

# Ambio ciencias

REVISTA DE DIVULGACIÓN



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES. UNIVERSIDAD DE LEÓN

**REVISTA nº 7 /  
Abril 2011**



★ 1968 ★



★ 2011 ★



## Consejo de Redacción

---

### Director:

José Luis Acebes Arranz      Profesor Titular del Área de Fisiología Vegetal

### Secretario:

Francisco Javier Rúa Aller      Profesor Titular del Área de Bioquímica y Biología Molecular

### Miembros:

Ana Alonso Simón      Profesora Asociada del Área de Fisiología Vegetal

María Luz Centeno Martín      Vice-Decana de la Facultad de CC. Biológicas y Ambientales

Antonio Encina García      Profesor Contratado Doctor del Área de Fisiología Vegetal

Delia Fernández González      Profesora Titular del Área de Botánica

Penélope García Angulo      Profesora Ayudante Doctor del Área de Fisiología Vegetal

Sara González Cabellos      Alumna de 5º de Biotecnología

Estanislao Luis Calabuig      Catedrático de Universidad del Área de Ecología

Juan Antonio Régil Cueto      Profesor Titular del Área de Zoología

---

**Edita:** Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales de la Universidad de León  
y Área de Publicaciones de la Universidad de León.

**Maquetación:** Ana Alonso Simón.

© **Universidad de León**

© **Los autores**

**ISSN:** 1988-3021

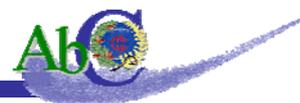
**Dep. Legal:** LE-903-07



Universidad de León



Facultad de Ciencias  
Biológicas y Ambientales



**En portada:**

Un olmo seco muestra las cicatrices de la grafiosis, con el edificio Darwin de testigo al fondo a la derecha. Ver artículo de Rubén Moreno, Mónica Mozo e Isabel Ruiz (p. 17). Foto: Ana Alonso.

## ÍNDICE

### Editorial

#### El cambio de paradigmas acerca de los bosques

Froilán Sevilla .....2

### A fondo

#### Toda una vida

Pedro Calvo Fernández.....9

### Poniendo en claro

#### Olmos resistentes a la grafiosis

Rubén Moreno Gutiérrez, Mónica Mozo Ayuso, Isabel Ruiz Movilla.....17

### Siguiendo la pista

#### *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle (Simarubaceae) como potencial invasora

Álvaro Bayón Medrano y Félix Llamas García .....27

### Baúl de la ciencia

#### El arsénico: ese conocido tan desconocido

Luis Mariano Mateos Delgado.....40

### Uno de los nuestros

#### Melvin Calvin (1911-1997): un Premio Nobel de Química que revolucionó la Fisiología Vegetal

Roberto Blanco Aller, Juan Antonio Régil Cueto y José Luis Acebes Arranz.....56

### Mi proyecto de tesis

#### Eliminación microbiana de histamina

José Luis Gómez Botrán .....63

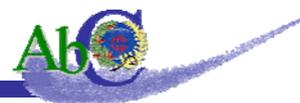
### Ambiólogos de aquí

#### Breve reseña sobre mi trayectoria profesional

Ignacio Rodríguez Muñoz.....68

### De todo un poco

Noticias de actualidad.....70



## EDITORIAL

*La Asamblea General de las Naciones Unidas ha declarado 2011 como Año Internacional de los Bosques. Con este motivo Froilán Sevilla, ingeniero de montes, jefe de la Sección Primera de la delegación de Medio Ambiente de la Junta de Castilla y León en León, aporta en este editorial su visión sobre la gestión de los bosques.*

### **El cambio de paradigmas acerca de los bosques**

Vivimos en un mundo cambiante. La variación es la norma en nuestro universo, desde las poblaciones de topillos hasta las galaxias. Cada sistema tiene sus propios patrones de cambio, que se percibe a unas escalas espaciales y temporales mejor que a otras. Los bosques, por supuesto, no son una excepción; y los esquemas mentales de los hombres respecto a ellos, tampoco. Lo que quizá pueda sorprender es la velocidad del cambio en los ecosistemas forestales. La aparente quietud y permanencia de los árboles, a ojos de los humanos, ha favorecido el desarrollo de ideas estáticas; la clímax, el desarrollo de la Directiva Hábitats, o el uso que se ha efectuado de conceptos como la capacidad de carga o la posibilidad de corta, son muestras de la tendencia de los hombres a contraponer su frenético ritmo de vida con el aparentemente pausado de los montes y bosques. Y, sin embargo, hoy día ya tenemos información y conocimientos, aportados desde todas las partes del globo y desde diferentes disciplinas, como para admitir que el cambio en los bosques no solo es a largo plazo, por ejemplo como consecuencia de lentas y progresivas transformaciones del clima, sino también a escala humana, de décadas, como el radical cambio ecológico que ha generado el fin del sistema agrario tradicional.

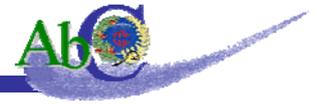
El efecto del hombre es tan decisivo en los bosques que sin él no se entienden sus variaciones ni en tiempo ni en espacio: la comparación de los montes del sistema agrario tradicional con los actuales, o el abismo que separa las dinámicas actuales entre los países más desarrollados y los más pobres, son claros ejemplos. Estudiar los bosques sin los efectos humanos es, en la inmensa mayoría del planeta, un ejercicio teórico fatuo. Desde que el hombre domina el fuego, y lo hace desde hace centenares de miles de años, quizá más de un millón, hace falta una densidad muy baja de población para cambiar radicalmente un ecosistema (y su dinámica); los datos paleoecológicos australianos, con la transformación del continente en su conjunto a la llegada de los humanos hace 50.000 años, o la destrucción en décadas recientes de los bosques templados de Sudamérica por unos pocos colonos ganaderos, son elocuentes ejemplos. Desde luego, en Europa y en España en particular, la acción humana ha sido contundente desde hace unos pocos miles de años; aunque este hecho ya está

plenamente admitido, no lo es tanto que esa acción se produjo sobre unos ecosistemas cuya composición, estructura y dinamismo ya estaba muy influida por los humanos prehistóricos, organizados en complejas sociedades, e incluso previamente, cuando eran tribus de cazadores-recolectores.



Los bosques actuales son producto de una larga interacción con el hombre. Muchos bosques se han desarrollado sobre terrenos que durante el sistema agrario tradicional fueron cultivos o pastizales. En esta imagen se presenta un caso obvio de origen a partir de unas condiciones profundamente modificadas por el hombre: cuando los árboles pierden la hoja, bajo su dosel se muestra el origen del bosque; los bancales fueron colonizados por árboles de tres generaciones que han completado una cubierta de forma espontánea. Pero, sin tanta obviedad, la determinante influencia humana es la norma en los bosques de todo el planeta, incluidas regiones remotas donde la principal modificación ha llegado por la vía de cambiar el régimen natural de incendios

El mundo científico cada vez es más consciente de la importancia de entender los procesos, dirigidos o no por el hombre, como el elemento clave en la comprensión ecológica y, lógicamente, como la base para el diseño de la relación entre hombres y ecosistemas, minimizando los efectos negativos del inevitable ensayo y error. Sin embargo, a pesar de que esa idea está ya bien asentada, tanto la normativa de conservación y gestión de ecosistemas, como muchas ideas al respecto, parecen ancladas en el pasado del conocimiento, es

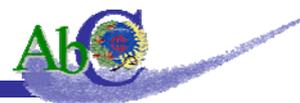


decir, no dan suficiente importancia a las causas y los mecanismos de las dinámicas ecológicas.

Las sociedades humanas siempre han sido sistemas muy dinámicos. Su velocidad de transformación parece seguir un patrón exponencial: a medida que se acumulan conocimientos, cada cambio subsiguiente se produce más rápidamente; las modernas facilidades para intercambio global de información están acelerando de una forma desconocida esos cambios. Hoy día es muy sencillo para cualquier científico de un perdido rincón del planeta estar al día de las novedades en su campo de investigación. En otro orden de cosas, lo que ocurre estos días en varios países sometidos a regímenes dictatoriales en el norte de África y Oriente Medio es un ejemplo más de las imprevisibles consecuencias del flujo global de información. Las transformaciones en las mentalidades de los hombres siempre se han dado, fruto de los avances tecnológicos y de las propias dinámicas en las que se ven inmersas las sociedades. Y si los humanos cambian su mente, lo hacen inevitablemente los ecosistemas del planeta Tierra: 7.000 millones de personas, con la elevada capacidad tecnológica actual, que aspiran a vivir lo mejor posible, y que en general tienen como referencia patrones culturales consumistas, generan un impacto a nivel planetario que no tiene parangón conocido en ninguna otra especie de la historia ecológica. El cambio socioeconómico y tecnológico debería llevar a una profunda transformación en la manera en que el hombre interactúa con los bosques. Veamos algunos ejemplos.

Las primitivas ideas acerca de la sucesión conllevaban una valoración positiva de las tendencias sucesionales espontáneas cuando no intervenían ni el hombre ni eventos como incendios o derribos masivos; hasta el punto de que, supuestamente, estas tendencias desembocaban en una “clímax” u “óptimo ecológico”. Hoy día ya se tiene claro que el valor que se asigna a un ecosistema depende completamente de su entorno, y no es un dato intrínseco. Por ejemplo, la función ecológica de una pequeña zona de matorral es muy distinta en medio de un bosque que si esa misma área está rodeada de otras semejantes. La escasez o singularidad se admiten como valores ecológicos cruciales, y esto, evidentemente, es tanto como decir que el contexto es muy importante. En este sentido, la diversidad, y sus posibles medidas, es contingente al área e intervalo temporal seleccionados. La Directiva Hábitats y su desarrollo a través de los Lugares de Importancia Comunitaria, a pesar de una concepción en exceso estática, han servido para que se reconozca el valor de formaciones sucesionalmente poco avanzadas.

Los profesionales forestales poseen su propia versión de los prejuicios sobre la madurez, y hasta cierto punto, de la “naturaleza intocada”: de forma semejante a la sucesión para los ecólogos, para los forestales la acumulación de



existencias, es decir, de madera, es un proceso espontáneo y deseable, hasta el punto de que con frecuencia se ha medido la bondad de la gestión en función de si existe más o menos madera acumulada. Esto podría tener sentido durante el sistema agrario tradicional, con una presión excesiva sobre los montes por parte de una numerosa población local que no tenía otra manera de subsistir que explotando, muchas veces más allá de los límites razonables, los recursos que tenía disponibles. Pero, hoy en día, en España y otros países desarrollados, la situación es la contraria: la falta de aprovechamiento de los montes, y en general de gestión, los hace proclives a eventos extremos, que denominamos catástrofes, y también conlleva la pérdida de hábitats y de recursos renovables por excesiva densificación arbórea o matorralización. Aunque la situación de montes y bosques ha cambiado radicalmente en las últimas décadas, y lo sigue haciendo con vertiginosa rapidez, la necesaria adaptación de los esquemas mentales está siendo demasiado lenta, y no se han desechado todavía las ideas desarrolladas en el contexto de sobreexplotación de los bosques. Curiosamente, mientras que el aprovechamiento sostenible supondría un gran avance en sectores como el pesquero (y, claro, sería imposible con los combustibles fósiles), en el mundo forestal ha llegado el momento de avanzar más: no quedarse en una mera regla de explotar por debajo de un límite, sino usar los aprovechamientos para configurar los ecosistemas que deseamos en el futuro.

La prognosis o conocimiento anticipado de lo que va a suceder es el objetivo final de la ciencia. Sin embargo, en ecología forestal, seguramente motivado por su complejidad inherente, éste no parece haber sido el principio rector: predominan los trabajos descriptivos y la prognosis se basa con frecuencia en supuestos irreales como que el hombre no va a actuar, o altamente hipotéticos, como las tendencias climáticas a medio y largo plazo. Es necesario desarrollar una ecología más práctica que prediga la evolución de los ecosistemas partiendo de su situación actual y con los factores actuantes previsibles o que se diseñen para un territorio, desde una perspectiva realista y no especulando cómo serían los montes sin la intervención de los humanos.

Muchos de los problemas del modelo de desarrollo actual son bien conocidos, y se pueden resumir en que a medio plazo es insostenible el creciente uso de los recursos que estamos realizando, y que no deberíamos experimentar con la profunda modificación del planeta y sus dinámicas. Como contraste con la situación global de sobreexplotación de recursos y de destrucción de los bosques, llama la atención la recuperación forestal en los países desarrollados. En concreto, en España, la extensión de los bosques y la acumulación de madera alcanzan cifras sorprendentes, de acuerdo con el Inventario Forestal Nacional; la comparación de la situación actual con la que reflejan las fotografías del



“vuelo americano” de 1956-7 deja pocas dudas sobre lo acertado de las tendencias que reflejan esas cifras.

En un contexto de pérdida de hábitats por excesiva densificación, de acumulación de combustibles que convierte el monte en frágil frente a incendios, de falta de materias primas, de excesiva contaminación y de crisis energética, no se entiende cómo es posible que la explotación forestal se mantenga en unos niveles tan bajos en los bosques espontáneos españoles. No obstante, la explicación es clara: se ha generado una situación en la que una parte de la sociedad civil presiona para que los bosques se mantengan “intactos”, y para la administración es más cómoda la inactividad que le evita problemas de diverso tipo, judiciales y mediáticos incluidos. A veces, con mucha frecuencia en el sur de España, se recurre a pagar con dinero público acciones que se podrían realizar sin esa carga e incluso con un beneficio para las arcas de las entidades propietarias de los montes: los sistemas de aprovechamiento comerciales tienen muy mala prensa, aunque sean casi idénticos en términos ecológicos a lo que se paga como tratamientos selvícolas. Todo esto no es sino un fraude para la sociedad en su conjunto, a la que se envían mensajes contradictorios de preservación de la biodiversidad, desarrollo sostenible, responsabilidad ambiental, solidaridad interterritorial y uso de materias renovables.

Aunque no sea algo evidente, debemos darnos cuenta de que nos encontramos inmersos en una fase de cambio en los bosques españoles sin parangón en los últimos siglos, milenios quizá. Lo que ahora vemos, y a veces pretendemos incluso fijar como una estampa, ni ha existido en el pasado ni existirá dentro de unas décadas. La transformación desde el fin del sistema agrario tradicional es tan rápida que cualquier estudio ecológico de largo alcance debería tener muy presente este hecho en sus postulados: no solo cambia la estructura forestal, sino también su dinámica e incluso algunas de las relaciones entre los seres vivos; por ejemplo, la predación no es independiente de la estructura, o cada vez que cambia la composición específica varían algunas de las interacciones entre los organismos.

Muchas de las estructuras actuales de los montes no satisfacen adecuadamente la demanda de bienes y servicios, que incluye funciones tan variadas como la fijación de carbono, producción de materias primas renovables, regulación hídrica, prevención de la erosión, protección frente a avalanchas, servir de hábitat para gran variedad de organismos, mejorar el paisaje, constituir el soporte de actividades recreativas o servir como referente cultural. En el contexto actual, con unos ecosistemas de tránsito cuyas características responden al abandono de los montes tras su intensa explotación, es muy importante dirigir los procesos cuando se entienda que

éstos no van a llevar la dirección adecuada; por ejemplo, si se corre el riesgo de entrar en un ciclo de incendios-fomento de matorral pirófito-más incendios-erosión. El diseño e implementación de eventos renovadores de los ecosistemas (lo que se denomina habitualmente “perturbaciones”), sobre todo a través de cortas y pastoreo, aplicados con un adecuado diseño y ejecución, y con la suficiente extensión, deberían convertirse en la herramienta para dirigir los cambios y lograr los más variados objetivos ecológicos: prevención de eventos “catastróficos”, copas amplias en los árboles (mayor producción de frutos), mantenimiento de claros en los bosques, generación o mejora del vigor de pies con características especiales (por ejemplo, árboles chaparros, o con huecos, ramas o porte que sirvan como hábitat singular), persistencia de ciertas especies (tanto plantas como animales u hongos), en general aumento de la diversidad, etc.

El uso de los eventos renovadores en la gestión de los montes debería admitirse con normalidad y analizar sus efectos en función de sus características precisas: tipo, intensidad, extensión, frecuencia, etc. Sin embargo, apenas se ha profundizado en esta cuestión, y además existen prejuicios dependiendo del tipo de evento: la ganadería extensiva es “buena” y las cortas “malas”, cuando en ambos casos todo depende de cómo se apliquen. A la sociedad urbana se ha transmitido el mensaje de “cortas = destrucción de los bosques”. La imagen de una motosierra cortando un gran árbol es mucho más impactante que una vaca ramoneando los jóvenes brinzales. Y, sin embargo, el fin de los bosques llega siempre porque se impiden sus mecanismos de regeneración, por reiterados incendios, pastoreo o cultivo agrícola, y no por cortas mal ejecutadas, cuyo efecto puede ser “empeorar” el bosque pero no destruirlo.

No obstante lo expuesto, la prevención frente a las cortas comerciales como instrumento de mejora ecológica tiene una base cierta: en el pasado, en España, como ocurre ahora en los países menos desarrollados, los aprovechamientos forestales eran más bien un expolio de los bosques, cortando lo que interesaba sin una planificación ni una perspectiva a largo plazo. Pero hoy día existen los medios para realizar una gestión forestal racional, organizada y capaz de alcanzar los objetivos que fije la sociedad, minimizando los aspectos negativos. Desde luego no tiene sentido estigmatizar un instrumento por el hecho de que en el pasado se haya usado con otros fines y en otro contexto socioeconómico y ecológico. La crisis energética actual, con unos precios elevados del petróleo y el gas con una tendencia alcista difícil de revertir, deben verse como una oportunidad para implantar la gestión forestal en muchos bosques espontáneos. Los propietarios de esos bosques deben verlos como una fuente de riqueza y no como una carga que solo les conlleva limitaciones; son ubicuos los ejemplos de cómo los bosques se extienden cuando

las sociedades rurales los aprecian. No podemos permitirnos mandar a la sociedad rural el mensaje de que es mejor tener plantaciones de árboles exóticos o unos montes quemados y con un aprovechamiento ganadero mínimo. Y, desde luego, la comparación de la madera como materia prima frente a competidores como el acero, el hormigón o el petróleo, deja pocas dudas de que los gobiernos deberían potenciarla, sobre todo cuando tanto se insiste en la necesidad de reducir la contaminación y en el cambio de modelo económico: aquí tenemos un ejemplo de un potencial de desarrollo endógeno que apenas ha sido explorado a pesar de que podría cumplir, como pocos, el requisito de la sostenibilidad.

A modo de conclusión, debemos cambiar la mentalidad de la sociedad respecto a los bosques, pero para ello técnicos y científicos tenemos que proporcionar bases para su comprensión más realistas, lo que implica potenciar el conocimiento sobre su dinámica y, como aspecto concreto, sobre los efectos de la acción humana.

Podemos aprovechar que la Asamblea General de las Naciones Unidas haya declarado al 2011 como Año Internacional de los Bosques, pero en realidad no necesitamos ninguna disculpa para intentar que, como indica la ONU, los bosques contribuyan al desarrollo sostenible global. De forma semejante, no deberíamos necesitar los anuncios catastrofistas acerca del cambio climático para tener una interacción menos agresiva con el planeta que nos acoge. Independientemente del resultado de nuestras ubicuas acciones, no deberíamos influir de forma tan drástica en los flujos globales. Es imposible predecir la evolución en un escenario de cambios importantes a nivel planetario, porque sin precedentes ni posibles réplicas los modelos contienen forzosamente enormes incertidumbres. El único camino lógico es intentar minimizar el impacto global de la humanidad, con una visión sintética que desgraciadamente no está muy extendida. En este marco, la gestión que se haga de árboles y bosques debe aportar su grano de arena en conseguir un planeta habitable a largo plazo.



Froilán Sevilla

## A FONDO

### Toda una vida

Pedro Calvo Fernández

Profesor Emérito Específico (Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular)  
Universidad de León.

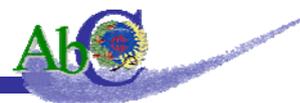
Nací en Madrid en 1949, una época en la que empezaban a superarse los traumas económicos de nuestra postguerra, pero que estaba aún llena de carencias. Fueron tiempos duros, pero los salvé con entusiasmo, dado mi temperamento optimista y apasionado. Uno de los primeros recuerdos de mi vida es el aroma a pan recién horneado, mezclado con el olor a cuero de la cartera de mi padre, donde lo transportaba cada día a casa desde el patronato. No era fácil entonces conseguir pan *blanco* recién hecho...

Crecí, jugué y viví mucho en la calle, como todos los niños de mi época, supliendo con imaginación y entusiasmo la falta de juguetes y de regalos. La vida se me ofrecía excitante y seductora, enmarcada en una inmensa libertad aparente, a pesar de la represión política imperante, que yo no era capaz de detectar a mi edad...

Recuerdo ahora aquella extraña inscripción, pegada en el canto de uno de los estantes del mueble escritorio de nuestra casa de Madrid: *El porvenir es de los que estudian*. Yo era demasiado niño al principio para entenderla, cuando todo mi porvenir estaba aún por venir... Ahora que casi todo ha llegado y me ha sucedido, comprendo la influencia que esa frase tuvo sobre mí. Mi padre, tan filósofo siempre, había colocado dicho texto. Él fue un hombre hecho a sí mismo, que supo ascender a altos niveles de formación y de posición profesional, con las únicas ayudas de su férrea fuerza de voluntad, su espíritu espartano de sacrificio y su visión de futuro de que el progreso y el bienestar son una consecuencia natural del esfuerzo en el estudio. Estos valores me los inculcó eficazmente en mi mente de niño responsable y ambicioso de nuevos horizontes.

Mis hermanos iban sacando adelante con brillantez sus estudios superiores, así que el contexto familiar en el que crecí me empujaba a emularles y a superarme continuamente en el colegio.

Me incorporé al Colegio María Auxiliadora (Salesianos) de Salamanca, a mis tiernos diecisiete años. Cursé sexto de Bachillerato y Preuniversitario con eficacia y brillantez. Debido a mi formación humanística, dudé si dedicarme a las letras o a las ciencias. A mí me encantaban las letras, pero observé que los mejores expedientes de los cursos siempre se dirigían a ciencias. Yo fui siempre un buen estudiante, y por ello elegí el camino de ciencias, más complicado y de

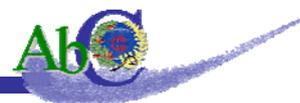


mayor exigencia académica. Desde la escuela primaria jamás me suspendieron nunca en ningún examen, parcial o final, habiéndome siempre presentado y superado todas mis asignaturas desde la escuela en la primera convocatoria disponible. Inicialmente yo quería estudiar Farmacia, por el simple motivo de que no se encontraba esa licenciatura en Salamanca, y a mí me apetecía mucho salir de la tutela familiar, iniciando nuevos vuelos vitales en Madrid. Pero pronto mi destino profesional se vio alterado por el amor. Conocí a mi primera novia oficial en Salamanca, y el plan de mi vida ya pasó a ser estudiar una licenciatura que se cursase en mi ciudad. Así me decidí por Ciencias Biológicas, que era la que más me gustaba de las ofertas disponibles. Por supuesto, elegiría después la especialidad *Fundamental*, ya que a mí me atrajo siempre la faceta molecular y no la ambiental.

