

**REAL ACADEMIA DE CIENCIAS EXACTAS, FÍSICAS,
QUÍMICAS Y NATURALES DE ZARAGOZA**

**LAS CIANOBACTERIAS:
COOPERACIÓN VERSUS COMPETENCIA**

DISCURSO DE INGRESO LEÍDO POR LA ACADÉMICA ELECTA

Ilma. Sra. Dña. MARÍA LUISA PELEATO SÁNCHEZ

*EN EL ACTO DE SU RECEPCIÓN SOLEMNE
CELEBRADO EL DÍA 16 DE JUNIO DEL AÑO 2011*

Y

DISCURSO DE CONTESTACIÓN POR EL

Ilmo. Sr. D. CARLOS GÓMEZ-MORENO CALERA

ACADÉMICO NUMERARIO



ZARAGOZA

2011

**REAL ACADEMIA DE CIENCIAS EXACTAS, FÍSICAS,
QUÍMICAS Y NATURALES DE ZARAGOZA**

**LAS CIANOBACTERIAS:
COOPERACIÓN VERSUS COMPETENCIA**

DISCURSO DE INGRESO LEÍDO POR LA ACADÉMICA ELECTA

Ilma. Sra. Dña. MARÍA LUISA PELEATO SÁNCHEZ

*EN EL ACTO DE SU RECEPCIÓN SOLEMNE
CELEBRADO EL DÍA 16 DE JUNIO DEL AÑO 2011*

Y

DISCURSO DE CONTESTACIÓN POR EL

Ilmo. Sr. D. CARLOS GÓMEZ-MORENO CALERA

ACADÉMICO NUMERARIO



ZARAGOZA

2011

Depósito legal: Z-¿¿¿¿??????

Imprime:

Sdad. Coop. De Artes Gráficas
Librería General
Pedro Cerbuna, 23
50009 Zaragoza
imprentalg@efor.es

**LAS CIANOBACTERIAS:
COOPERACIÓN VERSUS COMPETENCIA**

POR LA

Ilma. Sra. Doña MARÍA LUISA PELEATO SÁNCHEZ

Excelentísimo Sr. Presidente de la Academia de Ciencias de Zaragoza,
Ilustrísimos Sres. Académicos,
Señoras y Señores:

En primer lugar, quiero expresar mi agradecimiento, tanto al Señor Presidente, como a todos los Señores Académicos por el honor que supone esta inesperada distinción. No puedo dejar de recordar a mi predecesor, Don Horacio Marco Moll, por muchas razones acumuladas durante muchos años de convivencia, y agradecerle todo lo que años aportó a mi formación como profesora de esta universidad. Mucho tiempo ha pasado, pero recuerdo con nitidez comentar con él, casi 30 años atrás, el escrito que presentó en su propia entrada en esta institución y la exhaustiva y cuidadosa búsqueda bibliográfica que llevó a cabo para la disertación. En aquel momento, la cronobiología era un tema puntero, que implicaba un enfoque nuevo y original, tan apenas esbozado en la bibliografía científica. Fue muy interesante para mí en aquel momento vislumbrar lo que había detrás de lo aparentemente sencillo, como los ritmos circadianos de muchos procesos biológicos, y la existencia de lo que hoy llamamos los relojes moleculares. Han pasado muchos años, nuestra disciplina ha avanzado de forma exponencial, y la biología molecular ha revolucionado nuestro conocimiento. Con una clara visión de futuro, el propio don Horacio citaba en su texto: *“Esperamos que los continuos avances de la Biología Molecular, muy especialmente en lo que se refiere a los procesos de regulación génica, proporcionen en el día de mañana la clave esencial para entender todos estos procesos autorregulados”* refiriéndose a una propuesta de un posible modelo teórico que explicara el funcionamiento de los relojes biológicos. Aunque queda mucho por comprender, así ha sido.

Por otra parte, no puedo dejar de agradecer a otro profesor Académico, el doctor Carlos Gómez-Moreno el papel crucial que ha desempeñado en mi vida profesional. Él me introdujo allá en el año 83 en el emocionante mundo de las cianobacterias y su fisiología. A lo largo de todos estos años, no tengo sino palabras de agradecimiento incondicional por su apoyo, confianza, autoridad moral, ejemplo y enseñanzas. No solo he aprendido en el ámbito científico, sino también en el personal. Estos pensamientos no suelen formularse con nitidez debido al pudor que producen, pero quiero aprovechar esta ocasión para decir públicamente, gracias, muchas gracias, en el sentido más amplio posible.

Mi abuela Avelina Tovar, nacida en la década de 1870, también profesora de lo que hoy es esta Universidad, hablaba de sus discípulos, término que en la infancia nos resultaba chocante a mi y a mis hermanos. Pasados muchos años desde aquel entonces, creo que discípulo es una palabra muy hermosa. Yo me considero discípula de mucha gente, pues de todos ellos he aprendido muchas cosas. He mencionado ya anteriormente a Don Horacio y al profesor Gómez-Moreno, y hay otras muchas personas que me han enriquecido como profesor y como persona. Don Cruz Rodríguez Muñoz, de saber enciclopédico y bondad infinita, me enseñó a mirar a la realidad cercana y a lo cotidiano con ojos científicos, revelándose lo que escondía lo pequeño como maravilloso. Doña Pilar Laguna me enseñó la entrega a la docencia y la generosidad en el trabajo. De muchísimos compañeros (Juan Marin, hoy también compañero en esta institución) he aprendido enormemente. Muy especialmente tuve la inmensa suerte de encontrarme con María Teresa Muiño y José Álvaro Cebrián, que me abrieron la puerta del quehacer científico, me introdujeron en la investigación y me enseñaron a hacerla, y sobre todo, transmitiéndome su entusiasmo. Pienso que la ósmosis y el transporte activo funcionan en los laboratorios en el flujo de adquisición de conocimientos y actitudes. En este sentido, no he podido tener mejor entorno, y creo que me he visto rodeada de una larguísima lista (inviabile para ser incluida en este texto) de colegas, becarios y compañeros muy notables. En mi grupo, también puedo demostrar que los mecanismos de cooperación han sido más eficaces que los de competencia, y mi quehacer no sería mi quehacer sin el codo a codo con María Fillat y también María Teresa Bes. Por último, como todos los profesores, he aprendido de mis alumnos, que afortunadamente todos los años siguen igual de jóvenes, aunque yo haya acumulado algunas arrugas más. Por último, no puedo dejar de decir que el amor a la Biología fue una semilla que sembró mi padre y que ha sido un tesoro durante todos estos años, ya que vengo a esta casa a disfrutar. Soy muy afortunada.

Trataré de ser merecedora de llevar la medalla de mi antecesor, Don Horacio, y aportar la ilusión que él puso en el trabajo académico y en engrandecer todo lo posible esta institución.

Resumen

Las cianobacterias son unos organismos que no forman aparentemente parte de nuestro entorno cotidiano, y sin embargo, afectan fuertemente la vida en el planeta, y por supuesto, nuestra supervivencia. Han sido organismos cruciales en la evolución de los seres vivos en la tierra, y determinaron sin duda el camino evolutivo del resto de los organismos.

Las cianobacterias, ancestros de las actuales, fueron las que evolutivamente desarrollaron la fotosíntesis oxigénica, y ese hecho fue un evento único y determinante en la historia de nuestro planeta. Además, ancestros de estas cooperaron con otras células primitivas, permitiendo una endosimbiosis que desembocó en la existencia de formas de vida autótrofa muy variadas, entre ellas, las plantas superiores.

En estos momentos, desempeñan un papel relevante como productores primarios a gran escala, y contribuyen sustancialmente a mantener en la biosfera los ciclos de carbono, oxígeno y nitrógeno. Son fuente de principios activos importantes, y se consideran un material biológico muy relevante para obtener biocombustibles, a la vez que pueden actuar como sumideros de CO₂, de forma que pueden paliar el calentamiento global. Sin embargo, también pueden dar lugar a problemas importantes, y como se comentará posteriormente, las cianobacterias pueden producir floraciones o proliferaciones masivas que pueden provocar problemas sanitarios y medioambientales. En alguna ocasión, estas cianobacterias pueden producir metabolitos secundarios de carácter tóxico para organismos eucariotas, lo que llamamos cianotoxinas.

Las cianobacterias son organismos procariotas, y se engloban en el reino monera, y comparten características comunes con otras bacterias fotosintéticas, así como con el resto de las bacterias. Durante mucho tiempo, se han considerado algas, *Cyanophyta*, literalmente algas azules. Su nombre vulgar, algas verde azuladas o cianofitas, todavía aparece frecuentemente en la literatura no especializada.

Las cianobacterias cambiaron el curso evolutivo de los seres vivos

En términos de la historia de la Tierra y de la vida, las cianobacterias ocupan un lugar privilegiado. La adquisición de la capacidad bioquímica de utilizar agua como fuente de electrones para la fotosíntesis parece que ocurrió entre unos 2500-3000 millones de años atrás. Algunos autores piensan que pudo ser algo más tardío, entre 2300-2400 millones de años. Sin embargo las cianobacterias parece que surgieron hacia 3800 millones de años atrás,

aunque hasta unos 2400 millones de años no se encuentra registro de presencia de oxígeno significativa en la atmósfera y superficie. Las formaciones fósiles de cianobacterias son los primeros vestigios claros de vida en nuestro planeta, y los datos geobiológicos permiten hacer este tipo de especulaciones.

Sin entrar en detalles acerca de las primeras células, sí podemos pensar, basándonos en evidencias fósiles y metabólicas, que a medida que se intensificó la competencia por sustratos orgánicos producidos de forma geoquímica, los organismos que fueron capaces de adquirir autonomía energética tuvieron una fuerte ventaja evolutiva. Las bacterias fotosintéticas, generando una fuente inagotable de poder reductor, superaron el mayor obstáculo de la evolución de las células, la disponibilidad de energía. Desarrollaron centros de reacción fotoquímicos que pueden utilizar energía solar para producir directamente moléculas reducidas necesarias para procesos asimilatorios. Un grupo de este tipo de organismos, los ancestros de las cianobacterias, fueron capaces de utilizar el agua circundante como fuente de electrones para la fotorreducción, inagotable frente a los sustratos que utilizaban las otras bacterias fotosintéticas. Requiere adquirir una sofisticada maquinaria fotosintética, con complejos metaloprotéicos capaces de obtener electrones del agua, así como acoplar dos centros fotoquímicos, necesarios para salvar la diferencia de potencial redox entre el agua y el NADPH. Las homologías estructurales que existen entre fotosistemas actuales sugieren que este cambio implicó la cooperación de un fotosistema derivado de las bacterias verdes (fotosistema I) y otro derivado de las bacterias púrpuras (fotosistema II). Aunque no podemos reconstruir como se generó este eficaz mecanismo, este es un claro ejemplo de cómo no es solo la competencia la fuerza impulsora de los cambios evolutivos, sino que en muchos casos la cooperación conduce a la evolución.

La aparición del oxígeno en el planeta provocó un cambio espectacular, único y definitivo en la posterior evolución de todos los seres vivos, incluso de la química de la corteza terrestre. Los organismos existentes en aquel momento llevaron tres destinos distintos con resultados que podemos inferir claramente. Se piensa que la mayoría se extinguió, ya que no fue capaz de adaptar sus estructuras y metabolismo a una atmósfera oxidante. Otro grupo quedó restringido a hábitats pobres o carentes de oxígeno, y son los ancestros de los grupos que actualmente pueblan nichos extremos, tales como por ejemplo los fondos de pantanos, ricos en metano y pobres en oxígeno. Un tercer grupo, no solo fue capaz de resistir la presencia de oxígeno, adaptando sus estructuras y metabolismo a su presencia, sino que obtuvo una ventaja enorme de su presencia, y optimizó el metabolismo energético, obteniendo una mayor cantidad de energía metabólica. De este tipo de organismos descendemos todos nosotros.

