

BIBLIOTECA FAC. DE QUIMICA



UNIVERSIDAD MOTOLINIA  
INCORPORADA A LA  
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA DE QUIMICA

IMPORTANCIA DEL ACIDO DESOXIRRIBONUCLEICO  
EN LA GENETICA DE LAS BACTERIAS.

TESIS

Que para obtener el Título de  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P r e s e n t a  
ZOYLA SOCORRO PEREZ OLVERA

MEXICO, D. F. 1969



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**A MIS ADORADOS PADRES:**

**Sr. Gustavo Pérez Valencia.**

**Sra. Concepción Olvera de P.**

**Con infinito cariño, respeto  
y eterna gratitud por hacer  
posible éste momento.**

**Ningún esfuerzo mío será  
homenaje bastante para co—  
rresponderles.**

**A MIS QUERIDOS HERMANOS:**

**GASPAR**

**GUSTAVO**

**ANGELES**

**GUADALUPE**

**CONCEPCION**

**EULALIA**

**Con profundo cariño al  
Dr. Mariano Rojas Elizalde.**

**Con Adoración y Ternura a mi hija  
Patricia Concepción Rojas Pérez.**

**A mi Cuñada:**

**Eva Rosalia Durán de Pérez.**

**Afectuosamente.**

**A todos mis Familiares.**

A mis maestros, compañeras y todas aquellas personas que directamente ó indirectamente contribuyeron a la realización de mi carrera profesional.

Con inmenso agradecimiento a la Sra. Q.F.B. Ma. del Consuelo Miranda de Flores, mi maestra, por la magnífica colaboración y asesoramiento en la elaboración de ésta tesis.

A la Srita: Q.F.B.

Ma. Guadalupe Camarena T.

Cariñosamente.

A la Universidad Motolinia.

**A MI JURADO.....**

**JURADO ASIGNADO.**

**PRESIDENTE: Q.F.B. OSCAR AMOR DODERO.**

**VOCAL: Q.F.B. MA. GUADALUPE CAMARENA.**

**SECRETARIO: Q.F.B. MA. DEL CONSUELO MIRANDA.**

**1er. SUPLENTE: Q.F.B. GUADALUPE VELES PRATT.**

**2do. SUPLENTE: Q.F.B. MA. DEL LOURDES BARRAZA.**

**SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA: BIBLIOTECAS.**

**NOMBRE COMPLETO Y FIRMA DEL SUSTENTANTE: ZOYLA SOCORRO PEREZ O.**

**NOMBRE COMPLETO Y FIRMA DEL ASESOR DEL TEMA: Q.F.B. MA. DEL  
CONSUELO MIRANDA DE FLORES.**

## **CAPITULOS DEL TEMA:**

- I.- Introducción.**
- II.- Qué es el DNA.**
- III.- Los Genes y el DNA.**
- IV.- Cómo actúa el DNA en la herencia.**
- V.- Transformación Bacteriana en presencia del DNA.**
- VI.- Conclusiones.**
- VII.- Referencias.**

## I.- INTRODUCCION.-

Desde los estudios realizados por Gregorio Mendel se tuvo conocimiento de que la herencia residía en los ácidos nucleicos y a partir de entonces se hicieron muchas investigaciones en diversos microorganismos, en los cuales se pudo llegar a determinar con los trabajos de Griffith que los ácidos nucleicos intervenían en el fenómeno de la Transformación Bacteriana, éstos estudios dieron fundamento para el desarrollo de la genética microbiana comprobando por primera vez "in vivo" que en los ácidos nucleicos de las bacterias residía la información hereditaria.

En otro trabajo se conocía la participación de diferentes tipos de ácidos nucleicos, con diferentes azúcares, como desoxirribosa y ribosa; los ácidos nucleicos que contienen desoxirribosa eran los determinantes hereditarios, por estudios posteriores llegó a encontrar la estructura química de dichos ácidos así como su funcionamiento.

De ésta manera se ha considerado el DNA como el código genético y a partir del cual, debido a su secuencia de bases púricas y pirimidínicas pueden reproducirse alteraciones; ya sea que se presenten espontáneamente ó inducidas; constituyendo lo que se ha denominado mutación.

En 1897 cuando Miescher descubrió los ácidos nucleicos no se apreciaba la importancia tan básica que éstos poseían, fué 50 años más tarde cuando Griffith trabajando con *Diplococcus pneumoniae*, la bacteria que causa la neumonía realizó experimentos que llevarían a la identificación de los ácidos nucleicos como el material genético.

Es evidente el hecho de que se produzca una mutación por alteración del DNA, puede tener algunas consecuencias favorables ó desfavorables. Las mutaciones artificiales han sido provocadas en la industria, ganadería y agricultura

ra, para mejorar la especie y obtener mejores resultados.- Como en el caso de las bacterias productoras de antibióticos, ó bien en agricultura en el cultivo de híbridos de mayor poder mutativo.

Son infinitos los usos que pueden dársele a las mutaciones.

Las investigaciones sobre el DNA tubo gran apogeo con la noticia de que éste ácido nucleico era en el que encontrabanse en los cromosomas y el que determinaba la función de los genes ya sea fenotípicamente ó genotípicamente dotara a los nuevos microorganismos de sus caracteres individuales.

Considero que su papel más importante, es que el DNA ha creado una nueva ciencia que es la Genética Microbiana.

Debido a la importancia que tiene el DNA en la herencia, nos pareció muy interesante hacer un resumen de todo lo expuesto ahora aún cuando éste trabajo no sea de la magnitud que hubiéramos deseado.

## II.- QUE ES EL DNA.-

El DNA está compuesto de purinas y pirimidinas, desoxirribosa y grupos fosfato, El DNA tiene dos purinas diferentes al igual que dos pirimidinas diferentes. Esta molécula llamadas bases nitrogenadas, son la purina adenina y guanina y las pirimidinas timina y citosina. En el DNA de algunos organismos, la citosina es reemplazada por moléculas relacionadas íntimamente (tal como 5 hidroximetil citosina), pero en todos los organismos que contienen DNA las unidades que constituyen a éste son esencialmente idénticas.

En el DNA cada una de las purinas y pirimidinas están unidas a un azúcar desoxirribosa y a un grupo fosfato. Esta unidad es llamada nucleótido. Estos nucleótidos están encadenados para formar una cadena polinucleótida, en la cual el azúcar de un nucleótido está unida al grupo fosfato de otro nucleótido y así sucesivamente. El análisis químico del DNA obtenido de muchos organismos diferentes saca a la luz una relación cuantitativa específica entre los diferentes nucleótidos.

Para cada nucleótido de adenina hay uno de timina -- (A-T) y por cada nucleótido de guanina hay uno de citosina (G-C).

Mientras que las proporciones A:T y G:C son uno a uno en todos los DNA, la proporción A:T:G:C varía en organismos diferentes.

Un análisis químico del DNA suministra información en lo que respecta a su composición química, pero no da, por lo menos a primera vista, ninguna indicación de su estructura física.

La estructura de una macromolécula puede ser deducida de un estudio de su modelo de difracción de rayos X. Tanto el DNA como algunas proteínas, por ejemplo, son moléculas-

relativamente largas, fibrosas, que pueden tener varias micras de longitud. Pueden prepararse fibras de éstas macromoléculas y pueden obtenerse fotografías de rayos X de ellas, en una forma basada en principios similares a aquellos usados para obtener una fotografía de rayos X de una mano. El valor de un modelo de difracción de rayos X, está en el hecho de que su análisis puede revelar la estructura tridimensional de una macromolécula del DNA.

M.H.F. Wilkins y N. Franklin y sus colaboradores, han establecido la estructura tridimensional del DNA, (como muestra la gráfica # I y II) primero, encontraron que el DNA de varios organismos diferentes tenía modelos de difracción casi idénticos, esto significaba que los nucleóticos dentro de cada macromolécula de DNA estaban orientados especialmente en la misma forma; segundo, el modelo de difracción reveló que el DNA era helicoidal en estructura y que había por lo menos dos hélices. La interpretación fue que dos o más cadenas de polinucleótidos estaban enroscadas helicoidalmente una sobre otra.

Los datos de los estudios de difracción con rayos X, tanto como el análisis químico del DNA, suministraron la información que J.D. Watson y F.H.C. Crick usaron para proponer un modelo para la estructura del DNA. Ellos hicieron dos suposiciones al diseñar su modelo, primero, asumieron que había dos cadenas polinucleóticas enroscadas helicoidalmente, los modelos de difracción sugerían que había por lo menos dos, como se dijo antes. Segundo, asumieron que las dos cadenas polinucleótidas estaban unidas en una forma específica. Esta suposición estaba basada en dos piezas de evidencia experimental, una de éstas era la equivalencia de adenina-timina y guanina-citosina. La otra eviden-

cia era el hecho de que un par de nucleótidos podían ser -  
unidos por las llamadas uniones hidrógeno.

Es de gran importancia el hecho de que la unión hidrógeno entre purinas y pirimidinas es altamente específico.-  
Un nucleótido de adenina por ejemplo forma dos uniones hidrógeno con un nucleótido de citosina, la formación de uniones hidrogeno entre la adenina y la citosina ó la adenina- y la guanina es muy difícil físicamente, requiere una distorsión marcada de la estructura helicoidal del DNA. Similarmemente, la guanina no puede aparearse fácilmente con la adenina ó con la timina, tal apareamiento anormal de nucleótido sería altamente improbable. Así, cada cadena polinucleótida consistente de nucleótidos unidos longitudinalmente por medio de los grupos azúcar y fosfato.

Las dos cadenas polinucleótidas enroscadas helicoidalmente están unidas transversalmente por medio de uniones - de hidrógeno entre una purina como la adenina y una pirimidina como la timina. La restricción para el apareamiento - de nucleótidos, está impuesta por la limitación de la unión H de adenina con timina y de guanina con citosina.

