecosistemas. Para sintetizarlos los microorganismos utilizan diversos intermediarios del metabolismo primario que participan en la glucólisis y en el mismo ciclo de Krebs, como se observa en la Figura 10.

Los metabolitos secundarios más estudiados y conocidos son los antibióticos. De los 6.000 o más antimicrobianos reconocidos, alrededor del 67% son producidos por actinomicetos y cerca del 90% de ellos provienen de *Streptomyces*. Otras bacterias como *Bacillus*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, flavobacterias y hongos como *Penicillium*, *Trichoderma*, *Aspergillus* y *Fusarium*, también producen antibióticos.

La hormona sirenina es otro metabolito secundario que interviene en el reconocimiento y atracción entre los gametos de hongos inferiores como el género *Allomyces*. Los metabolitos secundarios de origen microbiano se han convertido en una industria muy importante. Además de los antibióticos, algunos de ellos exhiben propiedades como anticancerígenos, antitumorales

e hiperestrogénicos, lo cual hace prever que la microbiología industrial tiene en ellos una importante fuente de desarrollo.

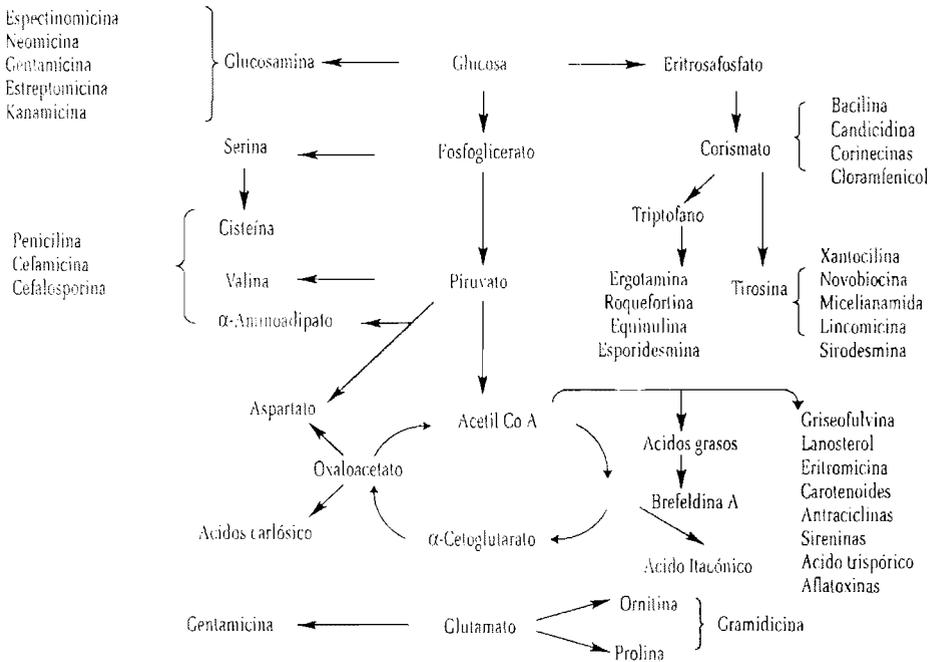


Figura 10: Vías de diversos metabolitos secundarios. Nuevamente intermediarios de la glucólisis y del ciclo de Krebs, juegan papel fundamental.

Fuente: Santana, Segura y Sánchez, 1994.

Consideraciones finales

El anabolismo y el catabolismo integran el metabolismo del organismo, el cual les permite que ejerzan su propiedad de crecimiento. Para ello, el catabolismo provee la energía (ATP) y piezas fundamentales, los cuales se utilizan para la biosíntesis de moléculas constituyentes de la célula, para su reproducción, locomoción, etc. Todas las reacciones químicas son catalizadas por enzimas, las cuales son determinadas por el genoma de cada organismo y le proporcionan su especificidad metabólica.

Esta especificidad metabólica se manifiesta en la construcción de macromoléculas características para cada microorganismo y en la degradación de unos sustratos y de otros no, adoptando rutas metabólicas que llevan a dife-

rentes productos finales, dependiendo de su contenido enzimático y de las condiciones ambientales en que se desarrollan.

Los precursores o intermediarios metabólicos que se originan en la glucólisis y/o ciclo de Krebs, pueden ser utilizados con fines catabólicos y/o anabólicos. Sin embargo, las vías químicas que se siguen no son iguales, y aunque puede haber corredores bioquímicos con varios pasos idénticos, normalmente, hay por lo menos una o varias reacciones enzimáticas que son diferentes en las reacciones de biosíntesis y de descomposición. Estas diferencias aseguran la permanencia de moléculas constituyentes de estructuras biológicas estables.

La diversidad microbiana es un reflejo de la extensa gama de macromoléculas que se encuentran en la naturaleza y que estos organismos son capaces de construir gracias a su disposición de hacer uso de diferentes sustratos y de adaptarse a condiciones ambientales, aun extremas.

Además del metabolismo primario —a través del cual los microorganismos obtienen la energía y moléculas fundamentales para su crecimiento—, los organismos también sintetizan una serie de biomoléculas que desempeñan funciones de defensa, comunicación, etc., en un proceso llamado metabolismo secundario, el cual, tal vez debería denominarse metabolismo complementario o simplemente considerar el metabolismo como uno solo. Este tiene también como precursores a compuestos originados en la glucólisis o en el ciclo de Krebs.

Los compuestos que se originan en el metabolismo primario y secundario de los microorganismos, además de la importancia que revisten para ellos en sí, constituyen la base de la microbiología industrial y biotecnológica con todos sus desarrollos presentes y futuros.

CAPITULO V

Bacterias fitopatógenas

Introducción

Los disturbios de salud de origen biótico que sufren las plantas son causados por organismos procarióticos, eucarióticos y por entidades acelulares.

En el primer grupo se localizan las bacterias y los mollicutes, dos tipos de organismos caracterizados por tener núcleo primitivo conocido como nucleoide (ADN no incluido en una membrana) y ribosomas 70 S. La principal diferencia estriba en que las bacterias poseen pared celular y los mollicutes no presentan dicha estructura, por lo cual son pleomórficos.

En el grupo de los eucariotas (organismos que presentan células con núcleo verdadero) fitopatógenos se enumeran hongos, nematodos, algas, protozoarios y plantas superiores. Las entidades acelulares están representadas por virus y viroides.

Este capítulo está dedicado a consideraciones generales acerca de las bacterias fitopatógenas en lo que corresponde a morfología, ecología, formas de diseminación, sintomatología, condiciones ambientales, taxonomía, manejo y clínica y diagnóstico. En cuanto a taxonomía se mencionarán los géneros que comprenden especies fitopatógenas, algunas de las cuales no están presentes en nuestro medio, pero constituyen problemas potenciales dado el gran número de países de los cuales se importan semillas y material vegetal en general.

Morfología

Se han descrito alrededor de 1.800 especies bacterianas, entre las cuales se encuentran patógenos del hombre, los animales, las plantas y muchas saprofitas. Anteriormente se mencionaban casi 200 especies fitopatógenas pero en la actualidad ese número se ha reducido a 80 ó 100, con base en la evolución de las técnicas de identificación de los caracteres taxonómicos.

La mayoría de las fitopatógenas tienen forma de bacilos con algunas excepciones, como *Curtobacterium*, que tiene forma cocoide en cultivos envejecidos, *Alcaligenes* sp. (bacilos o varillas cocoides o cocos), *Nocardia* sp. y *Streptomyces* sp. (filamentosos).

En cuanto a la disposición celular, generalmente son células simples (individuales) o agrupadas en pares (diplobacilos), en algunos casos dispuestas en V, aunque *Clavibacter* forma empalizadas de 4-6 células; *Erwinia* en algunos casos puede formar cadenas cortas.

Motilidad

Algunos géneros exhiben movilidad mediante flagelos dispuestos en formas variadas.

- a) **Flagelos polares:** Un solo flagelo polar *Xanthomonas*, *Xylophilus*, *Rhizomonas*, *Acidovorax*. Uno o varios flagelos polares *Pseudomonas*, especialmente la especie *P. marginalis* que presenta un haz de flagelos, y *Rhizobacter*.
- b) **Flagelos peritricos:** *Agrobacterium* presenta 1-6 flagelos y *Erwinia* numerosos, a excepción de *E. stewartii* que es no móvil. Presentan también este tipo de flagelación *Bacillus*, *Curtobacterium*, *Clostridium*, *Alcaligenes*, *Acetobacter*, *Enterobacter* y *Pantoea*.
- c) **No móviles:** *Corynebacterium*, *Xylella*, *Clavibacter*, *Rhodococcus*, *Nocardia*, *Streptomyces*, *Arthrobacter*.

Reproducción

Ocurre mediante fisión binaria o bipartición. Debe tenerse en cuenta que en algunas bacterias se ha determinado cierto tipo de intercambio genético, análogo a "reproducción sexual", el cual ocurre por conjugación, con la participación de los llamados pili sexuales. Esta característica puede aprovecharse para llevar a cabo clonación mediante ingeniería genética y establecer las llamadas genotecas.

Mediante el proceso de conjugación, lo mismo que a través de transducción (paso de genes de un hospedante a otro mediante virus), o el de transformación (transferencia de genes de una célula bacteriana a otra) o por el de mutación, pueden ocurrir modificaciones genéticas en las células bacterianas, cambios que pasan a nuevas generaciones.

Ecología

La mayoría de las bacterias fitopatógenas se desarrollan principalmente en el hospedante como parásitos y parcialmente como saprófitos en desechos vegetales o en el suelo.

E. amylovora (añublo de fuego de peral y manzanos) produce sus poblaciones en el hospedante y cuando cae al suelo su número disminuye rápidamente porque no tiene mecanismos para resistir condiciones adversas. De allí que produce ciclos de infección planta-planta debido a la naturaleza perenne de sus hospedantes, a través de insectos vectores, o a la asociación de la bacteria con los órganos de propagación o semillas.

Otras bacterias como *A. tumefaciens* (agalla de corona) *Burkholderia solanacearum* (= *Pseudomonas solanacearum*) que causa el marchitamiento vascular de algunas solanáceas y el moko del plátano y *Streptomyces scabies* (sarna común de la papa) son habitantes del suelo y aunque producen sus poblaciones en los hospedantes, ellas se reducen lentamente cuando son liberadas en el suelo. *Pseudomonas* puede sobrevivir en la rizosfera y en el rizoplano aprovechando las secreciones de las plantas hospedantes.

Clavibacter sp. sobrevive sobre, dentro o con semillas. *C. flaccumfaciens* se encontró viable en semillas de frijol después de 5 – 24 años. *C. flaccumfaciens* var. *auranticum* fue aislada y mantuvo su virulencia en semillas de frijol de 15 años. También *Xanthomonas phaseoli* var. *fuscans* fue aislada y patogénica en semillas de frijol después de 15 años.

La mayoría de las fitopatógenas se consideran invasoras del suelo y llegan a él en los tejidos de su hospedero o como células libres, pero debido a su poca habilidad para competir como saprofitos, persisten en el suelo el tiempo que resisten dichos tejidos el proceso de degradación o por períodos variables que dependen de las especies bacterianas y de las condiciones de humedad y temperatura del suelo.

Las bacterias, además de vivir en el suelo en materiales vegetales principalmente y en menor proporción libre o saprofiticamente, también lo hacen en sus exudados naturales los cuales las protegen de condiciones desfavorables. Pueden sobrevivir además dentro o sobre las semillas, otras partes de la planta o en insectos que se encuentran en el suelo. En las plantas pueden vivir epifíticamente, en yemas, sobre heridas, en sus exudados o dentro de diferentes tejidos u órganos que ellas infectan.

Diseminación

La dispersión de las bacterias de una planta a otra o de una parte a otra de la misma planta puede ocurrir a través de diversos factores:

En forma autónoma: Aquellas bacterias que poseen flagelos pueden desplazarse a muy cortas distancias.

Agua: Se considera el agente de diseminación más importante si se tiene en cuenta que las bacterias la requieren en mayor cantidad que otros microorganismos. En forma de lluvia o de riego por aspersion, produce lavado o

salpique que lleva y distribuye bacterias entre plantas o en la misma planta y desde el suelo a las partes inferiores de ellas. El agua también separa y lleva bacterias sobre o dentro del suelo a otras áreas en las cuales se encuentren plantas susceptibles.

Insectos: Pueden transportar las bacterias adheridas a su cuerpo a partir de los exudados e inocularlas con su aparato bucal en sitios específicos en los cuales ellas aseguran su desarrollo. Por ejemplo *E. amylovora* es llevada por insectos Hymenoptera a los capullos y su penetración ocurre a través de estructuras semejantes a los estomas presentes en los nectarios situados en la base de la flor.

Algunas bacterias persisten dentro del insecto y dependen de él para su dispersión y sobrevivencia. *E. tracheiphila* penetra en el insecto cuando éste se alimenta en las hojas tiernas o cotiledones de plantas sanas susceptibles, en las cuales se dispersa a través del xilema. Se ha comprobado que *E. stewartii* puede sobrevivir de una estación a otra en insectos Coleoptera (*Diabrotica duodecimpunctata*), y la incidencia y severidad de la enfermedad, bacteriosis del maíz, se puede predecir con base en la población del insecto. Este es el único caso, hasta ahora conocido, en el cual la bacteria se multiplica dentro del insecto. *E. carotovora* puede sobrevivir en pupas de la mosca de la semilla de maíz (*Hylemia ciclicrura*), aunque puede vivir en todas las etapas del ciclo del insecto. En otros casos los insectos son importantes pero no esenciales para la diseminación de algunas bacterias fitopatógenas.

Otros animales: Aunque no se conocen casos específicos, se asegura que aves, conejos y otros animales que visitan las plantas y se mueven entre ellas pueden llevar bacterias adheridas a su cuerpo y diseminarlas. Tampoco se ha comprobado que los nematodos cumplan el papel de vectores en enfermedades bacterianas aunque sí se conocen algunos pocos casos de complejos patológicos nematodo-bacteria.

Humanos: El hombre se considera un elemento importante en la diseminación de enfermedades bacterianas. En forma local (planta-planta en un cultivo) a través de la manipulación de las plantas y de las prácticas de cultivo. Las herramientas, maquinaria y ropa empleadas en dichas prácticas pueden servir como agentes de diseminación. Se sabe por ejemplo que la bacteria *Clavibacter xyli* subsp. *xyli* (raquitismo de las socas en caña de azúcar) puede sobrevivir casi por 18 días en machetes empleados en el corte. La diseminación de un área a otra, aun a grandes distancias, puede ocurrir mediante el transporte de plantas o partes de plantas infectadas o por la introducción de ellas desde otras áreas. En estos eventos las semillas de plantas infectadas por bacterias pueden llevar estas sobre o dentro de sus estructuras a cortas o grandes distancias, por cualquiera de los agentes de dispersión de semillas.

Penetración

Las bacterias no poseen mecanismos para penetrar directamente en los tejidos como lo hacen los hongos y los nematodos. Para este efecto utilizan aberturas naturales o heridas. En el primer caso la penetración ocurre a través de estomas (las aberturas más importantes para ellas), hidátodos, lenticelos, nectarios y la abertura formada en la raíz principal al emitir raíces secundarias. En la penetración a través de estomas es condición, en algunos casos, la presencia de película de agua continua desde la superficie foliar hasta la cavidad estomática lo cual facilita la penetración para las bacterias que poseen flagelos, en caso contrario la penetración se realiza en forma pasiva.

Ya se expresó la importancia de los insectos para inocular con su aparato bucal bacterias como *E. tracheiphila* y *E. stewartii* a través de las heridas que producen durante su proceso de alimentación. Las heridas naturales como cicatrices ocasionadas por la abscisión de las hojas, o durante el período de lluvias las que dejan las flores al caer, son vías de penetración para *P. savastanoi*, agente causal de la agalla del olivo.

Cuando la humedad relativa es alta, las plantas exudan la llamada agua de gutación a través de los hidátodos (poros abiertos en forma más o menos permanente), situados en los bordes y ápice de las hojas. Esa secreción así expuesta al medio ambiente puede contaminarse con bacterias. Al disminuir la humedad relativa el exudado es reabsorbido por la planta, llevando al interior su carga bacteriana. De acuerdo con algunos investigadores, ciertas bacterias pueden inclusive multiplicarse en el agua de gutación que, debido a su constitución, se puede comportar como un medio de cultivo. Está comprobado que el agua de gutación constituye fuente de inóculo importante en el caso de *Xanthomonas albilineans* (raya clorótica de la caña de azúcar) la cual se disemina a través de maquinaria.

Los lenticelos son aberturas naturales en los frutos, tallos y tubérculos, los cuales están llenos de células conectadas en forma laxa para permitir el paso del aire. A pesar de que permanecen abiertos durante la fase de crecimiento, pocos hongos y bacterias penetran a través de ellos. La mayoría de los patógenos que utilizan esta vía de penetración también lo hacen mediante heridas y los lenticelos son una alternativa secundaria y menos eficiente.

Los nectarios o nectártodos, como ya se anotó anteriormente, son vía importante para la penetración de bacterias portadas por insectos o por gotas de lluvia arrastradas por el viento a la parte basal de la flor.

Las heridas a través de las cuales pueden penetrar algunas bacterias pueden ser: a) por daño mecánico a las células y tejidos; b) heridas por insectos, y c) heridas naturales. El primer tipo de herida es aprovechado por bacterias

causantes de pudriciones suaves como *E. carotovora* y patógenos vasculares como *Clavibacter michiganense* subsp. *sepedonicum*. *A. tumefaciens* requiere, además de las heridas, la respuesta del hospedante (atracción y principio inductivo) tanto para su multiplicación inicial como para la formación posterior de agallas.

Sintomatología

Las bacterias fitopatógenas inducen el desarrollo de casi todas las clases de síntomas en las plantas que parasitan al igual que lo hacen los hongos. Ellas pueden atacar cualquier órgano de las plantas y varios géneros originan cualquier tipo de síntoma dado. Cada género contiene algunas especies capaces de ocasionar diferentes tipos de enfermedades. En forma general las bacterias que afectan plantas pueden promover el desarrollo de:

Manchas foliares: Las cuales pueden ser cloróticas, traslúcidas, intervenales, circulares, angulares, necróticas, con apariencia acuosa o seca (Figura 1a). Las manchas foliares pueden ser suscitadas por especies de los géneros *Xanthomonas* y *Pseudomonas*.

Pudriciones suaves: Ocurren en tejidos suculentos o carnosos ya sea en campo o en almacenamiento, con desprendimiento de olor fétido debido a la formación de sustancias volátiles durante la desintegración de los tejidos. Estos se vuelven blandos y acuosos y a menudo exudan masas viscosas de bacterias y residuos celulares. En muchos casos las bacterias involucradas en tales pudriciones no son patógenos sino más bien saprofitos o parásitos secundarios, o sea que crecen en tejidos muertos por otros patógenos y factores ambientales o en tejidos tan debilitados o viejos cuyo deterioro fisiológico no les permite resistir el ataque de cualquier microorganismo. Además de estos factores secundarios de pudrición, existen algunas bacterias que atacan tejidos vegetales vivos en el campo o en el almacenamiento, tales como especies de *Erwinia* (grupo caratovora o de las pudriciones suaves o blandas en frutos carnosos, hortalizas y ornamentales) (Figura 1c), *Pseudomonas* (en papa y hortalizas carnosas) y *Bacillus* y *Clostridium*, géneros recientemente incluidos entre las bacterias fitopatógenas.

Marchitamientos vasculares: Son causados por bacterias que afectan principalmente plantas herbáceas, tales como hortalizas, ornamentales y tropicales (Figura 1b). Los principales agentes de este tipo de afecciones pertenecen a especies de los géneros *Clavibacter* (*Corynebacterium*), *Erwinia*, *Pseudomonas* y *Xanthomonas*.

Agallas: Son el resultado del sobrecrecimiento no organizado o desorganizado de algunos tejidos vegetales en tallos y raíces. En este caso los agentes más importantes son especies de los géneros *Agrobacterium* y *Pseudomonas*. Las agallas también pueden originarse por la proliferación de tejidos

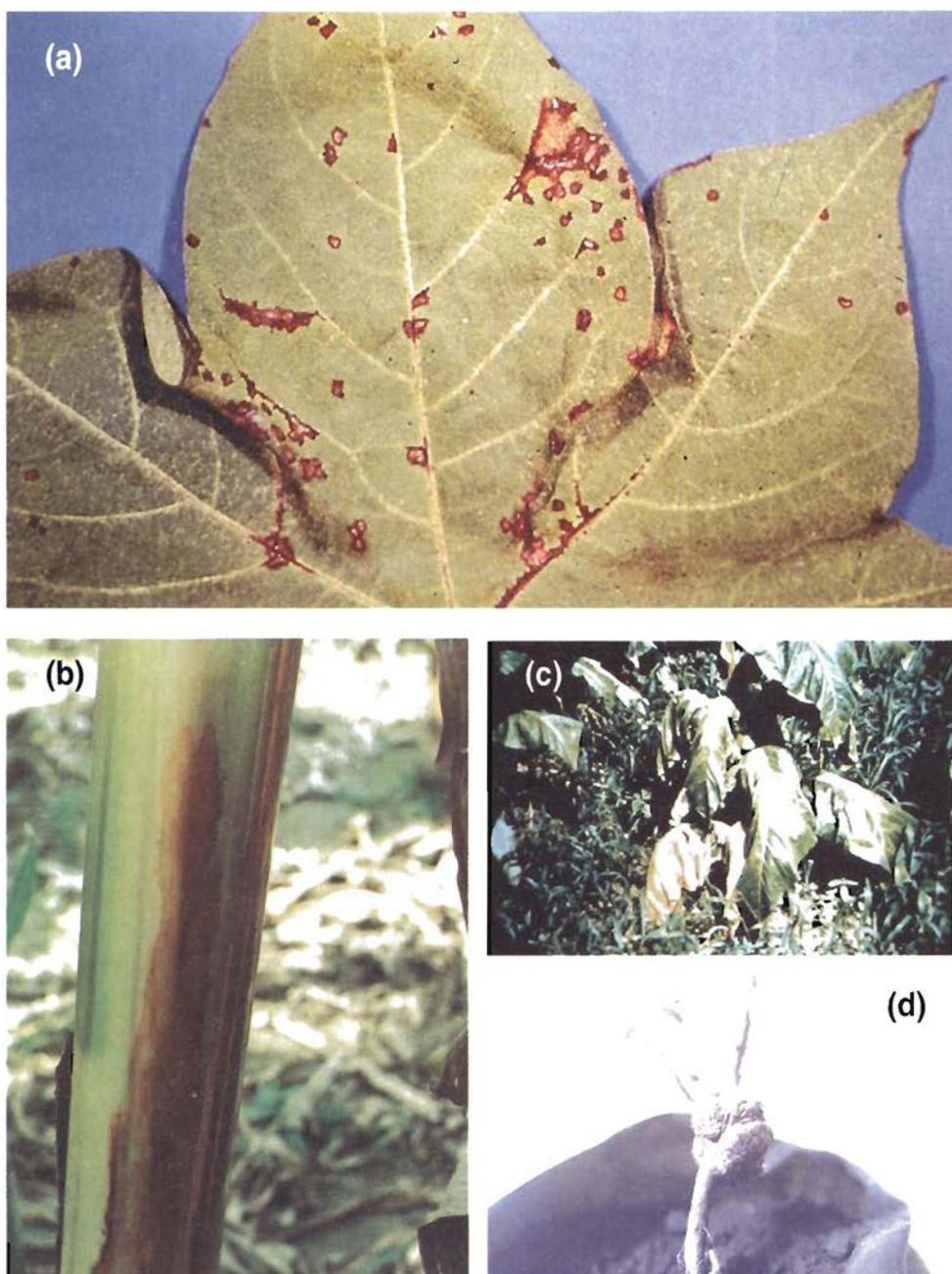


Figura 1. Tipos de síntomas inducidos por bacterias en plantas susceptibles: a) Manchas foliares (*Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum* en algodón), b) Pudrición suave o acuosa (*Erwinia chrysanthemi* pv. *paradisiaca* en seudotallo de plátano), c) Marchitamiento vascular (*Burkholderia solanacearum* en tabaco), y d) Agallas (*Agrobacterium tumefaciens* en eucalipto).

que desarrollan órganos teratomórficos (de forma anormal) más o menos organizados inducidos por especies de *Agrobacterium* y *Corynebacterium* (Figura 1d).

El tipo de síntoma en el caso de *Agrobacterium* depende del tipo de plásmido que porta la bacteria. Si ésta contiene el plásmido Ti (inductor de tumor) induce agalla de corona, pero si ella engloba el plásmido Ri (inductor de enraizamiento) suscita raíz velluda o en cabellera. Las especies involucradas en estos desórdenes celulares son *A. tumefaciens*, *A. rubi* y *A. rhizogenes*; todas pueden contener el plásmido Ti y ocasionar agalla de corona, pero hasta ahora sólo razas de *A. tumefaciens* y *A. rhizogenes* pueden llevar el plásmido Ri y promover la proliferación anormal de raíces.

La especie *Corynebacterium fascians* produce agallas foliáceas, síntoma conocido como fasciación (aplanamiento anormal de un órgano después de alcanzar su tamaño normal) en muchas ornamentales herbáceas anuales o perennes.

Pseudomonas syringae pv. *savastanoi* produce las enfermedades nudo del olivo y la agalla o chancro del cilantro.

Sarna o costra: Las enfermedades bacterianas que dan origen a este tipo de síntoma afectan principalmente partes de la planta que se desarrollan en forma subterránea. Las lesiones son de tipo sarnoso o costroso en los tejidos externos de los órganos afectados. La especie bacteriana reconocida en esta afección es *Streptomyces scabies*, que causa la sarna común en papa y la viruela de la batata.

Cáncer: Relativamente pocas enfermedades de este tipo son producidas por bacterias, pero algunas tienen amplia distribución y son devastadoras, causando grandes pérdidas o exigiendo grandes esfuerzos para proteger las plantas de ellas. Las afecciones más importantes son producidas por especies de *Pseudomonas* en frutales y *Xanthomonas* en cítricos (Figura 2a, 2b).

Raquitismo: Síntoma hipoplásico que conlleva a la apariencia de subdesarrollo y que puede confundirse con deficiencias hídricas o de elementos nutricionales. El caso más representativo es la enfermedad denominada RSD o raquitismo de las socas en caña de azúcar producida por *Clavibacter xyli* subsp. *xyli*, bacteria ubicada en el grupo de las fastidiosas que actúan en el xilema y específicamente en los vasos de metaxilema (Figura 2c).

Condiciones ambientales

Los factores ambientales que tienen mayor efecto sobre las bacterias fitopatógenas son: temperatura, pH y humedad.

Temperatura: La mayoría de estas bacterias son mesófilas, por tanto la temperatura óptima está entre 20 - 35°C, y los extremos, mínima 10°C y máxi-

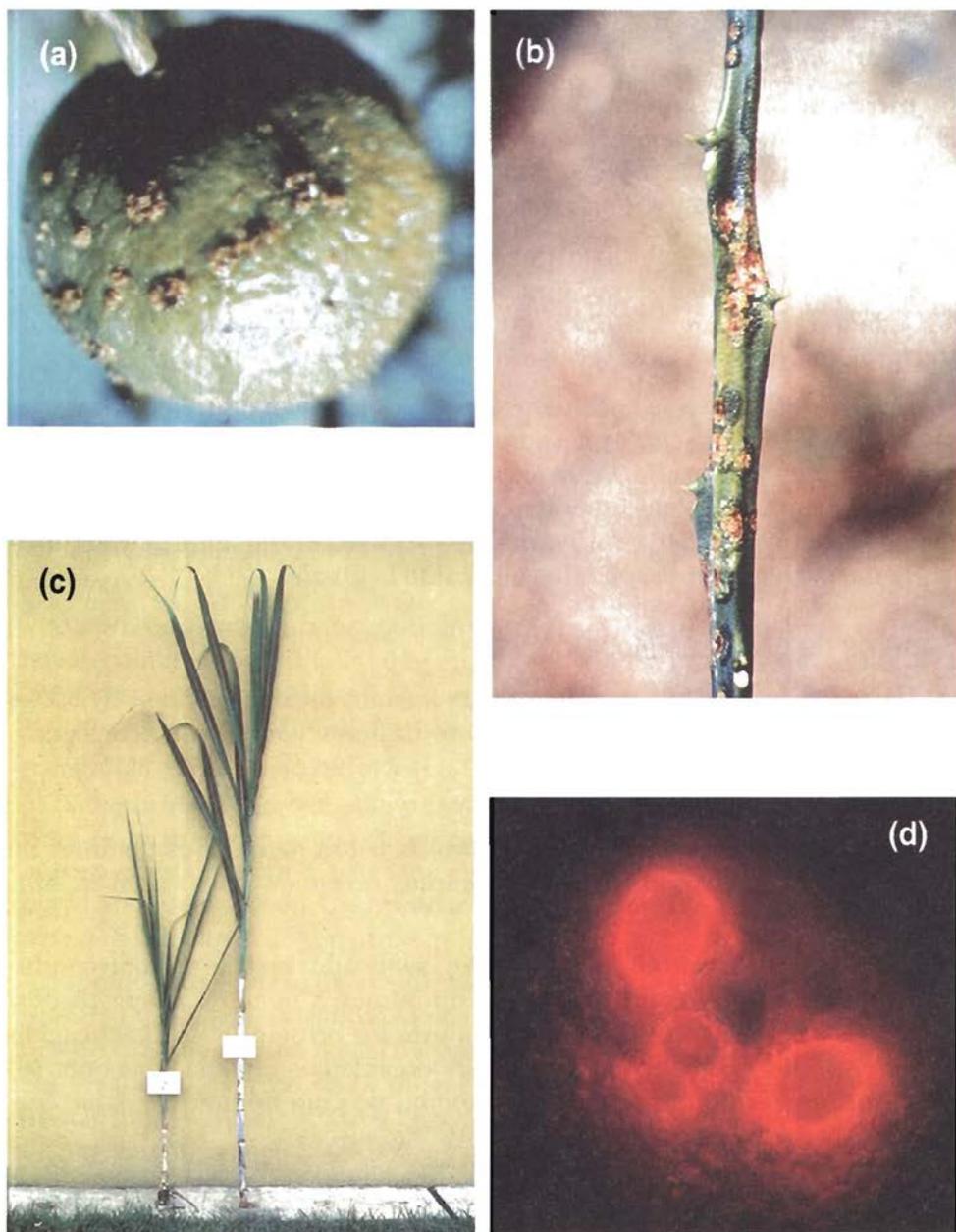


Figura 2. Síntomas inducidos por bacterias en plantas susceptibles: a) Sarna o costra (*X. campestris* pv. *citri*) en frutos cítricos, b) Cáncer (*X. campestris* pv. *citri*) en cítricos, c) Raquitismo, RSD (*Clavibacter xyli* subsp. *xyli*) en caña de azúcar, síntomas externos en planta afectada comparada con planta sana, y d) Raquitismo (*C. xyli* subsp. *xyli*) en caña de azúcar, síntomas histológicos por fluorescencia en vasos de metaxilema.

ma 52°C. Existe un segundo grupo de mesófilas cuya temperatura óptima está entre 35 y 45°C.

pH: Es un factor importante para aquellas bacterias que actúan en el suelo. Lo ideal para ellas son niveles de pH alcalino o cercano a la neutralidad (6.5 - 7.5). En general la mayoría de las bacterias tienen los límites mínimo y máximo entre pH 4.0 y pH 9.0.

En muchas de las enfermedades el efecto de la acidez del suelo (pH) parece actuar sobre el patógeno, aunque en algunas el debilitamiento del hospedante a través de la alteración nutricional por la acidez del suelo puede afectar la incidencia y la severidad de la enfermedad.

Humedad: El agua se considera como el factor mediante el cual los organismos holofíticos (bacterias, levaduras y mohos) obtienen alimento y eliminan productos de desecho. Entre los microorganismos comunes las bacterias tienen los mayores requerimientos hídricos, los cuales pueden estar representados como humedad relativa alta (80 - 90%) en el ambiente que circunda la planta, o agua líquida sobre los tejidos de la misma.

Géneros de bacterias fitopatógenas

Hasta la década de los años setenta se hablaba de cinco géneros de bacterias que afectaban plantas; hoy el número ha aumentado de manera significativa. De acuerdo con Young et al (1992) la evolución en la taxonomía bacteriana se puede dividir en tres períodos:

- 1932 - 1940, caracterizado por la proliferación de muchos nombres de especies y durante el cual los principios taxonómicos no estaban suficientemente establecidos.
- 1940 - 1975, los estudios comparativos realizados en este período condujeron a proponer gran número de sinónimos o nombres inapropiados; además, en este transcurso se elaboraron los principios de clasificación en términos fenéticos (agrupación de organismos y poblaciones por semejanzas, resultantes de la comparación de gran número de caracteres independientes).
- De 1975 hasta el presente, período en el cual han ocurrido cambios significativos en los conceptos que orientan la clasificación bacteriana gracias a los avances de la biología molecular.

Los géneros que contienen especies patógenas de plantas se enlistan, en este capítulo, con base en la publicación de Young, J. M. et al (1992) pero siguiendo el esquema y características del *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* en su novena edición 1994, en el cual se han establecido 35 grupos para la ubicación de todas las bacterias. Hasta ahora seis de esos gru-

pos contienen géneros en los cuales se han identificado especies patógenas de plantas, así:

Grupo 4: Bacilos y cocos Gram-negativos, aeróbicos o microaerofílicos. En este grupo se encuentran los géneros:

Agrobacterium: Con su especie tipo *A. tumefaciens*. Otras especies: *A. rhizogenes*, *A. rubi* y *A. vitis*.

Pseudomonas: Tiene una especie muy importante desde el punto de vista fitopatológico (*P. syringae*) en la cual se han ubicado en la categoría de patovar muchas de las especies fitopatógenas del género conocidas en la década de los años setenta (*P. syringae* pv. *phaseolicola*, P.s. pv. *pisi*, P.s. pv. *glycinea*, etc.).

Recientemente el género se dividió en dos: *Pseudomonas*, en el cual quedaron ubicados aquellos individuos del grupo fluorescente, y *Burkholderia*, para las no fluorescentes, J. I. Victoria K. (comunicación personal, 1995). Así, la especie causante del marchitamiento bacteriano de las solanáceas y del moko del plátano, *Pseudomonas solanacearum*, pasó a ser *Burkholderia solanacearum*.

Xanthomonas: Este género incluye más especies patógenas que todos los demás combinados. Al igual que en *Pseudomonas*, muchas de las especies conocidas anteriormente se han ubicado como pv. de la especie *X. campestris* (*X.c.* pv. *campestris*, *X.c.* pv. *malvacearum*, *X.c.* pv. *phaseoli*, *X.c.* pv. *vesicatoria*, etc.).