Uno de los problemas más interesantes que se plantea la comunidad científica es cómo las

cianobacterias mismas fueron capaces, en los primeros momentos de soportar el oxígeno, y posteriormente adaptar el metabolismo a su presencia. La pregunta es ¿cómo pudieron producirlo sin envenenarse a si mismas?. De hecho, algunos procesos como la fijación de nitrógeno que llevan a cabo las cianobacterias diazótrofes remanentes, ocurre únicamente de forma anaerobia, y la nitrogenasa, el complejo enzimático responsable de la reducción del dinitrógeno atmosférico, evolutivamente no ha adaptado su función a la presencia de oxígeno. Por esta razón, se han desarrollado estrategias de evitación del oxígeno muy sofisticadas e interesantes. Los organismos de la tierra primitiva tuvieron que desplegar mecanismos de protección contra el incremento de los niveles de oxígeno; de hecho todos los organismos actuales, presentamos una gran batería de mecanismos de defensa de detoxificación para evitar el daño oxidativo, herederos de los que se generaron en aquel momento. A pesar de esto, se postula que la acumulación de alteraciones oxidativas en nuestras macromoléculas puede ser una causa importante de envejecimiento.

Entre las explicaciones para la aparición de estos mecanismos de protección, se considera posible que el hecho de carecer el planeta de una pantalla de ozono que impidiera que radicales libres generados por la luz ultravioleta, podría haber ejercido la presión selectiva necesaria para que se generara toda la defensa oxidativa. Es importante resaltar que las grandes lagunas de nuestro conocimiento solo pueden ser subsanadas mediante especulaciones, quizás erróneas en muchos detalles. No podemos retroceder en el tiempo para conocer los detalles moleculares que tuvieron lugar hace miles de millones de años, pero los eventos metabólicos antiguos han dejado muchos vestigios en organismos actuales, y eso nos permite reconstruir con cierta certeza algunos procesos.

Las cianobacterias pueden ser consideradas el grupo más importante de organismos que se han originado en nuestro planeta. Sus adquisiciones evolutivas determinaron la evolución de todo el resto de organismos. Su capacidad de utilizar agua como donador de electrones para la fotosíntesis impulsó una producción primaria explosiva frente a las restricciones impuestas por la disponibilidad de otras fuentes de electrones que los fotoautótrofos estaban utilizando, como H_2S , H_2 , Fe^{2+} . Por otra parte, su capacidad de fijar nitrógeno atmosférico incrementó su éxito. Además de los cambios en lo que se refiere al oxígeno, estos organismos captaron cada vez mas carbono para formar materia orgánica, lo que creó suelo y sustratos para ser incorporados a las redes tróficas.

Las cianobacterias cooperaron con otros, dando lugar a sinergias metabólicas muy importantes. La endosimbiosis que las cianobacterias establecieron con otras estirpes celulares introdujo la fotoautotofía en los eucariotas, contribuyendo a la transformación de los medios acuáticos y terrestres. Las consecuencias se traslucen en prácticamente todos los ecosistemas

del planeta. Hace unos 100 millones de años, tras una infección que dio lugar a una primera endosimbiosis, un ancestro de las cianobacterias se incorporó a algunas de estas células. En este caso, parece que fue ingestión, no infección (Margulis y Chapman 1998). *Prochloron*, una cianobacteria actual, sería un cloroplasto si careciera de pared celular, y se puede encontrar en el interior de un celentéreo en lugar de una planta. De hecho, hoy día sigue habiendo protistas que incorporan cianobacterias y establecen unas relaciones metabólicas y fisiológicas muy estrechas de mutuo beneficio (Bodyl et al, 2007). Según Margulis, el “hambre” habría sido el motor de estas uniones (Margulis y Bermudes 1985) y un aliado fotoautótrofo fue muy valioso. Este es otro ejemplo de que la evolución no siempre ocurre mediante competencia, sino como resultado de cooperación. La idea de la cooperación como fuerza evolutiva, choca frontalmente con la idea darwinista de la lucha por la vida, y la competencia como motor de la evolución, a través de la selección natural (Fernández Valiente, 2002). La vida no es solo competencia, como nos han hecho creer, la vida, como proceso unitario es sobre todo cooperación, un delicado equilibrio entre la cooperación de las partes y la competencia de los todos. (Fernández Valiente, 2002). Las cianobacterias inicialmente ingeridas dieron lugar posteriormente por coevolución a los plastidios actuales presentes en todas las algas y plantas superiores, quedando su genoma reducido tras incorporarse la mayoría de sus genes al genoma del otro simbionte. “Negociación química” y transferencia genética estaría en la base de muchos eventos trascendentales en la evolución de la vida (Margulis 2009). Otra simbiosis relevante que han establecido las cianobacterias es la que constituyen los líquenes, cuando el fotobionte es una cianobacteria. En este caso, el potencial metabólico del conjunto les permite sobrevivir en condiciones que serían impensables para cada uno de los simbiositas por separado. La cianobacteria, fotoautótrofa y diazótrofa, proporciona nutrientes al conjunto, y el hongo proporciona la humedad necesaria para la supervivencia. De esta forma, los líquenes son los primeros pobladores de suelos muy hostiles y pobres, que posteriormente y sobre el sustrato que han originado los líquenes, puede pasar a sustentar otros tipos de organismos.

Es interesante resaltar que la transferencia horizontal de genes es un mecanismo que se postula crucial en la evolución de las cianobacterias. Se trata de otro mecanismo de cooperación, que enriquece el acervo genético y por lo tanto la capacidad de supervivencia (Margulis 2009). Pueden encontrarse numerosos ejemplos que muestran que este evento ha sucedido frecuentemente, como puede deducirse del estudio de los genomas completos de cianobacterias que se conocen. Esta capacidad es algo que faculta la utilidad de estos organismos en biotecnología.

Colonizan ambientes extremos y muy variados

Hay más de 10000 géneros catalogados, y como ocurre con el resto de las bacterias, probablemente la taxonomía tiene que ser revisada en profundidad utilizando no solo criterios morfológicos y metabólicos, sino también genómicos. Se pueden encontrar cianobacterias virtualmente en todas partes: no solo en aguas continentales o marinas, sino en suelos, aguas termales, tundras muy frías, paredes húmedas de las entradas de las cuevas, charcos, catacumbas, en cubiertas de los barcos, refrigeradores de aires acondicionados, cortinas de ducha, cantos rodados, desagües, cisternas, refrigeradores de centrales nucleares, tundra siberiana, desiertos, hielos antárticos... No solamente tienen unos requerimientos nutricionales muy bajos y se adaptan a utilizar luz de muchas longitudes de onda y a bajas intensidades, sino que también han desarrollado mecanismos de supervivencia en ambientes extremos, en los que hasta hace unos años no se consideraban compatibles con la vida.

En los últimos años ha habido un interés creciente por este tipo de organismos, los extremófilos, como fuente de enzimas muy útiles en biotecnología (por ejemplo la TAC Polimerasa aislada de un extremófilo, que ha permitido la revolución en la Biología Molecular que conllevó la incorporación de la técnica de PCR, “Polimerase Chain Reaction” gracias a una DNA polimerasa capaz de funcionar a temperaturas altas), así como por la presencia de metabolitos secundarios no usuales que pudieran tener interés. Muchas cianobacterias están entre los organismos extremófilos que pueden ser muy interesantes, y su potencial está por explorar.

Presentan una gran complejidad morfológica y fisiológica:

Comparado con otros procariontes, las cianobacterias pueden ser células grandes, con compleja morfología y una gran diversidad. Hay unicelulares, filamentosas, ramificadas o no, y con gran variación en el tamaño. Pueden también formar colonias con diferente grado de complejidad. Las cianobacterias tienen una característica que muy pocos procariontes poseen, la capacidad de llevar a cabo diferenciación celular. Esta diferenciación, que supone una expresión génica diferencial, lleva a la generación de células especializadas, como por ejemplo los heterocistos. En estas células se lleva a cabo la fijación de nitrógeno por la enzima nitrogenasa, que solo es activa en ambiente anaeróbico, probablemente vestigio de una situación previa a la fotosíntesis oxigénica. En ausencia de nitrógeno disponible en el medio, algunas cianobacterias filamentosas responden con un complejo sistema de señales (Flores y Herrero, 2009) y una de las células que se origina tras división celular, se diferencia a heterocisto. Se producen varias escisiones en el genoma, y se produce una regulación génica

diferencial y generación de información de posición, ya que está regulado que se origine un determinado patrón espacial de distribución de los heterocistos en el filamento.

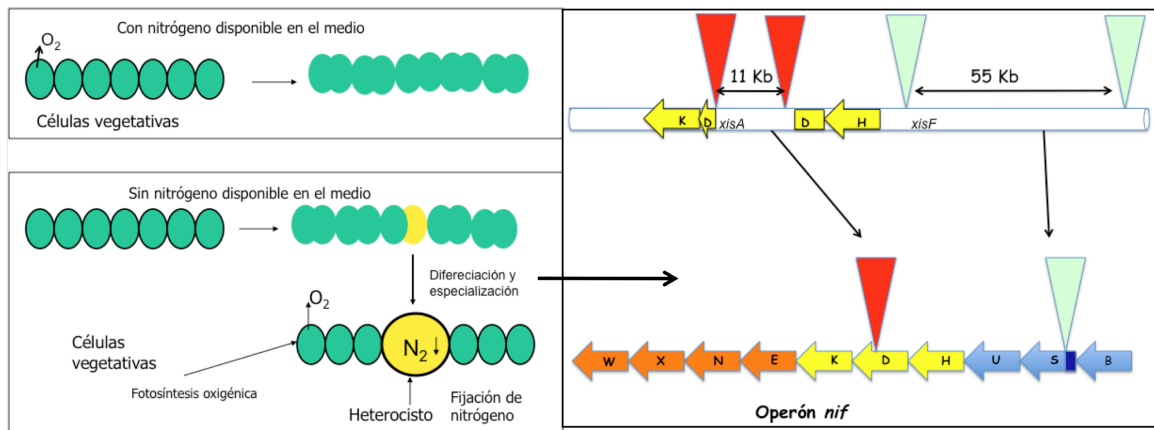


Figura 1: Cianobacteria filamentosas fijadoras de nitrógeno. Cuando hay deficiencia de nitrógeno, se establecen las señales moleculares de diferenciación celular y se originan unas células especializadas donde puede ocurrir la fijación de nitrógeno, los heterocistos. La nitrogenasa se inactiva en presencia de oxígeno, y la expresión diferencial de genes en esta célula origina el ambiente anaerobio en el que es posible este proceso. Las células vegetativas vecinas, con las que se comunica e intercambia moléculas, producen gran cantidad de oxígeno como consecuencia de la fotosíntesis. En el panel de la derecha se observa un esquema de la reorganización génica que se produce en el operón *nif* durante la diferenciación de los heterocistos con la escisión de varias regiones del genoma. Esto permite la expresión de los genes que codifican las subunidades del complejo de la nitrogenasa (*nifH*, *nifD* y *nifK*), además de otras proteínas implicadas en el proceso. Otras cianobacterias, normalmente unicelulares, en lugar de separar en el espacio la fotosíntesis y la fijación de nitrógeno, utilizan la estrategia de separar estos procesos en el tiempo.