Una de las secuencias entre nucleótidos a lo largo de una cadena polinucleótida es A G T C A C, la secuencia a lo largo de la otra cadena debe ser la secuencia complementaria TC AG TG. Watson y Crick se daba cuenta de la importancia de la naturaleza complementaria de su modelo. La - restitución en el apareamiento impuesta por la limitación de la unión H, es la base de la secuencia específica de - los pares de nucleótidos, y tales secuencias podrían ser - de importancia como la fuente de especificidad que reside en el material genético. Con objeto de conservar la continuidad de tal secuencia, Watson y Crick propusieron un me-

canismo para la duplicación que puede ser resumido de la manera siguiente:

El mecanismo que propusieron dichos investigadores ha recibido apoyo a través de una serie de experimentes con bacterias algas y otros organismos, se usaron isótopos como marcas, permitiendo seguir a las moléculas dentro de una célula y el DNA fué marcado con un número de diferentes isótopos, incluyendo los del nitrógeno, El isótopo de nitrógeno conocido como  $N^{15}$  tiene una masa mayor que la del nitrógeno ordinario ó  $N^{14}$ .

Las moléculas de DNA que contienen una cantidad apreciable de  $N^{15}$  son más densas que las que sólo contienen  $N^{14}$ . Estas diferencias en la densidad pueden ser indicadas por centrifugación. Cuando se aplican fuerzas centrifugas altas a soluciones concentradas de ciertas sales como el cloruro de cesio se establece un grado de densidad en el que la solución se hace más y más densa a medida que se aproxima a la periferia del campo centrifugo donde están las mayores fuerzas centrifugas. Si el DNA se coloca en la solución de sal durante una centrifugación a alta velocidad alcanzarán un punto en el gradiente, donde su densidad sea igual a la de la solución de sal. Puesto que el DNA que contiene  $N^{15}$  es más denso que el DNA con  $N^{14}$  los dos pueden ser distinguidos en la gradiente de densidad.

En 1958 M. Meselson y F. Stahl, llevaron a cabo experimentos usando DNA marcando con  $N^{15}$  ellos cultivaron E. coli, por varias generaciones en un medio que contenía una fuente de nitrógeno consistente solamente de  $N^{15}$ . El DNA extraído de éstas bacterias estaba solamente marcado con el isótopo pesado y después de centrifugar demostró ser más denso que el DNA normal.

Transfirieron células con DNA totalmente marcado con  $N^{15}$  a un medio de cultivo que contenía sólo  $N^{14}$  como fuente de nitrógeno, luego sacaron muestras a diferentes intervalos para determinar la densidad del DNA. Los intervalos de toma de muestra se eligieron de forma de hacerlos corresponder con los tiempos de duplicación de las células dentro del cultivo, correspondió a la primera síntesis de DNA en ausencia de  $N^{15}$ , el segundo tiempo de duplicación a una segunda síntesis y así sucesivamente. La primera muestra reveló la presencia del DNA con una densidad intermedia. Esto era menos denso que el DNA totalmente marcado con  $N^{15}$  presente, junto antes de que las bacterias se reprodujeran en un medio ambiente de  $N^{14}$ , pero más denso que el DNA de  $N^{14}$ . Así había un DNA híbrido, en contraste con el DNA de  $N^{14}$  y el DNA de  $N^{15}$ . La segunda duplicación del DNA y la segunda duplicación de las células reveló dos clases de DNA: una cantidad igual de DNA híbrido y de DNA de  $N^{14}$ . Una tercera muestra reveló la misma cantidad de DNA híbrido como en el ejemplo anterior, pero había tres veces más del DNA de  $N^{14}$  presente. Sus resultados se ven diagramados en la figura #III la cual muestra la distribución de las densidades del DNA debidas a la presencia del  $N^{14}$  y  $N^{15}$ .

Si el DNA se duplicara sufriendo primero una ruptura en pequeños fragmentos, o sea por algún medio dispersivo, la primera generación de moléculas de DNA no estaría compuesta de DNA híbrido, sino más bien, de una gamma de DNA con densidades que variarían entre las del DNA de  $N^{14}$  y  $N^{15}$ . Si la molécula de DNA, la primera generación debería consistir del DNA de  $N^{15}$  original y DNA de  $N^{14}$  nuevo. Otra vez, el DNA híbrido estaría ausente. Los resultados obtenidos por Meselson y Sthl no son competibles con ninguno de

notable grado de similitud entre ésta interpretación y el esquema propuesto por Wantson y Crick.

Es posible desarrollar modelos alternativos de los datos de Meselson y Stahl, pero cada uno parece más complicado que el siguiente. La interpretación más simple de sus resultados está de acuerdo con el modelo de Watson y Crick para la duplicación del DNA. De hecho, se han obtenido resultados experimentales idénticos en una alga verde unicelular, la *Chlamydomonas reinhardi* así como en otros organismos.

Es esencial entender como se considera que son sintetizadas las proteínas dentro de una célula. Los ácidos nucleicos (el RNA y el DNA), están involucrados en la información genética, que es trasladada dentro de una secuencia de aminoácidos.

El mecanismo de la síntesis de proteínas es necesario-se explique brevemente para observar cómo actúa el DNA en la formación de dichas proteínas; se ha hecho en los últimos años una comprensión de dicho mecanismo tanto en mamíferos como en sistemas bacterianos, sólo pueden resumirse aquí los hallazgos más importantes, puesto que su apreciación total requiere una información de fondo en bioquímica. Sin embargo, está claro que el RNA está involucrado directamente en la síntesis de proteínas y que las células poseen por lo menos tres clases de RNA. La primera de éstas, es un RNA fragmentado que se encuentra en el citoplasma, en particular está unido a la proteína para formar una robc nucleoproteína. La síntesis de la proteína se produce en las partículas de ribosoma ó microsoma.

Dos pasos importantes deben preceder al proceso sintético final que ocurre en éstas partículas y su término requiere

re la presencia de otros tipos de RNA. Ninguno de éstos dos tipos de moléculas el RNA está fragmentado. Uno de ellos - conocido como transporte, ó RNAt, es una molécula relativamente pequeña y es necesario para el paso conocido como activación del aminoácido. En éste paso, un aminoácido dadose químicamente al extremo de una molécula de RNA-t por una acción enzimática y hay un aminoácido específico que activa una enzima para cada aminoácido. La activación del aminoácido produce un alineamiento de aminoácido, cada uno adherido a su propia molécula de RNA-t, pero sin orden ó secuencia de un aminoácido activando al siguiente. Para obtener una secuencia específica en una proteína, por ejemplo en la hemoglobina, es esencial ordenar los aminoácidos. Se creó que ésto es ejecutado por la tercera clase de RNA, denominada RNA mensajero. Este RNA, que se considera es de origen nuclear, posee una variedad de secuencias de bases específicas. Cada secuencia, a su vez, se supone está determinada por la secuencia de las bases en el DNA. aquí entonces, está el paso en el cual el material genético parece llevar a cabo su acto primario, esto es, la información presente en la secuencia de la base del DNA transferida al RNA mensajero durante su síntesis en el núcleo.

El RNA mensajero, entonces, entra en el citoplasma y finalmente, en los ribosomas, los cuales se asocian con un alineamiento desordenado de aminoácidos activados. Estos se ordenan en una secuencia específica, de acuerdo a la secuencia de la base del RNA mensajero. Se forma luego uniones entre aminoácidos adyacentes y los aminoácidos adheridos desprenden el RNA-t para producir una molécula de proteína. Podemos ver éste proceso entero como está visua

lizado, siguiendo la serie de pasos diagramados en la figura siguiente; 6 sea # 4.

GRAFICA # 4 .-

La síntesis de las Proteínas está relacionada íntimamente con los ácidos nucleóticos, como se expone en este diagrama. Una secuencia de bases que se propone para conducir la síntesis.

La parte I muestra cómo se repliega el DNA (negro).- En la parte I se muestran los cuatro nucleótidos del DNA.- La parte II muestra los cuatro nucleótidos del RNA (mensajero) (punteado). Estos nucleótidos pueden estar agrupados por un sólo cordón del DNA para formar el RNA que lleva la misma información genética. La parte IIa muestra cuatro aminoácidos que son constituyentes de proteínas, Cada aminoácido es reunido en una porción de una molécula de proteína (Parte IIb).

La parte III muestra algunos de los pasos involucrados en la síntesis de proteínas. El RNA mensajero en los ribosomas organiza a los aminoácidos para hacer una proteína. El RNA transporte (soluble), lleva los aminoácidos a un molde.

El RNA transporte es el intermediario; parte de él puede aparentemente reconocer a un aminoácido específico, y parte es codificado para buscar el sitio apropiado en un molde. Parte IIIa: el proceso comienza con la activación de un aminoácido por el adenosintrifosfato (ATP). El ATP es simbolizado con barras diagonales. Dos grupos fosfato son separados del ATP y con la ayuda de una enzima (en gris), un aminoácido es adherido al ácido adenilico restante. Parte IIIb: entra una molécula de RNA transporte (sombreado con líneas transversales). Cada RNA transporte, tiene un ácido adenilico en un extremo; éste extremo toma posesión de la unión con el aminoácido. Parte IIIc: final-

mente el RNA transporte lleva el aminoácido seleccionado -- a un ribosoma. Allí, la selección en código del RNA transporte, encuentra su lugar sobre el molde formado por el -- RNA mensajero (en varillas) y ubica el aminoácido para juntarse a otros en una cadena de proteína.

### III.- EL DNA Y LOS GENES.

El DNA tiene importancia en cuanto a los genes, por ser la fuente de especificidad en que reside el material genético.

Las estructuras del DNA suministradas por el modelo de Watson y Crick para demostrar una de las más importantes propiedades fué la restricción de la unión que existe entre el apareamiento de nucleótidos la cual garantiza que una molécula de DNA dará origen a dos moléculas hijas. Lo que equivale a decir que una célula dará origen a dos células hijas que posean material genético idéntico, o en otras palabras, dos células con genotipos idénticos.-

La importancia del DNA es que determina el desarrollo de muchos genotipos diferentes y podría considerársele como un conjunto de planos para una casa o diseños para una máquina, biológicamente, información genética, necesaria para el desarrollo de los fenotipos.

