

Unidad Temática 6

Genética microbiana

Benintende, S.; Pretto, G. Y Musante, C

Aspectos básicos de la genética microbiana

El genoma bacteriano está compuesto por un único cromosoma de ADN circular cerrado. Además poseen estructuras denominadas plásmidos constituidas también por ADN, que se encuentran en número variable en la célula bacteriana.

Las bacterias se multiplican mediante un proceso denominado “fisión binaria-“ por el cual, previa duplicación del cromosoma bacteriano, se produce una estrangulación del protoplasma de modo que se originan dos células idénticas (o clones) con un cromosoma cada una y una cantidad similar de plásmidos. Esta forma de “reproducción asexual” no produce cambios en el genoma. Como consecuencia todos los organismos de una colonia bacteriana son genéticamente idénticos a la célula que les dio origen (célula progenitora).

Sin embargo la variabilidad genética también se presenta en las bacterias, aunque en una proporción muy baja. El genoma bacteriano puede sufrir variaciones debido a procesos denominados mutaciones, mediante los cuales se origina un cambio heredable en la secuencia de bases del ADN. Estos cambios son pequeños pero suficientes para generar individuos genéticamente diferentes a sus células progenitoras.

La variación en la constitución genética se puede dar por dos procesos: la *mutación* y la *recombinación genética*. La mutación origina un cambio heredable en la secuencia de bases del ADN bacteriano, mientras que la recombinación genética involucra la transferencia de ADN entre una bacteria donadora y otra receptora y la integración del material transferido al genoma de la bacteria receptora.

Mutaciones

Durante la replicación del genoma bacteriano, a veces ocurren cambios, ya sea en forma espontánea o artificial. Estos cambios heredables en la secuencia de bases del ADN, se denominan *mutaciones*. El organismo resultante de una mutación tendrá una constitución genética diferente a la de la cepa progenitora y se denomina “cepa mutante”.

Las mutaciones pueden implicar solamente el cambio en un solo par de bases en el ADN de la célula o pueden producir un cambio que se extiende a un cierto número de pares de bases o hasta genes completos. El cambio en genoma bacteriano puede modificar, o no, la apariencia o funcionalidad de la cepa mutante respecto de su progenitora. En la mayoría de los casos las mutaciones producen individuos que no pueden adaptarse y desaparecen.

Una mutación puede tener efectos diferentes según cómo se produzca. Por ejemplo:

- La sustitución de una base por otra en la cadena de ADN, no significa necesariamente un cambio en el aminoácido que codificará dicha porción del genoma y por lo tanto no producirá ningún cambio en la apariencia o funcionalidad de la bacteria. Este tipo de mutaciones se denominan “mutaciones silenciosas”
- Las mutaciones producidas por deleciones o inserciones de fragmentos de ADN pueden afectar la capacidad de formar una proteína y por lo tanto producir una alteración en la apariencia o funcionalidad de la célula..

Las mutaciones se dan en forma espontánea con una frecuencia muy baja. Normalmente una de cada 10^8 células de una población contiene una mutación detectable

en un gen determinado. Sin embargo esta frecuencia puede aumentar notablemente por acción de agentes denominados *mutágenos o mutagénicos*. Estos agentes pueden ser químicos, físicos o biológicos. Los mutágenos químicos son sustancias semejantes a las bases púricas o pirimidínicas y las reemplazan originando el cambio en la secuencia de ADN. Dentro de los mutágenos físicos se encuentran las radiaciones ionizantes (rayos x, rayos gamma y cósmicos) y las no ionizantes (radiación ultravioleta).

Intercambio y recombinación genética

El intercambio genético entre procariontes se realiza a través de la transferencia de una porción del genoma de una célula donadora a otra receptora. No es un paso obligado para completar el ciclo biológico del organismo, sino más bien un proceso ocasional que ocurre por tres mecanismos diferentes: *transformación, transducción y conjugación*.

En el caso de la transformación, se libera ADN de las células al medio circundante y las células receptoras lo incorporan tomándolo de esta disolución.