Todos los cambios están orquestados por NtcA, un regulador transcripcional global que se encuentra en todas las cianobacterias (Flores y Herrero, 2008). Se integran una serie de señales internas, externas y de comunicación entre las células de un filamento. Es interesante resaltar la comunicación celular que se establece entre las distintas células de un filamento, indicativo de la sofisticación que se ha alcanzado en estos procariotas. Esta regulación génica diferencial tiene como consecuencia importantes cambios morfológicos y fisiológicos. El heterocisto es una célula mayor y más redondeada que las vecinas, y engrosa su pared con capas de glicolípidos y polisacáridos específicos, para evitar entrada del oxígeno que están generando las células vegetativas vecinas. No se expresan los genes del fotosistema II, ni por lo tanto se ensambla éste, para evitar la fotólisis del agua y el consiguiente desprendimiento de oxígeno, incompatible no solo con la actividad de la nitrogenasa, sino con la expresión del operón *nifHDK* que codifica los polipéptidos que constituyen su complejo. Solo el fotosistema I está expresado y ensamblado, y la fotosíntesis transcurre en su forma cíclica,

dando lugar únicamente a fuerza protomotriz para impulsar la síntesis de ATP a través de la bomba de protones ATPasa. Esto implica que en el heterocisto no va a producirse la fotorreducción de NADP^+ . Otro aspecto importante de esta expresión génica diferencial afecta a los genes que codifican los polipéptidos y componentes que ensamblan los fotosistemas, y es que no se sintetizan tan apenas ficobiliproteínas, y mucha menor cantidad de clorofila *a*, la única presente en las cianobacterias. Por lo tanto, presentan un color más pálido y sin los matices azules que tienen las células vegetativas. No llevan a cabo el ciclo de Calvin-Benson, y faltan todas las enzimas implicadas en este proceso, de hecho, en cierta forma, podemos considerar al heterocisto como una célula heterótrofa. Los genes del operón *nif* (nitrogen fixation) se expresan, y la fijación de nitrógeno puede ocurrir. Un hecho curioso es que algunas proteínas con papel relevante en la fotosíntesis, juegan un nuevo papel en los heterocistos en la cadena de transporte de electrones a la nitrogenasa, como trabajos nuestros demostraron hace años (Razquin et al. 1996).

Otro ejemplo de la complejidad de las cianobacterias podría ser la capacidad de adaptación cromática y la respuesta a las distintas longitudes de onda de la luz, muy importante para la supervivencia y productividad primaria en capas no superficiales de las aguas o sustratos. Las distintas bilinas que poseen estos organismos formando parte de su aparato fotosintético les permiten aprovechar un rango mucho más amplio de longitudes de onda del que pueden utilizar otros organismos del fitoplancton. Se han identificado fitocromos, probables ancestros de los presentes en las plantas superiores, que actúan como fotorreceptores. Podríamos decir de forma muy simplificada, que las cianobacterias “ven”, y como consecuencia de la lectura del tipo, intensidad de la luz, ángulo y duración relativa del periodo de oscuridad con respecto al día (fotoperiodo) desencadenan una serie de cascadas de regulación génica que permite adaptar su fisiología a las circunstancias ambientales (Kehoe et al., 2010). Simultáneamente, poseen sistemas de protección frente a luz ultravioleta, que pueden tener interés biotecnológico muy interesante.

También en relación con esta adaptación cromática, algunas cianobacterias poseen un complejo sistema de posicionamiento vertical en el cuerpo de agua, las vesículas de gas. Este sistema de movilidad puede llegar a ser tan eficaz como los flagelos de otras bacterias, y está fuertemente regulado por procesos luz/fotosíntesis. La calidad y cantidad de luz cambia en función de la profundidad de los cuerpos de agua. El crecimiento de las cianobacterias y todos los fotoautótrofos ocurre si pueden residir suficiente tiempo por encima del punto crítico en que la fotosíntesis simplemente se compensa por la respiración. Las cianobacterias que poseen estos sistemas de flotación intermitente, pueden posicionarse cerca de la superficie del agua y

recibir una dosis mayor de luz que otra células del fitoplancton. Además, las cianobacterias que poseen vesículas de gas, sombrean a otros competidores fotosintéticos situados en capas inferiores. Esta posición, les puede permitir también tener acceso al CO₂ que se difunde desde la atmósfera, y tal vez a mayor cantidad de nutrientes. No obstante, la ventaja de competición por luz es la más importante (Walsby 1994).

Otra ventaja adaptativa importante de las cianobacterias frente a otros fotoautótrofos del fitoplancton es su capacidad para sobrevivir en condiciones limitantes de hierro. Las metaloproteínas son esenciales en procesos clave, y entre estas, las ferropoteínas son mayoritarias. Participan en cadenas de transferencia de electrones clave, como por ejemplo en la fotosíntesis, la respiración, la asimilación y la fijación de nitrógeno. Los organismos acuáticos tienen muy frecuentemente limitada la biodisponibilidad de hierro, un metal esencial para la vida. Es muy abundante en la corteza terrestre, pero debido a la presencia de oxígeno y en pH alcalinos, forma hidróxidos insolubles que provocan que la deficiencia de hierro sea algo muy frecuente en ecosistemas acuáticos. De hecho, en grandes regiones oceánicas, llamadas HNLC (high nutrients low chlorophyll), con muy baja productividad primaria, se demostró mediante fertilización "in situ" que era el hierro lo que estaba limitando la productividad (Coale et al. 1996). Las cianobacterias han desarrollado evolutivamente una serie de mecanismos encaminados a optimizar su supervivencia en medios limitantes de hierro. Adquieren hierro por medio de sideróforos, y son capaces de sustituir proteínas que contienen hierro por otras con otro tipo de cofactores, como flavinas. Ha sido muy estudiado el caso de la sustitución de la ferredoxina, una proteína sulfoférrica que acepta electrones del fotosistema I, por flavodoxina, una pequeña proteína que contiene un grupo FMN y que es un caso curioso de convergencia funcional, ya que estructuralmente las dos proteínas no presentan homología. Cuando hay deficiencia de hierro, estas flavoproteínas llevan a cabo eficazmente las funciones de la ferredoxina (Fillat et al., 1990,1991) (Peleato et al, 1994) (Vigara et al., 1998) . Sin embargo, es curioso resaltar que en el heterocisto, la flavodoxina no parece sustituir a una ferredoxina específica que participa en la cadena de transporte a la nitrogenasa (Razquin et al. 1994), aunque el sistema prioriza que el heterocisto no esté tan afectado por la carencia de hierro (Razquin et al, 1996), y esta célula parece actuar como una especie de sumidero del metal (Razquín, Tesis Doctoral 1994).

Sin duda, uno de los principios fundamentales de la vida es la cooperación entre células. Es evidente en el caso de organismos pluricelulares, desde un cierto tipo de colonias organizadas a los humanos, vemos claramente como hay una comunicación y cooperación que armonizan la fisiología de todos los pluricelulares. En las organizaciones coloniales, se observa un esbozo claro de cooperación entre las células individuales. Esto lo podemos observar incluso

en los procariotas: las cianobacterias filamentosas como por ejemplo *Anabaena*, en ausencia de nitrógeno combinado en el medio diferencian una de cada 8-10 células, que se especializa en la fijación de nitrógeno. Esta célula especializada, el heterocisto, suministra nitrógeno a las células vecinas, las vegetativas, mientras que estas proporcionan carbono como fuente de materia y energía al heterocisto.

Contrariamente a lo que pudiera parecer, en los últimos años se ha puesto de manifiesto que los organismos unicelulares se comunican y también cooperan (Wingreen y Levin 2006). Estos organismos pueden ser bacterias, hongos o protistas, y la comunicación-respuesta puede ser interespecífica o intraespecífica. Como otros procariotas, las cianobacterias se comunican con otros individuos de la población, y mandan mensajes moleculares al medio externo. Estas moléculas también pueden ser de acción alelopática contra competidores de otras especies o su misma especie. Un caso muy interesante son las moléculas de comunicación llamadas de “quorum sensing”, es decir, de información poblacional que dan a las células retroalimentación de regulación génica sobre el tamaño de la propia población y genera respuestas “sociales” coordinadas. Las células producen, excretan y son capaces de detectar moléculas (normalmente pequeñas) llamadas autoinductores. A altas concentraciones de los autoinductores, las cianobacterias entran en un nuevo estatus fisiológico que mediante una expresión génica específica, se caracteriza por una respuesta colectiva que adoptan todas las células de la población. Este nuevo comportamiento puede ser agregarse en colonias, formación de biofilms, síntesis de toxinas, e intercambios de DNA entre otras respuestas.

La comunicación interespecífica está menos estudiada y es mucho más difícil de tipificar, pero sin duda, también se ha puesto de manifiesto que hay muchísimos ejemplos de complejos consorcios de microorganismos que se comunican y cooperan, como por ejemplo los tapetes microbianos o los biofilms. En estos casos hay unas fuertes sinergias en que las potencialidades metabólicas de cada uno de los integrantes se utilizan para mutuo beneficio. Claramente estos ejemplos y otros muchos de cooperación están lejos de la pura competición darwiniana. Esta cooperación implica una comunicación que permita ajustar el “comportamiento” a las circunstancias ambientales a y a la densidad de población. Esta cooperación parece tener también sus “disidentes”, y hay un interés creciente por casos de “tramposos” entre los microorganismos, así como ciertos mecanismos “policía” que contrarresta a aquellos (Wingreen y Levin 2006). Este mismo fenómeno se pone de manifiesto en el contexto de las interacciones entre bacterias y hospedadores, en que los hospedadores favorecen las simbiosis con unos organismos y las impiden con otros muy parecidos.

Las cianobacterias un papel muy relevante en la introducción de nitrógeno en los ecosistemas y en la productividad primaria de los océanos

La vida en la tierra tal como la conocemos no sería posible si algunos de los procariotas no hubieran conservado la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico. El nitrógeno, aunque es un elemento abundante en la corteza terrestre, es muy poco biodisponible, y la mayoría del nitrógeno combinado que circula en los ciclos de materia, procede de fijación biológica. Esta capacidad que conservan algunas cianobacterias, tiene una gran relevancia ecológica y económica. En los océanos, se lleva a cabo el 30% de la introducción de nitrógeno global, y la mayor parte debido a las cianobacterias. Esta diazotrofia, junto con su fotoautotrofia, hace que el fitoplancton marino sea responsable aproximadamente el 66% de la producción primaria del planeta. Muchas cadenas tróficas tienen su base en la productividad primaria de cianobacterias. Sin duda, las cianobacterias son organismos cuyo crecimiento tiene unos requerimientos nutricionales muy bajos, con capacidad de obtener por si mismas carbono y nitrógeno en presencia de luz. Esta característica hace que sean especialmente interesantes en biotecnología, debido al bajo costo de la producción de su biomasa.

El uso de las cianobacterias como abono verde ha sido tradicionalmente utilizado por la humanidad. Como se ha indicado anteriormente, los suelos son de forma natural limitantes en el macronutriente nitrógeno, e incluso en la agricultura actual, los abonos nitrogenados suponen un alto coste económico y medioambiental. Las cianobacterias han sido tradicionalmente utilizadas en Asia como fertilizantes naturales en campos de arroz, ya sea en forma de vida libre o en simbiosis con una especie de un helecho llamado *Azolla*. En agricultura sostenible, las cianobacterias libres o asociadas, así como el uso de otros procariotas capaces de fijar dinitrógeno atmosférico (especialmente el binomio *Rhizobium*/leguminosa), son las grandes apuestas todavía por investigar a fondo en un modelo de lo que se llama agricultura sostenible. La biotecnología ha tratado desde hace muchos años de incorporar la maquinaria biológica de la fijación de nitrógeno a plantas, y utilizar técnicas de ingeniería genética tratando de generar una nitrogenasa tolerante al oxígeno. Esto no ha sido posible. En la actualidad, las líneas de trabajo están enfocadas a optimizar otros aspectos de la fijación biológica de nitrógeno, como por ejemplo que la maquinaria de fijación biológica de nitrógeno no se vea inhibida por la presencia de nitrógeno fijado, de forma que sea compatible la fijación de nitrógeno con la presencia de cantidades pequeñas de abonos nitrogenados. La coexistencia de ambos aportes de nitrógeno mejoraría la productividad de las cosechas.