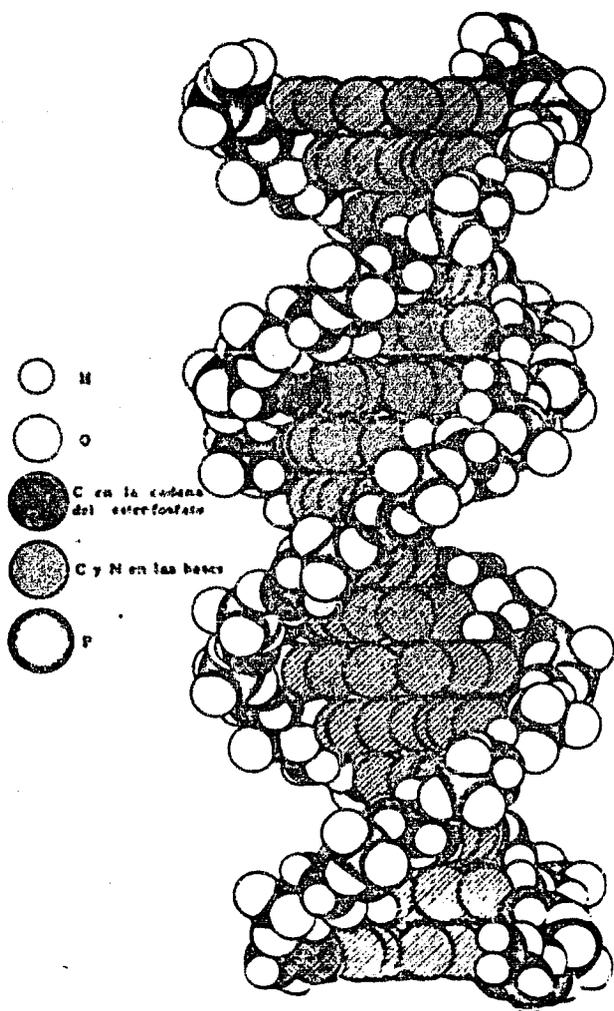
En particular, la restricción del apareamiento o unión preserva los arreglos idénticos de los pares de nucleótidos, los que pueden ser las bases de un código o lenguaje genético.

La definición que daremos a genotipo y fenotipo en todas las formas de vida desde el punto de vista de la genética, es la genética o estabilidad general o "semejanza", entre los caracteres de la descendencia y del progenitor.

El genotipo es la dotación total de genes, que posee la célula, éstos genes, tienen propiedades físicas y químicas específicas que en última instancia determina la naturaleza del fenotipo.

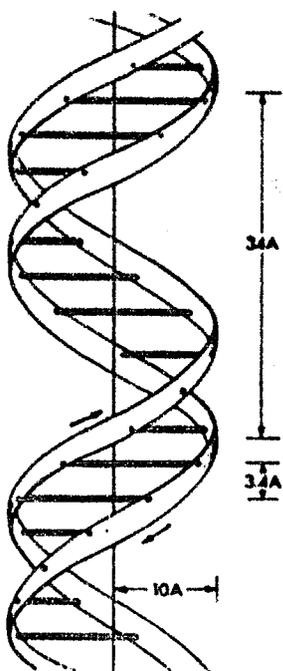
El material del genotipo es el que es transmitido de una generación a la siguiente y tiene la capacidad de reproducir

GRAFICA # I.-



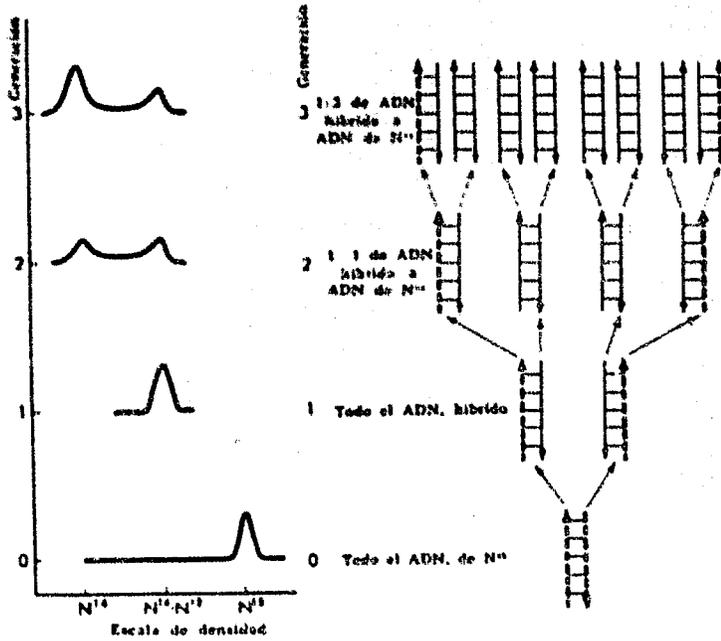
La estructura del  $DN^A$  como fué propuesta por Watson y Crick, representa su modelo molecular en la cual cada átomo está representado en una escala gradualmente aumentada, pero exacta, es importante darse cuenta que éste modelo se ajusta a la estructura tridimensional propuesta originalmente del análisis de los modelos de difracción de rayos X.

GRAPICA # II.-

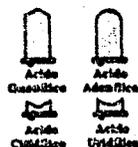
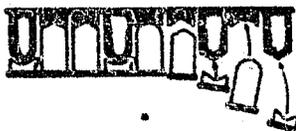
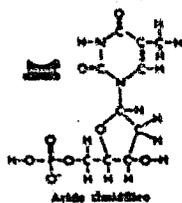
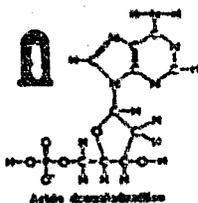
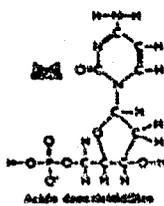
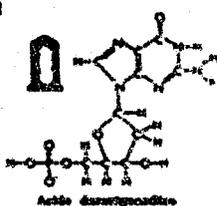


La helice doble del DNA de Watson y Crik; cada rama --- helicoidal es equivalente a una sola cadena polinucleótida, la unión hidrógeno que conecta a las dos cadenas polinucleótidas se representa por las barras horizontales. Las dimensiones sugeridas por los modelos de difracción de rayos X se dan en unidades Angstrom ( una unidad Angstrom, A, es igual a 0.1 milimicras ó uno diez milésima de una micrá.).

GRAFICA # III.-



Representación diagramada de los resultados de los - experimentos de Meselson y Stahl con la replicación del-DNA.



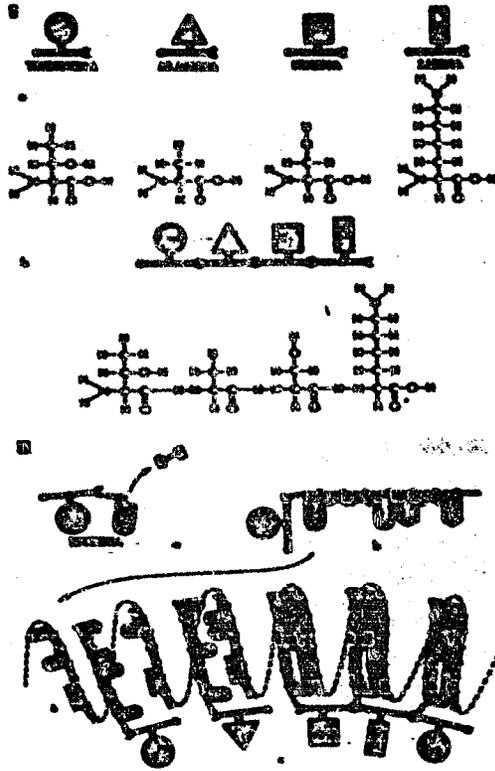
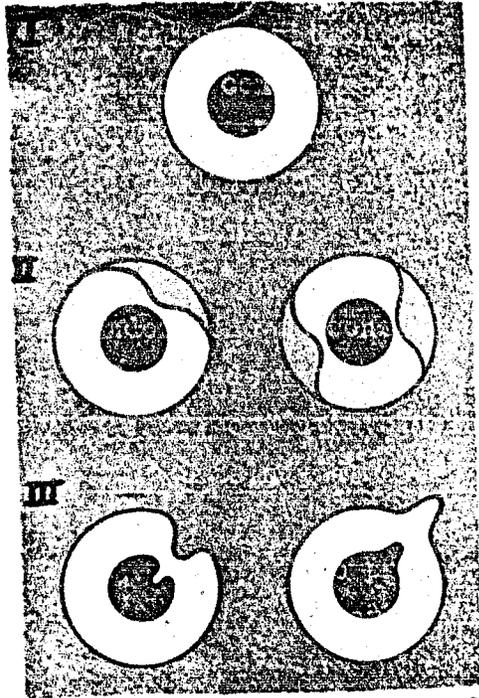


DIAGRAMA # 5



- I.- Genotipo y Fenotipo. La zona del círculo central denota la constitución genética (genomio) que determina el genotipo. La zona del anillo externo denota los caracteres potenciales controlados por genes (fenotipo).
- II.- La misma bacteria crece en dos medios ambientales diferente. La expresión fenotípica, indicada por las zonas sombreadas, es diferente, aunque el genotipo permanece el mismo en ambas bacterias.
- III.- La alteración de la constitución genética de la bacteria (mutación o recombinación) da por tipo. La pérdida de material genético se acusa en la pérdida de alguna expresión fenotípica (izquierda); la ganancia de material genético ocasiona la aparición de alguna expresión fenotípica (derecha).

cirse a sí mismo pero, raramente ésta reproducción conduce a la formación de un gen con propiedades diferentes a las del original.

El genótipo pues, representa las capacidades potenciales de las células, mientras que el fenótipo es la expresión observable de los caracteres dirigidos por genes.

#### EL FENOTIPO.

Los numerosos rasgos por los cuales reconocemos un organismo, constituyen lo que se llama un fenótipo y son los medios para la identificación de semejanzas y diferencias entre los organismos y a pesar de las muchas diferencias fenotípicas entre éstos organismos, todos son fenotípicamente iguales en los millares de procesos bioquímicos necesarios para la vida.

Por ejemplo, un reflejo de las analogías a un nivel molecular ya que las moléculas de lo que están hechos son esencialmente iguales, de hecho las semejanzas moleculares se tienen a los virus, que infectan las células animales, vegetales, y bacterianas.