En la transducción se transfiere ADN de una célula procariótica a otra como consecuencia de la formación de un virión defectuoso de un bacteriófago, en el cual parte o todo su complemento normal de ADN se sustituye por ADN bacteriano (ADN de la célula donadora). Cuando este fago defectuoso se fija a otra célula bacteriana (célula receptora) y le introduce este ADN, se produce el intercambio genético.

La conjugación implica un intercambio genético entre dos células que se hallan en contacto directo, mediante un proceso que, en todos los casos conocidos, está codificado por genes situados en plásmidos. Habitualmente por este proceso sólo es transferido el propio plásmido desde la célula donadora a la receptora, pero a veces se transfieren también genes del cromosoma bacteriano.

Transformación

En el proceso de transformación se libera ADN de las bacterias (células donadoras) al medio circundante y las células receptoras lo incorporan de esta disolución.

Las células que poseen la capacidad de ser “transformadas”, es decir, que pueden incorporar el ADN que se encuentra en su ambiente, se denominan *células o bacterias competentes*.

En un gran número de bacterias, la entrada al estado competente está codificada por el cromosoma bacteriano y está marcada por ciertas condiciones ambientales. Estas bacterias son capaces de sufrir una *transformación natural*. Otras bacterias sólo pueden hacerse competentes mediante una serie de tratamientos artificiales (por ejemplo: exposición a altas concentraciones de cationes divalentes). Tales mecanismos de transformación se denominan *transformación artificial*.

La transformación está mediada por alrededor de 12 proteínas, que le permiten a las células absorber ADN bicatenario en distintos sitios de su superficie externa y cortarlo en fragmentos más pequeños por acción de enzimas unidas a la superficie de la bacteria. Luego una cadena del fragmento es digerida por una enzima nucleasa, la otra penetra en la célula unida a una proteína de unión al ADN específica. El ADN sólo se integrará al cromosoma de la bacteria receptora si es homólogo, originando un individuo genéticamente diferente.

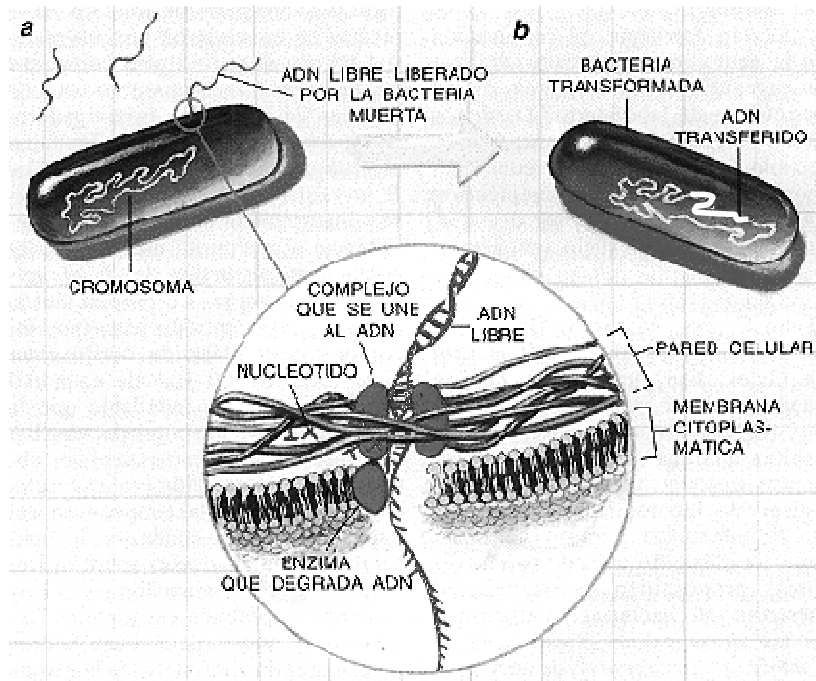


Figura 1: Proceso de transformación bacteriana.

Transducción

En ocasiones ocurren fallos durante el desarrollo intracelular de ciertos bacteriófagos y se producen viriones defectuosos denominados *partículas transductoras*.