Otra línea de trabajo está encaminada a seleccionar cepas de cianobacterias con alta eficacia para la fijación biológica de nitrógeno, y/o con alta eficacia para establecer simbiosis o

asociación con otros organismos. Así mismo, se están dedicando muchos esfuerzos en buscar cepas resistentes a estreses ambientales, especialmente el estrés salino o el estrés de altas temperaturas. El conocimiento de los mecanismos de reconocimiento específico entre las cianobacterias y las plantas con las que establecen simbiosis, puede permitir pensar en ampliar el rango de hospedadores.

Las cianobacterias son hoy día un importante eslabón del ecosistema global, y contribuyen con más del 30% del oxígeno liberado a la atmosfera cada año. Por otra parte, la capacidad de incorporar CO₂, mayoritariamente al ciclo de Calvin, pero también mediante otros procesos mediados por otras enzimas, implica que son unos organismos que pueden ser utilizados para secuestrar CO₂ de la atmósfera, y de hecho, como se explicará posteriormente, ha habido propuestas de fertilizar grandes regiones oceánicas para generar gran cantidad de biomasa de cianobacterias, y tratar de disminuir el problema que supone el creciente incremento de CO₂ atmosférico.

Son fuente de multitud de metabolitos bioactivos de potencial interés farmacológico, todavía inexplorados.

Las cianobacterias producen gran cantidad de metabolitos con interés terapéutico, que incluyen antivirales, antitumorales, inhibidores de enzimas, protectores de luz ultravioleta entre otros efectos. (Skulberg 2005) (Gademann y Kobylinska 2009) (Jones et al, 2009). Se considera que la mayoría de los metabolitos secundarios de las cianobacterias están por describir, y que constituyen uno de los grupos de bacterias más prometedores en la búsqueda de nuevos productos bioactivos. La cianobacteria marina *Lyngbya majuscula* y otras especies del género *Lyngbya* han mostrado ser una fuente excelente de productos bioactivos, además de presentar algunos en cantidades suficientes para ser organismos muy tóxicos. Además de los productos naturales, las cianobacterias pueden ser utilizadas para la producción de metabolitos de interés, mediante recombinación génica, insertando los genes implicados en su síntesis.

Hay una larga lista de compuestos que se han estudiado desde el punto de vista farmacológico, pero solo se han identificado algunas de las rutas biosintéticas, y muy pocos genes responsables de la síntesis de estas moléculas. Muchos de estos metabolitos son péptidos, alcaloides y policétidos, y su mecanismo de acción es muy variado.

Los péptidos producidos por las cianobacterias son muy abundantes, y pueden ser lineales, cíclicos, sintetizados por los ribosomas en base a un mensaje genético, o de síntesis no ribosomal. Las cianobactinas son una familia de pequeños péptidos cíclicos de síntesis

ribosomal, generalmente modificados por modificaciones postraduccionales. Estas moléculas han mostrado un potencial farmacológico importante, en especial son muy interesantes como fármacos antipalúdicos y antitumorales (Sivonen et al. 2010). Muy frecuentemente son antimitóticos que afectan a la polimerización de la tubulina de agentes infecciosos, y se aíslan de distintas especies del género *Nostoc*, entre otros. Un péptido lineal, aeruginosina 103-A, aislada de *Microcystis viridis* (NIES-103) es un inhibidor de la coagulación, afectando a la trombina (Kodani et al. 1998).

Entre una gran variedad de alcaloides presentes en muchos géneros de cianobacterias, algunos tienen alto potencial antitumoral, así como efectos sobre la proliferación de otras células del fitoplancton. Un alcaloide aislado de *Nodularia harveyana*, muestra acción alelopática contra otras especies de cianobacterias (Volk 2008) por lo que podría ser utilizado para controlar la proliferación de cianobacterias productoras de toxinas. Otros alcaloides, por ejemplo los aislados de *Hapalosiphon fontinalis*, *Fischerella musciola*, *Tolypothrix tjipanasensis* y *Hapalosiphon weilwitschi*, muestran también actividad alguicida, fungicida e insecticida (Gademann y Portmann 2008), pudiendo ser utilizados en plagas agrícolas. Fischerellina-A, obtenida de *Fischerella musciola* UTEX 1829 es un potente inhibidor del fotosistema II, y afecta a cianobacterias, algas y plantas, pudiendo ser utilizado como herbicida.

Especialmente relevantes son la calothrixina-A y la calothrixina-B, aisladas de cepas del género *Calothrix* capaces de inhibir el crecimiento de una cepa resistente a la cloroquina del parásito *Plasmodium falciparum* que causa la malaria (Rickards et al. 1999). *Synechococcus* PCC 6301 transformado con genes de compuestos tóxicos para mosquitos, procedentes de *Bacillus thuringiensis* y *Bacillus sphaericus* podrían ser una buena alternativa para destruir larvas de mosquitos que los ingieren y poder combatir así enfermedades transmitidas por mosquitos (Sangthongpitag et al. 1997).

Muchos de estos compuestos son potentes antivirales, y se han ensayado con éxito para combatir infecciones por HIV, herpes simplex, citomegalovirus humanos, y virus de gripes. Bauerinas A-C, aisladas de *Dichtrix baueriana* es eficaz contra virus herpes simplex (HSV-2) (Larsen et al. 1994).

Se ha utilizado *Nostoc elliposporum* para producir cianovirinas recombinantes (Mori et al. 1998) que han sido utilizadas como antivirales útiles en el tratamiento de HIV.

Las protecciones que las cianobacterias han desarrollado a lo largo de la evolución para evitar daños de la luz ultravioleta pueden ser útiles para ser utilizadas como protectores solares. Son moléculas derivadas de aminoácidos, de pequeño peso molecular, incoloras y solubles en agua. Otro tipo de estas moléculas pueden ser pigmentos solubles, localizados en la pared

externa de las cianobacterias, cuya síntesis puede incrementarse sometiendo a las células a estreses como altas temperaturas, altas intensidades de luz, desecación e irradiación con UV-A, deficiencia de nitrógeno entre otros. Además, estos pigmentos tienen capacidad antiinflamatoria y antiproliferativa (Rastogi y Sinha 2009), por lo que tienen un alto potencial farmacológico.

Las cianobacterias han sido utilizadas para nutrición humana y son fuente de suplementos alimenticios.

Algunas culturas han incluido tradicionalmente ciertas especies de cianobacterias en su dieta. Sirva de ejemplo la sopa de *Nostoc* que se consume en muchas regiones de China, llamada sopa Fa Cai, que por su alto coste se considera un manjar. En América del Sur, hay consumo de colonias globulares de *Nostoc* recolectadas en los lagos del altiplano peruano, que se comercializan hasta en Cuzco. En el Chad se utiliza un alimento tradicional, del que hay datos de su utilización desde el siglo IX, llamado Dihé. Una misión científica europea lo dio a conocer en los años 50, y se trataba de unos roscos o tortas secas de color verde tirando a azul, que se podían encontrar en los mercados de la región del Kanem. La investigación mostró que este "dihé" provenía de la masa de cianobacterias cosechadas en la superficie de charcos altamente alcalinos y secos de la arena de las riberas del lago Chad. Las mujeres embarazadas piensan que comiendo dihé, su color oscuro enmascarará y protegerá al bebé para que ningún brujo pueda echarle "mal de ojo".

Esta cianobacteria se denominó *Spirulina*, por su aspecto de filamento espiral. Desde hace centenares de años, este particular producto muy apreciado en la región no era tan sólo consumido en toda la zona del Kanem sino que también era objeto de un intenso tráfico en todo el Sahel, a través de las caravanas.

Spirulina se supone que fue también fuente de alimento para los Aztecas y otras civilizaciones mesoamericanas hasta el siglo XVI. Las cosechaban del lago Texcoco y hay citas de la época en que se indica que tortas de este material eran vendidas en los mercados. Les llamaban Teocuitlatl, que quería decir "excremento de la piedra". Aunque esta cianobacteria sigue presente en el lago, no se consume hoy día.

En los años 70, y en base a una composición que parecía idónea como suplemento alimenticio, (ya que tiene una altísima proporción de proteínas (hasta el 70% de peso seco) así como vitaminas, ácidos grasos esenciales y otros elementos), se empezó a comercializar masa celular de *Spirulina* como suplemento alimenticio. Sin embargo, sus proteínas son deficientes en metionina, cisteína y lisina (Aaronson y Dubinsky 1982), aunque en menor medida que en

general otras proteínas de origen vegetal, incluidas las procedentes de las leguminosas. La primera planta de producción a gran escala fue de la compañía Sosa Texcoco, y desde entonces hay numerosas plantas de producción en todo el mundo.

La *Spirulina* se ha comercializado con un matiz de suplemento-milagro, y aunque sin duda sus bondades nutricionales están claras, hay que tener precaución en su consumo, pues hemos detectado que algunos de estos preparados pueden estar contaminados con otras cianobacterias tóxicas y pueden ser muy dañinas para la salud de quien las consume.

Uno de los argumentos para el consumo de *Spirulina* es su contenido en ciertos ácidos grasos. El ácido gamma-linolénico (GLA) es un ácido graso poliinsaturado que se encuentra en muy bajas proporciones en los alimentos, y al que se le atribuyen muchas funciones terapéuticas. Se está utilizando actualmente para tratar enfermedades de la piel, vasculares y neuronales, como el Parkinson y la esclerosis múltiple. Su ingesta también ayuda a mantener bajos los niveles de colesterol. Normalmente el contenido de lípidos en las cianobacterias es bajo, pero se considera que aproximadamente la mitad pueden ser ácidos grasos. Algunas cianobacterias como *Spirulina* se consideran una de las fuentes con mayor contenido de linolénico. *Aphanizomenon flos-aquae* contiene también cantidades significativas de este ácido graso (Kushak et al. 2000).

Sin duda, las cianobacterias son una buena fuente de vitaminas, y 20 g de *Spirulina* aportan toda la vitamina B12 requerida en un día, así como el 70% de B1 (tiamina), el 50% de B2 (riboflavina) y el 12% de B3 (niacina) (Watanabe et al. 2002)). *Spirulina* es rica en tocoferol (vitamina E) (Hudson y Karis 1974). Aunque *Spirulina* es la cianobacteria que frecuentemente se comercializa liofilizada como suplemento alimenticio, otras especies como *Aphanizomenon flos-aquae*, *Anabaena hassali*, *Microcystis pulverana*, *Nostoc punctiforme*, *Phormidium bijugatum* tienen también cantidades significativas de vitaminas del grupo B.

Los pigmentos fotosintéticos que contienen las cianobacterias han sido también considerados para su uso en alimentación. Las cianobacterias contienen únicamente clorofila *a*, y además de los carotenoides que se encuentran en los complejos antena de los fotosistemas (antioxidantes muy utilizados, presentes en todos los vegetales), contienen unos pigmentos llamados ficoeritrinas y ficobilinas, que forman parte también de las antenas, unidos a una serie de proteínas específicas. Las ficobiliproteínas confieren el matiz azulado que da nombre al grupo, cianobacterias, bacterias azules. Además de las ficobilinas, también pueden contener eritrinas, y tener tonalidades rojizas. Estas ficobiliproteínas han sido utilizadas en los últimos años comercialmente en usos cosméticos, y mayoritariamente como colorante alimentario. Colores azules o rojos de helados y caramelos, así como sombras de ojos, delineadores o pintalabios incorporan estos pigmentos que se consideran inofensivos y no causan alergias.

Las ficobilinas tienen un altísimo coeficiente de extinción y también se podrían utilizar comercialmente como cromóforos para analítica o biosensores.