### **Estudios de Biología**

La Licenciatura de Biología la fui cursando con solvencia. Mi esfuerzo sistemático en el estudio hizo que mis calificaciones fuesen excelentes desde el colegio hasta el final de mis estudios universitarios. En mis primeros años de universidad solamente aspiraba a acabar pronto la carrera para obtener con rapidez un empleo que me permitiese casarme y mantener a mi nuevo hogar con dignidad. Pero mi expediente académico era brillante y no pasó desapercibido para los profesores. Y así es como entró don José en mi vida. El catedrático Dr. José Antonio Cabezas había sido mi excelente y exigente profesor de bioquímica, y un día de 1973 me llamó a su despacho para invitarme a formar parte de su grupo de investigación del Departamento de Bioquímica que dirigía, empezando con la tesina de licenciatura... Aquello fue para mí todo un honor, porque su departamento era uno de los más productivos y prestigiosos de la Universidad de Salamanca, y porque se abría ante mí todo un porvenir prometedor bajo su hábil y eficaz patrocinio profesional. Nunca podré agradecerle suficientemente todo lo que hizo por mí, hasta el punto de cambiar el rumbo de mi vida... Me enseñó el difícil arte creativo de la investigación científica, con rigor, calidad, exigencia y excelencia. Despertó en mí el instinto de ambición académica, induciéndome a exigirme a mí mismo, día a día, el máximo rendimiento del que fuese capaz. Fue para mí ese maestro que uno necesita para aspirar y alcanzar las cotas más altas, con el estímulo de verse reflejado en su trayectoria ejemplar, plagada de éxitos hasta fuera de nuestras fronteras.

Mi tesina y mi tesis doctoral la realicé bajo su dirección, con la tutela más directa del profesor Ángel Reglero, a quien el destino me unió por azar durante 37 años, habiendo estado ambos juntos en los mismos departamentos de varias universidades. Los trabajos versaron sobre estudios cinéticos con diferentes



glicosidasas. Descubrimos y tipificamos cinéticas múltiples y mixtas en este tipo de enzimas. Unido esto a otros trabajos dirigidos más adelante por mí, nos valió para que la *International Union of Biochemistry (IUB)* eligiese e incluyese cuatro de nuestras publicaciones<sup>1</sup> como referencias-tipo de tres enzimas ( $\beta$ -N-acetilhexosaminidasa, sialidasa y  $\beta$ -D-fucosidasa). Fue fundamental en esto mi estancia de dos meses (abril-mayo de 1977) en el Department of Biochemistry, Queen Elizabeth College, University of London, becado por The British Council, bajo la dirección de los profesores Donald Robinson y John L. Stirling, para el aprendizaje de las cinéticas de enzimas que poseen dos centros activos. Durante todo el desarrollo de mi tesis doctoral disfruté de una beca del Ministerio de Educación y Ciencia, siendo además Profesor Ayudante de Clases Prácticas en dicho departamento, a partir del segundo año.

En agosto de 1975 contraí matrimonio con Sagrario, teniendo un minúsculo salario de 17.500 Ptas. al mes. Estuve también becado un mes (septiembre de 1976), investigando en el Laboratoire de Chimie Biologique, Université des Sciences et Technologies de Lille (Francia), dirigido por el eminente profesor Jean Montreuil, para aprender técnicas de estudio de glicoconjugados.

### **Investigación en Estados Unidos**

Una vez leída mi tesis doctoral (julio de 1977), contactó el profesor Cabezas con el ilustre y galardonado profesor Severo Ochoa, para que tutelase mi estancia postdoctoral de investigación en los Estados Unidos. Éste me recomendó ante el profesor Marino Martínez-Carrión, para que me admitiese en su laboratorio de investigación en el Department of Biochemistry, Medical College of Virginia, Virginia Commonwealth University, Richmond, Virginia, U.S.A., del que era director. Así, me desplazé con mi mujer y mi hija (de un año) a dicho departamento americano, donde permanecí investigando desde septiembre de 1977 a octubre de 1978. Fui el primero de los españoles que hicimos el *postdoc* con Martínez-Carrión. Tuve para ello una beca postdoctoral en el extranjero, del Ministerio de Educación y Ciencia. Durante este tiempo desempeñé también el cargo de *Research Fellow*. Fueron tiempos duros económicamente. Recuerdo que me resultaba difícil llegar a fin de mes sacando adelante a una familia de tres miembros. Como curiosidad diré que, aunque yo tenía beca desde octubre, ¡no empecé a cobrarla hasta febrero!, a pesar de mis frecuentes quejas al Ministerio. Efectivamente, sólo pude sobrevivir entonces gracias a los cheques generosos de mi padre...

---

<sup>1</sup> En *Biochem. J., Biochim. Biophys. Acta., Int. J. Biochem. y Comp. Biochem. Physiol.*) en sus *Recomendaciones* publicadas en *Enzyme Nomenclature* (1984), pp. 310-315, Academic Press, New York

En dicho laboratorio aprendí y desarrollé un buen número de técnicas para la caracterización físico-química y cinética de los *binding sites* del receptor nicotínico de acetilcolina, tales como el estudio de los parámetros de *lifetimes* y polarización de la fluorescencia de ligandos suyos, el uso de sondas fotogeneradas y tecnología de resonancia magnética nuclear, etc. Con ello dilucidamos la topología subunitaria de dicho receptor, en fragmentos de membranas nativas y en membranas reconstituidas. Dos de las publicaciones que conseguimos en este trabajo han sido incluidas como referencias en una revisión monográfica sobre el receptor nicotínico de acetilcolina<sup>2</sup>.



**Figura 1.** En el laboratorio de Martínez-Carrión en Richmond, con el espectrofluorímetro de *lifetimes* SLR-Aminco.

Este primer año mío en los Estados Unidos fue especialmente feliz para mí. La experiencia americana me dejó muy impactado a todos los niveles (profesional, personal, familiar, etc.), a pesar de las inquietudes económicas vividas. Fue una tierra prometida para los que entonces teníamos ansias de progreso. En aquella época había una distancia de años-luz (en lo científico, nivel de vida, bienes de consumo, comodidades, recursos...) entre la España recién entrada en la democracia y la América brillante y poderosa. A mí me sedujo enormemente el *american way of life...* Estoy enormemente agradecido al profesor Martínez-Carrión. Y no sólo por haberme aceptado en su laboratorio de excelencia (que figuró en el *top ten* de los que mayor crecimiento científico habían tenido en los U.S.A. en esa época), sino porque me trató desde el primer momento como un verdadero amigo, acudiendo a buscarnos al aeropuerto, acogiéndonos a vivir en su propia casa hasta que conseguimos un apartamento,

---

<sup>2</sup> En *Biochemistry* y en *J. Supramol. Struct.*, citado en el *Annual Review of Biochemistry* (Vol. 51, 491-530). La publicación en *Biochemistry* también ha sido referenciada en una monografía sobre marcaje fotoquímico de membranas, de los *Methods in Enzymology* (Vol. 172, 628-687).

acompañándome a comprar nuestro coche por una serie de *dealers*, llevándome en su propio coche al departamento cada mañana hasta que compramos el nuestro, etc... No olvidaré nunca aquellos detalles innumerables que tuvo conmigo y que tanto me ayudaron a establecerme en un país tan complejo como los Estados Unidos.

### **La vuelta a España**

A mi regreso a España me propuse labrarme un sólido curriculum docente e investigador en el menor tiempo posible: impartí innumerables clases de Bioquímica y de Biología Molecular en varias licenciaturas de la Universidad de Salamanca, como Profesor Adjunto Interino. Asumí encantado la carga investigadora de la dirección de numerosas tesinas y tesis doctorales simultáneas. Recuerdo haber estado dirigiendo entonces hasta unos 6-8 trabajos de investigación diferentes a la vez, en el área de la Enzimología. Participé muy activamente en el desarrollo de bastantes proyectos de investigación del profesor Cabezas. Me preparé muy intensamente las oposiciones a Profesor Adjunto de Bioquímica. ¡Recuerdo cómo estudiaba invariablemente 12 horas diarias, durante meses...! Realmente vivía para la universidad. No existía el tiempo libre para mí, ni vacaciones... Pero todo ello acabó dando sus frutos. En 1979 aprobé la oposición anhelada y desempeñé desde entonces dicho puesto docente en la Universidad de Salamanca.

De nuevo di el salto a América con mi familia (que había crecido con un nuevo hijo) y volví a investigar con Martínez Carrión en su laboratorio de Richmond, Virginia, U.S.A., desde mayo de 1980 a mayo de 1981. Desempeñé el cargo de *Research Associate*. En esta ocasión estudié técnicas de alquilación reductora como herramientas para marcar radioactivamente dominios específicos del receptor nicotínico de acetilcolina, en estudios topográficos sobre membranas *in situ*. Una de las publicaciones obtenidas ha sido también incluida como referencia en una monografía sobre marcaje de proteínas por alquilación reductora<sup>3</sup>.

Volví de nuevo a España. Atrás quedaron mis experiencias americanas, mis coches *vintage* Chevrolet y Pontiac tan bonitos, mis sueños postdoctorales... Me dediqué de nuevo con pasión a prepararme en docencia e investigación lo mejor posible para ser catedrático de universidad. De nuevo llegó la locura de cientos de horas estudiando las oposiciones, dando clases, dirigiendo innumerables trabajos de investigación (en Enzimología)... Por fin, en diciembre de 1983 conseguí por oposición plaza de Profesor Agregado de

---

<sup>3</sup> En *Archs. Biochem. Biophys.*, citada en los *Methods in Enzymology* (Vol. 91, 570-579).

Bioquímica (que se transformaría enseguida en plaza de Catedrático) en la Universidad de León. A esta ciudad me desplacé definitivamente en 1984 con un montón de ilusiones científicas en la mochila. En dicha universidad he permanecido hasta la fecha. Mi docencia se ha desarrollado básicamente en su Facultad de Biología (ahora Ciencias Biológicas y Ambientales). En ella he impartido miles de horas de la asignatura Bioquímica de segundo curso, a miles de estudiantes, durante cerca de 30 años, además de otras asignaturas...

### **El grupo de investigación en León**

A mi llegada a la Universidad de León formé un grupo de investigación dinámico, que llegó a tener un nutrido número de componentes. El primero de ellos fue el profesor Miguel Ángel Chinchetru, al que dirigí la tesina y la tesis doctoral, y que me acompañó desde Salamanca a mi aventura leonesa, por lo que le estoy muy agradecido. Casi toda mi investigación en esta universidad fue en el campo de la Neuroquímica, aprovechando mi aprendizaje en América, y dejando atrás paulatinamente mis estudios enzimológicos iniciales. En esta universidad he dirigido once tesis doctorales y un número muy elevado de tesinas, con los siguientes objetivos de estudio: caracterización cinética de varias glicosidasas, estudios del efecto del alcohol sobre el neuroreceptor de GABA<sub>A</sub> en cinéticas de equilibrio y de no equilibrio, y sobre el receptor D<sub>1</sub> de dopamina, alteraciones de mecanismos de neurotransmisión en las drogadicciones a morfina, cocaína, benzodiacepinas, barbitúricos y etanol, influencia de la melatonina sobre las alteraciones en la función del receptor de serotonina<sub>2A</sub> y sobre la ingestión de alimentos, inducidas por el envejecimiento, identificación de tres subtipos de receptores  $\alpha_1$  adrenérgicos y clonación del subtipo  $\alpha_{1D}$ , análisis de la expresión y del procesamiento de los receptores D<sub>1</sub> de dopamina, análisis molecular de las quinasas de la subfamilia JNK/SAPK, análisis moleculares e inmunodetección de los transportadores de neurotransmisores monoaminérgicos, caracterización del gen de la quinasa JNK/SAPK $\alpha$ , efectos moleculares de la edad y del tratamiento con agentes oxidantes y antioxidantes sobre el receptor de NMDA, entre otros.



**Figura 2.** Con el profesor Severo Ochoa en el Congreso de la Sociedad Española de Bioquímica celebrado en Santiago de Compostela en 1988.

### Toda una vida

He disfrutado inmensamente con mi labor docente. A pesar de los logros científicos que he conseguido en mi activa faceta investigadora, las mayores satisfacciones que he sentido en toda mi vida académica profesional han venido de mi ejercicio didáctico. Siempre he procurado con gran entusiasmo que mis clases fueran especiales, diferentes, divertidas. He disfrutado muchísimo impartíendolas y quería que mis alumnos las disfrutasen también. No hay mejor manera de enseñar que hacer que los alumnos se introduzcan en la aventura del conocimiento. Mi ejercicio docente siempre lo practiqué como un acto de seducción intelectual... Y parece que dio sus frutos. Siempre acepté gustoso acudir con frecuencia a distintos medios de comunicación (periódicos, radio, televisión) cuando solicitaban mi presencia en entrevistas y mesas redondas, porque creo que los científicos tenemos una deuda con la sociedad y debemos ejercer una labor divulgativa de la ciencia. En León he pasado los 27 mejores años de mi vida.

En marzo de 2010 tuve la oportunidad de acogerme a un plan de prejubilación voluntaria incentivada, y no dudé solicitarlo, porque ahora sé que es en la vida personal, amorosa y familiar donde reside la verdadera base de la felicidad. He pasado el testigo académico universitario a las nuevas generaciones de científicos, que vienen con las mismas ilusiones que yo tuve. Tengo mil *hobbies* que desarrollar. Por todo ello, ¡me jubilo con gran júbilo!! - expresando etimológicamente el término- y me voy de mi vida laboral con un cargamento de esperanza y de sueños con el que llenar gozosamente esta nueva etapa de la vida.



**Figura 3.** En su mesa de despacho del Departamento de Bioquímica de la Universidad de León, en una entrevista para la prensa.

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a todos los científicos citados en este artículo, por aceptarme en sus laboratorios y por ofrecerme tantas enseñanzas valiosas. Sin ellos no habría llegado a ser lo que fui. No me quiero olvidar de mis amigos y compañeros del trabajo, con los que he convivido miles de horas intensas y esperanzadas.



El Dr. Pedro Calvo nació en Madrid en 1949. Es actualmente Profesor Emérito Específico en la Universidad de León, al acogerse voluntariamente a un plan de prejubilación incentivada en marzo de 2010. Se doctoró en Bioquímica en la Universidad de Salamanca en 1977. Ha sido Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular desde los 34 años de edad, y Profesor Adjunto (Titular) de Bioquímica desde los 29. Hizo su *postdoc* durante dos años (77-78 y 80-81) con el Prof. Marino Martínez-Carrión en el Dept. Biochemistry, MCV, VCU, Richmond, Virginia. Ha

publicado unos 100 artículos científicos en revistas extranjeras de excelencia en la especialidad. Ha dirigido 13 tesis doctorales y unas 20 tesinas de licenciatura, en las Universidades de Salamanca y de León. Le han sido financiados más 20 proyectos de investigación e infraestructura por diferentes organismos: D.I.G.I.C.Y.T., D.G.E.S.E.C., C.I.C.Y.T., F.I.S., Fondos FEDER, Junta de Castilla y León, Diputación Provincial del León, Iberdrola, etc. Ha impartido un buen número de conferencias y ponencias científicas en España y en el extranjero, como en la Real Academia de Farmacia de Madrid y en el Sanger Hall del Medical Collage of Virginia (Estados Unidos). Fue Presidente del Simposio *Neuropatología Molecular* en el XXV Congreso de la Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular (SEBBM) (2002). En la Universidad de Salamanca fue Director del Departamento de Bioquímica durante un año. En la Universidad de León desempeñó diferentes cargos, entre ellos el de Director del Secretariado de Apoyo a la Investigación del Vicerrectorado de Investigación (1990-94); y el de Director del *Departamento de Biología Molecular* (2006-10). Ha sido socio ordinario de la Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular (SEBBM), de la American Chemical Society (ACS) y de la European Neuroscience Association (ENA) desde 1994. Es evaluador de proyectos de investigación y *referee* en varias revistas científicas internacionales de investigación sobre Neuroquímica.

## PONIENDO EN CLARO

### Olmos resistentes a grafiosis

Rubén Moreno Gutiérrez<sup>1</sup>, Mónica Mozo Ayuso<sup>2</sup> e Isabel Ruiz Movilla<sup>3</sup>

Facultad de C. C. Biológicas y Ambientales. Universidad de León. Alumnos de 5º de Biotecnología (curso 2009-2010).

<sup>1</sup>(bctrmg00@estudiantes.unileon.es),      <sup>2</sup>(btcmma00@estudiantes.unileon.es),  
<sup>3</sup>(bctirm00@estudiantes.unileon.es).

El olmo, antaño una de las especies arbóreas más abundantes, ha visto diezmada su población en el último siglo a causa de una enfermedad de origen fúngico conocida como grafiosis.

Con el fin de lograr detener y erradicar esta epidemia, se están llevando a cabo diversas medidas de control. Entre estas se incluyen diferentes estrategias de control químico y biológico que se emplean tanto frente al escarabajo responsable de la propagación de la infección como frente al hongo. Además, se están desarrollando varios proyectos para obtener olmos resistentes a través de la creación de árboles transgénicos y de programas de mejora, todo ello utilizando la biotecnología como herramienta para ayudar a identificar compuestos y mecanismos, así como genes, que confieran resistencia; y también para mejorar los sistemas de transformación, de regeneración y de propagación de olmos. Todas estas estrategias biotecnológicas deben combinarse con las medidas preventivas.

**Palabras clave:** árboles transgénicos, ceratoulmina, *Ophiostoma*, programas de mejora, pseudomicina.

#### El olmo

El olmo es un árbol caducifolio, perteneciente al género *Ulmus*, que se encuentra ampliamente distribuido por gran parte del planeta, sobre todo Asia Central, Europa y América del Norte. Además, al ser una especie muy utilizada por el hombre, fue rápidamente exportado a zonas del hemisferio Sur, como Australia o Sudamérica.

En nuestro país, las dos especies de olmo autóctonas son *Ulmus minor* (olmo común, distribuido prácticamente por todo el territorio) y *Ulmus glabra* (olmo de montaña, predominante en los Pirineos, la Cordillera Cantábrica y el Sistema Central).

Desde hace siglos, la madera de este árbol se ha utilizado para la fabricación de muebles, o incluso, dada su alta impermeabilidad, de barcos o tuberías. Además, su corteza, troceada y hervida, da como resultado una pasta

que se puede usar como suplemento para los pastos del ganado. Por último, también es muy apreciado con fines ornamentales (**Fig. 1**).

### La grafiosis

La grafiosis es una enfermedad que afecta al olmo y que ha diezariado la población de estos árboles de forma drástica en el último siglo (1000 millones de olmos muertos a nivel mundial). Fue descubierta por Bea Schwarz en 1921 en Holanda (de ahí que, en inglés, esta enfermedad se conozca como Dutch Elm Disease). Desde entonces, se han producido dos grandes pandemias: la primera, que causó la muerte de entre el 10 y el 40% de los olmos, se dio entre 1920 y 1940, mientras que la segunda, más virulenta, empezó en 1970 y continúa en la actualidad.



**Figura 1.** Izquierda: Fotografía de un olmo común en Aras de los Olmos (Valencia). Derecha: El mismo olmo, tras sufrir la grafiosis.

El hongo causante de la enfermedad pertenece al género *Ophiostoma*, del cual existen dos especies relevantes. *O. ulmi* es la especie no virulenta, y es la responsable de la primera epidemia de grafiosis. La otra, *O. novo-ulmi*, es la especie agresiva, responsable de la segunda epidemia. La especie agresiva tiene mayor crecimiento y virulencia que la otra, gracias a su gran capacidad para producir toxinas como la ceratoulmina, péptido hidrofóbico de 75 aminoácidos y peso molecular de 7600 Da (Bowden et al., 1994), y que presenta naturaleza surfactante, es decir, reduce la tensión superficial de los líquidos (en este caso la savia), lo que aumenta el riesgo de cavitación y embolismo en los vasos del xilema (Díez et al., 2002). Esto provoca que la circulación de la savia sea intermitente, o incluso se detenga. Paralelamente, el hongo ataca a las células vegetales de su entorno; fruto de esta degradación, se forman subproductos de desecho, que se irán acumulando a su vez en el xilema, favoreciendo así el bloqueo de los vasos del xilema.

Entre los síntomas de esta enfermedad, se encuentran el amarilleamiento de las hojas, debido a que sus células reciben un aporte limitado de sales minerales como resultado de la reducida circulación de la savia por el xilema, dándole al árbol un aspecto raído y débil; además, si se realiza un corte transversal a las ramas, se pueden observar ciertas manchas pardas, que corresponden a la presencia del hongo causante de la infección, obstruyendo los vasos conductores de la planta (**Fig. 2, Izquierda**); por otra parte, para causar la grafiosis, el hongo utiliza como vector a un escarabajo escolítido, cuya presencia, por lo tanto, constituye asimismo un indicador de la enfermedad.



**Figura 2.** Izquierda: anillo de color oscuro correspondiente a *Ophiostoma* obstruyendo el xilema de un olmo. Derecha: Galerías excavadas por *Scolytus multistriatus* en la parte interna de la corteza de un olmo.

La presencia de dichos escolítidos se identifica fácilmente al observar la parte interna de la corteza del árbol, ya que barrenan galerías y cavidades en la corteza (**Fig. 2, derecha**). La especie más importante de escolítido en relación a la grafiosis es *Scolytus multistriatus*. Estos escarabajos, a la hora de reproducirse, prefieren buscar olmos débiles (porque estén previamente infectados por grafiosis, o debido a sequías), en los que realizar la puesta de los huevos, concretamente en el espacio entre la corteza y la madera. Estos huevos eclosionan, y salen larvas que excavan sus respectivas galerías, perpendicularmente a la excavada por la madre. Pronto estas larvas se convierten en *Scolytus* en fase juvenil, los cuales, para alcanzar su madurez sexual, deben alimentarse de ramillas de olmos vigorosos, así que vuelan hacia ellos. Una vez que tienen los aparatos reproductores desarrollados, buscan de nuevo olmos debilitados para reproducirse en ellos.

*Ophiostoma* se aprovecha del ciclo de vida de *Scolytus*, ya que, si un olmo está infectado, las larvas que nacen y crecen en las galerías excavadas por la

madre en ese árbol saldrán recubiertas de sus esporas. Estas larvas, al alimentarse de ramillas de olmos vigorosos, permiten que las esporas del hongo que llevan consigo infecten a los árboles. Por otra parte, es frecuente que se produzca el contagio entre árboles cercanos mediante el contacto entre las raíces (Scheffer et al., 2008).

#### Factores que influyen en la eficacia de la infección

Una vez conocido el mecanismo de infección, es importante referirse a los factores que influyen en la eficacia de la misma, ya que será sobre ellos sobre los que haya que actuar. Entre estos factores se encuentran:

1. El diámetro de los vasos del xilema: olmos con diámetro grande son más susceptibles que olmos con menor diámetro, ya que posibilitan mayor difusión de la enfermedad.
2. La época del año en que se produce la infección: si la infección se produce en primavera, las esporas tienen tiempo para llegar a los vasos largos y principales del xilema, con lo que se extiende fácilmente a todo el árbol, (infección sistémica). Sin embargo, si se produce en verano, la infección se limita a los vasos externos, dando lugar a una infección más localizada, y además reversible.
3. La virulencia del patógeno: olmos infectados por *O. novo-ulmi* están prácticamente condenados a morir en ese año o al siguiente, mientras que en aquellos infectados por *O. ulmi* solo mueren unas pocas ramas, recuperando el follaje al año siguiente.
4. Otros factores importantes que determina la susceptibilidad del árbol son el genotipo, su edad, el vigor previo a la infección, y las condiciones del entorno.