La variedad de características fenotípicas es por lo tanto amplia existiendo muchos niveles diferentes. Los rasgos estructurales de una bacteria constituyen parte de ésta variedad y tienen su origen a nivel molecular en la estructura de macromoléculas tales como proteínas y ácidos nucleicos.

En otro nivel, los fenotipos morfológicos y estructurales se observan bajo el microscopio electrónico como semejanzas y diferencias en las moléculas celulares, los finos detalles estructurales dentro de los núcleos y otros cuerpos dentro de la célula.

A un otro nivel; es la anatomía microscópica de las células vistas con el microscopio óptico; donde los núcleos y los cromosomas, por ejemplo, tienen fenotipos característicos.

La conformación externa de una bacteria u organismo está en la anatomía macro y microscópica de los tejidos y órganos que resultan en un fenotipo.

Además de los numerosos aspectos morfológicos del fenotipo, hay una gama de procesos bioquímicos y biofísicos que ocurren a un nivel molecular, por ejemplo, el metabolismo de la glucosa, la fijación de anhídrido carbónico durante la fotosíntesis y la transmisión de impulsos eléctricos a lo largo de las fibras nerviosas.

Estos procesos físicos y químicos determinan en última instancia el patrón de la reacción que se presenta en su medio ambiente y como tales son parte de su fenotipo. Existen también características fenotípicas de comportamiento basadas en la fisiología de la bacteria y su respuesta a estímulos externos.

Una de las características más importantes de un organismo o una bacteria, fenotípicamente, es su capacidad de reproducirse, la cual comienza con la duplicación de las macromoléculas del ácido nucleico, seguida por la duplicación de los componentes celulares, tales como los cromosomas, cloroplastos y mitocondrias y en último lugar por la reproducción de las células mismas.

Los medios de reproducción celular como la mitosis, la fisión binaria pueden ser considerados como procesos fenotípicos.

picas y son por lo tanto características individuales, como el color de pelo de un conejo, color de ojos, etc.; o bien la síntesis de una de clase particular de molécula.

Por el contrario, puede ser la combinación de rasgos que en conjunto contribuyen al carácter del organismo como un todo. La expresión del fenotipo se debe no solamente al genotipo sino también, a condiciones del medio ambiente, que no afecta al genotipo.

Por ejemplo, una característica genotípica o genética de la mayoría de los vegetales, es su capacidad de sintetizar clorofila en la luz.

Si un vegetal como el maíz se coloca en la obscuridad, la síntesis de clorofila cesará y el vegetal se convertirá en un albino.

Sin embargo, si se le pone en la luz sintetizará, clorofila una vez más. El efecto de un medio ambiente obscuro sobre el fenotipo es temporario.

Haciendo una semejanza en el hombre tostado de la piel, — que ocurre después de una irradiación ultravioleta, ya sea naturalmente del sol ó artificialmente con la ayuda de una lámpara de luz solar, el efecto es pasajero, ya que una vez que se retira de la exposición de la luz ultravioleta la piel se hace otra vez mas clara. Las alteraciones del medio ambiente del fenotipo no refleja alteraciones en el genotipo, sino que mas bien está determinada en gran parte por su genotipo.

El medio ambiente, por lo tanto, suministra el escenario en el que actúa el genotipo, y de la misma forma, el fenotipo representa la expresión final de la interacción del genotipo con su medio ambiente.

Se ha explicado brevemente y con algunos ejemplos lo que se entiende por Genótipo y Fenótipo. (Diagrama # 5).

Explicaremos ahora los cambios que pueden experimentar los microorganismos. La célula progenitora transmite entonces a las células hijas un carácter nuevo o diferente, la Célula hija adquiere un nuevo genótipo, lo que quiere decir que se ha efectuado una alteración ó mutación en el material genético. Los cambios genotípicos pueden ocurrir por mutación, transformación, conjugación y transducción. Antes de exponer lo que es la mutación y transducción. Antes de exponer lo que es la mutación, es importante reconsiderar — nuestra definición del "GEN", el cual es definido como la unidad más pequeña de recombinación, la unidad más pequeña de mutación, ó sea, lo que equivale a decir; la unidad más pequeña del material genético que es capaz de llevar a cabo una alteración hereditaria. Las mutaciones pueden comprender desde cambios cromosómicos gruesos, hasta cambios más elevados, ó sea de nivel molecular. La unidad más pequeña de mutación parece encontrarse dentro de la molécula del DNA, y puede ser tan pequeña que semejaría un par de nucleótidos, siempre y cuando se acepte la interpretación — que algunos autores como MIESHER da el modo de acción del ácido nitroso. Así pues, la unidad de mutación y la unidad de recombinación definen al mismo GEN; sin embargo ha quedado sin claridad el origen y naturaleza de las mutaciones del gen, la suposición de que el cambio en la secuencia de la base nos da como resultado a su vez un cambio en la acción o función del DNA o material genético. Los papeles — que desempeña del DNA se deben considerar en torno a su — función, ó sea como funciona el material genético, y como un cambio en la secuencia de la base puede dar lugar a un

cambio en sus funciones. Así un gen es considerado como una unidad de la herencia, fundamental en forma de partícula, que comparte las propiedades de recombinación mutación y función. Existen puntos de vista de diversos autores como Tatum, Liederberg, en los que se discute y se dice, que es difícil aplicar una definición tripartita, sin embargo estas definiciones que se le dan a un GEN cambian de acuerdo como aumentan nuestros conocimientos y surgen más y más excepciones aparentes esto es lo que ha sucedido en los últimos años, en lo que respecta al concepto del GEN, la breve explicación que a continuación se expondrá equivale a definir la palabra mutación y cuantas clases de ella se han deducido de los resultados de muchos de los experimentos de varios investigadores por un periodo de más de 10 años, los cuales han considerado que el fenómeno de mutación sobre el material genético o DNA implica que éste puede sufrir alguna clase de cambios; de modo que, cada uno de ellos se transmite de acuerdo a los modelos de herencia originales. Por lo tanto, la mutación puede ser definida como un acontecimiento que dá origen a una alteración hereditable en el genótipo. Las mutaciones se dividen en dos clases; las primeras son las que sufren un cambio en un gen simple y las segundas son aquéllas que sufren un cambio en la estructura o número de cromosomas; éstas mutaciones, consisten en un ordenamiento de aberraciones cromosomales bien definidas; muchas de las cuales pueden observarse en el microscopio de luz; por ejemplo los tipos especiales de cromosoma X conocido como translación, son utilizados por Stern en su experimento sobre la citología del entrecruzamiento.

Los numerosos experimentos hechos sobre mutaciones se han llevado a cabo en las moscas llamadas *Drosófilas* y los resultados obtenidos son que hay grandes clases de mutaciones; entre las que tenemos, las mutaciones visuales de efectos fenotípicos en los cuales se observa que la morfología de dicha *Drosófila* como la pérdida de alguna estructura o función esencial, como un ejemplo de ésta mutación, tenemos la mutación proboscidea, que es causa de que la proboscide desarrolle en forma parecida a patas, y un ejemplo más en el hombre es la polidactilia que es una mutación que tiene efecto fenotípico expresado en la forma de dedos atras. Existe otra clase de mutación, conocida como LETAL, que ha sido estudiada ampliamente en *Drosófila* y ciertos organismos superiores, estas mutaciones letales, causan la muerte del organismo, y muchas representan la pérdida o alteración de una función esencial, durante la embriología del organismo. Son conocidas ambas mutaciones letales, como la dominante y la recesiva, algunas de ellas están asociadas con las mutaciones cromosómicas.

Las mutaciones bioquímicas son otro tipo de mutación del gran gen, y son ampliamente estudiadas en los microorganismos, éstas representan la pérdida de una función específica, puesto que el organismo mutante ha perdido la capacidad de sintetizar un metabolito esencial; tal como un aminoácido o una vitamina.

Sin embargo, existen mutaciones bioquímicas que dan como resultado solamente la pérdida parcial de una etapa sintética o la incapacidad de realizar sus propiedades bajo ciertas condiciones externas, como temperatura pH etc., así pues una mutación bioquímica puede ser atribuida a la pérdida o modificación de la capacidad del organismo de fabri

car una enzima necesaria para la síntesis de un metabolito esencial; tan pérdida o modificación es indudablemente la causa principal de mutaciones visuales, surgiendo de esta manera la relación tan íntima entre un gen y un enzima. Como vemos, el proceso de mutación, es el único medio por el cual pueden originarse nuevos tipos de genes, los cuales sirven de materia prima para la evolución de una especie. Se había dejado concluida la investigación sobre mutaciones y no fué sino hasta hace 19 años cuando Zinder prosiguió el estudio y de mutantes bacterianas y definió el proceso de mutación como "la alteración súbita de un gen, la cual puede ser espontánea o inducida siendo heredada por las generaciones posteriores", éstas mutaciones bacterianas ocurren en condiciones posteriores a un crecimiento normal, Las mutaciones espontáneas ocurren lentamente y dan el origen a nuevos genes mediante un proceso lento. Este conocimiento de la existencia de mutaciones espontáneas fué advertida por muchos investigadores en muchas partes del mundo, en 1910 T.H. Morgan, usó moscas de ojo blanco, para establecer la existencia de la herencia ligada al sexo, las cuales fueron las descendientes de un solo macho de ojo blanco que apareció espontáneamente en un cultivo de moscas de tipo silvestre. Los diferentes tipos de mutantes, que Morgan y sus estudiantes usaron en sus experimentos, aparecieron espontáneamente, es decir, no fueron inducidos por medio artificiales a través del empleo de agentes mutantes, como el peróxido de hidrógeno. Más tarde se descubrió que las mutaciones podían ser inducidas, como lo demostraron en 1927 H.J. Miller y L.J. Stadur quienes explicaron con rayos X la inducción de mutaciones uno en *Drosophila* y otro en cebada. Estos descubrimientos figuran entre las

construcciones más significativas de la genética, porque con los rayos X fué posible obtener gran número de genes mutantes en muchos organismos, los cuales son esenciales para la investigación de los principios de la transmisión del material genético, el cual es conservado en varias generaciones. Los descubrimientos de éstos científicos marcaron una época a la genética en la que se unen y están en relación la mutación y la naturaleza del gen.