Las cianobacterias pueden tener un alto contenido de carbohidratos, dependiendo este de las condiciones de cultivo utilizadas. Las cianobacterias almacenan glucógeno, muy parecido al glucógeno animal. Además, sintetizan otros carbohidratos que están implicados en homeostasis osmótica, como trehalosa, y sacarosa. De hecho, la sacarosa parece estar implicada en el transporte de esqueletos carbonados al heterocisto. Los polisacáridos de la pared contribuyen también a el contenido en carbohidratos de las cianobacterias, y además, algunas cepas, como *Synechococcus* sp. MA (FERM P-15099) produce polihidroxitirato (PHB) en alta proporción, que puede ser utilizado para producción de plásticos biodegradables.

Biocombustibles a partir de cianobacterias

La biomasa procedente de cianobacterias para la obtención de biocombustibles está despertando un interés importante como alternativa para la obtención de energía sostenible. Como ya se ha comentado posteriormente, las cianobacterias muestran unos requerimientos nutricionales muy rústicos, son transformables genéticamente, tienen una alta tasa de duplicación, y algunas cepas pueden presentar características muy interesantes para ser transformadas en combustibles. Además, el proceso puede formar parte de un programa de biorremediación de aguas eutrofizadas, secuestra CO₂ de la atmósfera, y no desvía alimentos de consumo humano. En años recientes, utilizar cosechas (soja, remolacha, caña de azúcar, maíz) normalmente destinadas a consumo humano y/o animal para biocombustibles, ha generado problemas a países en desarrollo, provocando escasez y carestía de alimentos básicos. Además, la biomasa procedente de cianobacterias o macroalgas, tampoco implica deforestación, otro de los problemas de los biocombustibles de origen vegetal. Se ha desarrollado abundante tecnología para la producción de biomasa de cianobacterias a gran escala, y se ha optimizado el uso de determinados tipos de cianobacterias. Por ejemplo, han seleccionado cepas ricas en lípidos (algunas de ellas, entre el 50 y el 70% referido a peso seco) para maximizar la producción de los biodiesel, o utilizando cepas recombinantes, se puede optimizar el proceso adicionando vías metabólicas fermentativas, que den lugar directamente a etanol. Estos procesos están utilizándose ya a nivel industrial en muchos países, incluso en nuestro país hay algunas plantas piloto, e incluso aparecen en la publicidad de alguna conocida petrolera, como una energía renovable. Aunque inicialmente se construyeron estanques al aire libre para su cultivo, en la actualidad se cultivan en reactores que optimizan la utilización de la luz y la cosecha de las células.

Una alternativa biotecnológica muy interesante, es la generación de hidrógeno a nivel productivo por cianobacterias fijadoras de nitrógeno, o otras cianobacterias con distintos tipos de hidrogenasas. Durante la fijación biológica de nitrógeno, el complejo de la nitrogenasa tienen también actividad hidrogenasa y se produce H_2 como producto del proceso; además, también existen otras hidrogenasas que podrían ser interesantes para estos fines. Utilizando determinadas cepas a nivel de planta piloto, se han descrito resultados muy esperanzadores, abaratando el coste casi 7 veces con respecto al coste del hidrógeno obtenido del agua (Abed et al. 2009).

Los ensayos piloto de producción de H_2 se han llevado a cabo utilizando tres estrategias: en primer lugar, aprovechando la hidrogenasa bidireccional (Ananyev et al. 2008), en segundo lugar, usando la actividad hidrogenasa de la nitrogenasa (Lindberg et al, 2000 y 2004), y una tercera posibilidad consistiría en la introducción de una hidrogenasa eficiente de algún otro organismo que no sea una cianobacteria (Tamagnini et al. 2007) (Angermayr et al, 2009). En este último caso no debe olvidarse que el cultivo de un organismos fotosintético es mucho más económico que cuando se utiliza otro tipo de bacteria heterótrofa, y por eso, la producción de hidrógeno por las cianobacterias tiene muchas ventajas (Benemann 1996) (Dutta et al. 2005). Se han descrito 14 géneros de cianobacterias apropiados para producir hidrógeno (Dutta et al. 2005), aunque probablemente queda mucho por explorar. Hay abundante bibliografía que describe el efecto de factores ambientales y nutricionales sobre la producción de hidrógeno en muchas cianobacterias. También se ha dedicado esfuerzo a tratar de minimizar el efecto del oxígeno sobre la producción de hidrógeno, cuando es la nitrogenasa la enzima de elección. La inmovilización de las cianobacterias en diversas matrices (de poliuretano y espumas de polivinilo) podría ser una solución interesante para cualquier tecnología que implique el uso de células completas de las cianobacterias. Markov (Markov et al. 1997) patentó un método para la inmovilización de las cianobacterias en las superficies externas de fibras en un fotorreactor. Cuando la solución nutritiva se agita, el hidrógeno producido por las cianobacterias pasa al interior de las fibras y se colecta en un recipiente adecuado.

Biorremediación

La biorremediación es la utilización de organismos vivos para paliar problemas medioambientales. Las cianobacterias tienen un alto potencial como organismos que pueden contribuir a resolver algunos problemas de contaminación o desequilibrios ambientales. Ellas solas, o en sinergia con otros organismos, (por ejemplo, formando parte de tapetes

microbianos), tienen capacidad de degradar un alto número de compuestos orgánicos xenobioticos que pueden alterar nuestro medio ambiente. También se ha puesto de manifiesto su eficacia en la regeneración de aguas residuales o eutrofizadas.

Algunas cepas de cianobacterias han mostrado alta eficacia para degradar colorantes sintéticos, como rojo de metilo, fucsina básica utilizados en industrias textiles o papel impreso. Estos colorantes son muy tóxicos para el medioambiente, y carcinogénicos. Las cianobacterias son también una interesante alternativa para el tratamiento de aguas residuales (Hall et al, 1995). *Anabaena* sp. PCC 7120 y *Nostoc elliposporum* tienen la propiedad de degradar lindano (Kuritz y Wolk, 1995), un tema que también el grupo del profesor Gómez-Moreno estudió (Bueno et al. 2004). Esta investigación estuvo motivada por la idea de aportar soluciones a un grave problema medioambiental en nuestro entorno, fundamentalmente debido a los isómeros del producto comercial no biodegradables, y que se obtienen simultáneamente en el proceso industrial.

Las industrias farmacéuticas producen desechos como residuos de antibióticos que no pueden liberarse al medio ambiente. Nuestros ríos contienen una alta concentración de fármacos procedentes del alcantarillado, entre ellos antibióticos. Afortunadamente, algunas cianobacterias como por ejemplo *Phormedium valderianum* BDU (30.501), son capaces de utilizar ciertos antibióticos como fuente de nitrógeno, degradándolos al utilizarlos (Prabaharan et al. 1994).

Las cianobacterias, solas o en combinación con otros organismos, muestran una gran capacidad de restauración de suelos degradados. Los vertidos de fuel o suelos contaminados, especialmente en climas extremos, pueden ser paliados mediante tapetes de cianobacterias con eficacia (Abed et al. 2006). Suelos muy pobres, en climas áridos o semiáridos, pueden incrementar su fertilidad mediante los exopolisacáridos de las cianobacterias que mejoran la estructura del suelo, y el nitrógeno procedente de la fijación biológica (Maqubela et al., 2010).

Obtención de bioplásticos

En condiciones de exceso de nutrientes, los microorganismos pueden almacenar diversos materiales para reserva futura. Las cianobacterias pueden acumular polihidroxicanoatos, PHAs, que polimerizan y pueden formar gránulos en el citosol. Los PHAs pueden considerarse plásticos con propiedades similares a las del polipropileno, y se considera que es un material biodegradable, potencial sustituto de plásticos no degradables procedentes de derivados de petróleo. También se propone su uso como biomaterial en medicina y farmacología. Algunas cepas de cianobacterias pertenecientes a los géneros *Spirulina* y

Synechocystis, han mostrado acumulación de hasta un 7% de PHAs referido a peso seco (Abed et al, 2009). PHBs también pueden ser producidos por las cianobacterias, tal como se ha mencionado anteriormente.

Las cianobacterias pueden causar problemas

Una de las formas más frecuentes de contaminación de los ecosistemas acuáticos es a través de su enriquecimiento en exceso de nutrientes, conocida como eutrofización (*eutrofo* en griego: *bien nutrido*). Cuando este fenómeno ocurre naturalmente es un proceso lento, que puede durar hasta cientos de años y forma parte de transformación general del lago en pantano y finalmente en prado. Esto ocurre porque los nutrientes introducidos masivamente en el sistema generan una gran biomasa de organismos, de vida generalmente efímera, que al morir se acumulan sobre el fondo y no son totalmente consumidos por organismos degradadores. Con la intervención antrópica, este fenómeno se acelera drásticamente. A partir de la Revolución Industrial y la Revolución Verde, con el modelo de grandes urbanizaciones y grandes áreas de agricultura intensiva, se ha incrementado notablemente el aporte de nutrientes que provienen de aguas residuales no tratadas, de fertilizantes inorgánicos industriales o extractivos, abonos orgánicos y de desechos de industriales. Por estas razones, ya en 1999, se describió que en Europa, Asia y América más del 40% de los lagos estaban eutrofizados (Vitousek et al. 2009).

La eutrofización está íntimamente asociada con la proliferación del fitoplancton, llamada “Bloom” o floración, que pasa a dominar la parcela del fitoplancton de un cuerpo de agua. Un fenómeno de este tipo se considera problemático a partir de una concentración de 20000 células/mL que equivale aproximadamente a 10 µg/L de clorofila *a*.

Los blooms causan graves impactos en un ecosistema. La proliferación de las cianobacterias en la comunidad de fitoplancton bloquea o disminuye la luz en las capas más profundas. Por esta razón, toda la flora presente en los estratos inferiores no recibe luz y muere. Durante la proliferación masiva de cianobacterias, el oxígeno disuelto (DO) en el agua disminuye, y durante la noche frecuentemente hay carencia de DO. Esto es debido a que, las células muertas son descompuestas, y esto requiere el consumo de mucho oxígeno (Diersing, 2009). Este ambiente anóxico afecta negativamente a los organismo de diferentes niveles tróficos de la cadena alimentaria y además, el agua pasa a tener tanto un sabor como un olor desagradables.

Debido a los pocos requerimientos nutricionales, incluyendo la enorme ventaja que supone la diazotrofia, y a capacidades importantes como mecanismos para solventar la deficiencia de

hierro, las cianobacterias son capaces de crecer en medios muy pobres, y predominar en la población del fitoplancton. Estos “blooms” o floraciones, que en medios marinos pueden constituir las llamadas mareas rojas, con dinoflagelados, muy frecuentemente pueden estar dominados por cianobacterias, ya que tienen una tasa de duplicación muy alta. En aguas continentales pueden formar grandes masas o “natas”, que pueden dar lugar problemas diversos, además de generar malos olores y sabores desagradables y la inutilización del agua para muchos usos. Las moléculas más frecuentes que confieren este olor y sabor desagradables son las geosminas y el 2-metilisborneol. Algunos de estos “blooms” de cianobacterias, pueden ser tóxicos, y los problemas ya no son solo medioambientales, sino también sanitarios.

Algunas cepas de cianobacterias pueden sintetizar potentes toxinas

Teniendo en mente la famosa frase de Paracelso, “Todo es veneno, nada es sin veneno, solo la dosis hace el veneno”, algunos de los metabolitos secundarios que producen algunas cianobacterias están en dosis que resultan tóxicas para humanos y animales. Por esta razón, desde el punto de vista antropocéntrico, se habla de cianotoxinas. No obstante, no hay que olvidar que estas mismas cianotoxinas pueden tener su acción terapéutica asociada, y que otros principios activos que hemos citado anteriormente, ingeridos indiscriminadamente y en dosis altas, pueden ser tóxicos también.