#### **Gestión de la grafiosis**

Existen diferentes medidas de control encaminadas a lograr la detención y erradicación de la epidemia, y a conseguir restaurar las menguadas poblaciones de olmos. Se utilizan diferentes estrategias de actuación tanto frente al escolítido como frente al hongo. También se están desarrollando varias estrategias para obtener olmos resistentes a través de la creación de olmos transgénicos y de los programas de mejora.

#### Actuación frente al escolítido

Como los principales vectores de la enfermedad son los escolítidos, el objetivo principal en este caso es conseguir una reducción del tamaño de las poblaciones. Para ello se utilizan tres estrategias fundamentalmente: la destrucción de los árboles afectados, el control químico y el control biológico.

La destrucción de los árboles afectados ha de realizarse inmediatamente para limitar la pérdida al menor número de ejemplares posible. Para ello se quema la madera extraída, y se eliminan o tratan los tocones con productos que maten a la raíz.

En cuanto al control químico se han empleado numerosos insecticidas tanto de contacto como sistémicos, pero la mayoría, pese a ser eficaces, entrañan problemas de contaminación ambiental y se requiere una aplicación repetida cada cierto tiempo. La toxina Bt, de *Bacillus thuringiensis* afecta a las larvas del escolítido, y es segura desde el punto de vista medioambiental. Otro tipo de control químico es mediante la utilización de disuasorios de la alimentación. Se ha visto que el compuesto más eficaz es la juglona, extraída de *Carya ovata* y *Juglans regia* (**Fig. 3**) (Pajares et al., 2004). También otros compuestos pertenecientes a distintos grupos químicos logran reducir la alimentación, como flavonoides, (floreтина, kaempferol y quercetina) cumarinas (aesculetina y fraxetina) y alcaloides (gramina y magnolina).



**Figura 3.** Ensayo de doble elección en el que se observa una mayor alimentación del escolítido en el disco foliar no impregnado con juglona (derecha) (Pajares et al., 2004).

Como control biológico se utiliza el hongo *Phomopsis oblonga*, que aparece de manera natural en el floema de olmos moribundos, del cual se han aislado metabolitos disuasorios de la alimentación (phomosolidas A y B). Además los escolítidos tienen diversos enemigos naturales, siendo los más significativos la hormiga *Entedon leucogramma* y los pájaros carpinteros.

### Lucha contra el hongo

En cuanto a la actuación frente al hongo existen, al igual que en el caso anterior, diferentes controles químicos o biológicos.

El primer tipo de estrategia de control químico es el uso de fungicidas sistémicos. Los más utilizados son los del grupo del bencimidazol y los derivados del imidazol. Este es un tratamiento preventivo que solo se suele aplicar a olmos de gran valor. Por otro lado diversos trabajos han confirmado la

implicación de compuestos fenólicos, como el carvacrol y el ácido salicílico, en los mecanismos de defensa del olmo ante la grafiosis, observándose un incremento de la resistencia tras su aplicación (Martín et al., 2008).

En cuanto al control biológico se han empleado diferentes bacterias, pero el género *Pseudomonas* es el más relevante. Algunas especies sintetizan sustancias antimicóticas como la pseudomicina, y además poseen gran afección por el hierro existente en la savia, necesario para la subsistencia del hongo. La más utilizada es una cepa de *P. syringae* modificada genéticamente cuyo transposón Tn903 se emplea para realizar mutagénesis y obtener nuevos mutantes productores de antimicóticos (Lam et al., 1987).

Un hongo utilizado con éxito es *Verticillium albo-atrum* cepa WCS850, que es una cepa no patogénica para el olmo. La inyección de una suspensión de esporas de este hongo en *U. americana*, consigue aumentar la resistencia frente a la infección por *O. novo-ulmi* (Scheffler et al., 2008). Además de este hongo, también se utilizan extractos de esporas o aislados de glicoproteínas de una cepa de *O. ulmi* no agresiva, con el objetivo de inducir los mecanismos de defensa del olmo. Concretamente algunos estudios han demostrado que se produce la acumulación de unas fitoalexinas sesquiterpénicas denominadas mansosonas en *U. americana*, después de la inoculación con esta cepa. La mansosona E es la más activa frente al hongo, según demuestran ensayos realizados *in vitro*.

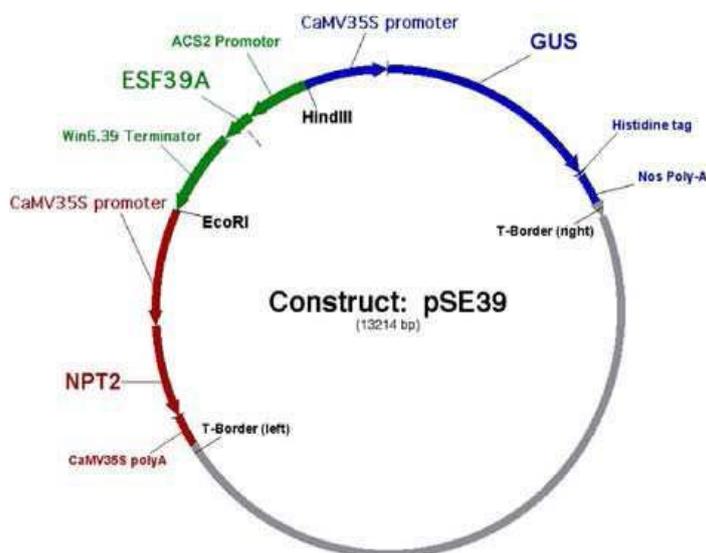
Por último, existe un tipo de entidades parecidas a micovirus, que son los factores d. Existen treinta tipos diferentes, son RNA bicatenarios, antagonistas de *O. ulmi*. Uno de estos factores, el factor d<sup>2</sup>, se ha asociado con una reducción de la virulencia de *O. ulmi*. El mecanismo de acción todavía no se conoce bien, pero se ha correlacionado con una reducción de los niveles de citocromo aa<sub>3</sub>, una importante enzima de la cadena respiratoria. Se transmite a otros hongos por fusión hifal o reproducción sexual (Brasier, 1986).

### Olmos transgénicos

La primera aproximación para obtener un olmo transgénico de interés frente a la grafiosis fue la transformación de *U. procera* con el plásmido RiA4b (Gartland et al., 2001). El plásmido Ri de *Agrobacterium rhizogenes* produce, entre otros efectos, modificaciones en el xilema. Por tanto, como el tamaño del xilema es una de las características que pueden conferir resistencia al olmo, se estudian las modificaciones internas que se podrían conseguir en las plantas regeneradas a través de la utilización de este plásmido.

Sin embargo, fue el trabajo desarrollado por Newhouse et al., en el 2007, el primer intento de transformar *U. americana* con genes de resistencia exógenos con actividad específica frente a *O. novo-ulmi*. Obtuvieron olmos transgénicos transformados con *Agrobacterium tumefaciens* cepa EHA105 con

la construcción génica pSE39, que codifica para el péptido antimicrobiano ESf39 (**Fig. 4**).



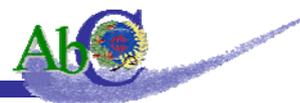
**Figura 4.** Construcción génica pSE39 (Newhouse et al., 2007). Consta del gen del péptido antimicrobiano ESF39 dirigido por el promotor ACS2 procedente del castaño americano, para que se exprese en el tejido vascular, de un gen de selección NPT2 y un gen testigo GUS (estos dos últimos dirigidos por el promotor del virus del mosaico del tabaco, CaMV35S).

Para evaluar la resistencia de los olmos transgénicos se realizó una inyección de conidios de *O. novo-ulmi*. Se midieron varios parámetros indicativos de la resistencia al hongo y de la capacidad de dispersión de éste en el olmo. Se consiguió obtener una línea transgénica que mostraba una resistencia significativa. Pese a estos resultados prometedores es necesario realizar más estudios en campo y en olmos adultos, una vez pasada la resistencia juvenil, para evaluar entonces la eficacia del compuesto.

#### Programas de mejora

Existe una serie de pasos básicos que se llevan a cabo habitualmente en los programas de mejora de resistencia a patógenos:

1. Conocimiento de la biología del patógeno, variación, virulencia y epidemiología.
2. Identificación de las fuentes de resistencia.
3. Conocimiento de la genética de la resistencia.
4. Desarrollo de métodos de inoculación rápida.
5. Escalas de identificación de la enfermedad que sean fácilmente aplicables.
6. Desarrollos de esquemas de selección.



## 7. Evaluación de las nuevas líneas resistentes.

Siguiendo estos pasos, desde que la grafiosis se detectó en 1921, se han ido desarrollando en diversos países programas de mejora genética, con el objetivo de conseguir olmos resistentes.

La estrategia general de estos programas es la inoculación del hongo en el tronco del olmo; tras 60 días se seleccionan los olmos que no presentan síntomas. Los olmos resistentes se cruzan entre sí para conseguir en unos pocos genotipos el mayor grado de caracteres de resistencia a la grafiosis, que den como resultado olmos resistentes. Basándose en los estudios realizados, se determina que aproximadamente solo un 2% de los árboles evaluados presentan resistencia; por tanto, se requiere desarrollar técnicas que permitan una selección precoz, como las técnicas de cultivo *in vitro*.

### Técnicas de cultivo *in vitro* para ensayos de resistencia

La utilización de técnicas de cultivo *in vitro* en los programas de mejora supone varias ventajas con respecto a los métodos clásicos:

1. Detección precoz de la resistencia, por lo que se podrían detectar en etapas tempranas los olmos resistentes.
2. Las necesidades de espacio son menores, lo que permite realizar la selección sin utilizar grandes extensiones de terreno.
3. Posibilidad de realizar los experimentos en cualquier época del año.
4. Mayor facilidad en la propagación del material, ya que es más sencillo propagar material juvenil que material adulto.

El futuro de los programas de selección de olmos resistentes a esta patología está ligado al desarrollo de los métodos de selección molecular, que han demostrado ser más eficientes en otras especies, como el eucalipto, pero que todavía no se han probado en olmos.

### Propagación *in vitro*

Una vez llevada a cabo la selección, el siguiente aspecto importante es la propagación de los olmos resistentes. Se han desarrollado programas de micropropagación para varias especies de olmos como *U. campestris*, *U. americana*, *U. laevis*, *U. pumila*, *U. minor*, e incluso programas para híbridos. Algunas de las estrategias que se emplean son la embriogénesis somática a partir de sámaras inmaduras y a partir de hojas, la micropropagación a partir de segmentos nodales y, por último, también se han desarrollado protocolos eficientes para el aislamiento y cultivo de protoplastos a partir de hojas y callos.

### Programa de mejora español

El objetivo de este programa es la selección de olmos resistentes a grafiosis mediante la inoculación del hongo en árboles de más de 4 años para comprobar su resistencia y cruzar los ejemplares que se muestren más resistentes.

La mejora se centra en *U. minor*, olmo más representativo y más afectado por la enfermedad en la península. Esta especie es muy susceptible a la enfermedad, por lo que se aconseja su hibridación con otra especie de resistencia mayor como *U. pumila*, que además de ser resistente a la grafiosis, tiene otras ventajas, como un rápido crecimiento juvenil, tolerancia a la sequía y una abundante producción de semilla fértil.

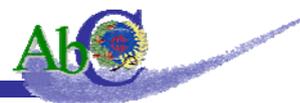
Dentro del programa de mejora español se han llevado a cabo numerosos estudios sobre la influencia de varios factores en la resistencia, como la frecuencia y la composición de las inoculaciones (Solla et al., 2001), la humedad del suelo, la edad de la planta y las dimensiones de los vasos del xilema (Elgersma et al., 1970). Gran parte de estos trabajos se han realizado estudiando una olmeda en Rivas-Vaciamadrid, que contiene unos 300 ejemplares de *U. minor* de unos 70 años de vida que han sobrevivido a la grafiosis en un área totalmente devastada por la enfermedad.

### **Conclusiones**

La biotecnología es una herramienta muy útil para conseguir olmos resistentes a la grafiosis, ya que puede ayudar en diversas etapas, como la identificación de compuestos, mecanismos o incluso genes que confieran resistencia, o el desarrollo de sistemas de transformación de olmos modificados genéticamente. Así pues, se hace necesaria la creación de programas de investigación a través de los cuales avanzar hacia un control definitivo de la enfermedad, antes de que ésta nos deje con el poema de Machado como único recuerdo de la existencia del olmo.

### **Bibliografía**

- Bowden, C.G., Hintz, W.E., Jeng, R., Hubbes, M., Horgen, P.A. 1994. Isolation and characterization of the cerato-ulmin toxin gene of the Dutch elm disease pathogen, *Ophiostoma ulmi*. *Curr. Genet.*, 25:323-329.
- Brasier, C.M. 1986. The d-factor in *Ceratocystis ulmi*: its biological characteristics and implications for Dutch elm disease. En "Fungal virology" (ed. K.W. Buck), pp. 177-208. CRC Press: Boca Ratón, Florida.
- Díez, J., Gil, L. 2002. Efecto de los filtrados de cultivos de *Ophiostoma novo-ulmi* Brasier sobre el crecimiento de callos de olmos con diferente susceptibilidad a la grafiosis. *Invest. Agr.: Sist. Recur. For.* 11:67-76.



- Domínguez, S. 2006. Los últimos olmos ibéricos. La lucha de una especie arbórea contra una terrible enfermedad. Exposiciones divulgativas. Obra Social Caja Madrid.
- Elgersma, D.M. 1970. Length and diameter of xylem vessels as factors in resistance of elms to *Ceratocystis ulmi*. Neth. J. Plant. Pathol. 76:179-182.
- Gartland, J.S., Brasier, C.M., Fenning, T.M., Birch R., Gartland, K.M.A. 2001. Ri plasmid mediated transformation and regeneration of *Ulmus procera* (English Elm). Plant Growth Reg. 33:123-129.
- Gilbert, B.M., Baker, J.E., Norris, D.M. 1967. Juglone (5-hydroxy-1,4-naphthoquinone) from *Carya ovata*, a deterrent to feeding by *Scolytus multistriatus*. J. Insect Physiol. 13:1453-1459.
- Lam, B.S., Strobel, G.A., Harrison, L.A., Lam, S.T. 1987. Transposon mutagenesis and tagging of fluorescent *Pseudomonas*: antimycotic production is necessary for control of Dutch elm disease. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:6447-6451.
- Martín García, J.A. 2006. Factores anatómicos y químicos del xilema de *Ulmus minor* Mill. relacionados con la resistencia a *Ophiostoma novo ulmi* Brasier. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Madrid.
- Martín García, J.A., Solla, A., Gil Sánchez, L. y García Vallejo, M.C. 2008. Carvacrol y ácido salicílico incrementan la resistencia de *Ulmus minor* frente a *Ophiostoma novo-ulmi*. Cuad. Soc. Esp. Cienc. For. 26: 103-108
- Pajares, J.A. 2004. Elm breeding for resistance against bark beetles. Invest. Agrar.: Sist. Recur. For. 13:207-215.
- Solla, A., Gil, L. 2001. Selección de olmos resistentes a la grafiosis. I. Influencia de la composición del inóculo infectivo. Bol. San. Veg. Plagas. 27:355-362.
- Scheffer, R.J., Voeten, J.G.W.F., Guries, R.P. 2008. Biological control of Dutch Elm Disease. Plant Dis. 92:192-200.
- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/AAA18912.1?report=fasta&logS=seqview> (marzo 2011)
- <http://www.forestbiotech.org> (marzo 2011)
- <http://www.elmpost.org> (marzo 2011)
- <http://www.dutchelmdisease.org> (marzo 2011)

## SIGUIENDO LA PISTA

### ***Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle (Simarubaceae) como potencial invasora**

Álvaro Bayón Medrano<sup>1</sup> y Félix Llamas García<sup>1</sup>.

1 Dpto. Biodiversidad y Gestión Ambiental, Área de Botánica. Universidad de León.

[bioabm01@estudiantes.unileon.es](mailto:bioabm01@estudiantes.unileon.es); [f.llamas@unileon.es](mailto:f.llamas@unileon.es)

De todas las especies nuevas que llegan a un territorio, unas pocas llegan a convertirse en las llamadas especies exóticas invasoras, y causan lo que se denomina invasiones biológicas.

*Ailanthus altissima* es una especie de Simarubácea procedente de Asia, introducida en todo el mundo como fijadora de taludes, ornamental, y con fines de extracción maderera. Las características bioecológicas de la especie la convierten en altamente invasora.

Además, afecta de forma directa a la organización y al funcionamiento del ecosistema en el que se instaura, ya que reduce la cobertura vegetal del estrato herbáceo, incrementa la cobertura del estrato arbóreo, reduce la biodiversidad y la riqueza de especies e incrementa la dominancia en favor de sí mismo.

Actualmente se comporta como especie exótica invasora en gran parte del mundo. En España se está gestionando en 6 comunidades autónomas. En la provincia de León aún no se ha observado un estado muy avanzado de la invasión, pero en la comunidad autónoma de Castilla y León no existe un plan de gestión de manejo de la invasión.

Dadas las características bioecológicas de la especie, se puede afirmar que su erradicación es prácticamente imposible. Sin embargo, utilizando sinérgicamente y de forma reiterada mecanismos de control físicos y químicos podría llegarse a controlar su expansión y reducir las poblaciones en cierta medida.

**Palabras clave:** Árbol del Cielo, Plantas alóctonas, Invasión biológica, Especies invasoras, Sustancias alelopáticas.

### **Introducción**

La globalización de la movilidad humana y las actividades comerciales llevan asociados efectos colaterales sobre el medio natural, inicialmente no previstos, como la expansión de especies invasoras (Climent et. al., 2006). Actualmente, innumerables especies se dispersan a través de barreras hasta entonces insuperables, como océanos, cordilleras y zonas climáticas hostiles (Climent et. al., 2006).

Las invasiones biológicas son un importante componente del cambio global y la segunda amenaza ambiental en importancia para la conservación de la biodiversidad y de los ecosistemas naturales, después de la destrucción y la fragmentación del hábitat (Constán Nava et. al., 2008) El impacto causado por las especies invasoras no se restringe al medio ambiente –desde genético hasta paisajístico– sino que también tiene fuertes repercusiones sobre la economía, la sociedad y la salud pública. (Andreu & Vilá, 2007).

Una de las 20 especies alóctonas consideradas más peligrosas en España (Quesada et al., 2009) es *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle, un árbol de la familia Simarubaceae, procedente de China e introducido en Europa como planta ornamental, para la obtención de papel y como fijadora de taludes (Andreu & Vilá, 2007).

Breve descripción botánica de *A. altissima* (Mill.) Swingle in Journ. Wash. Acad. Sc. 6(14): 495 (1916).



**Figura 1.** Hojas de *A. altissima*.

El sistema radicular del ailanto es muy abundante y fuertemente extendido tanto en superficie como en profundidad (Climent et. al., 2006).

El tronco tiene una corteza grisácea tendiente a clara, lisa o asurcada en los ejemplares más viejos; las ramas son de un color pardo rojizo.

Las hojas (**Fig. 1**) de hasta 1 m, son caducas, alternas e imparipinnadas –excepcionalmente paripinnadas–, glabras o con pelos dispersos en el haz y/o en el margen. Los folíolos, en número de 10 a 41 son peciolulados, de lanceolados a ovado-lanceolados, de ápice estrechado, margen entero u ondulado, con una escotadura que forma un par de dientes en la base y desde uno hasta cuatro distribuidos por todo el margen, y base de truncada a hastada.

La inflorescencia mide de 9,5 a 26 cm de longitud; la masculina es multiflora, mientras que la femenina es pauciflora. Las flores son actinomorfas unisexuales, siendo las masculinas muy olorosas y de olor desagradable, y hasta 4 veces más abundantes que las femeninas,

inodoras. Tienen cinco sépalos pequeños y cinco pétalos de 2,2 a 4,5 mm, verdosos o amarillentos, pelosos en la base. En las flores femeninas, los estambres no son funcionales. Tienen cinco carpelos libres, con un primordio seminal por carpelo. Los frutos (**Fig. 2**) son polisámara dispuestas en racimos colgantes y persistentes; la sámara mide de 25 a 50 mm de longitud y entre 5 y 15 mm de anchura, de forma de oblongo-lanceolada a fusiforme, de color pardo rojizo o pajizo, con la semilla en el centro de un ala papirácea, larga y sinuosa. La semilla tiene un contorno ovalado (Navarro & Muñoz, 2008).



**Figura 2.** Frutos de *A. altissima*.

#### Ecología, corología y distribución

*Ailanthus altissima* es un árbol muy tolerante a la contaminación (Gildemeister, 2006; Navarro & Muñoz, 2008). Crece fácilmente en suelos pobres y en condiciones de sequía y es muy resistente al estrés (Estatuto, Decreto-Lei 565/99). Es de crecimiento rápido y de rápida propagación tanto por semilla – que se propaga fácilmente por anemocoria, dada la forma de la sámara que la contiene– como por brotes radicales, incluso por trozos de raíz.

Puede crecer desde nivel de mar hasta 1400 metros de altitud, tanto en el macrobioclima Templado como en el Mediterráneo. Es originario de China central, Taiwan y el Norte de Corea, aunque se ha naturalizado en casi todo el Mundo.

En España, se ha citado la presencia de *Ailanthus altissima* en 28 provincias españolas, en Melilla y en la provincia portuguesa de Beira Litoral. (Anthos, 2010). No obstante, solo se está gestionando en 6 comunidades autónomas (Andreu & Vilá, 2007).

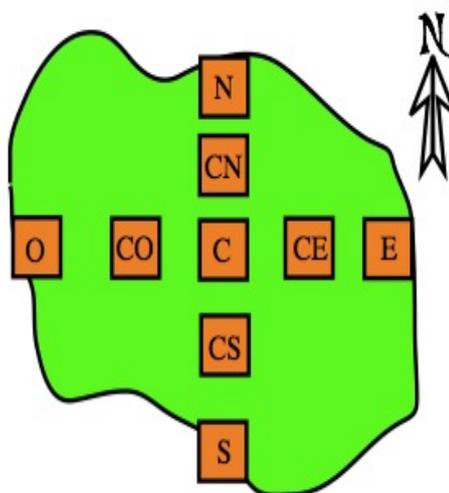
#### Objetivo

El presente artículo se propone estudiar la biología y ecología de la especie alóctona invasora *Ailanthus altissima*, así como su problemática para conocer el por qué de su rápida expansión, y el análisis de los planes de gestión existentes.

### Material y método

Se ha realizado una recogida de información tras una exhaustiva revisión bibliográfica, abordando todos los aspectos que pudieran aportar información sobre la situación de esta especie.