Los rayos X así como los alfa, beta y gama pertenecen a la clase de radiaciones conocidas como ionizantes y todas son mutativas, los estudios experimentales sobre la inducción con radiaciones ionizantes se efectuaron con una variedad de microorganismos y sus resultados conducen a conclusiones muy importantes como son:

1.- Las radiaciones ionizantes pueden causar mutaciones en el gen y en el cromosoma.

2.- La proporción de mutaciones de acuerdo a la dosis de radiación ionizante que recibe el microorganismo está en función lineal como se experimentó en la mosca de *Drosófila* cuya inducción de mutaciones letales fueran ligadas al sexo.

3.- El efecto mutativo de las radiaciones ionizantes es acumulativo, es decir la proporción de mutación en una función es de acuerdo a la cantidad total de radiación que organismo ha recibido. Esto se puede explicar con el siguiente ejemplo. Una dosis aguda de rayos X de 6000r (r es la unidad roentgen, una medida de la cantidad de ionización productiva para los rayos X) da como resultado la producción de 12% de mutaciones en la *Drosófila*, si ésta cantidad de radiación se da en tres dosis de 2000r espaciadas cada 8 horas, generalmente se obtiene el mismo porcentaje,

por lo tanto la dosis relativamente bajas de radiación crónica en la *Drosófila* conduce al mismo efecto genético que una dosis aguda de la cantidad equivalente de irradiación. De ahí los efectos genéticos de dosis crónica, bajas a las cuales la población humana por entero está espuesta, a través de la radiación natural de la tierra y los rayos cósmicos y a través de la radiación precipitada por la explosión de armas nucleares. No hay evidencias seguras sobre las cuales basar conclusiones al respecto de los efectos genéticos de ésta dosis crónica, pero parece que la presencia de la radiación precipitada y por cierto cualquier aumento de esta fuente de radiación posee un peligro potencial serio para las generaciones humanas futuras — aparte Las nuevas mutaciones en el hombre según las investigaciones, así como en otros microorganismos serán perjudiciales ya que sus efectos fenotípico son en general menos favorables, ésto es debido a la larga historia de la evolución por lo tanto, cualquier aumento en la cantidad de radiación para la cual estamos expuestos puede producir nuevas mutaciones cuyos defectos debilitantes nacerán en futuras generaciones. Como una consecuencia de ésto, si una nueva mutación se originara, solo tendría una pequeña probabilidad de producir un fenótipo favorable bajo condiciones ambientales normales.

En estudios recientes se sabe que la manera por la cual la radiación ionizantes producen mutaciones, es que actúan directamente sobre el material genético y ésta reacción directa puede semejarse a la de un golpe pegando en blanco, — en que una cantidad dada de radiación voltea un gen y lo altera o destruye una porción del material genético. La relación entre la dosis de radiación y el número de mutacio-

nes, así como los efectos mutativos acumulativos de los rayos X, parece estar de acuerdo con la acción directa de la radiación ionizante. Sin embargo, las mutaciones inducidas por rayos X, pueden ser debidas a cambios químicos que una radiación produce dentro de la célula. Por ejemplo; el agua puede ser convertida por radiación en compuestos altamente reactivos de corto tiempo de vida, como el agua oxigenada, y éste compuesto altamente reactivo puede ser y actuar sobre el material genético. Por consiguiente, los efectos directos de los rayos X pueden actuar dentro de la célula, más bien que sobre el material genético mismo, por eso decimos, que el efecto de estos rayos X es indirecto.

Investigaciones recientes han demostrado que las mutaciones también pueden ser inducidas con otro mutante, como la luz ultravioleta que no es una radiación ionizante, pero igual que los rayos X, su acción mutativa puede ser debida a la producción de compuestos inestables que pueden reaccionar con el material genético, También se hicieron investigaciones en hongos como la neuróspera se observó que puede producir mutaciones cuando es desarrollada sobre un medio de cultivo que ha sido irradiado con rayos ultravioleta antes de la inoculación de este hongo.

Aparentemente, la radiación sobre el medio dá por resultado la producción de peróxido de hidrógeno, o peróxido orgánico, los cuales son mutativos.

De hecho se ha mostrado que el tratamiento directo con peróxido de hidrógeno, produce mutaciones tanto de Neuróspera como de Drosófila. Por otra parte, es significativo que la longitud de onda de UV, que es mas efectiva como mutativa, se absorvida por el DNA. De aquí se deriva una relación íntima entre la mutación algunas propiedades químicas

del DNA y sus componentes. Por ejemplo, las radiaciones ultravioletas pueden afectar la síntesis de purina pirimidina de manera de que una célula radiada puede contener proporciones anormales de la base nitrogenada común al DNA o podría haber en la síntesis de DNA bases no comunes, de éste modo, el conjunto total de purina y pirimidinas para nuevas síntesis de DNA, puede haberse alterado y el nuevo DNA tendría una proporción no común de bases, o una base de composición no frecuente. La radiación ultravioleta puede también actuar directamente sobre las bases ya presentes en el DNA. Experimentos recientemente indicaron que la radiación ultravioleta del DNA en solución da la formación de uniones H adicionales entre algunas de las bases; esto, a su vez, conduciría a alteraciones en la propiedad de apareamiento de estas bases y por lo tanto subsiguientes duplicaciones del DNA.

Por lo tanto, la luz ultravioleta, así como las radiaciones ionizantes pueden actuar induciendo cambios dentro del DNA ó produciendo sustancias que reaccionan directamente con el DNA. La mutación es así un proceso fisicoquímico. Ya se mencionó que el peróxido de hidrógeno es un mutativo, pero es solo una de las muchas sustancias químicas mutativas.

Durante la Segunda Guerra Mundial, investigaciones en Inglaterra concernientes a gases venenosos de nitrógeno del tipo de la mostaza revelaron que eran mutativos en la Drosófila y capaces de inducir mutaciones tanto en el gen como en el cromosoma. Desde ese tiempo muchas otras sustancias químicas probaron ser mutativas en la Drosófila y en microorganismos, como el E. coli el cual puede inducirse a mutaciones por sustancias familiares tan comunes como el -

ácido bórico y el amoníaco, así como por muchos compues-  
tos altamente reactivos como el ácido nítrico y el fenol.  
Existen por lo menos 32 compuestos mutativos para *E. coli*,  
de los cuales se ha comprobado que hay muchos compuestos -  
no relacionados, pero se ha comprobado que hay muchos com-  
puestos no relacionados, pero algunos de ellos, se cree -  
ahora, tienen acción específica sobre los constituyentes--  
de DNA. Investigaciones con éstos compuestos, han revelado  
una gran cantidad de nueva información que se relaciona --  
con la naturaleza del proceso de mutación, así como con la  
naturaleza del gen mutado.

En conclusión a todo esto diremos que "La mutación es el -  
resultado de un cambio en la secuencia de los pares purina  
-pimidina dentro de una molécula de DNA.

Se ha calculado que las mutaciones se presentan según las -  
especies en la proporción de  $1 \times 10^{10}$  por bacteria, por --  
generación lo que significa que una célula bacteriana en--  
tre 10,000 o una entre 10 millones, es probable que esa --  
mutante. El índice de mutación puede incrementarse de 10 a  
100.000 veces sometiendo a las células a ciertos tratamien-  
tos físicos, o físico-químicos que ya antes fueron mencio-  
nados.

Las últimas investigaciones efectuadas sobre mutantes bac-  
terianas fueron las de Dooderlien en las que dice que todas  
las propiedades de las células vivas están controladas por  
genes; de aquí que todos los caracteres pueden cambiar co-  
mo consecuencia de la mutación de los genes. En éstos estu-  
dios se aislaron gran variedad de mutantes bacterianas que  
han sido sometidas a estudios muy precisos y que menciona-  
remos únicamente los tipos principales.

- 1).- Mutantes que presentan aumento de tolerancia a agentes inhibidores, especialmente antibióticos.
- 2).- Mutantes que presentan alterada alguna propiedad fermentativa; o aumento o disminución de la capacidad para producir algún producto final.
- 3).- Mutantes deficientes desde el punto de vista nutritivo, esto es, mutantes que requieran para el crecimiento un medio más complejo que el cultivo original de que proceden.
- 4).- Mutantes que presentan cambios en la forma de colonias o en la facultad de producir pigmentos.
- 5).- Mutantes que ofrecen alteraciones en la constitución celular.
- 6).- Mutantes resistentes al bacteriófago.
- 7).- Mutantes que presentan algún cambio en los caracteres morfológicos por ejemplo: la propiedad de producir esporas, cápsulas o fegelos.

Según esta relación, gran parte de rasgos característicos de las bacterias están sujetos a cambios por los procesos de mutación. Este fenómeno de mutantes bacterianas es de muchas importancias en la terapéutica de los antibióticos, por ejemplo; se sabe que algunos organismos desarrollan resistencia a ciertos antibióticos, lo cual es de gran significación en la terapéutica anti-infecciosa, porque es y se da el caso de que éstos antibióticos que son originalmente muy eficaces por dominar una infección bacteriana pierde eficacia, o en ocasiones llegan a ser inactivos; cuando aparece un mutante antibiótico resistente.

Las mutantes bacterianas y de otros microorganismos, se emplean mucho en la investigación de algunos procesos bioquímicos particularmente reacciones biosintéticas por

ejemplo; el rendimiento de la penicilina en obtención industrial, aumentó espectacularmente con la selección de rasas mutantes de penicillina. El mantenimiento de cultivos puros de especiales tipos, requiere que se impida el desarrollo de los mutantes, sino se hace así, el cultivo pronto dejará de ser típico. Por consiguiente observamos que la función de mutante en la vida del DNA es única y principal, concluimos diciendo que el DNA de una clase de bacteriófagos contiene unos 200 mil pares, de bases y ésta DNA puede observarse por microscopio electrónico, se ha dicho que el descubrimiento de la doble estructura helicoidal del DNA — es quizá el avance especial más importante realizado en la biología durante el siglo XX. Una gran parte de éstas investigaciones fundamentales sobre el DNA se ha aplicado — con microorganismos, en el siguiente capítulo de ésta tesis mencionaremos algunas de las muchas funciones del DNA, principalmente, como actúa el DNA en la herencia y los experimentos realizados en los últimos años que han demostrado éste mecanismo como son los de Griffith y Avery Mack — Leod y M. Mack Carty; que dichos investigadores estudiaron estos procesos en una gama diferente de microorganismos — como E. Coli, bacilo subtilis, salmonela y principalmente — en neumococo pneumoniae publicando éstos en experimentos — en 1967, en su libro Gensberg Word— Microbiology; Davis — Dulbecco—Elsen. Hoeber Medical Divison, Harper, Row, Publishers, New, York. Evanston and London.