Una cuestión muy interesante es el hecho de que la síntesis de cianotoxinas implica un desvío de materia y energía muy considerables del metabolismo primario, y que la célula no va utilizar en multiplicarse. En algunos casos, concretamente cuando se trata de endotoxinas, no se conoce todavía claramente el papel de la toxina, y es un tema sujeto a discusión. La pregunta más evidente es que ventaja adaptativa les confiere poseer la capacidad de síntesis de las toxinas, e inmediatamente después debe de plantearse la pregunta de porqué se han perdido en la mayoría de los casos los genes responsables de la síntesis. La síntesis de toxinas no suele ser constitutiva, se trata de una respuesta generalmente inducible, y parece bastante claro que esta capacidad se ha ido perdiendo durante la evolución (Rantala et al. 2004).

Solo algunas cepas de cianobacterias conservan la capacidad de producir toxinas, y en realidad, muy pocas son tóxicas, pero estas son muy abundantes y ubicuas, y con mucha capacidad de competencia. De hecho, se considera que dos géneros, *Microcystis* y *Anabaena* son las responsables de la mayor parte de los blooms tóxicos del planeta. Una misma cepa puede sintetizar varios tipos de cianotoxinas, y una misma toxina puede ser generada por muchas cianobacterias distintas.

<u>Género cianobacteria</u>	<u>Toxina producida</u>
<i>Anabaena</i>	Microcistina, Anatoxina-a, Saxitoxina y Cilindrospermopsina
<i>Anabaenopsis</i>	Microcistina
<i>Aphanizomenon</i>	Anatoxina-a, Saxitoxina y Cilindrospermopsina
<i>Cylindrospermopsis</i>	Saxitoxinas y Cilindrospermopsina
<i>Hapalosiphon</i>	Microcistinas
<i>Lyngbya</i>	Saxitoxinas, Lingbiatoxinas-a y Apliatoxina-a
<i>Microcystis</i>	Microcistinas
<i>Nodularia</i>	Nodularinas
<i>Nostoc</i>	Microcistinas
<i>Oscillatoria</i>	Microcistina, Anatoxina-a, Lingbiatoxina-a y Apliatoxina
<i>Phormidium</i>	Anatoxina-a
<i>Planktothrix</i>	Microcistina y Saxitoxina
<i>Raphidiopsis</i>	Anatoxina-a y cilindrospermopsina
<i>Schizothrix</i>	Lingbiatoxina-a y Apliatoxina
<i>Synechocystis</i>	Microcistina
<i>Umezakia</i>	Anatoxina-a y cilindrospermopsina
<i>Woronichinia</i>	Microcistinas

Tabla 1. Algunos géneros de cianobacterias potencialmente productoras de toxinas y las toxinas que pueden generar. Adaptado de Codd et al. (2005).

Las cianotoxinas pueden ser moléculas muy variadas, y aunque se están identificando continuamente moléculas tóxicas nuevas, se clasifican en grupos en base a diferentes criterios. Estas cianotoxinas pueden clasificarse según el efecto en humanos y animales (hepatotóxicas, neurotóxicas, citotóxicas, dermatotóxicas...), o en base a su naturaleza química: péptidos cíclicos, alcaloides, policétidos... En los últimos años, se han incorporado a la categoría de cianotoxinas algunos aminoácidos no proteicos así como los lipopolisacáridos que forman parte de la pared de las cianobacterias.

Los péptidos cíclicos están formados por aminoácidos proteicos y no proteicos y lo más

curioso es que son péptidos de síntesis no ribosomal, mediante grandes complejos que implican péptido sintetasa (nonribosomal peptide synthetases, NRPS) y policétido sintasa (polyketide synthases, PS). Aunque muchos de estos péptidos tienen función desconocida, hay dos tipos que constituyen las cianotoxinas más ubicuas y de mayor incidencia, las microcistinas y las nodularinas. Ambas dos comparten un aminoácido llamado Adda (ácido 3-amino-9-metoxi-2,6,8-trimetil-10-fenildeca-4,6-dienoico) que es el responsable de la toxicidad en último término. Ambos son potentes hepatotóxicos.

Las microcistinas, heptapéptidos cíclicos, son una familia de cerca de 100 variantes, que afectan a dos aminoácidos variables, además de cambios en las cadenas laterales, que pueden tener distinto grado de toxicidad. La forma más abundante es la microcistina-LR, que tiene leucina y arginina en las posiciones variables. La síntesis de microcistina la llevan a cabo enzimas modulares del tipo péptido sintetasa y policétido sintasa, codificadas en un operón bidireccional (*mcy*, en *Microcystis aeruginosa*) de 55 kb compuesto por 10 genes que se transcriben bidireccionalmente a partir de un promotor central común (Tillett et al. 2000).

Las nodularinas son pentapéptidos cíclicos y también existen diversas variantes y el operón que codifica los genes implicados en la síntesis de la nodularina (*nda*) tiene una organización muy similar al operón de la microcistina.

Las microcistinas y nodularinas tienen un mecanismo de acción idéntico, e inhiben a dos enzimas clave de organismos eucariotas, proteína-fosfatasa 1 y 2A. Se considera que aproximadamente un 30% de las proteínas de eucariotas pueden estar fosforiladas, y la dinámica fosforilación/defosforilación afecta a muchísimos procesos celulares. Las cascadas de fosforilación de proteínas es un mecanismo de transducción de señales crucial, y la falta de actividad de estas fosfatasas des gobierna todo el metabolismo celular. El hecho de que se consideren hepatotóxicas es debido a que no atraviesan fácilmente membranas, y son internalizadas por las vías de transporte de los ácidos biliares, por lo que el hígado es el órgano diana más afectado. En los hepatocitos, se produce una desestructuración del citoesqueleto, debido a una hiperfosforilación que altera la dinámica de polimerización/despolimerización de los microtúbulos. Esto provoca su destrucción y la muerte por fallo hepático (MacKintosh et al. 1990). No obstante también se ha descrito que las microcistinas, directa o indirectamente producen daño oxidativo, y que son capaces de unirse a las ATPasas (Mikhailov et al, 2003), así como producir citotoxicidad en queratinocitos (Hernandez et al, 2007). Es relevante destacar que afectan al ciclo celular y que en dosis subletales se considera un promotor tumoral importante (Zhou et al. 2002). Las fosfatasas de procariotas no parecen verse afectadas por estas toxinas, que de hecho son endotoxinas y se acumulan en grandes cantidades.

En 1998, la Organización Mundial de la Salud (OMS), indicó la concentración máxima recomendada 1µg/L en aguas para el consumo humano. En 2003, esta recomendación fue incorporada a la legislación Española a través del Real Decreto 140/2003. En cuanto a las aguas de recreo, la OMS propone que se usen las cantidades de cianobacterias como valor guía. En el artículo 8 de la Directiva Marco Europea 2006/7/CE, se propone considerar la potencialidad del sistema para albergar grandes poblaciones de cianobacterias: *“Cuando el perfil de las aguas de baño indique propensión a la proliferación de cianobacterias, se llevará a cabo un control adecuado que permita la identificación oportuna de los riesgos para la salud”*. Por lo tanto, no señala ningún nivel de cianotoxinas límite, ya que todavía no se conocen todas las cianotoxinas y por otra parte, no existen patrones disponibles para muchas de las que están identificadas. Esta Directiva fue trasladada a la Legislación Española a través del Real decreto 234/2007.

Las cianobacterias pueden sintetizar un gran número de alcaloides, y algunos de ellos están en dosis tóxicas. Estas pequeñas moléculas pueden ser potentes neurotóxicos, citotóxicos o irritantes de la piel. Las neurotoxinas más frecuentes son las saxitoxinas, las anatoxinas y la anatoxina-a. Las saxitoxinas están muy relacionadas con las toxinas que pueden producir algunos dinoflagelados, las PSPs (paralytic shellfish poisons) que se producen en mareas rojas tóxicas. Resulta muy curioso el hecho de que sinteticen la misma molécula dos grupos de organismos tan alejados entre sí filogenéticamente. Son exotoxinas, y potentes neurotoxinas al unirse a los canales de sodio en los canales iónicos, por ejemplo en las neuronas implicadas en la contracción muscular. Las anatoxinas son alcaloides que mimetizan un neurotransmisor, la acetilcolina, y bloquean a la acetilcolinesterasa, provocando la interrupción de la transmisión del impulso nervioso. La anatoxina a es un organofosfato natural, y no se ha detectado variantes estructurales.

La lyngbyatoxina, que provoca dermatitis severa en primera instancia, activa protein-kinasas C, por lo que de nuevo afecta a procesos de fosforilación/defosforilación y desregula el ciclo celular, por lo que se considera que puede ser promotor tumoral.

La cilindrospermopsina es un alcaloide hepatotóxico, que inhibe la síntesis de proteínas, entre otros procesos.

Los lipopolisacáridos (LPS) son componentes de la pared que forman parte de la pared externa, y como todos los Gram negativos, pueden afectar a otros organismos, incapacitando defensas. No obstante, se considera que los LPS de cianobacterias son menos tóxicos que los de otras bacterias heterótrofas.

En los últimos años se ha descrito que un aminoácido no proteico llamado b-metilamino L-alanina (BMAA) se acumula en determinadas cianobacterias y puede causar graves daños. Se

describió en cianobacterias endofíticas, pero posteriormente se ha encontrado en numerosas especies de vida libre. Se une a los receptores de glutámico, y es altamente neurotóxico, provocando a bajas dosis efectos neurodegenerativos importantes.

Algunas cianotoxinas se han ensayado con éxito como fármacos, fundamentalmente antitumorales.

Factores que afectan a la expresión de los genes implicados en la síntesis de microcistinas

La microcistina es la cianotoxina más abundante y ubicua, y por lo tanto la comunidad científica ha dedicado un gran esfuerzo a su estudio. Uno de los problemas por resolver en lo que se refiere a la ocurrencia de “blooms” tóxicos, es la identificación de los factores ambientales que provocan la síntesis de microcistinas. Son metabolitos secundarios inducibles, no constitutivos. No se sabe la razón, pero aparentemente bajo las mismas condiciones ambientales un año un “Bloom” puede ser no tóxico y al año siguiente, tóxico. Se han llevado a cabo numerosos estudios encaminados a esclarecer esta cuestión, y se ha considerado que la intensidad de la luz, temperaturas altas, disponibilidad de nutrientes, pH, salinidad, entre otros, podrían ser determinantes en la expresión de la toxicidad.

La bibliografía muestra resultados muy contradictorios, tanto en observaciones de campo como en ensayos de laboratorio. De hecho, pueden encontrarse citas para todos los gustos en referencia a un mismo factor. Por ejemplo, en distintos trabajos en la literatura se describen incrementos de toxina o descensos de la misma como consecuencia del impacto de un mismo factor. Las razones de esta heterogeneidad estriban en que distintas cepas con fenotipo distinto, incluso tratándose de la misma especie, puede comportarse diferentemente, las condiciones de cultivo y ensayo pueden variar, y los métodos utilizados para extraer, analizar y referenciar la microcistina puede ser muy diferente. Por no citar la imposibilidad de comparar estudios de campo y de laboratorio.

La mayoría de los trabajos miden la microcistina formada, y hay muy pocos que incidan en la regulación génica del operón *mcy*. Sin duda, aunque es necesario el estudio detallado de todos los niveles de regulación, los estudios transcripcionales han aportado datos importantes. El factor ambiental más relevante en un organismo fotosintético es la luz, las transiciones diarias luz/oscuridad así como cambios en la intensidad y en la gama espectral de luz. Hace algunos años se determinó que incremento de la intensidad de la luz induce la transcripción del operón *mcy*, y que hay dos sitios de iniciación de la transcripción (*tsp*), uno asociado a alta luz y otro de baja intensidad de luz (Kaebernick et al. 2002; Kaebernick et al. 2000). Nuestro grupo de trabajo, utilizando la técnica de RT-PCR a tiempo real ha realizado estudios transcripcionales

utilizando como gen modelo *mcyD*, una policétido sintasa modular. Su expresión es indispensable para la síntesis de microcistina, su transcripción es la primera en uno de los sentidos del promotor bidireccional y está implicado en la síntesis de Adda, responsable de la toxicidad y común en microcistinas y nodularinas.

