

ejercida por las sulfatorreductoras y los organismos oxidadores de metano que limitan su producción y liberación [Balows, A., Trüper, H.G., Dworkin, M., Harder, W. y Schleifer, K-H., Eds., *The Prokaryotes*, New York, (1992)].

El incremento de los problemas causados por los polucionantes orgánicos junto con la crisis energética, y la necesidad de búsqueda de fuentes alternativas de energía han hecho resurgir el interés por la digestión anaerobia. La producción de metano es un importante proceso que se realiza en la naturaleza y que puede ser empleado en biotecnología para la depuración de las aguas residuales industriales, agrícolas y domésticas. La primera evidencia de la producción de un gas combustible a partir de residuos orgánicos se debe a Robert Boyle y Stephen Hall en el siglo XVII, posteriormente Alexandro Volta en 1776 comprueba la liberación de un gas combustible a partir de residuos vegetales en sedimentos de lagos. El proceso de la digestión anaerobia ha sido utilizado para el tratamiento de las aguas residuales desde hace ya más de 100 años, en 1881 se utilizó por primera vez y 1895 Cameron creó el primer tanque capaz de producir metano en Exeter (Inglaterra) y utilizó este gas para el alumbrado público de esta población. Recientemente se han producido grandes avances sobre el diseño y la microbiología de este proceso, utilizándose de forma habitual en las estaciones depuradoras de aguas residuales urbanas.

Los estadios metabólicos implicados en la producción de metano a partir de la digestión anaerobia de las aguas residuales son los siguientes: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis [Kosaric, N. y Blaszczyk, R., *Advances Biochem. Engr. Biotechnol.*, **42**: 27, (1990)].

Las ventajas del tratamiento anaerobio son las siguientes:

- No se requiere aireación.

- No es necesario suplementar con nutrientes para mantener una adecuada relación materia orgánica-nitrógeno-fósforo.

- Elimina del 80-90% de los lodos excedentes de otros procesos biológicos.

- Reducción de malos olores por realizarse en digestores cerrados.

- Destruye gran parte de los microorganismos patógenos.

- El residuo sólido contiene 25% de nitrógeno proteico (bacteriano), 3% de nitrógeno en forma de amonio, 9% de lípidos, 6% de fosfato en forma de P_2O_5 y 1,4% de potasio como K_2O . Por tanto se le puede considerar como un buen acondicionador de suelos y fertilizante.

- Entre 10-15 Kg de materia orgánica podrían producir alrededor de 3 m³ de biogás conteniendo un 40-80% (p/v) de metano con un valor calorífico de 13.720-27.440 KJm⁻³. Esta energía sería suficiente para cubrir las necesidades energéticas diarias de una familia equivalentes a 7,5 horas de cocina de gas [Nyns, E-J., *Enzyme Microb. Technol.*, **12**: 151, (1990)].

La aplicación de la termofilia (55°C) al tratamiento de las aguas residuales ha recibido un creciente interés en los últimos años, aplicándose a las aguas residuales agrícolas y urbanas, permitiendo una eliminación de microorganismos patógenos más eficiente que en digestores mesófilos, además de una reducción de los tiempos de retención, debido a que las reacciones bioquímicas se realizan a mayor velocidad a altas temperaturas. La desventaja principal del proceso termófilo es la aplicación de una elevada energía para el mantenimiento de estas elevadas temperaturas, con el consiguiente elevado coste de mantenimiento. Otra desventaja la constituye la existencia en los procesos termófilos de una gran inestabilidad a cambios bruscos de temperatura. El tratamiento termófilo puede ser aplicado en

el tratamiento de aguas residuales de industrias cafeteras, destilerías de alcohol e industrias azucareras [Lowe et al., *Microbiol. Rev.*, **57**: 451, (1993)].

En los últimos años se está investigando la utilización de la digestión anaerobia junto con la creación de los denominados parques hidropónicos mediante la técnica de la película cargada de nutrientes (NFT: Nutrient Film Technique), que reciben y clarifican el agua que sale del tratamiento anaerobio, que en este caso es utilizado como primario, posibilitando un elevado rendimiento en el crecimiento de las plantas y con una producción de biomasa 10 veces superior a la natural. Sólo se requerirían unas pocas hectáreas de tierra para una población de 10.000 habitantes con un valor energético en biomasa de 30.000 a 50.000 dólares anuales [Jewell W.J., *American Scientist*, **82**: 366, (1994)].