#### IV.- COMO ACTUA EL DNA EN LA HERENCIA.--

Si consideramos la molécula de DNA como una molécula codificada ha de encontrarse que el DNA actúa en la herencia como sustancia esencial en la transmisión de la clavenética, y se debe a las experiencias bacteriológicas que durante muchos años los biólogos han explorado las células en busca de los componentes químicos portadores de la -- "GUIA" que determinan los caracteres de la célula y que -- transmitan además ésta clave a cada célula hija; éstas experiencias bacteriológicas de Avery, MacLeod y McCarty en 1944 trabajando en el Rockefeller Institute for Medical Research, encontraron que la transformación de los tipos -- de Neumococos, es decir el paso de un neumococo de un tipo a otro, se realiza un período de intensa investigación biológica en 1962 se adjudicó conjuntamente el premio nobel en fisiología y medicina a James D. Watson de los Harvard Biological Laboratories; Francis, H.C. Crick del Institute -- for Molecular Biology, de Cambridge, Inglaterra y a Maurice H.F. Wilkings del King College de Londres por sus brillantes descubrimientos para la estructura, y sus significación en la Transmisión hereditaria de la orientación genética en la materia viva y la variabilidad de los caracteres de los organismos.

Antaño la genética microbiana, había aportado a toda la biología algunas de las contribuciones más interesantes y fué antes del desarrollo de la genética microbiana, que -- era el único medio de llevar a cabo análisis genéticos, -- consistentes en realizar experimentos con apareamientos debidamente orientados ésto es, interpretado los resultados de la reproducción sexual. Las experiencias de ésta clase presentaban grandes limitaciones en cuanto que los tiempos

de generación son con frecuencia muy largos y el número de descendientes relativamente pequeño, ya que si se investigaban fenómenos genéticos utilizando cobayos como animales de origen o orientación, en los que se elegían tipos progenitores apropiados y se identifican por anticipado los caracteres de la descendencia, el período de gestación era de 10 semanas aproximadamente y la camada normal era de 2 a 4 hijuelos, éste número de descendientes no reveló más que una pequeña parte de los rasgos potenciales capaces de ser transmitidos por los padres. Por otra parte, si los experimentos se plantean con el fin de estudiar la reproducción de la descendencia hay que contar con retraso de algunos meses, hasta que los cobayos jóvenes alcanzan la madurez sexual. El desarrollo de la genética microbiana ha cambiado. Actualmente los biólogos no se limitarían en los análisis genéticos de las experiencias de la reproducción sexual, porque ahora sabemos que la reproducción sexual como ocurre en las bacterias, sigue modelos genéticos comparables a los de los organismos superiores. En las bacterias se han señalado varios sistemas para la transferencia del material genético. Los microorganismos y particularmente las bacterias se multiplican muy rápidamente. La célula de *E. coli*, durante la fase logarítmica del crecimiento, se divide en dos células a intervalos de 15 minutos, esto equivale a decir que se origina una nueva generación cada 15 minutos; además se producen estirpes de población enormemente grandes. En la misma *E. Coli* el número de células del cultivo después de 18 a 24 horas de incubación puede llegar a 20 mil millones por milímetro. Estas condiciones de división celular rápida y manipulaciones experimentales sencillas hicieron de las bacterias y otros micro-organismos

nos, la posibilidad de que nuevas investigaciones se llevaran a cabo y fue en 1897 cuando Miescher descubrió los ácidos nucleicos; pero no fué apreciado en su totalidad, sino hasta unos 50 años después, Griffith, trabajando con el *Diplococcus pneumoniae*, la bacteria que causa la neumonía, realizó experimentos que llevarían a la identificación de los ácidos nucleicos como el material genético. El *Diplococcus pneumoniae*, o *neumococcus* puede existir en dos fenotipos diferentes conocidos como liso y rugos, éstas células lisas son virulentas y están cubiertas con una cápsula de carbohidrato llamada polisacárido y las células rugosas son no virulentas y no tienen cápsula. Hay una gama de diferentes tipos de bacterias lisas y cada una de ellas puede distinguirse basándose en las diferencias que existen en la composición química del polisacárido capsular; las diferentes clases de bacterias lisas están clasificadas en tipos tales como tipo II lisas o tipo III lisas. Cada uno de éstos tipos es heredado, puesto que las bacterias reproducieran su cápsula específica a través de incontables generaciones de células. La capacidad de producir un tipo de polisacárido específico es por lo tanto parte del genotipo del organismo. Una bacteria lisa de *neumococo* puede llevar a cabo un acontecimiento conocido como mutación al cual, nos referimos y explicamos en el capítulo anterior.

Aproximadamente una célula lisa en 10 millones dará origen a una colonia que esté compuesta de células rugosas; el tipo jugoso también es heredado, puesto que es reproducido a través de innumerables generaciones. Más aún, un cultivo de células rugosas puede dar origen a una célula ocasional que formará una colonia lisa. Cuando ésto sucede la colonia lisa es idéntica a aquella de la cual había sido -

obtenido la original lisa específica de neumococos, tal como el tipo de 11 lisas, y la célula rugosa que se ha derivado de éste, constituye un par de genotipos bacterianos alternativos.

Para demostrar bacteriológicamente como actúa el DNA en la herencia se han llevado a cabo numerosos experimentos; el primero de ellos y que dió las bases de la herencia fué el realizado por Griffith que utilizó ambas bacterias, lisas y rugosas. Dicho experimento se lleva a cabo en ratones a los que se les inyecta un pequeño número de neumococos rugosos vivos y uno y virulentos originalmente derivados de un cultivo de bacterias de colonias lisas 11. Al mismo tiempo estos ratones recibieron también una inyección de un gran número de bacterias tipo 111 lisas muertas por calor y se observó sorprendentemente que muchos de los ratones murieron de neumonía, y sus muestras de sangre mostraron no solamente la presencia de bacterias rugosas sino, además, grandes números de bacterias lisas cápsuladas, virulentas. Se encontró que éstas bacterias eran del tipo 111 lisas lo cual demostró que no podrían haberse originado por mutación, puesto que las bacterias rugosas fueron derivadas del tipo 111 lisas e invariablemente, una mutación de éstas bacterias rugosas da origen sólo a bacterias tipo lisas. Así de las bacterias vivas inyectadas a los ratones, bacterias rugosas no virulentas derivadas originalmente del tipo 11 lisas, algunos parecían haberse transformado en bacterias tipo 111 lisas virulentas. Más aún, pudo mostrarse, que éstas bacterias tipo 111 lisas recientemente formadas, reproducían su tipo a través de incontables generaciones.

Más tarde, varias investigaciones confirmaron los resultados de Griffith, y entre las contribuciones más interesantes estaban aquellas en las que la transformación de células rugosas en células lisas tomaban lugar in vitro. Por ejemplo, se cultivaron células rugosas en un tubo de ensayo en presencia de células lisas de un tipo dado muertas por calor. Más tarde se encontraron células vivas entre las células rugosas en el cultivo del tubo de ensayo y eran del mismo tipo que las células lisas muertas por calor. En otro experimento in vitro se encontró que la presencia de un extracto de células lisas, parecía por lo tanto, que había una sustancia en las células rugosas y surgieron de éstos ininidad e preguntas las cuales se referían a la naturaleza química de ésta sustancia, o principio transformador, como ha dado en llamarsele. Se mostró que éste principio transformador, identificado por O.T. Avery, C.H. MacLeod, y Mac Carty en 1944 era DNA ya que en presencia de extractos de DNA altamente purificado de bacterias del tipo III lisas, un pequeño número de bacterias rugosas fue transformado al tipo III lisas. Sin embargo, si las células rugosas eran expuestas a DNA que había sido tratado con desoxirribonucleasa, una enzima que produce la ruptura del DNA no tenía lugar ninguna transformación.

Se han repetido muchas veces experimentos similares a los realizados por Avery, MacLeod, y Mac Carty y el fenómeno de transformación bacteriana, como se le llama, puede ocurrir en varias especies diferentes de bacterias. En cada caso la transformación ocurre cuando bacterias de un genotipo (por ejemplo, neumococos rugosos) son, receptores de DNA extracto de bacterias de un genotipo diferente (ex-

zo los neumococos lisos) También al igual como en los experimentos originales de Griffith, las células que han sido transformadas han sufrido una alteración estable en su genotipo, y el nuevo genotipo se expresa a través de muchas generaciones. Por lo tanto es importante saber que los cambios hereditarios específicos, o alteraciones en el genotipo pueden producirse en neumococos y algunos otros bacterias cuando macromoléculas de DNA, de células de un genotipo son incorporados por células de otro genotipo. Otras macromoléculas, tales como las proteínas extraídas de las bacterias no tienen ninguna actividad transformadora, concluyéndose por lo tanto, que el DNA está dotado de actividad genética específica y es el material genético, de aquí que su importancia en la función hereditaria es básica.

Esfuerzo adicional a ésta idea, ha sido obtenido con los experimentos con virus bacterianos o bacteriófagos de los cuales hay varios tipos que infectan a la escherichia coli, los estudios con el microscopio muestran que el fago tiene dos partes que han sido designados como la cabeza y la cola), (las cuales sin proteínas en su naturaleza y forman la cubierta del virus, mientras que el DNA se encuentra sólo dentro de la cabeza. El paso inicial en la infección del fago es la adhesión a la superficie de la célula bacteriana mediante de la cola del fago, y por medio de enzimas destruye la membrana celular para poder penetrar dentro de la célula bacteriana en la cual se reproduce y provoca el estallido de dicha célula por la dilatación de la célula, liberándose los nuevos fagos reproducidos en ella. El rompimiento de la célula es lo que se conoce como lisis.