Xylophilus: Género creado por Willems et al (Holt, J.G. et al 1994), tiene como especie tipo y única *X. ampelinus* (antes *Xanthomonas ampelina*). Causa necrosis y chancro y ha sido aislada principalmente de tejidos leñosos de vid en el Mediterráneo y Suráfrica, lo mismo que en Suiza, Austria, Bulgaria, Islas Canarias y Argentina.

Acetobacter: Las especies de este género se han encontrado en flores, frutos, miel de abejas, jugo de caña, sake, tequila, vino, cerveza, vinagre, jugo de caña de azúcar, suelo de jardín y agua de canal. Algunas causan el mal rosado en el fruto de la piña y pudrición en manzanas y peras. Una especie que habita en raíces y tallos de caña de azúcar es fijadora microaerofílica de Nitrógeno.

Rhizomonas: Fue creado en 1990 por Van Bruggen et al (Holt, J.G. et al, 1994), con la especie tipo y única *R. suberifaciens*, que causa la raíz corchosa en lechuga.

Acidovorax: Género propuesto por Willems et al (Holt, J. G. et al 1994). En él se han descrito tres especies, dos de ellas anteriormente ubicadas en el género *Pseudomonas*: la especie tipo *A. facilis* (antes *P. facilis*), *A. delafieldii* (antes *P. delafieldii*) y *A. temperans*.

Xylella: Género creado en 1987 por Wells et al (Holt, J.G. et al 1994). Forma parte de las bacterias "fastidiosas", anteriormente agrupadas en Organismos Similares a Rickettsias o R.L.O. Son organismos restringidos al xilema (vid, alfalfa y durazno), aunque otras fastidiosas están circunscritas al floema (trébol). La especie tipo y única es *X. fastidiosa* que se ha encontrado en los vasos xilemáticos de plantas de vid afectadas por la enfermedad de Pierce. De acuerdo con Agrios, G. N. (1988), todas las bacterias fastidiosas Gram-negativas son transmitidas por insectos que se alimentan del xilema, tales como saltahojas (*Cicadellidae* y *Cercopidae*). Los vectores adquieren y transmiten la bacteria en menos de dos horas. Si los insectos son adultos pueden transmitir la bacteria durante toda su vida, pero no la pasan a la prole.

Alcaligenes: Género que se ha encontrado principalmente en agua y suelo. Posiblemente en el futuro quede incluido en el género *Burkholderia* (J. I. Victoria, comunicación personal, 1995).

Rhizobacter: Este género fue propuesto por Goto y Kuwata en 1988 (Holt, J. G. et al, 1994). Incluye sólo la especie *R. daucus* que es la especie tipo y se encuentra en el suelo, causa agallas en raíces de zanahoria en forma natural.

Grupo 5: Bacilos Gram-negativos, facultativamente anaeróbicos. Las especies fitopatógenas corresponden a los géneros:

Erwinia: Género estudiado principalmente por los fitopatólogos. Varias especies fueron ubicadas en el género *Pectobacterium*, nombre que, aunque válido, no es muy empleado. Las especies de *Erwinia* se han encontrado asociadas con plantas como patógenos, saprofitos o como parte de la flora epifítica. La especie tipo es *E. amylovora*. Young, J.M. et al, 1992, mencionan que mediante estudios fenotípicos se han establecido tres subgrupos conformados por las especies: 1) *E. amylovora*, *E. tracheiphila*, *E. quercina*, *E. rubrifaciens*, *E. salicis* y *E. stewartii*. 2) *E. herbicola*, *E. ananas* y *E. uredovora*, y 3) *E. carotovora* y sus subespecies y *E. chrysanthemi*.

Se ha propuesto la reclasificación de *E. herbicola* en el nuevo género *Pantoea* creado en 1989 por Gavini et al (Holt, J. G. et al. 1994), el cual incluyó dos especies: *P. agglomerans* (sinónimos: *Enterobacter agglomerans*, *Erwinia herbicola*, *E. milletiae*) y *P. dispersa*.

Enterobacter: Género ampliamente distribuido en la naturaleza, se ha encontrado en agua fresca, suelo, plantas, lo mismo que en heces fecales de animales y humanos.

Grupo 18: Bacilos y cocos, Gram-positivos y formadores de endosporas. En época reciente se ha venido prestando atención a la asociación de los géneros *Bacillus* (aeróbico o anaeróbico facultativo) y *Clostridium* (anaeróbico estricto) con pudriciones especialmente en tubérculos de papa. Serían así las primeras bacterias esporógenas reconocidas como fitopatógenas (J.I. Victoria, comunicación personal, 1995).

Grupo 20: Bacilos irregulares, Gram-positivos, no esporógenos. En este grupo se reconocen especies fitopatógenas en los géneros:

***Corynebacterium*:** Se ha considerado un género heterogéneo, constituido por organismos cuya pared celular contiene peptidoglicano basado en ácido mesodiaminopimélico, componente lípido que contiene una cadena corta de ácido micólico. Las especies corineformes fitopatógenas no tienen estas características y por tanto han sido reubicadas en los géneros *Clavibacter*, *Curtobacterium* y *Arthrobacter*. El género se caracteriza por contener parásitos obligados en membranas mucosas y la piel de algunos mamíferos, aunque ocasionalmente se ha encontrado en otras fuentes. La especie tipo es *Corynebacterium diphtheriae*.

***Clavibacter*:** Género propuesto por Davis et al, en 1984 (Holt, J. G. et al. 1994), para aquellas especies fitopatógenas aeróbicas de *Corynebacterium* cuyas paredes celulares contienen ácido 2-4 diaminobutírico en vez de ácido mesodiaminopimélico que está presente en dicho género, y además ausencia de ácidos micólicos. Las especies de *Clavibacter* también son consideradas bacterias "fastidiosas", grupo en el cual son las únicas Gram-positivas; al igual que *Xylella* son propias del xilema y se han encontrado causando el R.S.D. (Ratoon Stunting Disease) o raquitismo de las socas en caña de azúcar (*Clavibacter xyli* subsp. *xyli*) y el achaparramiento del pasto Bermuda (*C. xyli* subsp. *cynodontis*). Algunos investigadores las consideran parásitos obligados, debido a que ninguna de las bacterias "fastidiosas" puede ser cultivada en los medios bacteriológicos convencionales; sin embargo, todas las restringidas al xilema pueden crecer en medios nutritivos más o menos complejos, en los cuales crecen de manera lenta y producen colonias diminutas (1-2 mm de diámetro).

La especie tipo es *Clavibacter michiganense* y a esta han sido transferidas, al nivel de subespecies, la mayoría de las especies reconocidas en *Corynebacterium*: *Clavibacter michiganense* subsp. *michiganense* (cáncer bacterial y marchitez del tomate) *C.m.* subsp. *insidiosum* (marchitamiento bacterial de la alfalfa), *C.m.* subsp. *sepedonicum* (podrición anular de la papa).

***Curtobacterium*:** El peptidoglicano en este género está basado en la presencia de ornitina y también ausencia de ácidos micólicos. A este género pasaron otras especies fitopatógenas ubicadas anteriormente en *Corynebacterium*. Se encuentra en plantas, en el suelo y en salmuera de aceite. La especie tipo es *Curtobacterium citreum*. La especie fitopatógena más importante es *C. flaccumfaciens*, que comprende los patovares *C.f.* pv. *flaccumfaciens* (marchitamiento bacterial del frijol), *C.f.* pv. *betae*, *C.f.* pv. *oortii* y *C.f.* pv. *poinsettiae*.

***Arthrobacter*:** Género conformado por organismos ampliamente distribuidos en el ambiente, principalmente en los suelos. La especie tipo es *A. globiformis*, y desde el punto de vista fitopatológico, la especie *A. ilicis*, que

fue transferida de *Corynebacterium* con base en un subcultivo de la raza tipo.

Grupo 22: Actinomycetos Nocardioformes. El grupo se divide en cuatro subgrupos, el primero de los cuales comprende bacterias que contienen ácidos micólicos en su pared celular. En este subgrupo se han incluido los géneros fitopatógenos que típicamente producen micelio ramificado, que temprano o tarde se fragmenta en elementos bacilares o cocoides que son marcadamente pleomórficos.

Rhodococcus: Son organismos Gram-positivos aeróbicos, sensibles a la lisosima. Están ampliamente distribuidos en la naturaleza y abundan principalmente en el suelo y el estiércol de herbívoros. Algunas razas son patógenos de los animales, incluidos los humanos. La especie tipo es *Rhodococcus rhodochrous* y como fitopatógena se ha registrado la especie *R. fascians* (antes conocida como *Corynebacterium fascians*), que se ha encontrado causando agalla foliosa en muchas plantas herbáceas ornamentales, anuales o perennes.

Nocardia: Género que contiene organismos Gram-positivos o Gram-variables y aeróbicos. El glicano de la pared celular contiene residuos de N-glicolil. Está ampliamente distribuido y abunda en el suelo. Algunas razas son patógenos oportunistas en humanos y animales. La mayoría de especies son resistentes a la lisosima. La especie tipo es *Nocardia asteroides* y se ha registrado a *N. vaccini* como especie fitopatógena.

Grupo 25: Estreptomycetos y géneros relacionados. El único género que contiene especies fitopatógenas es *Streptomyces*, el cual forma micelio extensivamente ramificado que a veces se fragmenta. Algunas especies producen estructuras similares a esclerocios, picnidios o sinemas. Son Gram-positivos y aerobios. Producen amplia variedad de pigmentos, los cuales son responsables del color del micelio vegetativo y aéreo. También se pueden formar pigmentos de color difusibles. Muchas razas producen uno o más antibióticos. La especie tipo es *Streptomyces albus* y la única especie fitopatógena registrada hasta ahora es *S. scabies* (sarna común en papa y la viruela de la batata).

Grupo 30: Los Mycoplasmas o Mollicutes: bacterias sin pared celular. En este grupo se han ubicado organismos procariotas muy pequeños, totalmente carentes de pared celular, limitados sólo por la membrana plasmática e incapaces de sintetizar peptidoglicano y sus precursores. En consecuencia son resistentes a la penicilina y antibióticos análogos y sensibles a la lisis mediante choque osmótico, detergentes, alcoholes y anticuerpos más complemento.

Son organismos pleomórficos y varían en forma desde esféricos o piriformes hasta filamentos helicoides o ramificados. Generalmente no móviles;

sin embargo algunas especies muestran movilidad por deslizamiento sobre superficies húmedas. Las especies que tienen forma de filamentos helicoides exhiben movimiento rotatorio, flexional y traslacional.

Los mollicutes son Gram-negativos. La mayoría de las especies requieren esteroides para crecer en medios artificiales, aunque algunas especies pueden crecer pobremente en medios artificiales y pueden ser fácilmente aisladas mediante procedimientos de cultivos de células. La mayoría son anaerobios facultativos, aunque algunos son anaerobios obligados. En condiciones adecuadas la mayoría de especies forman colonias que tienen la apariencia de "huevo frito". Todos los mollicutes son parásitos, comensales o saprofitos y muchos son patógenos de humanos, animales, plantas e insectos. Los organismos de este grupo hasta ahora reconocidos como especies fitopatógenas se han relacionado con el nombre genérico de fitoplasmas.

La mayoría de especies requieren colesterol o esteroides relacionados para su crecimiento. En plantas las enfermedades más conocidas son: amarillamiento del Aster, que tiene como vector al saltahoja *Macrosteles fascifrons*, el amarillamiento letal del cocotero y otras clases de palmas; el insecto *Mynodus crudus* ha sido reconocido como uno de los vectores; necrosis del floema del olmo, asociada al saltahoja *Scaphoideus luteolus*; enfermedad del d. azno, transmitida por saltahoja de los géneros *Colladonus* y *Scaphytopius*; declinación del peral, diseminada por la especie insectil *Psylla pyricola*, amachamiento, machismo o proliferación de yemas de la soya, cuyo vector es la especie *Scaphytopius fuliginosus*.

Spiroplasma: Son fitoplasmas helicoides que se mueven mediante flexión o contracción. Requieren colesterol o posiblemente otros esteroides para su crecimiento. Han sido aislados de la hemolinfa e intestinos de garrapatas, de fluidos de plantas vasculares e insectos que se alimentan de dichos fluidos y de la superficie de flores y otras partes de las plantas. La especie tipo *Spiroplasma citri* es patógena en cítricos (toronja y naranja) en las que causa la enfermedad conocida como "stubborn", la cual puede ser transmitida con frecuencia moderada mediante yemas e injertos y en los huertos a través de saltahoja como *Circulifer (Nevaliturus) tenellus*, *Scaphytopius nitridus* y *S. acutus delongi*. La misma especie (*S. citri*) se ha encontrado afectando rábano y otras plantas herbáceas con la participación de *Macrosteles fascifrons* como vector. *S. kunkeli* se determinó como el agente causal del achaparramiento del maíz y en este caso los insectos vectores son entre otros *Dalbulus elimatus* y *D. maydis*.

Manejo

Las bacterias, al igual que cualquier otro agente fitopatógeno, deben ser "manejadas" mediante la implementación de una serie de estrategias que

integren los principios a través de los cuales se enfrentan los disturbios sanitarios de los cultivos. Tales principios son:

1. Exclusión, en el cual se tienen en cuenta las normas cuarentenarias que rigen para el ingreso de materiales vegetales a cada país o región, además de la selección del material de propagación y el uso de semilla certificada.
2. Eliminación o erradicación de plantas o partes de la planta que se emplean como semilla. Esta medida se aplica cuando es una práctica viable o posible, mediante prácticas de cultivo (métodos culturales), tratamiento físico, por ejemplo aplicación de calor, secamiento de granos y frutos, refrigeración y el empleo de radiaciones.
3. Protección mediante control biológico o control químico. En el primer caso la experiencia más representativa se tiene con el empleo de la raza K-84 de *Agrobacterium radiobacter* para la protección del material de siembra contra *A. tumefaciens*. En cuanto a sustancias químicas se sabe que algunos fungicidas a base de cobre tienen efecto bactericida. En esta forma se pueden emplear para tratamientos al follaje, a la semilla, al suelo, a las heridas y con algunos materiales vegetales en poscosecha.
4. Inmunización mediante la producción de materiales resistentes, que resulta el método más económico y seguro a través del mejoramiento genético. El principio de inmunización incluye además el mejoramiento de las condiciones de crecimiento de las plantas. Para las enfermedades bacterianas no se conocen ensayos relacionados con protección cruzada o resistencia inducida.
5. Terapia mediante tratamiento químico: se han utilizado experimentalmente algunos antibióticos como la estreptomycinina, teniendo en cuenta que su empleo resulta costoso y además que son sustancias muy específicas en cuanto al sitio de acción y pueden llegar a inducir resistencia. La tetraciclina se ha ensayado en el caso de los mollicutes.

Tratamientos térmicos o termoterapia con niveles de temperatura y tiempos de exposición que afectan al patógeno más no la viabilidad del material vegetal.

Cirugía o eliminación mediante poda de partes afectadas, especialmente en plantas perennes cuando el caso lo amerite.

6. Evasión: Está relacionado con el manejo de condiciones de temperatura, pH y humedad, lo cual conlleva al estudio o análisis de la zona geográfica, la selección del sitio de siembra y selección de la época propicia para la siembra.

Clínica y diagnóstico

El diagnóstico de enfermedades de origen bacteriano se desarrolla con base en una serie de pasos, algunos comunes para todos los agentes fitopatógenos y otros específicos para este tipo de organismos. A continuación se enumeran los pasos generales, sin entrar en detalles:

- a. Identificación del hospedante, ojalá a nivel de especie con información complementaria acerca del sitio en el cual se está desarrollando, condiciones ambientales, densidad de siembra (si se trata de cultivos), condiciones de suelo, prácticas de cultivo efectuadas, etc.
- b. Descripción de la sintomatología: ésta es importante pero no suficiente para determinar la etiología de la enfermedad.
- c. Consulta bibliográfica: con buen conocimiento en estos tres pasos se puede identificar la causa de enfermedades de común ocurrencia.
- d. Desarrollo de los postulados de Koch: conducen con mayor seguridad al diagnóstico. En el caso de parásitos obligados deben introducirse algunas variantes al segundo de dichos postulados: "aislamiento del agente causal en cultivo puro".
- e. Descripción del organismo: algunas de ' s pruebas que se enumeran a continuación, principalmente las relacionadas con morfología, se pueden realizar a medida que se ponen en práctica los postulados de Koch. Otras que tienden a definir el género bacteriano, la especie y quizás el patovar o la subespecie deben realizarse una vez se ha comprobado la patogenicidad del organismo involucrado. La descripción comprende:
 - Morfología: Forma, tamaño, reacción de Gram, movilidad
 - Características de cultivo: Consistencia de la colonia, elevación, tamaño, forma, producción o no de pigmento, fluorescencia, etc.
 - Características fisiológicas: T_{m} , eratura óptima de crecimiento, sensibilidad a sales, etc.
 - Actividades bioquímicas: Producción de catalasa, ureasa, oxidasa, ácido sulfhídrico, indol, reducción de nitratos, acumulación de PHB (gránulos de poli-beta-hidroxibutirato), capacidad para hidrolizar gelatina, almidón, pectatos, utilización de carbohidratos (Fructosa, Mannosa, Galactosa, Arabinosa) como fuente de C y energía, etc.

Cuando el proceso de identificación se hace complicado lo ideal es recurrir a los especialistas y una buena fuente es el envío de cultivos puros a instituciones como el I.M.I. (International Mycological Institute), el cual, mediante el pago de algunos derechos, hace la descripción y envía el resultado por escrito.

CAPITULO VI

Los micoplasmas o mollicutes: fitoplasmas

Introducción

Los organismos procarióticos que causan enfermedades en las plantas están ubicados en dos grupos: las bacterias y los micoplasmas o mollicutes hoy llamados fitoplasmas. Los miembros del primer grupo, como se expuso en el capítulo anterior, son organismos que tienen pared celular y, en general, pueden crecer en medios bacteriológicos comunes. En la segunda agrupación se ubican bacterias carentes de pared celular, pertenecientes al Grupo 30, de acuerdo con la clave taxonómica propuesta en la novena edición del Manual de Bacteriología Determinativa de Bergey, 1994.

Los micoplasmas o mollicutes incluyen especies parasíticas, comensales o saprofitas y muchas son patógenos de humanos, animales, plantas e insectos. En el caso de las especies patógenas en plantas, inicialmente se empleó la denominación M.L.O. (Mycoplasma Like Organisms) u organismos similares a micoplasmas, para diferenciarlos de los otros; en esa denominación se incluían organismos con características de los géneros *Mycoplasma* y *Spiroplasma*. Recientemente se ha propuesto y se está generalizando el uso del término fitoplasmas para incluir a los antiguos M.L.O. y dicho vocablo se utilizará en este capítulo.

Generalidades

El grupo de los Mollicutes, probablemente los organismos más pequeños con crecimiento autónomo, reviste especial interés evolutivo debido a su estructura celular extremadamente simple. Estos procariotas carecen de pared celular y están limitados por la membrana plasmática, son incapaces de sintetizar peptidoglucanos y sus precursores, por lo tanto son resistentes a la penicilina y sus análogos, pero susceptibles a la tetraciclina y sensibles a lisis por choque osmótico, detergentes, alcoholes y anticuerpos específicos

más complemento. Los organismos helicoidales son sensibles a la digitonina, anfotericina B y al sulfato de sodio polietanol.

Son organismos pleomórficos, su forma varía desde esférica o estructuras piriformes (0.3 a 0.8 μm de diámetro) a filamentos helicoidales ramificados. La duplicación del genoma precede a la división celular, pero no está estrictamente sincronizado con ella. Su multiplicación ocurre por gemación y pueden observarse cadenas a manera de las cuentas de un collar, pero también se presenta la clásica fisión binaria.

Generalmente son no móviles, aunque algunas especies muestran movilidad por deslizamiento en superficies húmedas. Las especies que tienen forma de filamentos helicoidales exhiben movilidad rotatoria, flexional y de traslación. No se conocen estados de reposo (endosporas) y son gram-negativos.

Las especies hasta ahora estudiadas pueden crecer en medios artificiales de complejidad variada. En condiciones adecuadas, en medios sólidos, la mayoría de especies forman colonias que tienen apariencia característica de "huevo frito" y requieren colesterol y grandes cadenas de ácidos grasos para su crecimiento. Sin embargo, ciertas razas pueden crecer pobremente en medios artificiales y ser aisladas más fácilmente mediante cultivo de células.

La mayoría de especies son anaerobios facultativos, algunos son anaerobios obligados y mueren por exposición a cantidades mínimas de oxígeno. Las colonias en medio sólido son diminutas, menores de 1 mm de diámetro. Los organismos tienen la tendencia a penetrar y crecer dentro del medio.

El tamaño del genoma varía de casi 5×10^6 a 1×10^8 daltons. El mol % G + C de ADN es bajo y va de casi 23 a 40%.

Estos organismos presentan metabolismo poco eficaz para producir energía por lo cual deben consumir grandes cantidades de sustrato y así mantener el adecuado aporte de energía para la síntesis de macromoléculas. Su capacidad biosintética es limitada, por ello son nutricionalmente exigentes. Esto se ilustra por el requerimiento de lípidos y precursores complejos para la síntesis de la membrana.

La mayoría de las especies emplean carbohidratos como fuente de energía, algunos son oxidativos, poseen sistema citocromo y producen ATP en la cadena de transporte de electrones. Otros se asemejan a las bacterias ácido-lácticas que siendo fermentativas estrictas producen energía por fosforilación de sustrato y ácido láctico como producto final de la fermentación de la glucosa.

Su metabolismo lipídico es complejo y no está totalmente aclarado, jugando papel importante los esteroides. Algunas especies que poseen esteroides

en su membrana no los sintetizan, los requieren preformados en el medio de cultivo. La mayoría de especies en medio de cultivo forman en sus colonias corpúsculos oscuros mediante los cuales almacenan calcio y magnesio debido a la gran capacidad lipolítica que tienen.

Clasificación

La novena edición del Manual de Bergey ubica los mollicutes como eubacterias y los clasifica a nivel de género, si son aerobios facultativos o anaerobios obligados y a su vez si requieren o no esterol.

CUADRO 1. CLAVE PARA LOS GÉNEROS DE MOLLICUTES.

I. Anaerobio facultativo o microaerobio.

A. Requiere esterol

1. Células helicoidales durante el crecimiento logarítmico.

Género: *Spiroplasma*

2. Células no helicoidales

a. Ureasa positivo

Género: *Ureoplasma*

b. Ureasa negativo

Género: *Mycoplasma*

B. No requiere esterol

Género: *Acholeplasma*

II. Anaerobios obligados.

A. Requiere esterol

Género: *Anaeroplasma*

B. No requiere esterol

Género: *Asteroleplasma*

Agrios, 1994, los ubica en la clase Mollicutes, orden Mycoplasmatales; familias Mycoplasmataceae con el género *Mycoplasma*, *Acholeplasmataceae* con el género *Acholeplasma* y *Spiroplasmataceae* con el género *Spiroplasma*.

Fitoplasmas

Estos organismos se observaron por primera vez al microscopio electrónico en 1967, en el floema de plantas con síntomas de amarillamientos, los cuales en principio fueron considerados de origen viral. En ese mismo año se determinaron los insectos vectores de estas enfermedades y además se demostró que los agentes causales eran susceptibles a la tetraciclina pero no

a la penicilina y que los síntomas de las plantas podían suprimirse temporalmente mediante tratamiento con antibióticos, lo cual no sucede cuando el patógeno es un virus.

Desde ese entonces los investigadores han desplegado su actividad para aislarlos y cultivarlos como células libres en medios de cultivo, empleando técnicas usadas para cultivar micoplasmas de animales, con el fin de caracterizarlos y demostrar su patogenicidad utilizando los postulados de Koch. En Colombia se han identificado las enfermedades «Amachamiento de la soya» causada por un fitoplasma (Figura 1a) y el espiroplasma del achaparramiento o enanismo del maíz «Corn Stunt Spiroplasma» (Figura 1b).

Los fitoplasmas son organismos pleomórficos que habitan solamente en los tubos cribosos del floema de las plantas infectadas, así como en tejidos vasculares de raíces, tallos, hojas, pecíolos, pedicelos y estructuras foliáceas de flores. Como se dijo al principio este grupo contiene los antiguos MLO, entre los cuales se ubican los organismos con características de micoplasmas y los espiroplasma.

Preparaciones purificadas obtenidas de plantas afectadas por la filodia del trébol (Clover Phyllody) CP y del Amarillamiento del Aster (Aster Yellows) AY mostraron formas no helicoidales pleomórficas (esféricas, ovaladas y filamentosas).

La membrana celular de estos organismos es igual a la de todos los seres vivos (naturaleza fluida), carece de mesosomas y las proteínas constituyen la mayor proporción de sus componentes; las cuales se supone juegan papel importante tanto en los procesos estructurales como catabólicos; todo indica que los sistemas de ATP-etas que se encuentran en ella están íntimamente relacionados con la porción interna de la membrana.

Presentan citoplasma con ARN en forma de ribosomas en número relativamente bajo y en el cual se halla un sistema de fibrillas de DNA enredadas sobre sí de forma circular, similar al cromosoma bacteriano. Todos los constituyentes se encuentran en mucho menor proporción que en las bacterias; así por ejemplo, mientras que los fitoplasmas poseen unos pocos cientos de ribosomas, las bacterias poseen 50 a 100 veces más.

Por electroforesis se determinó que en los fitoplasmas CP y AY la proteína está ubicada en 11 a 13 bandas respectivamente, que su peso molecular varía entre 33.000 y 117.000 daltons para el primero y 38.000 a 117.000 para el segundo.

La composición de los aminoácidos para ambos fitoplasmas fue similar; la concentración del aminoácido glicina fue más alta, seguida de alanina; isoleucina, leucina, valina y arginina estuvieron presentes en concentracio-

nes relativamente altas pero las cantidades de fenilalanina, prolina y tirosina fueron bajas.

Con preparaciones puras del AY se demostró que la actividad enzimática del NADH oxidasa y de la ATPasa está confinada a la membrana celular y la del NADPH oxidasa al citoplasma. La RNAasa y P-nitrofenil fosfatasa se encontraron principalmente asociadas con la membrana y la DNAasa con el citoplasma.

La ATPasa y el NADH oxidasa juegan papel importante en la respiración y acople de energía. La actividad de la RNAasa y las fosfatasas actuando como p-nitrofenil fosfatasa pueden estar involucradas en la degradación de macromoléculas a moléculas más pequeñas, capaces de ser permeables a la membrana.

Las nucleasas pueden inducir y aun contribuir a la patogenicidad, hidrolizando el ácido nucleico del hospedero para producir nucleótidos y nucleósidos que sean transportables.

La composición de los lípidos del CP y AY constituyen aproximadamente el 30% al 40% de la célula respectivamente. La mayor clase de lípidos en ambos fitoplasmas fueron fosfolípidos, glicolípidos esteroides y ácidos grasos.

El género *Spiroplasma*

A este género pertenecen los fitoplasmas helicoidales de longitud variable y diámetro de 90 a 250 nm. Aunque el papel de los organismos helicoidales observados en extractos de plantas enfermas no se estableció en su momento, tal descubrimiento contribuyó significativamente a su cultivo pues su morfología permitió monitorearlos durante su aislamiento. El término espiroplasma fue sugerido por la movilidad de los organismos helicoidales asociados con el achaparramiento del maíz. Al mismo tiempo se especuló que los filamentos sinusoides observados en cortes ultrafinos de plantas de cítricos afectadas por el Stubborn exhibían morfología helicoidal parecida a los del achaparramiento del maíz.

El descubrimiento de espiroplasmas como patógenos de plantas estimuló gran interés en estos microbios los cuales son únicos en su capacidad de mantener su forma helicoidal y exhibir movilidad en medios líquidos.

Aparte de los espiroplasmas patógenos de plantas de cítricos y maíz, *Spiroplasma citri* y *S. kunkellii* respectivamente, han sido aislados otros a partir de artrópodos tales como abejas y la mosca *Drosophila* en la cual aparentemente actúa como simbionte que regula el sexo en poblaciones naturales.

S. citri, el agente causal del Stubborn de los cítricos (Figuras 1c, 1d) es el más estudiado de todos los espiroplasmas por ser el primer mollicute culti-

vado de plantas. Aunque su morfología puede cambiar durante su crecimiento, todas las células son filamentos cortos durante la fase de crecimiento logarítmico y pueden ser mucho más largos en la fase estacionaria; en la fase de muerte las células son usualmente distorsionadas, a menudo no helicoidales o esféricas. Las células muestran bandas de DNA, ribosomas de aproximadamente 17 nm de diámetro distribuidos en el citoplasma.

Recientemente, *S. citri* y *S. kunkellii* se han encontrado en plantas afectadas de *Catharantus roseus* y en ambos casos se ha demostrado que se multiplican en ciertas especies de saltahojas después de que los insectos son inyectados con suspensiones de cultivo que contienen los microorganismos. La hemolinfa del vector *Dalbulus elimatus* examinada al microscopio de campo oscuro mostró la presencia de organismos helicoidales después de ser inyectados los insectos. Al respecto el espiroplasma del achaparramiento del maíz, *S. kunkellii*, difiere del «stubborn» de los cítricos, *S. citri*, porque éste en la hemolinfa del saltahoja *Euscelis plobejus* disminuye el número de hélices dos a tres días después de inyectado el insecto y gradualmente el filamento se distorsiona. Después de una semana ni hélices ni filamentos son observados pero sí cuerpos pleomórficos; sin embargo *S. citri* pudo ser cultivado a partir de la hemolinfa de insectos cuatro semanas después de infectados con cultivos que contenían espiroplamas móviles y helicoidales, así mismo fue aislado de glándulas salivales de saltahoja doce a catorce días después de ser inyectados.

Todas las razas de espiroplasma aisladas de plantas son helicoidales y móviles, excepto una raza de *S. citri* la cual no es helicoidal ni móvil; aunque produce la típica colonia de “huevo frito” en medios sólidos nunca ha producido células helicoidales. Esta raza causa síntomas en plantas idénticos a los producidos por las razas helicoidales. Pruebas de serología, hibridación de DNA y otras propiedades demostraron que verdaderamente corresponde a una raza de *S. citri*.

La membrana de *S. citri* contiene principalmente proteínas y lípidos y baja concentración de carbohidratos. Las proteínas representan aproximadamente 57%, los lípidos 34% y los carbohidratos el 2% del total del peso seco de las membranas con densidad aproximada de 1.18 g/cm³.

Investigaciones en la actividad de enzimas en *S. citri* han demostrado que Adenosin trifosfatasa (ATPasa) y p- nitrofenilfosfatasa fueron asociadas a fracciones de la membrana. Nicotinamida-adenina-dinucleotido oxidasa reducida (NADH) se encontró en fracciones de citoplasma. La concentración de ATPasa dependió del estado de crecimiento de *S. citri* y se incrementó durante la fase de crecimiento pero disminuyó rápidamente tan pronto como la actividad metabólica disminuyó. La concentración de ATPasa fue encontrada estrictamente proporcional al número de células durante el estado o

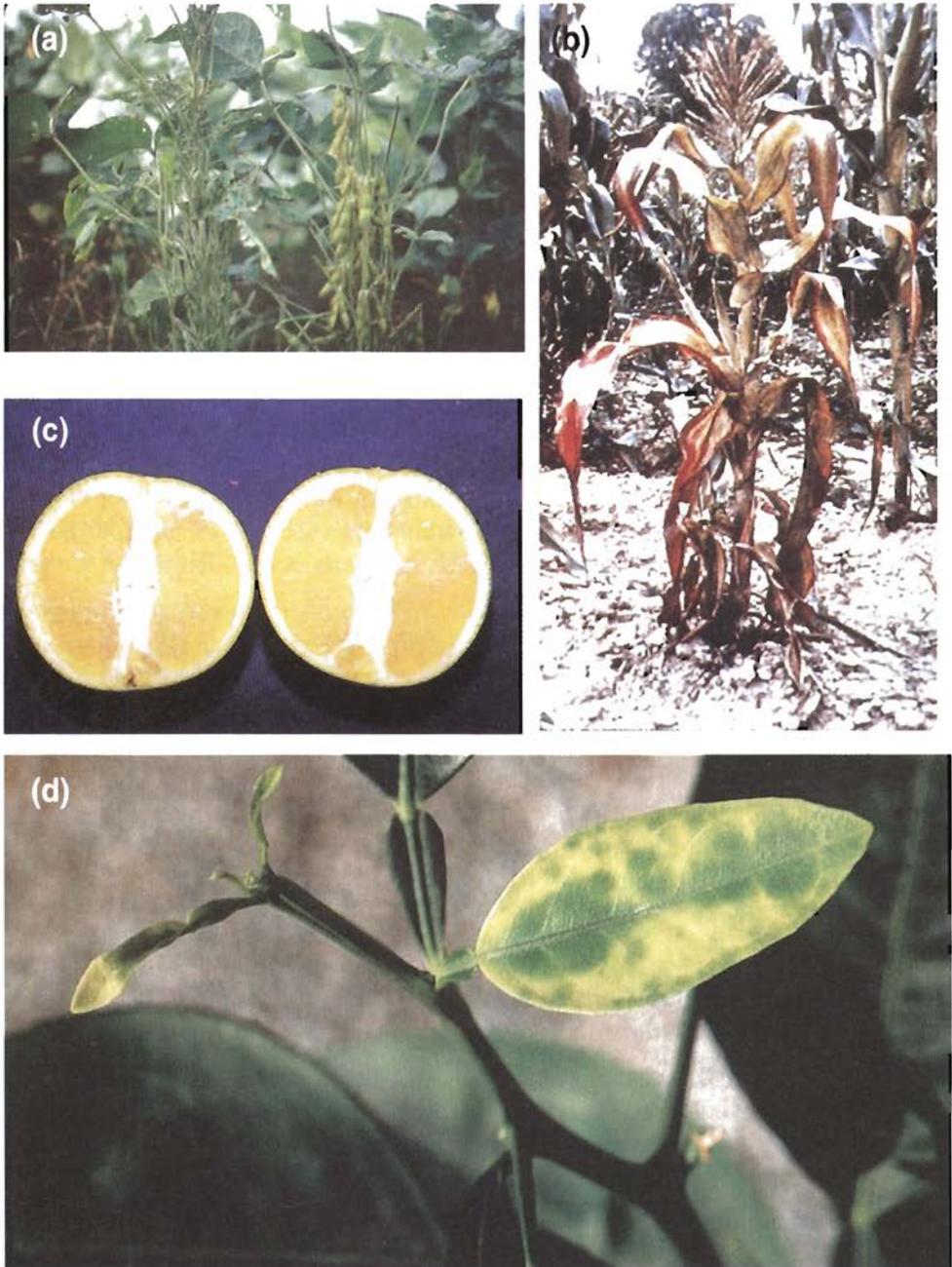


Figura 1. Enfermedades causadas por fitoplasmas: a) Amachamiento de la soya, presencia de filodia en la planta de la izquierda, b) Achaparramiento o enanismo del maíz, c) «Stubborn» de los cítricos, asimetría y frutos pequeños, d) «Stubborn» de los cítricos, hojas angostas, cloróticas a lo largo de las nervaduras, similar a deficiencia de zinc.

fase de crecimiento y es considerado un excelente método para determinar su estado de crecimiento *in vitro*.