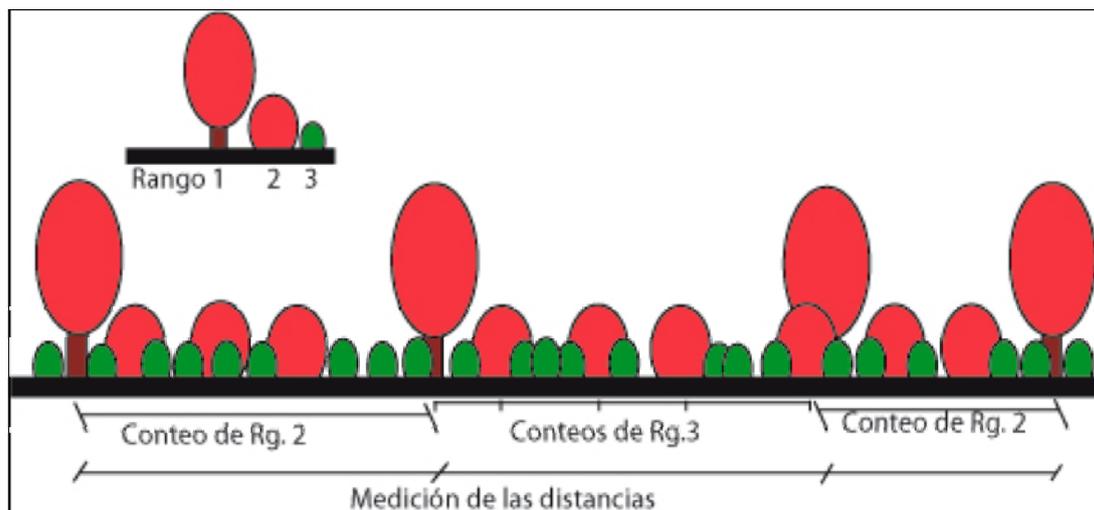
Se ha llevado a cabo un muestreo en una zona de reciente germinación en el Parque del Campo Grande, parque público de la ciudad de Valladolid, donde *Ailanthus altissima* se encontraba formando dosel vegetal de poca altura. Se midió el área total de la zona y la longitud de los ejes Norte-Sur y Este-Oeste. Se tomó nota de la inclinación y de la presencia de árboles de la misma o de otra especie en las proximidades. Se realizó un muestreo cuyas nueve muestras, cuadradas, de 50 cm de lado, se distribuyeron de forma sistemática. Una muestra (C) se tomó en el centro geométrico de la zona de estudio. Cuatro muestras se tomaron en los márgenes de la zona, localizados cada uno de ellos en cada punto cardinal (N, S, E y O), en el borde mismo del área, en el punto central del lado. Se tomó una muestra más a media distancia entre las muestras de cada uno de los márgenes y la muestra central (CN, CS, CE y CO) (Fig. 3).



**Figura 3.** Esquema de muestreo.

Se contó el número de pies de planta de *Ailanthus altissima* de cada muestra, y se calculó por aproximación en cuadrantes la cobertura del estrato del manto vegetal (no la cobertura arbórea). Se cortaron a ras de suelo hasta cuatro plantas de cada muestra (correspondiendo con cada una de las cuatro esquinas, si existía planta) para calcular la edad de las plantas por conteo de anillos y se midió la altura en centímetros de las plantas cortadas, extendiéndolas en el suelo y con ayuda de una cinta métrica. También se calculó, para las plantas que presentaran una edad superior a “0 años” la relación altura/edad, para hacer una aproximación de la velocidad de crecimiento de las plantas.

Se realizó una aproximación del potencial invasor de *Ailanthus altissima*, siguiendo un método de conteo por transecto lineal, paralelo a la carretera, a lo largo de un trayecto recto de 2 Km de longitud en la carretera M30 de Madrid a su paso por Casa de Campo, paralelo al Río Manzanares (Fig. 4). Para el cálculo de distancias horizontales se ha realizado la estimación mediante la observación de las marcas de carretera. Se han tenido en cuenta tres rangos de edad.



**Figura 4.** Esquema de muestreo en transecto lineal.

Rango 1: árboles adultos –mayores de 3 metros; más de 7 años–. Se han contado la totalidad de árboles y la distancia entre ellos en todo el transecto.

Rango 2: plantas de pequeño tamaño –menos de 3 metros– capaces de formar semilla –entre 4 y 7 años–. Se ha contado el número de árboles de rango 2 que aparecían entre el primer y el segundo árbol de rango 1; luego, entre el segundo y el tercero, se ha omitido el conteo. Se ha repetido el conteo, de forma alterna. Se ha estimado la media de árboles de rango 2 en la distancia definida por los árboles de rango 1.

Rango 3: plantas de pequeño tamaño que aún no son capaces de formar semilla –menos de 4 años–. En este caso se ha contado el número de plantas de rango 3 que aparecían entre dos plantas de rango 2 consecutivas, o entre una planta de rango 1 y una de rango 2 consecutivas. Este tipo de conteo se realizó solo en los tramos en que no se contaban las plantas de rango 2. La distancia se ha estimado.

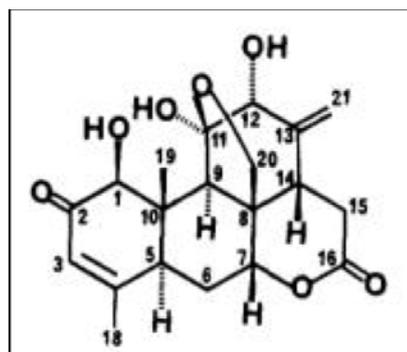
Los esquemas han sido realizados con el software Adobe Illustrator CS3®; las hojas de cálculo se han realizado con el software Numbers® del paquete iWork '09® de Apple.

Para el muestreo se ha tomado un marco cuadrado de madera de 50 cm de lado, una cinta métrica de 5 metros, una navaja y una sierra pequeña.

## Resultados y discusión

Algunos de los principios activos que *Ailanthus altissima* es capaz de sintetizar, principalmente la ailantona (**Fig. 5**), un cuasinoide que actúa como herbicida natural (Lin et. al., 1995; Heisey, 1996; Castro Díez et al., 2008), y secundariamente la ailanthinona, la chaparrina y el ailantinol B; todos ellos son li-

berados por la raíz (Heisey, 1990; Climent et al., 2006), y pueden actuar como sustancias alelopáticas favoreciendo la implantación de los retoños de *A. altissima* mediante el desplazamiento de la flora autóctona (Heisey, 1996; Dana et al., 2003; Quesada et al., 2009). Otra de las moléculas que interviene en la problemática es la cuasina, un insecticida natural (Navarro & Muñoz, 2008) que sintetiza con el fin de evitar la depredación por insectos fitófagos.



**Figura 5.** Ailantona.

Además, el olor de sus flores masculinas es muy atractivo para los insectos polinizadores, que las prefieren frente a las especies autóctonas, lo que funciona como mecanismo de desplazamiento a nivel de polinización (Estatuto, Decreto-Lei 565/99).

Esto junto con su enorme resistencia y capacidad de adaptación, su comportamiento plástico, su sistema radicular potente y el gran número de semillas que puede llegar a producir un solo árbol, más de 350.000 en un solo año (Quesada et al. 2009), lo convierte en una especie potencialmente invasora de tipo transformadora, es decir de aquellas que causan alteraciones o perturbaciones en el funcionamiento de los ecosistemas (De La Torre Fernández, 2003; Sanz Elorza et al., 2009).

Es una invasora naturalizada, que no requiere de la presencia de ninguna especie para proliferar (Climent et al., 2006; Crespo et al., 2008). Invade rápidamente el terreno; no tiene preferencias de colonización ni en cuanto a humedad ni en cuanto a tipo de suelo (Climent et al., 2006); se extiende creando un manto impenetrable (**Fig. 6**), e inhibiendo el crecimiento de otras especies. Si se encuentra a la sombra de un bosque, se mantiene con tamaño arbustivo durante mucho tiempo hasta que se genera un claro. En presencia de luz suficiente, su crecimiento es rápido (Estatuto, Decreto-Lei 565/99).



**Figura 6.** Manto de *A. altissima* (foto de Leslie J. Mehrhoff, University of Connecticut).

Aunque es indiferente edáfico y resiste bien la sequía y la pobreza del suelo, prefiere zonas húmedas y bien nitrogenadas (Climent et al., 2006). En cuanto a la orientación, prefiere las laderas de umbría (94,5%) aunque pueden aparecer ejemplares aislados en laderas de solana (5,5%). La pendiente no es factor limitante (Climent et al., 2006; Terrones et al., 2007) y la altitud solo lo es por encima de los 1400 metros sobre en nivel del mar.

Dado que las precipitaciones no son limitantes, y solo parece limitarse en función de la altitud, es posible que su limitación respecto a las temperaturas – que no ha sido encontrada ninguna referencia bibliográfica– aparezca solo cuando desciende demasiado la media de las temperaturas mínimas.

Es un árbol que ha causado ya graves problemas, siendo la especie invasora citada con mayor expansión en algunos espacios protegidos como los de la comunidad autónoma de Cataluña, donde ha sido más ampliamente estudiado, y una de las especies alóctonas más extendidas por toda la cuenca mediterránea (Climent et al., 2006; Crespo et al., 2008; Andreu & Vilá, 2009).

En cuanto a sus efectos sobre el ecosistema, el desplazamiento de *Ulmus minor* en favor de *Ailanthus altissima*, uno de los casos que ocurre con frecuencia cuando el segundo se comporta como especie invasora, causa problemas al acelerar el ciclo de los nutrientes ya que la hojarasca del primero es de descomposición más lenta que la del segundo (Castro Díez et al., 2008). Otras especies que *A. altissima* suele desplazar son *Sambucus nigra*, *Fraxinus* spp. (Delgado et al., 2005), y cuando afecta a ecosistemas de ribera, *Populus nigra* y *Salix atrocinerea* (Constán Nava et al., 2008).

Está demostrado que en presencia de *Ailanthus altissima*, la riqueza de especies es un 55% de la que corresponde en ausencia del árbol invasor. La diversidad de especies desciende hasta un 37,5% y la dominancia aumenta en un 52% (Constán Nava et al. 2008). Cuando forma bosques, aumenta de manera significativa la cobertura del estrato arbóreo y disminuye de forma importante la cobertura del estrato herbáceo (Constán Nava et al., 2008).

Además, *Ailanthus altissima* es un árbol también capaz de cambiar las propiedades del suelo, como el pH o la relación C/N (Climent et. al., 2006).

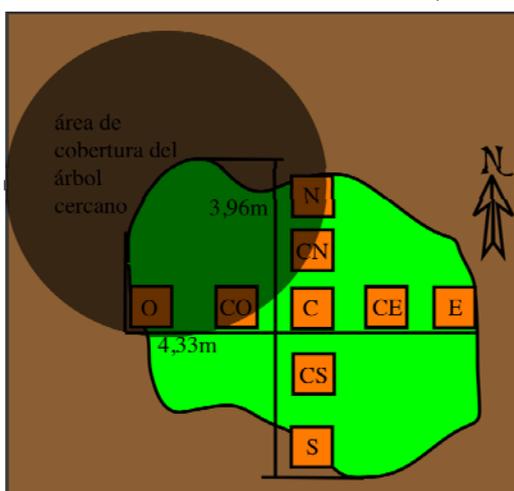
#### Caracterización del manto vegetal producido por la proliferación indiscriminada de *Ailanthus altissima*

Estos resultados proceden del estudio de muestreos del manto vegetal de *Ailanthus altissima* realizado en el Parque del Campo Grande de Valladolid durante el mes de Julio de 2010 (**Tabla 1**).

	Pies de planta	Cobertura	Edad (años)	Altura (cm)	Relación altura/edad	Densidad por m <sup>2</sup>
Media total	5,89±2,89	75±24%	1,28±0,92	27,28±21,00	18,84±6,92	23,56
Media zona cubierta	3,75±1,26	59±17%	0,79±0,70	10,71±6,35	11,50±2,29	15,00
Media zona descubierta	7,60±2,70	88±22%	1,67±0,90	40,17±21,00	22,97±4,84	30,40
t de Student Cubierto / Descubierta	0,0307	0,0553	0,0042	0,0000	0,0000	

**Tabla 1.** Resultados del muestreo de la zona de manto vegetal de *Ailanthus altissima* en el Parque del Campo Grande de Valladolid. Se representa la media ± desviación estándar.

El área total (**Fig. 7**) fue de unos 10 m<sup>2</sup>, siendo las distancias de Norte a Sur de 3,96 m y de Este a Oeste de 4,33 m. La inclinación era nula. La zona de estudio presentaba un ejemplar adulto maduro y capaz de formar semillas a 1,2 metros de distancia del borde, en dirección Noroeste, y su copa cubría verticalmente aproximadamente el 80% del cuadrante NO de la zona de estudio, afectando a los muestreos N, CN, CO y O.



afectando a los muestreos N, CN, CO y O.

**Figura 7.** Esquema de muestreo con árbol.

Una media de 5,89 ± 2,89 plantas por cada cuadrícula de 50x50 cm (0,25 m<sup>2</sup>) indica un promedio de 23,56 plantas / m<sup>2</sup> y un total aproximado de 236 plantas en todo el área de estudio. La cobertura total (media) del área de estudio es de un 75,00 ± 23,98%.

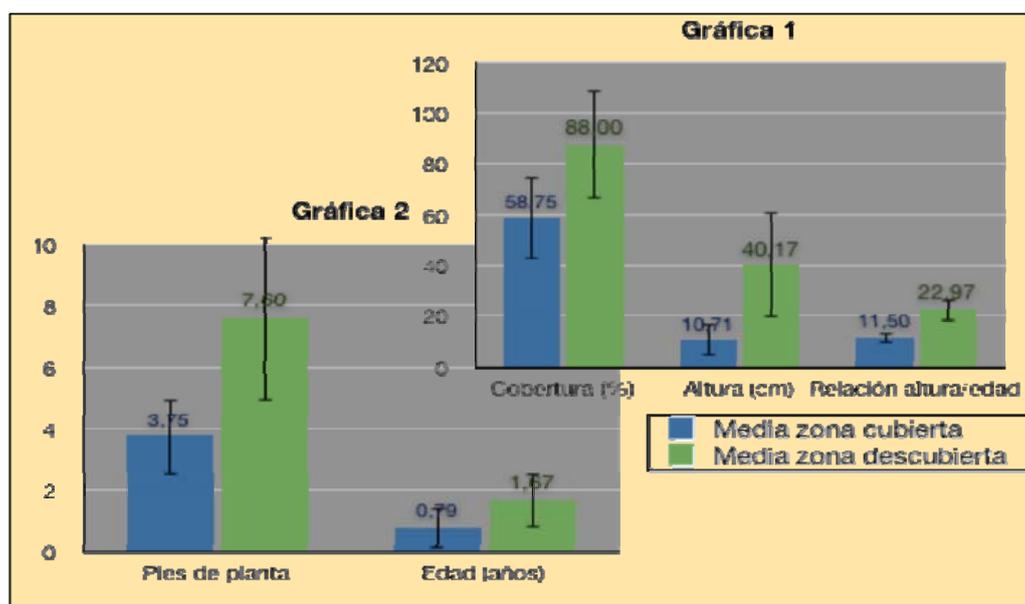
Comparando la zona cubierta por el árbol adulto con la zona descubierta se observan diferencias significativas (**Fig. 8**) en:

La altura ( $P < 0,0001$ ):  $10,71 \pm 6,35$  cm de media en la zona cubierta frente a  $40,17 \pm 20,93$  cm en la zona descubierta.

La relación crecimiento respecto a la edad de las plantas –sin tener en cuenta las plantas de edad 0 años– ( $P < 0,0001$ ): las plantas que crecieron a la sombra del adulto crecen más despacio ( $11,5 \pm 2,29$  cm/año) que las de la zona descubierta ( $22,97 \pm 4,84$  cm/año).

La densidad, resultado del número medio de plantas que aparecen en cada muestra ( $P = 0,03$ ): varía de 15 plantas/m<sup>2</sup> ( $3,75 \pm 1,26$  plantas por muestra) en la parte cubierta por el adulto contra las más de 30 plantas/m<sup>2</sup> ( $7,6 \pm 2,7$  plantas por muestra) de la zona descubierta.

La edad media de las plantas ( $P = 0,0042$ ): son más jóvenes ( $0,79 \pm 0,70$  años) las que se encuentran bajo el árbol, que las descubiertas ( $1,67 \pm 0,91$  años).



**Figura 8.** Gráficas de la relación de números de pies de planta por muestra, edad, cobertura, altura y relación altura / edad entre las plantas de la zona cubierta y las de la zona descubierta. Se representa la media  $\pm$  desviación estándar.

En cuanto a la cobertura, las diferencias, aun siendo menos significativas que los casos anteriores, siguen siendo patentes ( $P = 0,0553$ ), teniendo una cobertura media las plantas cubiertas de  $59 \pm 16$  % frente al  $88 \pm 22$  % de las plantas descubiertas.

Todos estos datos nos indican que la presencia de adultos inhibe parcialmente el crecimiento de las plantas jóvenes cercanas. Esta inhibición tiene que ver con el efecto sombra por parte del árbol, tal y como se confirma en el



Estatuto para el Decreto-Ley portugués (Decreto-Lei 565/99) que indica que la planta a la sombra se mantiene débil y con bajo porte hasta que se genera un claro, momento en que su crecimiento se acelera.

Análisis de invasión potencial de *Ailanthus altissima*

El potencial invasor (**Tabla 2**) observado ha sido el siguiente: en el transecto de 2 Km, los árboles adultos (rango 1) se separan una media de  $333 \pm 61$  metros, apareciendo un total de 6 pies de planta.

Entre cada uno de ellos, aparecían una media de  $8,33 \pm 2,51$  pies de plantas de rango 2; éstos se separan entre sí una media de  $48,23 \pm 11,1$  metros, y apareció un total estimado de 41 pies de planta.

La distancia media calculada para las plantas más jóvenes (rango 3) fue de 2,14 metros. Se ha calculado que en cada segmento que hay entre dos árboles de rango 1 ó 2 consecutivos, aparecen una media de  $22,5 \pm 12,93$  plantas de rango 3, y para el total del transecto se ha estimado la presencia de 933 pies de planta.

	Rango 1	Rango 2	Rango 3
Distancia media (m)	$333 \pm 61$	$48 \pm 11$	2,14
Nº Plantas por segmento	-	$8,33 \pm 2,52$	$22,5 \pm 13$
Nº Plantas en 2 km	6	41	933

**Tabla 2.** Resumen de datos del muestreo. Se toma un segmento como la distancia entre dos plantas de rango superior, consecutivas.

La proporción de plantas de rango 2 por cada planta de rango 1 es de 6,83, mientras que la proporción de plantas de rango 3 por cada planta de rango 2 y 1 es de 19,85.

Esto indica una gran proliferación de las plantas pero después demuestra un menor éxito en la llegada a adulto; por cada árbol viejo aparecen solamente menos de 7 árboles de edad intermedia. Esto se explica mediante la existencia de una elevada competencia intraespecífica por el recurso lumínico y/o por el suelo en edades tempranas, dada la elevada densidad de plantas jóvenes al formar manto vegetal de pequeña altura ( $23,56$  plantas /  $m^2$ ).

Plan de gestión del manejo y control

No se ha encontrado ningún plan de manejo y gestión de la invasión por *Ailanthus altissima* que se encuentre activo en toda España. Sin embargo, sí que existen planes en seis comunidades autónomas españolas: Andalucía, Ara-

gón, Asturias, Cataluña, Comunidad Valenciana y Galicia (Andreu & Vilá, 2007). También existe en Portugal un Estatuto para Decreto Ley (565/99) que expone diferentes métodos, no de eliminación de la invasión, que a día de hoy no es posible, sino de control de la misma.

La especie *Ailanthus altissima* fue identificada como una amenaza a la sanidad vegetal, el medio ambiente y la biodiversidad por la EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization), la cual recomienda que se adopten medidas para prevenir nuevas introducciones y limitar su expansión. Entre estas medidas, se recomiendan campañas de sensibilización, restricciones a la venta y la siembra y planes de mitigación (Crespo et. al., 2008).

Para hacer una gestión adecuada de la especie es necesario llevar a cabo una serie de planes de control de la invasión biológica producida por *Ailanthus altissima*, que incluya un plan de mitigación del impacto, un seguimiento y estudio monitorizado de los resultados de dicha mitigación y la inclusión de esta especie en el plan genérico de invasiones biológicas.

Actualmente están prohibidos en España el cultivo o almacenamiento de cualquier especie del género *Ailanthus* y especialmente *A. altissima* en un lugar determinado, su uso como ornamental, su propagación, su venta, su intercambio y su transporte, para evitar su introducción en la naturaleza, según el código de conducta sobre horticultura y plantas invasoras (Heywood & Brunel, 2009).

Respecto al control biológico, existen en China un total de 32 especies de artrópodos y 13 de hongos que actúan como enemigos naturales de *A. altissima* en su hábitat natural, pero en los hábitats receptores de la invasión, *A. altissima* resulta poco apetitoso para los insectos fitófagos autóctonos, ya que en extractos de hojas frescas se han detectado efectos insecticidas (Climent et. al., 2006).

La integración de diferentes técnicas que utilizan tanto métodos físicos como métodos de control químico es más efectiva que el uso de los métodos de forma independiente.

El control físico se puede hacer a mano, tirando de las plantas jóvenes cuando el suelo está húmedo, con la precaución de incluir también todas las raíces y los fragmentos, ya que son propensos a rebrotar. Por medios mecánicos, la solución para las infestaciones pequeñas se basa en realizar talas y podas repetitivas a fin de agotar la planta. Es mejor realizar esta tarea a principios de verano, cuando las reservas de las raíces son más débiles. Además la tala de árboles podría reducir la propagación de las semillas de esta especie.

Se recomienda el control químico para los árboles maduros, que se puede llevar a cabo mediante la aplicación de herbicidas en las hojas o por inyección en cortes.

En aquellos lugares en que fuera propicio introducir *A. altissima*, los mejores sustitutos de la Simarubácea son, según la zona, y usándose solo donde

sean autóctonas, para zonas secas: *Colutea arborescens*, *Coronilla glauca*, *Callitome spinosa*, y Fabaceae procedentes de la cuenca mediterránea, y si la plantación se realiza con fines ornamentales: *Fraxinus angustifolia* y *Celtis australis* procedentes del área mediterránea (Heywood & Brunel, 2009).

### Conclusiones

*Ailanthus altissima* tiene éxito como invasora por características bioecológicas muy favorables: elevada resistencia, comportamiento casi ubiquista, elevada capacidad reproductora, y por su uso inadecuado como planta ornamental.

La problemática viene dada por sus resistencias, por la formación de sustancias alelopáticas, por la presión de desplazamiento sobre otras especies, y porque transforma el funcionamiento del ecosistema en el que se instala.

La erradicación de esta especie invasora es prácticamente imposible. Utilizando sinérgica y reiteradamente mecanismos de control físicos y químicos, se podrían controlar las poblaciones y su expansión. No obstante son necesarias campañas de sensibilización, ya que la población ignora su peligro potencial.