Estas partículas contienen ADN del genoma bacteriano reemplazando una parte o todo el complemento normal de ADN del fago, pero su cápside es la que determina la capacidad de adherirse a una célula bacteriana sensible e inyectar el ADN en su interior. De esta forma, la partícula transductora puede introducir ADN bacteriano de la célula en la que se desarrolló en otra célula sensible, dando como resultado la transferencia de material genético entre las dos células.

Existen dos tipos de transducción:

- Transducción generalizada: está determinada por el intercambio de cualquier gen bacteriano.
- Transducción especializada: solamente determina el intercambio de un número limitado de genes específicos.

La mayoría de los fagos transductores es capaz de realizar solamente uno de estos tipos de transducción, pero un número limitado puede realizar ambos.

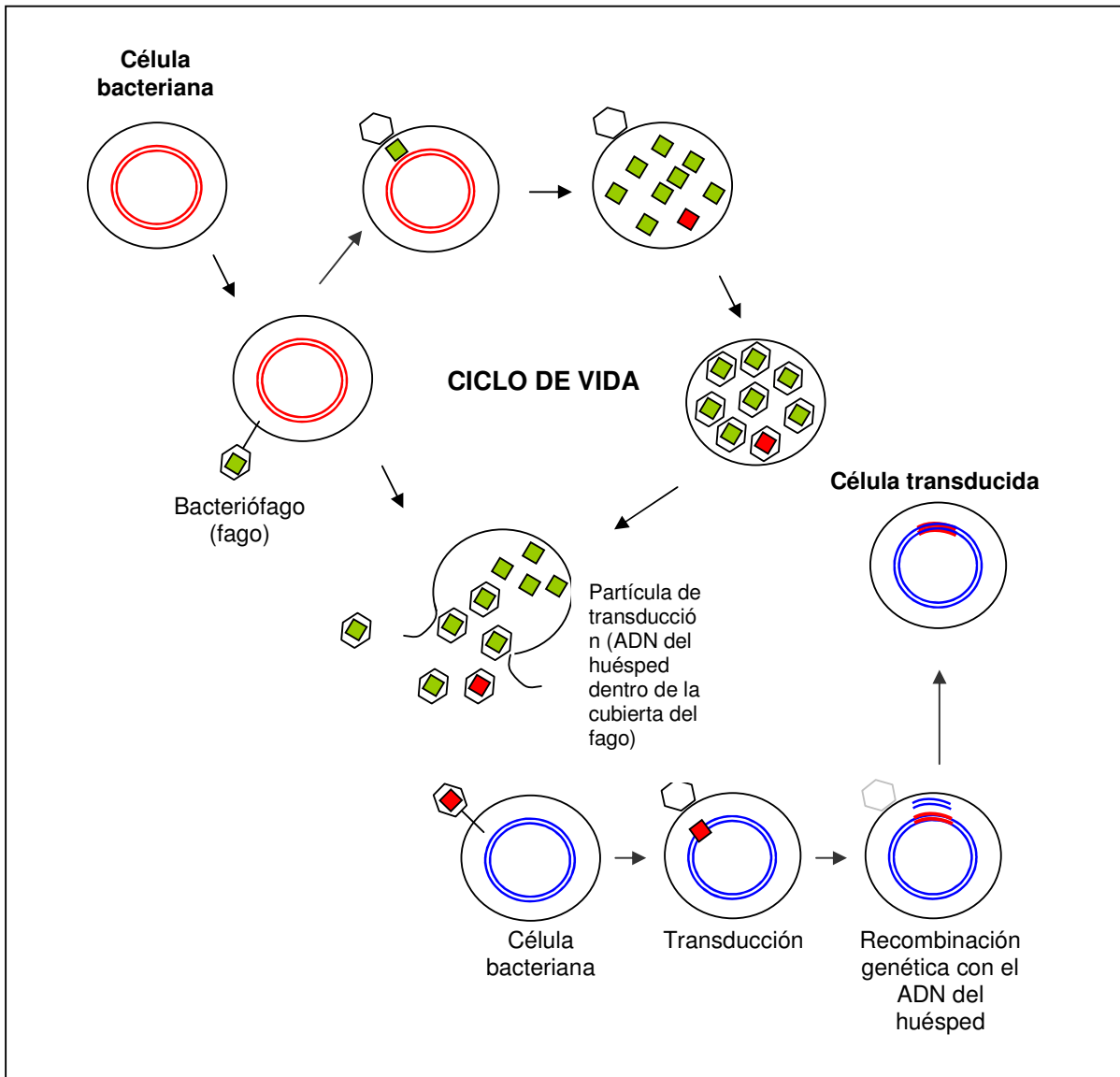


Figura 2: Proceso de transducción.