La mayoría de los lípidos en *S. citri* están localizados en la membrana. Alteraciones en la composición de los lípidos en los medios de cultivo inducen cambios en las características morfológicas del espiroplasma con pérdida de viabilidad de células. La composición de los ácidos grasos de la membrana mostró ser especialmente constante para ácido palmítico (50%), seguido por ácido esteárico (20%), ácido oleico (20%) y ácido linoleico (5%).

Todos los espiroplasmas, incluyendo razas de *S. citri*, han demostrado tener moléculas de DNA extracromosómico (plásmidos) cuyo número y tamaño varían de acuerdo con el espiroplasma examinado.

Según investigaciones recientes, basadas en la caracterización de su DNA, especialmente el contenido G+C determinado por hibridación de DNA-DNA, serología y patrones de proteína (mapeo de péptido) determinados por electroforesis en gel de poliacrilamida se han determinado 11 grupos, de los cuales el grupo I al cual pertenece *S. citri* contiene ocho subgrupos.

Los primeros cultivos de espiroplasmas (*S. citri*) fueron realizados en medios relativamente simples, con una composición similar al usado para el crecimiento de micoplasmas de animales. El medio contenía PPLU broth o agar, suero de caballo, extracto fresco de levadura y triptona suplementado con sucrosa, glucosa, fructosa y sorbitol. El *S. citri* crece bien en medio de cultivo usado para mantener *in vitro* el espiroplasma del enanismo del maíz, en el cual el suero de caballo es reemplazado por colesterol y ácido palmítico. Más de veinte medios de cultivo han sido formulados para el cultivo de espiroplasmas fitopatógenos.

Transmisión

La mayoría de fitoplasmas son transmitidos de planta a planta por insectos de las familias Cicadellidae y Fulgoridae y unos pocos de la familia Psyllidae.

Los insectos vectores pueden adquirir el patógeno después de que se alimentan sobre plantas enfermas durante varias horas o días. Los fitoplasmas son organismos que en relación con su vector son considerados patógenos transmitidos en forma persistente, por lo tanto requieren largos períodos de adquisición. Los hasta ahora reportados en la transmisión de fitoplasmas son muy variables. La gran mayoría son transmitidos entre 8 y 24 horas.

Los insectos vectores se tornan más infectivos cuando se alimentan sobre hojas y tallos jóvenes de plantas enfermas que sobre plantas adultas. El insecto vector no puede transmitir el fitoplasma inmediatamente después de alimentarse en una planta enferma, pero empieza a transmitirlo luego de un

período de incubación de 10 a 45 días y en todos los casos hasta ahora estudiados requieren tiempo desde que lo adquieren hasta que lo transmiten para ser infectivos.

El período de incubación es requerido para la multiplicación y distribución del fitoplasma dentro del insecto; primero se multiplica en las células, luego pasa a la hemolinfa e infecta los órganos internos y eventualmente invade el cerebro y las glándulas salivales; cuando la concentración alcanza cierto nivel en este último órgano el insecto inicia la transmisión del patógeno a nuevas plantas y continúa haciéndolo más o menos eficiente por el resto de su vida.

Varios estudios han demostrado que son propagativos en su vector y pueden inducir cambios benéficos o detrimentales en ellos. Los fitoplasmas pueden ser adquiridos tanto por ninfas como por adultos y sobreviven después de las mudas, pero no pasan de adultos a huevos y por ende a la generación siguiente, por lo cual los nuevos individuos deben alimentarse con el fin de llegar a ser infectivos.

Serología

Las enfermedades causadas por fitoplasmas son normalmente diferenciadas sobre la base de sus síntomas, rango de hospederos y especificidad del vector.

Aunque las técnicas inmunológicas (serología) son de gran valor para la identificación de enfermedades causadas por virus, bacterias y espiroplasmas, estas han sido empleadas para el diagnóstico de unos pocos fitoplasmas. Han sido preparados antisueros para el diagnóstico de AY, CP, EPX, «Grapevine flavescence doree» (GFD) y escoba de bruja de la papa (Potato Wilches Broom) PWB.

La técnica de Elisa ha sido recomendada como una prueba conveniente, sensible y rápida para la detección de *S. citri* en plantas enfermas y también puede ser usada para estimar cuantitativamente el número de células del mismo organismo en un medio de cultivo. Mediante este método puede ser detectado un nivel mínimo de 10^4 y 10^5 células. Las técnicas de Elisa e inmunoelectromicroscopia (I.E.M.) fueron usadas para detectar AY y EPX y su mínima concentración requerida fue 4 y 12 $\mu\text{g/ml}$ respectivamente.

Anticuerpos monoclonales han sido usados para detectar AY, pero no dieron ninguna reacción; los antisueros policlonales siempre dieron alguna reacción contra antígenos en plantas, aunque se requieren preparaciones altamente purificadas del organismo (fitoplasma) para producir antisueros, lo cual es difícil de obtener.

La distribución y relativa concentración de *S. citri* en plantas de *Catharanthus roseus* L. infectadas por injerto pueden ser determinadas mediante

Elisa. Antígenos del espiroplasma permitieron detectarlo siete a diez días después de inoculado; el primer síntoma en plantas no apareció hasta antes de quince a diecinueve días después de injertadas, esto demostró que este método puede ser utilizado como diagnóstico temprano antes que el desarrollo de síntomas o microscopia electrónica.

Antígenos de *S. citri* también han sido detectados en el saltahoja *Euscelidus variegatus* que fueron injetados con altas dosis de espiroplasmas, así como de insectos recolectados en el campo. Los resultados fueron obtenidos usando antisueros policlonales, los cuales no permitieron comparar razas de la misma especie por tener antígenos determinantes comunes.

El uso de anticuerpos monoclonales, producidos para *S. citri*, ha demostrado tener gran valor en pruebas de Elisa para diferenciar las razas de las distintas áreas geográficas; de la misma manera anticuerpos monoclonales contra el espiroplasma del enanismo del maíz mostraron reacción específica en pruebas de Elisa con tres razas del mismo espiroplasma, pero no con otras razas de espiroplasmas de diferentes grupos o subgrupos.

CAPITULO VII

Los hongos

Introducción

«Cuando en el país haya hambre, o peste, o las plantas se sequen por el calor, o vengan plagas de **hongos**, escucha entonces toda oración». Antiguo Testamento, Libro I de Reyes 8:37.

Los primeros escritos sobre la historia de la humanidad indican que desde el momento en que la vida comenzó a depender de la producción de alimentos, forrajes y fibras vegetales, los problemas de pérdidas de las cosechas y escasez de alimentos, ocasionados por el ataque de hongos, causaron continuas preocupaciones.

Es un hecho incuestionable que los hongos han ejercido y ejercen hoy gran influencia en la vida del hombre y de los animales. Las pérdidas debidas a enfermedades de las plantas, ocasionadas por ellos, contribuyen en alto porcentaje a los problemas de bienestar de la sociedad.

Alrededor de dos tercios de las enfermedades de las plantas son causadas por hongos; se conocen cerca de cien mil especies, de este tipo de organismos la mayoría de ellos tienen hábito saprofítico y aproximadamente ocho mil especies son fitoparásitas.

El estudio de los hongos tiene aproximadamente 270-300 años, época en la cual, debido a sus manifestaciones devastadoras en los cultivos, investigadores como Mathieu Tillet (1714-1791) comenzaron a realizar experimentos con el hongo *Tilletia caries*, agente causal del carbón del trigo, encontrando que era contagioso; Micheli en 1729 recogió esporas de hongos que sembró en medios de cultivo orgánicos, como rodajas de melón, observó el desarrollo de micelio y llegó al pleno convencimiento de que los hongos provenían de sus propias estructuras.

En 1807 J.B. Prevost demostró definitivamente que la enfermedad del carbón del trigo era ocasionada por un hongo, del cual estudió la germina-

ción y reproducción de sus esporas, la influencia de los factores ambientales en la incidencia y desarrollo de la enfermedad y propuso un sistema de control remojando semillas con una solución de sulfato de cobre.

Características generales

Definición

Se utiliza la palabra hongo, del latín *Fungus* (seta) y del griego *Sphongos* (esponja) para denominar a los organismos compuestos de células eucarióticas portadoras de esporas, aclorofílicas que por lo general se reproducen sexual y asexualmente y cuyas estructuras somáticas filamentosas y ramificadas, conocidas como hifas, están rodeadas por paredes celulares que contienen quitina, o celulosa, o ambas, junto con otras moléculas orgánicas complejas.

Por carecer de pigmentos fotosintéticos se han adaptado a formas de vida saprofitas, simbióticas y parasíticas, absorbiendo su alimento como organismos **heterótrofos** de materia orgánica preformada. En general, están constituidos por una o infinito número de células, con todas sus organelas: núcleo, nucléolos, ribosomas, pared y membrana celular, mitocondrias, retículo endoplasmático, etc.

La fase somática o vegetativa de la mayoría de los hongos está constituida por filamentos microscópicos denominados hifas, los cuales se originan en forma de tubos germinales cortos que surgen de una conidia en germinación (Figura 1a), crecen apicalmente y se ramifican en todas direcciones formando en conjunto la que se conoce como **micelio** (Figura 1b).

Morfología

Individualmente cada hifa está formada por una pared delgada, transparente, tubular llena o interiormente tapizada por una capa de protoplasma de grosor variable, cuyo contenido dentro de las células puede estar o no interrumpido a intervalos regulares por paredes transversales, conocidas como **septas**, que divide a cada hifa en compartimientos o células (Figura 1c).

Las septas son en general tabiques perforados, lo cual permite la comunicación y el flujo de protoplastos entre las células adyacentes; los hongos con esta característica se dice que tienen micelio septado. Los poros suelen ser lo suficientemente grandes para permitir el paso de los núcleos y otros orgánulos, en células multinucleadas.

En algunos hongos, sus hifas, no presentan septas y se denominan coenocíticos o de micelio continuo. La presencia o ausencia de septas en las hifas se considera criterio taxonómico para ubicar los hongos en clases.

Algunos hongos son unicelulares, otros no forman talos o filamentos, sino estructuras conocidas como plasmidios: masas amorfas de protoplasma

multinucleado, desprovisto de pared celular, y que corresponden a la fase somática, de la clase Plasmodiophoromycetes (Figura 1d).

Transformaciones de micelio

Durante ciertas fases del ciclo de vida, las hifas que conforman el micelio de algunos hongos se agrupan en tejido organizado, flojamente entrelazado, que se denomina **plecténquima**; éste recibe el nombre de **prosénquima** cuando sus células típicamente alargadas son fáciles de distinguir y las hifas que lo componen son más o menos paralelas unas a otras, o **pseudoparénquima** cuando sus células son más o menos isodiamétricas y ovaladas y las hifas pierden su individualidad y no son distinguibles como tales.

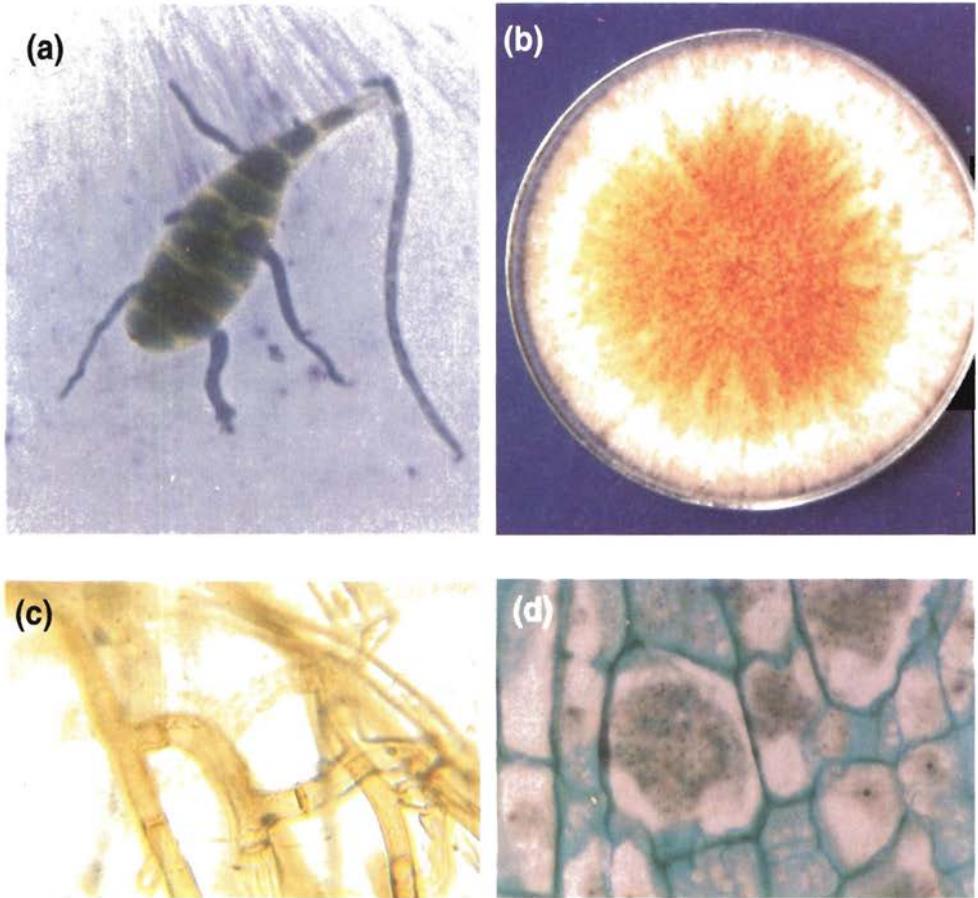


Figura 1. a) Conidia germinando (400x). b) Caja de Petri con micelio, c) Micelio septado (400x) y d) Plasmodio (400x).

Los hongos penetran inter o intracelularmente en los tejidos del hospedero, obteniendo su alimento mediante **haustorios**, que son prolongaciones de hifas somáticas alargadas o ramificadas que terminan en forma de botón y que le sirven como órgano de absorción de nutrientes (Figura 2a).

En ocasiones las hifas que conforman el micelio se agrupan formando cordones gruesos, conocidos como rizomorfos.

En los hongos que presentan micelio septado, cuando el organismo alcanza su madurez se forman los conidióforos que corresponden a hifas simples o ramificadas, en cuyo ápice o lateralmente se forman las células conidiógenas que dan origen a las **conidias** (Figura 2b); en aquellos de micelio aseptado o continuo algunas hifas forman los **esporangióforos** en cuyos extremos se originan los **esporangios** (Figura 2c).

El micelio también puede sufrir cambios formando estructuras de origen asexual como:

Picnidios, cuerpo fructífero globoso, en cuyo interior se forman conidióforos y conidias (Figura 3a).

Acérvulo, masa de hifas en forma de copa, sobre el cual crecen conidióforos densamente agrupados.

Clamidospora, conidia de pared gruesa, formada por la diferenciación de células terminales o intermedias, la cual funciona en general como espora de resistencia.

Esclerocios, cuerpo endurecido formado por el enrollamiento de hifas, resistente a condiciones desfavorables, que puede permanecer en reposo durante largos períodos y germinar cuando las condiciones se vuelven favorables (Figura 3b).

Esporodoquios, tejido estromático en forma de almohadilla, recubierto de conidióforos.

Estroma, estructura somática compacta sobre o dentro de la cual se forman fructificaciones.

Rizoide, ramificación corta y delgada del talo, parecida a una raíz.

Una vez cumplido el máximo desarrollo de la fase somática algunos hongos, excepto la clase Deutoromycetes, producen estructuras de origen sexual:

- La clase **Chytridiomycetes** por reproducción sexual mediante copulación planogamética forma un **zigoto**.
- La clase **Oomycetes** por reproducción sexual a través de contacto gametangial heterogametángica produce **oosporas** (Figura 3c).
- Los **Zygomycetes** por reproducción sexual y copulación gametangial producen una **Zygospora** (Figura 3d).

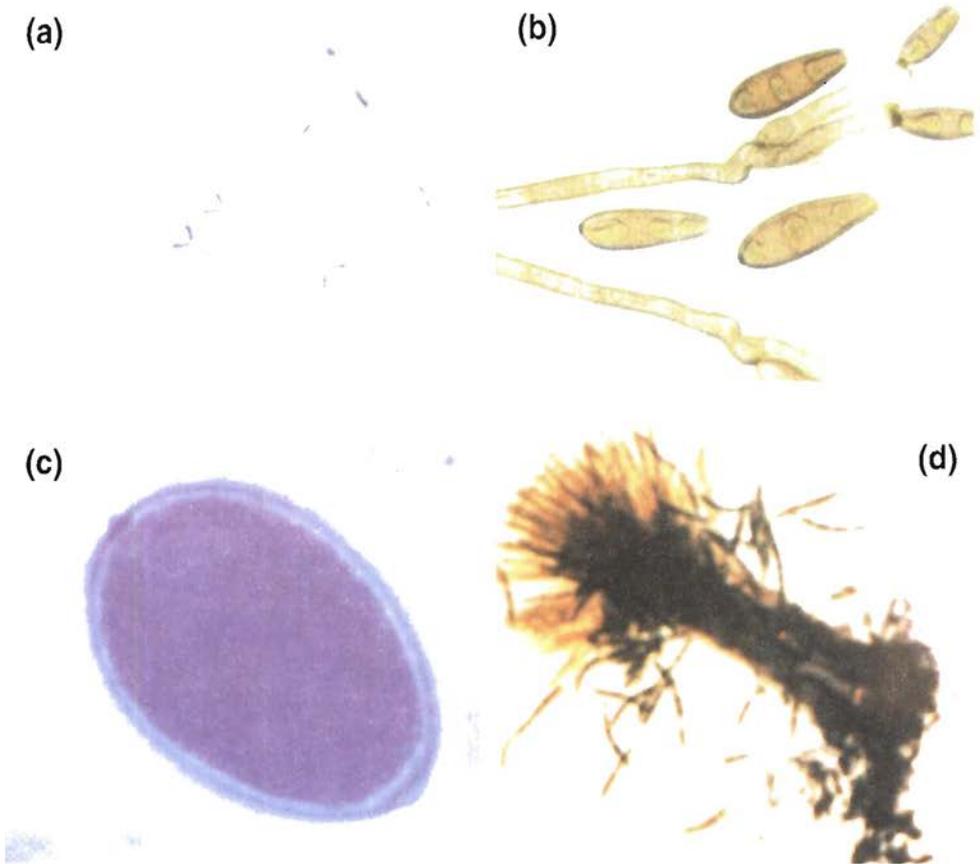


Figura 2. a) Haustorios de un hongo (400x), b) Conidióforos y conidias (400x), c) Esporangio (400x) y d) Seta o coremio (400x).

Los **Ascomycetes** por reproducción sexual y copulación gametangial, contacto gametangial, espermatización o somatogamia producen **ascosporas**, las cuales se forman dentro de una estructura en forma de saco llamada **asca** (Figura 4a). El asca puede estar o no contenida dentro de un cuerpo fructífero llamado **ascocarpo**.

Si las ascas se forman en un cuerpo relativamente amorfo con una o más cavidades es un ascocarpo tipo **ascostroma**; si el ascocarpo es más o menos globoso y completamente cerrado recibe el nombre de **cleistotecio** (Figura 4b); si es más o menos globoso, y presenta cuello corto o largo, con una abertura conocida como ostiolo, se denomina **peritecio** (Figura 4c), y si es semiabierto o abierto en forma de copa se llama **apotecio** (Figura 4d).

La formación de los diferentes ascocarpos son criterios taxonómicos importantes para clasificar los ascomycetes en el nivel de órdenes.

- En los **Basidiomycetes** las esporas sexuales se forman en una estructura conocida como basidio, que tiene forma de masa o clava, en la cual generalmente se forman cuatro **basidiosporas**.

A manera de síntesis se puede decir que los hongos son organismos:

- **Cosmopolitas**, porque se desarrollan en casi todos los ambientes.
- **Eucarióticos**, puesto que presentan células con núcleos verdaderos.
- **Heterótrofos**, porque su alimentación ocurre mediante absorción a través de sus hifas o de haustorios, secretando enzimas extracelulares para degradar moléculas que no pueden tomar directamente.
- Cuyo crecimiento ocurre por elongación apical de sus hifas.
- Que tienen pared celular rígida; muchos contienen quitina.
- Que presentan mecanismos de reproducción asexual o sexual, o ambas.
- Que desarrollan ciclo de vida simple o complejo.
- Con hábito saprofítico, parasítico o en asociaciones simbióticas.

Ecología

Hoy día se habla continuamente del problema que implica el deterioro progresivo del medio ambiente, en perjuicio de los seres vivos que habitan en ese medio. Los hongos no pueden considerarse aislados, ni independientes del entorno donde se desarrollan y menos aún si tenemos en cuenta que debido a su carencia de clorofila o de pigmentos quinóidos o fotosintéticos se ven obligados, como organismos heterótrofos, a buscar los nutrientes orgánicos producidos por otros seres para lograr así su supervivencia.

En muchos aspectos de la ecología de los hongos se demuestra que debido a las grandes similitudes y generalidades con otros grupos, incluyendo al hombre, hay principios para ellos que son fundamentales.

Los hongos se han adaptado a todas las formas de vida posibles, los hay acuáticos de aguas dulces y saladas, terrestres, con amplio rango de hábitats y con diferentes niveles de parasitismo o formas de vida.

En organismos filamentosos o unicelulares como los hongos, la superficie de contacto con el sustrato es extremadamente alta con relación al total de la masa de protoplasma, por eso pueden crecer rápidamente y tener gran influencia sobre el medio ambiente que los rodea.

Niveles de parasitismo en los hongos

Se conocen entre los hongos distintos niveles de parasitismo como:

Simbiosis: Dos organismos vivos pueden estar asociados y en cierto sentido pueden ser mutuamente parasitarios; sin embargo, no son en absoluto

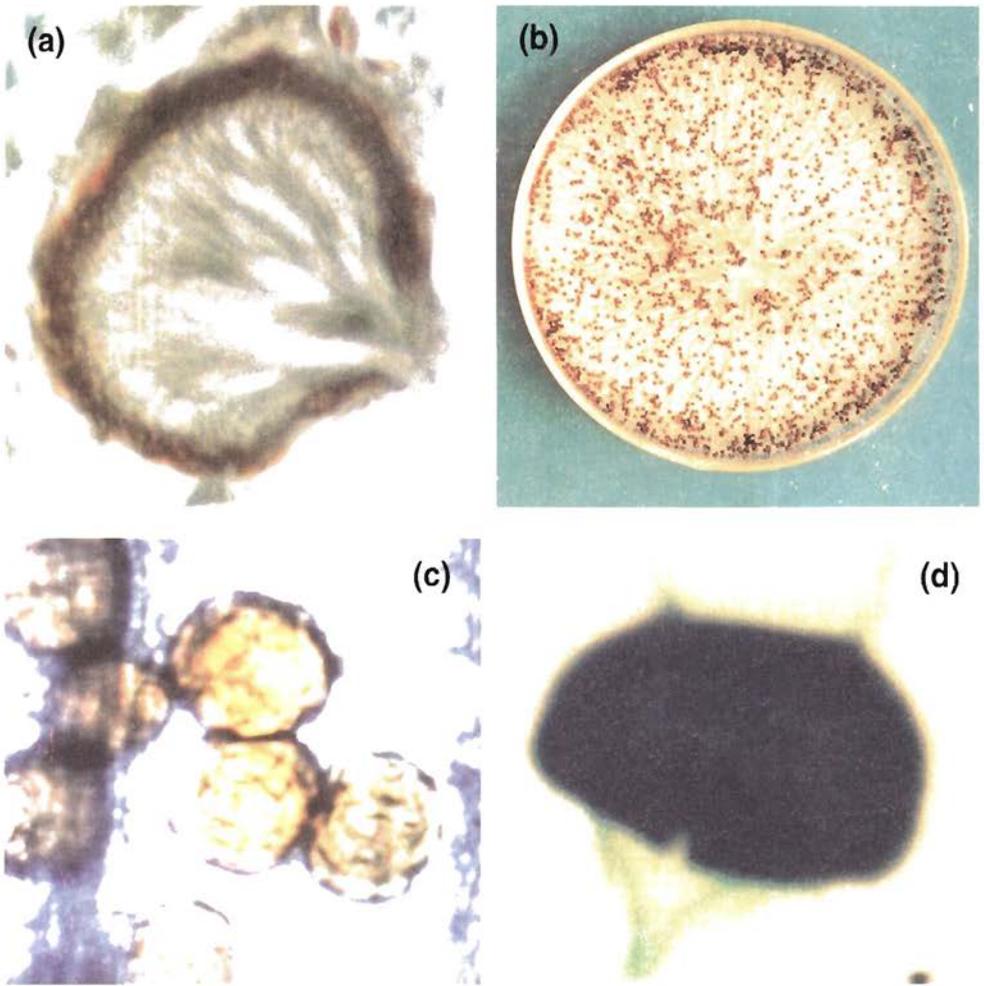


Figura 3. a) Picnidio (400x). b) Esclerocios. c) Oosporas (400x) y d) Zygospora (400x).

patógenos el uno para el otro, sino que, inclusive, cada uno de ellos puede ser esencial para el desarrollo del otro, o al menos tener influencia beneficiosa en dicho desarrollo.

Los organismos que en él participan se conocen como simbioses y un ejemplo clásico son los líquenes: un hongo y una alga que viven en asociación íntima, o las micorrizas que son simbiosis mutualistas entre hongos del suelo y raíces de plantas superiores.

Parásitos: Hongos que viven a expensas de otros, de ordinario invadiéndolos y causándoles daño.

Parásitos obligados: Organismos que no pueden completar sus ciclos biológicos sino a través de la relación de parasitismo con su respectivo hospedero u hospedante vivo, es decir, sólo pueden obtener alimento a partir de protoplasma vivo, y no pueden ser cultivados en medios de cultivo de laboratorio.

Parásitos facultativos: Aquellos que pueden infectar a organismos vivos o también crecer sobre materia orgánica o medios de cultivo de laboratorio.

Saprofitos: Aquellos organismos que se alimentan de sustancias orgánicas en descomposición, son los más abundantes en la naturaleza y en general son muy beneficiosos ya que al desintegrar materia orgánica muerta, los productos resultantes de su desintegración son fácilmente asimilados por otros organismos vivos como plantas, animales microscópicos y otros microorganismos.

Saprofitos obligados: Hongos que obtienen su alimento exclusivamente a partir de tejidos orgánicos muertos o de materias inorgánicas.

Saprofitos facultativos: Hongos capaces de crecer sobre materia muerta o de infectar otros organismos vivos, según las circunstancias.

Los hongos que son facultativos poseen fases parasíticas y saprofiticas en sus ciclos biológicos.

Nutrición y crecimiento

Los hongos necesitan elementos esenciales como activadores o constituyentes de las enzimas. El efecto de su carencia o bajos suministros se manifiesta con reducción en el crecimiento y en la esporulación; o también en incremento o reducción de varias de sus enzimas o metabolitos de sus células.

Los elementos esenciales son de dos clases:

- No metálicos, como hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo y azufre.
- Metálicos, como potasio, magnesio, hierro, zinc, manganeso, cobre, molibdeno y calcio.

Los hongos dependen del medio o sustrato para tomar todos los elementos y compuestos que requieren para crecer, excepto el oxígeno molecular y pequeñas cantidades de dióxido de carbono que obtienen de la naturaleza.

Ninguna sustancia puede entrar o salir de la célula sin que esté sujeta a reglas que son inherentes a la naturaleza de la membrana celular, cuya principal función es la regulación del paso de los elementos que toma del medio

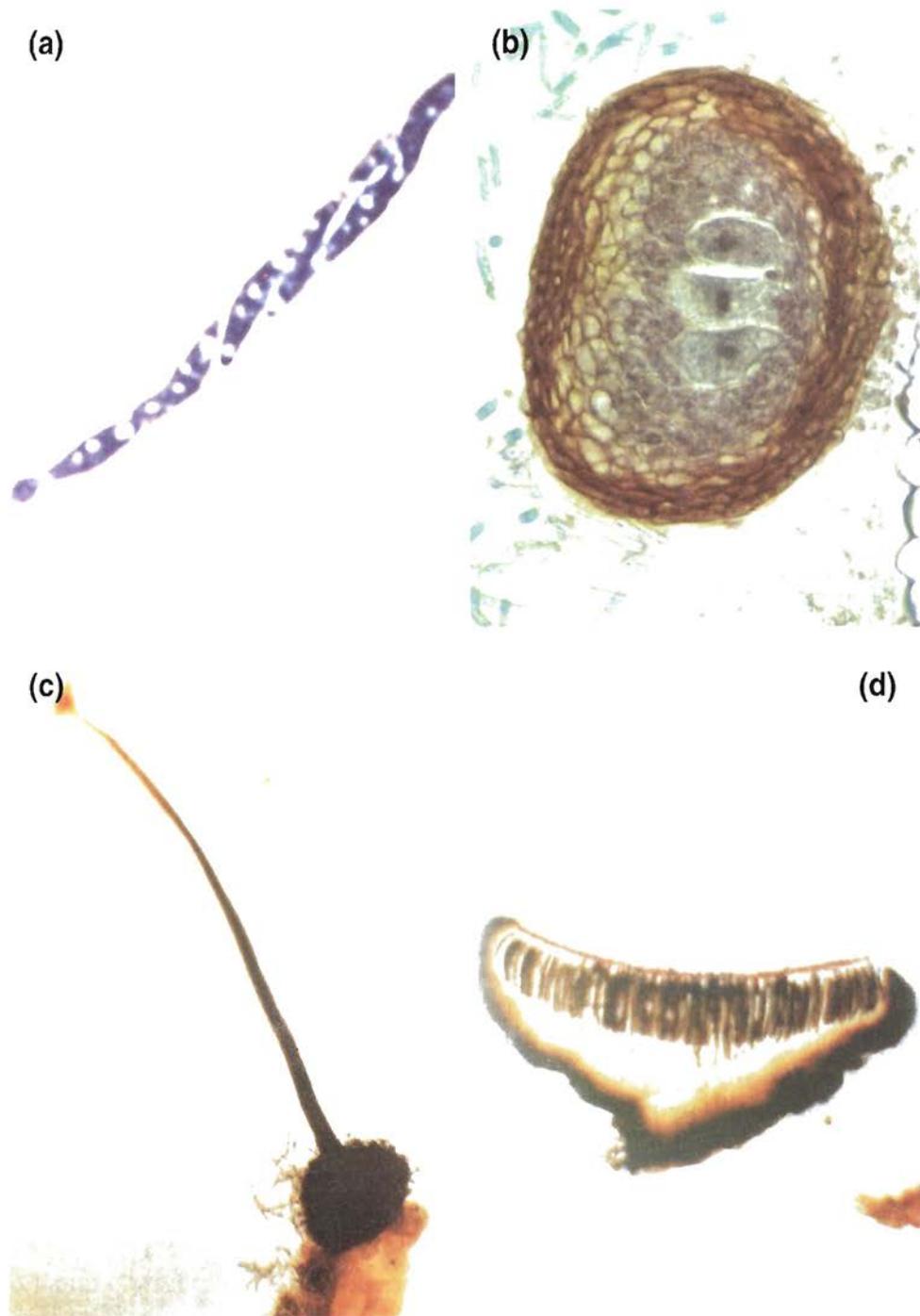


Figura 4. a) Asca (400x), b) Cleistotecio (400x), c) Peritecio (400x) y d) Apotecio (400x).

para sintetizar sus compuestos celulares y obtener la energía necesaria para sus procesos metabólicos.

Crecimiento

Pocos estudios sobre cinética de crecimiento han sido realizados en condiciones naturales porque son numerosas las dificultades técnicas inherentes a trabajos de este tipo.

El parámetro de crecimiento se puede medir en aumento de masa celular o en el número de células. Por lo general ambas formas de incremento ocurren simultáneamente; su potencialidad depende de la composición del medio y de las condiciones ambientales a las que está expuesto.

Si un hongo crece en un medio líquido que contiene todos los nutrientes esenciales, el peso seco puede ser graficado contra el tiempo obteniéndose una curva que presenta las siguientes fases (Figura 5).

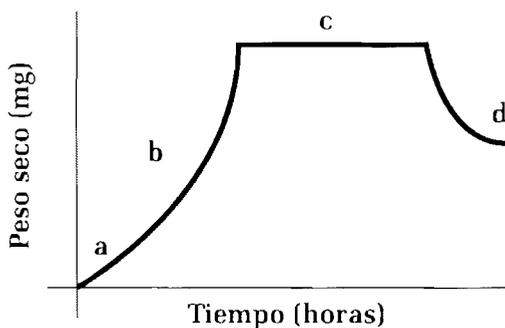


Figura 5. Fases de desarrollo de un microorganismo.

- a: **Fase lag o retardada.** La inoculación de un hongo a un medio nuevo no va seguida de la multiplicación inmediata de la población, la cual permanece sin cambios durante algún tiempo; en este caso las células individualmente aumentan su tamaño, fisiológicamente son más activas y sintetizan nuevo protoplasma. La célula en el nuevo medio puede ser deficitaria en enzimas o coenzimas, las cuales han de sintetizar en primer lugar en cantidades necesarias para el funcionamiento óptimo del mecanismo químico de la célula.
- b: **Fase logarítmica o exponencial.** La velocidad de crecimiento es máxima, la población en cuanto a composición, actividad metabólica y otras características fisiológicas es casi uniforme. La acumulación de micelio en peso seco es máxima.
- c: **Fase estacionaria.** La fase exponencial comienza a decaer en forma gradual, llegando a un estado de suspensión del crecimiento, atribuible en-

tre otros al agotamiento de los nutrientes y en parte a la acumulación de sustancias tóxicas.

d: **Fase de autólisis o de muerte.** En general el agotamiento de elementos nutritivos esenciales y la acumulación de subproductos tóxicos en concentraciones inhibitorias son suficientes para explicar esta fase.

La tasa de crecimiento medida durante la fase exponencial es conocida como tasa específica de crecimiento y es influenciada por el tipo de hongo y las condiciones ambientales empleadas.