Otra posible aplicación biotecnológica de las bacterias metanogénicas es la utilización de estas bacterias para el tratamiento de sustancias tóxicas o compuestos recalcitrantes denominados xenobióticos, bien por su degradación o mediante la modificación de su estructura transformándolos en compuestos no tóxicos. Este grupo incluye a metanobacterias que degradan compuestos halogenados como el pentacloroetileno, que es transformado a tricloroetileno por *Methanosarcina mazei* S6 y *Methanosarcina* DCM por dechloración reductiva, y esta última cepa de *Methanosarcina* es capaz también de reducir el tetracloroetano a tricloroetano. También el pentaclorofenol es degradado a H_2+CO_2 y acetato por *Methanobacterium ivanovii*, *Methanobacterium formicicum* T1N y *Methanosarcina barkeri* [Lowe et al., *Microbiol. Rev.*, **57**: 451, (1993)].

J.M. Sánchez García (Becario de Investigación).

BIOLOGÍA VEGETAL

SISTEMAS DE AUTOINCOMPATIBILIDAD REPRODUCTORA EN PLANTAS CON FLORES (I)

Los sistemas de autoincompatibilidad en la interacción polen-pistilos de plantas con flores, es uno de los mecanismos que se han desarrollado evolutivamente para impedir la endogamia y favorecer los cruzamientos entre gametos de dis-

tinta dotación genética. Esto contribuye a la generación de una mayor variabilidad y por tanto de posibilidades de adaptación que asegure la supervivencia de la especie. Los sistemas de auto-incompatibilidad se pueden definir como "la inca-

pacidad de una planta hermafrodita fértil de producir zigotos tras la autopolinización" [de Nettancourt, *Incompatibility in Angiosperms* (1977)].

Se trata de un fenómeno ampliamente distribuido entre las angiospermas, presente en más de la mitad de todas las especies de plantas con flores. Aunque se desconoce si tal sistema ha surgido una sola vez o varias de forma independiente a lo largo de la evolución vegetal, los estudios realizados parecen indicar que se trata de un fenómeno de aparición temprana en la historia de estos vegetales.

La base biológica de este proceso consiste en un control genético, siendo en muchos casos determinado por un locus simple (denominado locus S) con un gran número de alelos [de Nettancourt, *íbd.*]. Aunque existen sistemas más complejos determinados por varios loci. Si bien existen diversos tipos de sistemas de autoincompatibilidad, algunos de ellos aún no bien definidos, los casos estudiados en mayor detalle hasta la fecha son el Sistema de Autoincompatibilidad Gametofítica (SI gametofítico) en miembros de la familia Solanaceae y el Sistema de Autoincompatibilidad Esporofítica (SI esporofítica) en la familia de las crucíferas (Brassicaceae). La diferencia entre ambos radica en que mientras que en el primero el fenotipo SI del polen es determinado por su propio genotipo S haploide, en el segundo las características de autoincompatibilidad del polen viene determinada por el genotipo S diploide de la planta productora del mismo. En consecuencia un grano de polen con genotipo haploide S_2 producido por una planta con genotipo S_1S_2 será compatible con el pistilo de una planta con genotipo S_1S_3 en el sistema gametofítico, pero no en el esporofítico. Cada uno de los números representa un alelo diferente del locus S.

En angiospermas la fecundación se inicia con la llegada del polen al pistilo, depositándose sobre la superficie de la estructura receptora, denominada estigma. Una vez allí se producen una serie de sucesos que conllevan la hidratación del grano de polen y su germinación, desembocando en la formación y crecimiento del tubo polínico que atraviesa el estigma y progresa en el estilo a través de filas longitudinales de células hasta alcanzar el ovario. En la mayor parte de los SI gametofíticos el grano de polen incompatible germina normalmente sobre el estigma, el tubo polínico se desarrolla hasta que en algún punto del estilo su crecimiento es inhibido y termina muriendo. En cambio, en el sistema esporofítico el fenómeno de incompatibilidad es más drástico quedando detenido el proceso sobre la superficie del estigma.

Todo esto nos lleva a pensar que el problema de la autoincompatibilidad se basa en un proceso de reconocimiento y respuesta entre la estructura masculina (grano de polen) y femenina (pistilo) que intervienen en el apareamiento.