Conjugación

La conjugación es un proceso mediante el cual se transfiere material genético desde una bacteria donadora hacia una receptora. Este mecanismo implica un contacto real entre ambas células, de modo que el ADN pasa de una hacia la otra sin tomar contacto con el medio circundante. La transferencia genética por conjugación está codificada por los genes de un **plásmido**, denominado plásmido F, siendo esa su única función conocida hasta el momento. En otras palabras, este plásmido codifica su propia transferencia hacia células que carecen de él y por eso se denomina *plásmido conjugativo*. Las células que poseen el plásmido F se denominan *células F⁺* y las que carecen de él *células F⁻*. Cuando se mezclan células F⁺ y F⁻, la transferencia del plásmido

F ocurre con una frecuencia elevada. Normalmente sólo se transfiere el plásmido, pero también pueden ser transferidos genes cromosómicos, aunque con una frecuencia considerablemente más baja. Esto se debe en parte a la presencia en un cultivo F^+ de células denominadas Hfr (high frequency recombination = alta frecuencia de recombinación) en las que el plásmido F y el cromosoma bacteriano han quedado integrados formando una gran molécula circular única.

Plásmidos

Son elementos genéticos constituidos por ADN (circular, cerrado, de doble cadena) que se reproducen en forma autónoma y no están unidos al cromosoma bacteriano. Pueden ser transferidos de célula a célula por el mecanismo de conjugación o se pueden integrar al cromosoma y replicarse en forma conjunta. Los plásmidos pueden contener una variedad de genes como por ejemplo: genes que controlan la producción de toxinas o que dan resistencia a antibióticos, metales pesados y otros compuestos inhibidores, genes capaces de metabolizar herbicidas, etc.. También poseen genes que permiten el contacto célula a célula, alterando la superficie celular y facilitando la transferencia. Si la transferencia es la del propio plásmido, éste se denomina plásmido conjugativo.

Mecanismo de transferencia de ADN durante la conjugación:

Primero se realiza la síntesis de ADN: una de las cadenas de ADN del plásmido se deriva de la célula donadora y la otra es recién sintetizada en la receptora (por complementariedad de bases) durante el proceso de transferencia.

Cuando el factor F no está integrado al cromosoma, se comporta como un plásmido conjugativo, las células que poseen este factor no integrado se llaman F^+ (o células macho) y las células que pueden actuar como receptores de F^+ se llaman F^- (o células hembra). Estas F^- no poseen el plásmido del factor F. Concluida la conjugación, el resultado son dos células F^+ , por lo que la receptora se ha convertido en una futura donadora (de F^+ a F^-) y podrá transferir el plásmido F a otras receptoras.