Métodos de medición

El crecimiento de los hongos puede ser medido en términos de:

- Número de células.
- Crecimiento lineal de la colonia.
- Masa micelial.
- Volumen.
- Actividad metabólica.
- Cantidad de algunos constituyentes.

Número de células

Las técnicas empleadas para este método están restringidas a aquellos hongos unicelulares o para el conteo de conidias o esporas, y se pueden realizar mediante:

- Conteo microscópico directo en placas portaobjetos.
- Suspensión de células o esporas en cámaras de recuento tipo hematocímetro de Spencer.
- Determinación del número de células o esporas con capacidad de multiplicación en determinadas condiciones, por el recuento del crecimiento en cajas de Petri.
- Determinación de la densidad de una suspensión por medidas ópticas, utilizando un colorímetro-espectrofotómetro.
- Determinación de la concentración celular por valoración del contenido de nitrógeno, conocido como método MicroKjeldahl.

Los siguientes métodos pueden ser aplicados a hongos filamentosos:

- Determinación en peso seco.
- Determinación por valoración de actividad metabólica, mediante la medición de algún componente producido en el medio.

- Estimación visual del crecimiento.
- Medición lineal de colonias.

Factores ambientales que influyen en el crecimiento de los hongos

Temperatura

Es uno de los factores ambientales que ejercen mayor influencia en el crecimiento y supervivencia de los hongos. Cuando aumenta la temperatura el crecimiento se acelera porque las reacciones enzimáticas y químicas de la célula se producen a ritmo más rápido; sin embargo, las proteínas, ácidos nucleicos y otros componentes celulares pueden quedar inactivos irreversiblemente por ser sensibles a las altas temperaturas.

En los hongos por debajo de 0°C sus células pueden sobrevivir en estado de latencia como estructuras de resistencia tipo clamidosporas, esclerocios o estromas; por encima de 40°C muchos detienen su crecimiento y pueden morir.

En general para todo organismo vivo hay una **temperatura mínima** por debajo de la cual no se produce crecimiento, una **temperatura óptima** en la que ocurre el crecimiento normal y una **temperatura máxima** por encima de la cual no es posible el crecimiento. La temperatura óptima está siempre más cerca del máximo que del mínimo.

De acuerdo con los rangos dentro de los cuales pueden crecer los hongos, estos se pueden clasificar en:

Psicrófilos o criófilos, hongos que pueden crecer a temperatura de 0°C.

Mesófilos, hongos que crecen a temperaturas entre 25 y 40°C.

Termófilos, hongos que crecen por encima de los 45 y 50°C.

El estudio ecológico de organismos que viven en manantiales calientes ha demostrado que las velocidades de crecimiento son sorprendentemente altas, poseen estructura muy fina donde sus enzimas y demás proteínas son más resistentes al calor que las de los mesófilos y tienen la membrana celular compuesta de lípidos ricos en ácidos grasos saturados, los cuales permiten a las membranas permanecer estables y funcionales a temperaturas elevadas.

Unos pocos hongos se desarrollan a temperaturas de 40-50°C, nivel en el cual su crecimiento óptimo está por encima de 40°C; entre ellos *Penicillium dupontii*, que crece bien entre 40 y 47°C pero pobremente por debajo de 40°C; especies de *Chaetomium* crecen a temperaturas óptimas de 50°C con habilidad para desarrollarse aun a 60°C.

Agua

Todos los organismos necesitan agua para vivir. La cantidad varía en los diferentes ambientes, sin embargo, la disponibilidad no depende solamente

del contenido sino que es una función compleja de factores de absorción y disolución y se puede expresar como **actividad del agua** y está relacionada con la presión de vapor de agua contenida en el aire sobre una solución o sustancia; se calcula midiendo la humedad relativa y se da en términos de porcentaje.

Para que una espora germine se precisa de humedad relativa ambiental alta, en la mayoría de los hongos, superior al 70%, la cual normalmente tiene lugar después de las lluvias.

Como agua libre es un factor ambiental que afecta a los hongos; la cantidad de agua influye sobre la disponibilidad de nutrientes y la concentración de sustancias tóxicas; afecta la morfogénesis, la naturaleza, el tamaño, el grado de ramificación de las hifas y la intensidad de esporulación y en ocasiones el tipo de reproducción.

Los hongos se consideran normalmente como estrictamente aerobios, aunque muchos de ellos son capaces de crecer en tensiones bajas de oxígeno de ambientes subterráneos.

Potencial de hidrógeno (pH)

El pH del sustrato puede tener una importante influencia en la ecología de los hongos. La composición de la microflora respecto a bacterias y actinomicetos se ve favorecida por condiciones neutras o alcalinas, mientras que los hongos muestran mejor actividad en condiciones de acidez.

Para los hongos del suelo, el pH afecta su desarrollo y fructificación; la gran mayoría encuentra su óptimo en suelos con valores de pH que están entre 4 y 6; es decir ácidos.

Luz

Muchos hongos son afectados por la luz y su efecto puede influir en la morfogénesis, ya sea induciendo o inhibiendo la formación de estructuras; en la rata o dirección de crecimiento de las mismas y en la síntesis de compuestos.

Aunque la luz no es necesaria para el crecimiento de los hongos, algo de ella es esencial para la esporulación de muchas especies. El fenómeno, observado en los laboratorios, de la alternancia de áreas esporulantes y no esporulantes parece ser causado por los cambios de luz y oscuridad.

La luz desempeña papel importante en la dispersión de las esporas, puesto que los órganos portadores de ellas en muchos hongos presentan fototropismo positivo y descargan sus esporas hacia la luz.

Tanto la fase vegetativa como reproductiva de los hongos responde a la luz. La respuesta hacia un estímulo de luz es demostrada por la mayor parte de los hongos filamentosos.

Reproducción

La formación de nuevos individuos con todas las características típicas de la especie ocurre en los hongos a través de:

Reproducción asexual

Denominada también somática o vegetativa; es cualquier método de propagación sin la participación de órganos sexuales. Las formas de reproducción asexual que ocurren en los hongos son:

Fragmentación del soma o talo. En este caso, las hifas pueden dividirse en las células que las componen, comportándose luego cada segmento como esporas conocidas con el nombre de oidios o artrosporas. Cuando las células quedan recubiertas por una pared gruesa antes de separarse unas de otras se denominan clamidosporas. Este tipo de reproducción es fundamental en los hongos de micelios estériles (Agonomycetales).

Fisión natural de células somáticas para dar lugar a células hijas, mediante la formación de una pared transversal.

Gemación de células somáticas. Es la producción de sobrecrecimientos o yemas a partir de una célula. Las yemas crecen y posteriormente se separan para constituir un nuevo individuo.

Producción de estructuras especializadas: conocidas como **esporas o conidias**.

En la reproducción asexual pueden desarrollarse muchas generaciones en forma sucesiva; desde el punto de vista epidemiológico esto es importante porque origina gran cantidad de inóculo en un período y área determinados; cuando las condiciones son favorables al hongo, las esporas o conidias germinan generando graves epifitias.

Reproducción sexual

Es la unión de dos núcleos o gametos compatibles y en los hongos implica la conjugación, que es el acercamiento y fusión de dos células que reciben el nombre de **isogametos** cuando son iguales y **heterogametos** cuando hay dimorfismo sexual entre ellas, la gameta masculina se denomina anteridio y la femenina oogonio en los Oomycetes y ascogonio para los Ascomycetes.

Las gametas en conjugación forman una célula denominada **zigoto** y su núcleo usualmente es el resultado de la fusión del núcleo de los dos gametos.

Fases en la reproducción sexual

Las diferentes formas de reproducción sexual presentan tres fases:

Plasmogamia. Unión de los dos protoplastos de las gametas junto con sus núcleos haploides en el interior de una misma célula. Los dos núcleos, uno por cada progenitor, forman un dicarion ($n+n$), el cual puede perpetuarse pasando de una célula a otra mediante la división simultánea de los dos núcleos estrechamente asociados y mediante la separación de los núcleos hijos, resultantes en las dos células hijas.

Cariogamia. La fusión de los núcleos de los gametos la cual da origen a núcleos diploides ($2n$); es la fecundación propiamente dicha.

Meiosis. O división reduccional, fase mediante la cual se efectúa el cambio del estado diploide $2n$ al haploide (n); o sea, se reduce la cantidad de cromosomas a la mitad; las células haploides son las precursoras de cuatro células o esporas que se originan por dos divisiones sucesivas, y que son las que garantizan la continuidad de la especie.

Formas de reproducción sexual

Copulación planogamética. La fusión de dos gametas desnudas, de las cuales por lo menos una es móvil, ocurre por:

- Conjugación de planogametas isogámicas. Los dos gametos, que son morfológicamente semejantes pero fisiológicamente distintos, se unen formando un cigoto móvil.
- Conjugación de planogametas anisógamas. Una de las gametas es considerablemente más grande que la otra.
- Fecundación de una gameta femenina (óvulo) por una gameta masculina (anterozoide).

Contacto gametangial. Dos gametangios entran en contacto pero no se fusionan; el núcleo de la gameta masculina migra a través de un poro o tubo de fecundación, hasta el gametangio femenino. En ningún caso los gametangios realmente se fusionan o pierden su identidad durante el acto sexual. Una vez los núcleos pasan al gametangio femenino, éste continúa su desarrollo y el gametangio masculino se destruye.

Copulación gametangial. Los dos gametangios, o sus protoplastos, se fusionan y dan lugar a un cigoto que se transforma en una espora de resistencia.

Espermatización. Algunos hongos llevan numerosas estructuras masculinas pequeñas, uninucleadas, con apariencia de esporas, llamadas espermacios que son transportadas por el viento, insectos, agua, etc., a la gameta

femenina, constituida por hifas receptoras. En el punto de contacto se desarrolla un poro y el contenido de espermacio pasa a la hifa receptiva.

Somatogamia. En muchos hongos superiores no se forma ningún órgano sexual y entonces las células somáticas o del talo desempeñan dicha función.

Organos implicados en la reproducción sexual

Algunos hongos producen gametas masculinas y femeninas en un mismo talo, por lo tanto son considerados **hermafroditas** o **monoicos**; en otros sus gametas están formadas en talos separados y son llamados **dicocos**, en los cuales una parte de los talos porta sólo órganos masculinos y otra órganos femeninos.

En otros organismos fungosos, las gametas son morfológicamente indistinguibles, es decir, no se puede diferenciar la masculina de la femenina, pero son sexualmente funcionales; son los llamados hongos **sexualmente indiferenciados**.

Esta clasificación indica que desde el punto de vista de compatibilidad los hongos se pueden clasificar en:

- Autocompatibles, los hongos hermafroditas u homotálicos en los cuales cada talo es sexualmente autofértil y pueden reproducirse sexualmente por sí mismos, sin la ayuda de otro talo.
- Autoincompatible, los hongos heterotálicos, en los que cada talo es sexualmente autoestéril, por lo tanto requieren la ayuda de otro talo compatible de diferente tipo de apareamiento para la reproducción sexual.

Ciclo parasexual

En los hongos imperfectos o **deuteromycetes**, en los cuales no se presenta un ciclo sexual verdadero, ocurre el llamado **Ciclo parasexual**, mediante el cual se obtienen los beneficios de la sexualidad.

La secuencia de sucesos de un ciclo parasexual completo es la siguiente:

1. Formación de micelio heterocariótico, o sea que núcleos genéticamente distintos están asociados en el mismo protoplasto (plasmogamia). La forma como ocurre un micelio heterocariótico es mediante la anastomosis de hifas somáticas de distinta constitución genética, o mediante mutación en uno o más núcleos.
2. Fusión entre núcleos iguales o distintos (cariogamia)
3. Multiplicación de núcleos diploides junto a núcleos haploides. Cuando un micelio se ha convertido en heterocariótico, tiene lugar la fusión entre núcleos haploides de distinto o del mismo genotipo.

La primera fusión origina núcleos diploides homocigóticos. Esta es la fase más importante del ciclo parasexual, ya que brinda al hongo algunas de las ventajas de la sexualidad, y desde el punto de vista de evolución de las especies, en los deuteromycetes puede ser tan importante como el ciclo sexual en otros hongos.

4. En los hongos que producen conidios uninucleados la independencia de núcleos haploides se produce mediante su incorporación a conidios que luego germinan y producen micelios diploides.
5. Los micelios diploides producen a menudo sectores con conidios haploides que pueden ser aislados y cultivados para dar origen a colonias haploides; esto significa que algunos núcleos diploides experimentan haploidización en el micelio y luego se independizan. Algunas de estas cepas haploides son genotípicamente diferentes de ambos progenitores, debido a que las recombinaciones mitóticas producen nuevos grupos de genes ligados, que se independizan en forma de conidios haploides.

Clasificación

Los estudios paleontológicos indican que los hongos constituyen un grupo muy antiguo; los principales grupos fúngicos están representados en los registros fósiles de finales de la era paleozoica y muchos de ellos presentan semejanza sorprendente con muchos géneros existentes bien conocidos hoy día.

De acuerdo con la recomendación de la comisión encargada de las reglas internacionales de nomenclatura botánica, los hongos están ubicados en el **Superreino Eucariontes**, **reino Fungi** (hongos). Las **divisiones** deben terminar en **Mycotes**, las **clases** en **Mycetes**, los **órdenes** en **ales** y las **familias** en **aceae**. Los nombres de los géneros y especies no presentan terminaciones estándar.

A manera de ejemplo, se da la clasificación del hongo que produce la gota de la papa y el tomate.

- Superreino: Eucariontes
 - Reino: Fungi
 - División: Mastigomycotes
 - Clase: Oomycetes
 - Orden: Peronosporales
 - Familia: Pythiaceae
 - Género: *Phytophthora*
 - Especie: *P. infestans*

Algunos de los hongos imperfectos (Deuteromycetes) representan o constituyen fases conídicas de Ascomycetes y más raramente de los Basidiomycetes; en este caso se consideran como sus anamorfos o fase asexual, tal es el caso de *Sphacelia sorghi* fase conídica o anamorfa de *Claviceps purpurea* (Ascomycete) que representa al teleomorfo o teliomorfo o estado sexual del hongo; es por esto que se da un nombre para el estado imperfecto (anamorfo) y otro para el estado perfecto (teliomorfo).

A criterio de los autores, como referencia en forma resumida, se presenta un esquema simple de clasificación obviando las subdivisiones y subclases de los principales hongos fitopatógenos registrados en Colombia; anotando algunas características de las clases, órdenes y familias, a las cuales pertenecen.

Se toman como base y sirven para consulta y ampliación los textos: "Introducción a la Micología", de J.C. Alexopoulos; la clave "Illustrated Genera of Imperfect Fungi", de H.L. Barnett y B.B. Hunter y las publicaciones "Hongos fitopatógenos de Colombia" e "Índice de enfermedades de plantas cultivadas en Colombia", de los Ingenieros Agrónomos Víctor Manuel Cardona, Juan Orjuela N. y Pablo Buriticá C., respectivamente.

CLASIFICACIÓN DE LOS PRINCIPALES HONGOS FITOPATÓGENOS REGISTRADOS EN CULTIVOS DE COLOMBIA

Superreino: Eucariontes.
Reino: Mycetes (Hongos).
División: Mastigomycetes

Clase	Orden	Familia	Género/Especie	Nombre de la Enfermedad
<p>PLASMIDIOPHOROMYCETES No producen micelio, su fase somática es un plasmodio. El plasmodio se transforma en esporas (zoosporas) con dos flagelos lisos posteriores. Reproducción sexual y asexual.</p>	<p>PLASMIDIOPHORALES Parásitos obligados, que se reproducen en el interior de la célula (endobioticos).</p>	<p>PLASMIDIOPHORACEAE Hongos del suelo, especialmente de pH ácido. Parásitos de raíces en las cuales ocasiona hiperplasia e hipertrofia. El género <i>Spongospora</i> es vector del Potato Mop Top Virus.</p>	<p><i>Plasmidiophora brassicae</i> <i>Spongospora subterranea</i> <i>Polyomyxa graminis</i></p>	<p>Hernia de la col Sarna pulverulenta de la papa Vector del RSNV, virus del enrochamiento del arroz</p>
<p>CHYTRIDIOMYCETES Produce células móviles (zoosporas y planogametas) con un solo flagelo liso y posterior. Talo continuo (cenocítico). Por reproducción sexual produce un zigoto que se convierte en una espora de resistencia.</p>	<p>CHYTRIDIALES Especies acuáticas, terrestres. Endoparásitos. Por reproducción asexual producen zoosporas que se forman dentro de esporangios.</p>	<p>SYNCHYTRIAACEAE Parásitos holocarpicos. El talo continuo se divide y queda rodeado por una membrana formando una masa de esporangios o esporas (soro).</p>	<p><i>Synchytrium endobioticum</i></p>	<p>Sarna verrugosa de la papa</p>
<p>OOMYCETES Por reproducción sexual produce oosporas. Reproducción sexual por conlactogamangial de anteridio y oogonio. Micelio continuo bien desarrollado. Asexualmente produce esporangios con zoosporas biflageladas. Causan enfermedades graves a los cultivos.</p>	<p>PERONOSPORALES Presentan diferentes niveles de parasitismo. Son los hongos más especializados de los oomycetes. Micelio bien desarrollado, continuo y ramificado. Las hifas de las especies parasíticas son intracelulares e intercelulares, dentro de la célula hospedera producen haustorios.</p>	<p>ALBIGINACEAE Conocidas como royas blancas. Parásitos obligados. Los esporangiofitos son gruesos, cortos y claviformes; forman esporangios en cadena.</p>	<p><i>Albugo candida</i> <i>A. portulacae</i> <i>A. blitti</i></p>	<p>Roya blanca de las crucíferas Roya blanca verdolaga Roya blanca amarantáceas</p>

CLASIFICACIÓN DE LOS PRINCIPALES HONGOS FITOPATÓGENOS REGISTRADOS EN CULTIVOS DE COLOMBIA (CONTINUACIÓN)

Superreino: Eucariotes
 Reino: Micetes (Hongos).
 División: Mastigomycotes

Clase	Orden	Familia	Género/Especie	Nombre de la Enfermedad
OOMYCETES	<p>PERONOSPORALES Reproducción sexual por unión de oogonios y anteritales (heterogametos), homotales o heterotales. En algunas especies el esporangio actúa como espora germinando en vez de producir zoosporas. En la mayoría de las especies produce zoosporas reniformes biflageladas.</p>	<p>PHYTHIACEAE Esporangioforos de crecimiento definido o indefinido con respecto a las hifas. Parasitos facultativos que producen enfermedades graves tipo Damping-off. En algunos generos el esporangio es caduco y germina directamente en vez de producir zoosporas.</p>	<p><i>Phytophthora infestans</i> <i>P. cinnamomi</i></p>	<p>Gota papa y tomate Pudrición raíces, piña, aguacate, cítricos Gomosis cítricos</p>
			<p><i>P. citrophthora</i> <i>P. parasitica</i> <i>P. megasperma</i> <i>P. nicotianae</i> var. <i>parasitica</i> <i>P. palmivora</i></p>	<p>Gomosis cítricos pudrición raíz piña, papayo, tabaco Pudrición raíces soya Pudrición fruto y tallo de piña, raíz papaya Pudrición mazorca cacao</p>
	<p>PERONOSPORACEAE Esporangioforos de crecimiento determinado, diferentes de las hifas somáticas. Esporangios formados sobre los extremos del esporangioforo. La terminación del esporangioforo es característica para cada género y sirve como base para clasificarlos. Parasitos obligados. Producen enfermedades conocidas como mildews vellosos o «Downy mildew».</p>	<p><i>Peronospora manshurica</i> <i>P. destructor</i> <i>P. dianthicola</i> <i>P. parasitica</i> <i>P. effusa</i> <i>P. farinosa</i> <i>Pseudoperonospora cubensis</i></p>	<p>Mildeo vellosos de la soya Mildew vellosos cebolla Mildew vellosos clavel Mildew vellosos repollo Mildew vellosos espinaca Mildew vellosos remolacha Mildew vellosos melón, sandía, pepino Mildew vellosos vid Mildew vellosos girasol Mildew vellosos zanahoria Mildew vellosos lechuga</p>	

Clase	Orden	Familia	Género/Especie	Nombre de la Enfermedad
<p>ZYGOAMYCETES Por reproducción sexual produce esporas de resistencia de paredes gruesas llamadas zygosporas. Micelio continuo bien desarrollado. No producen esporas móviles (flageladas). Reproducción sexual y asexual. Parásitos facultativos y saprofitos. Además incluyen hongos micorrizogenos importantes.</p>	<p>MUCORALES Mayoría saprofitos. Algunos parásitos débiles de frutas y semillas. Muchas especies que son saprofitas sintetizan productos industriales importantes.</p>	<p>MUCORACEAE Algunos hongos son utilizados industrialmente. Algunos forman rizoides. Presentan hifas que conectan los rizoides llamados estolones. Producen esporangios grandes con muchas esporas.</p>	<p><i>Rhizopus stolonifer</i> <i>R. oryzae</i> <i>Glomus manihotis</i> <i>Gigaspora pellucida</i> <i>Acaulospora longula</i> <i>Scutellospora spp.</i> <i>Gigaspora spp.</i> <i>Sclerocystis spp.</i> <i>Entrophospora sp.</i></p>	<p>Moho negro del pan, utilizado industrialmente para producir ácido fumárico. Moho negro frutas, cápsulas de algodón, sorgo y maíz. Utilizado industrialmente para producir alcohol, ácidos láctico, cítrico, succínico y oxálico.</p> <p>No son hongos fitopatógenos, son micorrizogenos en muchos cultivos.</p>
	<p>ENDOGONALES La mayoría de las especies producen esporas aisladas en el suelo, otras forman esporocarpos que contienen zigosporas, clamidosporas o esporangios.</p>	<p>ENDOGONACEAE Importantes en la agricultura por ser hongos micorrizogenos en muchos cultivos.</p>		

CLASIFICACIÓN DE LOS PRINCIPALES HONGOS FITOPATÓGENOS REGISTRADOS EN CULTIVOS DE COLOMBIA (CONTINUACIÓN)

Superreino: Eucariotes.
Reino: Mycetes (Hongos).
División: Mastigomycotes

Clase	Orden	Familia	Género/Especie	Nombre de la Enfermedad
ASCOMICETES Formación de ascas dentro de la cual se forman generalmente ocho ascosporas. Micelio septado, algunos no poseen micelio, son unicelulares. La mayoría producen ascocarpos que contienen las ascas. El tipo de ascocarpo proporciona criterios para clasificación a nivel de orden. La fase sexual es la ascógena y la asexual es la conídica, imperfecta o anamorfa y corresponde a las fases conídicas de muchos hongos de la clase Deuteromycetes. Presenta diferentes niveles de parasitismo.	ENDOMYCETALES Forman ascas a partir de zigotos. No forman ascocarpos.	SACCHAROMYCETACEAE Levaduras, talo unicelular, producen ascosporas en ascas libres a partir de zigotos. Fermentan glucidos (azúcares) e industrialmente son importantes para las industrias cervecera y panificadora.	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Levadura para la fabricación de cerveza, vino, pan.
	TAPHRINALES No forman ascocarpos. No producen órganos sexuales; la reproducción sexual ocurre por copulación entre conidios originados por gemación de ascosporas.	TAPHRINACEAE Ascas desnudas, no forman ascocarpos. Parasitos de plantas.	<i>Taphrina deformans</i>	Enrollamiento de las hojas de durazno, cerezos.
EUROTIALES Producen ascocarpos tipo cleistototico.	EUROTIACEAE Importantes por sus fases imperfectas <i>Aspergillus</i> y <i>Penicillium</i> . Hongos ampliamente distribuidos a nivel mundial.	<i>Eurotium</i> sp. * <i>Aspergillus</i> * <i>Penicillium</i>	* Fase anamorfa, imperfecta o conídica. Se menciona en la clasificación Deuteromycetes causando daño en granos almacenados.	
	MICROASCALES Ascas dentro de peritecios.	OPHIOSTOMATACEAE Parásitos de plantas, especialmente árboles.	<i>Ceratocystis fimbriata</i> C. <i>paradosa</i>	Mal del machete: cítricos, café, guamo, mango, cacao. Pudrición corona de piña, pudrición frutos chontaduro, necrosis inflorescencia cocos, pudrición basal tallo plátano, chancro tallo yuca, mal de piña, caña.

Clase	Orden	Familia	Género/Especie	Nombre de la Enfermedad
<p>ASCOMYCETES</p>	<p>ERYSIPHALES Ascocarpos tipo cleistotecio.</p>	<p>ERYSIPHACEAE Mildeos polvosos, cenicillas u oidios. Los generos se clasifican por el numero de ascas por cleistotecio y por el fulcro. Parásitos obligados.</p>	<p><i>Sphaerotheca pannosa</i> <i>Podospheera leucotricha</i> <i>Microspheera betae</i> <i>Umicinula necator</i> * <i>Acrosporium</i></p>	<p>Oidios rosas Oidio manzano Oidio remolacha Oidio vid • Fase anamorta, imperfecta o conídica. En Colombia está registrado el genero <i>Oidium</i>. hoy dia <i>Acrosporium</i>.</p>
	<p>XYLARIALES Ascocarpos tipo peritecio, oscuros, coriáceos, globosos o periformes, ostiolados, saprofiticos, coprófilos y parásitos</p>	<p>PHYLLACHORACEAE Producen peritecios inmersos en tejido foliar, protegidos por tejido estromático</p>	<p><i>Phyllachora maydis</i> <i>P. gratussima</i> <i>P. guaduuae</i> <i>P. graminis</i></p>	<p>Mancha de asfalto maiz Mancha de asfalto aguacate Mancha de asfalto guadua Mancha de asfalto gramíneas</p>
		<p>XYLARIACEAE Peritecios rodeados por tejido estromático</p>	<p><i>Rosellinia necatrix</i> * <i>Dematophora necatrix</i> <i>Rosellinia pepo</i></p>	<p>Pudricion blanca, alfalfa, cacao • Fase anamorta, imperfecta o conídica. Liaga raíz trigo: cítricos, café, guarano, plátano, cacao, eucalippto, yuca, pino, papa, etc</p>

CLASIFICACIÓN DE LOS PRINCIPALES HONGOS FITOPATÓGENOS REGISTRADOS EN CULTIVOS DE COLOMBIA (CONTINUACIÓN)

Superreino: Eucariontes.
 Reino: Mycetes (Hongos).
 División: Mastigomycotes

Clase	Orden	Familia	Género/Especie	Nombre de la Enfermedad
		<p>POLISTIGMATACEAE Hongos no estromáticos. Parásitos de plantas. Forman apressorios al germinar la conidia. Producen las antracnosis.</p>	<p><i>Glomerella lindemuthianum</i> <i>G. cingulata</i></p> <p>• <i>Colletotrichum</i> • <i>Gloesporium</i></p> <p><i>G. glycines</i> <i>G. gossipii</i> <i>G. graminicola</i> <i>G. lucumanensis</i> <i>G. lycopersici</i></p>	<p>Antracnosis frijol Antracnosis: pitaya, piña, chirimoya, guanábano, repollo, pimentón, papaya, cítricos, tomates, manzana, mango, maracuyá, lulo, granadilla, aguacate, guayaba, etc. • Fase anamórfica, imperfecta o conídica</p> <p>Antracnosis soya Antracnosis algodón Sorgo, maíz, caña Muermo rojo caña Antracnosis tomate</p>
	<p>CLAVICEPETALES Producen peritecios dentro de estromas bien desarrollados. Los esclerocios contienen alcaloides venenosos para el hombre y los animales.</p>	<p>CLAVICEPETALES Peritecios inmersos en estromas. Ascosporas germinan y penetran en el ovario de semillas de gramíneas y producen acérvulos donde se desarrollan conidioboros cortos que emiten conidias mezcladas en secreciones pegajosas y azucaradas. El alucinógeno LSD puede sintetizarse a partir del ácido lisérgico que se encuentra en los esclerocios del cornezuelo.</p>	<p><i>Claviceps purpurea</i></p> <p>• <i>Sphacelia sorghi</i></p>	<p>Ergot, cornezuelo de avena, trigo, centeno, pasto Rey Grass. • Fase anamórfica, imperfecta o conídica, registrada en Colombia como agente causal del mal de azúcar en sorgo.</p>

Clase	Orden	Familia	Género/Especie	Nombre de la Enfermedad
ASCOMYCETES	<p>DOTHIDIALES Ausencia de hias interascas. Forma ascas bitunicadas. Peritecios dentro de lóculos estromáticos.</p>	<p>DOTHIDIACEAE Peritecios dentro de ascostromas uniloculares llamados subtecios.</p>	<p><i>Mycosphaerella arachidis</i> *<i>Cercospora arachidicola</i></p> <p><i>Mycosphaerella dianthi</i> *<i>Cladosporium echinulatum</i></p> <p><i>Mycosphaerella fijiensis</i> *<i>Paracercospora fijiensis</i></p> <p><i>Mycosphaerella gossypina</i> *<i>Cercospora gossypina</i></p> <p><i>Mycosphaerella henningii</i> *<i>Cercosporidium henningii</i></p> <p><i>Mycosphaerella musicola</i> *<i>Pseudocercospora musae</i></p>	<p>Mancha foliar mani • Fase anamorfa, imperfecta o conídica</p> <p>Mancha foliar clavel • Fase anamorfa, imperfecta o conídica</p> <p>Sigatoka negra plátano y banana • Fase anamorfa, imperfecta o conídica</p> <p>Mancha parda hojas algodón • Fase anamorfa, imperfecta o conídica</p> <p>Mancha parda hojas yuca • Fase anamorfa, imperfecta o conídica</p> <p>Sigatoka amarilla plátano y banana • Fase anamorfa, imperfecta o conídica</p>

CLASIFICACIÓN DE LOS PRINCIPALES HONGOS FITOPATÓGENOS REGISTRADOS EN CULTIVOS DE COLOMBIA (CONTINUACIÓN)

Superreino: Eucariontes.
 Reino: Mycetes (Hongos).
 División: Mastigomycotes

Clase	Orden	Familia	Género/Especie	Nombre de la Enfermedad
ASCOMYCETES	DIAPORTALES Ascocarpos tipo peritecios.	NECTRIACEAE Producen sus peritecios superficialmente en estromas bien desarrollados	<i>Nectria cinnabarina</i> • <i>Tubercularia virgans</i>	Secamiento ramas cacao • Fase anamorfa, imperfecta o conídica
			<i>Nectria coccinea</i> <i>N. ingae</i> <i>N. galligena</i> • <i>Cylindrocarpon heteronemum</i> <i>N. hematoxoca</i> • <i>Fusarium solani</i>	Secamiento ramas cítricos Mancha fruto guamo Chancro manzano, durazno, pera • Fase anamorfa, imperfecta o conídica Putridión raíces papaya, tomate, maracuya, frijol, papa, manzana, granadilla. • Fase anamorfa, imperfecta o conídica
			<i>Gibberella avenacea</i> • <i>Fusarium avenacearum</i> <i>Gibberella fujikuroi</i> • <i>Fusarium moniliforme</i>	Putridión raíz pino, lenteja • Fase anamorfa, imperfecta o conídica Marchitez crisanlemo, coco, clavé, caña, papa, tomate, pudrición cápsulas algodón, pokkah-boeng caña, molho panoja sorge • Fase anamorfa, imperfecta o conídica
		DIAPORTACEAE Peritecios inmersos en estromas.	<i>Diaporthe citri</i> • <i>Phomopsis citri</i> <i>Diaporthe phaseolorum</i> • <i>Phomopsis sojae</i>	Melanosis cítricos • Fase anamorfa, imperfecta o conídica Secamiento soya, frijol • Fase anamorfa, imperfecta o conídica

Clase	Orden	Familia	Género-Especie	Nombre de la Enfermedad
<p>BASIDIOMYCETES Produce un basidio sobre el cual por reproducción sexual se forman cuatro basidiosporas.</p> <p>Es la clase de hongos más compleja y evolucionada. Hongos de micelio septado. Hongos parásitos de plantas como roya y carbones, venenosos y alucinógenos comestibles (champiñones), hongos micorrizicos. Diferentes niveles de parasitismo. Reproducción sexual y asexual.</p>	<p>UREDINALES Hongos patógenos de plantas conocidos como royas, de las cuales existen unas 4.000 especies, todas parásitas. Producen esporas de resistencia conocidas como teliosporas, no producen basidioscarpos. Las teliosporas germinan mediante un tubo corto llamado promicelio, en donde se forman por reproducción sexual cuatro teliosporas. Micelio septado Reproducción sexual y asexual.</p>	<p>PUCINIACEAE Parásitos obligados. Ciclo biológico complejo. Royas macrocíclicas en dos hospederos; en el secundario o maleza las fases: (0), espermogonio con espermacios e hifas receptivas; (I) aecias formando aeciosporas; en el hospedero principal primario las fases (II) de uredo portador de uredosporas; (III) Teta portador de Teliosporas y (IV) Basidios o promicelio portador de basidiosporas o teliosporas. Royas microcíclicas, sólo se conoce un hospedero en donde presenta las fases (I), (III) y (IV). Uredo y uredosporas constituyen la fase repetitiva, agresiva, dañina y explosiva de las royas.</p>	<p><i>Puccinia helianthi</i> <i>P. horiana</i> <i>P. malvacearum</i> <i>P. sorghi</i> <i>P. arracachae</i> <i>P. arachidis</i> <i>P. maydis</i> <i>P. graminis</i> <i>P. pitilliana</i> <i>P. striiformis</i> <i>P. melanocephala</i> <i>P. psidi</i> <i>Uromyces phaseoli</i> <i>U. manihoti</i> <i>U. dianthi</i> <i>U. betae</i> <i>U. fabae</i> <i>U. graminii</i> <i>Phakopsora gossypii</i> <i>Puccinia zeae</i> <i>P. urva</i> <i>Homileta vastatrix</i></p>	<p>Roya girasol Roya blanca crisantemo Roya malváceas Roya sorgo Roya arracacha Roya maní Roya maíz Roya gramíneas Roya papa Roya amañilla cebada Roya caña de azúcar Roya guayaba Roya frijol, habichuela Roya yuca Roya clavel Roya remolacha Roya haba Roya gerano Roya algodón Roya del maíz Roya uva Roya del café</p>

CLASIFICACIÓN DE LOS PRINCIPALES HONGOS FITOPATÓGENOS REGISTRADOS EN CULTIVOS DE COLOMBIA (CONTINUACIÓN)