La proteína y el DNA de estos nuevos fagos se forman a expensas de los constituyentes del protoplasma bacteriano y así las bacterias son finalmente muertas. RV muchas bacterias que cambian cada vez que son infectadas por una sola partícula de fago de genótipo dado, los nuevos fagos que emergen después de la lisis de la bacteria éstos son idénticos a la partícula original o sea la infectada o infectante. Existen muchas dudas a preguntarle si el DNA del fago o de la proteína de éste, o tal vez ambos son los que son necesarios para el proceso de la reproducción del fago; en 1952, A. Hershey y M. Chase realizaron un experimento—verdaderamente ingenioso para contestar a ésta pregunta; — las bacterias huésped se cultivaron en un medio que contenía el isótopo radioactivo del azufre y de fósforo; éstos fueron incorporados para las bacterias, y como resultado, — los constituyentes del protoplasma quedaron marcados con fósforo radioactivo y azufre radioactivo, no se marcan las bacterias con ambos isótopos porque es difícil ver las bacterias cuando están juntos simultáneamente; las bacterias marcadas fueron luego infectadas con fagos, marcados los fagos se reprodujeron dentro de las bacterias y después de la lisis se liberaron los fagos de la nueva descendencia.— Estos fueron recojidos y se encontró que estaban marcados con isótopos radioactivos el análisis de la composición de los fagos había revelado que estaban compuesto principalmente de proteína y DNA. El paso siguiente del experimento fué bacterias no marcadas, fueron infectadas con los fagos marcados y se determinó la distribución de la marca dentro de la bacteria huésped. Cuando se produjo la infección de los fagos marcados con azufre las bacterias huésped no estaban marcadas. Sin embargo, a la proteína del virus marca

do con azúfre, se le encontró adherida a la parte de afue-  
ra de los huéspedes, en las cubiertas de los virus infec-  
tados, cuando se usaron los fagos marcados con fósforo no  
se encontró ninguna marca en las cubiertas de protefina, -  
en vez de ella se encontró la marca dentro de las bacte-  
rias huésped. Por lo tanto, fué el DNA el que se encontró-  
en las bacterias infectadas, mientras que la protefina per-  
maneció adherida en el exterior, así el material inyectado  
dentro de la materia por el virus es DNA, y es el DNA el-  
necesario para la reproducción de partícula de virus gené-  
ticamente idénticas, Como se ha dicho hay dos clases de -  
ácidos nucleícos y el segundo ácido nucleíco es el ácido -  
ribonucleíco y el (RNA), es el material genético de cier-  
tos virus de vegetales el virus del mosaico del tabaco -  
(VNT) infecta la planta del tabaco entrando en la célula -  
de las hojas reproduciéndose entre ellas, y como resultado  
de la infección las hojas verdes tienen manchas amarillas-  
en el tejido foelar. Al igual que todos los fagos VNT está  
compuesto de protefina y ácido nucleíco, pero en este caso-  
el ácido nucleíco es como se ha dicho RNA. Las protéinas-  
del RNA y del VNT han sido separadas purificada y provadas  
por su efectividad según experimentos que ha realizado Esta-  
biar. Se ha encontrado que el RNA es capaz de infectar la-  
planta huésped pero la protefina no lo es. De donde concludi-  
mos nuevamente que un ácido nucleíco y ésta vez el RNA, es  
el material necesario para la reproducción de nuevas parti-  
culas de virus.

Por lo tanto, puedes sostenerse el argumento que el-  
DNA es el material genético de los organismos superiores, -  
sin embargo, los medios para obtener ésta evidencia no han  
sido tan directos como en las bacterias y los virus, la -

que un rasgo del genótipo es su transmisión, esencialmente sin cambios de una generación a la siguiente. Esto indica que el material genético o DNA debe ser heredado sin cambios de generación en generación.

Por lo tanto, una de las características del material genético o DNA debe ser su constancia de célula a célula y de generación en generación. Experimentos con muchas clases diferentes de organismos han demostrado que las proteínas y carbohidratos sufren una continua renovación en el metabolismo celular, no sucede lo mismo con el DNA; calculando la cantidad de DNA por célula muestra que el DNA permanece esencialmente constante en las células de un organismo dado, mientras que la cantidad de otros constituyentes celulares varían. Hay una excepción importante en la cantidad del DNA por célula, que provee lo que es tal vez la mejor evidencia indirecta del DNA como material genético, el DNA de muchas bacterias y de todos los organismos superiores ocupa un sitio específico dentro de la célula, en los organismos superiores éste sitio es el núcleo celular, una estructura rodeada por una membrana bien definida que posee ciertas características químicas que se reconocen como por reacciones de coloraciones específicas, que son producidas por la acción de ciertos colorantes. Observamos que el colorante de Feulgen, reacciona específicamente con el azúcar de azúcar de ribosa del DNA y solo dentro del núcleo toma lugar una reacción positiva, mas específicamente se encuentra que la reacción de coloración del núcleo se presenta en unas estructuras largas filiformes llamadas cromosomas. Por lo tanto, el DNA está en el núcleo celular y a su vez dentro del núcleo en los cromosomas de donde se deduce que el DNA actúa en la herencia de una manera tan importante—

que poco se duda actualmente que ésta DNA no sea material del gen.

Estudios recientes como los de Avery Mac Carty demostraron el funcionamiento del DNA en la herencia que puede llevarse a cabo con pasos intermedios como la conjugación, transducción y transformación bacteriana.

Estudios hechos por H. Demereck y P. Harnas han demostrado que la regulación genética llevada a cabo en bacterias como la Salmonella y la E. coli puede igualarse con la síntesis de proteínas, vemos ahora en conclusión que la función del DNA puede ser más que el centro de las proteínas en sí y que puede haber un complejo de interacciones implicando no solamente los genes que determinan al tipo de estructura de una enzima sino también genes que regulan la síntesis de proteína, para entender éstos procesos de diferenciación y de regulación genética tenemos que entender fenómenos bioquímicos y moleculares que acompañan a un organismo y que éste es gran parte un reflejo de un proceso bioquímico controlado enzimáticamente, éstos a su vez dependen de su genotipo y del medio ambiente en que éste actúa.

Puede considerarse la regulación a la utilización del lactosa en la E. coli como una forma de diferenciación en una sola célula.

A pesar de que ese ejemplo de regulación genética no se puede aplicar a organismos pluricelulares representa un sistema modelo en que basamos las conclusiones de todos los experimentos hechos, hasta la fecha y la cuestión de cómo crecen, cómo se desarrollan y cómo se diferencian las células, constituye un problema para la Biología. La respuesta se encuentra en algún lugar entre el nivel molecular-

de la información genética y el nivel bioquímico en el que ocurren las desintegraciones tanto dentro como fuera de la célula, la respuesta a una de éstas preguntas en cuestión vendrá cuando converjan sobre el mismo problema biológico-fundamental, la genética contemporánea, la microbiología - la bioquímica y la embriología. A continuación explicaremos que es y cómo ocurre en la transformación bacteriana - en los trabajos hechos por Griffith y Avery - Mac Carty.

## V.- TRANSFORMACION BACTERIANA.-

Ciertas bacterias pueden transferir su material genético ya sea directamente por conjugación, ó indirectamente a través de la transducción. La transferencia genética puede también ser llevada a cabo en algunas bacterias por medio de la transformación bacteriana. Este fenómeno parece ocurrir solamente a un nivel molecular, en contraste con la conjugación la cual requiere un contacto entre células de tipo copulante opuesto y con la transducción en la cual el "contacto" entre las células se establece mediante el fago. Como se describió la transformación implica la exposición de las bacterias de un genotipo, a una solución de DNA altamente purificado, derivado de bacterias de un genotipo diferente. Las bacterias receptoras toman éste DNA que se integra dentro de su material genético y finalmente algunos de ellos manifiestan las características genéticas de las bacterias dadoras. Se sabe que la transformación ocurre en un cierto número de bacterias diferentes y para una variedad de características fenotípicas diferentes. En los Neumococos por ejemplo, además de la transformación de tipos rugosos a lisos descrita anteriormente, la transformación ha demostrado para características genéticas tales como la resistencia a antibióticos (estreptomicina por ejemplo) al igual para la capacidad para fermentar ciertos azúcares como la maltosa.

Es particularmente interesante la transformación de la utilización de la maltosa. Células de tipo silvestre (m) tienen la capacidad de usar maltosa esencial para el metabolismo de éste carbohidrato, es la razón por la cual poseen una enzima, la amilomaltosa. Sin embargo, hay por lo menos ocho cepas mutantes (simbolizadas como Mc, Md, Me, -

etc.) que carecen de la enzima y por consiguiente no pueden utilizar la maltosa como una fuente de carbono. Es de interés por lo tanto, la cuestión del posible ligamiento entre las diferentes cepas mutantes.

Cada una de las cepas mutantes puede ser transformada por el DNA obtenido de las células tipo silvestre. Esto es lo mismo que un cruzamiento entre cepa de tipo silvestre y una mutante, sin embargo el DNA obtenido de una cepa mutante dada la No por ejemplo, no puede producir la transformación de las células No. Esto es análogo a un cruzamiento en el cual una cepa mutante puede ser "cruzada" entre ellas usando una cepa como la fuente de DNA y la otra como la receptora de ese DNA. Se ha realizado una extensa serie de experimentos en que se cruzaron ocho cepas mutantes — puesto que cada mutante puede servir tanto de dador como de receptor de DNA, hay 56 cruzamientos posibles entre estos mutantes diferentes. Son posibles varios resultados:

I.- Ciertas combinaciones de cepas dadoras de receptoras pueden no dar ninguna transformación. Esto sugeriría que las dos mutantes son idénticas esto es, alélicas. En otras palabras el DNA de la cepa dadora y la receptora contienen la misma información genética y así no hay forma de suministrar la información necesaria para la determinación del control de la síntesis de la emilomaltosa.

II.- Puede ocurrir una transformación que dé origen a la utilización de la maltosa o sea las dos mutantes son diferentes genéticamente para la síntesis de amilomaltosa. Si el resultado de varios cruzamientos es positivo, o sea si la información ocurre en ciertas combinaciones de dadores y receptores la frecuencia de la transformación puede reflejar la relación especial entre los genes, dando un ma

pa genético tal como la frecuencia de recombinación que ha revelado éste mapa en muchos otros organismos.