### Bibliografía

- Andreu, J. & Vilá, M. 2007. Análisis de la gestión de las plantas exóticas en los espacios naturales españoles. *Ecosistemas* 16:109-124.
- Andreu, J. & Vilá, M. 2009. Gestió de les invasions vegetals a Catalunya. *L'atzavara* 18:67-75.
- Anthos. 2010. Sistema de información de las plantas de España. Real Jardín Botánico, CSIC Fundación Biodiversidad. <http://www.anthos.es/>
- Castro Díez, P., González Muñoz N. & Alonso Fernández, A. 2008. Los árboles exóticos invasores alteran la tasa de descomposición de la hojarasca. *Cuad. Soc. Esp. Cienc. For.* 25:99-104.
- Climent, A., Constán Nava, S., Terrones, B., Pastor, E. & Bonet, A. 2006. Distribució de les poblacions de l'espècie invasora *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle al parc natural del Carrascal de la Font Roja. *Iberis* 4:89-102.
- Constán Nava, S., Bonet Jornet, A. & Serra Laliga, L. 2008. Efectos de la especie invasora *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle sobre la diversidad vegetal en bosques de ribera del LIC Serra de Mariola y Carrascal de la Font Roja. *Iberis* 6:65-75.
- Crespo, L., López, L., Martín, S., Martínez, M. & Saavedra, B. 2008. Flora bioinvasora al Parc de Collserola. El cas d'*Ailanthus altissima*. Diagnosi ambiental al Parc de Collserola, pp. 65-69.
- Dana, E.D., Sobrino, E. & Sanz Elorza M. 2003. Plantas invasoras en España: un nuevo problema en las estrategias de conservación: 1009-1027. *in* Baña-

- res, Á., Blanca, G., Güemes, J., Moreno, J.C., & Ortiz, S. 2003. Atlas y Libro Rojo de la Flora Vasculare Amenazada de España. Dirección General de Conservación de la Naturaleza. Madrid.
- Delgado, J.A., Gómez, A., Esteban, C. & Serrano, J.M. 2005. Distribución de las especies invasoras de la comunidad de Madrid. 4º Congreso forestal español; ponencia 107. SECF.
- Estatuto, de acordo com o Decreto-Lei 565/99 de 21 de Dezembro, de Portugal. Anexo I – Espécie introduzida em Portugal Continental, Espécie Invasora.
- Gildemeister, H. 2006. Jardinería en clima mediterráneo: 20 propuestas que ahorran agua. Mundi Prensa Libros.
- Heisey, R.M. 1990. Evidence for allelopathy by tree-of-heaven (*Ailanthus altissima*). J. Chem. Ecol. 16 (6):2039-2055.
- Heisey, R.M. 1996. Identification of an allelopathic compound from *Ailanthus altissima* (Simaroubaceae) and characterization of its herbicidal activity. Am. J. Bot. 83:192–200.
- Heywood, V. & Brunel, S. 2009. Código de conducta sobre horticultura y plantas invasoras. Convenio relativo a la Conservación de la Vida Silvestre y el Medio Natural en Europa (Convenio de Berna).
- Lin, L-J., Peiser, G., Ying, B-P., Mathias, K., Karashina, F., Wang, Z., Itatani, J., Green, L. & Hwang, Y-S. 1995. Identification of plant growth inhibitory principles in *Ailanthus altissima* and *Castela tortuosa*. J. Agric. Food Chem. 43:1708-1711.
- Navarro Aranda, C. & Muñoz Garmendia, F. Borrador de 2008. *Ailanthus*.– in Castroviejo Bolivar, S. Flora Ibérica. Plantas vasculares de la Península Ibérica e Islas Baleares. <http://www.floraiberica.es/>
- Quesada, J., Valle, F. & Salazar, C. 2009. Aportaciones al conocimiento de la flora alóctona ornamental presente en ríos de la provincia de Jaén (S. España). Bouteloua 6:80-86.
- Sanz Elorza, M., González Bernardo, F. & Serreta Oliván, A. 2009. La flora alóctona de Aragón (España). Bot. Complut. 33:69-88.
- Terrones B., Constán-Nava S., Vizcaíno N., Climent A. & Bonet A. 2006. Hábitat disponible para la especie invasora *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle en el P.N. del Carrascal de la Font Roja, Alicante. En: Invasiones biológicas: un factor de cambio global. EEI 2006 actualización de conocimientos, pp. 121-132. Grupo Especialista en Invasiones Biológicas. León.
- Torre Fernández, F. de la. 2003. Las plantas invasoras en Asturias. *Naturalia Cantabricae* 2:33-43.

## BAÚL DE LA CIENCIA

### El arsénico, ese conocido tan desconocido

Luis Mariano Mateos Delgado

Área de Microbiología. Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales de la Universidad de León.

Una reciente publicación científica en la prestigiosa revista “Science” abogaba por la aparición de otro tipo de forma de vida (“extraterrestre” se ha dicho) basándose en la aparente abundancia de resultados proporcionados por el descubrimiento de una bacteria que aparentemente había sustituido el fósforo, uno de los elementos esenciales para la vida, tal cual la conocemos, por el arsénico (Wolfe-Simon et al., 2010). Dado que este asunto supone un tema complejo, incluso para personas que estamos dentro de este campo de la ciencia, en este “Baúl de la ciencia” se pretende explicar de la forma más sencilla posible cuál es el papel del arsénico en la naturaleza y cómo este elemento interacciona negativamente con los seres vivos. Desde este conocimiento básico tendremos más fundamentos para avalar o refutar la existencia de una forma de vida diferente a la convencional que describen los autores de la publicación.

**Palabras clave:** arsénico, toxicidad, desintoxicación celular, biorremediación, bacteria primitiva.

#### El arsénico y su evolución en la naturaleza

Si preguntáramos a cualquier persona de la calle que nos dijera qué conoce sobre el arsénico, casi todas nos contestarían algo que mayoritariamente tendría que ver con temas morbosos sobre envenenamientos. Incluso en el discurso reciente de la ceremonia de concesión del Nobel de Literatura, Vargas Llosa hizo alguna alusión a este tema. No obstante, en muchos casos desconocemos los fundamentos biológicos que rigen esas manifestaciones tan manidas. En primer lugar, ¿qué es el arsénico y dónde se encuentra? La etimología del nombre arsénico parece proceder del griego *arsenikon*, que significa masculino y con el que se identificaba un sulfuro de arsénico (oropimente). Se trata de un elemento químico cuyo símbolo es As y con número atómico 33. Dentro de la tabla periódica pertenece al grupo 15 (columna), periodo 4 (fila) y bloque p (por el orbital que ocupan los electrones externos) (**Fig. 1**), de forma que los elementos del mismo grupo presentarán configuraciones electrónicas externas equivalentes, y los pertenecientes al mismo periodo presentarán masas atómicas que se incrementan progresivamente, pero no muy dispares. Los elementos químicos de este grupo 15 (nitrógeno, fósforo, arsénico, antimonio y bismuto) tendrán propiedades físico-químicas equivalentes, dado que estas propiedades dependerán de las

interacciones de los electrones de la capa externa (Silver y Phung 2002); éste primer aspecto sería de relevancia para entender que el arsénico pudiera suplantar al fósforo en ciertas formas de vida, dando un cierto sentido al trabajo descrito por Wolfe-Simon et al. (2010).

Grupo →	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Periodo ↓																		
1	1 H																	2 He
2	3 Li	4 Be											5 B	6 C	7 N	8 O	9 F	10 Ne
3	11 Na	12 Mg											13 Al	14 Si	15 P	16 S	17 Cl	18 Ar
4	19 K	20 Ca	21 Sc	22 Ti	23 V	24 Cr	25 Mn	26 Fe	27 Co	28 Ni	29 Cu	30 Zn	31 Ga	32 Ge	33 As	34 Se	35 Br	36 Kr
5	37 Rb	38 Sr	39 Y	40 Zr	41 Nb	42 Mo	43 Tc	44 Ru	45 Rh	46 Pd	47 Ag	48 Cd	49 In	50 Sn	51 Sb	52 Te	53 I	54 Xe
6	55 Cs	56 Ba		72 Hf	73 Ta	74 W	75 Re	76 Os	77 Ir	78 Pt	79 Au	80 Hg	81 Tl	82 Pb	83 Bi	84 Po	85 At	86 Rn
7	87 Fr	88 Ra		104 Rf	105 Db	106 Sg	107 Bh	108 Hs	109 Mt	110 Ds	111 Rg	112 Uub	113 Uut	114 Uuq	115 Uup	116 Uuh	117 Uus	118 Uuo
Lactánidos	57 La	58 Ce	59 Pr	60 Nd	61 Pm	62 Sm	63 Eu	64 Gd	65 Tb	66 Dy	67 Ho	68 Er	69 Tm	70 Yb	71 Lu			
Actinidos	89 Ac	90 Th	91 Pa	92 U	93 Np	94 Pu	95 Am	96 Cm	97 Bk	98 Cf	99 Es	100 Fm	101 Md	102 No	103 Lr			

**Figura 1.** Tabla periódica de los elementos con indicación de la posición del fósforo (P), arsénico (As) y antimonio (Sb).

El arsénico (As a lo largo del texto) es un metal-metaloide, por compartir muchas de las propiedades de éstos y se presenta en la naturaleza en 4 estados de oxidación: +5, +3, 0 y -3. Las tres primeras se corresponden con formas inorgánicas de As que se denominan de forma generalizada arseniato (+5, AsV), arsenito (+3, AsIII) y As elemental (As<sup>0</sup>), dando lugar las dos primeras a los oxiácidos ácido arsénico (H<sub>3</sub>AsO<sub>4</sub>) y ácido arsenioso (H<sub>3</sub>AsO<sub>3</sub>) o trióxido de arsénico (As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>). La forma -3 es la asociada al compuesto volátil arsina (AsH<sub>3</sub>) que es extremadamente tóxico. Como es fácil de imaginar, el As inorgánico formó parte de los constituyentes primigenios de la Tierra durante su génesis hace más de 4.500 millones de años, siendo las formas inorgánicas reducidas As<sup>0</sup> y AsIII las preponderantes en ambientes anoxigénicos primitivos. Con la aparición del oxígeno en la atmósfera, el As de la corteza terrestre experimentó procesos oxidativos, siendo con el tiempo la especie inorgánica AsV la preponderante en zonas en contacto con la atmósfera (Lombi y Holm, 2010). Esta transformación también ha sido relevante para entender la evolución de los mecanismos de desintoxicación de las células frente al As (ver “papel que juegan los seres vivos frente al arsénico”).

## **Origen del arsénico ambiental**

El As se encuentra distribuido ampliamente en la naturaleza siendo el vigésimo elemento en importancia con relación a su presencia en la corteza terrestre [3-5 mg/kg o partes por millón (ppm)]. Esto es principalmente debido a su presencia como constituyente en un enorme número de minerales y rocas de la corteza terrestre; el principal mineral de As en nuestras latitudes es la arsenopirita o mispíquel ( $\text{FeAsS}$ ), mientras que otros arseniuros metálicos como niquelina ( $\text{NiAs}$ ), cobaltina ( $\text{CoAsS}$ ), gersdorffita ( $\text{NiAsS}$ ), esmaltita ( $\text{CoAs}_2$ ), rejalgar ( $\text{As}_4\text{S}_4$ ) y oropimente ( $\text{As}_4\text{S}_6$ ) suponen ejemplos muy representativos. La arsenolita ( $\text{As}_2\text{O}_3$ ), es la forma mineral del trióxido de As; este último se genera como producto de la alteración de los agentes atmosféricos sobre minerales de As o al calcar los arseniuros de Fe, Co o Ni con el aire. El As ambiental puede tener origen natural o humano; en el primero de los casos el As procedería de emanaciones volcánicas, lixiviaciones de rocas y liberación de acuíferos subterráneos que afloran al exterior. La intervención humana en la movilización de As se ha manifestado principalmente asociada a labores de minería y posterior procesamiento del mineral (combustión de fósiles, extracción de metales preciosos, etc.), así como al uso de ciertos derivados de As en procesos industriales que en muchos de los casos es difícil poderse imaginar (Mukhopadhyay et al. 2002). Algunas aplicaciones tienen que ver con su uso para aleaciones especiales, elaboración de vidrios, manufacturación de pinturas, elaboración de herbicidas o preparación de algunos agentes quimioterapéuticos para su aplicación en humanos, por citar algunas de las aplicaciones más relevantes.

## **Efectos del arsénico sobre la salud**

El As ha sido el veneno por excelencia y su historia ha estado ligada durante mucho tiempo a la de la Humanidad, aunque durante siglos ha ido íntimamente ligado a la farmacopea con indicación especial en el tratamiento de ciertas dolencias, como purgante y como agente “elixir de la juventud” (usado a dosis bajas). Incluso actualmente siguen persistiendo ideas benévolas en “medicinas” homeopáticas y remedios tradicionales de China, India, sureste de Asia, etc., en base a observaciones en estos pacientes de efectos rejuvenecedores como un aumento en la turgencia de la piel. Los taxidermistas también lo aplican en los procesos de momificación, aunque en este caso por su toxicidad, impidiendo la degradación acelerada de los tejidos por putrefacción microbiana.

### El As y la muerte de Napoleón

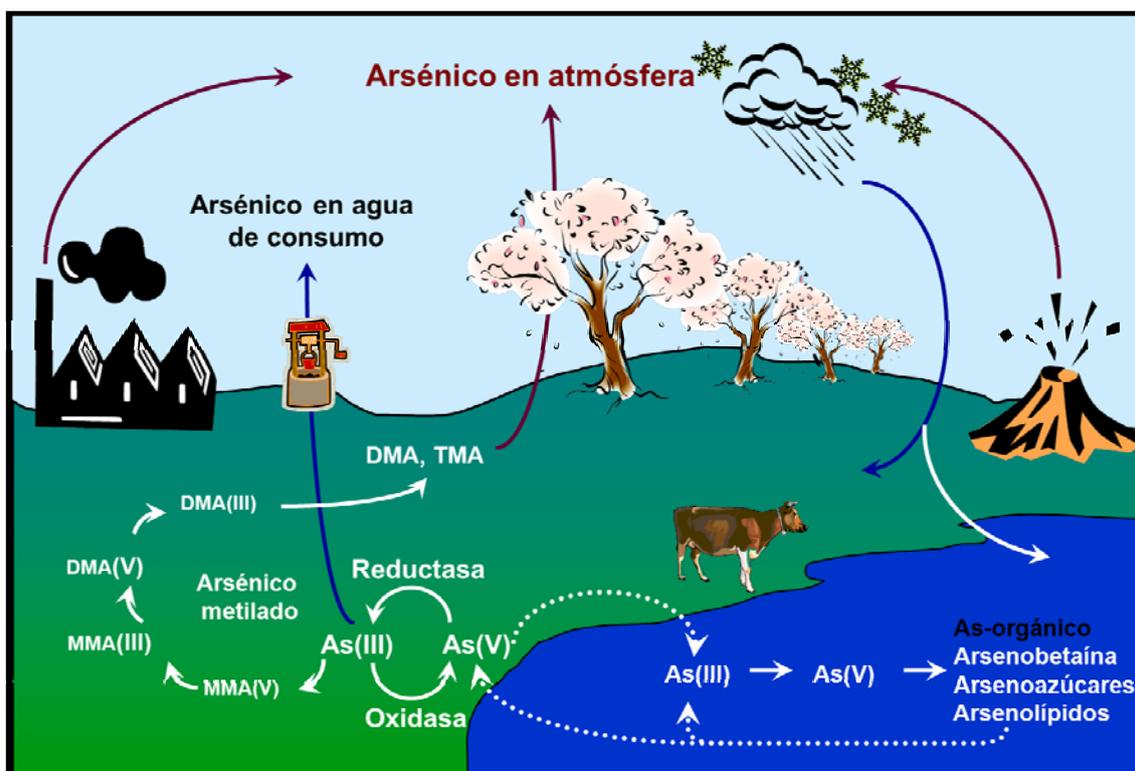
Quizás el mayor tema de debate por envenenamiento con As es el que tiene que ver con la muerte de Napoleón en 1821. Aunque la autopsia de su

cadáver constató la existencia de un cáncer de estómago, se cuestionó su veracidad cuando en el año 1961 se realizó un análisis de cabello del cadáver y se descubrieron grandes cantidades de As en el pelo (100 veces más que lo habitual). Se habló de diferentes teorías que incluían su envenenamiento por adición de As en el vino, y también su muerte por un envenenamiento no inducido y causado por las condiciones de extrema humedad de su última residencia en el destierro (isla de Santa Elena), dado que sus habitaciones se encontraban empapeladas con papel pintado que incluía As. La humedad del papel pintado favorecería el crecimiento de hongos que movilizaban el As a formas volátiles que serían inhaladas por Napoleón. Sin embargo, y aunque estos aspectos pudieran considerarse desencadenantes de procesos tumorales a un plazo más largo, los análisis de cabellos de Napoleón de épocas precedentes a su destierro confirmaron también la presencia de elevados niveles de contaminación de As; este aspecto también ha sido observado en pelos procedentes de individuos control de esa misma época por lo que parece que los niveles de contaminación por As eran elevados de forma generalizada, entre otras cosas quizás por el prestigio de la farmacopea de la época que incluía pócimas con As (Mari et al., 2004).

### El ciclo del As y su toxicidad

El As es uno de los elementos más tóxicos que existen en la Naturaleza y de hecho desde hace una década constituye el compuesto más tóxico y con mayor riesgo en humanos, según describe la agencia para el registro de agentes tóxicos causante de enfermedades (ATSDR; <http://www.atsdr.cdc.gov/cercla/07list.html>). Sin embargo esta toxicidad depende de su combinación (orgánico o inorgánico), y de su estado de oxidación, siendo mucho más tóxicas las formas inorgánicas reducidas, frente a las oxidadas. El papel que los seres vivos juegan en estas biotransformaciones es muy relevante, pudiendo favorecerse la volatilización del As mediante reducciones o metilaciones sucesivas o la acumulación de formas orgánicas de As que resultan menos tóxicas (arsenobetaina, arsenoazúcares, etc.), aunque como ocurre con todos los elementos químicos, el As como tal no desaparecerá de la naturaleza (**Fig. 2**).

La exposición a As puede ocurrir a través de inhalaciones, contacto con la piel o por ingestión (aguas y alimentos). Los niveles de As en alimentos de origen animal son habitualmente bajos al no estar permitido el uso de As y sus derivados en terapia animal; una excepción la constituye el uso de un derivado del ácido fenil-arsénico (comercialmente roxarsona) en procesos de alimentación de aves, pero con poca relevancia en cuanto a su presencia en carne dado que se excreta casi completamente. Sin embargo los niveles de As en



**Figura 2.** Ciclo del As (modificado de Mukhopadhyay et al. 2002). MMA, DMA y TMA: formas mono- di- y trimetiladas de arsénico.

peces y mariscos pueden ser elevados, dado que los peces absorben As del ambiente en el que se encuentran; este problema es más acuciante en peces de gran envergadura y con elevada longevidad, donde la bioacumulación de As (y también otros metales pesados) es notable (Lièvremon et al. 2009).

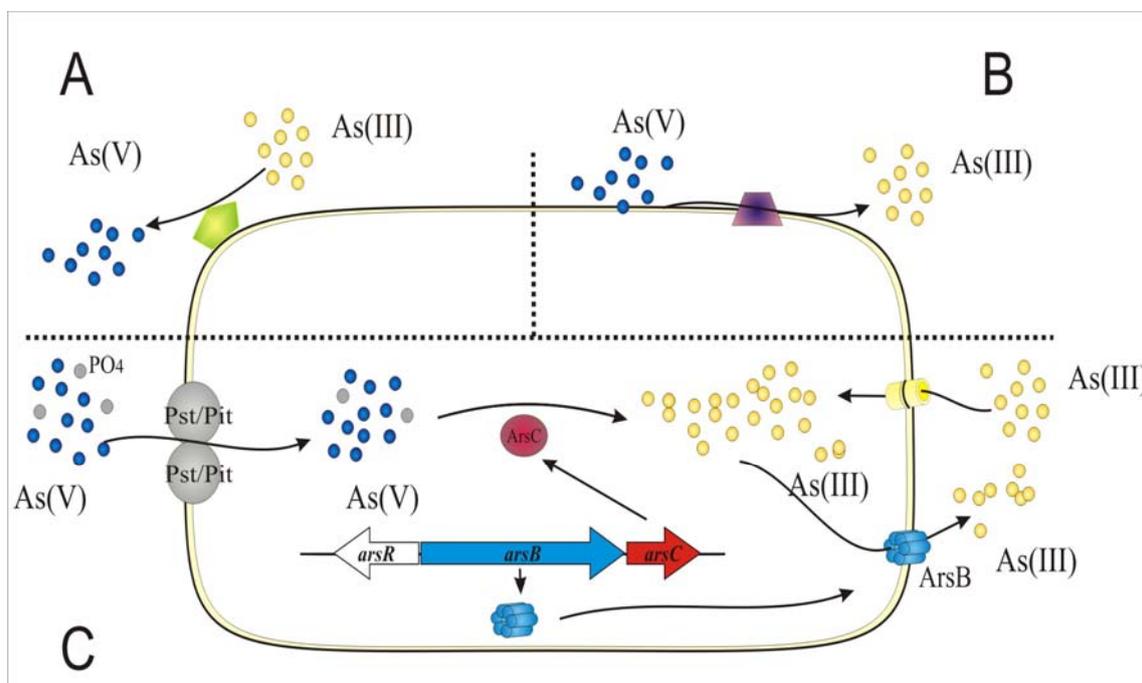
### Exposición a As y toxicidad en humanos

En humanos la exposición a As es más elevada para aquellos que (i) trabajan en empresas donde utilizan As en sus procesos industriales, (ii) para gente que vive en casas que contienen conservantes de la madera (CCA) y gente que vive en granjas donde han sido aplicados con profusión pesticidas y herbicidas con As, (iii) para personas que usan acuíferos para el suministro de agua que contienen cantidades elevadas de As, como ocurre casi de forma generalizada en algunos países del sur de Asia (India, Tailandia, Bangladesh, etc.). En nuestro país la existencia de áreas con elevadas concentraciones de As en acuíferos no es muy relevante, excepto en zonas muy concretas (alrededores del lago de Sanabria, Zamora); sin embargo algunos acontecimientos como la disminución por parte de la Organización Mundial de la Salud del límite de permisividad de presencia de As en agua, de 50 partes por billón (ppb)

americano a 10 ppb (10 microgramo/litro) han promovido la realización de análisis químicos generalizados de aguas por parte de las administraciones, saltando las alarmas cada cierto tiempo en algunos municipios (en León ha habido recientemente algunos ejemplos).

### Papel que juegan los seres vivos frente al arsénico

Es bien conocida la versatilidad metabólica que ofrecen de forma global las bacterias, por lo que no es de extrañar que a determinados grupos bacterianos bajo ciertas condiciones “les venga bien” la presencia de As en el ambiente. Esto último es mucho decir, porque lo más probable es que a esas bacterias les vendría mejor la presencia de otros compuestos para ser metabolizados, pero “a falta de pan buenas son tortas”. Me refiero a ciertos grupos bacterianos (¡ojo! y solo a algunas bacterias) que se comportan como quimiolitótrofos y/o a aquéllas que realizan un metabolismo respiratorio anaeróbico (quimiolitótrofos o quimiorganotrofos) donde el As inorgánico juega un papel relevante (**Fig. 3**). Estos procesos constituirán excepciones en relación con la toxicidad que provoca el As en los seres vivos, por lo que muchos de los organismos desarrollan mecanismos de defensa o resistencia frente al As que se describen adelante (Rosen, 2002).



**Figura 3.** Metabolismo y sistemas desintoxicantes ligados al arsénico. (A) Quimiolitotrofia asociada a bacterias del arsénico; (B) respiraciones anaeróbicas del arseniato; (C) resistencia/desintoxicación de arsénico en bacterias.

### Quimiolitótrofos que usan arsenito (AsIII)

Se trata de bacterias que presentan unas enzimas capaces de oxidar arsenito (AsIII) a arseniato (AsV), liberando dos electrones en el proceso que son utilizados para procesos generadores de energía. Las enzimas capaces de realizar este proceso son arsenito oxidasas localizadas en el periplasma celular o asociadas a su membrana citoplasmática (**Fig. 3 panel A**) y presentes en algunos microorganismos Gram-negativos aerobios que se suelen comportar como quimiolitótrofos facultativos. Estos microorganismos a la vez que obtienen energía en la oxidación del arsenito, realizan un proceso de desintoxicación de una forma más tóxica (arsenito) a otra forma menos tóxica (arseniató), por lo que juegan un papel importante en el ciclo de As en la naturaleza.