Superreino: Eucariontes.
Reino: Mycetes (Hongos).
División: Mastigomycetes

Clase	Orden	Familia	Género/Especie	Nombre de la Enfermedad
BASIDIOMYCETES	USTILAGINALES Llamados carbonos y caries. Todos son patógenos de plantas. Parasitos obligados, autoicos, no tienen hospedero alterno. Relacionados con las royas por producir teliosporas y basidio septado y difieren de ellas por la ausencia de espermacios y aecias; produciendo sólo teliosporas, basidiosporas y conidias.	USTILAGINACEAE La clasificación de géneros se basa en la morfología de la Tellospora, hospedero y síntomas. Son hongos patógenos económicamente importantes. Parasitos de cereales como trigo, cebada y arroz.	<i>Ustilago avenae</i> <i>U. hordei</i> <i>U. scytaminea</i> <i>U. tritici</i> <i>U. nuda</i> <i>U. maydis</i>	Carbon volador avena Carbon cubierto cebada Carbon caña de azúcar Carbon trigo Carbon cebada Carbon mazorca maíz
		TILLETIACEAE Difieren de los Ustilaginaceae por la germinación de las teliosporas formando típicamente ocho basidiosporas. Forma soros en los ovarios produciendo masas de esporas.	<i>Tilletia barclayana</i> <i>T. tritici</i> <i>T. foetida</i>	Carbon grano arroz Carbon trigo Carbon hediondo del trigo

Clase	Orden	Familia	Género/Especie	Nombre de la Enfermedad
<p>DEUTEROMYCETES Se reproducen solo asexualmente, especialmente por conidias; por carecer de reproducción sexual se les denomina hongos imperfectos. Sus fases conidicas son semejantes a las de algunos Ascomycetes y en unos pocos casos de Basidiomycetes. El ciclo parasexual les brinda algunas ventajas de la reproducción sexual. En su mayoría saprofitos, otros parásitos de plantas y animales. Exceptuando el género <i>Agonomycetales</i>, que no produce conidias, los demás se reproducen especialmente por conidias no flageladas. Las conidias presentan gran variedad de formas, colores; producidas en diferentes estructuras, lo que es básico para su clasificación. Los conidióforos dan origen a conidias y pueden desarrollarse aislados, en grupos o en el interior del cuerpo fructífero, criterios básicos para clasificación.</p>	<p>MONILIALES Grupo muy grande de hongos formado por más de 7,000 especies. Se caracterizan por producir sus conidias sobre conidióforos filiformes, es decir, no al interior de los cuerpos fructíferos.</p>	<p>MONILIACEAE Producen conidias sobre conidióforos filiformes o directamente a partir de hias filiformes. Mayoría saprofitos, otros parásitos de plantas y animales. Las conidias pueden ser hialinas o coloreadas.</p>	<p><i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus candidus</i> <i>A. glaucus</i> <i>A. niger</i> • <i>Eurotium</i> <i>Penicillium italicum</i> <i>P. digitatum</i> <i>P. hirsutum</i> <i>P. oxalicum</i> • <i>Eurotium</i> <i>Botrytis cinerea</i> • <i>Botryotinia fuckeliana</i> <i>B. gladiolorum</i> <i>Cylindrocadium scoparium</i> • <i>Calocectria klotences</i> <i>Monilophthora roeri</i> • <i>Sclerotinia</i>, <i>Neurospora</i>, <i>Monilia</i> <i>Ovulariopsis gossipii</i> • <i>Phyllactinia</i> <i>Oidium (Acrosporium) (sp.)</i> <i>Oidium asteris - punicea</i> <i>O. caricae - papayae</i> <i>O. erysipheoides</i> <i>O. leucoconium</i> <i>O. manguiiferae</i> <i>O. tabaci</i> <i>O. fuckeri</i> • <i>Erysiphe, Microsphaera, Podosphaera, Uncinula, Sphaerotheca.</i></p>	<p>Putridión semillas Putridión granos almacenados Putridión granos almacenados trigo, maíz. Putridión cápsulas de algodón, cítricos, maíz, sorgo, vid. • Fase telomorfa Moho verde frutos cítricos Moho verde frutos cítricos Putridión azul bulbo cebolla Moho granos almacenados • Fase telomorfa Moho gris varios cultivos • Fase telomorfa Putridión gladiolos Madura viche soya • Fase telomorfa Moniliasis cacao • Fase telomorfa Mildío polvoso algodón • Fase telomorfa Mildío polvoso var. cultivos Mildío polvoso girasol, cucurbitáceas, tabaco, papa, mango Mildío polvoso papaya Mildío polvoso tomate de árbol Mildío polvoso rosas Mildío polvoso mango Mildío polvoso tabaco Mildío polvoso vid Teliomorfos de <i>Oidium</i> hoy llamado <i>Acrosporium</i>.</p>

CLASIFICACIÓN DE LOS PRINCIPALES HONGOS FITOPATÓGENOS REGISTRADOS EN CULTIVOS DE COLOMBIA (CONTINUACIÓN)

Superreino: Eucariontes.
 Reino: Mycetes (Hongos).
 División: Mastigomycotes

Clase	Orden	Familia	Género/Especie	Nombre de la Enfermedad
DEUTEROMYCETES	MONILIALES	DEMATIACEAE Hifas y conidias típicamente oscuras. No producen cuerpos fructíferos organizados. La mayoría son saprofitos, unos pocos parásitos al hombre, plantas y animales.	<i>Alternaria brassicae</i> <i>A. dauci</i> <i>A. dianthi</i> <i>A. citri</i> <i>A. longipes</i> <i>A. passiflorae</i> <i>A. porri</i> <i>A. solani</i> <i>A. tenuis</i>	Mancha amarilla repollo Quemazón foliar remolacha Quemazón foliar clavel Mancha foliar cítricos Mancha foliar tabaco Mancha fruto maracuyá Mancha púrpura cebolla Tizon temprano papa-tomate Mancha foliar algodón
		DEMATIACEAE Las conidias son bastante grandes, pluricelulares, típicamente con septas transversales y longitudinales, formadas en cadenas o solitarias a partir de conidióforos que son virtualmente indistinguibles de las hifas somáticas.	<i>Cercospora beticola</i> <i>C. brassicicola</i> <i>C. canescens</i> <i>C. capsici</i> <i>C. coffeicola</i> <i>C. chrysanthemi</i> <i>C. gossypina</i> * <i>Mycosphaerella areola</i> <i>C. hialina</i> <i>C. kikuchii</i> <i>C. koepkei</i> * <i>Mycovellosiella koepkei</i> <i>Cercospora oryzae</i> <i>C. longipes</i> <i>C. manguiiferae</i> <i>C. musae</i> * <i>Mycosphaerella musae</i> <i>C. fijensis</i> * <i>Mycosphaerella fijensis</i> <i>C. nicotianae</i> <i>C. papayae</i> <i>C. phaseolina</i> <i>C. sesami</i> <i>C. sojina</i> <i>C. sorghi</i>	Mancha foliar zanahoria Mancha foliar repollo Mancha foliar frijol Mancha foliar pimentón Mancha de hierro café Mancha foliar crisantemo Mancha foliar algodón * Fase telomorfa Mancha foliar rosas Mancha púrpura semilla soya Mancha amarilla hoja caña * Fase telomorfa Mancha café arroz Mancha parda caña Mancha foliar mango Sigaloka amarilla plátano banano * Fase telomorfa Sigaloka negra plátano * Fase telomorfa Mancha foliar tabaco Mancha foliar papayo Mancha foliar frijol Mancha foliar ajonjolí Mancha foliar ojo sapo soya Mancha foliar hoja sorgo

Clase	Orden	Familia	Género/Especie	Nombre de la Enfermedad
DEUTEROMYCETES	MONILIALES	DEMATIACEAE	<p><i>C. viticola</i> <i>Cladosporium allii</i> <i>C. fulvum</i></p> <p><i>Geocercospora sorghi</i> <i>Curvularia lunata</i> <i>Helminthosporium maydis</i> <i>H. oryzae</i> * <i>Cochitobolus miyabeanus</i> <i>H. sacchari</i> <i>H. sativum</i> <i>H. turcicum</i> <i>Pyricularia grisea</i> * <i>Magnaporthe grisea</i></p>	<p>Mancha foliar vid Mancha foliar cebolla Moho gris foliar tomate de arbol, tomate de mesa, papa Mancha zonada sorgo Pudrición granos arroz, maíz, sorgo Quemazón foliar maíz Quemazón foliar arroz * Fase telomorfa Mancha ojival caña Mancha foliar trigo Mancha lineal foliar maíz, sorgo Bruzone, Piriculariosis arroz, quemazón * Fase telomorfa</p>
DEUTEROMYCETES	MONILIALES	<p>TUBERCULARIACEAE Forman sus conidióforos sobre tejido estomatíco en forma de cojin llamado esporodio. Algunos son seros patógenos en plantas. Las conidias se forman a partir de filides; estructura en forma de botellita que corresponde a una célula conidiógena.</p>	<p><i>Fusarium moniliforme</i> <i>F. oxysporum</i></p> <p><i>F. oxysporum f. sp. cubense</i></p> <p><i>F. oxysporum f. sp. phaseoli</i> <i>F. oxysporum f. sp. dianthi</i> <i>F. oxysporum f. sp. lycopersici</i> <i>F. oxysporum f. sp. vasinifecium</i> <i>F. oxysporum f. sp. cepae</i></p> <p><i>F. roseum</i></p>	<p>Pudrición flecha palma africana Marchitez remolacha, repollo, pimentón, crisantemo, maracuyá, rosas, papa, lulo, sorgo, tomate, etc. Mal de Panama plátano y banano Marchitez frijol Marchitez clavel Marchitez tomate Marchitez algodon Pudrición bulbo y ramas de cebolla Pudrición raíz clavel, pudrición rosada capsulas de algodon, pudrición tubérculo papa, pudrición semillas de maíz</p>
		<p>ESTILBELACEAE Los conidióforos forman sinemas o coremios.</p>	<p><i>Isariopsis griseola</i> <i>Graphium sp.</i></p>	<p>Mancha angular hoja frijol Secamiento vid</p>

CLASIFICACIÓN DE LOS PRINCIPALES HONGOS FITOPATÓGENOS REGISTRADOS EN CULTIVOS DE COLOMBIA (CONTINUACIÓN)

Superreino: Eucariontes.
 Reino: Mycetes (Hongos).
 División: Mastigomycetes

Clase	Orden	Familia	Género/Especie	Nombre de la Enfermedad
<p>DEUTEROMYCETES</p> <p>Conidióforos y conidias formadas dentro de picnidios. De acuerdo con las características del picnidio se han clasificado las familias. El picnidio es la estructura que los identifica como orden.</p>	<p>SPHAEROPSIDACEAE</p> <p>Los picnidios pueden variar su aspecto de un género a otro. Picnidios de color oscuro, globosos, que fácilmente se extienden sin romperse, estromáticos o no, generalmente provistos de una abertura circular.</p>	<p>SPHAEROPSIDACEAE</p> <p>Los picnidios pueden variar su aspecto de un género a otro. Picnidios de color oscuro, globosos, que fácilmente se extienden sin romperse, estromáticos o no, generalmente provistos de una abertura circular.</p>	<p><i>Ascochyta caricaceae</i> <i>A. zeae</i> <i>A. gossypii</i> <i>A. phaseolorum</i> <i>A. pisi</i> <i>Diplodia theobromae</i></p> <p><i>D. gossypina</i> <i>D. manihotis</i> <i>D. natalensis</i> <i>D. zeae</i></p> <p><i>Phoma caryophylli</i> <i>P. uvicola</i> <i>P. andina</i> var. <i>crustallimiformis</i> <i>P. exigua</i> <i>P. sorghina</i> <i>P. aff. costaricensis</i> <i>Phomopsis batatae</i> * <i>Diaporthe phaseolorum</i> * <i>Diaporthe phaseolorum</i> <i>Septoria apii</i> <i>S. glycines</i> <i>S. lycopersici</i> <i>S. selenophomoides</i> <i>S. tritici f. sp. avenae</i> <i>Macrophomina phaseolina</i></p>	<p>Mancha negra tallo papaya Mancha foliar maíz Mancha ceniza algodón Mancha pecosa foliar frijol Mancha foliar, vainas arveja Secamiento ramas chirimoy a, anonas, papaya, aguacate, pudrición mazorca cacao Pudrición cápsulas de algodón Muerte descendente yuca Pudrición bulbos orquídea Pudrición tallo maíz Pudrición negra clavel Pudrición negra uva Carate tomate Pudrición fruto tomate Mancha hojas sorgo Muerte descendente café Tizon tallo soya * Fase Telomorfo Cáncer tallo frijol soya * Fase Telomorfo Mancha foliar apio Mancha angular soya Hojas tomate Mancha foliar orquídeas Mancha hoja avena Pudrición carbonosa sorgo, maíz, caña, frijol, soya, etc.</p>
	<p>NECTRIIDIACEAE</p> <p>Picnidios claros de color brillante, sus paredes son blandas o ceráceas. Pueden ser o no estromáticas.</p>	<p>NECTRIIDIACEAE</p> <p>Picnidios claros de color brillante, sus paredes son blandas o ceráceas. Pueden ser o no estromáticas.</p>	<p><i>Aschersonia</i> sp.</p>	<p>Control biológico cochinillas (coccidos).</p>

Clase	Orden	Familia	Género/Especie	Nombre de la Enfermedad
<p>DEUTEROMYCETES</p>	<p>MELANCONIALES Conidióloros y conidias formadas dentro de acérvulos; capas de hileras en forma de copa o almohadilla. El acérvulo es la estructura que los identifica.</p>	<p>MELANCONIACEAE Los acérvulos se desarrollan subepidermalmente. El género más frecuente es <i>Colletotrichum</i>, del cual hay aproximadamente 20 especies y se diferencian de <i>Gloeosporium</i> por formar setas en los acérvulos.</p>	<p><i>Colletotrichum circinans</i> • <i>Glomerella circinans</i> <i>Colletotrichum falcatum</i> • <i>Physalospora tucumanensis</i> <i>Colletotrichum gloeosporoides</i></p> <p>• <i>Glomerella cingulata</i> <i>Colletotrichum fragariae</i> <i>C. gossypii</i> <i>C. graminicola</i> <i>C. lindemuthianum</i> <i>C. musae</i> <i>C. fructatum</i> <i>Gloeosporium musarum</i> <i>G. limeticola</i> <i>Pestalotia disseminata</i> <i>P. palmarum</i> <i>P. uvicola</i></p>	<p>Antracnosis cebolla • Fase teliomorfa Pudrición roja tallo caña • Fase teliomorfa Antracnosis anónas, papaya, tomate, aguacate, tomate de árbol, lulo, maracuyá, guayaba, café, mango. • Fase teliomorfa Antracnosis fresa Antracnosis algodón Antracnosis sorgo Antracnosis frijol Pudra negra de los plátano Antracnosis soya Pudrición plátano Antracnosis naranja Roña frutos guayaba Quemazón folíolos palma Secamiento ramas uva</p>
<p>AGONOMYCETALES Reciben el nombre de Mycelia Sterilia puesto que no producen conidias.</p>	<p>No presentan familias, su reproducción es por fragmentación del micelio. Forman esclerocios de color café claro.</p>	<p><i>Rhizoctonia solani</i></p> <p>• <i>Thanatephorus cucumeris</i> <i>Sclerotium cepivorum</i> <i>S. oryzae</i> • <i>Magnaporthe salvinii</i> <i>S. rolfsii</i></p> <p>• <i>Athelia rolfsii</i></p>	<p>Produce Damping off cebolla, anónas, repollo, ají, pimentón, orquídeas, crisantemo, café, remolacha, clavel, algodón, soya, tomate, yuca, caña, papa, etc. • Fase teliomorfa Pudrición blanca cebolla Pudrición vaina arroz • Fase teliomorfa Pudrición basal tallo de remolacha, ají, sandía, zanahoria, clavel, girasol, tomate, tabaco, arroz, maracuyá, frijol, soya, papa, ajonjolí, algodón. • Fase teliomorfa</p>	

CAPÍTULO VIII

Virus, viroides y priones

Virus

Historia

Hacia 1870 en Europa, más concretamente en Holanda, en el cultivo del tabaco apareció una enfermedad con la cual se inició la investigación de un nuevo grupo de agentes causales de enfermedades de las plantas: los virus.

Sus efectos, pero no la causa, se conocen posiblemente desde a de C.: el primer registro de ellos fue la variegación de los tulipanes en Holanda en 1576, y aunque la causa era desconocida los cultivadores sabían que se transmitía por injerto de bulbos.

Los agentes infecciosos (hongos y bacterias) conocidos hasta finales del siglo XIX, tenían como características generales las siguientes:

- Estaban constituidos por partículas visibles al microscopio óptico
- Eran retenidos por filtros de porcelana a prueba de bacterias
- Podían ser cultivados en medios artificiales

El nuevo grupo de agentes causales de enfermedades en los cultivos no tenían estas particularidades.

En 1883 Adolf Mayer, estudiando la enfermedad del mosaico del tabaco demostró que era infecciosa, concluyendo que no se trataba de un hongo y que posiblemente era una bacteria tan pequeña que pasaba los filtros a prueba de ellas.

Trabajando con la misma enfermedad, Dimitri Ivanowski ensayó hacia 1890 la inoculación de plantas con el macerado de hojas de tabaco enfermas pasado por filtros a prueba de bacterias, y logró probar su infectividad; además demostró que esta se perdía mediante calentamiento del jugo e interpretó sus resultados creyendo que se trataba de una bacteria filtrable o una toxina.

Martinus W. Beijerinck, alumno de Mayer, resolvió investigar con el mosaico del tabaco para probar si se difundía en un bloque de agar. Al encontrar que se propagaba y que una pequeña cantidad de este jugo era infeccioso lo llamó "Contagium vivum fluidum" (líquido vivo contagioso) y utilizó la palabra virus, que significa veneno, para describir su contagio.

De sus investigaciones concluyó que:

- El agente causal infectaba e invadía tejidos jóvenes más rápidamente que tejidos viejos.
- Se movía por el floema y el xilema.
- Era transmisible por injerto.
- Era capaz de infectar plantas por contacto entre sus raíces.

La transmisión por insectos fue demostrada en 1894 por Hashimoto, quien probó la relación existente entre el saltahoja *Nephotettix apicalis* y la transmisión del virus del enanismo del arroz «*Rice Dwarf Virus*».

Durante 30 años, período comprendido entre 1904 y 1935, muchas enfermedades causadas por virus fueron reseñadas sobre la base de su sintomatología y métodos de transmisión.

Wendell Meredith Stanley en 1935 inició la virología moderna, descubriendo que los cristales del virus del mosaico del tabaco tenían proteína. Al año siguiente Frederik Charles Bawden y colaboradores demostraron que los cristales del TMV estaban constituidos por proteína y ácido ribonucleico.

Definición

De acuerdo con sus características podemos definir a un virus como:

- Entidad acelular, submicroscópica, parásito obligado, constituida por proteína y ARN o ADN; capaz de multiplicarse en su hospedero a expensas de la energía que éste produce, ocasionando sobre él efectos que se hacen evidentes por la aparición de diversos síntomas.

En el estado extracelular, los virus son partículas submicroscópicas que contienen ácido nucleico rodeado por una proteína y ocasionalmente otros componentes; son metabólicamente inertes y no efectúan funciones respiratorias o biosintéticas.

Origen y evolución

En este sentido existen dos teorías: Una que indica que pudieron haberse originado independientemente, y otra que se originaron a partir de células. Se sabe que tanto la mutación como la recombinación genética se presentan en los virus; estos procesos indudablemente tuvieron alguna participación en la evolución, puesto que permitieron el desarrollo de nuevos tipos de

ellos. Un hospedero puede volverse resistente a la infección viral mediante la modificación de sus sitios receptores, igualmente el virus puede, a su vez, mutar a una forma capaz de adherirse al sitio receptor modificado.

Composición

En 1935, Wendell Meredith Stanley logró purificar el virus del mosaico del tabaco (TMV) y pudo comprobar que se trataba de una sustancia proteica. El análisis elemental para el TMV mostraba contenido de nitrógeno de 16.6%, el cual correspondía a los valores medios obtenidos para las proteínas, pero también el contenido de fósforo de 0.50% y 2.5% de azúcar daba a entender que la proteína no estaba sola sino asociada con otro elemento. La relación fósforo-azúcar permitía intuir la presencia de un ácido nucleico.

En 1936 Frederick Charles Bawden demostró que la partícula en realidad estaba formada por una cubierta proteica y un ácido nucleico.

Los valores para el rango de proteína varían desde 63 a 95%, lo cual indica que la partícula viral es dominada por el componente proteico. El contenido de ARN por los diferentes virus varía entre 5 y 37%.

Es probable que la mayoría de los virus que contienen ARN no posean más de 30 genes; 500, son por lo menos requeridos para efectuar la síntesis de proteínas, lo cual no es lo suficientemente necesario para codificar la síntesis de ellas, por lo tanto utilizan la de su hospedero para realizar la construcción de las proteínas que necesitan para su desarrollo.

Las estructuras de las partículas virales son diversas, el ácido nucleico se localiza en el centro y está rodeado por una cubierta proteínica llamada cápside.

Las proteínas individuales que constituyen la cápside se denominan subunidades proteínicas, subunidad capsídica o capsómeros (Figura 1). En los virus más simples, la envoltura proteínica está compuesta de un solo tipo de proteína, mientras que en los más complejos pueden estar presentes diversos tipos de proteínas.

Componentes de los virus

1. Cápside y subunidad capsídica

Funciones

La subunidad capsídica o proteica es la unidad elemental de construcción de los virus; tiene varias funciones básicas para la supervivencia del virus, tales como la de reconocimiento entre el virus y su hospedero, la de autoensamblado, de reconocimiento y unión con el ARN viral que permite la construcción de la cápside y la protección de la información genética.

En el caso de organismos vectores, la cápside le confiere al virus potencialidad de dispersión en la naturaleza, por ejemplo al fijarse, como en el caso de la transmisión por nematodos al odontoestilete, además de establecer interacción específica con el hospedero en los sitios que autorizarán o no su decapsidación y la liberación de la información genética.

Componentes

Las proteínas virales constan de aminoácidos y su secuencia está determinada por el material genético que en los virus es el ácido nucleico, ARN o ADN.

Los componentes proteínicos de los virus que atacan a las plantas están constituidos por unidades repetitivas, lo cual es constante para las subunidades, pero puede variar para los diferentes virus. Se saben el contenido y la secuencia completa de aminoácidos de la proteína del virus del mosaico del tabaco (TMV), el cual consta de 158 aminoácidos.

En los rhabdovirus las nucleoproteínas helicoidales se encuentran cubiertas por una membrana lipídica con dos capas, en la cual encajan dos o tres tipos de proteínas y una nucleocápsida formada por ARN y proteína viral, asociada a una estructura helicoidal suelta.

2. Ácido nucleico

El ácido nucleico de la mayoría de los virus que infectan las plantas es ARN, pero se ha demostrado que existen aproximadamente 27 de ellos cuyo ácido nucleico es ADN. Tanto el ADN como el ARN son moléculas largas en forma de cadena, que constan de centenares o miles de unidades de nucleótidos.

La secuencia y frecuencia de las bases de la banda (cadena) de ARN varían de un ARN a otro, pero están fijas dentro de un ARN dado y determinan sus propiedades. La mayoría de los virus que infectan a las plantas (alrededor de 400) tienen ARN de una sola banda (monocatenarios) pero aproximadamente 10 poseen ARN de doble banda (bicatenaria); de los que tienen ADN, 12 son de doble banda y aproximadamente 15 de una sola banda.

En las plantas sólo existe un grupo de virus, los caulimovirus, con ADN de dos bandas, el virus del mosaico de la coliflor es uno de ellos.

Los virus icosaédricos contienen los más altos porcentajes de ácido nucleico y los más bajos de proteína; mientras que los elongados tienen bajo porcentaje de ácido nucleico y alto porcentaje de proteína.

Virus con genomas divididos

En las plantas existen virus cuya información genética necesaria para la infección está repartida en varios tipos de partículas, es decir, que además

del genoma entero encapsulado existen en la célula fragmentos del mismo que se denominan ARN subgenómicos. El virus del cascabel del tabaco «Tobacco Rattle Virus» (TRV), de simetría helicoidal, se presenta en forma de partículas alargadas de 180 nm* y de partículas cortas de 45 a 55 nm; esto indica que ambas son necesarias para realizar infección normal. La corta inoculada por separado no es infecciosa; la larga inoculada sola determina la síntesis de un virus defectuoso que no posee cápsida.

El virus del mosaico de la alfalfa, «Alfalfa Mosaic Virus» (AMV), consta de cuatro componentes o bandas distintas de ácido nucleico, encapsuladas en partículas de diferente tamaño formadas por las mismas subunidades proteicas.

Los virus multicomponentes como los llaman algunos virólogos, están en dos grupos sobre la base de su sedimentación: las partículas de cada componente tienen diferentes tamaños y otros sedimentan como una única proteína ya que las partículas de tales virus tienen tamaños muy cercanos y por lo tanto coeficientes de sedimentación muy parecidos.

Preparaciones puras de virus multicompuestos sedimentan en columnas con gradientes de densidad en sucrosa, como tres componentes serológicamente idénticos; se da el nombre de «Top» al componente proteínico que se ubica en la parte superior y que corresponde a partículas no infecciosas y vacías por carecer de ARN; «Middle» y «Botton» a las que se ubican en la mitad y al fondo de la columna; las cuales siempre contienen ARN y proteína (nucleoproteínas).

En los virus multicompuestos, ninguna nucleoproteína por sí sola muestra infectividad y sólo son infectivas cuando actúan mezclados los compuestos nucleoproteínicos.

Los virus con genoma dividido están compuestos por dos a cuatro segmentos de ARN; dos ocurren en los grupos Tobravirus, Comovirus, Nepovirus, Furovirus y en Pea Enation Mosaic Virus; tres segmentos en los Bromovirus, Cucumovirus, Ilarvirus y Hordeivirus y cuatro segmentos en Alfalfa Mosaic Virus, Rice Stripe Virus y Tomato Spotted Wilt Virus (Tabla 1).

Los ARN son referidos como ARNs 1,2,3,4, de acuerdo con el decrecimiento de su peso molecular, en el caso de los virus compuestos por dos piezas, ambas son necesarias para su infectividad, mientras que tres o todas lo son en el caso de virus con genomas de cuatro partículas.

Virusoides

En 1982, en Australia se descubrió un grupo de virus que presentan dentro de sus cápsulas una entidad similar a un viroide constituida por ARN

* nm = nanómetro = 0.001 de micrón.

corto y circular de 366 nucleótidos, además de su ARN lineal de 4.500 nucleótidos, y que constituyen parte del material genético formando una asociación obligatoria, necesaria para la infección.

A estas partículas se les denominó virusoides, y se definieron como molécula viroidal completamente integrada, cuya presencia llega a ser indispensable para la multiplicación del ARN viral, o pequeñas moléculas de ARN circular de una sola banda, parecida a un viroide, que se encuentran dentro de algunos virus de ARN y que forman parte de su material genético, estableciendo una relación obligatoria, de tal forma que ninguno puede propagarse e infectar a su hospedero cuando está ausente uno de ellos.

Los satélites

El término satélite se ha utilizado para denominar los ácidos nucleicos que están en determinados virus, que no codifican por sí mismos capa proteínica alguna y están encapsulados en el mismo tipo de partícula que el ARN viral genómico.

Virus satélites. Fueron descubiertos en 1962 como pequeñas partículas asociadas a algunos virus. Estas partículas dependen del virus para su multiplicación y son serológicamente diferentes de las partículas virales, por lo cual se les ha denominado virus satélites.

ARN satélites. Pequeñas moléculas de ARN lineal que existen en ciertos virus multiparticulados y que pueden estar relacionadas con el ARN del virus o de la planta hospedera, los cuales pueden atenuar los efectos de las infecciones virales, representando posiblemente una respuesta de protección del hospedero a la infección viral.

Las tres pautas que han sido aplicadas para caracterizar los virus satélites y los ARN satélites son:

- Solamente pueden multiplicarse en presencia del virus calificado como virus asistente.
- No se necesitan para multiplicación del virus asistente.
- Sus ácidos nucleicos no tienen fuerte homología de secuencia con el genoma viral.

Virus conocidos por poseer satélites son: Tobacco Necrosis Virus (TNV), Tobacco Mosaic Virus (TMV), Cucumber Mosaic Virus (CMV) y Grapevine Fanleaf Virus (GFV).

Arquitectura y morfología de los virus

Existen tres grandes grupos de arquitecturas:

- Los virus de simetría helicoidal, que se observan al microscopio electrónico en forma de bastoncillos rígidos o de filamentos flexuosos. El virus

del mosaico del tabaco (TMV) se presenta en forma de bastoncillos; el de la tristeza de los cítricos (CTV) y el virus X de la papa (PVX) en forma de filamentos flexuosos (Figura 1.1).

- Los virus de simetría icosaédrica o isométricos, que se presentan en forma de esferas, como el virus del amarilleo del nabo y el virus en anillo del tabaco (TRSV) (Figura 1.2).
- Los virus gruesos o con envoltura, rodeados por una túnica lipoproteica cuyo cuerpo presenta a menudo simetría helicoidal, como el virus del mosaico del maíz (MMV) (Figura 1.3).

Estos virus difieren claramente de los virus desnudos, de simetría helicoidal o icosaédrica, por la presencia de una envoltura externa y por la naturaleza de su genoma que es un ARN(-), es decir, un ARN que solamente puede ser leído por el sistema de traducción después de una transcripción en ARN(+).

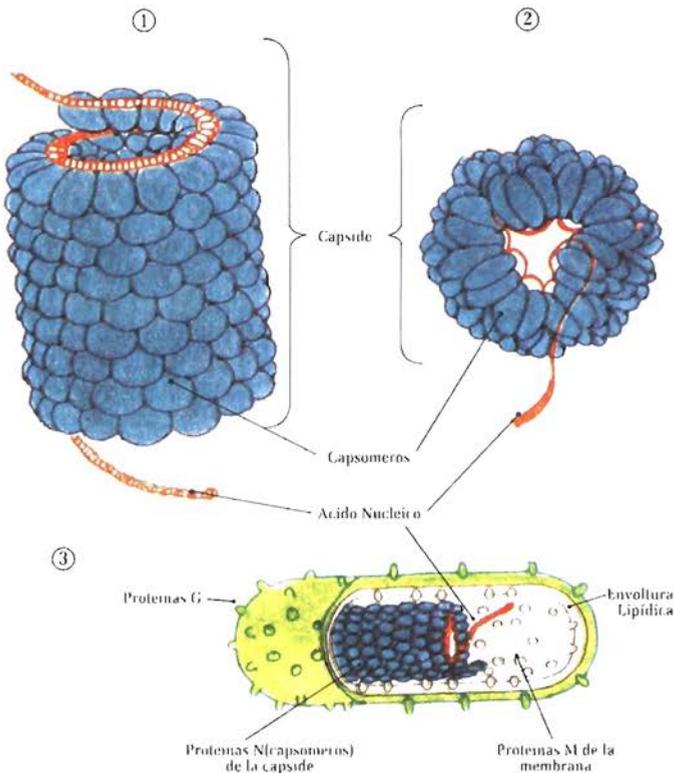


Figura 1. Estructura y arquitectura de los virus: 1. De simetría helicoidal (bastoncillos rígidos o filamentos flexuosos), 2. De simetría icosaédrica o isométricos (esféricos), y 3. Con envoltura, de simetría helicoidal, rodeados con una capa lipoproteica.

Ciclo del virus en la célula

La entrada de un virus en la célula de un hospedero y su multiplicación ocurre en cuatro etapas:

- Unión y adsorción
- Penetración
- Decapsidación
- Multiplicación y encapsidación.

1. Unión y adsorción

El adherirse el virus a la membrana de la célula de su hospedero es cuestión primordial; existe alta especificidad de interacción entre ellos.

La adsorción del virus es un fenómeno inmediato, esto se puede comprobar a través de la inoculación mecánica de hojas y el lavado inmediato de las mismas, de una planta indicadora que reaccione formando lesiones locales; se podrá comprobar que el número de lesiones puede ser inclusive mayor que en aquellas hojas inoculadas y que no hayan sido lavadas.

Las células tienen componentes superficiales específicos que actúan como sitios receptores, tales como proteínas, polisacáridos o complejos lipoproteínas-polisacáridos, en donde se adhieren las partículas virales. En ausencia de un sitio receptor los virus no pueden ser adsorbidos y en consecuencia no pueden infectar; en el caso de que se modifique el sitio receptor el hospedero puede volverse resistente, pero en los virus pueden aparecer mutantes que rompan la resistencia y ser adsorbidos por la planta.

En las bacterias, algunos receptores de los fagos son pelos o flagelos; en otros son componentes de la envoltura celular y en ocasiones son las proteínas que participan en el transporte celular. El receptor para el virus de la influenza es una glucoproteína que se encuentra en los eritrocitos y sobre las células de la membrana mucosa de los animales susceptibles, mientras que el sitio receptor del virus del polio es una lipoproteína. Muchos virus de plantas y animales no tienen sitios de unión específicos y los virus entran pasivamente como resultado de la fagocitosis o algún otro proceso de endocitosis.

En el caso del grupo de los potyvirus, estos tienen una proteína en su ARN que posiblemente les sirve para enganchar su complejo multiplicativo en un sitio de la membrana celular y en ésta puede ocurrir una invaginación. Tanto el estímulo viral como la membrana o el sitio al cual debe engancharse están por dilucidarse.

2. Penetración

El mecanismo por el cual un virus penetra depende de la naturaleza de la célula del hospedero, especialmente de las estructuras de su superficie. Las

células con paredes celulares son infectadas de manera diferente a las que carecen de ella y los primeros acontecimientos que llevan al virus a penetrar en la célula y realizar su infección es una pregunta no resuelta; todo lo que se conoce en plantas es a través de información obtenida mediante inoculación mecánica, en la mayoría de los casos con inoculación artificial. Lo que sí está claro es que una hoja intacta sumergida en una suspensión de virus no se infecta, por lo tanto para que esta tenga éxito se necesitan heridas o lesiones recientes, esto para el caso de virus transmitidos mecánicamente.

Varias hipótesis han sido propuestas, respecto al ingreso de la partícula viral a la célula del hospedero:

1. *A través del sistema membranoso*

- a. *Por pinocitosis o endocitosis.* Procesos mediante los cuales las sustancias entran al citoplasma de las células dentro de vesículas membranosas. Una vez las partículas del virus se fijan a la membrana celular se induce una invaginación en el punto donde se fijan, quedando las partículas virales dentro de la vesícula, pasando luego al interior de la célula, en donde se liberan.
- b. *Ingreso a través de microlesiones.* Por medios experimentales se ha concluido que heridas transitorias en la membrana celular son necesarias para el ingreso del virus.
- c. *Por mecanismos electro-osmóticos.* Se basa en la conjetura de que uno de los posibles mecanismos preexistentes de toma de nutrientes puede ser el responsable de la penetración de los virus; esto debido a la interacción entre las cargas de la superficie de la membrana celular y las sustancias adsorbidas, situación que puede ser el más posible y apropiado fenómeno para esta situación. Las fuerzas responsables del transporte de nutrientes pueden ser simultáneas o paralelas al transporte de la partícula viral.