La RT-PCT a tiempo real es una cuantificación relativa del cDNA del transcrito de un gen problema, basada en su expresión relativa respecto a un gen de referencia. La elección del gen de referencia es crítica, pues es necesario que no este afectada su expresión en las condiciones del ensayo, para poder referir los datos a sus cambios. Nuestros datos indican que en el caso de *Microcystis aeruginosa* PCC7806, una cepa modelo, la transición a intensidades de luz altas conlleva únicamente un aumento puntual de la transcripción, pero que en oscuridad, los niveles de RNA mensajero descienden. La concentración de microcistina en las células, correlacionaba con lo observado en el mensajero.

Dado que la luz puede provocar estrés oxidativo en las membranas tilacoidales, se estudió el efecto de H₂O₂ así como metil viologeno y DCMU. El agua oxigenada provocó una disminución de la transcripción en tiempos iniciales, pero posteriormente se recuperaron niveles altos de mensajero. La concentración de microcistina observada fue coherente con los datos de los niveles de mensajero. En el caso del metil viológeno, que desvía electrones del fotosistema I para dar lugar a O₂⁻ el comportamiento fue análogo, siendo en este caso los niveles de microcistina con respecto al control, mucho menores. El DCMU es una molécula que mimetiza la plastoquinona, y tras unirse a la subunidad D1 del fotosistema II, interrumpe el transporte electrónico fotosintético, generando especies reactivas de oxígeno. En este caso se observó un efecto parecido al que provocaba la oscuridad, de forma que los niveles de mensajero disminuían, así como los de microcistina, aunque en este caso no tan acusadamente. De estos resultados se puede inferir que la transcripción del operón *mcy* requiere una cadena fotosintética activa.

El hierro, como se ha mencionado anteriormente, es un elemento esencial y con baja biodisponibilidad, que determina el crecimiento del fitoplancton. El metabolismo del hierro en las cianobacterias, está principalmente bajo el control de una familia de reguladores transcripcionales globales, la familia Fur (Ferric uptake regulador). El modelo vigente es el un represor clásico que utiliza el hierro como correpresor, reconociendo secuencias específicas en los promotores de los genes blanco, llamadas cajas Fur o iron-boxes. La hipótesis de trabajo fue la disponibilidad de hierro podría estar regulando la expresión de las microcistinas, y que Fur sería el regulador implicado. En primer lugar, se identificaron *in silico* dos cajas de unión a Fur en el promotor bidireccional, y otras en promotores internos. Tras identificar, clonar, sobreexpresar y purificar un parálogo de Fur en *Microcystis* (Martin-

Luna et al. 2006a) y utilizando el promotor bidireccional, demostramos que había unión (Martin-Luna et al, 2006b). Esta hipótesis quedó demostrada cuando el estudio transcripcional mostró un incremento de mensajero y microcistina causado por deficiencia de hierro (Sevilla et al. 2008).

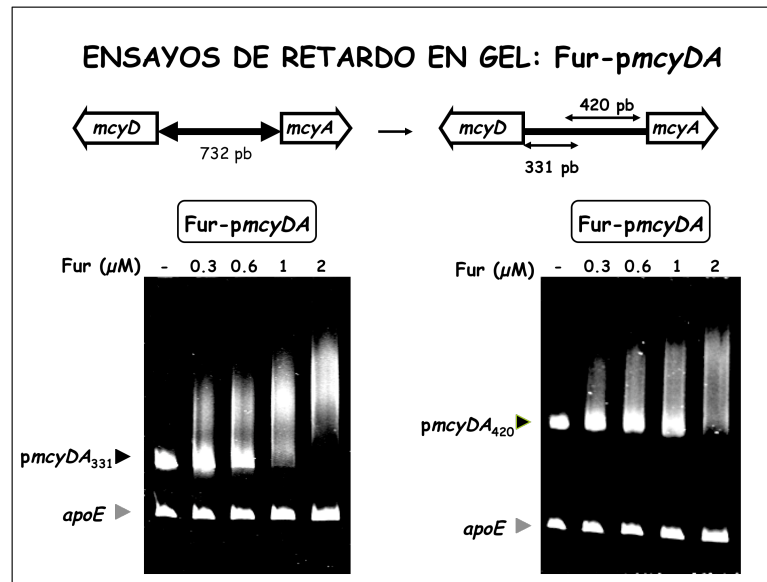


Figura 2: Estudio de la unión de la proteína Fur a “iron-boxes” identificadas *in silico* en los promotores de los genes implicados en la síntesis de la cianotoxina microcistina. Ensayo de retardo en gel utilizando el promotor bidireccional del operon *mcy*, dividido en dos fragmentos, tal como se muestra en la imagen. La proteína Fur de *Microcystis aeruginosa* PCC7806, (Martin-Luna et al, 2006a) se une a ambos fragmentos de la región promotora de los genes (Martin-Luna 2006b).

Sin embargo, según nuestros estudios, el exceso de nitrato no inducía la síntesis de microcistina, aunque era uno de los factores al que la comunidad científica identificaba como causante de toxicidad, ya que su aumento está ligado a la eutrofización. La disponibilidad de nitrógeno afecta fuertemente el crecimiento de la cianobacteria, pero no cambia la expresión génica de *mcyD* ni de los niveles de microcistina/célula de forma significativa (Sevilla et al. 2010). El fosfato, otro de los responsables de la eutrofización, no afecta al crecimiento, y su deficiencia provoca fuertes cambios puntuales en la transcripción, que correlacionan con la microcistina medida. El estrés salino y osmótico afectan negativamente (NaCl) o muy levemente (sacarosa) a la transcripción, y esto se ve reflejado en una pequeña disminución de microcistina en ambos casos.

La literatura sigue generando resultados contradictorios, y en nuestra opinión las técnicas moleculares permiten aportar información muy valiosa que posteriormente debe ser considerada desde el punto de vista fisiológico y ambiental.

Consideraciones finales

Las cianobacterias son unos organismos que pasan desapercibidos en la vida cotidiana y que no forman parte de los conocimientos generales de la sociedad. Sin embargo, sin ellas, ni ustedes ni yo estaríamos aquí en este momento. No solamente desde el punto de vista evolutivo, sino debido a que en la actualidad juegan papeles cruciales en los ciclos globales de algunos elementos y en las cadenas tróficas como productores primarios. Por otra parte, su potencial biotecnológico ha dado lugar a que puedan ser consideradas muy importantes para la economía mundial, y puedan jugar un papel relevante en modelos de desarrollo sostenible.

En contrapartida a su contribución positiva al ecosistema global, y debido al deterioro de la calidad de nuestras aguas, las cianobacterias pueden causar serios problemas sanitarios y ambientales, dada la capacidad de algunas de ellas de producir toxinas. Toxinas, que por otra parte, junto con otros metabolitos secundarios tienen potencial farmacológico muy prometedor, aunque todavía inexplorado.

La evidencia en este grupo de organismos de que ha ocurrido y ocurre transferencia horizontal de genes y recombinación homóloga puede interpretarse en conflicto con conceptos neodarwinianos (Ward et al. 2008), ya que no hay competencia, sino colaboración. Esta idea entronca con el análisis del hecho de lo que supuso la endosimbiosis de una cianobacteria ancestral en células de la línea evolutiva a eucariotas, mencionado anteriormente. Estas endosimbiosis se sigue observando que se producen profusamente en la actualidad con una amplia gama de organismos. La idea de la cooperación como fuerza evolutiva, choca frontalmente con la idea darwinista de la lucha por la vida, y la competencia como motor de la evolución, a través de la selección natural, que se materializa en el acervo genético de la descendencia. Conforme conocemos más, se hace evidente que grandes innovaciones evolutivas están basadas en esta cooperación, más que en la confrontación o competencia. Esto se olvida cuando el neodarwinismo social quiere explicar la evolución de las sociedades en base a las leyes de la evolución biológica, basada de una forma reduccionista en la lucha por la existencia y la selección natural. El propio Darwin se opuso directamente a la "aplicación brutal del su modelo evolutivo a las sociedades humanas" (Darwin, 1871). Las cianobacterias, organismos clave en la vida tal como esta diseñada en estos momentos, son el ejemplo de que sin duda la cooperación de un procarionta fotosintético con otra célula ya producto de cooperación, determinó el camino evolutivo de toda la vida sobre la Tierra. La cooperación crea potencialidades imposibles para las partes separadamente.

Entender como surgió evolutivamente la cooperación y como se ha mantenido, es un reto para los biólogos moleculares y para los estudiosos de la evolución. La cooperación puede entenderse como una convergencia del interés inmediato individual de muchos individuos.

Bibliografía:

Aaronson, S. y Dubinsky, Z. (1982) Mass production of microalgae. *Experientia Suppl* 43: 42-46.

Abed, R.M., Al-Thukair, A. y de Beer, D. (2006) Bacterial diversity of a cyanobacterial mat degrading petroleum compounds at elevated salinities and temperatures. *FEMS Microbiol Ecol* 57: 290-301.

Abed, R.M., Dobretsov, S. y Sudesh, K. (2009) Applications of cyanobacteria in biotechnology. *J Appl Microbiol* 106: 1-12.

Ananyev, G., Carrieri, D. y Dismukes, G.C. (2008) Optimization of metabolic capacity and flux through environmental cues to maximize hydrogen production by the cyanobacterium "*Arthrospira (Spirulina) maxima*". *Appl Environ Microbiol* 74: 6102-6113.

Angermayr, S.A., Hellingwerf, K.J., Lindblad, P. Y de Mattos, M.J. (2009) Energy biotechnology with cyanobacteria. *Curr Opin Biotechnol* 20: 257-263.

Benemann, J. (1996) Hydrogen biotechnology: progress and prospects. *Nat Biotechnol* 14: 1101-1103.

Bodyl, A., Mackienwicz, P. y Stiller, J.W. (2007) The intracellular cyanobacteria of *Pulinella chromatophora*: endosymbionts or organelles? *Trends in Microbiology*, 15, 295-296.

Bueno, M., Fillat, M.F., Strasser, R.J., Maldonado-Rodriguez, R., Marina, N., Smienk, H., Gomez-Moreno, C. y Barja, F. (2004) Effects of lindane on the photosynthetic apparatus of the cyanobacterium *Anabaena*: fluorescence induction studies and immunolocalization of ferredoxin-NADP+ reductase. *Environ Sci Pollut Res Int* 11: 98-106.

Coale, K.H.J., K.S. Fitzwater, S.E. Gordon, R.M. Tanner, S. Chavez, F.P. Ferioli, L. Sakamoto, C. Rogers, P. Millero, F. Steinberg, P. Nightingale, P. Copper, D. Cochlan, W.P. Landry, M.R. Constaninou, J. Rollwagen, G. Trasvina, A. Kudela, R. (1996) A massive phytoplankton bloom induced by an ecosystem-scale iron fertilization experiment in equatorial Pacific Ocean. *Nature* 383: 495-501.

Codd, G.A., Morrison, L.F. y Metcalf, J.S. (2005) Cyanobacterial toxins: risk management for health protection. *Toxicol Appl Pharmacol* 203: 264-272.

Darwin, C (1871): El origen del hombre y de la selección en relación al sexo. Editorial Edalf, 1982.

Dutta, D., De, D., Chaudhuri, S. y Bhattacharya, S.K. (2005) Hydrogen production by Cyanobacteria. *Microb Cell Fact* 4: 36.