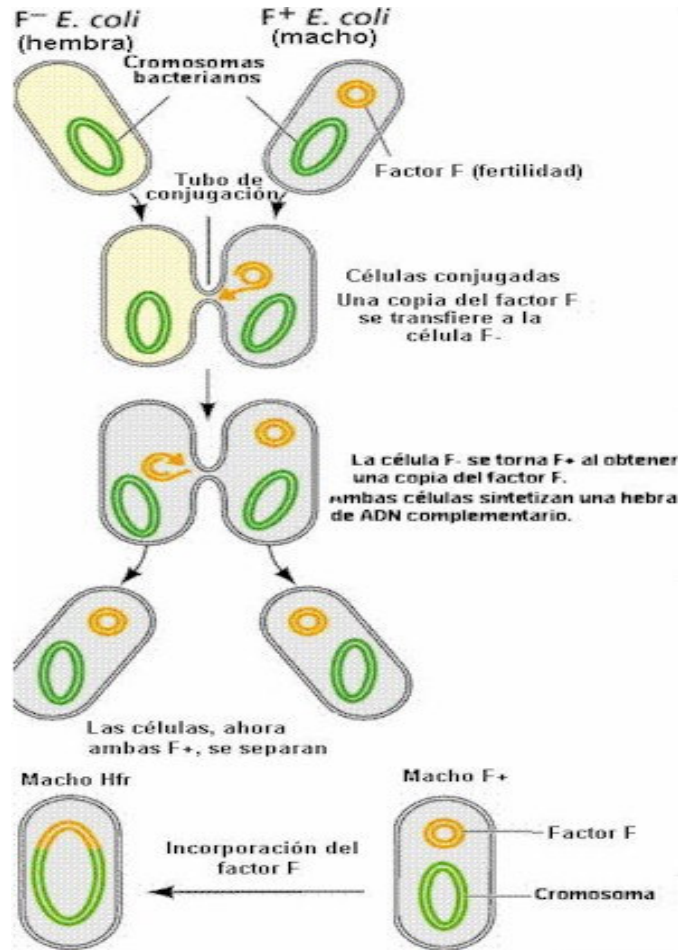


Figura 3: Transferencia de ADN por conjugación. El plásmido F de una célula F⁺ está siendo transferido a una célula receptora F⁻. Mecanismo de replicación del ADN por círculo rodante.

Implicancias agronómicas

Los mecanismos explicados anteriormente tienen implicancias en el área de la investigación y además tienen aplicaciones agronómicas.

La resistencia a antibióticos se puede originar como una mutación de algunas bacterias que sobrevivieron al agregado de estas sustancias, pero la transferencia de esa resistencia a las demás bacterias se da muy rápidamente, ¿cómo es que pasa esto? La forma en la que se transfieren estas resistencias es a través de los plásmidos, por conjugación, y no es que todas las bacterias resistentes hayan experimentado la misma mutación (que las transformó en resistentes).

Otro ejemplo se ve en los rizobios utilizados para la inoculación de Leguminosas. Se pueden dar, por el proceso de mutación, cambios en su estructura genética teniendo como resultado por ejemplo la pérdida de la capacidad de fijación de Nitrógeno (N) atmosférico: ha ocurrido en Estados Unidos el caso de que al inocular semillas del cultivo de soja con cepas muy “agresivas” de rizobios (es decir que tienen alta capacidad de nodular), llegado determinado momento las mismas perdieron la capacidad de fijar N pero no la de nodular, por lo que estos nódulos se volvieron parásitos del cultivo de soja, ya que estaban recibiendo nutrientes provenientes del cultivo, pero a cambio no estaban aportando N.

Glosario

bacteriófago: virus que infecta a alguna bacteria.

clon: población de individuos derivados por reproducción asexual de un solo antecesor.

deleción: tipo de mutación que implica la eliminación de un segmento de ADN.

fisión binaria: tipo de reproducción asexual de la que resultan descendientes genéticamente idénticos a su único progenitor.

gen: unidad de herencia en un cromosoma; secuencia de nucleótidos en la molécula de ADN que desempeña una función específica, tal como codificar una molécula de ARN o un polipéptido.

herencia: transmisión de características del o de los progenitores a los hijos.

inserción: tipo de mutación en la cual ocurre la introducción de un nuevo segmento de ADN dentro de una secuencia ya existente.

virus temperado: virus que al infectar al huésped no necesariamente causa lisis (ruptura), sino que puede llegar a integrarse en el material genético del huésped.

Bibliografía

BROCK, T. D. Y MADIGAN, M.T. 1991. *Microbiología* Sexta Edición Ed. Prentice Hall Hispanoamericana S.A. México.

CURTIS, H; SUE BARNES, N. 1999. *Biología*. 5º ed. Ed. Médica Panamericana S.A. Colombia.

STANIER, R.; INGRAHAM, J.; WHEELIS, M. & PAINTER, P. 1996. *Microbiología*. 2º Edición (The microbial world. Fifth Edition). Ed. Reverté. Barcelona.