2. *A través del ectodesmata.*

El ectodesmata ha sido sugerido como la posible puerta de entrada de los virus. Una correlación entre la susceptibilidad de hojas de tabaco al TMV y el número promedio de ectodesmatas lo sugieren.

3. *Decapsidación*

No se sabe todavía si el virus penetra completo en la célula o si se decapsida y entra como ácido nucleico libre de la proteína; pero sí es necesario que el ácido nucleico (ARN o ADN) viral salga de la cápside para que sea reconocido como mensajero por los ribosomas.

La decapsidación ocurre segundos o minutos después de que el virus penetra en la célula; aproximadamente entre el 15 y 20% del ácido nucleico

es liberado de las partículas del virus del TMV dentro de los siete minutos siguientes a la inoculación, aunque con el virus del "Turnip Yellow Mosaic Virus" (TYMV) se ha demostrado que puede ser un proceso más rápido, en donde las partículas se desencapsulan entre 45 segundos a dos minutos después de haber penetrado.

El problema básico de la multiplicación viral puede describirse de manera muy simple; los virus deben, de alguna forma, inducir al hospedero a que sintetice el ácido nucleico y la proteína necesarios para producir más partículas virales. Estos componentes deben ensamblarse en el orden adecuado y las nuevas partículas virales escapar de la célula e infectar a otras.

La salida del ácido nucleico es la primera fase, bloquearlo sería una forma de impedir que el virus sea infeccioso; sólo se podrán llevar a cabo investigaciones de sustancias activas o de variedades resistentes a la decapsidación cuando se haya comprendido exactamente el mecanismo de este evento.

4. Multiplicación y encapsidación

El ácido nucleico viral, inmediatamente después de perder su cápside, debe dirigir la síntesis de los nucleótidos para su ácido nucleico y de los aminoácidos para su envoltura proteínica.

Para ello el virus toma el mando de la maquinaria biosintética del hospedero y la utiliza para su propia síntesis; induciendo entonces a la célula a sintetizar enzimas denominadas ARN polimerasas, lo cual ocurre de uno a diez minutos después de la inoculación. Estas enzimas, en presencia del ARN viral que sirve como modelo y de los nucleótidos que la constituyen, sintetizan más ARN. El primer ARN que se sintetiza no es el viral, sino una cadena que es imagen en espejo de su ARN y que en la medida en que se sintetiza se une temporalmente a la cadena del ARN viral, formándose un ARN de doble banda que en poco tiempo se separa y forma el ARN del virus original y la banda de imagen en espejo (-) de las cuales la última sirve como modelo de la síntesis de ARN (+) de más virus.

La imagen en espejo de su ARN es el ARN mensajero que ha sido sintetizado después de la infección viral; en síntesis, depende del tipo de virus y especialmente si su material genético es ARN o ADN y si es cadena sencilla o doble.

Los virus con ARN (+), es decir aquellos cuyo ARN tiene una función de ARN mensajero, representan el 95% de los virus de plantas.

La replicación de algunos virus de ARN de una sola banda con genomas divididos, de algunos rhabdovirus y de algunos virus de ARN de doble banda, difieren considerablemente del proceso anterior.

Los virus con ARN (-), entre los cuales se encuentran los rhabdovirus de los vegetales, poseen asociada a su cápsida una polimerasa cuya función es

transcribir el ARN genómico (-) en un ARN mensajero (+) y se supone que a partir de esta situación las etapas podrían ser semejantes a las que ocurren en la multiplicación de los virus con ARN (+), por lo menos en lo referente a la traducción.

En los virus de genomas divididos, las partículas que contienen su genoma deben estar todas en la misma célula para que se multipliquen y se desarrolle la infección.

En los virus isométricos de doble banda, el ARN se encuentra segmentado dentro del mismo virus, no es infeccioso y depende para su multiplicación en el hospedero de una enzima transcriptasa, ésta copia el ARN en un ADN complementario, que también porta el virus.

La multiplicación de los virus de ADN de doble banda (ADNds) es un proceso más complejo, una vez producida la infección, el ADNds viral entra al núcleo de la célula y forma un microsomio, éste se duplica parcialmente y también es transcrito en dos ARNs de una sola banda: el ARN más pequeño es transportado al citoplasma, donde se traduce en proteínas modificadas por el virus, el ARN más grande también se transporta al citoplasma, pero ahí se utiliza como molde para que, por medio del proceso de transcripción inversa, se transforme en un ADNds completo del virus, que rápidamente se encapsula por subunidades proteicas para formar partículas de virus completas.

Una vez el ácido nucleico viral se sintetiza, induce a la célula hospedera para que sintetice las moléculas proteínicas que serán sus subunidades de proteína o que formarán la cubierta proteínica del virus. Parece ser que sólo una parte de la banda de ADN o ARN del virus se requiere para participar en la síntesis de la proteína viral.

Durante la síntesis de las proteínas del virus, la porción del ARN viral que codifica la proteína del virus funciona como el ARN mensajero; el virus utiliza los aminoácidos, los ribosomas y los ARN de transferencia del hospedero, pero en realidad sirve como su propio modelo, de ahí que la proteína sintetizada sea utilizada exclusivamente por el virus para su cubierta o para otras funciones.

El virus, además de sintetizar las proteínas para su cápside, sintetiza proteínas que son enzimas, caso de las replicasas que se requieren para la replicación del ácido nucleico viral, pero aún se desconoce la función que desempeñan la mayoría de esas proteínas.

Cuando se han formado nuevas subunidades proteínicas y nuevo ácido nucleico del virus, parece ser que el ácido nucleico organiza las subunidades proteínicas (capsómeros) alrededor de él formando la partícula viral completa.

El sitio o sitios de la célula en los que la proteína y el ácido nucleico del virus se sintetizan y se unen varían de acuerdo con el grupo de virus de que se trate; por ejemplo, los rhabdovirus se replican en el núcleo de sus hospederos y los tymovirus lo hacen sobre la membrana de los cloroplastos.

La replicación de los virus celulares es un fenómeno masivo; en una célula de tabaco infectado por el virus del mosaico se puede estimar en 60×10^8 el número de partículas que ocupan el citoplasma; en una planta de tomate infectada por el mismo virus el 70% de las proteínas son virales.

Se puede resumir el ciclo de vida de los virus en los siguientes eventos:

1. Unión y adsorción de partículas virales por las células del hospedero.
2. Decapsidación o pérdida de la cápsida; liberación y replicación del ácido nucleico viral.
3. Síntesis de aminoácidos y nucleótidos para su proteína y ácido nucleico, empleando el ARNm que ha sintetizado después de la infección viral.
4. Ensamblaje del ácido y de los capsómeros proteínicos en nuevas partículas virales. Esto implica el reconocimiento del ARN genómico del virus por las unidades de proteína del mismo para formar partículas del virus completas.
5. Maduración y liberación de las partículas virales por parte de las células del hospedero.

Clasificación

Ha habido varios intentos por parte de los virólogos para clasificar los virus; uno de ellos fue tratar de ubicarlos en familias según la sintomatología como *marmoraceae* para los mosaicos, y *annulaceae* para anillos; ésta no funcionó por favorecer mezclas entre ellos antes que operar como una clasificación.

Hoy día se han adoptado grupos en donde se ubican los virus de acuerdo con su genoma, el número de partículas que lo conforman y la composición del mismo. Por ejemplo, el Comité Internacional de Taxonomía de los Virus (ITCV) reconoce en los grupos *Bromovirus*, *Cucumovirus*, *Ilarvirus* y al *Alfalfa Mosaic Virus* (AMV), a aquellos que tienen en su genoma ARN, un número de tres partículas en su genoma y encapsulados en partículas baciliformes o poliédricas. Estos cuatro grupos han sido propuestos para conformar la familia *Tricornaviridae*: tri (tres partículas en su genoma), co (cooperación de las tres para la infección), rna (tipo de ácido nucleico) y viridae (terminación aprobada para las familias de virus).

Para darle el nombre al virus se sigue utilizando, tal como ha sido publicado en el tercer informe del ITCV, la denominación anglosajona, llamándolo por la sigla del nombre en inglés. Ejemplo TMV para "Tobacco Mosaic

Virus", PVX para "Potato Virus X", etc. Si el virus es descrito por virólogos hispanohablantes se considera el nombre en español. Por ejemplo, Rice Hoja Blanca Virus (Figura 2a). En la Tabla 1 se dan las principales características de los grupos de virus fitopatógenos, algunos de ellos registrados para Colombia.

Transmisión

Hay que hacer distinción entre transmisión natural y transmisión experimental.

La transmisión natural se refiere al proceso de diseminación de un virus en su estado natural, sin la mediación del hombre.

La introducción y la infección en el hospedero son gobernadas por la interacción planta - virus y otros factores bióticos y abióticos.

Los factores bióticos pueden incluir a vectores tales como insectos, nematodos, hongos y al hombre en la medida que facilite, mediante prácticas culturales, su transmisión. Los factores abióticos incluyen temperatura, suelo, fertilidad, densidad de plantas, etc.

Los medios de transmisión o diseminación no han sido determinados para todos y cada uno de los virus, los más generales son por injerto, en forma mecánica y por vectores.

1. Por injerto

Es posiblemente la forma de transmisión más generalizada, y ocurre con injertos hechos con material procedente de plantas enfermas en plantas sanas, apareciendo los síntomas en un período que cambia según la variedad de la planta y la raza del virus.

Para ello se requiere que el virus sea sistémico en la planta, además de un período lo suficientemente largo que permita el contacto de tejido vascular en la unión de las partes injertadas.

El tipo de injerto utilizado no afecta para nada la transmisión, aunque para reconocimiento o diagnóstico debe utilizarse el más conveniente. El proceso de transmisión por injerto ha sido denominado como método universal de transmisión de virus, porque casi todos los virus pueden ser transmitidos por este método.

2. Mecánica

Teniendo en cuenta que la transmisión por aperturas naturales como estomas es poco corriente o improbable, el empleo de este método consiste en la transmisión del virus a través de heridas o lesiones provocadas natural o artificialmente, sobre todo en las hojas.

Tabla 1. Grupos de virus fitopatógenos, características de su genoma y tipo de arquitectura

Grupo	Genoma		Arquitectura		Virus representativos	
	COMPOSIC.	No. DE CADENAS	No. PARTÍC. / FORMA	TIPO		TAMAÑO (NM)
Caulimovirus	ADN	Bicatenaria	Circular	Icosae	5	Cauliflower Mosaic Virus (CaMV) Cassava Vein Banding Virus (CVBV)
Geminivirus	ADN	Monocat	Circular	Icosae	20 x 30	Bean Golden Mosaic Virus (BGMV) Maize Streak Virus (MSV) Tomato Golden Mosaic Virus (TGMV)
Reovirus	ARN	Bicatenaria		Icosae	60 x 75	Wound Tumor Virus (WTV)
Rhabdovirus*	ARN	Monocat		Helicoid	160 a 380	Potato Yellow Dwarf Virus (PYDV)
Luteovirus	ARN	Monocat	1	Icosae	50 a 95 25	Soybean Dwarf Virus (SDV) Barley Yellow Dwarf Virus (BYDV) Potato Leafroll Virus (PLV)
Tombusvirus	ARN	Monocat	1	Icosae.	30	Tomato Buchy Stunt Virus (TBSV) Carnation Motile Virus (CMV)
Sobemovirus**	ARN	Monocat	1	Icosae.	30	Southern Bean Mosaic Virus (SBMV)
Tobacco Necrosis Virus	ARN	Monocat	1	Icosae.	25 a 30	Tobacco Necrosis Virus (TNV)
Potexvirus	ARN	Monocat	1	Helicoid	480 a 580	Potato Virus X (PVX) Cymbidium Mosaic Virus (CMV)
Tobamovirus	ARN	Monocat	1	Helicoid	300	Tobacco Mosaic Virus (TMV) Potato Mop Top Virus (PMTV)
Closterovirus	ARN	Monocat	1	Helicoid	1.200 a 2.000	Beet Yellow Virus (BYV) Citrus Tristeza Virus (CTV)
Tymovirus	ARN	Monocat	1	Icosae	30	Turnip Yellow Mosaic Virus (TYMV)
Potyvirus	ARN	Monocat	1	Helicoid	680 a 900	Potato Virus Y (PVY) Bean Common Mosaic Virus (BCMV) Bean Yellow Mosaic (BYM) Beet Mosaic Virus (BMV) Lettuce Mosaic Virus (LMV) Soybean Mosaic Virus (SMV)

Tabla 1. Continuación

Grupo	Genoma		Arquitectura		Virus representativos
	COMPOSIC.	NO. DE CADENAS	TIPO	TAMAÑO (nm)	
Nepovirus	ARN	Monocat	Icosae	28	Tobacco Ring Spot Virus (TRSV) Tomato Ring Spot Virus (TRSV)
Comovirus	ARN	Monocat	Icosae.	25	Cowpea Mosaic Virus (CMV) Bean Pod Mottle Virus (BPMV)
Dianthovirus	ARN	Monocat	Helic.		Beet Necrotic Yellow Vein Virus (BNYVV) Potato Mop Top Virus (PMTV)
Tobravirus	ARN	Monocat	Helic	185 v. 46	Tobacco Rattle Virus (TRV)
Cucumovirus	ARN	Monocat	Icosae.	30	Cucumber Mosaic Virus (CMV) Tomato Aspermy Virus (TAV)
Bromovirus	ARN	Monocat	Icosae.	26	Brome Mosaic Virus (BMV) Broad Bean Mottle Virus (BBMV) Cowpea Chlorotic Mottle Virus (CCMV)
Ilarvirus	ARN	Monocat	Icosae.	27,30 y 35	Tobacco Streak Virus (TSV) Citrus Leaf Ragose Virus (GILRV) Citrus Crinkly Leaf Virus (CICLV)
Hordeivirus	ARN	Monocat	Helicoid.		Barley Stripe Mosaic Virus (BSMV)
Alfalfa Mosaic Virus	ARN	Monocat	Helicoid.		Alfalfa Mosaic Virus (AMV)
Rice Stripe Virus	ARN	Monocat	Helicoid.		Rice hoja Blanca Virus
Tomato Spotted Wilt Virus*	ARN	Monocat	Icosae.	70-80	Tomato Spotted Wilt Virus (TSWV)

* Virus con envoltura

nm = nanometro = 0.001 de micron

** Los virus que presentan virusoides hacen parte de este grupo

Icosae = Icosaedrico

Helicoid = Helicoidal

Monocat = Monocatenario

En la actualidad la técnica mundialmente adoptada consiste en espolvorear las hojas de la planta a inocular con un abrasivo, que puede ser celita, frotándolas después con el mazo del mortero o con un copito de algodón impregnado con el jugo extraído de la planta enferma; finalmente se deben lavar las hojas con agua limpia para que la inoculación sea exitosa.

3. Por vectores

Posiblemente es el método más eficiente del cual se vale la naturaleza para propagar los virus, y se denomina así a la transmisión conseguida con la ayuda de ciertos animales, principalmente insectos, denominados vectores.

Las interacciones virus-vector, vector-planta son extremadamente complejas; cada planta, vector, virus y medio ambiente constituyen una condición particular.

La actividad virus-vector nunca es pasiva; existe siempre afinidad específica entre la cápsida del virus y el vector, tal es el caso entre la especificidad de varias razas del «*Barley Yellow Dwarf Virus*» (*BYDV*), las cuales se pueden diferenciar por sus vectores; la raza MAV se transmite principalmente por el áfido *Macrosiphum avenae*.

Los pulgones constituyen el grupo más numeroso y eficiente de los vectores de virus; son más de cien las virosis así transmitidas. Existen diferentes tipos de relación entre el pulgón y los virus; los períodos de adquisición, de latencia y de retención de la partícula viral por el vector permiten clasificarlos en:

* *Virus no persistentes o virus llevados en el estilete*

La adquisición y transmisión de la partícula viral ocurre en segundos, la persistencia en el vector es corta, no hay período de incubación en el insecto, es decir se transmite inmediatamente después de adquirido, el virus no se encuentra en la hemolinfa del insecto y se pierde con la muda.

El grupo de los *Potyvirus*, entre los cuales se encuentran el Potato Virus Y (PVY), el Bean Common Mosaic Virus (BCMV) y el Lettuce Mosaic Virus; los *Cucumovirus* como el Cucumber Mosaic Virus (CMV) y el Tomato Aspermy Virus (TAV) se transmiten de forma no persistente.

* *Virus semipersistentes*

Necesitan un período de adquisición mayor que los no persistentes, el insecto debe alimentarse en el floema y el período de latencia es variable. El virus no pasa a la hemolinfa y se pierde con la muda; necesita períodos de inoculación largos y períodos de retención de uno a dos días, por lo tanto puede infectar varias plantas.

El grupo de los *Closterovirus*, entre los cuales se encuentra el Citrus Tristeza Virus (CTV) (Figura 2b), es considerado semipersistente.

* *Virus persistentes o circulantes*

El vector necesita bastante tiempo para su adquisición, el cual puede variar entre quince minutos y una hora; el período de latencia es variable y el poder infeccioso se mantiene varios días, algunas veces hasta que el insecto muere, o sea que tiene la capacidad de infectar sucesivamente numerosas plantas.

Existe un período de incubación en el insecto, necesario para que ocurra la transmisión. Estos virus se acumulan en las glándulas salivales y cuando el insecto muda conserva su poder infeccioso, lo cual significa que el virus se encuentra en otros sitios del insecto diferentes de sus piezas bucales.

La especificidad virus-vector es muy estrecha y no pueden, en general, transmitirse mecánicamente por lo que son virus que se multiplican en el liber y deben ser inoculados en este tejido.

Dentro de este grupo están los virus persistentes propagativos; los cuales se multiplican tanto en la planta como en el vector y algunos de estos vectores pueden pasar el virus transováricamente, en donde los huevos resultan infectados y las ninfas o estados inmaduros son capaces de inocular plantas desde su eclosión, como ocurre con el Rice Dwarf Virus (RDV) y el Rice Hoja Blanca Virus.

Son vectores de virus, algunos homópteros como: Cicadélidos, Aleiródidos, Fulgóridos, Cercópodos y Membrácidos; nemátodos de los géneros *Xiphinema*, *Longidorus* y *Trichodorus*; eriofidos como *Aceria ficus* y *Eriophyes insidiosus*; hongos como *Olpidium brassicae*, vector del virus de la necrosis del tabaco, *Polymixa graminis*, vector del virus del mosaico del trigo y del entorchamiento del arroz, *Spongospora subterranea*, vector del Mop-top de la papa, y el hongo *Synchytrium endobioticum*, vector del virus X de la papa.

4. Por cúscuta

La cúscuta, planta parásita de la familia de las Convolvuláceas, es transmisora de virus en la naturaleza y muy utilizada con fines experimentales. Actúa como puente, como si fuese un conducto o canal de transporte del virus, intercambiando la savia entre planta enferma y sana.

5. Por semilla

La transmisión de virus por semillas ocurre muy poco, tiene importancia en la diseminación de ellos a través del comercio lo cual constituye un factor válido en la epidemiología de ciertas enfermedades causadas por virus.

Semillas de soya provenientes de plantas afectadas con el Virus del Mosaico (SMV) dan plántulas infectadas y sanas en proporción de 1:2; su transmisión depende generalmente de la infección en el embrión. Otros virus transmitidos por semilla son el Tomate Mosaic Virus (TMV); el Southern Bean



Figura 2. a) Virus de la hoja blanca del arroz b) Virus de la tristeza de los cítricos.



Mosaic Virus (SBMV); el virus del mosaico común de la habichuela; el virus del mosaico de la lechuga; el Tobacco Ringspot Virus (TRSV), entre otros.

Entre los factores que pueden influenciar el grado de transmisión por semilla están: 1. La especie o variedad de la planta hospedante, 2. La variante o raza del virus, y 3. La edad de la planta en el momento de la infección.

Otras formas de transmisión que ocurren naturalmente son: por raíces, al entrar en contacto plantas enfermas con sanas y por polen, que aunque sucede muy poco en la naturaleza, es otra forma de diseminación de ellos.

Identificación y reconocimiento

Es necesaria la identificación de los virus que causan las enfermedades de las plantas para enfocar las medidas de manejo o control. Los procedimientos para ello varían de acuerdo con el virus involucrado y se logran mediante:

- Sintomatología específica en plantas hospederas.
- Determinación del método de transmisión: injerto, insectos, cúscuta, etc.
- Determinación del rango de posibles plantas hospederas.
- Observación morfológica, por intermedio del microscopio electrónico, de partículas y daños celulares en el hospedero.
- Purificación y aislamiento para determinar:
 - Características físico-químicas.
 - Interacción o relación con otras virosis.
 - Propiedades del virus en jugo crudo.
 - Caracterización serológica.

Características Físico-Químicas

Se destacan las siguientes:

- * Relación o porcentaje de ácido nucleico (entre 5 y 35%).
- * Clase de ácido nucleico.
- * Determinación del aminoácido terminal.
- * Número de capsómeros (subunidades proteicas).
- * Peso molecular de la partícula viral.
- * Tamaño y forma de las partículas virales.
- * Constante de sedimentación.
- * Punto isoeléctrico.
- * Movilidad electroforética.
- * Coeficiente de difusión.
- * Difracción a los rayos X.

Interacción con otros Virus

Una relación serológica estrecha entre un virus conocido y uno no determinado proporciona evidencia de que este pueda ser una variante del virus conocido. El método utilizado con este fin es de preinmunización, el cual se basa en que una planta invadida por un virus suave (raza suave) no sufre daños graves posteriores si se reinocula con razas agresivas estrechamente relacionadas con aquel; este es un caso de protección cruzada como el em-

pleo de razas suaves del Virus de la Tristeza de los Cítricos (CTV) contra razas agresivas del mismo. Si la planta sufre daño con facilidad por la inoculación se establece que son virus no relacionados.

Propiedades en jugo natural

Se debe tener en cuenta que hay mucha variación experimental al determinar estas características, por lo tanto, los virus deben compararse en las mismas condiciones ambientales, utilizando en lo posible las mismas plantas hospederas.

— Grado de inactivación térmica

Se denomina así la temperatura necesaria para lograr la completa inactivación del virus, en un jugo tratado durante un período de diez minutos.

Se determina colocando en baño María jugo natural sin diluir, procedente de plantas infectadas en tubos pequeños que permitan la difusión rápida de calor al jugo durante diez minutos, generalmente a intervalos de 5 grados entre 40 y 95 °C; procediendo luego a enfriar rápidamente para inocular plantas indicadoras.

** Longevidad in vitro*

Se determina guardando el jugo infectivo en recipientes cerrados que se mantienen a temperatura ambiente, inoculando el jugo en plantas indicadoras a intervalos que se duplican sucesivamente, hasta que el jugo deja de ser infectivo.

• Punto final de dilución

Se establece mediante una serie de diluciones del jugo infectivo, con un factor de 10 (1/10, 1/100, 1/1.000, ... 1/100.000), inoculando plantas con cada dilución para determinar la última de éstas a la cual el extracto es infectivo.

Caracterización serológica

Las técnicas serológicas constituyen el método más rápido y específico en el estudio de las enfermedades virales y son una de las principales formas de identificar virus y de establecer la relación y las similitudes entre estos. Su limitación reside en que sólo se pueden aplicar a aquellos virus que se pueden purificar. Se basa en que las reacciones serológicas son el resultado de la combinación específica entre *antígenos* y *anticuerpos*.

Los antígenos son sustancias, generalmente una proteína, de peso molecular superior a 10.000 dalton*, que inyectadas en animales, usualmente conejos, provocan la aparición de anticuerpos (inmunoglobulinas, IgG) con los cuales reaccionan específicamente.

* Dalton: Unidad de masa, igual a 1.66×10^{-27} kg.

En el caso de los virus, la cápsula o cápside de naturaleza proteica les confiere la propiedad de ser antígenos al ser inyectados en animales.

Métodos de detección

— Método Elisa

La detección del antígeno (virus) por los anticuerpos correspondientes se hacía por una simple visualización del precipitado antígeno/anticuerpo, mediante técnicas serológicas de aglutinación y precipitación. Hoy en día los métodos conocidos como *conjugados*, entre los que se encuentra el método Elisa (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*), son los más utilizados, ya que permiten detectar muy pequeñas cantidades de virus.

La era moderna de la tecnología del diagnóstico en el manejo de las enfermedades de las plantas comenzó en 1976, con la primera aplicación de la técnica del ensayo inmuno-absorbente ligado a la enzima o Elisa. A mediados de la década de los años ochenta aparecieron en el comercio los "Kits" de detección, los cuales, luego de una serie de pasos sencillos, permiten la caracterización del agente causal de la enfermedad; en algunos casos el resultado se obtiene en diez minutos.

Los conjugados consisten en enzimas tales como fosfatasa alcalina, peroxidasa, etc., que son capaces de producir, actuando sobre un sustrato, colores vivos fácilmente visibles incluso a simple vista.

El método Elisa se presenta en diferentes variables como el Elisa Sandwich (DAS) cuyo esquema operacional es el siguiente (Figura 3)

1. Adición de anticuerpos (IgG) específicos para tapizar los pocillos.
2. Añadir la muestra: el agente patógeno (virus); si lo hay, se fija a los anticuerpos específicos.
3. Añadir anticuerpos específicos marcados con la enzima. Se fijarán los agentes patógenos de la muestra.
4. Añadir el sustrato específico de la enzima, para que produzca reacción, que será positiva si se produce coloración; esta será proporcional a la concentración del virus en la muestra.

* *Sueros monoclonales*

Un importante progreso en serología es la posibilidad de obtener anticuerpos monoclonales. Una partícula de virus contiene numerosos sitios antígenos, y cuando se inyecta a un animal los anticuerpos correspondientes a cada uno de estos sitios se sintetizan y se sobreañaden a los que ya existen y se sabe que cada célula competente sólo segrega un tipo de anticuerpo. Si se hace fusionar una de esas células con una célula de mieloma

(células donde se sintetizan las gammaglobulinas) se obtiene un híbrido, que colocado en un cultivo constituye una línea que segrega anticuerpos de forma permanente. Por métodos de clonación y de selección se puede elegir la línea celular que produce el anticuerpo que se desee; se seleccionará, por ejemplo, el anticuerpo que tenga mayor afinidad por un virus, o el que reconozca una raza precisa del virus y las demás. Esta producción continua *in vitro* de anticuerpos tiene además la ventaja de poder servir de referencia estable.

Los métodos inmunológicos sólo detectan la cápsida del virus, es decir, una parte solamente del producto de sus genes.

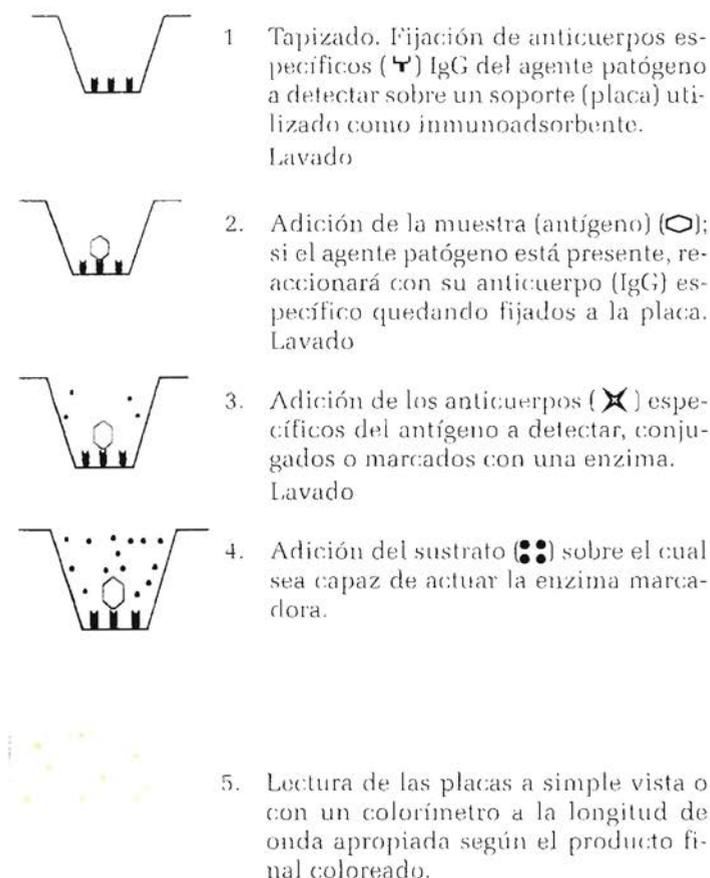


Figura 3. Método de detección de virus por el método Elisa "Sandwich" (DAS).

* Hibridación con sondas cADN

El método de hibridación de secuencias de ácido nucleico constituye la tecnología más moderna aplicada a la detección de los fitopatógenos, entre ellos los virus. Consiste en pegar oligonucleótidos sobre un soporte sólido y luego analizar cómo las moléculas de ADN o ARN del patógeno que se quiere identificar se hibridizan a las sondas fijas.

Dentro de las nuevas técnicas se encuentra la reacción en cadena de la polimerasa o PCR (Polymerase Chain Reaction), que consiste en amplificar secuencias específicas de ácido desoxirribonucleico (ADN), de tal manera que a partir de una mínima cantidad de este compuesto se obtienen niveles suficientes para ser detectados en un gel de electroforesis. La parte más importante posee únicamente el patógeno, el cual puede utilizarse para realizar una amplificación selectiva del ADN.

Viroides

A principios de la década de 1970 se creía que las enfermedades de plantas y animales eran causadas solamente por hongos, bacterias o virus. En 1967, los estudios iniciados para determinar la naturaleza del agente causal del tubérculo alusado o fusiforme de la papa «Potato Spindle Tuber Disease» -PSTV- (Figura 4a) y la Exocortis de los cítricos -CEV- (Figura 4b), llevaron al descubrimiento de un nuevo grupo de patógenos en las plantas: los viroides.

Las investigaciones preliminares demostraron que estos nuevos agentes infectivos, los viroides, no sólo sedimentaban a una velocidad más baja que la mayoría de las partículas de virus analizadas, sino que además lo hacían más lentamente que la fracción de ácido nucleico de tales partículas. Estos resultados llevaron a la conclusión de que estos nuevos agentes causales de enfermedades en plantas podrían ser ADN o ARN. Tratando el material infectivo con la enzima ribonucleasa, que digiere el ARN, se inactivaba el agente; mientras que el tratamiento con enzimas que degradaban el ADN o las proteínas por el contrario no tenía ningún efecto sobre la infectividad de la partícula. Esto significaba que el elemento esencial en la infección tenía que ser ARN y que probablemente no había ni proteína ni ADN implicados.

Los estudios revelaron en 1971 que ellos eran simplemente moléculas de ARN desnudo, con peso molecular de aproximadamente 120.000 dalton, es decir, diez veces más pequeños que el menor de los virus conocidos y se les llamó viroides.

¿Qué son los viroides?

Los viroides son ácidos nucleicos de bajo peso molecular, que están presentes en ciertos organismos; pero cuando se inoculan en ellos se multiplican en forma autónoma ocasionando enfermedad.

Los viroides son elementos patógenos autorreproducibles, cadenas circulares de 240 a 380 nucleótidos, no protegidos por una cápsida (proteína); tienen un genoma diez veces más reducido que los más pequeños bacteriófagos de ARN y solamente se les ha encontrado en las plantas superiores en las cuales ocasionan graves enfermedades.

Los viroides son pequeñas moléculas de ácido ribonucleico (ARN) de bajo peso molecular, que pueden infectar a las células vegetales, se automultiplican y producen enfermedad.

Los viroides difieren de los virus por lo menos en dos características:

1. El tamaño del ARN, el cual tiene un peso molecular que va de 75.000 a 120.000 en los viroides, comparado con el valor de 1.000.000 - 10.000.000 de los virus autorreduplicables.
2. El ARN de los virus se encuentra rodeado por una cubierta de proteína, mientras que los viroides carecen de ella y al parecer existen como ARN libres.

El pequeño tamaño del ARN de los viroides indica que están constituidos por un número aproximado de 250 a 350 nucleótidos. La comprobación de que los viroides existen como moléculas de ARN libres más que como nucleoproteínas, requiere el uso de métodos de extracción, aislamiento y purificación bastante distintos de los que se utilizan para los virus y su observación en el microscopio electrónico se hace extremadamente difícil, aun en preparaciones purificadas, mientras que en la savia o en los tejidos de las plantas su detección con el microscopio electrónico generalmente es imposible.

Origen de las enfermedades causadas por viroides

Las enfermedades causadas por viroides han sido reconocidas recientemente, y en opinión de algunos investigadores su origen y aparición son atribuidos a la introducción de métodos intensivos en la agricultura, especialmente monocultivos.

Dichos métodos han contribuido a la diseminación, en ocasiones inadvertida, por vía vegetativa, mediante la propagación de plantas asintomáticas afectadas por viroides, tales como tubérculos de papa, esquejes de crisantemo, injerto de manzanas, cítricos y vides.

Otra explicación del posible origen de los viroides en plantas cultivadas es que se originaron por introducción accidental desde reservorios de plantas silvestres, lo cual supone que los viroides no producen síntomas en hospederos nativos o plantas silvestres.

Multiplicación

Se desconoce la forma mediante la cual se multiplican los viroides. Se encuentran casi exclusivamente en los nucleolos de las células infectadas y

los experimentos han demostrado que el ARN de los viroides no funciona como ARN mensajero. A diferencia del ADN o ARN de los virus, no se traduce a enzimas que participan en su propia replicación. La localización de los viroides en el núcleo y su incapacidad de actuar como ARN mensajero ha llevado a la hipótesis de que causan los síntomas interfiriendo con la regulación génica de las células infectadas. Esta hipótesis es apoyada por el hecho de que ciertas proteínas vegetales, que se encuentran en células sanas, se presentan en cantidades mayores en células infectadas.

Por el pequeño tamaño del ARN de los viroides parece que no tiene la suficiente información incluso para codificar una sola enzima replicasa que es la que efectúa la copia de una hélice de ácido ribonucleico en otra hélice complementaria del ARN. De ahí que sea incapaz de llevar a cabo la multiplicación del viroide.

Recientemente se ha sugerido que los viroides se multiplican al copiar directamente el ARN, este es un proceso en el cual todos los componentes que se requieren para la replicación del viroide, incluyendo la ARN polimerasa, son proporcionados por el hospedero.