Fernández Valiente, E. (2002) Hacia un nuevo concepto de evolución. *Arbor*, 172, 17-39.

Fillat, M.F., Borrias, W.E. y Weisbeek, P.J. (1991) Isolation and overexpression in *Escherichia coli* of the flavodoxin gene from *Anabaena* PCC 7119. *Biochem J* 280 (Pt 1): 187-191.

Fillat, M.F., Edmondson, D.E. y Gomez-Moreno, C. (1990) Structural and chemical properties of a flavodoxin from *Anabaena* PCC 7119. *Biochim Biophys Acta* 1040: 301-307.

Flores, E. y Herrero, A. (2009) Compartmentalized function through cell differentiation in filamentous cyanobacteria. *Nat Rev Microbiol* 8: 39-50.

Gademann, K. y Kobylinska, J. (2009) Antimalarial natural products of marine and freshwater origin. *Chem Rec* 9: 187-198.

Gademann, K. y Portmann, C. (2008) Secondary Metabolites from Cyanobacteria: Complex Structures and Powerful Bioactivities. *Curr. Org. Chem* 12: 326J341.

Hall, D.O., Markov S.A., Watanabe Y. y Rao K.K. (1995) The potential applications of cyanobacterial photosynthesis for clean Technologies. *Photosynthesis Research* 46: 159-167,

Hudson, B.J. y Karis, I.G. (1974) The lipids of the alga *Spirulina*. *J Sci Food Agric* 25: 759-763.

Jones, A.C., Gu, L., Sorrels, C.M., Sherman, D.H. y Gerwick, W.H. (2009) New tricks from ancient algae: natural products biosynthesis in marine cyanobacteria. *Curr Opin Chem Biol* 13: 216-223.

Kaebnick, M., Dittmann, E., Borner, T. Y Neilan, B.A. (2002) Multiple alternate transcripts direct the biosynthesis of microcystin, a cyanobacterial nonribosomal peptide. *Appl Environ Microbiol* 68: 449-455.

- Kaebnick, M., Neilan, B.A., Borner, T. y Dittmann, E.** (2000) Light and the transcriptional response of the microcystin biosynthesis gene cluster. *Appl Environ Microbiol* 66: 3387-3392.
- Kehoe, D.M.** (2010) Chromatic adaptation and the evolution of light color sensing in cyanobacteria. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107: 9029-9030.
- Kodani, S., Ishida, K. y Murakami, M.** (1998) Aeruginosin 103-A, a thrombin inhibitor from the cyanobacterium *Microcystis viridis*. *J Nat Prod* 61: 1046-1048.
- Kuritz, T. y Wolk, C.P.** (1995) Use of filamentous cyanobacteria for biodegradation of organic pollutants. *Appl Environ Microbiol* 61: 234-238.
- Kushak R.I., Drapeau C., Van Cott E.M.** (2000) Favorable effects of blue-green algae *Aphanizomenon flos-aquae* on rat plasma lipids. *JANA* 2:59-65.
- Larsen, L.K., Moore, R.E. y Patterson, G.M.** (1994) beta-Carbolines from the blue-green alga *Dichothrix baueriana*. *J Nat Prod* 57: 419-421.
- Lindberg, P., Hansel, A. y Lindblad, P.** (2000) hupS and hupL constitute a transcription unit in the cyanobacterium *Nostoc* sp. PCC 73102. *Arch Microbiol* 174: 129-133.
- MacKintosh, C., Beattie, K.A., Klumpp, S., Cohen, P. y Codd, G.A.** (1990) Cyanobacterial microcystin-LR is a potent and specific inhibitor of protein phosphatases 1 and 2A from both mammals and higher plants. *FEBS Lett* 264: 187-192.
- Margulis, L.** (2009) Genome acquisition in horizontal gene transfer: symbiogenesis and macromolecular sequence analysis. *Methods Mol Biol* 532: 181-191.
- Margulis, L. y Bermudes, D.** (1985) Symbiosis as a mechanism of evolution: status of cell symbiosis theory. *Symbiosis* 1: 101-124.
- Margulis, L. y Chapman, M.J.** (1998) Endosymbioses: cyclical and permanent in evolution. *Trends Microbiol* 6: 342-345; discussion 345-346.
- Markov, S.A., Weaver, P.F. y Seibert, M.** (1997) Spiral tubular bioreactors for hydrogen production by photosynthetic microorganisms : design and operation. *Appl Biochem Biotechnol* 63-65: 577-584.

Martin-Luna, B., Hernandez, J.A., Bes, M.T., Fillat, M.F. y Peleato, M.L. (2006a) Identification of a Ferric uptake regulator from *Microcystis aeruginosa* PCC7806. *FEMS Microbiol Lett* 254: 63-70.

Martin-Luna, B., Sevilla, E., Hernandez, J.A., Bes, M.T., Fillat, M.F. y Peleato, M.L. (2006b) Fur from *Microcystis aeruginosa* binds in vitro promoter regions of the microcystin biosynthesis gene cluster. *Phytochemistry* 67: 876-881.

Mikhailov, A., Harmala-Brasken, A.S., Hellman, J., Meriluoto, J. y Eriksson, J.E. (2003) Identification of ATP-synthase as a novel intracellular target for microcystin-LR. *Chem Biol Interact* 142: 223-237.

Mori, T., Gustafson, K.R., Pannell, L.K., Shoemaker, R.H., Wu, L., McMahon, J.B. y Boyd, M.R. (1998) Recombinant production of cyanovirin-N, a potent human immunodeficiency virus-inactivating protein derived from a cultured cyanobacterium. *Protein Expr Purif* 12: 151-158.

Peleato, M.L., Ayora, S., Inda, L.A. and Gomez-Moreno, C. (1994) Isolation and characterization of two different flavodoxins from the eukaryote *Chlorella fusca*. *Biochem J* 302 (Pt 3): 807-811.

Phakama Maqubela, M., Nyari, P., Mkeni, S y Muchaonyerwa, P (2010) In search of cyanobacteria strains with bioconditioning and biofertilization effects for degraded soils in the semi arid and arid areas of South Africa. 19th World Congress of Soil Science, Soil Solutions for a Changing World. 1 – 6 August 2010, Brisbane, Australia.

Rantala, A., Fewer, D.P., Hisbergues, M., Rouhiainen, L., Vaitomaa, J., Borner, T. y Sivonen, K. (2004) Phylogenetic evidence for the early evolution of microcystin synthesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101: 568-573.

Rastogi, R.P. y Sinha, R.P. (2009) Biotechnological and industrial significance of cyanobacterial secondary metabolites. *Biotechnol Adv* 27: 521-539.

Razquin, P. (1994) Transporte de electrones a la nitrogenasa en los heterocistos de *Anabaena* sp. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias, Universidad de Zaragoza

Razquin, P., Fillat, M.F., Schmitz, S., Stricker, O., Bohme, H., Gomez-Moreno, C. y Peleato, M.L. (1996) Expression of ferredoxin-NADP⁺ reductase in heterocysts from *Anabaena* sp. *Biochem J* 316 (Pt 1): 157-160.

Razquin, P., Schmitz, S., Fillat, M.F., Peleato, M.L. y Bohme, H. (1994) Transcriptional and translational analysis of ferredoxin and flavodoxin under iron and nitrogen stress in *Anabaena* sp.

strain PCC 7120. *J Bacteriol* 176: 7409-7411.

Rickards, R.W., Rothschild, J.M., Willis, A. C., de Chazal, N. M., Kirk, J., Kirk, K., Saliba-K.J. y Smith, G.D. (1999) Calothrixins A and B, novel pentacyclic metabolites from *Calothrix* cyanobacteria with potent activity against malaria parasites and human cancer cells. *Tetrahedron* 55: 13513-13520.

Sangthongpitag, K., Penfold, R.J., Delaney, S.F. y Rogers, P.L. (1997) Cloning and expression of the *Bacillus sphaericus* 2362 mosquitocidal genes in a non-toxic unicellular cyanobacterium, *Synechococcus* PCC6301. *Appl Microbiol Biotechnol* 47: 379-384.

Sevilla, E., Martin-Luna, B., Vela, L., Bes, M.T., Fillat, M.F. y Peleato, M.L. (2008) Iron availability affects *mcyD* expression and microcystin-LR synthesis in *Microcystis aeruginosa* PCC7806. *Environ Microbiol* 10: 2476-2483.

Sevilla, E., Martin-Luna, B., Vela, L., Bes, M.T., Peleato, M.L. y Fillat, M.F. (2010) Microcystin-LR synthesis as response to nitrogen: transcriptional analysis of the *mcyD* gene in *Microcystis aeruginosa* PCC7806. *Ecotoxicology* 19: 1167-1173.

Sivonen, K., Leikoski, N., Fewer, D.P. y Jokela, J. (2010) Cyanobactins-ribosomal cyclic peptides produced by cyanobacteria. *Appl Microbiol Biotechnol* 86: 1213-1225.

Skulberg, O.M. (2005) Cyanobacteria/cyanotoxin research--looking back for the future: the opening lecture of the 6th ICTC, Bergen, Norway. *Environ Toxicol* 20: 220-228.

Tamagnini, P., Leitaó, E., Oliveira, P., Ferreira, D., Pinto, F., Harris, D.J., Heidorn, T. y Lindblad, P. (2007) Cyanobacterial hydrogenases: diversity, regulation and applications. *FEMS Microbiol Rev* 31: 692-720.

Tillett, D., Dittmann, E., Erhard, M., von Dohren, H., Borner, T. y Neilan, B.A. (2000) Structural organization of microcystin biosynthesis in *Microcystis aeruginosa* PCC7806: an integrated peptide-polyketide synthetase system. *Chem Biol* 7: 753-764.

Walsby, A.E. (1994) Gas vesicles. *Microbiol Rev* 58: 94-144.

Ward, D.M., Cohan, F.M., Bhaya, D., Heidelberg, J.F., Kuhl, M. y Grossman, A. (2008) Genomics, environmental genomics and the issue of microbial species. *Heredity* 100: 207-219.

Watanabe, F., Takenaka, S., Kittaka-Katsura, H., Ebara, S. y Miyamoto, E. (2002) Characterization and bioavailability of vitamin B12-compounds from edible algae. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 48: 325-331.

Wingreen, N.S. y Levin, S.A. (2006) Cooperation among microorganisms. *PLoS Biol* 4: e299.

Vitousek, P.M., Naylor, R., Crews, T., David, M.B., Drinkwater, L.E., et al. (2009) Agriculture. Nutrient imbalances in agricultural development. *Science* 324: 1519-1520.

Volk, R.B. (2008) Screening of microalgae for species excreting norharmane, a manifold biologically active indole alkaloid. *Microbiol Res* 163: 307-313.

Zhou, L., Yu, H. y Chen, K. (2002) Relationship between microcystin in drinking water and colorectal cancer. *Biomed Environ Sci* 15: 166-171.

Abreviaturas:

ATP	Trifosfato de adenosina
ATPasa	ATP sintasa
DCMU	[3-(3',4'-diclorofenil)-1,1 dimetilurea]
EMSA	Electrophoretic mobility shift assay (ensayo de retardo en gel)
Kb	Kilobases
MV	Metil viológeno
NADP ⁺	2'-Fosfodinucléotido de nicotinamida y adenina (oxidado)
NADPH	2'-Fosfodinucléotido de nicotinamida y adenina (reducido)
NRPS	Non-Ribosomal Peptide Synthetase (Péptido sintetasa no ribosomal)
pb	Pares de bases
PCC	Colección de Cultivos del Instituto Pasteur
PCR	Polymerase Chain Reaction (reacción en cadena de la polimerasa)
PKS	Polyketide synthase (Policétido sintasa)
Real-time PCR	PCR a tiempo real
RT-PCR	Reverse transcription polymerase chain reaction