### Respiración anaeróbica del arseniato

Se trata de un proceso metabólico descubierto hace poco más de una década y donde algunos microorganismos utilizan una fuente de As oxidada (en ausencia de oxígeno) como aceptor final de electrones. La enzima implicada en este proceso concreto se denomina arseniato reductasa, y como ocurría en el proceso metabólico descrito previamente, la enzima está situada en el periplasma del microorganismo o asociada a su membrana citoplasmática (**Fig. 3, panel B**). En este proceso metabólico se produce una transformación de una forma de As menos tóxica (arseniató) a otra más tóxica (arsenito), pero hay que tener en cuenta que el proceso se realiza sin contactar con el citoplasma celular.

### Mecanismos de resistencia celular a As (desintoxicación celular)

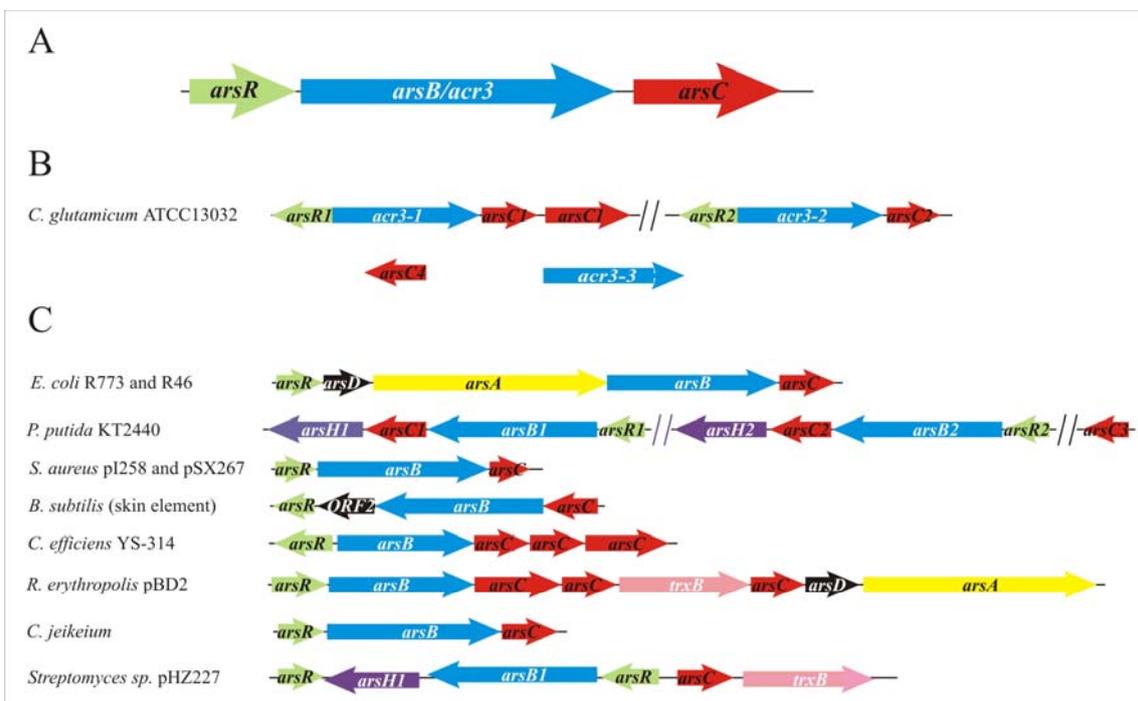
Para la mayoría de los seres vivos el As en cualquiera de sus formas solo ejerce un papel negativo para su viabilidad, y solo en los dos casos anteriores se puede hablar de cierto “beneficio” con su presencia. Sin embargo y dado que el As es casi omnipresente y ligado a muchos ambientes donde hay todo tipo de formas de vida, a estas estructuras celulares no les ha quedado más remedio que “adaptarse” a su presencia. En la mayoría de los casos esa adaptación ha consistido en adquirir una dotación genética que permita a esos organismos tener acceso a los nutrientes esenciales para la vida, pero excluir adecuadamente aquellos que le sean tóxicos. La presencia de genes u operones de resistencia a As ha sido descrita en la mayoría de los microorganismos con genomas secuenciados y que superen las 2.000 kilopares de bases, siendo estos operones incluso más frecuentes que algunas vías de biosíntesis de aminoácidos (Silver y Phung 2005); sólo en algunos microorganismos que ocupan hábitats donde el As está ausente (p.e. patógenos estrictos de animales), estos sistemas pueden estar ausentes o no ser funcionales.

Visto este tema con la perspectiva de las primeras formas de vida en la Tierra hace más de 3.500 millones de años, el ambiente existente en el planeta era totalmente anóxico, con presencia de elevadas concentraciones de As reducido (AsIII) en forma de ácido arsenioso ( $H_3AsO_3$ ) que en condiciones fisiológicas (el valor del pKa a pH 7) se puede presentar como hidróxido de arsenito [ $As(OH)_3$ ]. El hidróxido de arsenito se asemeja estructuralmente al glicerol, por lo que la vía de entrada celular más aceptada para el arsenito son las porinas de agua y glicerol (aquaglicerol porinas). Dada la toxicidad del arsenito, estas bacterias se desintoxicaron del arsenito mediante la adquisición de una permeasa para la salida de arsenito (ArsB; arsenito permeasa), de forma que el arsenito que entraba en la célula era sacado a través de la permeasa (**Fig. 3, panel C**). A lo largo del proceso evolutivo la atmósfera se convirtió en oxigénica y empezaron a aparecer formas oxidadas de As (arseniato) en grandes cantidades, por lo que la célula tuvo que desarrollar mecanismos para desintoxicarse del arseniato. Al hilo de la historia que estamos comentando podríamos pensar en la adquisición de una permeasa para la salida del arseniato, pero de este hecho no tenemos pruebas. Quizás sí que apareció en algún momento de la evolución, pero las células que presentaron la permeasa de arseniato fueron evolutivamente perjudicadas por un detalle que entenderemos a continuación.

Los sistemas de entrada de arseniato en todos los seres vivos conocidos están relacionados con los sistemas de entrada del oxianión fosfato (sistemas específicos e inespecíficos de entrada; Pit y Pst). Dado que las propiedades químicas de los oxianiones fosfato y arseniato son equivalentes (mismo grupo de la tabla periódica), y que varía en el tamaño del compuesto al ser el fosfato menos voluminoso, la entrada de fosfato está claramente favorecida sobre el arseniato. El fósforo es un elemento esencial, y por lo tanto las células suelen hacer acopio de él en estructuras denominadas volutina; si la evolución hubiera favorecido la presencia de arseniato permeasas para eliminar el tóxico, ocurriría lo mismo que en la entrada y por lo tanto la salida de fosfato estaría favorecida sobre la salida de arseniato. Es por este motivo que las células adoptaron una estrategia de mayor recorrido pero más segura, aunque inicialmente pudiera parecer contraproducente. La estrategia ha consistido en utilizar las enzimas arseniato reductasas citoplasmáticas (ArsC; distintas a las reductasas de los procesos respiratorios anaeróbicos) para reducir el arseniato incorporado a arsenito; este arsenito es muy tóxico para la célula, pero es retirado inmediatamente de la célula mediante la enzima arsenito permeasa (**Fig. 3, panel C**).

De esta forma las células evitan la pérdida del fosfato citoplasmático y se garantizan una adecuada eliminación del As en sus formas inorgánicas más

representativas. Originalmente estos genes se estarían expresando constitutivamente en los diferentes microorganismos (a lo largo de todo el ciclo celular), pero un paso más evolucionado consistió en la aparición de una proteína reguladora (ArsR; represor transcripcional) que permitiera la expresión coordinada de los genes que hemos descrito previamente. Esto daría lugar a un operón de resistencia a arsénico (*ars*) de tres componentes: *5'arsR-arsB-arsC3'* que constituye la base de los procesos de desintoxicación celular (**Fig. 3, panel C; Fig. 4, panel A**). En ausencia de arsenito (inductor), la proteína represora ArsR está unida a la región operadora impidiendo la expresión de los genes *arsR*, *arsB* y *arsC*. En presencia de arsenito la proteína represora se separa del operador y permite la expresión de los tres genes y por lo tanto la desintoxicación del contaminante. Existen ejemplos de microorganismos en los cuales no aparecen todos los genes indicados (quizás por ocupar ambientes carentes de As), y otros en los que el operón de resistencia *ars* está conformado por 5 genes (*5'arsR-arsD-arsA-arsB-arsC3'*) como es el caso de *Escherichia coli*. En otros microorganismos aparecen varios operones de resistencia a As en diferentes posiciones del cromosoma bacteriano, como ocurre en algunas bacterias como *Pseudomonas putida* y *Corynebacterium glutamicum* (**Fig. 4, paneles B y C**).



**Figura 4.** (A) Estructura básica de un operón de resistencia a arsénico de tres componentes; (B) operones de resistencia a As, *ars1* y *ars2*, en *C. glutamicum*; (C) operones *ars* descritos para otros microorganismos con estructuras génicas diferentes.

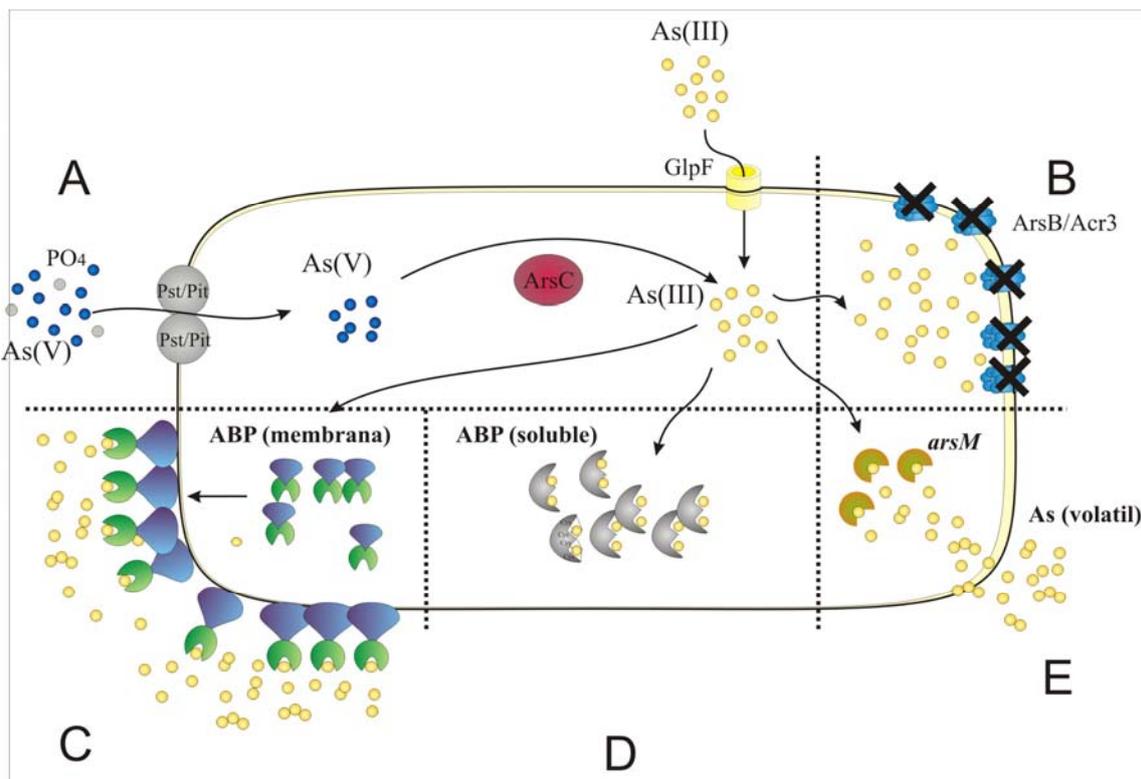
## **Estudios de los mecanismos de resistencia a arsénico en *C. glutamicum***

Lo que empezó como unos estudios preliminares de resistencia a metales con la corinebacteria *C. glutamicum* (Gram-positivo perteneciente al grupo de las actinobacterias), ha permitido a nuestro grupo de trabajo realizar análisis moleculares detallados de los dos operones de resistencia a As ligados al cromosoma bacteriano, así como la obtención de mutantes bloqueados en algunos procesos metabólicos o desintoxicantes con el objetivo de ser utilizados en procesos de biorremediación de ambientes contaminados con As (Ordoñez et al., 2005).

Algunos de los estudios han resultado de relevancia en nuestro campo de la ciencia; por una parte hemos estudiado los genes implicados en los reguladores transcripcionales (represores) que controlan la expresión del resto de los genes del operón. Estos represores (CgArsR1 y R2; **Fig. 4, panel B**) funcionan como homodímeros en la interacción del centro activo con la región operadora, así como una región reguladora para interacción con arsenito; en presencia del inductor (arsenito), el represor se “suelta” del operador y permite expresar los genes estructurales (Ordoñez et al., 2008). También han sido objeto de estudio los genes que codifican para los sistemas de salida del arsenito, las arsenito permeasas CgAcr3-1 y 2 (**Fig. 4, panel B**). Estas enzimas se comportan como canales de salida específicos para arsenito, pero no de antimonito; un elevado porcentaje de arsenito permeasas (ArsB o Acr3 dependiendo de sus características) son capaces de eliminar también antimonito debido a que su naturaleza físico-química es equivalente (Rosen y Tamas, 2010; ver la posición del antimonito en Fig. 1). Las enzimas CgAcr3 utilizan un sistema electroquímico para la salida de arsenito acoplada a la entrada de protones (antiporter) (Fu et al., 2009). El tercero de los componentes analizados han sido las enzimas arseniato reductasas (CgArsC1 y C2; **Fig. 4, panel B**) capaces de convertir arseniato en arsenito; el mecanismo de acción que utilizan estas enzimas es totalmente inédito, dado que utiliza un sistema redox basado en la presencia de micotiol (MSH) que realiza una función equivalente al del glutatión (GSH) en bacterias y en células eucariotas. En las enzimas CgArsCs el MSH está acoplado a un nuevo tipo de enzimas llamadas micorreductasas que se acoplan al MSH para realizar la reducción del arseniato; las micorreductasas han sido descritas por primera vez por nuestro grupo de trabajo (Ordoñez et al., 2009) y al igual que el MSH son específicas de las actinobacterias (*Corynebacterium*, *Mycobacterium*, etc.).

### **Procesos de biorremediación bacteriana ligada a arsénico**

La aplicación de bacterias para procesos de biorremediación de As (biosorción o biocontención) supone un sistema sencillo y económico para solventar problemas reales de contaminación de suelos y aguas; estos sistemas serían igualmente extrapolables para la biorremediación de cualquier otro metal pesado. Para ello se puede recurrir a procesos naturales donde se utilicen bacterias nativas (no modificadas) capaces de resistir en la medida de lo posible elevados niveles del metal/oide; en muchas ocasiones esta elevada resistencia natural no está ligada a una mayor capacidad de retención-acumulación del elemento. En relación con procesos de biosorción bacteriana, es decir unión o atrapamiento del elemento en la superficie externa de la bacteria sin interiorización celular, en la mayor parte de los casos descritos iría ligada a la presencia de capas S de naturaleza proteica en el exterior de la bacteria (Velásquez y Dussan, 2009). Sin embargo los casos más abundantes y efectivos serían los basados en la biocontención del elemento en estructuras celulares que no sufrirían procesos de lisis. Para la biocontención bacteriana del As existen determinados procesos celulares que se consideran determinantes para su mejora y que se representan en la **Figura 5**: (i) potenciación de las vías de entrada de arseniato (bajos niveles de fosfato) o incrementando la dosis de los genes *glpF* para permeasas de arsenito (**panel A**); (ii) obtención de mutantes modificados donde las vías de salida de arsenito (ArsB/Acr3) han sido eliminadas (**panel B**); (iii) mediante la expresión de genes que generen proteínas (ABP) con alto contenido en residuos cisteína para su interacción con arsenito (el más tóxico); las proteínas pueden tener un destino extracelular (**panel C**) o intracelular (**panel D**). Las proteínas más conocidas que cumplen estos requisitos son las fitoquelatinas y las metalotioneínas; (iv) mediante la volatilización de las formas de arsénico por clonación de genes implicados en procesos reductivos (*arsM*), generando arsinas volátiles (**panel E**).



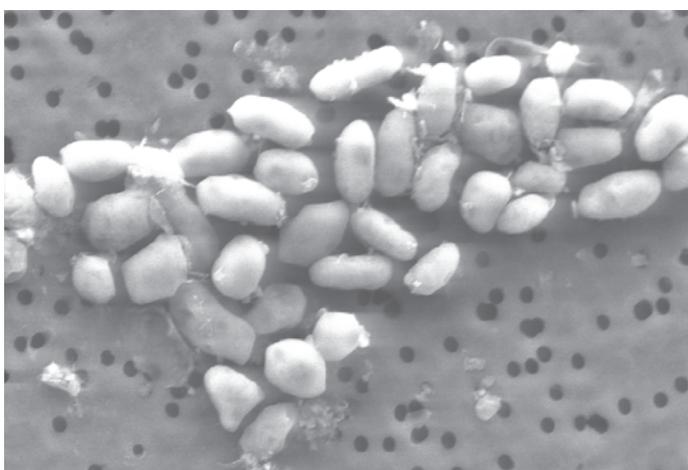
**Figura 5.** Utilización de bacterias en procesos de biorremediación, potenciando vías de entrada (A), impidiendo la salida de arsenito (B), generando péptidos-proteínas que interaccionen con As (C y D) o fomentando los procesos de volatilización (E). (Modificado de Mateos et al., 2006).

En nuestro grupo de trabajo se han optimizado algunos de los procedimientos descritos anteriormente para la bacteria *C. glutamicum*, consiguiendo cepas mutantes de *C. glutamicum* capaces de retener/acumular hasta 50/100 veces más cantidad de As que lo acumulado por la cepa original, dependiendo de la especie de arsénico acumulado; para la acumulación de As(V) se han utilizado medios de cultivo bajos en fosfato y mutantes carentes de las actividades arseniato reductasa (Villadangos et al., 2010), mientras que los estudios de acumulación de arsenito han sido realizados con mutantes cuyas permeasas de arsenito han sido eliminadas (Feo et al. 2007). Otros abordajes como la clonación de genes que potencien la entrada de arsenito (*glpF*) o que generen proteínas recombinantes con elevado número de cisteínas están igualmente siendo desarrollados en nuestro laboratorio.

### A vueltas con una vida “extraterrestre” basada en arsénico

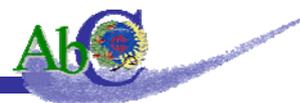
Concluimos este artículo con una aproximación a lo descrito en el trabajo de Wolfe-Simon et al. (2010). Estos autores describen que una bacteria de la

familia *Halomonadaceae* (GFAJ-1) aislada del fango del lago Mono (California, USA) que presenta elevadas concentraciones de metales, entre ellos el As (esa es la emulación de ambiente extraterrestre) ha sido capaz de ser crecida en medios de cultivo de laboratorio donde el fosfato (ácido ortofosfórico) ha sido reemplazado por el ácido arsénico (arseniato), ambos oxianiones del grupo 15. Mediante diferentes análisis físico-químicos intentan demostrar que realmente existe una sustitución del fosfato por el arseniato. Esta disertación se basa en el mimetismo estructural entre los dos compuestos, y que tendría un significado equivalente a la posible aparición de compuestos “orgánicos” ligados al silicio en vez de los que conocemos asociados al carbono.



**Figura 7.** Imagen al microscopio electrónico de barrido de células de la cepa GFAJ-1 crecidas en medio con As y carente de fosfato. (Tomada de Wolfe-Simon et al. 2010).

Hay que poner en primer lugar de manifiesto que el fosfato es un compuesto esencial para la vida y que participa con sus enlaces de tipo éster o fosfo-anhidro en moléculas estructurales (fosfolípidos, ácidos nucleicos), intermediarios del metabolismo (azúcares-fosfato, fosfoenol-pirúvico) y sobre todo en moléculas implicadas en metabolismos bioenergéticos (ATP/ADP, NADP/NADPH, GTP/GDP, etc.). De los análisis físico-químicos de las estructuras celulares de GFAJ-1, que se corresponden a fracciones donde se localizarían macromoléculas (ácidos nucleicos, proteínas, lípidos, etc.) y moléculas de otra naturaleza, parece evidenciarse la presencia de elevadas cantidades de As. Sin embargo existe un claro convencimiento entre los científicos de que al no estar algunos de los ensayos claramente explicados, pudiera tratarse de procesos de acumulación y resistencia a As en vez de tratarse de un intercambio de elementos. Uno de los aspectos más relevantes viene determinado por el crecimiento de las bacterias en medios donde supuestamente no hay fósforo. Según los datos de Wolfe-Simon et al. (2010) hay un incremento poblacional equivalente a 8 duplicaciones, aunque parece tratarse de un error y que el incremento sea el equivalente a dos duplicaciones



(Barry P. Rosen, comunicación personal). En este último caso la explicación del incremento poblacional en “ausencia de fosfato” se debería a la propia contaminación de la solución de arseniato donde siempre existen cantidades residuales de otros elementos, o bien en la degradación parcial del RNA (con corta vida media) que sería utilizado como fuente de fosfato en condiciones de necesidad.

De las muchas explicaciones que entrarían en controversia con los resultados de Wolfe-Simon et al. (2010), hay algunas que detallo a continuación y que nos pueden hacer reflexionar. (i) Por una parte la forma de fósforo que se encuentra en estructuras inorgánicas y orgánicas (celulares) es la misma (ácido ortofosfórico), y no entra en procesos de oxidación reducción dentro de las células. En el caso del As, el arseniato puede ser fácilmente reducido a arsenito, con lo que la toxicidad que se generaría sería elevada. (ii) El arseniato puede ser incorporado en los intermediarios del metabolismo (en vez de fosfato), pero se paralizarían las reacciones metabólicas, fundamentalmente por la inestabilidad de los enlaces As-O. Cuando se comparan las distancias atómicas en P-O con As-O, este último sale claramente desfavorecido (1,5 Å frente a 2 Å) y por lo tanto se necesita mucha menos energía para disociar As-O (Tawfik y Viola, 2011); también las enzimas implicadas en los procesos donde interviene As deberían ser “diferentes” a las convencionales. (iii) Igualmente, ¿cómo es posible imaginarse estructuras de ácidos nucleicos donde el fosfato sea sustituido por el arseniato con la inestabilidad de los teóricos enlaces di-ésteres arseniato?; algo equivalente ocurriría con derivados arsenicales del ATP para su uso como molécula de cambio energético.

Para entender todas estas novedades de forma coherente, se necesitaría todo un arsenal de nuevas enzimas con nuevas especificidades de las cuales hasta el momento no se tienen noticias. Parecería más lógico haber descubierto de forma secuencial bacterias con adaptaciones intermedias de incorporación o intercambio de un elemento por otro en diferentes estructuras/intermediarios, que no una bacteria donde toda esta evolución haya ocurrido de sopetón. La teoría de Wolfe-Simon et al. (2010) es que GFAJ-1 sería una bacteria muy arcaica con un ciclo vital muy primitivo basado en el As y que, durante los miles de millones de años transcurridos y favorecida por evoluciones y adaptaciones, se haya orientado la vida hacia el fósforo en la forma que lo conocemos hoy; no obstante nos siguen faltando eslabones. En todo caso nos mantendremos a la espera de que los análisis por realizar a la bacteria GFAJ-1 corroboren que el As presente sea realmente estructural y no forme parte de un proceso acumulativo, aspecto este último del cual soy totalmente partidario. En todo caso siempre nos quedará Marte.