Aún se desconoce también la forma mediante la cual los viroides producen enfermedad. Las enfermedades generadas por estos patógenos muestran una gran variedad de síntomas que se asemejan a los ocasionados por las infecciones virales. Parece que la cantidad de viroides que se producen en las células es extremadamente pequeña, de ahí que sea improbable que arrojen un déficit en los nucleótidos del ARN de las células. Además, como sucede con los virus, muchos de los hospederos infectados no muestran daños considerables, aunque parece que los viroides se duplican en ellos, tal como lo hacen en hospederos sensibles. Así aparentemente los viroides afectan el metabolismo del hospedero en forma que se asemeja a los virus.

Transmisión y diseminación

Los viroides se diseminan desde las plantas enfermas a las sanas, principalmente por medios mecánicos, es decir, a través de la savia, en las manos o herramientas durante las actividades de propagación o de cultivo y, por supuesto, mediante propagación vegetativa. Algunos viroides, como el del tubérculo abusado de la papa, achaparramiento del crisantemo y la mancha clorótica de este último, son transmitidos con gran facilidad a través de la savia, mientras que otros, como la exocortis de los cítricos, lo son a través de la savia pero con dificultad. Algunos de ellos, como en el caso del tubérculo fusiforme de la papa, se transmiten a través de la semilla y del polen en proporciones que van desde 0 hasta 100%. No se conoce hasta ahora ningún insecto específico u otros vectores de los viroides, aunque parece que estos últimos son transmitidos a través de las patas o las partes bucales de algunos insectos. Experimentalmente el PSTV puede ser

transmitido por los áfidos *Macrosiphum euphorbiae* y *Myzus persicae* de papa a plantas de tomate.

La mayor diseminación de las enfermedades causadas por viroides en el campo y viveros ocurre por herramientas y maquinaria contaminadas. El PSTV puede ser diseminado cortando tubérculos sanos con navajas que previamente fueron usadas en tubérculos enfermos.

Se cree que en la naturaleza los viroides sobreviven fuera del hospedero o en el material vegetal inerte, durante períodos que van desde unos cuantos minutos hasta algunos meses. En general parece que invernan en plantas hospederas perennes que incluyen a los hospederos más importantes de casi todos los viroides que se conocen. Los viroides comúnmente son muy resistentes a las altas temperaturas.

Se sabe aproximadamente de dieciséis enfermedades en plantas, causadas por viroides (Tabla 2).

Tabla 2. Nombre del viroide, cultivo y año en que fue detectado.

NOMBRE DEL VIROIDE	CULTIVO	AÑO
Potato Spindle Tuber Viroid (PSTV)	Papa	1971
Citrus Exocortis Viroid (CEV)	Cítricos	1972
Chrysanthemum Stunt Viroid (ChSV)	Crisantemo	1973
Chrysanthemum Chlorotic Mottle Viroid (ChCMV)	Crisantemo	1975
Coconut Cadang Cadang Viroid (CCCV)	Cocotero	1975
Cucumber Pale Fruit Viroid (CPFV)	Pepino	1976
Hop Stunt Viroid (HiSV)		1977
Columnnea Latent Viroid (CLV)		1978
Avocado Sunblotch Viroid (ASBV)	Aguacate	1979
Tomato Apical Stunt Viroid (TASV)	Tomate	1981
Tomato Planta Macho Viroid (TPMV)	Tomate	1982
Burdock Stunt Viroid (BSV)		1983
Carnation Stunt Viroid (Car.SV)	Clavel	1985
Apple Scar Skin Viroid (ASSV)	Manzana	1985
Grapevine Viroid (GV)	Uva	1985
Citro Variable Viroid (CvaV)	Citrón	1985



Figura 4. a) *Potato Spindle Tuber Viroid* o *Tubérculo ahusado de la papa (PSTV)*, b) *Citrus Exocortis Viroid (CEV)*.

Priones

Estos agentes causales de enfermedades infecciosas plantean un acertijo biológico: contienen proteína y se reproducen en las células, pero no se ha encontrado en ellos ADN ni ARN.

Los ácidos nucleicos ADN y ARN son el común denominador de la vida y el dogma central de la biología molecular; la información genética fluye invariablemente de los ácidos nucleicos a las proteínas.

El agente infeccioso denominado prión constituye, según parece, la excepción más notable a la regla de que cada organismo lleva en sí ácidos nucleicos que definen su propia identidad.

Se sabe que el prión es capaz de iniciar la producción de nuevos priones, al menos en ciertas células de mamífero, además, entre sus componentes moleculares hay al menos una proteína, por lo que sería de esperar la presencia de un molde de ADN o ARN que especifique su estructura.

Las pruebas remitidas hasta el momento indican, sin embargo, que el prión carece absolutamente de ácido nucleico y en última instancia, en caso de que se encontrara algo de él, probablemente no bastaría para codificar la estructura de la proteína.

No se conocen enfermedades en plantas ocasionadas por este grupo de agentes infecciosos, los cuales son causantes de un grupo de patologías neurodegenerativas letales características de mamíferos, incluyendo al hombre. Estos agentes son capaces de transmitirse de hospedero a hospedero con elevados tiempos de incubación.

A diferencia de los virus y viroides, son resistentes a tratamientos inactivantes de ácidos nucleicos, pero comparten con éstos la existencia de una variabilidad de inóculos dentro de la misma especie (diferenciables por el patrón de la lesión y la magnitud del tiempo de incubación) y de una infectividad sujeta a barrera de especie.

La transmisión de priones entre distintas especies es un proceso variable, parece comprobada la transmisión de vacas a humanos, y en el caso de ocurrir es muy poco eficaz y sucede con una prolongación del tiempo de incubación que tras pasos subsiguientes, o adaptación, se acorta y estabiliza y la transmisión deja de ser un proceso probabilístico.

La barrera de especie ocurre por la manifestación de las restricciones de secuencia de un proceso de reconocimiento molecular.

¿Qué son los priones?

Son proteínas que poseen la disposición de infectar células. Estas proteínas tienen capacidad de autogeneración, al igual que las bacterias y virus que producen enfermedades infectivas habituales.

En las células existen proteínas normales (protopriones) que, al sufrir un cambio en su estructura, se transforman en priones. El cambio en la estructura de las proteínas puede ocurrir por dos mecanismos:

1. Mutación en el gen normal (enfermedad de Creutzfeld-Jacob).
2. Consumo de alimentos (enfermedad de las vacas locas); en este caso el alimento contiene la proteína alterada en su estructura (prión). Esta causaría la transformación de las proteínas celulares normales (protopriones) en proteínas alteradas (priones).

Estructura

La búsqueda de la entidad molecular constitutiva de este agente reveló como componente mayoritario, si no único, una proteína PrP.Sc (proteína de prión de scrapie) y la ausencia de un ácido nucleico específico. Con estas premisas estructurales, unidas a la capacidad de infección, Prusiner S. B. acuñó el término *PRION* (partícula infecciosa de naturaleza proteica) para diferenciarlo de virus y víroides.

Dadas las características poco convencionales de los priones se han elaborado numerosas hipótesis sobre su estructura, siendo en la actualidad la de mayor aceptación la conocida como "Sólo proteína" planteada por Griffith en 1967, formalmente enunciada y actualizada por Prusiner:

"Se denomina prión a la forma alterada de una proteína celular funcional (PrP en mamíferos) que ha podido perder su función normal pero que ha adquirido la capacidad de transformar la forma normal en patológica".

La proteína celular del prión

La proteína del prión está codificada por un gen cromosómico de copia única que ha sido identificado en más de trece especies de mamíferos.

El producto traducido a partir del ARNm es una cadena polipeptídica de alrededor de 250 aminoácidos, dependiendo de la especie.

La conclusión de que el componente del prión es proteico y de que su presencia es necesaria para la infección, se basó en la capacidad de distintos reactivos químicos para alterar la infectividad al dañar las proteínas del prión; ya que sustancias que no tienen efecto sobre las proteínas no la alteran.

La prueba más clara del experimento se hizo con proteasas, con las cuales se demostró en forma convincente que estas enzimas sí reducían la infectividad del prión. En comparación con la mayoría de las proteínas celulares, el PRP (proteína del prión) es resistente al tratamiento con proteasas. Detergentes como dodecil-sulfato sódico (SOS) y otros como fenol-urea y otras sales reducen la actividad biológica de los priones.

Se ha intentado en repetidas ocasiones inactivar los priones con tratamientos químicos que atacan los ácidos nucleicos, en este caso empleando

nucleasas, incluyendo enzimas que destruyen a la vez ADN y ARN sin que se disminuya significativamente la infectividad del prión.

Una posible objeción a estos resultados es que las enzimas no tengan acceso a los ácidos nucleicos: muchos virus son resistentes a las nucleasas porque la cubierta proteica los protege, sin embargo, al tratar los priones con moléculas denominadas Psoralenos, que atraviesan la cubierta proteínica de la mayoría de los virus, y al exponerlos a la luz ultravioleta esta sustancia se une al ácido nucleico y lo inactiva; al probar la infectividad del prión no se observó pérdida de ella.

El fracaso de la detección del ácido nucleico en los priones no niega su existencia. Podrían esconderse de alguna manera en una estructura que los rodease, o presentarse en cantidades tan pequeñas que impidan su detección.

El peso molecular del PrP corresponde a una cadena de al menos 250 aminoácidos y parece razonable sugerir que si el prión tiene ácido nucleico, probablemente su longitud no supera los 50 nucleótidos y según el código genético convencional debe haber tres nucleótidos por cada aminoácido; por lo tanto, el supuesto genoma del prión no podría codificar una proteína que tuviese más de una docena de aminoácidos.

Sólo existe un camino para establecer con certeza que el prión es pura proteína: determinar la secuencia completa de aminoácidos del PrP, sintetizar una proteína artificial con esa misma secuencia y demostrar que posee idéntica actividad biológica que el PrP natural.

Multiplicación

El mecanismo mediante el cual se multiplican los priones no se conoce con precisión. Aunque algunos investigadores siguen postulando la necesidad de un ácido nucleico específico de priones, no existen evidencias físicas ni químicas de su existencia. En el caso de existir, cabe esperar que dicha molécula dirija la multiplicación de priones empleando una estrategia similar a la de los virus.

Existen en esencia tres hipótesis sobre su multiplicación: la primera es que el prión, a pesar de todas las indicaciones a favor de lo contrario, es un virus típico con un genoma de ADN o ARN que determine la estructura completa de la proteína del prión; la segunda es que, de alguna manera, los aminoácidos de PrP especifiquen su propia secuencia durante la replicación del prión. Ello se efectuaría indirectamente, por medio de la "traducción inversa" de la proteína a ADN o ARN, que luego interpretaría el aparato celular, a la manera habitual, para fabricar más proteína. Tal proceso no se ha observado jamás y constituiría una flagrante violación del dogma central, que establece que el flujo de información va, en la célula, de los nucleótidos a las

proteínas. La tercera hipótesis es la de que exista un gen de ADN que no se encuentre en el prión y que codifique la secuencia de aminoácidos de la proteína del prión. Ese gen debe ser un componente del genoma normal del hospedero y que la infección lo activará de alguna manera. Una objeción a esta hipótesis es la observación de que parece haber varias "razas" o "cepas" de priones, y si la replicación no requiere sino de la activación de un gen, entonces, ¿cómo puede el mismo hospedante servir de hospedador a varios priones?

¿Qué enfermedades producen?

Los priones son los agentes causantes de un grupo de patologías neurodegenerativas letales características de mamíferos, también conocidas como encefalopatías espongiformes transmisibles.

Se conocen unas pocas enfermedades causadas por priones: el prurito lumbar (scrapie), una alteración neurológica de ovejas y cabras; la enfermedad de Creutzfeld–Jacob, una rara demencia humana y la enfermedad de las vacas locas.

Los priones se consideran también agentes probables de otras enfermedades humanas que afectan el sistema nervioso: el Kuru, observado sólo en las tribus de las tierras altas de Nueva Guinea; el síndrome de Gerstmann Strausslery y la enfermedad de Alzheimer, la cual posiblemente es la más importante por ser la forma más común de demencia senil y la cuarta de las principales causas de muerte en el hemisferio occidental.

El prurito lumbar y demás enfermedades en las que están implicados los priones se codifican como "enfermedades lentas". Se caracterizan por un prolongado período de infección, durante el cual el paciente o los animales no muestran síntomas.

Glosario

Acelular. No compuesto por células.

Aceptor de electrones. Sustancia que acepta electrones durante la reacción de óxido-reducción. El aceptor de electrones es un oxidante.

Acérvulo. Cuerpo fructífero en forma de copa que contiene conidióforos cortos y conidias, característico de los Melanconiales.

Acetogénesis. Proceso en el cual bacterias reductoras de CO_2 producen acetato en lugar de metano (CH_4).

Acetógeno. Microorganismo que rompe la molécula de acetato en CH_4 y CO_2 .

Acido Desoxirribonucleico - ADN. Polímero de nucleótidos unidos por un esqueleto de azúcar fosfato de soxirribosa; es el material genético de la célula. Molécula universal de la herencia.

Acido Nucleico. ADN o ARN. Polímero formado por nucleótidos que contienen las bases purínicas adenina, guanina y las bases pirimídicas citosina, timina y uracilo.

Acido Ribonucleico - ARN. Polímero de nucleótidos conectados por un esqueleto de fosforribonucleótidos que participan en la síntesis de proteínas. Polímero lineal de ribonucleótidos en el cual los residuos de ribosa están unidos por enlaces 3' 5'- fosfodiéster. Las bases nitrogenadas fijadas a cada residuo de ribosa pueden ser adenin, guanina, uracilo o citosina.

Acido teicoico. Acido Polisérido que contiene ya sea glicerol o ribitol unidos por enlaces fosfato diéster. Se encuentra en las paredes de las bacterias Gram-negativas.

Acidófilos. Organismos que crecen mejor en condiciones de pH bajo.

Aclorofilo. Carente de clorofila.

- Adquisición.** Duración mínima de la presencia de un insecto sobre una planta enferma para adquirir poder infeccioso.
- Aecia.** Estado de las royas, formada por células hifales, binucleadas, que produce cadenas de acciosporas.
- Acciospora.** Espora binucleada producida por una aecia.
- Aerobios.** Aquellos organismos que para crecer requieren la presencia de O_2 . Pueden ser facultativos, estrictos o microaerófilicos.
- Agalla.** Sobrecrecimiento que se presenta en algún órgano de la planta, como resultado de la multiplicación anormal de células debido al ataque de ciertos patógenos.
- Agua de gutación.** Líquido de composición compleja que exudan las plantas, especialmente a través de los hidátodos.
- Alcalófilos.** Organismos que crecen a pH superior a 7.
- Alga.** Grupo de microorganismos clorofílicos eucariotes.
- Aminoácido.** Componente elemental de las proteínas que contienen las funciones de ácido (COOH) y amina ($-NH_2$).
- Anabolismo.** Conjunto de reacciones bioquímicas por las cuales una célula construye sus moléculas a partir de otras más simples. Generalmente requiere energía.
- Anaerobios.** Aquellos organismos que se desarrollan en ausencia de O_2 . Pueden ser anaerobios facultativos o estrictos.
- Anaerobio facultativo.** Organismo que se desarrolla en presencia o ausencia de oxígeno.
- Anaerobios estrictos.** Organismos incapaces de utilizar el O_2 como aceptor de electrones, el cual se torna tóxico para ellos.
- Anamorfo.** Formas del estado asexual de los hongos.
- Anatomía.** Estructura, número, localización y relaciones de las distintas partes de los organismos vivientes.
- Anteridio.** Gameta correspondiente al órgano sexual masculino.
- Antibióticos.** Productos metabólicos naturales de un organismo, que en pequeñas cantidades actúan destruyendo o inhibiendo el crecimiento de otros organismos.
- Anticuerpo.** Compuestos proteínicos (inmunoglobulina) sintetizados por las células plásmicas en respuesta a la presencia de antígenos específicos y que tienen la capacidad de reaccionar contra ellos.

- Antígeno.** Cualquier sustancia que estimule una respuesta inmune; por lo general se trata de proteínas de alto peso molecular o de un carbohidrato de gran tamaño ajeno al cuerpo.
- Aplanospora.** Espora no móvil, sin flagelo.
- Apotecio.** Ascocarpo abierto.
- Archaea.** Procariotas que son capaces de crecer en ambientes limitantes para otros organismos, gracias a características especiales. Incluye los metanógenos, la mayoría de los halófilos extremos e hipertermófilos.
- Arqueobacterias.** Archaea. Grupo de procariotes infrecuentes que incluye las bacterias metanogénicas, bacterias extremadamente halofílicas y ciertas bacterias termoacidofílicas.
- Artrospora.** Espora resultante de la fragmentación de una hifa.
- Asca.** Célula en forma de saco, característica de la clase ascomycetes, que contiene por lo general un número definido de ascosporas (generalmente ocho).
- Ascocarpo.** Cuerpo fructífero que contiene ascas.
- Ascogonio.** Gametangio sexual femenino de los ascomycetes.
- Ascostroma.** Ascocarpo estromático, portador de ascas en lóculos dentro del estroma.
- Autótrofos.** Organismos con la capacidad de utilizar el CO₂ como fuente de carbono, capaces de producir su propio alimento. Usan compuestos químicos inorgánicos o luz como fuente de energía. Constituyen la base (productores) de las cadenas alimenticias.
- Bacilos.** Células bacterianas en forma de varilla o bastón, rectas o ligeramente curvadas.
- Bacteria.** Todo el grupo de microorganismos procariotes.
- Basidio.** Estructura característica de los basidiomycetes, la cual lleva sobre su superficie un número definido de basidiosporas.
- Basidiospora.** Espora formada sobre la parte externa de un basidio.
- Bicatenaria.** Estructura viral con dos cadenas de ácido nucleico cuya secuencia es complementaria.
- Bromovirus.** Grupo de virus monocatenario con tres partículas en su genoma, icosaédrico, originado del término Brome Mosaic Virus.
- cADN.** ADN complementario de una cadena de ARN.
- Cápsida.** Conjunto de proteínas que forman protección alrededor del ácido nucleico del virus.

- Capsómero.** Cada una de las unidades proteicas que en conjunto forman la cápsida de los virus.
- Cápsula.** Capa difusa de polisacáridos exterior a la pared celular de algunas bacterias.
- Catabolismo.** Conjunto de reacciones bioquímicas que conducen a la producción de energía utilizable (ATP) por la célula, mediante la degradación de compuestos orgánicos e inorgánicos.
- Catalasa.** Enzima altamente eficiente que cataliza la degradación del peróxido de hidrógeno, molécula altamente tóxica para las células, que da origen a oxígeno molecular y agua.
- Caulimovirus.** Grupo de virus, bicatenario con ADN en su genoma, de forma icosaédrica, que se origina del término Cauliflower Mosaic Virus.
- Cenocítico.** Se refiere a micelios no septados, los núcleos están rodeados por el citoplasma sin estar separados por paredes transversales, o en una matriz común.
- Chancro o cancro.** Lesión necrótica circular y ligeramente hundida que se presenta en tallos, ramas o frutos suculentos.
- Cianobacterias.** Bacterias verde-azules (antiguamente algas verde-azules); procariotes fotosintéticos que efectúan fotosíntesis.
- Ciclo de Calvin.** Vía bioquímica mediante la cual muchos organismos autótrofos fijan CO_2 .
- Ciclo de Krebs.** Conocido también como ciclo del ácido tricarboxílico o del ácido cítrico. Consiste en una serie de reacciones en ciclo en las cuales el acetato se convierte en NADH y CO_2 .
- Cleistotecio.** Ascocarpo completamente cerrado.
- Cloroplasto.** Organela que contiene la clorofila en los eucariotes; sitio de la fotosíntesis.
- Closterovirus.** Grupo de virus, monocatenario, helicoidal, que se origina de la palabra Clóster, que significa hilo o filamento.
- Cocos.** Células bacterianas esféricas o ligeramente elípticas.
- Comovirus.** Grupo de virus, monocatenario, con ARN, icosaédrico; que se origina del término Cowpea Mosaic Virus.
- Componente «Middle».** Conjunto de partículas de virus de densidad media, que se ubican en la mitad del tubo al ser centrifugadas.
- Componente «Top».** Designa al conjunto de partículas de virus de débil densidad, en general desprovistas de ácidos nucleicos, que se ubican en la parte superior del tubo al ser ultracentrifugados.

- Componente «Bottom».** Conjunto de partículas de virus de densidad que sedimentan en el fondo del tubo al ser centrifugadas.
- Conidia.** Espora asexual no móvil.
- Conidióforo.** Hifa simple o ramificada que sale de una hifa somática y lleva en su ápice o lateralmente una o más células conidiógenas.
- Cromosoma.** Estructura que contiene el DNA en los eucariotes, generalmente formando complejos con histonas.
- Cucumovirus;** Grupo de virus, monocatenario, con ARN, icosaédrico; se origina de los términos Cucumber Mosaic Virus.
- Dalton;** Unidad de masa atómica, igual a $1,66 \times 10^{-27}$ kg.
- Decapsidación.** Mecanismo que permite al ácido nucleico salir de la partícula viral para iniciar el ciclo de multiplicación.
- Desaminación.** Eliminación de un grupo amino de una molécula, especialmente un aminoácido.
- Descarboxilación.** Liberación de moléculas de dióxido de carbono a partir de ácidos orgánicos.
- Dioco.** Hongos en los cuales los órganos sexuales aparecen separados en tallos distintos.
- Diplococo.** Bacterias en forma de coco que se agrupan por pares.
- Donador de electrones.** Sustancia que dona electrones en una reacción de óxido-reducción. El donador de electrones es un reductor.
- Electroforesis.** Técnica que permite la emigración de elementos cargados en un campo eléctrico que atraviesa un medio líquido o gelificado.
- Elisa.** Enzyme Linked Immunosorbent Assay. Método inmunológico de diagnóstico de los virus.
- Empalizada.** Forma de arreglo de algunas bacterias del tipo bacilos: colocándose unas al lado de otras por el eje más largo.
- Encapsidación.** Mecanismo que permite al ácido nucleico viral rodearse de proteína para formar la partícula de virus o virión.
- Endocitosis.** Proceso por el cual entran sustancias al citoplasma mediante vesículas membranosas.
- Endospora.** Cuerpos fuertemente retractivos que forman ciertas bacterias capaces de resistir el calor, la desecación y agentes desinfectantes. Se presentan en los géneros *Bacillus*, *Clostridium*, *Desulfotomaculum*, *Sporobolobacter*, *Sporolactobacillus*, *Sporosarcina*, *Sulfidobacillus* y *Synthospora*.

- Endotoxina.** Toxina no liberada de la célula, limitada a la superficie celular o intracelular.
- Entidades acelulares.** Término genérico empleado para referirse a los virus, viroides, virusoides y priones.
- Epifítico.** Organismos o entidades que están presentes en la superficie de la planta o cualquiera de sus órganos sin causar perjuicio alguno.
- Epifitotia.** Explosión estacional generalizada y destructiva de una enfermedad en las plantas.
- Esclerocio.** Estructura compacta, resistente a condiciones desfavorables que pueden permanecer en reposo durante largos períodos y germinar al tener de nuevo condiciones favorables.
- Espacio periplásmico.** Área entre la membrana plasmática y la pared celular que contiene ciertas enzimas que participan en el metabolismo.
- Especie tipo.** También conocida como tipo y se refiere al primer organismo descrito en forma lo más completa posible dentro de un género.
- Espermacio.** Estructura masculina no móvil, uninucleada, parecida a una espora, que se forma dentro de un espermogonio y es considerada como gameta masculina.
- Espermagonio.** Estructura parecida a un picnidio que contiene espermacios e hifas receptoras.
- Espiroplasma.** Microorganismo pleomórfico que carece de pared celular y que se localiza en el floema de las plantas enfermas. Suele ser de forma helicoidal en medio de cultivo y pertenece al grupo de los fitoplasmas.
- Espora.** Estructura de reposo resistente a condiciones adversas, formadas por hongos y bacterias.
- Esporangio.** Estructura en forma de saco, cuyo contenido protoplasmático completo se convierte en su totalidad por segmentación en una o más esporas.
- Esporangióforo.** Hifa que da origen a un esporangio.
- Esporangiosporas.** Esporas formadas dentro de un esporangio.
- Esporodoquio.** Estroma en forma de almohadilla, recubierto de conidióforos; característico en la familia tuberculariaceae.
- Estafilococo.** Bacterias en forma de coco agrupadas en racimos.
- Estreptococo.** Bacterias en forma de coco agrupadas en cadenas.
- Estroma.** Estructura somática compacta sobre o dentro de la cual se forman las fructificaciones.

Eucariota. Célula con núcleo verdadero.

Exocitosis. Salida de la célula de un elemento encerrado en una vesícula.

Extremófilos. Aquellos organismos que viven en condiciones letales para cualquier otro ser vivo.

Exudado. Sustancia de composición y consistencia variables excretada por un tejido y se deposita sobre o dentro de ellos.

Fase imperfecta. Fase asexual, conidial de un hongo. Estado anamorfo.

Fase perfecta. Fase sexual de un hongo. Estado teliomorfo.

Fitodia. Síntoma causado por fitoplasmas en plantas, donde las fases reproductoras (flores y frutos) se transforman en hojas.

Fimbria. Filamento proteico corto, recto, como pelos que emergen de las paredes de ciertas bacterias.

Fisión. División asexual transversal de una célula bacteriana para originar dos.

Fitopatógeno. Organismo capaz de causar enfermedad a plantas.

Fitoplasma. Nombre que se le da actualmente a los organismos con características de micoplasmas, agentes causales de enfermedades en plantas.

Flagelo. Apéndice largo y delgado en forma de látigo que le sirve a las células para su movilidad.

Flagelos. Apéndices delgados en forma de espiral que se originan en un corpúsculo de la membrana plasmática de algunas bacterias y que sirven de órgano de motilidad.

Fosfolípido. Lípido que contiene un grupo de fosfatos sustituido y dos cadenas de ácidos grasos sobre un esqueleto de glicerol.

Fosforilación a nivel de sustrato. Síntesis de enlaces fosfato de alta energía mediante la reacción de fosfato inorgánico (Pi) con un sustrato orgánico activado.

Fosforilación por transporte de electrones (fosforilación oxidativa). Síntesis de ATP a través de una cadena de transporte de electrones.

Fotofosforilación. Síntesis de enlaces fosfato de alta energía usando energía de la luz.

Fotólisis. Ruptura del agua mediante la captación de la energía lumínica en los cloroplastos o pigmentos fotosintéticos para generar ATP.

Fotosíntesis. Proceso químico por el cual algunos organismos utilizan la energía lumínica para fijar CO₂ y producir material celular. Puede ser oxigénica o anoxigénica.

- Fragmentación.** Forma de reproducción asexual; por segmentación de talo en un cierto número de fragmentos, cada uno de los cuales es capaz de transformarse en un nuevo individuo: fundamental en los hongos llamados estériles (agonomycetales).
- Fungicida.** Sustancia utilizada para matar hongos.
- Gameta.** Célula sexual diferenciada que se fusiona con otra en la reproducción sexual.
- Gemación.** Forma de propagación vegetativa que consiste en la formación de yemas.
- Geminivirus.** Grupo de virus, monocatenario con ADN de forma circular, nombre que se origina al observarse en el microscopio electrónico partículas bilobuladas que dan la impresión de ver dos partículas gemelas.
- GEN.** Segmento de ADN que codifica una proteína determinada.
- Genoma.** Totalidad de los genes presentes en un organismo.
- Genoma dividido.** Virus en donde el ácido nucleico se encuentra en varias piezas encapsuladas separadamente y cuya unidad infecciosa contiene más de una partícula.
- Glucólisis.** Proceso anaerobio mediante el cual se degrada la glucosa a ácido pirúvico o piruvato. Se le conoce también como la vía de Embden-Meyerhoff o de la hexosa difosfato.
- Gram - negativas.** Bacterias que pierden el colorante primario de la tinción de Gram, toman el colorante secundario y aparecen de color rojo o rosado.
- Gram - positivas.** Bacterias cuya pared celular fija el colorante primario de la tinción de Gram y aparecen de color púrpura o morado.
- Halófilos.** Organismos que requieren sal (NaCl) para su crecimiento.
- Haustorio.** Organo de absorción que se origina en una hifa de un hongo y que penetra inter o intracelularmente en los tejidos del hospedero.
- Hermafrodita.** Especie en la cual un mismo individuo produce órganos sexuales masculinos y femeninos.
- Heterogameta.** Gametas masculina y femenina morfológicamente distinguibles.
- Heterotálico.** Especie en la cual los sexos quedan separados en talos diferentes; siendo necesarios dos talos distintos para la reproducción sexual, por lo tanto son autoincompatibles.

- Heterótrofos.** Organismos que requieren compuestos orgánicos como fuente de carbono
- Hibridación.** Técnica utilizada para hibridar ácidos nucleicos y que consiste en aparear secuencias complementarias.
- Hidrófilos.** Organismos que crecen en ambientes muy húmedos y adaptan su crecimiento a potenciales de agua muy altos.
- Hifa.** Unidad estructural de la mayoría de los hongos, formada por tubos llenos o interiormente tapizados por protoplasma, los cuales pueden ser continuos o no.
- Hiperplásico.** Tipo de síntoma caracterizado por el aumento exagerado del tamaño o el crecimiento de la planta o alguno de sus órganos.
- Hipertermófilos.** Procariotas con temperatura óptima de crecimiento igual o mayor a 80°C. Generalmente se encuentran en fuentes hidrotermales terrestres o abisales.
- Hipoplásico.** Tipo de síntoma que hace referencia a la disminución o retardo en el crecimiento de la planta o alguno de sus órganos.
- Holofítico.** Organismo capaz de sintetizar moléculas orgánicas complejas a partir de moléculas inorgánicas mediante la acción de la energía luminosa. Equivale a fotoautotrófico.
- Holomorfo.** Se refiere a todas las formas y estructuras de un organismo, sin distingo de su función.
- Homoacetógeno.** Bacterias que producen acetato como único producto de la fermentación de azúcares, a partir de $H_2 + CO_2$
- Homotálico.** Hongos en los que la reproducción sexual tiene lugar en el mismo talo o talo único, por lo tanto son autocompatibles.
- IgG. Inmunoglobulinas G.** Proteínas de suero que contienen las funciones de anticuerpos.
- Intracelular.** Que se localiza dentro de las células.
- Isogameta.** Gametas que morfológicamente son iguales, por lo tanto no se pueden distinguir.
- Isométrico.** Se refiere al tipo de arquitectura de los virus que son icosaédricos, por lo tanto, tienen las mismas dimensiones aproximadamente en todas las direcciones del espacio.
- Lípido.** Molécula insoluble en agua, importante para la estructura de la membrana y pared celular.
- Lisis.** Rompimiento de una célula produciendo pérdida del contenido celular.

- Mancha angular.** Lesión necrótica limitada por la nervaduras primarias y/o secundarias.
- Mancha clorótica.** Lesión de tamaño variable y color amarillento por destrucción de la clorofila o incapacidad para sustituirla.
- Mancha necrótica.** Lesión de tamaño variable y color oscuro, caracterizada por la muerte del tejido afectado.
- Marchitamiento vascular.** Pérdida de turgencia en la planta o parte de su sistema foliar debido a la falta de flujo normal de agua por obstrucción o destrucción de sus haces vasculares.
- Membrana celular o plasmática.** Estructura biomolecular delgada que rodea al citoplasma, compuesta por fosfolípidos y proteínas.
- Mesófilos.** Organismos cuya temperatura óptima de crecimiento está entre los 25°C y 40°C.
- Metabolismo.** Unidad conformada por el catabolismo y el anabolismo. Todos los procesos químicos que tienen lugar dentro de una célula.
- Micelio.** Conjunto de hifas que conforman el cuerpo vegetativo (talo) de los hongos.
- Micoplasma.** Microorganismo procariótico (bacteria) pleomórfico que carece de pared celular
- Micorriza.** Asociación simbiótica entre las hifas de ciertos hongos y raíces de las plantas
- Microaerófilas.** Bacterias que crecen en la capa que se encuentra a pocos centímetros de la superficie de un medio de cultivo.
- Micrómetro.** Unidad empleada para medir organismos. Equivale a una millonésima de metro, o 10^{-6} m
- Microsoma.** Granos de cromatina que se encuentran en el núcleo.
- Monocatenaria.** Cadena de ácido nucleico constituida por una sola hélice.
- Mureína.** Componente de la pared celular de las bacterias, compuesta de ácido N-acetilglucosamina, N-acetilmurámico y unos cuantos aminoácidos.
- Nepovirus.** Grupos de virus, monocatenarios con ARN, icosaédricos, que se originan del término Nematode Polyedral Virus, transmitidos por nematodos.
- Nitrificación.** Proceso mediante el cual el amonio es oxidado a nitrito y éste a su vez a nitrato. Lo efectúan principalmente bacterias quimiolitotróficas de la familia Nitrobacteriaceae.

- Núcleo.** Estructura rodeada por una membrana que contiene el material genético (DNA) organizado en cromosomas.
- Nucleocapsida.** Elemento central de los virus grandes con envoltura, que comprende el ácido nucleico asociado a subunidades proteicas.
- Nucleoide.** Región de la célula procariótica donde se localiza el DNA.
- Nucléolo.** Estructura que se observa dentro del núcleo que no está en división, teniendo gran cantidad de RNA, es el sitio de la síntesis del RNA-ribosomal.
- Oogonio.** Gametangio femenino que contiene uno o más núcleos.
- Oóspora.** Espora fungosa de pared gruesa que se desarrolla a partir de una oosfera.
- Osmófilos.** Los organismos capaces de crecer en ambientes con altas concentraciones de azúcar.
- Ostiolo.** Apertura más o menos prominente de un ascocarpo o un picnidio revestida de parafisas y terminada en un poro.
- Oxidación.** Proceso por medio del cual un compuesto cede electrones actuando como donador y, en consecuencia, oxidándose.
- Patovar** (variedad patogénica). Subespecie o grupo de razas que sólo pueden infectar a plantas de un cierto género o especie.
- Peptidoglucano.** Conocido también como mureína, corresponde a la capa rígida de las paredes bacterianas, compuesta de ácido N-acetilglucosamina, N-acetilmurámico y unos cuantos aminoácidos.
- Peritecio.** Ascocarpo cerrado de origen sexual con un poro en la parte superior u ostiolo verdadero y pared propia.
- Peritricos.** Dícese de los flagelos distribuidos alrededor de la célula bacteriana.
- Picnidio.** Cuerpo fructífero, de origen asexual, hueco, revestido de conidióforos por dentro.
- Pili o pelos.** Apéndices rígidos no flagelares que se encuentran sobre todo en las bacterias gram-negativas recién aisladas.
- Plásmido.** Porción de ADN circular, extracromosómico hereditario, que se autoduplica, presente en algunas bacterias y hongos. No es indispensable para la sobrevivencia del organismo.
- Plasmodio.** Masa desnuda y multinucleada de protoplasma que se mueve y se alimenta de forma ameboide; estructura característica de la clase de hongos que no forman micelio (clase plasmodiophoromycetes).
- Plasmólisis.** Colapso del protoplasto como resultado de la deshidratación de la célula.