Cuando se ensayaron las 56 transformaciones posibles, se encontró que ocurrían en diferentes frecuencias, dependiendo de las combinaciones de cepas usadas, las combinaciones por pares involucrado las cepas Mc, Mh, Mj, Mf, dan origen a transformaciones ya si la frecuencia de transformaciones ya si la frecuencia de transformaciones se usa o no una medida de la distancia genética se puede construir también un mapa, ésta mapa muestra cinco sitios diferentes en la molécula de DNA los cuales controlan la síntesis de amilomaltosa en cada una de las cinco cepas mutantes, está alterado un sitio diferente y los entrecruzamientos entre ellos dan origen a DNA inalterado e igual al DNA del tipo silvestre. Cada sitio es así definible por técnicas similares a aquéllas usadas para definir un gen, como unidad de recombinación en los organismos nucleados y no en los virus bacterianos.

Las tres cepas mutantes restantes Md, Me, y Mi dan resultado a dos diferentes mutantes para las cinco que se mostraron en el ejemplo. La Mi, dará origen a transformaciones o recombinaciones en unión con las mutantes Mg, Mj, y Mj, pero no son mutantes ésto sugiere que el DNA de la cepa Mi es alterado a lo largo de una región más débil entre ambos los de la cepa Mc y Mh. La Md presenta un cuadro similar, puesto que los recombinantes están formados con la Mc y la Mh pero no con la cepa Mg, Mj, ó Mi. Así el Md es también un mutante que se sobre-pone y representa un segmento de DNA alterado que es mayor que el que se encuentra en la cepa Mg en la Mj y en Mf. Más aún no se forma ningún recombinante entre la cepa Md y Mi y así la Md y Mi se so-

breponen. Finalmente el Kc no es recombinante con ninguno de estos mutantes mencionados por lo tanto, representa una mutante que se sobrepone extensamente y que tiene un segmento de DNA que controla la formación de amilomaltosa.

Vemos que es posible construir un mapa genético basado en la frecuencia de recombinación entre dos mutantes ó sea entre dos genes.

Claramente el fenómeno de la transformación es de --- significación fundamental para la genética ya que vemos --- que se presenta al nivel del material genético en sí. Podría pensarse sin embargo, que la transformación bacteriana es sólo un artificio de laboratorio y que no tiene ninguna importancia aparte de suministrar un patrón para la --- investigación del papel directo que el DNA juega en la --- transferencia de las características genéticas. Esto bien podría ser cierto pero si recordamos experimentos más recientes ó sea los Griffith que usó células muertas por calor como fuente de DNA transformado; experimentos aún más recientes, han demostrado que la transformación en un cultivo conteniendo dos cepas diferentes de bacterias vivas, --- una era resistente a una droga sulfa por ejemplo y la otra a una sustancia toxica llamada ametopterina, mientras que --- otra era resistente a la estreptomocina y la micrococina, --- las cepas se mezclaron y se les permitió crecer a través --- de varias divisiones, luego las células recolectaronse y --- se probó su resistencia a las diversas sustancias, los resultados que pueden parecer obvios, fueron colonias que --- eran resistentes a éstas sustancias.

Se realizó un experimento similar en el cual se culti varon células de un genótipo diferente cuando se sometio a prueba éste cultivo, se encontró que contenía el tipo de ---

bacterias recombinantes. Estos experimentos revelan que en cultivos bajo condiciones de laboratorio, la lisis de las células cuando mueren liberan dentro del medio DNA que puede ser tomado por las células vivas, si éstas células son de genótipos diferentes puede entonces formarse recombinantes. Estos experimentos sugieren que la transformación bacteriana puede tomar lugar no solamente en los cultivos de laboratorio, sino también entre las bacterias que infectan algún huésped apropiado. Es posible que la transformación bacteriana in vivo a continuación de la conjugación y la transducción puede también ocurrir dentro de los animales huésped tal como ocurre con la recombinación de los fagos. Así los diversos tipos de transferencia no meiótica del material genético podrían ocurrir en la naturaleza bajo condiciones ambientales apropiadas.

Se han confirmado varios experimentos con la incorporación de los avances que en éste campo son rápidos y se espera que dentro de algunos años será decifrada completamente.

## VI.- CONCLUSIONES.-

Los recientes experimentos y los avanzados estudios efectuados sobre los ácidos nucleicos, demuestran la gran importancia que el DNA tiene sobre la genética microbiana, así como el fenómeno de mutantes bacterianos como se explicó, es un proceso mediante el cual los microorganismos heredan de sus progenitores las características individuales, teniendo como intermediario la alteración del DNA. Surgiendo de esto que la importancia del ácido desoxirribonucleico en la genética de las bacterias es tan esencial y única que sin este compuesto no sería posible la reproducción de nuevos microorganismos.

Las investigaciones "in vivo" o "in vitro", que se efectuaron demostraron que en los ácidos nucleicos de las bacterias reside la herencia y la información, principalmente en aquellos ácidos en que los análisis colorimétricos nos reportan la presencia de un azúcar la desoxirribosa que es la que aporta los determinantes hereditarios en los microorganismos, las bacterias y los organismos superiores.

## VII.- REFERENCIAS.-

- 1.- **Advances in Protein Chemistry.**  
Academic Press, Annual  
New, York.
- 2.- **Aminoacid.**  
Handbook, Charles C. Thomas, and Weiss.  
Springfield, III.  
1956.
- 3.- **Aminoacido and Proteins.**  
Greenberg, D.M.  
Charles C. Thomas.  
Springfield, III.  
1951.
- 4.- **Acids Nucleic.**  
Influence of monofunctional alkylation on the reversibility of heat denaturation of DNA.  
Preliminary report Walles.  
Acta Chem. Scand 21:831-3.  
1967.
- 5.- **Bioquímica de los ácidos Nucléicos.-**  
Davidson.  
Uthes.  
1967.
- 6 . **Biochemistry of the Nucleic Acids.**  
Davison, J.N.  
Tercera Ed. John Wiley.  
New, York.  
1957.

- 7.- **Bioquímica General.**  
J.W. Fruton.  
1959.
- 8.- **Bioquímica de Microorganismos.**  
Pose Anthony.  
London-Butterworths.  
1965.
- 9.- **Biología Celular.**  
D.E. Robertis. Nowinski Saes.  
6a. Ed.  
Ed. Ateneo-Buenos-Aires.  
1961.
- 10.- **Bacterial Genetics.**  
Sainders Company Philadelphia. Braun. W.  
1953.
- 11.- **Chemical Pathways of Metabolism.**  
Greenberg, D.W. 2 vol.  
Academic Press. New, York.  
1954.
- 12.- **Chemistry and Biology of proteins.**  
Havrowitz, F.  
Academic Press, New, York.  
1950.
- 13.- **Carbohydrate Metabolism.**  
Soakin, S. y Lwevine R.  
University of Chicago.  
1952.
- 14.- **Cell, Structure and Function.**  
Leowy, A. and Sukevitz.  
New, York.  
1962.

15.-Citogenética.

Swanson-Mera-Young.

Utah.

1962.

16.-The Coil of life.

Moore, Alfred A. Knoff Inc.

New, York.

1961.

17.-Errors of Metabolism.

Hela. D.Y. Inborn.

The year book publishers, Chicago.

1959.

18.-Fisiología General

Giese.

6a. ed.

Ateneo-Buenos-Aires.

1963.

19.-Genética.

Levine.

Compañía Editorial-Continental. S.A.

1964.

20.-Genes anda the code Genetic. Asimov, J.M.

New. American Libray of World Literature.

New, York.

1963.

21.-Genes of Actions.

Herman-Suskind.

1951.

22.-Herencia.-

Bonner-Mills.

1967.

- 23.-Ingeniería Bioquímica.  
F.C. Webb.  
ed. Acribia-Zaragoza.  
1965.
- 24.-Orden Biológico.  
S. Brown.  
1956.
- 25.-Paper Chromatography and Electrophoresis DNA.  
Fisher, R.H.  
Methuen Co. Londres.  
1954.
- 26.- The Protein Chemistry, Biological, Activity and  
Methods.  
Neurath, H. and Baley.  
Academic Press. New, York.  
1957.
- 27.-Principios de Bioquímica.  
Conn- Stuf.  
1958.
- 28.-Physiology and Biochemistry of Bacteria.  
Buchamann and Fulmer.  
Vol. III  
Williams and Wilkins Company.  
1967.
- 29.-Papers on Bacterial Genetics.  
Boston Little, Brown, Company.  
Aderberg E.A.  
1960.

- 30.-Paper Bacterian Microbiology.  
M.J. Pelosar and R.D. Reind.  
Mc. Crow- Hill.  
2a. Ed.  
1966.
- 31.-Química y Metabolismo de las Proteínas.  
Cantarow Schepartz.  
Interamericana.  
1965.
- 32.-Symposium on Protein Structure.  
Neubergh, A.  
Methuen Co. Londres.  
1959.
- 33.-Traité Pratique de Bactériologie.  
Tomo I  
E. Macé  
J.B. Bailliere Fils.  
1955.
- 34.-The Carbohydrates, Chemistry, Biochemistry and  
Physiology.  
Pigman, W.W.  
Academic. Press New, York.  
1957.
- 35.-The Nucleic Acids Chemistry and Biology.  
Charff. E. and Davidson, J.H.  
Academic. Press, New, York.  
1955.

36.-The Chemicals Basis of Heredity.

John Hopkins.

Press, Baltimore.

1957.

37.-The Molecular Control of Cellular Activity.

Allen, J.M.

Mc-Grill-Book Company.

New, York.

1962.

38.-The Molecular Basis of Evolution.

Anfinsen C.B.

John Wiley. Sons.

New, York.

1959.

39.-The Microbiology. Bacterial Metabolism.

Davis-Dulbecco-Elsen- Gingsberg-Word.

Hoehner Medical Division

— Harper, Row, Publishers.

New, York.

Avanston and London.

1967.

40.-Metabolism Bacterial.

Morjory Shphenson.

The M.I.T. Press.

Massachusetts Institute of Technology. Cambridge,

Massachusetts and London England.

1967.