## Bibliografía

- Fu H.L., Meng Y., Ordoñez E., Villadangos A.F., Bhattacharjee H., Gil J.A., Mateos L.M., Rosen B.P. 2009. Properties of arsenite efflux permeases (Acr3) from *Alkaliphilus metalliredigens* and *Corynebacterium glutamicum*. *J. Biol. Chem.* 284:19887-19895
- Feo J.C., Ordóñez E., Letek M., Castro M.A., Muñoz M.I., Gil J.A., Mateos L.M., Aller A.J. 2007. Retention of inorganic arsenic by coryneform mutant strains. *Water Res.* 41:531-542.
- Lièvreumont D, Bertin P.N., Lett MC. 2009. Arsenic in contaminated waters: biogeochemical cycle, microbial metabolism and biotreatment processes. *Biochimie.* 91:1229-1237.
- Lombi E., Holm P.E. 2010. Metalloids, soil chemistry and the environment. *Adv. Exp. Med. Biol.* 679:33-44.
- Mari F., Bertol E., Fineschi V., Karch S.B. 2004. Channelling the Emperor: what really killed Napoleon? *J. R. Soc. Med.* 97:397-399.
- Mateos L.M., Ordóñez E., Letek M., Gil J.A. 2006. *Corynebacterium glutamicum* as a model bacterium for the bioremediation of arsenic. *Int. Microbiol.* 9:207-215.
- Mukhopadhyay R., Rosen B.P., Phung L.T., Silver S. 2002. Microbial arsenic: from geocycles to genes and enzymes. *FEMS Microbiol. Rev.* 26:311-325.
- Ordóñez E., Van B.K., Roos G. De G.S., Letek M., Gil J.A., Wyns L., Mateos L.M., Messens J. 2009. Arsenate reductase, mycothiol, and mycoredoxin concert thiol/disulfide exchange. *J. Biol. Chem.* 284:15107-15116.
- Ordóñez E., Thiyagarajan L., Cook J.D., Stemmler T.L., Gil, J.A., Mateos L.M., Rosen B.P. 2008. Evolution of metal(loid) binding sites in transcriptional regulators. *J. Biol. Chem.* 283:25706-25714.
- Ordóñez E., Letek M., Valbuena N., Gil J.A., Mateos L.M. 2005. Analysis of genes involved in arsenic resistance in *Corynebacterium glutamicum* ATCC13032. *Appl. Environ. Microbiol.* 71:6206-6215.
- Rosen B.P. 2002. Biochemistry of arsenic detoxification. *FEBS Lett.* 529:86-92.
- Rosen B.P, Tamás M.J. 2010. Arsenic transport in prokaryotes and eukaryotic microbes. *Adv. Exp. Med. Biol.* 679:47-55.
- Silver S., Phung L.T. 2005. A bacterial view of the periodic table: genes and proteins for toxic inorganic ions. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 32:587-605.
- Tawfik D.S., Viola R.E. 2011. Arsenate replacing phosphate: alternative life chemistries and ion promiscuity. *Biochemistry.* 50:1128-1134.
- Velásquez L., Dussan J. 2009. Biosorption and bioaccumulation of heavy metals on dead and living biomass of *Bacillus sphaericus*. *J. Hazard Mater.* 167:713-716.

Villadangos A.F., Ordóñez E., Muñoz M.I., Pastrana I.M., Fiuza M., Gil J.A., Mateos L.M., Aller A.J. 2010. Retention of arsenate using genetically modified coryneform bacteria and determination of arsenic in solid samples by ICP-MS. *Talanta*. 80:1421-1427.

Wolfe-Simon F, et al. 2010. A bacterium that can grow by using arsenic instead of phosphorus. *Science*. doi: 10.1126/science.1197258



El Dr. **Luis M. Mateos** es Profesor Titular del Area de Microbiología de la Universidad de León y lleva dedicado a la docencia e investigación más de 25 años. Imparte docencia en Licenciaturas y Grados de Ciencias Biológicas, Ambientales y Biotecnología de la Universidad de León, así como en el Master “Metodología de investigación en biología fundamental y biomedicina” y en el correspondiente programa de Doctorado asociado al Departamento de Biología Molecular. Su labor investigadora siempre ha estado vinculada al campo de la biotecnología y concretamente al uso de las corinebacterias (bacterias Gram-positivas) como telón de fondo

en sus estudios de carácter básico y aplicado. Fruto de esta labor investigadora ha publicado más de 40 artículos científicos en revistas y libros de relevancia internacional en su ámbito de trabajo.

## UNO DE LOS NUESTROS

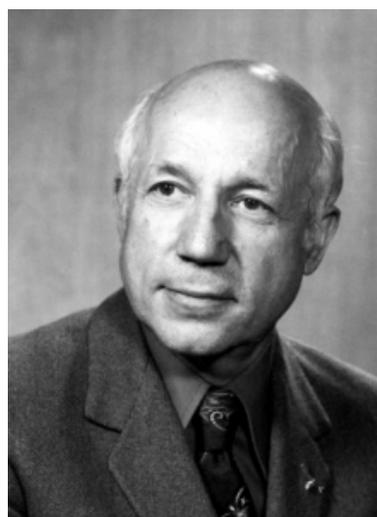
### Melvin Calvin (1911-1997): un Premio Nobel de Química que revolucionó la fisiología vegetal

Roberto Blanco Aller<sup>1</sup>, Juan Antonio Régil Cueto<sup>1</sup> y José Luis Acebes Arranz<sup>2</sup>

(1) Departamento de Biodiversidad y Gestión Ambiental (área de Zoología);

(2) Departamento de Ingeniería y Ciencias Agrarias (área de Fisiología Vegetal)

Queremos recordar cuando se cumplen 100 años de su nacimiento, a un personaje que algunos biógrafos han tildado de mente excepcional y sabiduría compleja y refinada. Y la razón de esta elección radica en que a él se atribuye la importancia de clarificar a lo largo de los años cincuenta la serie de procesos bioquímicos que se producen en los organismos fotosintéticos, lo cual significó para quien en esta ocasión ocupa la sección de “Uno de los nuestros” el reconocimiento internacional en 1961 con el Premio Nobel de Química. Su carrera investigadora, en gran parte realizada en la Universidad de Berkeley (California) conjuntamente con Andrew A. Benson, ha



*Melvin Calvin*

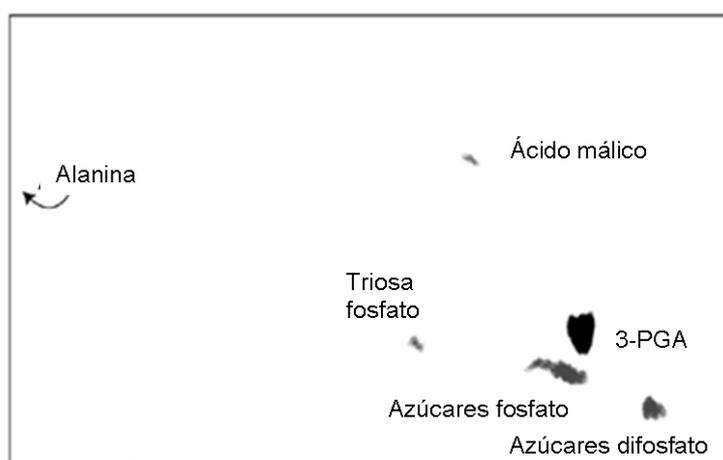
**Figura 1:** Melvin Calvin.

marcado un extraordinario avance en el conocimiento de esos procesos y especialmente ha servido de gran impulso para que algunas ciencias biológicas, como es el caso de la Fisiología Vegetal, hayan visto complementadas sus bases científicas con aportaciones de gran rigor. Entre esas bases, que, sin duda alguna, han significado una gran revolución para esta ciencia, la fase de fijación del CO<sub>2</sub> en la fotosíntesis, pasará a la historia de la ciencia como el ciclo de Calvin o de Calvin-Benson o ciclo fotosintético de reducción del carbono.

#### Historia del ciclo de Calvin

Calvin y sus colaboradores utilizaron cultivos del alga verde unicelular *Chlorella pyrenoidosa* (Chlorophyta), que tiene la ventaja de completar su ciclo biológico rápidamente y para ello solo requieren CO<sub>2</sub>, agua, pequeñas cantidades de nutrientes y una fuente de iluminación. El planteamiento experimental del equipo de Calvin consistió en aportar CO<sub>2</sub> marcado con <sup>14</sup>C (<sup>14</sup>CO<sub>2</sub>) a sus cultivos de algas, que lo fijaban en la fotosíntesis, y al cabo de distintos tiempos interrumpían el proceso sumergiendo los cultivos en etanol

hirviendo. Acto seguido homogenizaban las células y sometían el extracto a cromatografía bidimensional en papel. Los compuestos en los cuales se había fijado el  $^{14}\text{C}$  eran detectados mediante autorradiografía, utilizando una película de rayos X (**Fig. 2**). Cuando interrumpían la fotosíntesis a los pocos segundos observaban que la radiactividad se incorporaba a distintos compuestos de 3 carbonos (triosas fosfato). Reduciendo progresivamente el tiempo de aporte de  $^{14}\text{CO}_2$  encontraron que el primer compuesto estable marcado que aparecía era el 3-fosfoglicerato (3-PGA), y que por tanto el resto de azúcares fosfato debían ser productos derivados de la reducción posterior del 3-PGA. La hipótesis más sencilla que cabía pensar para explicar el proceso era que debería existir un compuesto de dos carbonos sobre el cual se fijara este  $\text{CO}_2$  para producir 3-PGA. Sin embargo, por más intentos que hicieron, no lograron aislar este hipotético compuesto.

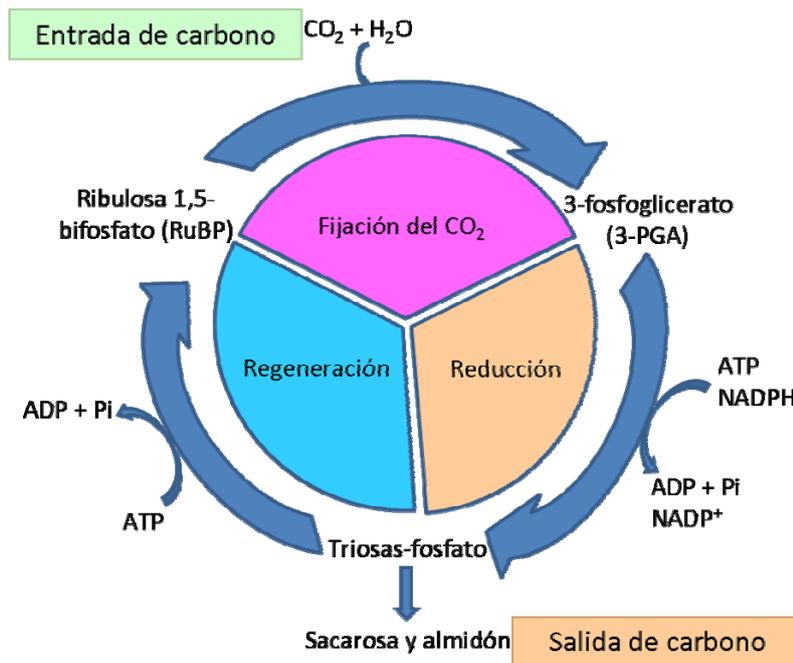


**Figura 2.** Autorradiografía de los compuestos marcados después de permitir la fotosíntesis de *Chlorella* en presencia de  $^{14}\text{CO}_2$  durante 5 segundos. Los compuestos marcados en el extracto se separaron mediante cromatografía bidimensional en papel. El intenso marcaje del 3-fosfoglicerato (PGA) a tiempos de exposición muy cortos indica que es el primer intermediario estable en el ciclo de Calvin. (Adaptado de Bassham, 1965).

Al caer en la cuenta de que también aparecía marcaje en varios compuestos de 5 carbonos (pentosas monofosfato y una pentosa bifosfato) plantearon una hipótesis alternativa: un compuesto de 5 carbonos sería el aceptor del  $\text{CO}_2$  y a continuación el metabolito de 6 carbonos resultante se descompondría en dos compuestos idénticos de 3 carbonos. Para probar esta hipótesis dejaron que los cultivos de células tomaran  $^{14}\text{CO}_2$  durante un breve tiempo y acto seguido eliminaron la fuente de  $\text{CO}_2$ . Observaron que al tiempo que iba disminuyendo la concentración de 3-PGA, aumentaba la cantidad de un compuesto de 5 carbonos que resultó ser la ribulosa-1,5-bifosfato (RuBP).

Más adelante comprobaron que si interrumpían el aporte de luz en lugar del de  $\text{CO}_2$ , la concentración de RuBP disminuía, y se acumulaba 3-PGA, pero el aumento de los niveles de éste era el doble que el descenso de RuBP. Además, cuando los niveles de RuBP llegaban a desaparecer, disminuían también rápidamente los de PGA. Interpretando estos resultados llegaron a la conclusión de que una molécula de  $\text{CO}_2$  se incorporaba a otra de RuBP, generando dos moléculas de 3-PGA.

Experimentos posteriores, en los cuales participaron también otros grupos de investigación, lograron esclarecer todos los intermediarios de la ruta. Una vez identificados todos los actores, se pudieron establecer tres fases en el ciclo: 1) la **fijación del  $\text{CO}_2$**  (mediante carboxilación del RuBP), 2) la **reducción** posterior de este carbono fijado en hidratos de carbono, (que requiere ATP y poder reductor), y 3) la **regeneración** de la RuBP, (que también requiere ATP) (**Fig. 3**).



**Figura 3.** Esquema simplificado de las tres fases del ciclo de Calvin. 1) Fijación del  $\text{CO}_2$ , mediante la carboxilación de ribulosa 1,5-bifosfato (RuBP) para originar dos moléculas de 3-fosfoglicerato. 2) En la fase de reducción, se producen triosas-fosfato más reducidas, en un proceso que consume ATP y poder reductor (NADPH). Parte de las triosas-fosfato se utilizará para la síntesis de otras moléculas, como sacarosa y almidón. 3) En la fase de regeneración, la otra parte de las triosas-fosfato se usará para volver a formar RuBP, en un proceso que conlleva 10 reacciones y en el que se consume ATP. En el equilibrio, la entrada de 3 moléculas de  $\text{CO}_2$  en el ciclo se compensa con la salida de una molécula de triosa-fosfato, para lo cual se requiere el consumo de 6 moléculas de NADPH y 9 de ATP.

Estas contribuciones han tenido su repercusión en múltiples campos, entre los que se incluyen las energías renovables, la demostración de cómo actúan algunos materiales fotoeléctricos y en las ideas actuales sobre la evolución de la vida.

Nuestro reconocimiento sobre la ingente labor desarrollada por este científico norteamericano tiene su traducción en una sencilla biografía cronológica cuya única pretensión de alcance es mostrar los momentos más significativos de su vida y trayectoria científica. A través de ese paseo analítico por su existir, se ponen, no obstante, de manifiesto momentos complejos en su labor investigadora, que en la mayor parte de las ocasiones, son el resultado en paralelo de los vaivenes que sacudieron al mundo en el siglo XX.

### **Cronología biográfica**

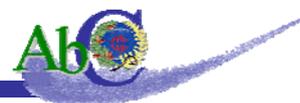
1911.- Nace el 8 de Abril en Saint Paul (Minnesota), en el seno de una familia de emigrantes rusos; su padre era lituano y su madre originaria de la Georgia rusa. Básicamente vive en Detroit su infancia y juventud hasta el acceso a la Universidad, ya que sus padres tenían una modesta tienda de abarrotes (comestibles) y en ella, el joven Melvin ayuda simultaneando esta tarea, con sus estudios en la escuela secundaria. Su vocación por la química, es probable que se inicie aquí, pues muestra mucha inquietud por la composición de los productos que se venden en el establecimiento y esta fase de su vida será decisiva para sus estudios universitarios.

1931.- Se licenció en Química, después de los estudios realizados sobre esta ciencia, en la Escuela de Minería y Tecnología de Michigan, actual Universidad Tecnológica de Michigan (MTU), fundada en 1885.

1935.- Obtiene el doctorado por la Universidad de Minnesota con una tesis dedicada a la afinidad electrónica de los halógenos dirigida por el profesor George A. Glocker, considerado por muchos biógrafos, relevante químico estadounidense y maestro de muchas vocaciones, como la que, sin duda, hizo nacer en Calvin.

1936.- Realiza estudios postdoctorales en la Universidad de Manchester con el profesor Michael Polanyi (1891-1976), sobre ftalatocianinas, compuestos de color verde azulado, que tienen un alto interés en la industria de colorantes y pigmentos. Y en esta etapa de su vida, establece contacto con Joel Hildebrand (1881-1983) de Manchester y Gilbert Newton Lewis (1875-1946), que van a suponer para él, la entrada en la élite de los centros americanos de investigación química.

1937.- Consecuencia directa de esa oportunidad anterior, es la incorporación a la Universidad de California (Berkeley) como instructor. En los años posteriores, se interesaría por el proceso de la fotosíntesis, empleando



cultivos de *Chlorella pyrenoidosa*. En la elección de este alga jugó un gran papel el fisiólogo y bioquímico alemán Otto Heinrich Warburg (1883-1970), quien había realizado en la década de los años 30, importantes aportaciones al conocimiento de la fotosíntesis en este alga y por ello fue reconocido con el Premio Nobel de Fisiología y Medicina en 1931.

1941.- Publica en colaboración con G.E.K. Branch la obra: “*The Theory of Organic Chemistry*”. Es nombrado “assistant Professor” en Berkeley.

1945.- En la misma Universidad progresa en la carrera docente, siendo nombrado “Associate Professor” de Química. Dos años después sería promovido como “Full Professor”, puesto en el que permanecería hasta su retirada.

1946-1957.- Es propuesto para ser el director del Laboratorio de Radiación y Biodinámica Química de la Universidad de Berkeley, que había fundado Ernest Orlando Lawrence, institución pionera en la aplicación de radioisótopos. En este intervalo, tiene una especial trascendencia para su vida la amistad que entabla en 1948 con el profesor Hiroshi Tamiya (1903-1984) de la Universidad de Tokio y su esposa que viajaron a Berkeley para efectuar algunos ensayos de fotorrespiración en plantas utilizando  $^{14}\text{C}$  y que tuvo su materialización en algunas publicaciones conjuntas de alto impacto en el conocimiento químico del momento, como fueron “*The path of carbon in photosynthesis*” (1948), en colaboración con Andrew A. Benson; “*Isotopic Carbon*” (1949) donde participan varios autores; en 1952 y con E. E. Martell colabora en la obra titulada “*The Chemistry of the Metal Chelate Compounds*”.

1954.- Entra a formar parte como miembro de honor de la National Academy of Sciences de los Estados Unidos.

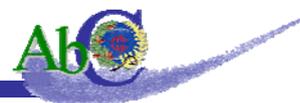
1957.- Junto a J. A. Bassham publica “*The Path of Carbon in Photosynthesis*” que recopila una gran parte de las anteriores contribuciones seriadas del mismo título y publicadas en diversas revistas.

1961.- Recibe el Premio Nobel de Química por sus quince años de estudios sobre la serie de reacciones o caminos de la asimilación del  $\text{CO}_2$  en plantas usando *Chlorella*.

1964.- Recibe la medalla Davy, distinción otorgada desde 1877, por la Royal Society de Londres, a descubrimientos de alto interés en cualquier rama de la química. Su nombre proviene del químico británico Humphry Davy (1778-1829), considerado junto con Volta y Faraday, los fundadores de la electroquímica. Este galardón de renombre internacional está dotado con un premio superior a las 1000 libras esterlinas.

1969.- Aparece publicada su obra “*Chemical Evolution: Molecular Evolution towards the Origins of Living Systems on Earth and Elsewhere*”.

1978.- Su artículo titulado “*Simulating photosynthetic quantum conversion*” alcanza una notable relevancia en este campo.



1980.- Se retira después de muchos años de enseñanza y de profunda investigación por variados caminos relacionados con la ciencia química. En esta fase final de su vida, interviene como evaluador y supervisor para diferentes comités y academias. Colabora con los presidentes Kennedy y Johnson como miembro del denominado oficialmente Comité Científico Asesor del Presidente de los Estados Unidos.

1989.- Es galardonado con la Medalla Nacional de la Ciencia o Medalla Presidencial a la Ciencia, que concede el Presidente de los Estados Unidos, bajo propuesta de la Fundación Nacional de Ciencias (NSF-National Science Foundation). En este mismo año aparece publicado uno de sus últimos artículos cuyo título es: “*Forty years of photosynthesis and related activities*”.

1997.- Fallece en Berkeley, el 8 de Enero, a la edad de 86 años.

### **Bibliografía**

- Bassham, T.A. 1965. Photosynthesis: The path of carbon. En Plant Biochemistry, 2nd ed., J Bonner & E Varner, eds., Academic Press NY pp. 875-902.
- Bassham, J.A., Calvin, M. 1957. The Path of Carbon in Photosynthesis. Prentice-Hall. Englewood Cliffs, NJ. 104 pp.
- Bassham J.A., Calvin M. 1962. The Photosynthesis of Carbon Compounds. W.A. Benjamin, NY.
- Branch, G.E.K., Calvin, M. 1941. The Theory of Organic Chemistry. An advanced course. New York: Prentice-Hall.
- Calvin, M. 1962. The path of carbon in photosynthesis. Science 135: 879-889.
- Calvin, M. 1969. Chemical Evolution: Molecular Evolution towards the Origins of Living Systems on Earth and Elsewhere. New York: Oxford.
- Calvin, M. 1978. Simulating photosynthetic quantum conversion. Accts. Chem. Res. 11:369-74.
- Calvin, M. 1989. Forty years of photosynthesis and related activities. Photosyn. Res. 21: 3-16.
- Calvin, M, Benson, A.A. 1948. The path of carbon in photosynthesis. Science. 107:476-80.
- Calvin, M., Heidelberger, C., Reid, J.C., Tolbert, B.M., Yankwich, P.E. 1949. Isotopic Carbon. New York: John Wiley.
- Martell, A., Calvin, M. 1952. The Chemistry of the Metal Chelate Compounds. Prentice-Hall Inc. New York, 612 pp.
- Seaborg, G.T., Benson, A.A. 1998. Melvin Calvin, 1911—1996. A biographical memoir. Biographical Memoirs V. 75. National Academy of Sciences. National Academies Press, pp. 96-115.



**Roberto Blanco Aller** es Doctor en Biología por la Universidad de León desde Marzo de 2011 con la tesis doctoral titulada: “Los adéfagos acuáticos (Coleoptera) de Costa Rica”. Realiza varias actividades de colaboración con el Dr. J. A. Régil para la construcción de una web dedicada a los coleópteros acuáticos, que reúne principalmente aspectos biográficos, taxonómicos y bibliográficos de este conjunto de insectos. Ha realizado diversos cursos sobre entomología forense y ha participado como ponente en varios cursos sobre entomología aplicada. Habitualmente colabora en esta sección de la revista dedicada esencialmente a las biografías de científicos relevantes de ámbito mundial.