En la actualidad se está empezando a conocer los factores y mecanismos moleculares implicados en estos procesos que determinan la posibilidad de cruzamiento en plantas con flores. Al igual que en otros muchos aspectos de la

Biología Vegetal la aplicación combinada de técnicas Bioquímicas, Citológicas, Genéticas y de Biología Molecular son especialmente fructíferas. Como es de suponer, los estudios en ambos tipos de SI se han centrado en dilucidar la naturaleza y función de los productos codificados por el locus S.

En el SI gametofítico se inició con la observación de que extractos de pistilos contenían ciertas glicoproteínas, las cuales se asociaban a un genotipo S concreto. La purificación y secuenciación parcial de una de ellas a partir de extractos de *Nicotiana glauca* [Anderson et al., *Nature* **321**, 38 (1986)] permitió el diseño de sondas de ácidos nucleicos, con las cuales se aislaron cDNAs que codificaban distintas especies de la glicoproteína de *N. glauca*, así como de otras solanáceas. La comparación de todas las estructuras primarias deducidas reveló que a pesar de la gran variabilidad que mostraban existían unas pequeñas regiones, incluyendo dos residuos de histidina y ocho de cisteína, idénticos en todas ellas.

Los análisis conjuntos empleando la hibridación de DNA genómico, estudios de polimorfismo en los patrones de restricción (RFLP) y experimentos de cruce convencionales han permitido determinar que cada uno de los cDNAs clonados corresponden a un alelo diferente del locus S [Anderson et al., *Plant Cell*, **1**, 483 (1989)]. Es por ello, por lo que actualmente se habla de glicoproteínas-S.

Un grupo interesado en las ribonucleasas de hongos [Kawata et al., *Eur. J. Biochem.*, **198**, 1 (1990)] señaló que la glicoproteína-S₂ compartía dos cortas regiones de homología con la secuencia correspondiente a la RNasa

fúngica. Esta similitud no pasó inadvertida para los investigadores interesados en los sistemas SI, especialmente cuando se comprobó que dichas regiones se correspondían con las secuencias que rodean los dominios catalíticos de la ribonucleasa e incluía los residuos de histidina conservados que son esenciales para la actividad enzimática, así como cinco de los ocho residuos de cisteína conservados. Este hallazgo fue extendido a otras glicoproteínas-S de *N. glauca* y estudios bioquímicos confirmaron dicha actividad RNasa [McClure et al., *Nature*, **342**, 955 (1989)].

Análisis inmunocitoquímicos y de hibridación "in situ" han demostrado que los productos del locus S se acumulan principalmente en la superficie del estigma y en la matriz extracelular de las líneas de células que constituyen la parte interna del estilo. De esta forma, el tubo polínico en su avance hacia el ovario no puede evitar entrar en contacto con las glicoproteínas-S con actividad RNasa. Diversos estudios realizados apoyan fuertemente la idea de que las glicoproteínas-S actuarían degradando el RNA del tubo polínico incompatible [McClure et al., *Nature*, **347**, 757 (1990)], el cual no podría responder a este ataque dado que los genes para los rRNA no son transcritos en el polen [Mascarenhas, *Plant Cell*, **5**, 1303 (1993)], causando así la muerte del mismo. Sin embargo, se desconocen los procesos que conducen a que la degradación ocurra sólo en tubos polínicos con fenotipos incompatibles y no en los compatibles.

F. R. Cantón (Becario de Investigación)

BIOLOGÍA ANIMAL

FIBROSIS QUÍSTICA Y CÓLERA. LAS VENTAJAS DE UNA MUTACIÓN LETAL

En el número 2 de *Encuentros en la Biología* (noviembre, 1992), comentábamos las investigaciones genéticas sobre la fibrosis quística, la enfermedad hereditaria fatal más común en poblaciones blancas de entre las autosómicas y recesivas. Uno de cada 2.500 nacidos sufre la enfermedad, que se manifiesta por mucosidades espesas, obstrucción intestinal y pancreática, y problemas respiratorios que suelen acortar mucho la esperanza de vida.

En aquel artículo se describía la lar-

ga marcha hasta la identificación del gen implicado en la fibrosis quística. Se trataba de un gen codificante para un canal iónico transmembranario, responsable del transporte extracelular de cloro (el canal CFTR, por Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator). La mayor parte de los enfermos de fibrosis quística presentan una delección de tres bases que origina la pérdida de un aminoácido y el mal funcionamiento del canal del cloro. Como consecuencia, las secreciones epiteliales están poco