- Plecténquima.** Palabra para designar todos los tipos de tejidos fúngicos.
- Pleomórfico.** No tiene forma definida. Variación en la forma, puede ser temporal o permanente.x
- Polares.** Se refiere a flagelos localizados en uno o los dos extremos de la célula bacteriana.
- Polipéptidos.** Conjunto de aminoácidos unidos por enlaces peptídicos.
- Potexvirus.** Grupo de virus monocatenario, con ARN, helicoidal, que se origina de los términos Potato Virus X.
- Potyvirus.** Grupo de virus monocatenario, con ARN, helicoidal, que se origina de los términos Potato Virus Y.
- Precusores o intermediarios.** Moléculas que se originan principalmente en los procesos de glucólisis y ciclo de Krebs, pueden ser usadas por el organismo con fines catabólicos o de biosíntesis.
- Preinmunización.** Cuando una planta está infectada por una raza débil de un virus y posteriormente por una raza fuerte del mismo virus, los síntomas de este último no aparecen.
- Prion.** Agente causal de enfermedad en animales y humanos, que es sólo proteína con capacidad de infectar células y de autogenerarse en el hospedero.
- Procariótica.** Célula u organismo que carece de núcleo verdadero, generalmente su DNA es una molécula única.
- Promicelio.** Tubo germinal que surge de una teliospora, en el cual tiene lugar la meiosis y que produce generalmente cuatro basidiosporas.
- Prosénquima.** Tipo de plecténquima en el cual las hifas componentes están situadas en paralelo unas con otras y se distinguen con facilidad unas de otras.
- Protoplasma.** Contenido celular completo, membrana plasmática, citoplasma y núcleo.
- Protoplasto.** Célula a la cual se le ha eliminado su pared celular.
- Pseudoparénquima.** Tipo de plecténquima formada por células ovaladas o isodiamétricas; las hifas que lo componen han perdido su individualidad.
- Psicrófilos.** Organismos capaces de crecer en ecosistemas caracterizados por bajas temperaturas. Tienen temperaturas óptimas de crecimiento menores de 15°C.
- Pudrición suave.** Tipo de síntoma caracterizado por el ablandamiento o maceración de los tejidos de órganos carnosos o suculentos de las plantas.

- Quimioautótrofos.** Organismos que obtienen su energía (ATP) mediante la oxidación de compuestos inorgánicos, usando el CO_2 como fuente de carbono. Se los conoce como quimiótrofos o quimiolitótrofos.
- Quimiorganótrofos.** Organismos que utilizan compuestos orgánicos como fuente de energía y carbono. Se los denomina también quimiheterótrofos.
- Quimiosíntesis.** Proceso mediante el cual algunos microorganismos obtienen su energía a través de la oxidación de compuestos inorgánicos y la utilizan para la fijación de CO_2 .
- Replicasa.** Enzima que efectúa la copia de una hélice de ácido ribonucleico viral en otra hélice complementaria de ARN.
- Retículo endoplásmico.** Extensa disposición de las membranas internas en los eucariontes.
- Rhabdoviridae.** Grupo de virus con RNA monocatenario, helicoidal, que se origina del término Rhabdos que significa bastón, porque tiene forma de bastones cortos y gruesos.
- Ribosoma.** Partícula citoplásmica compuesta de RNA y proteína que es parte de la maquinaria sintetizadora de proteínas en la célula.
- Rizoide.** Ramificación corta y delgada del talo, parecida a una raíz.
- Rizoplano.** Superficie de la raíz.
- Rizosfera.** Capa del suelo que se encuentra próxima a una raíz viva.
- Sedimentación.** Emigración de las partículas en un medio líquido bajo el efecto de la fuerza de la gravedad.
- Serología.** Método en que se utiliza la especificidad de una reacción antígeno-anticuerpo para detectar e identificar las sustancias antígenas y a los organismos que las portan.
- Sinema o coremio.** Conjunto de conidióforos unidos y que forman una estructura alargada portadora de esporas en el ápice.
- Sustrato.** Compuesto que sufre una reacción mediante una enzima.
- Svedberg.** Unidad de sedimentación «S». Rapidez a la cual los ribosomas atraviesan un líquido cuando son sometidos a centrifugación de alta velocidad.
- Talo.** Cuerpo relativamente simple, desprovisto de tallo, raíz y hojas, corresponde a la forma somática en los hongos.
- Telia.** Cuerpo de células binucleadas que producen teliosporas o teleutosporas.
- Teliomorfo.** Formas de estado sexual de los hongos.

- Teliospora.** Espora de resistencia, de pared gruesa, de las royas y carbones, en la cual tiene lugar la cariogamia; es parte del aparato basidial.
- Termófilos.** Microorganismos con temperatura óptima de crecimiento entre 45°C y 80°C.
- Transaminación.** Reacción de gran importancia mediante la cual los aminoácidos son metabolizados en un organismo. Transferencia de uno o más grupos amino de un compuesto a otro. Formación de un aminoácido nuevo mediante la transferencia del grupo amino de otro aminoácido.
- UDPG (Uridín difosfoglucosa).** Forma activada de la glucosa sintetizada a partir de UTP y Glucosa 1-fosfato. Intermediario central del anabolismo de la glucosa.
- Uredospora, urediniospora.** Espora binucleada de la clase uredinales.
- Vector.** Agente, usualmente insecto u otro animal, capaz de transportar patógenos de un hospedero a otro. Elemento genético capaz de incorporar DNA y hacer que sea replicado a otras células.
- Viroide.** ARN circular de pequeño tamaño, capaz de multiplicarse en la célula del hospedero.
- Virulencia.** Grado de patogenicidad de un patógeno determinado.
- Xerófilos.** Organismos que crecen en ambientes muy secos y adaptan su crecimiento a potenciales de agua muy bajos.
- Zigospora.** En los Zygomycetes, espora de resistencia que se forma por reproducción sexual, previa fusión de dos gametangios.
- Zigoto.** Célula diploide resultante de la unión de dos células haploides.
- Zoospora.** Espora móvil, provista de flagelos, producida asexualmente.

Bibliografía

- Agrios, G. N. 1989. *Fitopatología*. 1a. ed. Ed. Limusa. México, D.F. 756 p.
- . 1996. *Fitopatología*. Ed. Limusa. México, D.F. 838 p.
- . 1988. *Plant Pathology*. Third Ed. Academic Press, Inc. San Diego, California. 803 p.
- Ainsworth, G. C. and Sussman, A.S. 1965. The Fungi. *An Advanced Treatise*. Vol. I. The Fungal Cell. Academic Press. New York. 748 p.
- . 1968. The Fungi. *An Advanced Treatise*. Vol. III. The Fungal Population. Academic Press. New York. 738 p.
- Alberts, B.; Bray, D.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K. and Watson, J.D. 1989. *Molecular Biology of the Cell*. Second Edition. Garland Publishing, Inc. New York. pp. 481-483
- Alexopoulos, C. J.; Mims, C.W. 1985. *Introducción a la Micología*. Edit. Omega. Barcelona. 638 p.
- Arnaud, A., Guiraud, E. J. P. 1985. *Bioquímica Microbiana*. En *Biotecnología*. Scriban, R. Coordinador Editorial Manole. pp. 47-102.
- Atlas, R. M. 1990. *Microbiología. Fundamentos y aplicaciones*. Traducido por el doctor J.T. Zavala. Compañía Edit. Continental, México. pp. 30-54; 165-189.
- Avers, CH. J. 1991. *Biología celular*. 2a. ed. Grupo Editorial Iberoamericana, México. 748 p.
- Bachman, B. J. 1983. Linkage map of *Escherichia coli* K-12. Edition 7th. *Microbiol. Rev.* 47:180-230.
- Bain, Graham, Valder y White. 1971. *Biología de los microorganismos fundamentales de agricultura moderna*. 4. Editorial Aedos. Barcelona. 184 p.

- Barnett, H. L.; Hunter, B. B. 1972. *Illustrated general of Imperfect Fungi*. 3a. Ed. Edit. Burgess Publishing Company. Minneapolis. 241 p.
- Barrera, N. 1988. *Los viroides y los priones*. Ascolfi Informa, Cali, Colombia. 14(1): 4-9.
- Bhagavan, N. V. 1984. *Bioquímica*. Edit. Interamericana, México. 2ª ed. 1.141 p.
- Bove, J. M.: 1984 *Wall-less Prokariotes of plants*. Ann Rev. Phytopathol. 22: 361-396.
- Brandao, E. M. 1992. Os componentes de comunidade microbiana do solo. Cardozo E.; Tsai, S. M. y Neves M. C. P. *Microbiología do Solo*. Sociedade Brasileira de Ciencia do Solo. Campinas. 360 p.
- Bravo O., N. 1998. Truquitos Microbiológicos. *Cuaderno de Microbiología No. 5*. Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira. 41 p.
- Brock, T.D.; Smith, D. W. y Madigan, M.T. 1984 *Microbiología*. 4ª ed. Editorial Prentice Hall Hispanoamericana S. A. México. 906 p.
- . *Microbiología*. 1987. 4ª. Edición Prentice-Hall Hispanoamericana, S. A. pp. 104-140.
- Bu'Lock, J. y Kristiansen, B. Jorn. 1991. *Bioteconología básica*. Traducido por Lires P. P. Editorial Acribia, Zaragoza. 557 p.
- Burbano O., H. 1989. *El suelo: una visión sobre sus componentes biorgánicos*. Serie de Investigaciones No. 1. Universidad de Nariño. Pasto, Colombia. 447 p.
- . 1994. La vida en el suelo. En *Memorias*. Seminario «El manejo sostenido del recurso suelo en la Orinoquia colombiana». Gabriel Romero, Editor. Editorial Juan XXIII. Villavicencio. pp. 53-65.
- Burdon, K. y Williams, R. 1974. *Microbiología*. Centro Regional de Ayuda Técnica. México. pp. 19-55.
- Burrows, W. 1974. *Tratado de Microbiología*. 20 ed. Traducida por Robert Espinosa. Editorial Interamericana, McGraw-Hill. 901 p.
- Calderón, A.; Roca, W. M. y Jaynes, J. 1991. *Ingeniería genética y cultivo de tejidos*. En Roca, W. y Mroginski, L. (edit. técnicos). Cultivo de tejidos en la agricultura. Fundamentos y aplicaciones. CIAT, Cali, Colombia. pp. 733-753.
- Cardozo, E. J. B. N.; Tsai, S. M. y Neves, M. C. P. 1992. *Microbiología do Solo*. Sociedade Brasileira de Ciencia do Solo. Campinas. 360 p.
- Carpenter, P. L. 1969. *Microbiología*. 2a. ed. Editorial Interamericana S. A. México. 421 p.

- Carrero, J. M. 1981. *Virosis y enfermedades afines de los cítricos*. Publicaciones de Extensión Agraria. Madrid. 411 p.
- Castañeda, A.; Mayer, J. E.; Pastor C., M. A., y Martínez E. 1994. Diagnóstico del patógeno del añublo de halo *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* en semilla de fríjol por medio de la reacción en cadena de la polimerasa. *Memorias*. XV Congreso de Ascolfi. Santafé de Bogotá, agosto 31 a septiembre 2/94. p. 32.
- Cerri, C. C.; Andreux, F. y Eduardo P., B. 1992. O ciclo do carbono no solo. Pp 73-90. En Cardozo, E.J.B.N.; TSAI, S. M. y Neves, M. C. P. *Microbiologia do Solo*. Sociedade Brasileira de Ciencia do Solo. Campinas. 360 p.
- Chaparro, A., Caro, M.; Peñaranda, J. y Acosta, O. 1994. Plantas transgénicas de tabaco resistentes a fosfinitricina. *Memorias*. XV Congreso de Ascolfi, Santafé de Bogotá, agosto 31 a septiembre 2/94. p. 65.
- Childress, J. L.; Felbeck, H. y Somero, G. N. 1987. Simbiosis en las profundidades marinas. En *Investigación y Ciencia*. p. 79.
- Clark, M. F. 1981. Immunosorbent Assay in Plant Pathology. *Ann. Rev. Phytopathol.* 19:83-105.
- Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)- Centro de Investigaciones Biológicas. 2000. *Biodegradación de la lignina*. www.cib.csic.es
- Corbett, M. K.; Sisler, H. D. 1964. *Plant Virology Univ. of Florida*. Press. Gainesville. 527 p.
- Cornuet, P. 1992. *Elementos de Virología Vegetal*. Ed. Mundi-Prensa. Madrid. 218 p.
- Corrales, M. P. y Jara, C. E. 1994. La evolución de *Phacoisariopsis griseola* con el fríjol común. *Memorias*. XV Congreso de Ascolfi, Santafé de Bogotá, agosto 31 a septiembre 2/94. p. 31.
- Cremlyn, R. 1982. *Plaguicidas modernos y su acción bioquímica*. Ed. Limusa México. 356 p.
- Cronquist, A. 1977. *Introducción a la Botánica*. 2ª Ed. Edit. Continental. México. 848 p.
- Curtis, H. *Biología*. 1985. Traducción de Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. 1255 p.
- Davis, R. E. y J. F. Worley. 1973. Spiroplasma: Motile, helical microorganism associates with corn stunt disease. *Phytopathology* 63: 403-408.
- De Bauer, M. 1987. *Fitopatología*. Editorial Limusa, S.A. México, D.F. 384 p.
- De Diego, F. 1979. *Setas (hongos) Guía ilustrada*. Edit. Mundi-Prensa. Madrid. 315 p.

- De Kruif, P. 1986. *Cazadores de microbios*. Traducción de la edición original *Microbe Hunters*. Biblioteca Salvat, 350 p.
- De la Vega, E. P. 1995. Los linfocitos contraatacan. *El País*. Gaceta dominical. Abril 23 de 1995. Cali. pp. 17-19.
- De Robertis, E. D. P. y De Robertis, E.M.F. *Biología celular y molecular*. 10ª. Edición. Edit. El Ateneo, Buenos Aires. pp. 301-306.
- Deacon, J. W. 1980. *Introduction to Modern Mycology*. Edit. John Wiley & Sons New York. 197 p.
- Díaz, R. y Espinosa, M. 1987. Organismos procariotas como huéspedes de DNA recombinante. En Vicente, M. y Renart, J. (coordinadores). *Ingeniería genética*. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Madrid. España. pp. 43-60.
- Diccionario Enciclopédico Salvat Universal*. 1981. 5a. ed. Salvat Editores. Barcelona, España. 20 tomos.
- Diener, T. O. 1981. *Viroid and Viroid diseases*. Ed. John Wiley Inter Science Publication. New York. 252 p.
- . 1981. *Viroids. Investigación y Ciencia* 54: 18-26.
- . 1984. *Subviral pathogens: Viroids and Prions*. Plant Dis. Rptr. 68:4.
- . 1984. *Viroids. En avances in virus research*. Academic Press. New York. pp. 241-285.
- Durán C., V. 1995. El Ebola, un asesino implacable. *El Tiempo*, mayo 21 de 1995. pp. 10A y 11 A.
- El País*. 2000. Jugando a ser Dios. Cali, domingo 2 de julio de 2000. Pág. 1D.
- El Tiempo*. 2000. Descifrando el genoma humano. Santafé de Bogotá, domingo 2 de julio/00. pp. 2-2.
- . La próxima revolución en la computación, sistemas que no están basados en semiconductores. Bogotá. Nov. 8/94, p. 14C.
- Enciclopedia de las Ciencias Naturales*. 1984. Biología. Ediciones Natura, Barcelona. pp. 8-26; 93-99.
- Fernández C., C. y Novo, S. R. 1988. *La vida microbiana en el suelo*. Editorial Pueblo y Educación. La Habana. 525 p.
- Filer, T. H. 1973. *Supression of elm phloem necrosis symptoms with tetraciline antibiotics*. Plant. Dis. Repr. 57: 341- 343.
- Freeman, B. A. 1985. *Microbiología de Burrows*. 22 ed. Interamericana Mc Graw-Hill. 1.181 pp.

- French, E. R. y Hebert, T. T. 1982. *Métodos de investigación fitopatológica*. 1a. ed. IICA. San José, Costa Rica. 289 p.
- Fulton, R. N. 1980. *Biological significance of multicomponent viruses*. Ann. Rev. Phytopath. 18: 131-146.
- García, Jr., O. 1992. Enxofre e sus transformacoes microbianas. En *Microbiologia do Solo*. Cardozo, E., Tsai, S y Neves M.C.P. Sociedade Brasileira de Ciencia do Solo. Campinas. 1992. pp. 319-327.
- Garraban, P. J. y Rega, A. F. 1977. *Transporte a través de la membrana celular* OEA. Programa regional de desarrollo científico y tecnológico. 80 p
- Gibbs, A. and Harrison, B. 1976. *Plant Virology. The principles*. Ed. Edwards Arnold. Londres.
- Gingold, E. B. 1988. Una introducción a la ingeniería genética. En Walker, J. M. y Gingold, E. B. (editores) *Biología molecular y biotecnología*. Editorial Acribia S. A., Zaragoza. pp. 22-39.
- Gómez Z., J. y Sánchez De P., M. 2000 *El proceso de descomposición de residuos* Universidad Nacional, Palmira. 14 p.
- González, L. C. 1985. *Introducción a la Fitopatología*. Edit. I.I.C.A. San José, Costa Rica. 148 p
- Granada, G. A. 1979. *Machismo disease of soybeans I. Symptomatology and transmission*. Plant Dis. Repr. 63: 47-50.
- Griffin, H. G. and Griffin, A. M. 1994. P. C. R. *Technology. Current innovations*. Boca Raton, Florida CRC. Press. 370 p.
- Gros, E. G.; Pomilio, A.B.; Seldes, A. M. y Burton, G. 1985. *Introducción al estudio de los productos naturales*. OEA, Washington, 145 p.
- Harris, K. F. and Maramorosch, K. 1980. *Vectors of plant pathogens*. Acad. Press. New York. 467 p.
- Hartung, J. S. 1992. Plasmid based hybridization probes for detection of *Xanthomonas campestris* p.v. citri. Plant Disease 76: 889-893.
- Holt, J. G.; Krieg, N. R.; Sneath, P. H. A.; Stanley, J. T. and Williams, S. T. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Ninth Edition. Williams and Wilkins. 787 p.
- Hull, R. 1971. Mycoplasma - like organisms in plants. *Plant Pathol.* 50: 121-130.
- Irancki R., I. B. 1985. *The Plant Viruses*. Polyhedral Virions with Tripartite Genomes. Ed. Plenum Press. New York. 309 p.

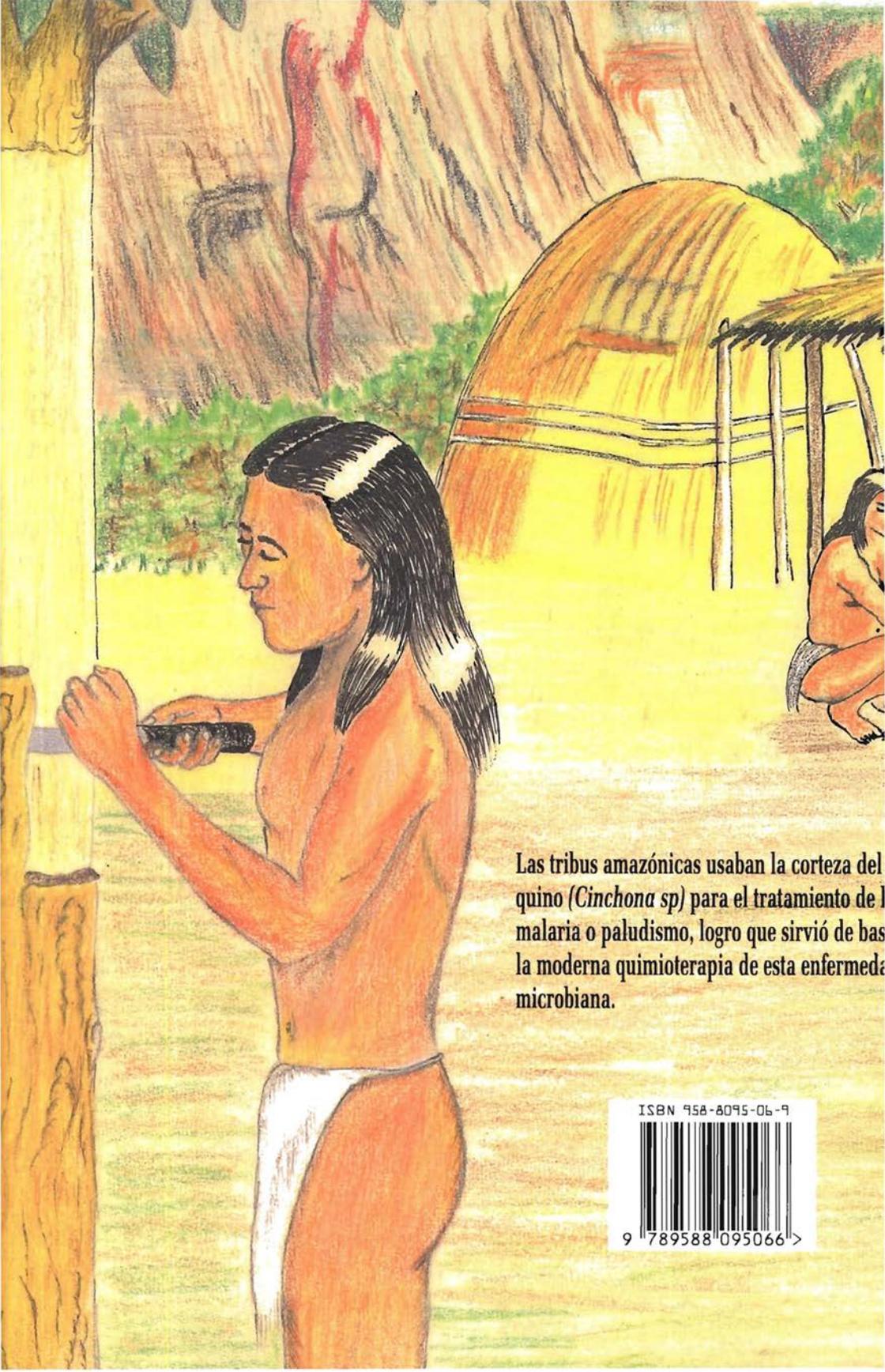
- Jacobs, W. P. 1996. *Caulerpa*. *Investigación y Ciencia*. No. 233. pp. 75-79.
- Jara, C. E.; Castellanos, G., y Corrales, M. P. 1994. Diversidad en la virulencia de poblaciones latinoamericanas de *Phacoisariopsis griseola*. *Memorias*. XV Congreso de Ascolfi, Santafé de Bogotá, agosto 31-septiembre 2/94. p. 29.
- Kimball, J. W. 1982. *Biología celular*. Traducción de González, E. y Garcidueñas, M. Fondo Educativo Interamericano, México. 414 p.
- Lee, S. B.; White, J. and Taylor, J. W. 1993. Detection of *Phytophthora* Species by Oligonucleotide Hybridization to Amplify Ribosomal ADN Spacers. *Phytopathology* 83: 177-181.
- Lehninger, A. L. 1979. *Bioquímica. Las bases moleculares de la estructura y función celular*. 2ª. edic. Traducido por los profesores Calvet, F. y Bozal. Edic. Omega, Barcelona. 1.071 p.
- Llano E., A. 2000. La bioética frente al genoma humano. Un alto en el camino. *El Tiempo*. Domingo 9 de julio. pp.1-28.
- Llanos M., C. 1981. Aspectos fisiológicos de los microorganismos. *Lecturas complementarias de Microbiología*. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Palmira. pp. 25-28.
- . 1982. Aspectos generales sobre Morfología de los Hongos. En *Experimentos sobre Microorganismos*. Universidad Nacional de Colombia, Palmira. pp. 66-75.
- López F., Y. s.f. *Introducción a la Biología molecular*. Parte I. Universidad Nacional, Palmira. pp. 1-14; 16-29.
- Madigan, M. T. y Mairs, B. L. *Extremófilos*. 1997. *Investigación y Ciencia*, junio-97. pp 60 - 66.
- Maramorosch, K. and Koprowski, H. 1968. *Methods in Virology*. Vol. IV. Academic Press. New York. 764 p.
- . 1961. *Milestones in Microbiology*. Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs, N. J. 273 p.
- Martínez, V. R. 1986. *Ciclo Biológico del Nitrógeno en el Suelo*. Ed. Científico-Técnica. La Habana. pp. 12-29; 128-131.
- Mattews, R. E. F. 1891. *Plant Virology*. Acad. Press. New York. 897 p.
- Maya, M. M.; Otoyá, M. M., y Corrales, M. P. 1994. Marcadores moleculares RAPD'S confirman la diversidad y evolución de *Phaeoisariopsis griseola* en América Latina. *Memorias*. XV Congreso de Ascolfi, Santafé de Bogotá, agosto 31 a septiembre 2/94. p. 30.
- Mayea S., S.; Novo, S. R. y Valiño A. A. 1982. *Introducción a la Microbiología del Suelo*. Editorial Pueblo y Educación. La Habana, p. 187.

- Melgarejo, G. J. 1994. Modo de Acción de los Fungicidas. En *Fungicidas y Medio Ambiente*. Comunicaciones y Asociados, Ltda. 110 p.
- Mendoza V., J. 1985. El minúsculo «prión», agente de infecciones. *El Espectador*, Santafé de Bogotá, junio 24/85. pp. 1A y 11A.
- Nason, A. 1968. *Biología*. Editorial Limusa-Wiley, S.A. México. 726 p.
- Neidhart, F. C., Curtis III, R.; Ingraham, J. L.; Lin, E. C. C.; Low, K. B., Magasanik, B.; Reznikoff, W.; Riley, M.; Schaechter, M. y Umberger, H. E. (eds). 1996 *Escherichia coli and Salmonella Cellular and molecular biology*. 2ª ed. American Society for Microbiology. Washington, D.C. dos volúmenes.
- Neves, M. C. P. 1992. Como os microorganismos do Solo obtem energia e nutrientes. En: *Microbiología do Solo*. Cardozo, E., Tsai, S. y Neves M.C.P. Sociedade Brasileira de Ciencia do Solo. Campinas, 1992. pp. 17-31.
- Nyland, G. y W. J. Moller 1973 *Control of pear decline with a tetracycline Plant*. Dis. Repr. 57: 634-637.
- Old, R. W. y Primrose, S. B. 1985. *Principios de manipulación genética. Introducción a la Ingeniería Genética*. Traducido por la doctora Paloma Liras y el Profesor J.F. Martín. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza (España). 375 p.
- Orjuela N., J. 1965. Índice de enfermedades de plantas cultivadas en Colombia. *Boletín Técnico No. 11*. Instituto Colombiano Agropecuario, ICA. Bogotá. 66 p.
- Ospina G., B. L. 1993. *Introducción a la Bioquímica* Universidad Nacional. Facultad de Ciencias Agropecuarias. pp. 87-137.
- Palleroni, N. 1980. *Principios generales de Microbiología*. O.E.A., Washington, D.C. pp. 1-6.
- . 1970. *Principios generales de Microbiología*. Secretaría General de la OEA. Washington. 1ª edición. 143 p.
- Pardo V., M. 1995. *Hongos fitopatógenos de Colombia*. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. 166 p.
- Pardo, J. M.; Jiménez, A. y Ortiz, J. Organismos eucariontes como huéspedes de DNA-recombinante. En Vicente, M. y Renart, J. (coordinadores). *Ingeniería Genética*. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Madrid, España. pp. 83-86.
- Patiño C., H.; Sánchez de P. M. y Bravo O., N. 1995. *Elementos de Ecología Microbiana. Desarrollo histórico de la Microbiología*. Primera Parte. Universidad Nacional. Sede Palmira, pp. 2-22.

- Paul, E. A. and Clark, F. E. 1989. *Soil Microbiology and Biochemistry*. Academic Press, Inc. San Diego, pp. 131-143, 233-249.
- Pelczar, M. y Reid, R. D. 1966. *Microbiología*. 2a. ed. Editorial McGraw-Hill. New York. 664 p.
- Pelczar, M. J.; Reid, R. y Chan, E. C. 1993. *Microbiología*. 2ª. ed. Traducido por A. Capella y Jorge Zavala. McGraw-Hill, México, 826 p.
- Quiroz, C. F. 1991. Isoenzimas como marcadores genéticos para identificar híbridos en el cultivo de tejidos. En Roca, W. y Mroginski, L. (editores técnicos). *Cultivo de Tejidos en la Agricultura. Fundamentos y Aplicaciones*. CIAT, Cali. pp. 857-876.
- Ramírez, H. s.f. Introducción a la Biología Molecular. s.f. Parte II. *Técnicas moleculares para la evaluación del genoma vegetal*. Universidad Nacional de Colombia. Palmira. 32 p.
- Ramírez, J. A. 1998. Extracción rápida de ADN, detección por PCR y DOT Blot de *Phytophthora* spp en material vegetal de yuca, *Manihot esculenta* Crantz. *Problema Especial*. Universidad Nacional de Colombia, Palmira. 65 p.
- Ramírez, J. M. 1993. Fotosíntesis. Absorción y utilización de la luz en la membrana fotosintética. En *Fisiología y Bioquímica Vegetal*, coordinado por J. Azcón-Bieto y M. Talon. McGraw-Hill, Madrid, pp. 91-111.
- Rawn, J. D. 1989. Bioquímica Interamericana. McGraw-Hill. Madrid. Vol 1. 532 p.
- Restrepo, S.; Otoyá, M. M. y Corrales, M. P. 1994. Amplificación al azar del ADN polimórfico para evaluar la diversidad genética de *Colletotrichum lindemuthianum* en Colombia. *Memorias*. XV Congreso Ascolfi. Santafé de Bogotá, agosto 31 a sep. 2/94. p. 27.
- Ristaino, J. B.; Madritch, M.; Trout, C. L.; Parra, G. 1998. PCR Amplification of Ribosomal ADN for Species Identification in the Plant Pathogen Genus *Phytophthora*. *Applied and Environmental Microbiology*. 64(3): 948.
- Salazar, L. F. 1991. Detección de viroides y virus con técnicas de ADN recombinante. En Roca, W. y Mroginski, L. (editores técnicos). *Cultivo de Tejidos en la Agricultura. Fundamentos y Aplicaciones*. CIAT, Cali. pp. 877-885.
- Sánchez de P. M.; Bravo O., N. y Marmolejo De la T., F. 1995. *La Microbiología en nuestro siglo. Desarrollo histórico de la Microbiología*. 2ª. parte. Universidad Nacional. Sede Palmira, pp. 15-62.
- Sánchez de P., M. y Pineda, M. E. 1998. Fisiología Microbiana. Acerca de cómo los organismos obtienen su energía. *Cuadernos de Microbiología* No. 3. Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira. 70 p.

- Sánchez, P. A. 1968. *Fitopatología y Control de Enfermedades*. U. Nal. de Colombia. Facultad de Agronomía, Palmira. Mimeografiado. 146 p.
- Santana, C.; Segura, D. y Sánchez, S. 1994. *Síntesis, función y origen evolutivo de los metabolitos secundarios producidos por microorganismos*. Rev. Lat. Amer. Microbiol. 36:139-158.
- Schlegel, H. G. 1979. *Microbiología General*. 2ª. Edición. Ed. Omega, S.A., Barcelona. pp. 176-276.
- Schuster, M. L. and Coyne, D. P. 1974. Survival Mechanisms of Phytopathogenic Bacteria. *Ann. Rev. Phytopathology*. 12: 199 - 221.
- Sharon, N. y Lis, H. 1993. Carbohidratos en el reconocimiento celular. *Investigación y Ciencia*. Marzo 1993. pp 20-27.
- Siqueira, J. O. y Franco, A. A. 1988. *Biotecnología do Solo*. Ministerio de Educación, Escola Superior de Agricultura de Lavras y otros. Brasilia. 235 p.
- Siqueira, J. O.; Moreira, F. M. de S.; Grisi, B. M.; Hungri, M. y Araújo, R. C. 1994. *Microorganismos e processos biológicos do Solo*. Perspectiva ambiental. Embrapa, Brasilia. 142 p.
- Stanier, R.; Doudoroff, M. y Adelberg, E. 1977. *Microbiología*. Aguilar, S.A., Madrid, 2a. ed. 932 p.
- Stryer, L. *Bioquímica*. 1995. 4ª. ed. Edit. Reverté S. A. Barcelona. Tomo 1. 975 p.
- Suzuki, D., Griffiths, A., Miller, J. and Lewontin, R. 1992. *Introducción al análisis genético*. 4a. ed. Interamericana. McGraw-Hill. Nueva York. 800 p.
- Téllez Y. G.; Leal, A. J. y Bohórquez B., 1988. *Biología Aplicada*. McGraw Hill. Bogotá. pp. 30-49.
- Tizard, I. 1989. *Inmunología veterinaria*. 3a. ed. Traducción doctor Carlos E. Casacubierta. Interamericana. McGraw-Hill. México. pp. 118.
- Ulloa, M.; Hanlin, R. T. 1978. *Atlas de Micología Básica*. Edit. Concepto, S.A. Méjico. 158 p.
- Umaña, A. y Gómez G., A. 2000. Alfabeto para la vida. Horizontes del descubrimiento genético. *Lecturas dominicales, El Tiempo*, 30 de julio del 2000. p. 2a.
- Victoria, R. L.; Piccolo, M. C. y Vargas, A. A. 1992. O ciclo do nitrogeno. En *Microbiología do Solo*. Cardozo, E., Tsai, S. y Neves, M.C.P. Sociedade Brasileira de Ciencia do solo. Campinas, 1992, pp. 105-119.

- Villee, C.; Martin, Ch.; Martin, D.; Berg, L.; y Davis, P. 1992. *Biología*. McGraw-Hill. Méjico. 500 p.
- Walker, J. Ch. 1975. *Patología Vegetal*. Ed. Omega. Barcelona. 818 p.
- Williamson, D. L. y R. F. Whitcomb 1975. *Plant mycoplasmas: A cultivable spiroplasma causes corn stunt disease - Science*. 188: 1018-1020.
- Young, J. M., Takikawa, Y., Gardan, L. and Stead, D. E. 1992. Changing Concepts in the taxonomy of Plant Pathogenic Bacteria. *Ann. Rev. Phytopathol.* 30:67-105.



Las tribus amazónicas usaban la corteza del quino (*Cinchona sp*) para el tratamiento de la malaria o paludismo, logro que sirvió de base a la moderna quimioterapia de esta enfermedad microbiana.

ISBN 958-8095-06-9



9 789588 095066 >