**Juan Antonio Régil Cueto** es Profesor Titular de Zoología de la Universidad de León, en el Departamento de Biodiversidad y Gestión Ambiental. Se licenció con grado de Sobresaliente en Biología en Noviembre de 1977 por la Universidad de León y se doctoró en Biología en 1982 con un trabajo de tesis doctoral titulado: “Coleópteros adéfagos acuáticos de la provincia de León”. Ha realizado investigación postdoctoral en Bruselas (Instituto Real de Ciencias Naturales- 1986/1987) y París (Museo Nacional de Historia Natural-1993). Ha publicado en revistas internacionales de Entomología y Zoología sobre sus investigaciones en coleópteros acuáticos y su importancia como macroinvertebrados en la determinación de índices de calidad de aguas, y también sobre entomofauna urbana de León. Ha participado en varios proyectos internacionales, nacionales y autonómicos relacionados con ámbitos entomológicos que se han desarrollado en Brasil, Chile, Costa Rica, cornisa Cantábrica, Páramo leonés, etc. Ha dirigido 9 tesis doctorales sobre coleópteros acuáticos y control biológico. Es miembro de varias asociaciones científicas, entre ellas: Asociación Española de Entomología, Club Entomológico de Madrid, Sociedad de Historia Natural de Toulouse, Sociedad entomológica belga, Sociedad entomológica francesa, Sociedad entomológica italiana y Balfour-Browne Club, para las que ha realizado tareas de revisor de publicaciones.



**José Luis Acebes Arranz** es Profesor Titular de Fisiología Vegetal de la Universidad de León. Sus investigaciones se centran principalmente en las adaptaciones de las plantas a condiciones desfavorables y en la aplicación de métodos biotecnológicos a la conservación de especies amenazadas. Ha participado en más de 15 proyectos de investigación, en 5 de ellos como investigador principal. Ha publicado más de una treintena de artículos en revistas internacionales y libros especializados, y ha codirigido 4 tesis doctorales. Entre sus intereses se encuentra además la innovación docente, campo en el que ha dirigido 3 proyectos y realizado diversas aportaciones. En la actualidad es director de la revista AmbioCiencias.

## MI PROYECTO DE TESIS

### Eliminación microbiana de histamina

José Luis Gómez Botrán

Área de Bioquímica. Departamento de Biología Molecular. Universidad de León.

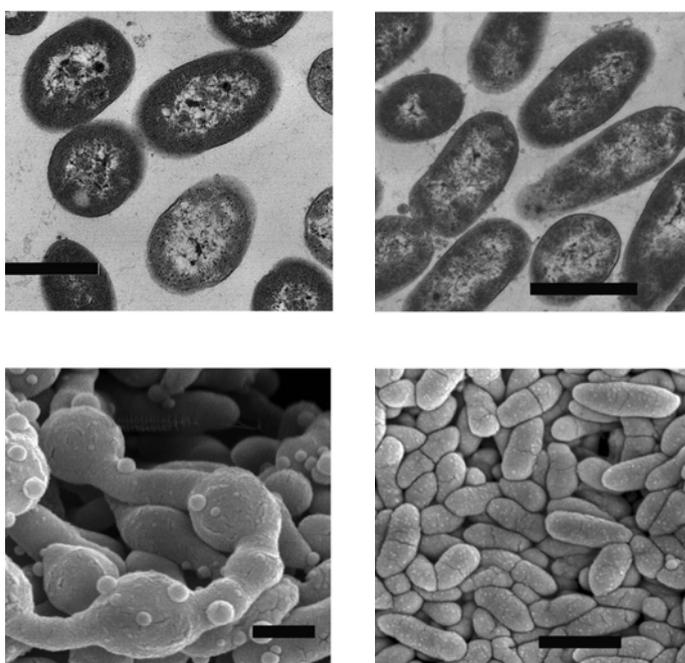
[jl.gbotran@unileon.es](mailto:jl.gbotran@unileon.es)

El grupo de investigación que dirige el profesor D. José María Luengo Rodríguez en el Departamento de Biología Molecular de la Universidad de León, ha estudiado la rutas metabólicas responsables de la degradación microbiana de diferentes compuestos aromáticos entre los que se incluyen ciertas aminas biogénicas tales como la 2-feniletilamina, la tiramina y la dopamina. Como consecuencia de ese trabajo, estos científicos han descrito cinco rutas catabólicas nuevas (lo que implica la participación de más de cincuenta genes y enzimas diferentes) y han diseñado, y obtenido, distintas bacterias recombinantes (cepas modificadas genéticamente) que pueden ser utilizadas para la eliminación de esos compuestos de diferentes medios. Otra amina biogénica que participa, como las anteriores, en multitud de procesos celulares básicos es la histamina, por lo que el estudio de su ruta catabólica, la identificación de los genes que codifican las proteínas que la constituyen (enzimas implicados tanto en el transporte como su catabolismo), así como el establecimiento de los mecanismos responsables de su regulación, podrían tener importantes repercusiones clínicas y biotecnológicas (tratamientos eficaces para alergias mediante terapia génica, y control de la cantidad de histamina presente en ciertos alimentos).

La histamina juega un papel importante en la contracción del músculo liso, en la regulación neuroendocrina, en procesos alérgicos relacionados con hipersensibilidad y genésis de taquicardias, y actúa como neurotransmisor interviniendo en enfermedades neurodegenerativas tales como el Alzheimer, el Parkinson y la esclerosis múltiple. Recientemente, se ha comprobado que esta molécula está involucrada en diferentes procesos patológicos relacionados con tumores adrenocorticales (Szabó *et al*, 2009).

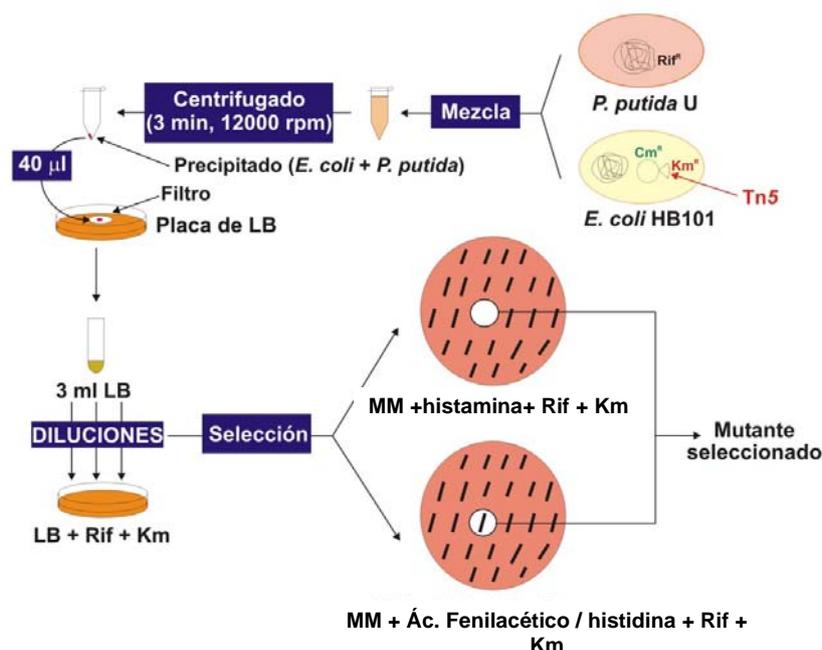
Esta amina suele aparecer en cantidades apreciables en ciertos alimentos (pescado, carne y huevos) y es particularmente abundante en aquéllos que se obtienen de la fermentación (quesos y otros derivados lácteos, bebidas, etc.). La presencia de histamina en el vino entraña más riesgo que en otros alimentos, ya que al interactuar con el alcohol, se van a afectar ciertos mecanismos detoxificadores que son utilizados por el organismo para eliminar la histamina (Buteau *et al*, 1984).

El estudio de la ruta catabólica responsable de la degradación de histamina se ha abordado en bacterias debido a su enorme versatilidad metabólica, a su crecimiento rápido y a la facilidad para realizar en ellas estudios genéticos y metabólicos. Dentro de los distintos microorganismos que eran capaces de utilizar histamina como fuente de carbono y de energía, hemos seleccionado la bacteria *Pseudomonas putida* U (Miñambres *et al.*, 1996; Olivera *et al.*, 1998), que es capaz de degradar numerosos compuestos y que había sido usada previamente por nuestro grupo para esclarecer las rutas responsables de la degradación de otras aminas biogénicas tal y como se ha indicado anteriormente (Arias *et al.*, 2008; Arcos *et al.*, 2010) (**Fig. 1**).



**Figura 1.** Microfotografías de la cepa *Pseudomonas putida* U.

La primera aproximación experimental, tuvo por objeto estudiar la velocidad de asimilación de histamina por esta bacteria, y a continuación procedimos a la obtención de mutantes incapaces de degradar este compuesto usando como elemento mutador el trasposón Tn5 (**Fig. 2**) (Norrander *et al.*, 1983)



**Figura 2.** Esquema del proceso de mutación basado en la inserción del transposón Tn5 en *P. putida* U.

Hasta el momento actual, se han obtenido y caracterizado seis mutantes (Hin1-Hin6). En cinco de ellos los estudios genéticos han revelado que el transposón Tn5 se había insertado en genes que codifican una deshidrogenasa (Hin1), una monooxigenasa (Hin2), un transportador (Hin4), una liasa (Hin5) y un regulador (Hin6), mientras que en el otro mutante (Hin3), los resultados mostraron que el transposón se había insertado en una secuencia intergénica que se encuentra delante del gen que codifica un regulador transcripcional. Los estudios realizados acerca de la cinética de crecimiento de estos mutantes han revelado que todos crecen de modo semejante a como lo hace la cepa silvestre cuando las fuentes de carbono empleadas son la feniletilamina, tiramina y dopamina. Estos resultados ponen de manifiesto que la degradación de histamina no está relacionada con la de otras aminas, y que por lo tanto, para degradar esta amina biogénica, la cepa *P. putida* U utiliza una ruta metabólica diferente, y que ésta no posee etapas comunes con las requeridas para la degradación de otros compuestos similares.

Cuando los mutantes se cultivaron en un medio de composición definida (medio mínimo) en el que la fuente de carbono era un derivado de histamina, el ácido imidazolacético (ImAA), se observó que algunos mutantes (Hin1, Hin4, Hin6) crecían, siguiendo una cinética similar a la de la cepa silvestre *P. putida* U cuando se cultivaba en el mismo medio, mientras que otros (Hin2, Hin3, Hin5) no podían crecer. Estos datos indicaban que las actividades enzimáticas afectadas en Hin1, Hin4 e Hin6 catalizan etapas de la ruta catabólica anteriores

a la formación del ImAA, mientras que los genes alterados en Hin2, Hin3 e Hin5 codifican enzimas que catalizan reacciones implicadas en la transformación de ImAA en intermediarios catabólicos centrales. Estos datos demuestran inequívocamente que el ImAA se genera como intermediario catabólico en la degradación de histamina.

### Aplicaciones

Cuando caractericemos la ruta completa y dispongamos de la información genética requerida podremos:

1. Utilizar estos genes como sondas para identificar otros similares en bacterias ácido lácticas con objeto de emplear esos microorganismos como “*starters*” (cultivos iniciadores) en la elaboración de alimentos fermentados.
2. Clonar todos los genes responsables de la degradación de histamina y transferirlos como un único *cluster* a otros microorganismos (bacterias ácido lácticas) y así obtener cepas recombinantes capaces de eliminar la histamina de diferentes medios (incluyendo alimentos fermentados). Todas esas construcciones, que poseerán un indudable valor biotecnológico, serán protegidas por las correspondientes patentes.
3. Usar esas construcciones en terapia génica (tratamiento de alergias y de algunas de las enfermedades neurodegenerativas anteriormente citadas).

### Bibliografía

- Arcos, M., Olivera, E.R., Arias, S., Naharro, G., Luengo, J.M. 2010. The 3,4-dihydroxyphenylacetic acid catabolon, a catabolic unit for degradation of biogenic amines tyramine and dopamine in *Pseudomonas putida* U. Environ. Microbiol. 12: 1684-704.
- Arias, S., Olivera, E.R., Arcos, M., Naharro, G., Luengo, J.M. 2008. Genetic analyses and molecular characterization of the pathways involved in the conversion of 2-phenylethylamine and 2-phenylethanol into phenylacetic acid in *Pseudomonas putida* U. Environ. Microbiol. 10: 413-432.
- Buteau, C., Duitschaever, C.L., Ashton G.C. 1984. A study of the biogenesis of amines in a villard noir wine. Am. J. Enol. Vitic. 35: 228-235.
- Miñambres, B., Martínez-Blanco, H., Olivera, E.R., García, B., Díez, B., Barredo, J.L., Moreno, M.A., Schleissner, C., Salto, F., Luengo, J.M. 1996. Molecular cloning and expression in different microbes of the DNA encoding *Pseudomonas putida* U phenylacetyl-CoA ligase. Use of this gene to improve the rate of benzylpenicillin biosynthesis in *Penicillium chrysogenum*. J. Biol. Chem. 271: 33531-33538.

- Norrander, J., Kempe, T., Messing, J. 1983. Construction of improved M13 vectors using oligodeoxynucleotide-directed mutagenesis. *Gene* 26: 101-106.
- Olivera, E.R., Miñambres, B., García, B., Muniz, C., Moreno, M.A., Ferrández, A., Díaz, E., García, J.L., Luengo, J.M. 1998. Molecular characterization of the phenylacetic acid catabolic pathway in *Pseudomonas putida* U: the phenylacetyl-CoA catabolon. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 95: 6419-6424.
- Szabó, P.M., Wiener, Z., Tombol, Z., Kovacs, A., Pocza, P., Horanyi J. 2009. Differences in the expression of histamine-related genes and proteins in normal human adrenal cortex and adrenocortical tumors. *Virchows Arch.* 455: 133-142.

### Galería de fotos



Grupo de investigación al que pertenece el autor de la Tesis. De izquierda a derecha y de arriba a abajo: Álvaro Barrientos Castañeda, Elías Rodríguez Olivera, José Ignacio Obeso Rodríguez, Joaquín Rodríguez Fernández, José Luis Gómez Botrán (autor de este trabajo), José María Luengo Rodríguez (director del grupo de investigación) y Estefanía Merino García.

## AMBIÓLOGOS DE AQUÍ

### Breve reseña sobre mi trayectoria profesional

Ignacio Rodríguez Muñoz

Comisario de Aguas de la Confederación Hidrográfica del Duero

Acabé la carrera en 1986, en la Facultad de Biología de la Universidad de León. En 1987 leí la Tesina de Licenciatura y ese mismo año tuve la gran suerte de que se convocase, desde la Junta de Castilla y León, un concurso oposición para técnicos de medio ambiente, que conseguí aprobar siendo destinado a la provincia de Ávila. Mi trayectoria profesional ha estado ligada desde el principio a la Administración Pública, primero como funcionario de la Junta de Castilla y León y actualmente en el Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y



Marino, donde desempeñé el puesto de Comisario de Aguas de la Confederación Hidrográfica del Duero.

El autor del artículo junto a la ex ministra de Medio Ambiente, Dña. Cristina Narbona y la ex presidenta de la Confederación Hidrográfica del Duero, Dña. Elena Caballero.

Siempre he trabajado en cuestiones relacionadas con la gestión del medio ambiente, eso sí, desde diferentes facetas: residuos, evaluación de impacto ambiental, urbanismo y ordenación del territorio, actividades clasificadas, espacios naturales, calidad del aire y, en los últimos tiempos, la compleja, apasionante y conflictiva administración pública del agua.

Ello me ha permitido alcanzar una visión bastante amplia. Eso sí, sin especialización, de la que siempre he huido por dos motivos: el convencimiento de que para entender la naturaleza de las cosas hay que abordarlas desde diferentes ópticas y la influencia de María Teresa Estevan Bolea, que fuera la primera Directora General de Medio Ambiente que hubo en España, que en sus publicaciones y conferencias siempre decía que para mejor abordar la gestión del medio ambiente se debe intentar ser un “generalista profundo”, término que

puede resultar contradictorio en apariencia, pero no lo es en absoluto. No creo haber llegado a tanto, pero desde luego ese ha sido y es mi objetivo.

Otro aspecto que me gustaría destacar es el de la defensa del colectivo profesional frente a la competencia, a veces no del todo limpia, de otros colectivos profesionales, tales como los ingenieros de montes en la esfera del medio ambiente, así como veterinarios, farmacéuticos y médicos en la de la sanidad. En este sentido debo decir que soy un ferviente partidario de la máxima liberalidad en las atribuciones profesionales. Creo que el que sabe, sabe, con independencia de a qué colectivo profesional pertenezca. A lo largo de mi carrera profesional he tenido que contrarrestar muchos prejuicios y corporativismos, soportando conductas rayanas en una especie de nepotismo profesional y desviación de poder, lo que me ha obligado a mostrar beligerancia en esas cuestiones, pero ha sido siempre como respuesta a un ataque y nunca como expresión de exclusivismo. En cualquier caso, lejos de haberse solucionado, este tipo de conductas siguen muy presentes en algunas administraciones públicas (como es el caso de la Junta de Castilla y León) así como en corporaciones privadas, de ahí que sea necesario que los profesionales estén advertidos, sepan enfrentarse a este tipo de competencia desleal y cuenten con el respaldo de instituciones académicas y colegios profesionales.



El autor del artículo ante un mapa de la cuenca del Duero. (Foto: DiCyT).



## DE TODO UN POCO

### Celebración de San Alberto Magno

Del día 2 al 12 de noviembre de 2010 se desarrollaron las actividades organizadas por la Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales con motivo de la festividad de su patrono San Alberto Magno, entre ellas las siguientes conferencias:

- “Biodiversidad: una aproximación a su conservación desde la ecología.” D. Estanislao de Luis Calabuig, Profesor de Ecología de la Universidad de León.
- “Respuesta del plancton marino a los cambios climáticos del pasado.” Dña. Elena Colmenero Hidalgo. Profesora de Geodinámica externa de la universidad de León.
- “La crisis de la biodiversidad y el cambio global.” D. Xavier Bellés Ros. Director del Institut de Biología Evolutiva (CSIC-UUPF) de Barcelona.
- “Biodiversidad y conservación de hongos y líquenes.” D. Arsenio Terrón Alfonso. Profesor de Botánica de la Universidad de León.

Otra de las actividades realizadas fue el concurso de papiroflexia “Biodiversidad en papel” en el que estudiantes de secundaria pudieron exponer sus obras en el edificio Darwin durante dos semanas. El 11 de noviembre, un tribunal especializado entregó el primer premio a Guillermo de Luis de la Fuente.

Por último, el 12 de noviembre tuvo lugar el Acto Académico de conmemoración de nuestro patrono en el Aula Magna San Isidoro del Albeitar, durante el que se impusieron insignias a los Licenciados y alumnos de Máster que finalizaron sus estudios en el curso 2009-2010, se entregó una distinción honorífica a los profesores jubilados y se impuso la beca de la Facultad a la 14<sup>a</sup> Promoción de Licenciados en Ciencias Biológicas.

### Otras charlas, conferencias y actividades

El día 19 de noviembre se desarrolló en la Facultad **la jornada del urogallo**. Esta fue organizada por SEO/BirdLife, una de las organizaciones beneficiarias del programa europeo LIFE +: "Programa de acciones urgentes para la conservación del urogallo y su hábitat en la Cordillera Cantábrica", y se enmarca dentro de las acciones para su divulgación. En la organización de la jornada colaboraron la Fundación Biodiversidad, la Fundación Iberdrola y la Universidad de León. A ella asistieron técnicos de las comunidades autónomas

de Castilla y León, Asturias y Cataluña, y científicos y técnicos expertos en esta especie. Entre ellos destacó la presencia de Peter Mayhew, de la “Royal Society for Protection of Birds”, responsable del comité que gestiona el Plan británico de acción sobre el urogallo (desarrollado en Escocia).

El 4 de marzo tuvo lugar en el Aula Magna de la Facultad la charla **“Claves para la evaluación positiva de proyectos I+D+I”**, organizada por el Vicerrectorado de Investigación y destinada al personal docente e investigador de la Universidad. El ponente fue D. Julio Bravo de Pedro, Consejero Técnico Científico de la Agencia Nacional de Evaluación y Prospectiva (ANEP).

El 21 de marzo, con motivo de la celebración del **día Forestal Mundial** en el año declarado por la Asamblea General de Naciones Unidas como año Internacional de los Bosques, se realizaron las siguientes actividades organizadas por la Oficina Verde:

- Conferencia sobre la “Norma Granada”, a cargo de D. Antonio Ugidos, responsable de parques y jardines del Ayuntamiento de León, que tuvo lugar en el Aula Magna de la Facultad.
- Plantación de árboles por parte de voluntarios en las zonas verdes del edificio Darwin. Los voluntarios plantaron árboles y arbustos autóctonos, y deberán encargarse de los cuidados necesarios para el mantenimiento de sus plantas durante los próximos meses.



El día 25 de marzo tuvo lugar en el Aula Magna de la Facultad, el **Acto de Entrega de Premios de la VI Olimpiada de Biología**, fase autonómica, que fue organizado por el Vicerrectorado de Ordenación Académica, la Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales y el Colegio Oficial de Biólogos de Castilla y León. Durante el mismo D. Froilán Sevilla Martínez, Jefe de la Sección de la Montaña Oriental de León de la Junta de Castilla y León, impartió la conferencia “Montes y Bosques: bases para entenderlos” y se entregaron diversos premios a los alumnos que representarán a la Comunidad Autónoma

en la Fase Nacional de la Olimpiada de Biología de 2011, que tendrá lugar en Granada.

Los días 14 de abril y 16 de mayo, en el ámbito del Año Internacional de los Bosques, tendrán lugar las jornadas de **Gestión forestal y sección empresa**, y de **Biotecnología y Conservación de Especies Forestales**. Estas jornadas, organizadas por la Universidad de León, la Oficina Verde y la Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales, con la colaboración de alumnos de 5º de Biotecnología, contaron con la presencia de conferenciantes provenientes tanto del ámbito universitario como de diversas empresas relacionadas con el ámbito forestal.

#### Noticias de nuestros estudiantes y egresados

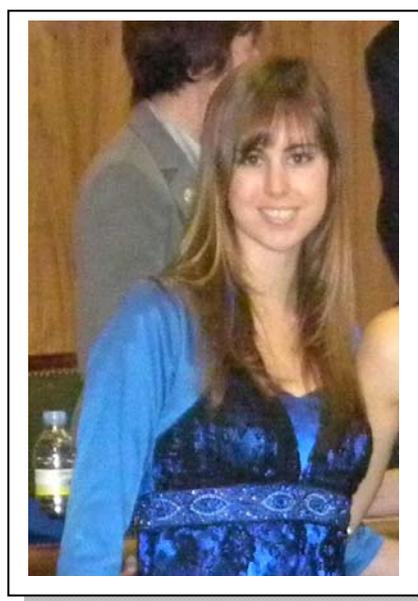
El premio “Vitaten awards for academic excellence 2010” ha sido concedido a Dña. Raquel del Pino García. El premio es concedido por la empresa VITATENE al mejor expediente de la Licenciatura de Biotecnología y está dotado con 3.000 €.

Dña. Indira Alvarez Fernández, Licenciada en Biología en 2010, y propuesta por la Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales como premio extraordinario fin de carrera, ha obtenido la mejor calificación nacional en el examen de Biólogo Interno Residente (BIR) de 2011.

Desde estas páginas queremos darles la enhorabuena a ambas.



Dña. Indira Álvarez Fernández,  
Licenciada en Biología



Dña. Raquel del Pino García,  
Licenciada en Biotecnología

Si tienes alguna sugerencia o quieres enviarnos tus artículos, tu proyecto de tesis o alguna fotografía para la portada, ponte en contacto con nosotros:

[ambiociencias@unileon.es](mailto:ambiociencias@unileon.es)

La edición electrónica de la revista se puede consultar en:

<http://biologia.unileon.es/descargas.htm>



**En contraportada:** Evocadora imagen invernal con el edificio Darwin al fondo.



**Foto: Álvaro Bayón**

★ 1968 ★



★ 2011 ★